

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC EN ABITIBI TÉMISCAMINGUE

ÉTUDE DE L'IMPACT DU CONDITIONNEMENT ET DU PRÉTRAITEMENT
DE LA BIOMASSE FORESTIÈRE RÉSIDUELLE
SUR LES HUILES ESSENTIELLES

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN ÉCOLOGIE

PAR

MAYSSA HMAIED

OCTOBRE 2019



BIBLIOTHÈQUE

Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

Mise en garde

La bibliothèque du Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue et de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue a obtenu l'autorisation de l'auteur de ce document afin de diffuser, dans un but non lucratif, une copie de son œuvre dans Depositum, site d'archives numériques, gratuit et accessible à tous.

L'auteur conserve néanmoins ses droits de propriété intellectuelle, dont son droit d'auteur, sur cette œuvre. Il est donc interdit de reproduire ou de publier en totalité ou en partie ce document sans l'autorisation de l'auteur.

Warning

The library of the Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue and the Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue obtained the permission of the author to use a copy of this document for non-profit purposes in order to put it in the open archives Depositum, which is free and accessible to all.

The author retains ownership of the copyright on this document. Neither the whole document, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

REMERCIEMENTS

Au terme de ce mémoire, je tiens à exprimer mes vifs remerciements à mon directeur de recherche Ahmed Koubaa de m'avoir accordé l'opportunité d'intégrer son équipe de recherche ainsi que pour tous les atouts et les efforts fournis pour me superviser. Je tiens également à remercier du fond du cœur mon co-directeur de recherche Hassine Bouafif pour m'avoir offert l'occasion de rejoindre le CTRI où j'ai acquis une expérience sur le plan professionnel et académique. Je suis énormément reconnaissante et redevable pour tout son soutien incessible et ses encouragements inlassables durant ma maîtrise. J'exprime mes sincères remerciements à Sara Magdouli pour tous ses conseils et ses efforts qu'elle a fournis améliorer la qualité de mes travaux et aboutir à ce fruit de recherche.

J'exprime aussi ma très profonde gratitude à Gilles Villeneuve pour son aide, toute sa patience, sa bonne humeur. Un grand merci à Nicolas Bergeron pour son aide et humour pendant nos sorties sur terrain. Merci à Mamadou Dia de m'avoir transmis, à plusieurs reprises, son savoir-faire. Merci à Karima Guemiza, Félicia Porqueres et Anne-Marie Marleau-Claveau et Besma Bouslimi pour leurs supports et leurs conseils judicieux qui m'ont tant aidé pour mener à bien ce projet de recherche. Merci notamment à tous mes amis pour les beaux moments qu'on a passés ensemble. Mes pensées vont finalement à ma famille. Merci ma mère pour ta confiance, ton amour et ton soutien qui m'a aidé à surmonter bien des obstacles. Ma grande reconnaissance s'adresse à mes deux frères. Finalement, je dédie ce travail à la mémoire de mon père.

AVANT-PROPOS

Ce travail a été le résultat de la collaboration entre le Centre Technologique des Résidus Industriels (CTRI) et l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (UQAT). J'aimerais remercier par conséquent, le CTRI, le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG), MITACS, la Chaire de Recherche de Canada pour Valorisation Caractérisation et transformation du bois (CRC-VACAT) ainsi que l'Institut de Recherche sur les Forêts (IRF) pour leurs supports financiers et leurs appuis non financiers.

Ce document a été préparé sous la forme d'un mémoire classique. Il a été conçu pour respecter les critères de présentation en vigueur dans le cadre des programmes de deuxième cycle en écologie de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue (UQAT). Outre l'introduction générale, le mémoire s'articule autour de quatre chapitres. Le chapitre 1 de la revue de littérature regroupe le contexte et la problématique ainsi que des éléments de la revue de littérature; Le chapitre 2 est consacré à l'approche méthodologique ainsi qu'une description des objectifs et des hypothèses. Le chapitre 3 présente les résultats et la discussion. Le chapitre 4, la conclusion discutera l'atteinte de l'objectif général et de chacun des objectifs spécifiques, et proposera des recommandations et des pistes de continuité pour cette étude comme perspectives.

DÉDICACE

À ma mère :
Aucune dédicace ne saurait exprimer
à sa juste valeur tout l'amour,
tout le soutien,
et toute la reconnaissance que je porte !

À la mémoire de mon père!

Mayssa HMAIED

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	iii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
RÉSUMÉ	ivx
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
1.1 La biomasse forestière résiduelle.....	4
1.2 Chaîne d’approvisionnement de la BFR.....	5
1.2.1 Composantes de la chaîne d’approvisionnement	6
1.3 Piste de valorisation de la BFR.....	15
1.3.1 Valorisation énergétique	17
1.3.2 Valorisation en bioproduits : Les extractibles.....	19
1.4 Les applications des HE.....	35
1.4.1 Pouvoir antioxydant des HE	35
1.4.2 Activité antibactérienne des HE.....	41
1.5 Aspect original du projet	43
1.6 Pertinence du projet en écologie.....	43
CHAPITRE II APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE.....	45
2.1 Objectifs et hypothèses	45
2.2 Matériel.....	47

2.2.1	Matière première	47
2.3	Méthodes.....	48
2.3.1	Description des méthodes de prétraitements et conditions opératoires ..	48
2.3.2	Évaluation de l'effet de vieillissement sur la qualité de la BFR.....	50
2.4	Procédé d'extraction des HE	51
2.4.1	Hydrodistillation de la biomasse forestière.....	51
2.4.2	Procédé d'extraction par entraînement à la vapeur	52
2.5	Analyses et caractérisations physico-chimiques des huiles essentielles	52
2.5.1	Calcul du rendement	52
2.5.2	Mesure de la densité.....	53
2.5.3	Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS.....	53
2.6	Analyses et caractérisations des HE	56
2.6.1	Mesure de l'activité antimicrobienne.....	56
2.6.2	Mesure de pouvoir antioxydant.....	59
2.7	Traitement statistique des résultats.....	62
2.7.1	Description des données et analyse effectuée	62
CHAPITRE III RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....		64
3.1	Effet des prétraitements mécaniques sur les propriétés quantitatives des HE.....	64
3.1.1	Méthode d'hydrodistillation de la BFR densifiée en fagots	64
3.1.2	Étude comparative du rendement des HE issues des différents types de prétraitements.....	69
3.1.3	Méthode d'entraînement à la vapeur.....	73

3.2	Effet du vieillissement sur le rendement des HE extraites par entraînement à la vapeur	80
3.3	Effet des prétraitements mécaniques sur les propriétés qualitatives des HE.....	83
3.3.1	Densité relative.....	83
3.3.2	Composition chimique par GC/MS.....	83
3.3.3	Pouvoir antioxydant	95
3.3.4	Pouvoir antibactérien	108
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	126
	ANNEXE	129
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	132

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Les différentes méthodes de prétraitements de la BFR après la récolte.....	8
1.2	Les différentes formes de la biomasse après déchiquetage et broyage : (a) Brute, (b) déchiquetée (8 mm -9 mm), (c) broyée (1 mm - 2 mm)	11
1.3	Mécanismes de déformation des particules de la BRF au cours de la compression.....	13
1.4	Procédé de conditionnement de la BFR en fagots à l'échelle laboratoire par l'utilisation de la Zwick Roell Z100 de capacité 100 kN.....	14
1.5	Voies de conversion de la biomasse forestière.....	16
1.6	Schéma simplifié de la voie de valorisation thermochimique de la BRF.....	17
1.7	Processus de transfert de la matière pendant l'extraction par entraînement à la vapeur.....	32
1.8	Action des antioxydants naturels pour neutraliser les radicaux libres.....	36
1.9	Structures de quelques antioxydants synthétiques.....	37
1.10	La structure de la membrane cytoplasmique d'une cellule bactérienne	42

2.1	Site de récolte de la BFR du sapin baumier, épinette noire et pin gris de la forêt de l'Abitibi-Témiscamingue, site Taschereau au nord de Belcourt, Québec.....	48
2.2	Les différents lots de la BFR avant l'extraction des HE.....	49
2.3	La méthodologie suivie pour la préparation de la BFR et l'extraction des HE par hydrodistillation et entraînement à la vapeur.....	50
2.4	Dispositif d'extraction des HE (hydrodistillateur).....	51
2.5	Chromatographe à phase gazeuse couplée avec une spectroscopie de masse (Agilent Technologie 789B, Biom-13)	54
2.6	Principe de la méthode de diffusion par disques.....	58
3.1	Effet de la mise en fagots sur le rendement d'extraction des HE par hydrodistillation du sapin baumier.....	65
3.2	Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par hydrodistillation des HE de l'épinette noire.....	67
3.3	Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par hydrodistillation des HE du pin gris.....	68
3.4	Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation du Sapin baumier.....	70
3.5	Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation de l'épinette noire.....	71
3.6	Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation du pin gris.....	72
3.7	Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entraînement à la vapeur des HE du sapin baumier.....	74
3.8	Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entraînement à la vapeur des HE de l'épinette noire.....	75

3.9	Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entrainement à la vapeur des HE du pin gris.....	76
3.10	Variation du rendement en huile essentielle en fonction du niveau de compression et le type d'essence avec épinette noire, pin gris et sapin baumier.....	78
3.11	Effet des méthodes d'extraction et du niveau de compression sur le rendement des HE.....	79
3.12	Comparaison de la composition chimique des HE du sapin baumier extraites par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur.....	86
3.13	Comparaison de la composition chimique des HE de l'épinette noire extraits par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur.....	88
3.14	Comparaison de la composition chimique des HE du pin gris extraites par hydro distillation et par entrainement à la vapeur.....	90
3.15	Variation de l'effet de type d'essence et des méthodes d'extraction sur la composition chimique des HE.....	93
3.16	Effet du niveau de compression, type d'essence et de l'hydrodistillation sur la teneur des phénols totaux.....	95
3.17	Effet du niveau de compression, de type d'essence et de l'entrainement à la vapeur sur la teneur des phénols totaux.....	97
3.18	Évaluation de la capacité de réduction ferrique des HE des fagots du sapin baumier extraites par hydro distillation et par entrainement à la vapeur.....	99
3.19	Évaluation de la capacité de la réduction ferrique des HE des fagots de l'épinette noire extraites par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur.....	101
3.20	Évaluation de la capacité de la réduction ferrique des HE des fagots du pin gris extraites par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur.....	102

3.21	Mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH des HE des fagots de l'épinette noire : (a) par hydrodistillation (b) par entrainement à la vapeur.....	105
3.22	Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE du sapin baumier.....	111
3.23	Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE de l'épinette noire.....	114
3.24	Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE du pin gris.....	117
3.25	Comportement des HE de (a) sapin baumier (b) épinette noire et (c) pin gris vis-à-vis l'Aspergillus Niger.....	125

LISTE DES TABLEAUX

Tableau		Page
1.1	Les établissements et emplois directs dans le secteur forestier en Abitibi-Témiscamingue en 2019.....	5
1.2	Composition chimique des résineux et feuillus.....	20
1.3	Composition chimique des HE du sapin baumier, l'épinette noire et le pin gris	23
1.4	Différentes méthodes d'extraction des HE.....	34
1.5	Différents types d'antioxydants naturels et leurs propriétés physico chimiques.....	38
1.6	Différentes méthodes pour la détermination du pouvoir antioxydant des HE.....	40
2.1	Teneur en humidité de la BFR avant et après le broyage et après la granulation.....	53
2.2	La structure chimique des composés majoritaires des HE avec les températures d'ébullition.....	56
2.3	Caractéristiques des souches pathogènes.....	57
3.1	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur le rendement des HE.....	80
3.2	Effet du vieillissement sur le rendement des HE du sapin baumier, épinette noire et pin gris extraites par entraînement à la vapeur.....	81

3.3	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur le rendement des HE après une durée de vieillissement.....	82
3.4	Composition chimique des HE extraites par entrainement à la vapeur de la BFR du (a) sapin baumier(b) épinette noire et (c) pin gris après des périodes de vieillissement.....	92
3.5	Analyse ANOVA de l'effet de type d'essence, du procédé d'extraction et leurs interactions sur la composition chimique des HE.....	94
3.6	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la teneur des phénols totaux des HE.....	98
3.7	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la FRAP des HE.....	103
3.8	La valeur de IC50 pour les trois types d'essences et par rapport aux deux procédés d'extraction.....	106
3.9	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la IC50 des HE.....	108
3.10	Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur l'activité antibactérienne des HE	119
3.11	Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des HE extraites par hydrodistillation.....	122
3.12	Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des HE extraites par entrainement à la vapeur.....	123
3.13	Les propriétés quantitatives et qualitatives des HE extraites des fagots de 50 kN des trois essences : Sapin baumier, Épinette noire et Pin gris.....	131

RÉSUMÉ

Les conifères sont parmi les essences les plus exploitées au Québec grâce à la qualité de leurs bois. La transformation de ce bois suite aux activités de sylvicultures et de sciage génère des quantités grandissantes de biomasse forestières résiduelles (BFR). Le système actuel d'approvisionnement de ces résidus est davantage adapté à la filière énergétique. Le déchiquetage et le broyage sur les aires d'ébranchages sont des pratiques souvent utilisées pour maximiser les charges utiles lors du transport. Bien que bénéfiques pour certaines applications, ces pratiques sont accompagnées par des pertes et des transformations de certains composés des huiles essentielles (HE) déjà instables. Ceci cause une variabilité sur la qualité et la productivité en HE lors de l'extraction. Dans le but de valoriser la BFR en HE, ce projet vise à évaluer l'impact de l'ajout de nouvelles étapes de prétraitement dans la chaîne logistique d'approvisionnement de la BFR sur la quantité et la qualité des HE ainsi que l'efficacité des procédés d'extractions. Trois essences de conifères ont été étudiées : l'épinette noire (*Picea mariana* Mill.), le sapin baumier (*Abies balsamea*) et le pin gris (*Pinus banksiana*). Dans un premier temps, la BFR de chacune des essences a subi quatre types de prétraitement : (i) le déchiquetage (ii) le broyage (iii) la densification par granulation et (iv) la densification par mise en fagots. Ensuite l'extraction des HE a été effectuée par hydrodistillation. Le but étant d'évaluer l'effet des différents traitements sur la quantité et la qualité des HE. L'évaluation de l'effet du vieillissement (BFR fraîchement récoltée, après une semaine, après 3 semaines) et l'extraction des HE par une deuxième méthode d'extraction (entraînement à la vapeur) de la BFR densifiée en fagots ont été effectuées. Dans un second temps, l'analyse des HE obtenues a été évaluée par la chromatographie à phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse GC/MS qui permet d'identifier et de quantifier les composés chimiques dans les HE. Ensuite, les pouvoirs antibactériens et antioxydants ont été testés pour les HE obtenus pour chaque type de prétraitement. La comparaison entre les rendements en HE a montré une corrélation avec l'essence utilisée. Pour le sapin baumier, la densification en fagots a entraîné une amélioration du rendement en HE de l'ordre de 68 %, 83 %, 93 % par rapport à la BFR déchiquetée, broyée et densifiée en granules, respectivement. Pareillement, pour le cas de l'épinette noire une augmentation du rendement de l'ordre de 14 % et 24 % a été notée par rapport à la BFR broyée et densifiée en granules, respectivement. De plus, la mise en fagots de la BFR du pin gris a montré une augmentation de 26 % du rendement par rapport à la granulation. Pour ce qui est de l'entraînement à la vapeur, seule la densification en fagots a été étudiée puisqu'elle a donné les meilleurs rendements pour le premier procédé d'extraction. En effet, la distillation par entraînement à la vapeur a engendré une augmentation du rendement de 32 % pour le sapin baumier et 24 % pour l'épinette noire et le pin gris mis en fagots. Le vieillissement de la biomasse a causé des pertes en HE de l'ordre de 24 % et 45 %

pour le sapin baumier, 6 % et 47 % pour les HE de l'épinette noire et 12 % et 38 % pour les HE du pin gris par rapport à la BFR fraîchement récoltée après une semaine et trois semaines de la récolte, respectivement. L'analyse par GC/MS montre que l'extraction par hydrodistillation est le procédé le plus approprié, en ce qui a trait à la concentration des HE en hydrocarbures monoterpéniques. En effet, le sapin baumier montre une diminution de 30 % de la concentration du limonène suite à l'extraction par entraînement à la vapeur comparée à l'hydrodistillation. L'épinette noire et le pin gris, fortement concentrées en α -pinène, montrent une diminution de l'ordre de 33 % et 22 %, respectivement. Le dosage des phénols totaux a révélé que les HE de l'épinette noire et pin gris extraites par entraînement à la vapeur sont riches en composés phénoliques. Cette richesse est expliquée par leurs fortes capacités de réduire l'oxyde de fer (II), FeO, en oxyde de fer (III), Fe₂O₃. L'extraction par entraînement à la vapeur a entraîné une amélioration du pouvoir de réduction ferrique de 23 % pour l'épinette noire et de 75 % pour le pin gris. Contrairement aux procédés d'extractions, la densification de la BFR en fagots n'a pas d'effet sur les propriétés antioxydantes des HE. Les huiles extraites de l'épinette noire ont montré les meilleures propriétés antibactériennes face aux trois souches (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*) à la suite de l'extraction par hydrodistillation. Les diamètres d'inhibition de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* sont de l'ordre de $30 \pm 0,2$ mm par rapport aux trois souches. La mesure de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide a donné des concentrations variantes entre 24 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ et 40 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$. Ces valeurs représentent la concentration minimale en HE permettant l'inhibition des souches précédemment mentionnées. Grâce à leurs richesses en composé phénolique les HE du pin gris extraites par entraînement à la vapeur ont montré des diamètres d'inhibitions vis-à-vis aux *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium* élevés de l'ordre de 24 ± 2 mm, $20,33 \pm 1,2$, 12 ± 2 , respectivement. L'analyse statistique effectuée dans cette étude (ANOVA) a montré qu'il y a une forte interaction entre les trois facteurs : le type d'essence, les méthodes d'extraction et le prétraitement de la BFR en fagots. La densification de la BFR sous forme de fagots est un prétraitement capable d'améliorer la productivité des HE et préserver leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes.

Mots clés : biomasse forestière résiduelle, huile essentielle, prétraitements, hydrodistillation, entraînement à la vapeur, qualité, rendement, vieillissement.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au cours des dernières décennies, l'exploitation de la biomasse forestière résiduelle (BFR) est devenue de plus en plus grandissante. Ayant un territoire forestier qui représente 10 % de la superficie des forêts mondiales, le Canada possède donc un grand potentiel pour tirer profit de cette richesse naturelle (MRNFQ, 2004). La Province du Québec présente une richesse en ressources forestières qui recouvrent 90 % de son territoire (Royer et al., 2010). La conjoncture économique du secteur forestier en 2008 a engendré une chute importante des prix de production de bois d'œuvre et un bouleversement du domaine des pâtes et papier (Morency, 2011). Ceci a causé une diminution du nombre d'emploi, qui passe de 370,000 en 2004 jusqu'à 260,000 en 2007. Par conséquent, le Ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec cherche d'autres alternatives pour surmonter cette crise. Dans ce contexte, le lancement de nouveaux projets industriels axés sur la production des produits à forte valeur ajoutée pourra être une stratégie efficace pour la relance économique surtout dans les régions touchées par la crise de l'industrie forestière (Morency, 2011). En effet, suite aux exploitations forestières, des résidus de la biomasse (les feuilles, les branches et les aiguilles) s'accumulent sur les parterres de récolte. Durant la période qui s'étale entre 2013 et 2018, la BFR a été estimée à environ 14 millions de tonnes métriques vertes (tmv) par année, dont 8 millions tmv de la biomasse sont issues des branches et 6 millions tmv de biomasse proviennent du feuillage sur l'ensemble des unités d'aménagement (Lacasse et al., 2014). Ces résidus pourraient être une source de revenus additionnels pour les entreprises forestières. À cet effet, les industriels cherchent à les valoriser et à diversifier leurs utilisations pour des fins énergétiques, écologiques et pharmaceutiques. Parmi plusieurs pistes de valorisation, l'extraction des huiles essentielles (HE) à partir de la BFR peut être une piste prometteuse qui contribuerait au développement du secteur des bioproduits, au dynamisme du territoire

et à l'amélioration de la bioéconomie forestière. Ces dernières années, les HE sont devenues populaires grâce à leurs vertus thérapeutiques. Les industries cosmétiques, de savonneries et de parfumeries représentent 60 % de la demande en HE qui sont caractérisées par des compositions chimiques variables (Bouhlal et al., 2017). Les conifères sont parmi les essences les plus répandues dans les zones forestières du Québec et ils sont connus par leurs richesses en extractibles (Royer et al., 2010). Ainsi, leur valorisation sera une opportunité pour les industriels. Cependant, les filières de valorisation de la BFR sont restreintes à cause des coûts élevés du transport. Par ailleurs, le secteur de transport contribue à l'émission des gaz à effet de serre (GES) (Gabrielle et al., 2016). Il est à signaler que les aspects logistiques présentent un maillon important dans la chaîne de l'industrialisation qui a été négligée pour longtemps (Ba, 2016). D'ailleurs, le développement de nouvelles stratégies au sein du système d'approvisionnement devient alors une nécessité. Toutefois, d'un point de vue gestion des forêts et de paysage, une extraction excessive de la BFR suite à un appauvrissement non modéré peut avoir un effet négatif sur le côté sanitaire des forêts (Havreljuk et al., 2014). D'un point de vue écologique, les méthodes de récolte de la BFR causent des perturbations de la qualité du sol et de la biodiversité animale (Ares et al., 2007; Morissette et al., 2014). À cet effet, la recherche d'un équilibre lors de la récupération de la BFR délaissée sur les sites de récolte sans nuire à la fertilité et la symbiose du sol est importante. L'objectif principal de la présente étude était d'implanter de nouvelles techniques du prétraitement mécanique et du conditionnement de la BFR dans la chaîne logistique d'approvisionnement et d'évaluer leurs impacts sur le rendement et la qualité des HE. La fragmentation (broyage et déchiquetage), la densification (sous forme de granules) et la méthode de mise en fagot (balles) feront l'objectif de ce projet. Ces méthodes proposées seront appliquées d'une part pour diminuer la taille de la BFR et d'autre part pour réduire le nombre et les coûts de transport vers les unités de transformation (Puy et al., 2011). De plus, ces techniques

du prétraitement auront un impact environnemental, qui engendrent la réduction de l'utilisation des carburants fossiles et diminuant ainsi les émissions des gaz à effet de serre (GES). Cette étude cherche à optimiser la chaîne d'approvisionnement en BFR tout en préservant la quantité et qualité des HE extraites. L'hydrodistillation (HD) conventionnelle et l'entraînement à la vapeur seront effectués durant ce projet et une étude comparative sera menée entre les deux pour identifier celles qui montrent une amélioration du rendement et de la qualité des HE.

CHAPITRE I

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1.1 La biomasse forestière résiduelle

La biomasse est définie comme étant la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture, de la sylviculture et des industries connexes (Stevens, 2014). D'ailleurs sous ses différentes formes, la biomasse est devenue une estimable source d'énergie et une alternative potentielle pour la production des énergies fossiles. La biomasse forestière est un type de ces biomasses qui dérive principalement des plantes ligneuses. Elle est largement utilisée au Québec grâce à leurs multiples avantages économiques et environnementaux (Royer et al., 2010). En 2018, la biomasse forestière disponible dans les unités d'aménagement est évaluée à 15 623 700 tonnes métriques vertes (TMV) annuellement. Une augmentation de 767 000 TMV par rapport à 2013 (Bureau en chef du Québec, 2018). En effet, plus de 10 % de la consommation de l'énergie finale provient de la biomasse. Cette dernière est classée au Québec parmi les sources énergétiques les plus utilisées telles que le charbon, le gaz et l'électricité (Kheshgi et al., 2000; Parikka, 2004; Balat et al., 2005). La BFR est une source riche en extractibles à haute valeur ajoutée permettant la production des produits bioénergétiques, des biocarburants et des bioproduits. En 2018, le secteur de transformation du bois en Abitibi-Témiscamingue sécurise plus de 80 % des emplois. Dont 39 % sont spécialisés en foresterie et exploitation forestière, 17,4% activité de soutien à la foresterie et valorisation de la matière ligneuse délaissée sur les parterres

de coupe et 21,5 % destinée pour la fabrication des produits en bois (Centre de recherche industriel de Québec, 2018). Le tableau 1.1 présente les établissements et les emplois directs du secteur forestier en Abitibi-Témiscamingue en 2019.

Tableau 1.1 Les établissements et emplois directs du secteur forestier en Abitibi-Témiscamingue en 2019 (Centre de recherche industriel du Québec, 2019)

	Établissements		Emplois	
	Nombre	%	Nombre	%
Exploitation et services forestiers	88	57,90%	637	16,00%
Foresterie et exploitation	63	41,40%	384	9,60%
Activités de soutien	25	16,40%	253	6,30%
Première transformation du bois	25	16,40%	2 942	73,70%
Scieries	10	6,60%	1 055	26,40%
Panneaux et placages	10	6,60%	719	18,00%
Pâtes et papiers	5	3,30%	1 168	29,30%
Deuxième et troisième transformation	39	25,70%	414	10,40%
Produits et meubles en bois	38	25,00%	384	9,60%
Cogénération	1	0,70%	30	0,80%
Total - Établissements et emplois directs	152	100,00%	3 993	100,00%

1.2 Chaîne d'approvisionnement de la BFR

L'approvisionnement en BFR est parmi les préoccupations primordiales des industries forestières. Elle comporte deux principaux enjeux qui lui sont spécifiques. Le premier est par rapport à la récolte et aux opérations forestières, qui doivent être effectuées d'une façon raisonnable pour réduire l'impact sur la biodiversité du sol et des peuplements. Le deuxième enjeu est en lien avec la protection des écosystèmes forestiers et vise à minimiser les GES due à l'utilisation excessive des combustibles

fossiles pour le transport de la biomasse. La chaîne d'approvisionnement de la BFR représente l'épine dorsale du secteur de valorisation en bioénergie et bioproduits. Cette chaîne dépend de plusieurs facteurs tels que le type de la biomasse, les méthodes de prétraitements, les sites de stockage, la destination, les moyens de transport et les infrastructures locales de distribution (Fiedler et al., 2007; ; Gold et al., 2011; Ba, 2016). L'optimisation de cette chaîne présente un défi majeur pour les industries forestières au Canada (Rentizelas et al., 2009; Mafakheri et al., 2014). En effet, les industries cherchent à surmonter les problèmes liés à la disponibilité de la biomasse et la flambée des prix de transport qui sont tributaires aux prix du pétrole (Rosenqvist et al., 2000; Aylott et al., 2008). L'étude de Rentizelas et al.,(2009) a porté sur la modélisation de la chaîne d'approvisionnement pour cinq types de biomasse. Cette étude a montré que les coûts d'approvisionnement présentent entre 20 à 50 % des frais liés aux transports et la manutention (Rentizelas et al., 2009). Par conséquent, il faut mentionner que la logistique est un maillon marquant au niveau de cette chaîne et représente 50 % des coûts d'approvisionnement de la biomasse (Iakovou et al.,2010). Récemment, des chercheurs envisagent l'utilisation des méthodes de géolocalisation spatiale pour calculer les coûts de différents chemins parcourus entre les sites de coupe et les usines. Ces méthodes peuvent être des solutions pour opter à un meilleur choix. (Rentizelas et al., 2009). D'autres chercheurs envisagent de mettre en place de nouvelles techniques de prétraitement de la BFR tout en préservant la qualité et en minimisant les impacts environnementaux (Gabrielle et al., 2016).

1.2.1 Composantes de la chaîne d'approvisionnement

Il convient de mentionner que la chaîne d'approvisionnement compte cinq composantes : la récolte, le prétraitement et le conditionnement, le transport, le stockage et la transformation.

1.2.1.1 Récolte

Les opérations de récolte sont généralement adaptées aux types de la matière première et à leur destination pour leur transformation. Elle nécessitera de nouvelles techniques et des équipements spécialisés pour ramasser les différentes formes de la BFR (Thiffault et al., 2015). La récolte de la BFR nécessite des permis d'autorisation, pour qu'elle soit bien encadrée, aussi, pour assurer la gestion de l'écosystème forestier et préserver la biodiversité des sols (Ekşioğlu et al., 2009). Au Québec, 52,5 % des coupes se font par arbre entier, où la biomasse résiduelle (cimes et branches) se retrouve concentrée en bordure du sentier (Douville et al., 2006). Cette composante de la chaîne d'approvisionnement dépend principalement des types de sites de récolte, les conditions climatiques et la demande des industriels. Plusieurs chercheurs ont étudié cette composante. L'étude de Mafakheri et al., (2014) a montré qu'il y a plusieurs modèles à suivre pour la récolte de la BFR. Le premier modèle par unité, c'est-à-dire pendant la récolte aucun bloc non sélectionné ne sera récolté. Le deuxième modèle par zone, c'est que chaque bloc ne soit récolté qu'une seule fois durant une période de planification. Aussi, Ekşioğlu et al., (2009) ont présenté un modèle de programmation en nombre entier mixte. C'est un modèle qui cherche à optimiser la chaîne d'approvisionnement de la biomasse tout en tenant compte des conditions édapho climatiques et la disponibilité de la matière première (Ekşioğlu et al., 2009). Ce modèle est capable de prédire le nombre et la taille des équipements nécessaires pour la récolte, tout en considérant les coûts (Sokhansanj et al., 2006).

1.2.1.2 Prétraitements et conditionnement

Le prétraitement de la BFR est un maillon important dans la chaîne d'approvisionnement. L'optimisation de cette composante permettra d'élargir la gamme des produits lignocellulosiques. Les méthodes de prétraitement facilitent la manutention et les applications de la BFR issue des aires d'ébranchage qui se fait par

des équipements et techniques spécifiques. La figure 1.1 montre les méthodes de prétraitement de la BFR qui peuvent être soit thermiques, chimiques, physiques ou biologiques. Quelle que soit la méthode, les prétraitements visent à rendre la biomasse maniable lors des transformations mécaniques, microbiologiques ou chimiques (Douville et al., 2006; Agbor et al., 2011). Cette composante est une étape clé lors de l'approvisionnement de la biomasse, surtout pour des besoins énergétiques (Jeoh et al., 2007). Les bioproduits à fort potentiel industriel sont classés en trois catégories : les produits bioénergétiques, les biomatériaux et les produits biochimiques.

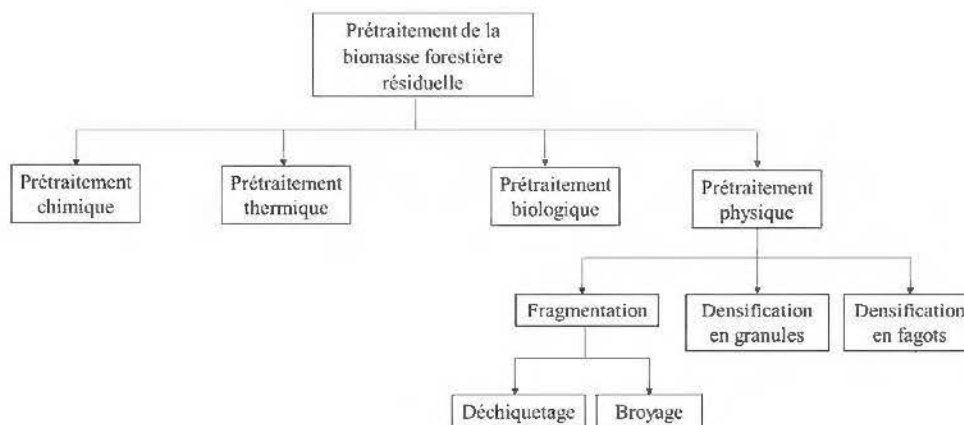


Figure 1.1 Les différentes méthodes de prétraitements de la BFR après la récolte

- Prétraitements thermiques

Les prétraitements thermiques sont des technologies avancées qui cherchent à améliorer la rentabilité de la chaîne de production de bioénergie. Selon plusieurs études, la torréfaction et la pyrolyse sont des options prometteuses (Mouras et al., 2002; Zeng et al., 2018). La torréfaction est une forme de prétraitement thermique qui permet d'obtenir un produit fini caractérisé par une faible humidité et un pouvoir calorifique

élevé par rapport à la biomasse fraîche (Uslu et al., 2008). La biomasse issue de ce procédé contient 70 % de son poids initial et 90 % de son contenu énergétique. La torréfaction est par conséquent une méthode rentable et efficace. Le coût de la torréfaction dépend des frais de l'installation de 39 % et d'équipements de 31 %. Cependant, la pyrolyse est une forme de conversion thermochimique qui nécessite des technologies avancées pour aboutir à un produit fini avec une meilleure qualité (Uslu et al., 2008).

- Prétraitements chimiques

Les prétraitements chimiques utilisent des réactifs et solvants chimiques dans le but de modifier ou extraire les composants majeurs de la biomasse lignocellulosique tels que la cellulose, l'hémicellulose et la lignine. Ceci permet de transformer la BFR en des produits intéressants et écologiques (Wyman et al., 2005). Les procédés les plus utilisés pour la BFR sont: les prétraitements alcalins, les dilutions par acide, l'explosion à la vapeur et l'utilisation des solvants organiques ayant un faible point d'ébullition tel que le méthanol et l'éthanol (Zhu et al., 2009). Ces méthodes cherchent à augmenter la surface interne de la biomasse et à diminuer le degré de polymérisation et de la cristallinité de la cellulose. Par exemple, les prétraitements alcalins dégradent la structure de la lignine et brisent les liaisons avec les fractions glucidiques (Chandra et al., 2007). Tandis que le prétraitement qui se fait par l'intermédiaire de vapeur présente une faible consommation énergétique sans recours aux produits chimiques tout en évitant la dilution des sucres. En outre, ce procédé peut engendrer la condensation de la lignine soluble et rend la BFR moins digestible (Agbor et al., 2011).

- Prétraitements biologiques

Ce sont des activités associées principalement à l'action antifongique qui ont le pouvoir de dégrader la lignine, l'hémicellulose et la cellulose. Ce procédé diffère du procédé chimique et thermique et nécessite des quantités élevées d'énergie (Mosier et al., 2005).

En effet, les prétraitements biologiques sont des méthodes écoresponsables qui permettent d'éviter les rejets toxiques dans l'environnement. Par exemple, les champignons de la pourriture blanche sont responsables de la dégradation de la lignine et nécessitent moins d'énergie (O_2 , eau, et éléments nutritifs) durant leurs réactions (Chen et al., 2010). Deux autres enzymes issues des basidiomycètes : le manganèse peroxydase et laccase sont responsables de la dégradation de l'hémicellulose et la lignine. D'une part, ces méthodes sont pertinentes, car elles améliorent la productivité et évitent la nuisance à l'écosystème par des rejets. Toutefois, ces méthodes nécessitent de longues durées de réaction pour aboutir à des résultats pertinents. Certes, cela présente une perte de temps pour les industriels (Chaturvedi et al., 2013). À grande échelle, le prétraitement biologique exige des procédés coûteux, car il nécessite un environnement stérile. De plus, les microorganismes utilisés durant ce processus consomment une partie des glucides de la biomasse, ce qui réduit l'efficacité de cette méthode (Agbor et al., 2011).

- Prétraitements physiques

Ces prétraitements facilitent les prétraitements biologiques. Ils favorisent la réduction de la taille de la biomasse pour augmenter la surface de contact et faciliter l'accès aux bactéries (Zhu et al., 2009). Parmi les techniques couramment utilisées, il y a la fragmentation (broyage ou déchiquetage) et la densification sous forme de granules ou des fagots (Douville et al., 2006). Le prétraitement physique par broyage de la biomasse augmente le rendement en bioéthanol et biohydrogène, réduit la consommation énergétique et facilite la séparation liquide/solide (Zhu et al., 2010).

Fragmentation

La fragmentation de la BFR se fait par différents traitements mécaniques, tels que le déchiquetage et le broyage. Le déchiquetage est assuré généralement par une

déchiqueteuse, munie de couteaux qui se trouvent dans les parterres de coupes. Tandis que le broyage dans l'usine se fait par un broyeur à marteaux qui défibre et écrase ces résidus. Le broyage est une méthode qui facilite les processus de transformation de la BFR, car il donne une matière première avec une granulométrie plus fine que celle de la BFR déchiquetée. Dans une étape ultérieure de transformation (cas d'extraction des HE), le broyage permet d'augmenter la surface d'échange entre la vapeur et la biomasse et entraîne une meilleure volatilisation des substances odorantes, sachant qu'il engendre des pertes quantitatives de ces composés (Rivera et al., 2006). Subséquent le déchiquetage et le broyage, le tamisage est nécessaire notamment pour des applications à valeur ajoutée. Ce prétraitement permet de ségréguer les tailles de particules et de maîtriser les variabilités des procédés d'extraction en assurant une homogénéité de la surface du matériau à extraire. Il a déjà été démontré l'importance de l'influence de la taille des particules sur le rendement d'extraction. Leur homogénéité a donc un impact direct (Temmerman, 2011). La figure 1.2 présente la BFR brute (a), déchiquetée (8 mm -9 mm) (b) et broyée (1 mm - 2 mm) (c).



Figure 1.2 Les différentes formes de la biomasse après déchiquetage et broyage : (a) Brute (b) déchiquetée (8 mm -9 mm) (c) broyée (1 mm - 2 mm).

Densification en granules

La compaction est une méthode de conditionnement de la BFR qui se fait sur les aires d'ébranchage au sein d'une benne amovible. Elle mène à la formation des granules et vise principalement à minimiser la taille des résidus forestiers et diminuer les coûts de transport. De plus ce traitement vise à augmenter la densité de la BFR et améliorer son pouvoir énergétique. Ce procédé a été développé aussi pour optimiser et améliorer les conditions de stockage et manutention de la BFR (Tumuluru et al., 2012). Le principe du procédé de granulation consiste à exercer des forces de vibration et de cisaillement sur la BFR pour générer des particules fines et organisées (Pietsch, 2002). La figure 1.3 illustre les phénomènes d'interaction entre les particules de la BFR durant le mécanisme de compression. Les forces impliquées dans ce mécanisme sont des forces d'attraction, des forces intermoléculaires et des forces de cohésion qui créent une résistance mécanique à la séparation. Tandis que les forces d'adhésion sont nécessaires pour réaliser cette séparation (Comoglu, 2007). Durant ce processus, un réarrangement entre les particules s'établit et une réduction de la porosité responsable du phénomène de compaction est observée. En plus, les paramètres opératoires de la granuleuse telle que le débit d'alimentation, l'entrefer qui sont l'espace libre entre la filière (la matrice annulaire formée par des canaux avec différent diamètre et longueurs), le rouleau et la vitesse de rotation sont rapportés à avoir un effet remarquable sur la granulation (Ennis et al., 1996, Belhadhef, 2016).

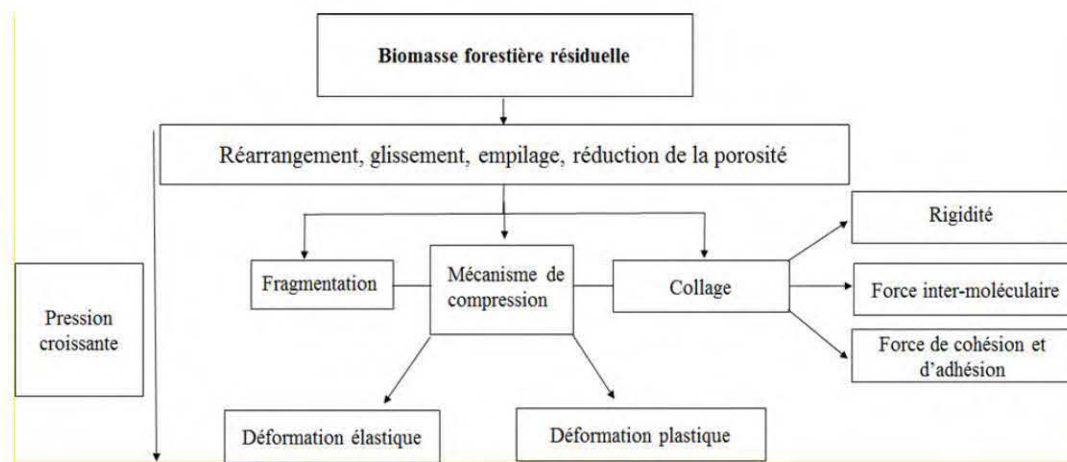


Figure 1.3 Mécanismes de déformation des particules de la BRF au cours de la compression (Comoglu, 2007)

Densification sous forme de fagot

La notion de mise en fagot comme mode de conditionnement est récemment développée. Une fois que les arbres sont ébranchés et écimés, la biomasse résiduelle sera par la suite, placée dans une fagoteuse qui la compresse à l'état brut sans faire de prétraitements préalables. Selon Douville et al., (2006), la mise en fagot est une technique peu chère, novatrice et très adaptée pour la récolte de la BFR accumulée sur les parterres de coupe. La figure 1.4 montre le dispositif utilisé au sein du laboratoire pour la préparation des fagots. De plus, cette technique réduit les pertes et facilitera le séchage du matériel ramassé sur les airs d'ébranchage ou dans les espaces de stockage. La mise en fagot est une méthode de prétraitement qui rend la BFR plus homogène et ordonnée. Les résineux s'adaptent à la mise en fagots, car leurs branches ont une taille réduite et une forme moins résistante comparée aux feuillus. Par ailleurs, cette méthode réduit considérablement les attaques fongiques et bactériennes observées avec la

biomasse déchiquetée, puisqu'il y a moins de contact avec les conditions environnementales (Douville et al., 2006).



Figure 1. 4 Procédé de conditionnement de la BFR en fagots à l'échelle laboratoire par l'utilisation de la Zwick Roell Z100 de capacité 100 kN

1.2.1.3 Transport

Le transport de la BFR des parterres de coupes vers les unités de transformation est une composante clé qui doit être bien étudiée pour assurer une chaîne d'approvisionnement écoresponsable. Il convient de mentionner que la logistique représente 50 % du coût d'approvisionnement forestier (Iakovou et al., 2010). La durée du trajet, les charges à ramener et les temps de chargement et déchargement auront un impact marquant sur les coûts du transport. De même, pour une meilleure optimisation du maillon de transport, il est important d'étudier les quantités des carburants des véhicules utilisés durant le parcours (Rentizelas et al., 2009). Il est à noter que le transport doit être minutieusement étudié pour réduire ces coûts et assurer une meilleure qualité de la biomasse (Ba, 2016).

1.2.1.4 Conditionnement

La préservation de la qualité de la biomasse en respectant les bonnes pratiques d'entreposage et de stockage afin de maintenir les propriétés physico-chimiques de la biomasse avant d'être livrée aux clients. La forme de la BFR (fragmentée, en granules) affecte le mode d'entreposage. En effet, il est préférable que la BFR soit conditionnée dans des milieux bien aérés pour éviter les risques d'altération causés par l'humidité et les attaques fongiques (Douville et al., 2006). De plus, la biomasse en tant matière première est humide et contient 65% d'eau en moyenne. Pour son prétraitement physique avant extraction des biomolécules, il est recommandé de diminuer cette humidité à un taux inférieur à 10%. De ce fait le séchage est un prétraitement important pour assurer une meilleure qualité de la biomasse et pour effectuer un stockage et conserver des inventaires sans risque de contaminations microbiennes (Koumaglo et al., 2009). Des recherches ont montré qu'une période de vieillissement en forêt de trois mois a réduit de 15 % de la teneur en humidité d'où la volatilisation de plusieurs constituants de la BFR (Ingénieurs-Conseils, 2008). Mettre une bâche par-dessus des fagots est une façon de conditionnement de la BFR et qui permet la réduction des pertes en eau causée par les changements climatiques. Le type des bâches et leurs compositions joueront un rôle important dans la préservation de la qualité de la biomasse (Ast, 2009). Dans ce contexte, la chaîne d'approvisionnement de la BFR nécessite un savoir-faire et des méthodologies bien rodées et étudiées pour répondre aux besoins des industriels. Par conséquent, le développement d'une stratégie qui cherche à optimiser ce système reste un défi à surmonter pour assurer la durabilité de la bioéconomie forestière.

1.3 Piste de valorisation de la BFR

La production de produits écoresponsables ainsi que la recherche de solutions pour la valorisation de la BFR sont devenus une des priorités des industries forestières (Figure

1.5). La BFR présente une source intéressante qui pourrait être une alternative aux produits d'origine fossiles. Les tendances de valorisation de la BFR seront toutes destinées pour des besoins énergétiques tels que la production des biocarburants, des granules énergétiques et de l'électricité. Par conséquent, les recherches récentes proposent d'adopter de nouvelle stratégie axée sur des bioproduits à hautes valeurs ajoutées à partir de la BFR ; grâce à sa composition chimique enrichissante. Ces filières se démarquent par la création d'emplois et par des bénéfices environnementaux.

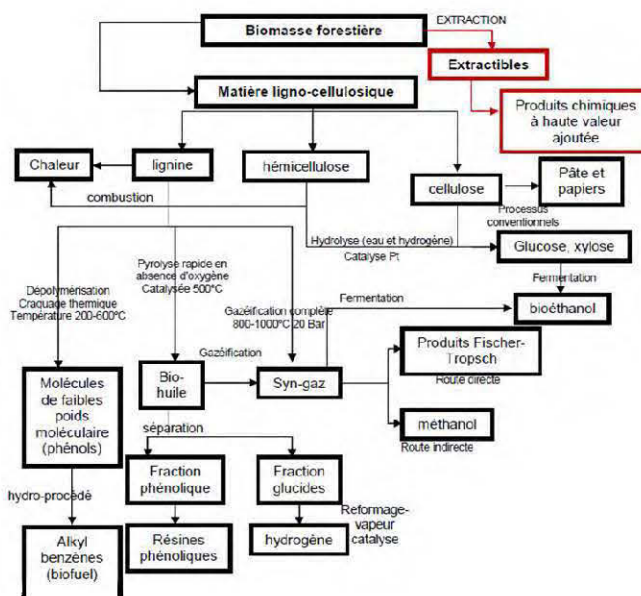


Figure 1.5 Voies de conversion thermochimique de la biomasse forestière (Royer et al., 2012)

1.3.1 Valorisation énergétique

La flambée des prix des combustibles fossiles et l'émergence d'une industrie énergétique lignocellulosique a laissé présager un bel avenir pour la BRF en tant que source énergétique viable (García et al., 2017). Les procédés de valorisation énergétique diffèrent par le type de la biomasse employée et les réactions physico-chimiques mises en jeu. Parmi les voies couramment utilisées, il y a des voies physico-chimiques qui permettent à la production de biodiésel (esters éthyliques et méthyliques), les voies biochimiques qui font appel à des microorganismes capables de dégrader la biomasse par la méthanisation ou par l'hydrolyse (Broust et al., 2013; Bastide et al., 2015). Tandis que la valorisation thermochimique consiste à prétraiter la biomasse pour la formation des produits solides, liquides et gazeux (Bridgwater, 2003).

1.3.1.1 Conversions thermochimiques de la BRF

La figure 1.6 illustre un schéma simplifié de la voie de valorisation énergétique de la BRF via une conversion thermochimique.

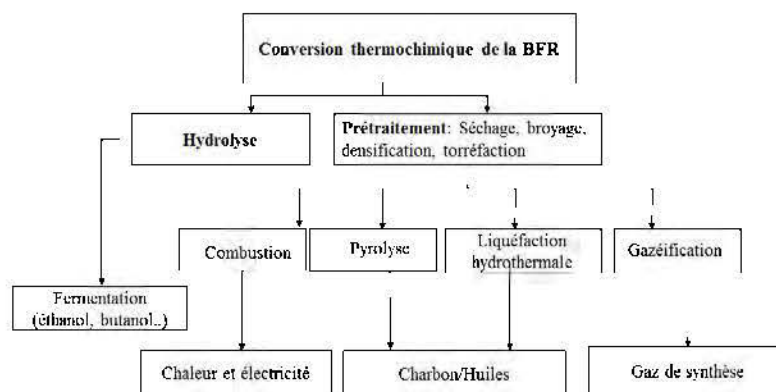


Figure 1.6 Schéma simplifié de la voie de valorisation thermochimique de la BRF

- Pyrolyse/Liquéfaction

La pyrolyse est un traitement thermique qui dégrade la BFR dans un milieu anaérobie pendant un temps réduit à des températures variantes (Van Loons et al., 2008). La température de pyrolyse est un facteur qui influence le produit résultant et qui pourra être soit : solide, liquide ou gaz. Le refroidissement rapide et la condensation de la biomasse traitée donneront naissance à une biohuile pyrolytique (Czernik et al., 2004). C'est un sous-produit qui a une odeur ressemblant au fumé avec une coloration marron foncé. Cette biohuile est constituée par des phénols, des acides carboxyliques, des sucres et composés volatiles. La génération de cette biohuile résulte de la dépolymérisation thermique des principaux composants du bois: la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. L'utilisation de la biohuile comme carburant nécessite une désoxygénation complète ou bien un mélange avec le diesel et des agents tensioactifs, mais ce mélange reste coûteux et corrosif. En revanche, ce produit a des avantages, car il permet la production de chaleur et d'électricité pour l'alimentation des chaudières, turbines et moteurs Diesel. Cette technique aussi peut être considérée comme un prétraitement pour la gazéification (Czernik et al., 2004).

- Combustion

La combustion à partir de la biomasse est une méthode de génération d'énergie très répandue et développée dans le monde. Les étapes principales de la combustion de la BFR sont : le séchage, le dé-volatilisation, la gazéification, la combustion du charbon et l'oxydation des produits gazeux. Les gaz issus de la combustion sont valorisés soit pour le chauffage résidentiel, l'alimentation des chaudières ou la production du biocarburant. (Nussbaumer, 2003; Erol et al., 2010).

- Gazéification

C'est une forme de pyrolyse qui peut atteindre des températures très élevées (900-1050°C). Les gaz dégagés sont constitués par CO, H₂, CH₄, CO₂, N₂ (Demirbas, 2004; Sheth et al., 2009). C'est l'une des méthodes novatrices de transformations thermo-chimiques qui permet d'optimiser 50 % du rendement électrique tout en limitant le coût. Les gaz usés servent à la production de vapeur. Cette méthode assure un meilleur rendement par rapport aux autres, et elle sera utilisée dans les chaudières sans problème et les moteurs pour cogénération après un nettoyage (Demirbas, 2004).

- Hydrolyse

Les prétraitements de la BFR tels que le déchiquetage et le broyage donnent une fraction cellulosique qui peut être transformée en sucres élémentaires grâce à l'action des enzymes. Le plus grand défi de la dépolymérisation est la génération des produits fermentables (Mtui, 2009; Pu et al., 2008).

1.3.2 Valorisation en bioproduits : Les extractibles

L'extraction des HE à partir de la BFR est une solution prometteuse. Le tableau 1.2 présente la composition chimique du bois et des écorces selon le type de l'essence. Ce tableau présente la teneur en extractibles au niveau des écorces qui est faible. Ces extractibles sont des molécules bioactives caractérisées par un faible poids moléculaire et leur abondance dans toutes les structures de l'arbre et qui diffère selon leurs familles. Les extractibles sont des substances volatiles qui contiennent plusieurs composés odorants qui confèrent à la matière végétale l'aspect odoriférant et assurent la résistance de la plante contre les attaques fongiques (Sidik, 2010). Ces molécules sont dans les différents solvants tels que (l'hexane, le dichlorométhane, l'éthanol et l'eau...). Grâce aux procédés d'extraction, les extraits végétaux récupérés appartiennent à plusieurs familles citons : (i) les terpènes et terpénoïdes qui donne des HE qui peuvent être

récupéré et incorporé dans la composition chimique des produits cosmétiques (ii) les cires et graisses (iii) les composés phénoliques tels que les phénols simples, les flavonoïdes et les tannins qui seront utilisés pour les produits de teintures (Royer et al., 2012). Ces extractibles sont largement demandés dans le marché des bioproduits. Ils sont incorporés dans la formule chimique des produits cosmétiques, pharmaceutiques et enrichissent même la palette des parfumeurs (Zhang et al., 2006 ; Bouhlalet al., 2017). L'industrie agroalimentaire utilise aussi les HE comme des arômes ou des agents de conservation pour les aliments grâce à leurs pouvoirs antibactériens et antioxydants. Ces HE peuvent substituer les conservateurs chimiques mutagènes et cancérigènes tels que l'hydroxy toluène butilé (BHT) et l'hydroxyanisole butilé (BHA) (Burt, 2004).

Tableau 1.2 Composition chimique des résineux et feuillus (Royer et al., 2010).

Composition Essences	Cellulose	Hémicellulose	Lignine	Extractibles
Résineux	41- 46 %	25 – 32 %	26 – 31 %	2 – 5 %
Feuillus	42 – 49 %	23 – 24 %	20 – 26 %	3 – 8 %
Écorces	16 – 40 %	38 – 58 %	40 – 50 %	2 -25 %

1.3.2.1 Potentiels du marché québécois des HE

Les HE sont des produits qui existent depuis l'antiquité et répondent à plusieurs besoins thérapeutiques, pharmaceutiques et cosmétiques. Les conifères sont parmi les essences les plus connues au Québec dont l'extraction des HE à partir desquelles se fait depuis 50 ans (Turgeon, 2001). Selon le centre de recherche industriel du Québec (CRIQ), le tiers de la production des HE au Nord-Américain à partir des conifères provient du

Québec alors que le reste de la production provient des États-Unis. Face aux menaces des courtiers, le secteur des HE a confronté une instabilité économique qui a rendu ce marché négligé par le gouvernement et les industriels (Turgeon, 2001). Le Québec est connu par de larges superficies forestières non exploitées et une main-d'œuvre habile qui permet le soulèvement de la bioéconomie des régions. Grâce aux conditions climatiques du Québec, les HE sont plus riches en composés chimiques par rapport aux HE importées. Le Québec est capable d'exporter les HE à l'état brut dans les quatre coins du monde. Ceci est dû à des lacunes au niveau technologique, le manque d'expertise de la main-d'œuvre pour le fractionnement et la purification des huiles et le manque des recherches approfondies dans ce domaine. Par conséquent, cela explique la situation stagnante du secteur des HE au Québec. De ce fait, le financement des petits entrepreneurs ambitieux pourra être une manière pour les motiver et les rendre plus créatifs et novateurs dans ce secteur (Turgeon, 2001).

1.3.2.2 Caractéristiques des conifères

Les conifères sont des essences connus par des propriétés physico-chimiques intéressantes ce qui encourage leurs valorisations. L'épinette noire (*Picea mariana* Mill.), le sapin baumier (*Abies balsamea*) et le pin gris (*Pinus banksiana* Lamb) sont parmi les essences les plus répandues ayant des propriétés physico-chimiques spécifiques et caractérisées par la présence des HE presque dans toutes leurs structures; tels que les aiguilles, les bourgeons, les cônes, les résines et les gommés (sapin) (Risi et al., 1945; Francezon et al., 2017).

1.3.2.2.1 L'épinette noire : *Picea Mariana* Mill

L'épinette noire est une essence originaire de l'Amérique du Nord. C'est un arbre caractérisé par un feuillage persistant. Les feuilles de l'épinette noire sont étalées et ressemblent à des aiguilles linéaires à petites tiges (Zhang et Koubaa, 2009). Les

exploitations forestières de cette essence engendrent des résidus contenant approximativement 13 % de feuillages, 8 % d'écorce et 6 % de branches sur une base humide qui seront utilisés comme matière résiduelle. Ces résidus sont exploités pour l'extraction des HE utilisées couramment en aromathérapie (Francezon et al., 2017). Les HE extraites de l'épinette noire ont une masse volumique de $0,89 \text{ g/cm}^3$. Parmi les constituants majoritaires de ces huiles, on trouve les monoterpènes bicycliques (α -Pinène, β -Pinène) avec une proportion d'environ 63 % et les esters terpéniques comme l'acétate de bornyle avec environ 29,2 % et qui sont responsables des odeurs agréables des HE. Alors que, les composés minoritaires (i.e. les monoterpènes oxygénés et les sesquiterpènes) ont une concentration qui ne dépasse pas les 5 % de la composition totale des huiles (Poaty et al., 2015).

1.3.2.2.2 Le sapin baumier : *Abies balsamea*

Le sapin baumier est une essence originaire de l'Amérique du Nord, appartenant à la famille des résineux à feuillage persistant. C'est une essence très répandue dans les forêts du Québec et qui domine la sapinière à bouleau blanc. Les aiguilles sont aplaties et leur taille varie entre 15 à 25 mm de longueur (Zhang et Koubaa, 2009). En effet, les feuilles et aiguilles ont des actions thérapeutiques grâce à leurs teneurs élevées en composés odorantes (Royer et al., 2010). Les HE extraites du sapin baumier ont une odeur résineuse balsamique et une masse volumique de $0,814 \text{ g/cm}^3$ (Poaty et al., 2015; Burdock, 2016). Les HE du sapin peuvent être utilisées dans les breuvages non alcoolisés, les produits de boulangerie et les sucreries avec des concentrations variables (Burdock, 2016).

1.3.2.2.3 Le Pin gris: *Pinus banksiana Lamb*

Le pin gris caractérise les forêts boréales localisées dans les régions froides et

tempérées de l'Amérique du Nord (Zhang et Koubaa, 2009). L'extraction des HE à partir des feuilles du pin gris est une voie de valorisation de cette BFR et présente un rendement de 0,2 % de poids des aiguilles (Poaty et al., 2015). Ces HE sont des liquides transparents caractérisés par une odeur typique légèrement poivrée. Les aiguilles du pin gris sont utilisées pour produire du thé riche en composés phénoliques. Le tableau 1.3 présente les composés majoritaires des HE extraites du sapin baumier, de l'épinette noire et du pin gris.

Tableau 1.3 Composition chimique des HE du sapin baumier, l'épinette noire et le pin gris (Poaty et al., 2015)

Essence	Paramètres	Monoterpènes	Monoterpènes oxygénés	Sesquiterpènes	Esters
Sapin baumier	Concentration	84,9%	1,3%	0,6%	9,1%
	Composées majoritaires	α - pinène; β -pinène; Limonène	α -tepeniol	β -caraphyllène	Acétate de bornyle
Épinette noire	Concentration	63,5%	2,6%	1,6%	29,2%
	Composées majoritaires	α -pinène; camphène γ -3-carène	α -tepeniol 1,8-cinéole	β -caraphyllène	Acétate de bornyle
Pin gris	Concentration	85,9 %	2,7 %	0,2 %	8,2 %
	Composées majoritaires	α -pinène; camphène	α -tepeniol; 1,8-cinéole	β -caraphyllène	Acétate de bornyle

1.3.2.3 Impact du prétraitement et du conditionnement de la BFR sur les HE

Les prétraitements de la BFR ont une influence sur la quantité et la qualité des HE extraites. En effet, le broyage est une technique qui entraîne la réduction de la taille de

la biomasse pour améliorer la surface de contact avec la vapeur d'eau durant l'extraction. Cependant, il peut y avoir des pertes en termes de rendement en HE dû à l'adsorption sur les parois du broyeur ou qui peuvent être volatilisées à l'air libre due à l'atteinte d'un point d'équilibre avec la température ambiante (Tischer et al., 2017). Néanmoins, le conditionnement de la BFR fragmentée est accompagné par des réactions exothermiques. Ces réactions entraînent des pertes en matières par des attaques fongiques et bactériennes qui peuvent atteindre environ 25 %, et engendrer une réduction du pouvoir énergétique (Douville et al., 2006). En effet, les phénomènes de dégradation dépendent généralement de l'essence forestière, de la teneur en humidité, de la granulométrie et de la durée de stockage. L'étude de Kim et al. (2012) a montré que les attaques fongiques entraînent des pertes en poids du bois car ils dégradent les composés chimiques tels que la lignine et cellulose pour consommer leurs molécules de carbones. Par conséquent, il est nécessaire de transformer la biomasse immédiatement après la récolte e plus, pour éviter les risques de dégradation bactérienne ou fongique de la biomasse et inhiber l'activité enzymatique après la récolte, il est préférable de procéder immédiatement à la distillation (Desmares et al., 2008).

1.2.3.4 Composition chimique de la BFR

Le fonctionnement de la plante se base sur deux métabolites primaires et secondaires pour assurer une productivité et une croissance continue. Les métabolites primaires assurent la croissance, la photosynthèse et la transpiration alors que les métabolites secondaires permettent la synthèse de différents composés chimiques « les extractibles » qui contribuent aux propriétés odoriférantes, aromatiques et aussi à la couleur de la plante. Les extractibles présentent une forme de résistance de la plante contre les herbivores, les attaques fongiques et les stress environnementaux qui peuvent avoir lieu (Turtola, 2005; Royer et al., 2012). La BFR possède une faible teneur en

extractibles qui peut atteindre 10 % de son volume à base humide. Depuis 2013, très peu d'études exhaustives ont été menées sur les compositions chimiques des conifères et leurs propriétés (Royer et al., 2013). Ces composés sont classés en trois catégories : i) les polyphénols, ii) les cires et les résines, iii) les terpènes et les terpénoïdes. Les terpènes et terpénoïdes sont les composés majoritaires des HE des conifères et qui se trouvent presque dans les différentes structures de la plante. Ces composés appartiennent à la famille des hydrocarbures et sont synthétisés durant la photosynthèse. Les terpènes présentent des intérêts considérables et participent dans les réactions antibactériennes et les réactions d'oxydation. Ces derniers sont constitués par un nombre d'unités iso terpénique variable à savoir : les hémiterpènes (C5), les monoterpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les di terpènes (C20), les sesterpènes (C25), les triterpènes (C30), les caroténoïdes (C40) et les polyisoprènes (Cn) (Figueredo, 2007, Royer et al., 2010). Dans le cas d'extraction des HE, les monoterpènes et les sesquiterpènes sont entraînés facilement par la vapeur d'eau alors que les autres composés sont incapables de se volatiliser directement (Couic-Marinier et al., 2013). Le α -pinène, β -pinène et δ carène sont parmi les composés majoritaires des HE du pin et de l'épinette (Kubeczka, 2009). Considérant leurs activités biologiques et leurs utilisations thérapeutiques, ils sont toujours recherchés. Pour les résines, l'étude de Croteau et al. (1985) a montré que les conifères présentent des canaux résinifères développés et produisent de la résine qui est un mélange des composés terpéniques. Comme forme de lutte, la plante secrète des résines secondaires suite à une blessure de l'arbre. De ce fait, la résine joue un rôle majoritaire pour résister contre les différents types d'attaques des herbivores et des pathogènes. En effet, cela pourra affecter la concentration des terpènes (Royer et al., 2010).

Les composés phénoliques sont omniprésents dans tous les tissus des végétaux, ils sont caractérisés par un cycle aromatique et une liaison hydroxyle. Ces composés se trouvent toujours sous leurs formes conjuguées, car les formes libres sont parfois

toxiques. La biosynthèse des polyphénols est toujours en lien avec la biosynthèse de la lignine qui est formée par des phénylpropanes (Royer et al., 2010). Ces composés assurent la durabilité de certaines essences grâce à leurs capacités de piéger les radicaux libres et de bloquer les réactions enzymatiques et antifongiques (Schultz et al., 2002). Les flavonoïdes et les acides phénoliques protègent la plante contre les dommages des rayonnements ultraviolets et réagissent ainsi comme des antioxydants (Turtola, 2005). Les recherches menées pour identifier les propriétés des polyphénols ont trouvé que la coloration du bois est la résultante des groupements chromophores, issus de l'acide phénolique, des tannins condensés, des quinones et des flavonoïdes qui sont capables d'absorber la lumière visible (Royer et al., 2010).

1.3.3.5 Définition des HE

Substances très répandues sur la planète terre, les HE sont des extraits qui ne contiennent pas des substances grasses comme les huiles synthétiques. Ce sont des extraits des plantes, elles forment un mélange de plusieurs composés odorantes et phénoliques concentrés dans un végétal. Ces composés pourront être appelés aussi des chémotypes. La teneur en HE varie d'une plante à une autre selon les conditions physiologiques de la plante, les sécrétions hormonales, les apports hydriques et les conditions climatiques (Hilan et al., 2011). Ces substances sont localisées dans plusieurs organes de la plante tels que : les feuilles, les fleurs, les cônes, les écorces et les racines. L'extraction de ces mélanges odorantes complexes s'effectue par plusieurs méthodes telles que : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur, l'extraction par solvants organiques, l'extraction par dioxyde de carbone supercritique, microondes et ultrasons (Lucchesi et al., 2004). La synthèse de ces extractibles est influencée par plusieurs facteurs : tels que les facteurs génétiques, environnementaux, géographiques, le moment de récolte et la méthode d'extraction (Cosentino et al., 1999).

1.3.3.5.1 Paramètres influant la quantité et qualité des HE

La biosynthèse des HE est effectuée par des métabolites secondaires au niveau de la plante qui dépend de plusieurs facteurs externes. La température, l'ensoleillement, les conditions édaphiques, la variation des saisons et la localisation géographique. De plus, les stades végétatifs de la plante ont un impact sur les sécrétions des HE (Figueiredo et al., 2008). Pour conclure, les activités d'aménagement forestier et les cultures sylvicoles ont une influence (Schmidt, 2009).

- Variation intra-individuelle de la plante

La synthèse des HE dépend du stade végétal de la plante et de la phase de différenciation des cellules sécrétrices. Ainsi, les agrumes sont parmi les espèces très riches en composés odorants. De ce fait, des études ont montré que l'huile des feuilles de pamplemousses se caractérise par une teneur élevée de sabinène et de β -ocimène, par contre l'écorce contient principalement de β -pinène, γ -terpinène et de limonène (Gancel et al., 2002). D'autres études ont trouvé que les HE du persil qui sont riches en apiol et myristicine. En outre, la myristicine domine chez l'espèce de persil à feuilles frisées alors que l'apiol domine chez les espèces racinaires (Schmidt, 2009).

- Conditions environnementales

Les conditions affectent directement la capacité de la plante à synthétiser des HE. En effet, les industries des arômes sont affectées par les variations des conditions météorologiques. Les catastrophes naturelles telles que les cyclones, la sécheresse et les inondations ont des conséquences alarmantes sur la physiologie et les métabolites du végétal. Citons, les ouragans qui ont touché la Floride en 2004 et qui ont causé 25 % des pertes dans la culture des oranges et 63 % pour les pamplemousses. L'Indonésie aussi a été victime de la sécheresse qui a abaissé sa production en poivre environ deux tiers par rapport à sa production mondiale (Figueiredo et al., 2008). Selon Turtola

(2005), les conditions environnementales affectent les métabolites secondaires de la plante. En effet, la teneur en terpènes et les résines augmentent suite à la sécheresse. De plus, les substances volatiles retenues dans les cellules de la plante se concentrent davantage suite aux conditions de stress hydrique chez certaines espèces comme l'*Ocimum basilicum* et l'*Antemisia annua* (Turtola, 2005). La sécheresse est parmi les facteurs qui perturbent les métabolites de la plante. D'un côté, elle engendre une variation au niveau de la photosynthèse, modifie l'absorption des nutriments, du carbone, des sucres et des acides aminés. De l'autre côté, elle entraîne la formation de plusieurs composés monoterpéniques, en particulier ceux de l' α et β pinène, myrcène, limonène et β -phéllandrène (Figueiredo et al., 2008). L'étude de Kamatou et al. (2008) a montré des variations du rendement en HE pour certaines espèces durant la période de la floraison et qui passe de 0,07 % en juillet jusqu'à 0,19 % en août pour *Salvia africana-caerulea*. Pendant la période juillet-août, les HE ont été secrétées davantage pour maximiser la pollinisation. La concentration de β -phéllandrène, limonène et 1,8-cineole augmente avec la diminution de la température (Palá-Paúl et al., 2001). La synthèse de certains composés est plus intense durant la période végétative telle que la synthèse des hydrocarbures sesquiterpéniques pour la plante de *Archilliamille folium* tandis que les hydrocarbures monoterpéniques sont majoritaires pendant la période de floraison (Figueiredo et al., 2008).

- Rayonnement ultra-violet

Les conditions de stress environnementales comme la sécheresse et les rayonnements ultraviolets augmentent la capacité de la plante pour produire plus d'oxygène actif comme forme de défense. La sécrétion des substances antioxydantes au niveau de la plante assure une prospérité et une résistance contre les conditions de stress hydrique (Turtola, 2005). Les rayonnements ultraviolets (UV) entraînent une augmentation de l'épaisseur épidermique et une diminution de la surface foliaire. Ceci favorise la

synthèse de la cire et réduit le taux de transpiration et améliore la résistance de la plante contre la sécheresse (Bassman et al., 2001; Hofmann et al., 2003; Caldwell et al., 2007). De plus, les UV favorisent la sécrétion des terpènes chez les plantes aromatiques, néanmoins, cela n'a pas d'effet sur les conifères (Johnson et al., 1999). L'étude de Turtolas (2005) s'est basée sur l'étude des conifères tels que le pin sylvestre et l'épinette de Norvège. Le rayonnement n'a pas d'effet sur ces essences, car ces dernières nécessitent beaucoup d'ensoleillement pour leurs croissances. Un point de plus à évoquer, les aiguilles des conifères ont une surface réduite, munie d'une cuticule cireuse et épaisse riche en composés phénoliques. Ces derniers favorisent leurs protections contre les rayonnements ultraviolets (Turtola, 2005).

- Le stockage

La biosynthèse des HE est en lien avec les techniques de stockage de la biomasse après sa récolte. La lumière, la température, le taux d'humidité et le niveau d'aération sont des paramètres qui affectent la composition des HE et leurs quantités. Dans d'autres cas, après la récolte, certaines espèces subissent des phases de maturation pour développer l'arôme suite à l'action de certaines enzymes. Par exemple les gousses de la *Vanilla planifolia* subissent après la récolte un durcissement de la paroi qui entraîne la réaction entre les enzymes hydrolytiques (β glucosidase et autre glycosyl-hydrolases) qui catalysent les substrats (glucovanilline et autres) pour libérer les substances aromatiques de la plante comme la vanilline (Havkin-Frenkel et al., 2007).

- Effet des méthodes d'extraction

Il existe différents types de procédés d'extraction des HE sont différents, et changent selon les besoins des producteurs qui cherchent toujours le gain énergétique. Le tableau 1.4 présente le principe et les paramètres affectant le procédé d'extraction (température, pression, utilisation de solvant), aussi, les avantages et les inconvénients de chaque méthode d'extraction en termes de rendement, qualité en HE et impact sur

l'environnement. L'extraction des HE à partir des tissus d'un végétal est assurée par le phénomène de diffusion qui est un processus long. L'entraînement des composés volatils dépend de plusieurs facteurs tels que : la quantité de la fraction lipidique de la plante, le degré de solubilité des composés volatils, les gradients de pression totale et les gradients de la température durant le procédé d'extraction (Djerrari, 1986). Le phénomène d'extraction suit le principe de la loi de Fick (Équation 1).

$$\text{Loi de Fick : } J_j = -\rho D_{ij} \nabla_{c_j} \quad [1]$$

J_j : Flux massique ($\text{kg.m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),

ρ : Masse volumique (kg.m^3)

D_{ij} : Coefficient de diffusion binaire ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$),

∇_{c_j} : Fraction massique (sans unité)

Hydrodistillation

Cette méthode consiste à immerger le matériel végétal en contact direct avec l'eau et porter l'ensemble à ébullition à pression atmosphérique. L'augmentation de la température engendre l'éclatement et la pénétration de l'eau qui solubilise les HE. Ensuite, la libération des molécules volatiles retenues dans les cellules. La vapeur récupérée sera chargée avec les substances aromatiques et sera par la suite refroidie dans un condensateur. Enfin de l'extraction, l'hydrolat sera recueilli dans l'essencier. Les HE ont une densité plus faible que l'eau qui est aux alentours de (0,8 - 0,9). Cette faible densité favorise leur flottation à la surface de l'eau florale et la séparation des deux phases (Lucchesi, 2005). L'exposition pour une longue durée de la matière végétale avec l'eau engendre des modifications de la composition chimique des HE. L'hydrolyse partielle des esters, l'isomérisation, l'oxydation, la solubilisation de

certaines composés et libérations des notes de brûlé résultent suite à ce contact prolongé (Guenther, 2013).

L'entraînement à la vapeur

C'est une méthode qui s'effectue par la diffusion HE de milieu intracellulaire de la plante vers l'extérieur par le passage d'un flux de vapeur sans contact avec l'eau. Les vapeurs récupérées entraînent les composés volatils de la plante qui seront refroidis. Il y a apparition de deux phases non miscibles : une phase aqueuse qui est l'eau florale et une phase organique qui contient les HE. La figure 1.7 schématise les quatre principales étapes qui se déroulent pendant l'entraînement à la vapeur :

- 1- Condensation de la vapeur d'eau saturée sur les surfaces de la matrice accompagnée avec un apport de chaleur par le phénomène de convection
- 2- Augmentation de la température de surface rapidement et propagation de la chaleur par conduction au cœur de la matrice solide avec un gradient de température entre la surface et l'intérieur
- 3- Migration par diffusion, capillarité ou osmose des composés volatils retenus dans les cellules. Ces passages des composés dépendent principalement du gradient de la température, structure et perméabilité de la paroi, la porosité et surface spécifique.
- 4- Diffusion des composés volatils à la surface avec une température comparable à celle de la vapeur. Enfin ces composés seront entraînés à la surface du condenseur avec une pression partielle correspondante pour chacun.

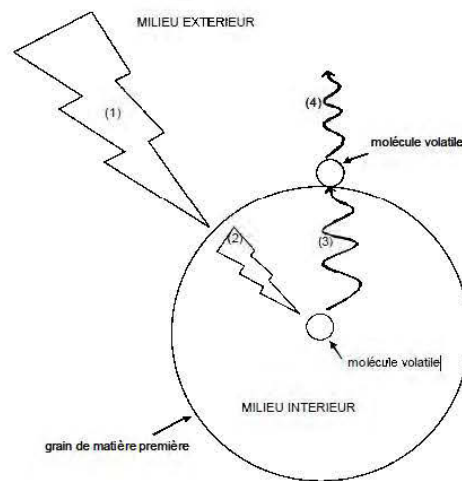


Figure 1.7 Processus de transfert de la matière pendant l'extraction par entraînement à la vapeur (Besombes, 2008)

Extraction assistée par microondes

L'extraction par micro-ondes s'effectue de l'intérieur vers la périphérie de la cellule végétale. Cela peut engendrer des forces de pression plus élevées qui entraînent l'éclatement d'un nombre plus élevé de cellules. L'extraction classique par (HD, hydro diffusion, ou entraînement à la vapeur d'eau) se prolonge pour une longue durée tandis que l'extraction assistée par micro-ondes est aux alentours de 30 minutes (Moradalizadeh et al., 2013). La puissance des micro-ondes est un paramètre qui doit être contrôlé par rapport à la quantité du végétal. Dans le cas d'utilisation d'un solvant lors de l'extraction combinée, les puissances appliquées peuvent être 45 fois supérieures à la masse du végétal à traiter alors que pour une HD assistée par micro-ondes, elle nécessite des puissances plus élevées aux alentours de 1200 W (Lucchesi, 2005). Des études ont montré que le temps d'extraction et le volume d'eau auront un impact sur la qualité des HE. En effet, l'augmentation de ces deux paramètres engendre

une accumulation des composés hydrolytiques et une réduction des composés oxydatifs (Wang et al., 2006). Les travaux de Pare et al. (1991), ont montré que la technique de l'HD combinée avec une microonde est une méthode plus rapide en termes de temps d'extraction et entraîne une amélioration du rendement tout en favorisant l'extraction des composés volatils (Pare et al., 1991). D'un point de vue qualitatif, l'extraction des HE assistée par microondes à partir des feuilles de myrte a entraîné l'apparition du 71 % du nonacosane alors que sa concentration était nulle suite à l'hydrodistillation (Chemat et al., 2006).

Extraction par solvants organiques

L'extraction par solvant organique consiste à faire attaquer la matière végétale par un solvant tel que l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le dichloroforme ou l'acétone, et le laisser macérer pendant une durée fixée puis éliminer le solvant pour récupérer les extraits de la plante. Cette méthode est coûteuse, car elle nécessite des quantités importantes de solvants. De plus, les solvants causent des problèmes de toxicité et de gestion des déchets (Atz Dick et al., 2017).

L'extraction par CO₂ supercritique

Parmi les méthodes innovantes, l'extraction par CO₂ supercritique s'effectue grâce à l'abondance de CO₂ dans l'atmosphère, la biosphère, et constitue 0,03 % de l'air. Le principe de l'extraction avec cette méthode consiste à mettre la matière végétale dans l'extracteur, le CO₂ est acheminé vers l'extracteur après avoir été comprimé et chauffé à 30°C ou 40°C. Il est ensuite chargé en extractibles pour être détendu. Une détente isotherme de l'état supercritique à l'état gazeux qui entraîne la séparation de soluté du gaz dans le séparateur.

Tableau 1.4 Différentes méthodes d'extraction des HE

Méthodes d'extraction	Principe	Avantages et Inconvénients	Références
Distillation à la vapeur	Le matériel végétal est en contact direct avec la vapeur d'eau qui est ensuite condensée. La récupération se fait dans un séparateur d'où la dispersion d'HE dans l'eau s'effectue.	Méthode très simple Pas de dépenses énergétiques, perte de temps	(Vinatoru, 2001).
Extraction par solvant	La séparation des huiles de solvant se fait par évaporation du solvant à des températures élevées.	Méthode efficace lente, coûteuse Nécessite des températures élevées (dégradation de quelques constituants des HE)	(Hu, 2011)
Hydrodistillation	Le matériel végétal est submergé dans l'eau qui va être chauffé jusqu'à ébullition. Le mélange est récupéré au niveau d'un essencier, après son passage dans le refroidisseur	Méthode efficace, mais lente pour 100g (4h) Consommation d'importantes quantités d'eau.	(Lucchesi, 2005).
Extraction avec un fluide supercritique	L'extraction requiert un fluide supercritique (e.i. CO ₂ en présence d'un solvant organique).	Méthode efficace et à faible coût Pas de dégradation oxydative des lipides	(Nossack et al., 2000; Spigno et al., 2009; Otlés, 2016)
Extraction par ultrasons	Les ondes sonores exercent des vibrations au niveau des parois cellulaires des plantes, ce qui améliore l'extraction.	Réduction du temps d'extraction	(Vinatoru, 2001; Bousbia et al., 2009; Saikaew et al., 2009)
Extraction par micro-ondes	Le chauffage de matériel végétal se fait de l'intérieur vers la périphérie, ce qui engendre l'augmentation de la pression de l'eau à l'intérieur des cellules ce qui favorise l'éclatement des cellules et le déversement de leur contenu dans le milieu extérieur.	Efficacité environnementale Méthode rapide Économie de temps, d'eau, pas de solvant résiduel.	(Lucchesi, 2005; Chemat et al., 2006; Hu, 2011)
HD combinée avec micro-ondes	C'est une méthode qui nécessite pour 100 g de matériel végétal : des puissances (1200 watt) et durée 15 min.	Bon rendement, rapide (75 min), faible coût	(Stashenko et al., 2004; Chemat, 2005)

1.4 Les applications des HE

1.4.1 Pouvoir antioxydant des HE

Dernièrement, les consommateurs évitent les produits gorgés de substances chimiques et s'orientent vers des produits naturels sans additifs chimiques. Ils doutent des toxicités et le risque des maladies mutagènes et cancérigènes (Williams et al., 1999). En effet, les extraits des végétaux étaient toujours employés pour améliorer la saveur, la couleur et le goût des aliments. En outre, ils peuvent agir comme des agents de conservation et préservation contre les réactions d'oxydations. En effet, un antioxydant est défini comme une substance qui agit à faible concentration et inhibe l'activité d'une substance oxydable. Les antioxydants cherchent à réduire l'activité des radicaux libres en radicaux moins réactifs (Figure 1.8). Ils forment la première barrière envers les radicaux libres et maintiennent la stabilité d'un produit ou d'un organisme (Yadav et al., 2016). Les radicaux libres sont des molécules dérivées de l'oxygène ayant des électrons libres sur leurs couches externes. Ces électrons cherchent toujours leurs stabilités et sont capables même d'arracher d'autres électrons d'autres composés tels que les protéines, les acides aminés, les lipides et l'ADN (McCord, 2000).

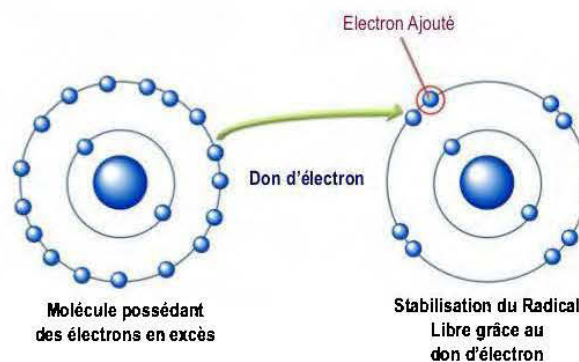


Figure 1.8 Action des antioxydants naturels pour neutraliser les radicaux libres (McCord, 2000)

Le phénomène de stress oxydatif est la résultante des agressions biologiques des radicaux libres sur les cellules. Il est irréversible causé par les radicaux libres qui sont instables et cherchent à récupérer des électrons ou protons aux alentours pour se stabiliser (Rolland, 2004). De plus, l'oxydation induit des réactions de peroxydations en continu jusqu'à engendrer un désordonnement de la membrane et un déséquilibre lors de l'échange membranaire (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Les antioxydants naturels sont parmi les composés chimiques majeurs habituellement présents dans les HE qui réduisent ces réactions. Les composés phénoliques, les vitamines et les caroténoïdes participent aussi à la réaction d'oxydation (Hellal, 2011). Ils ont plusieurs propriétés préventives et permettent d'éviter le rancissement des aliments et évitent la dégradation des propriétés organoleptiques d'un produit (Yadav et al., 2016). Le mécanisme de l'activité antioxydante pourra se faire par deux méthodes : soit par le piégeage des radicaux qui sont capables d'interrompre une chaîne de catalyse en lui cédant un atome d'hydrogène (HAT) comme suit : $AH + R\cdot \longrightarrow A\cdot + RH$, soit par le don d'une molécule stable (Dehariya et al., 2018) ou soit par le transfert d'un électron (Rolland, 2004).

1.4.1.1 Natures des antioxydants

Les antioxydants peuvent être répartis en deux catégories : synthétiques et naturels.

- Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont incorporés dans la composition chimique de plusieurs produits alimentaires et cosmétiques grâce à leurs hautes performances, faible coût et la disponibilité sur le marché (Xiu-Qin et al., 2009). La figure 1.9 montre des exemples d'antioxydants synthétiques tels que : le (BHT) hydroxytoluènebutilé, le (BHA) hydroxyanisolbutilé, le (GP) gallate de propyle et le (BHQT) butylhydroquinone tertiaire (Guan et al., 2005). L'utilisation de ces antioxydants est régulée par les autorités (André et al., 2010). Malgré leurs efficacités, les antioxydants synthétiques suscitent des inquiétudes quant à leur toxicité et leur mutagénicité. Cela incite les industriels à trouver des alternatives économiques et rassurantes (Williams et al., 1999).

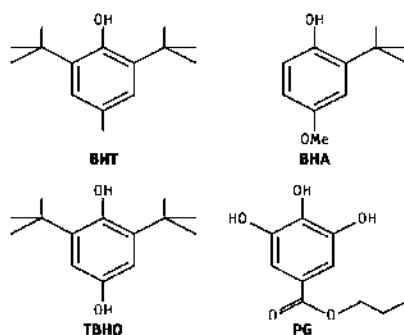


Figure 1.9 Structures de quelques antioxydants synthétiques (Guan et al., 2005)

- Antioxydants naturels

La substitution des additifs chimiques par des produits naturels ces dernières années est devenue une tendance (Pokorný, 1991). En effet, les antioxydants naturels sont parmi les composés chimiques majeurs habituellement présents dans les HE. Parmi lesquelles il y a : les terpènes oxygénés, les composés phénoliques, les vitamines et les caroténoïdes qui participent à la réaction d'oxydation (Hellal, 2011). Ces derniers piègent et inhibent la chaîne de genèse des radicaux libres (Podsędek, 2007). Ils sont capables de céder les atomes d'hydrogène grâce à leurs groupements hydroxyles et qui seront capables à inactiver des oxydants (Bougandoura et al., 2013). Ils ont plusieurs propriétés préventives qui permettent d'éviter le rancissement des aliments et évitent les pertes des propriétés organoleptiques d'un produit (Yadav et al., 2016). La majorité de ces composés sont formés par un noyau aromatique et un groupement hydroxyle (Shahidi et al., 1999). Le tableau 1.5 présente les antioxydants naturels les plus connus.

Tableau 1.5 Les antioxydants naturels et leurs propriétés physico-chimiques.

Les antioxydants	Propriétés	Références
Les polyphénols	Préviennent les maladies cardiovasculaires et le cancer. Préserve les propriétés organoleptiques des aliments.	(Dimitrios, 2006).
Les flavonoïdes	Capable de piéger les différentes gammes d'oxygènes, d'azote et les espèces chlorées.	(Halliwell et al., 2005).
Les caroténoïdes	Capable d'interrompre les réactions d'initiation et prolongation des radicaux libres	(Di Mascio et al., 1991)
La vitamine C	Participe à la deuxième ligne de défense contre le stress oxydatif. Capables de capter les radicaux libres et facilitent le transport des électrons vers la membrane plasmique.	(Podsędek, 2007)

Il existe plusieurs méthodes de détermination de ces composants (Tableau 1.6) et qui sont classées en 3 groupes.

- Méthodes indirectes pour la détermination des phénols totaux par réduction du Fe^{2+} .
- Méthodes qui utilisent les méthodes de l'oxydation lipidique.

Méthodes basées sur le piégeage des radicaux libres : i) Capacité d'absorbance du radical d'oxygène (ORAC), ii) Potentiel antioxydant réactif total (TRAP), iii) Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Tableau 1.6 Différentes méthodes pour la détermination du pouvoir antioxydant des HE

Méthodes	Principe	Avantages et inconvénients	Références
Méthode de DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)	La réduction se fait virage de la coloration de violette du DPPH en jaune suite à 517 nm. La concentration en antioxydant est en lien direct avec la diminution de la coloration qui est en rapport avec la coloration de la solution.	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode simple peu coûteuse. - Les antioxydants ne réagissent pas tous à cause de la stabilité du DPPH. - La réaction réversible donc la quantification n'est pas exacte des antioxydants. 	(Huang et al., 2005; Tolba, 2016)
Méthode de réduction de fer (FRAP)	Cette méthode s'effectue par un transfert d'électron, durant laquelle il y a une réduction du fer ferrique en fer ferreux (coloration bleue).	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode simple et économique. - Rapide d'où pas la totalité des phénols qui vont réagir. 	(Tolba, 2016)
Dosages des phénols totaux (Folin-Ciocalteu)	Un virage de la coloration qui donne un oxyde bleu de tungstène et de molybdène. L'intensité de la coloration témoigne la quantité des polyphénols de l'échantillon.	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode simple et peu coûteuse - Le réactif de Folin réagit aussi avec les sucres réducteurs et les sulfites. 	(Prior et al., 2005; Tolba, 2016)
ORAC (oxygène radical absorbance capacity)	Les antioxydants durant cette réaction cèdent leurs hydrogènes et retardent la dégradation de la molécule cible. D'où la diminution de l'intensité de fluorescence.	<ul style="list-style-type: none"> - Pertinence biologique aux antioxydants. - Méthode sensible aux variations de la température. 	(Huang et al., 2005; Tolba, 2016)

1.4.2 Activité antibactérienne des HE

Les HE sont des extraits dotés de plusieurs propriétés. En 1881, Delacroix a découvert la capacité des HE à attaquer des souches bactériennes (Boyle, 1955; Burt, 2004). Grâce à leurs pouvoirs antibactériens, les HE sont incorporées dans la formulation chimique de plusieurs produits pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires. Particulièrement, l'industrie alimentaire projette ses lumières sur les HE et leurs potentiels et cherche à remplacer les additifs alimentaires. D'une part, ces extractibles conservent les aliments et préservent leurs qualités organoleptiques. D'autre part, ils inhibent le développement des microorganismes (Burt, 2004). L'activité antibactérienne est une propriété qui caractérise les HE par rapport aux autres extractibles végétales. L'étendue d'action des HE est large et permet d'anéantir un nombre important de bactéries et même d'autres souches qui ont développé des résistances à des antibiotiques (Kalemba et al., 2003). Ce pouvoir est en lien direct avec la nature des composés chimiques des huiles et leurs concentrations (Burt, 2004). D'ailleurs, les HE contiennent des hydrocarbures cycliques qui sont lipophiles ceci leur confère la capacité de se lier avec les lipides et les protéines cellulaires de la membrane cellulaire des bactéries et sont capables d'interrompre l'interaction lipide-protéine (Knobloch et al., 1986). Par conséquent, ils entraînent un gonflement de la bicouche membranaire, une altération du fonctionnement de la membrane et cause la déstabilisation des structures et les rend plus perméables (Sikkema et al., 1994; Chi et al., 2019). Cette perméabilité engendre la migration des ions et constituants intracellulaires responsables à la survie des cellules (Burt, 2004). Les hydrocarbures qui constituent les HE peuvent aussi modifier l'action des enzymes impliquées dans la régulation de l'énergie et la synthèse de composant structurel (Conner et al., 1984). Il existe plusieurs types de bactéries, tandis que, les HE agissent mieux sur les Gram positif que les Gram négatif. Les Gram négatif résistent plus à cause de la nature de leur paroi cellulaire qui réduit la pénétration des composés hydrophobes à travers des

revêtements lipopolysaccharidique (Burt, 2004). La figure 1.10 illustre la structure d'une cellule bactérienne.

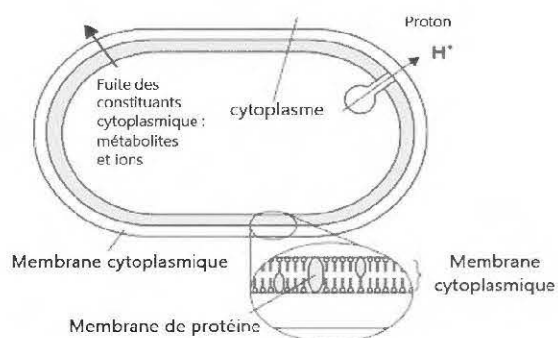


Figure 1.10 La structure de la membrane cytoplasmique d'une cellule bactérienne (Burt, 2004)

Une étude a montré que l'activité antibactérienne par les composés phénoliques est due à la présence des groupements hydroxyles qui contribuent à leur l'activité (Ultee et al., 2002). Le carvacol et le thymol agissent d'une façon différente par rapport aux bactéries gram positif et négatif (Dorman et al., 2000). En effet, les espèces de *Pseudomonas* sont moins sensibles à l'action des HE (Wilkinson et al., 2005). Ils sont dotés d'une membrane contenant des polysaccharides et des composés inactifs qui confèrent une résistance élevée par rapport aux plusieurs types d'huiles. Le genre des *Staphylocoques dorés* présente une sensibilité importante par rapport aux huiles des agrumes, de lavande, de menthe et l'eucalyptus. D'autres huiles extraites à partir des *thymys de la Corée* et *thymus Magnus* sont capables d'inhiber la croissance de

Streptococcus pneumoniae, Samonellatyphimurium, Salmonella entereditiset S. aureus (Burt, 2004).

1.5 Aspect original du projet

Ce projet vise à intégrer de nouvelles étapes dans la chaîne logistique de l'approvisionnement de la BFR. Il traite plusieurs scénarios de prétraitement et conditionnement de la BFR. Très peu d'études ont fait le lien entre les différentes étapes de la chaîne d'approvisionnement et leur influence sur la qualité de l'HE extraites. De plus l'adaptation d'une technologie d'extraction des HE à une méthode de conditionnement de la biomasse est un aspect novateur de ce projet.

1.6 Pertinence du projet en écologie

La valorisation de la BFR en HE est une étude en plein développement qui permettra l'épanouissement de la bioéconomie forestière. Les récoltes de la BFR des parterres de coupes sans modération pourraient causer une altération des propriétés du sol et un appauvrissement du sol en matière organique. Toutefois, il est nécessaire de trouver un équilibre durant la récolte afin d'assurer la fertilité des sols et une durabilité écologique. Les chercheurs ont toujours mentionné l'importance ou la nécessité de faire un équilibre durant la récolte de la BFR qui dépend du type de peuplement (Kim, 2001). Par exemple, les sols du pin gris sont des sols fragiles et tolèrent mal la récolte, tandis que l'épinette noire tolère des taux de récolte atteignant 50%. La récolte des résidus facilite la croissance des jeunes arbres et réduit le nombre des tiges entraîné par les ruisseaux. L'abattage des arbres malades augmente la résistance des peuplements forestiers des attaques fongiques. De même, des analyses statistiques ont montré qu'au Canada 50 % de la BFR a été récupérée. La densification en granule ou sous forme de fagots sont des pratiques qui visent à améliorer le maillon de la logistique et minimiser la taille de la BFR sur les sites de récoltes. Le développement de ces méthodes de

conditionnement permettrait de réduire le nombre et le coût des moyens de transport. De plus, réduire la consommation des carburants fossiles qui engendre des émissions des GES. Récemment, les chercheurs se sont focalisés sur les effets environnementaux plus précisément l'émission des composés organiques naturels dans l'atmosphère (Kim, 2001). En effet, ils ont démontré que les substances dégagées par les arbres auraient un impact sur la qualité de l'air. Le α pinène et β pinène sont les composés monoterpéniques majoritaires qui sont capables de réagir avec l'ozone atmosphérique, les radicaux libres et NO_3 , par conséquent, ils sont liés aux changements climatiques (Kim, 2001). À l'échelle des procédés d'extraction, les générateurs d'électricité des appareillages de l'hydrodistillateur rejettent des quantités de dioxyde de carbone qui sont équivalents à (3464 g de CO_2 / g d'HE) (Ferhat et al., 2006). Alors que l'entraînement à la vapeur est une technique écoresponsable qui réduit les émissions de CO_2 dans l'atmosphère et évite l'utilisation des solvants organiques. (Golmakani et al., 2008). Ce projet vise à démontrer l'opportunité de développer des produits écoresponsables pouvant être des alternatives vertes à des composés pétrochimiques ou synthétiques actuellement utilisés par divers marchés d'application

CHAPITRE II

APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE

2.1 Objectifs et hypothèses

L'objectif général du projet est d'étudier l'effet de l'ajout de nouvelles étapes dans la chaîne logistique d'approvisionnement et prétraitement de la BFR sur l'efficacité des procédés d'extraction des HE et leur composition chimique.

Pour ce faire, les objectifs spécifiques suivants ont été fixés et à chaque objectif spécifique, au moins une hypothèse lui a été attribuée :

1. Évaluer l'effet des prétraitements mécaniques (broyage et granulation) de la BFR sur le rendement et la qualité des HE extraite par hydrodistillation.

H.1.1. La densification de la BFR sous forme de granules pour l'extraction des HE est une nouvelle application qui dépendra des paramètres de granulation. Les ratios de compression (faible et modéré) qui seront appliqués améliorent le rendement et la composition chimique des HE. Plus le ratio de compression augmente, plus les granules seront compactés et la surface de contact des particules avec la vapeur d'eau deviendra faible d'où le rendement en HE diminue.

H.1.2. L'extraction des HE a été effectuée par plusieurs procédés pour une BFR soit brute ou broyée. Cependant, aucune étude n'a été menée sur une BFR densifiée en

granules ou en fagots par les méthodes d'hydrodistillation et entrainement à la vapeur. Ces procédés montrent une amélioration du rendement en HE.

H.1.3. Le type d'essence est un facteur influant sur le rendement des HE. Les différentes méthodes de prétraitements seront appliquées sur les trois essence et l'évaluation de l'effet sur la composition chimique des HE extraites par les l'hydrodistillation est étudiée. Le sapin baumier, l'épinette noire et le pin gris sont les trois essences qui seront soumises à l'extraction par hydrodistillation et leurs compositions chimiques seront évaluées.

2. Évaluer l'influence de la densification en fagot de la BFR sur le rendement en HE et sur la qualité de la BFR après un temps de vieillissement.

H.2.1. La densification de la BFR sous forme de fagot augmente la productivité en HE et préserve sa qualité. Ce prétraitement permettra l'assemblage de la BFR sans l'intervention des traitements mécaniques et facilite l'entrainement des substances odorantes. 10, 20, 30, 40 et 50 kN sont les niveaux de compression qui seront fixés pour évaluer l'effet de compactage sur la productivité et les propriétés des HE.

H.2.2. La durée du vieillissement des fagots à l'air libre aura un impact négatif sur le rendement et la composition chimique des HE. Ces huiles sont des composées sensibles qui dépendent des conditions du stockage telles que la température, la lumière, le taux d'oxygène et le taux d'humidité.

3. Évaluer l'effet des procédés d'extraction (hydrodistillation et entrainement à la vapeur) sur le rendement et la composition chimique des HE issue des trois essences (sapin baumier, épinette noire et pin gris).

H.3.1. L'entraînement à la vapeur est un procédé qui favorise l'extraction des HE plus concentrée en composés chimiques pendant une courte durée.

2.2 Matériel

2.2.1 Matière première

Les conifères sont les essences les plus répandues dans les forêts boréales. De ce fait, les essences étudiées durant cette étude sont : le sapin baumier (*Abies balsamea*), l'épinette noire (*Picea mariana* Mill) et le pin gris (*Pinus banksiana* Lamb) provenant de la forêt de l'Abitibi-Témiscamingue, plus spécifiquement du site Taschereau localisé au nord de Belcourt, Québec (Figure 2.1). Ces résidus de biomasses contiendront environ 70% d'aiguilles et 30% de branches qui ont des diamètres inférieurs ou égaux à 10 cm sur une base humide. La récolte du sapin baumier et l'épinette noire ont été effectuées pendant la période d'été et l'automne 2018, respectivement. Tandis que le pin gris a été récupéré pendant la période d'hivers 2018. Ces résidus forestiers seront collectés et amenés au laboratoire pour l'extraction des HE et leurs caractérisations.

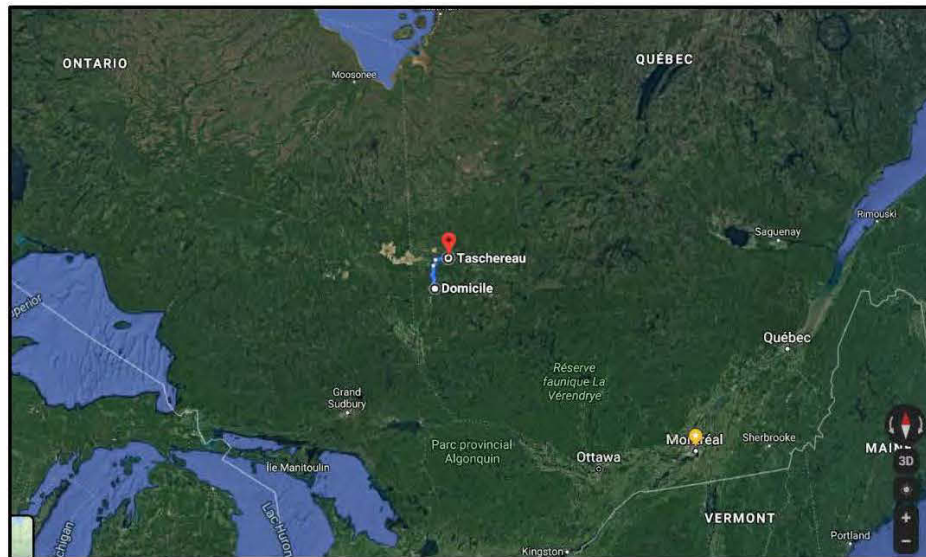


Figure 2. 1 Site de récolte de la BFR du sapin baumier, épinette noire et pin gris de la forêt de l’Abitibi-Témiscamingue, site Taschereau au nord de Belcourt, Québec.

2.3 Méthodes

2.3.1 Description des méthodes de prétraitements et conditions opératoires

Suite à sa réception, la BFR sera répartie en 5 lots (Figure 2.2). Le premier lot subira seulement l’étape de déchiquetage a été effectuée par une déchiqueteuse de branches (Bandit, modèle : 65 XP à disque compact) et donne des particules avec un diamètre variant entre (8 mm -9 mm). Le second lot a subi les deux étapes de déchiquetage et de broyage. Ce broyage a été effectué à l’aide d’un broyeur industriel à marteaux (Schutte Buffalo, Hammer Mill). Ce broyeur est doté d’une grille de passage comportant des mailles de 5 mm de diamètre afin d’assurer une granulométrie plus fine de la biomasse variante entre (1 mm - 2 mm). Le troisième lot a subi les étapes de déchiquetage, de broyage et de densification par granulation. La granulation a été effectuée à l’aide d’une

granuleuse KHAL avec un débit de (50 kg/h). Cette granuleuse présente une chambre de granulation sous forme d'un boîtier renfermant une filière, des rouleaux et un plateau d'éjection. Les filières sont caractérisées par plusieurs ratios de compression variant entre faibles et élevés. Lors de la granulation de la BFR, la filière sera fixée à 6 mm de diamètre. Le but de ce test est de simuler un scénario de conditionnement de la biomasse par densification pour réduire son volume et ainsi augmenter la charge utile lors du transport de la biomasse vers les usines de transformation. Le quatrième lot a été conditionné sous forme de fagots sans aucun prétraitement. La mise en fagots est effectuée par un moule cylindrique placé sous une machine d'essais mécaniques universels, Zwick Roell Z100 de capacité 100 kN. Le but de ce test est de compresser la BFR et réduire sa taille tout en préservant la teneur en HE. Le dernier lot est utilisé comme « témoin » des branches qui n'ont pas subi aucun prétraitement.

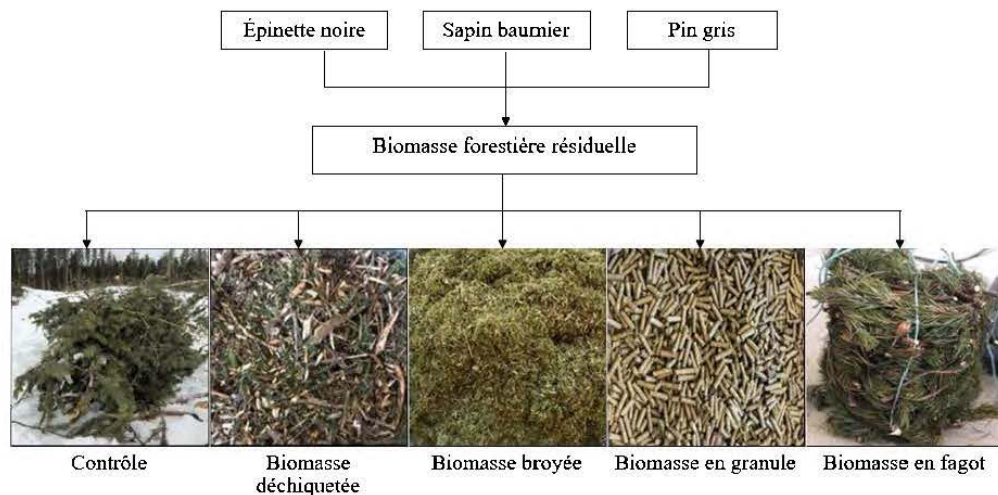


Figure 2.2 Les différentes formes de la BFR avant l'extraction des HE

2.3.2 Évaluation de l'effet de vieillissement sur la qualité de la BFR

Après la mise en fagot, une partie de la BFR subira directement l'extraction, la deuxième partie sera répartie en trois lots. Dans le premier lot, les fagots seront conditionnés à l'air libre étalés sur les périodes suivantes : 7 jours et 21 jours. Durant la période de stockage, le contrôle qui est juste visuel vise à vérifier la présence de proliférations des attaques fongiques à la surface de la biomasse qui sont aptes de détériorer la qualité de la BFR et par conséquent à réduire le rendement en HE. La figure 2.3 illustre la méthodologie suivie pour la préparation de la BFR pour les procédés d'extraction.

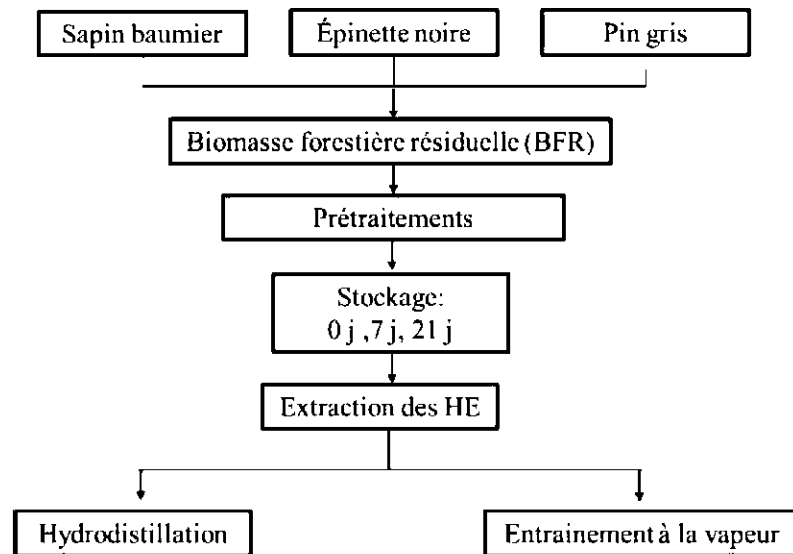


Figure 2.3 La méthodologie suivie pour la préparation de la BFR et l'extraction des HE par hydrodistillation et entrainement à la vapeur

2.4 Procédé d'extraction des HE

2.4.1 Hydrodistillation de la biomasse forestière

Initialement, l'hydrodistillation se fait directement sur la BFR brute fraîchement cueillie afin de prévenir la volatilisation des HE retenus dans les cellules de la BFR. Ensuite, l'extraction est effectuée sur la biomasse déchaquetée, broyée, granulée et en fagot. Cette méthode d'extraction est assurée par un hydrodistillateur (New house Manufacturing Co., USA) muni d'une puissance de 2000 Watt et un alambic de capacité de 34 L. Le dispositif d'hydrodistillation est présenté dans la figure 2.4. La quantité de la matière végétale à distiller est d'environ 5 kg. Les essais d'extraction s'effectuent en triplicata. La durée de chaque extraction varie entre 7 et 8 h. Après l'HD, les huiles extraites sont récupérées et conservées dans des flacons hermétiquement fermés de couleur brune empêchant la pénétration de la lumière et sont conservées à 4°C pour les analyses ultérieures.



Figure 2.4 Dispositif d'extraction des HE (hydrodistillateur)

2.4.2 Procédé d'extraction par entrainement à la vapeur

Pour des raisons de comparaison entre le procédé d'hydrodistillation et d'entrainement à la vapeur, le même dispositif a été utilisé pour extraire les HE. De plus, 5 kg de BFR ont été placés au niveau de l'extracteur. L'entrainement à la vapeur est une méthode qui s'effectue par la création des forces de pression (par un système de création de vide) sur les surfaces de la biomasse. L'ajout d'un baromètre permettra la mesure de la pression de l'hydrodistillateur lors du chauffage. Dès que le montage atteint le niveau de pression voulu, qui variera entre 1 et 3 bars, l'ouverture d'une vanne permettra l'enfouissement de la vapeur d'eau au niveau du condensateur et enfin la récupération des HE. La vapeur générée est issue après une température de 115°C. Le procédé d'entrainement est plus court et durera environ 4 heures.

2.5 Analyses et caractérisations physico-chimiques des HE

2.5.1 Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en HE est le rapport entre le volume des HE extraites et la masse de la biomasse traitée sur une base humide. Le rendement sera calculé selon la formule de l'équation 1. Le taux d'humidité initial de la BFR avant l'extraction et pour chaque lot est présenté dans le tableau 2.1.

$$R (\%) = 100 \times \frac{\text{Quantité des HE récupérées (mL)}}{\text{Quantité du matériel végétal à l'entrée (g)}} \quad [1]$$

Tableau 2. 1 Teneur en humidité de la BFR avant et après le broyage et après la granulation

Teneur en humidité (%)	BFR brute	Après séchage	Après broyage	Après granulation
Sapin baumier	40,0 %	36,0 %	25,0%	20,7%
Épinette noire	50,0 %	42,0%	25,0%	22,0%
Pin gris	43%	34,2%	26%	21,4%

2.5.2 Mesure de la densité

Selon la norme française NF ISO 279 : 1999 (T75-111), la densité relative des HE sera déterminée par un pycnomètre des liquides de volume (25 mL). Elle sera calculée par la formule suivante de l'équation 2 :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \quad [2]$$

Avec :

m₀: masse de pycnomètres vides

m₁: masse de pycnomètre remplie d'eau

m₂: masse de pycnomètre remplie d'huile essentielle

d: Densité relative des huiles essentielles

2.5.3 Chromatographie phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS

L'analyse quantitative des HE a été effectuée à l'aide d'un chromatographe à phase

gazeuse couplée avec une spectroscopie de masse (GC/MS) (Agilent Technologie 789B, Biom-13) présenté dans la figure 2.5.

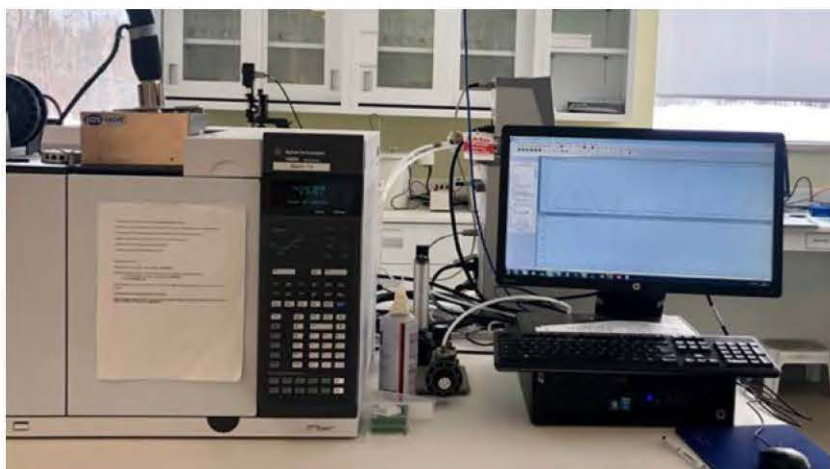

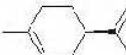


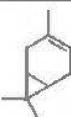
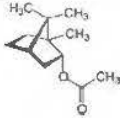


Figure 2.5 Chromatographe à phase gazeuse couplée avec une spectroscopie de masse (Agilent Technologie 789B, Biom-13)

C'est une technique qui permet de séparer les *constituants* des HE par une colonne capillaire spécifique à des températures contrôlées. La colonne HP-5MS utilisée est présente sous forme d'un tube en silice fondue enroulée ayant une longueur de 30 m, un diamètre interne de 250 μm et une épaisseur de film de 0,25 μm . La température de la colonne varie entre 50°C et 320°C. L'échantillon injecté sera de l'ordre 1 μL pur avec une température 150°C et sera entraînée par un gaz vecteur inerte l'hélium (1,2 mL/min). Le couplage de ce montage avec la spectrométrie de masse (MS) permettra de quantifier chaque composant des huiles. L'identification des constituants individuels est réalisée via la comparaison de leurs indices de rétention (RI) avec les standards. Le tableau 2.2 présente les cinq composés disponibles au sein du laboratoire du CTRI et

qui font l'objet de cette étude pour l'identification qualitative et la quantification des HE : Le Camphène, limonène, l' α -pinène, le β -pinène, 3-d-carène. Selon la littérature, Poaty et al., 2015, l'épinette noire est une essence connue par une forte concentration de l'acétate de bornyle qui appartient à la famille des monoterpènes. En effet, la quantification de ce composé au laboratoire a été effectué.

Tableau 2.2 La structure chimique des composés majoritaires des HE avec les températures d'ébullition

Composés	Structure	T d'ébullition
Camphène		161°C
Limonène		178°C
<u>α-Pinène</u>		156,2°C
β -Pinène		166°C
3-d-carène		172 °C
Acétate de bornyle		228 °C

2.6 Analyses et caractérisations des HE

2.6.1 Mesure de l'activité antimicrobienne

2.6.1.1 Test de diffusion par disque

L'analyse de l'activité antimicrobienne consiste à mesurer le pouvoir bactéricide et fongicide des HE contre certaines souches pathogènes. Les souches testées sont le *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *Salmonella Typhimurium* (*S. Typhimurium*), l'*Escherichia coli* (*E.coli*) et la *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Leurs caractéristiques sont présentées dans le tableau 2.3.

Tableau 2.3 Caractéristiques des souches pathogènes testées

Nom de la souche	N° de l'ATCC	Coloration Gram
<i>P. aeruginosa</i>	27853	G ⁻
<i>S. typhimurium</i>	14028	G ⁻
<i>E. coli</i>	25922	G ⁻
<i>S.aureus</i>	23235	G ⁺

Les souches bactériennes seront testées et conservées à -80 °C pour suspendre toutes les activités biologiques. Ces souches seront ensemencées dans un milieu nutritif Luria-Bertan (LB) pendant 18 h à 37°C avec une agitation de 150 tr/min pour être activées. L'obtention de la phase exponentielle des bactéries, désigne le maximum de leur croissance qui sera mesurée par un spectrophotomètre UV à une longueur d'onde 600 nm. Afin d'évaluer le potentiel bactéricide des HE, la méthode de diffusion des disques a été utilisée. Il s'agit d'une étape préliminaire de criblage qui sert à sélectionner les huiles ayant un pouvoir antibactérien important. Cette technique consiste à mesurer le diamètre d'inhibition des huiles comme indiqué dans la figure 2.6. Un disque imprégné d'antibiotique (Chloramphénicol et Pénicélium) a servi comme contrôle positif, tandis qu'un autre disque exempt de milieu de culture a servi comme contrôle négatif. Après

incubation (24 heures à 37°C), le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré. Les tests sont réalisés en triplicata. La lecture des résultats a été effectuée par la mesure de la zone d'inhibition autour de chaque disque avec une règle en (mm). La classification du niveau de sensibilité de la souche est suivie suite à (Ponce, Fritz, Del Valle, & Roura, 2003)

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

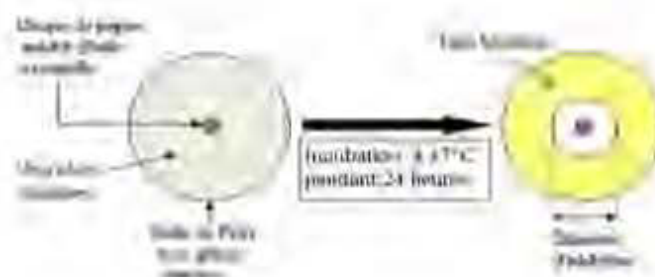


Figure 2.6 Principe de la méthode de diffusion par disques

2.6.1.2 Mesure de concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI: la plus faible concentration des HE où il n'y aura pas de croissance visible des bactéries) et la concentration minimale bactéricide (CMB) la plus faible concentration d'HE pour

laquelle l'effet bactéricide souhaité est de 99,99 % a été effectuée en triplicata. La méthode suivie a été choisie du protocole de Poaty et al., (2015). Les HE à tester sont placés dans des plaques munies des puits. La démarche suivante a été suivie durant cet essai :

- Préparation et dilution de la culture bactérienne.
- Ajout de diméthyle sulfoxide (DMSO) à 5% (v/v) qui joue le rôle d'un émulsifiant.
- Les HE des trois essences extraites seront ajoutées dans des puits avec des concentrations variables qui seront respectivement de 1 % (2µg/µl), 2 % (4µg/µl), 8 % (4µg/µl), 12, 16 et 20 % (v/v) et au niveau du même tube l'ajout de milieu de culture Luria-Bertani (LB) jusqu'à un volume de 200 µl.
- Incubation des plaques dans une étuve à 37°C pendant 24h.
- Après incubation, un volume de 40 µl de violet de *p*-iodonitrotetrazolium (INT) dissout dans de l'eau (0,2 mg/mL) sera ajouté dans chaque tube qui sera incubé dans l'étuve à 37°C pendant 30 min.

La lecture des résultats sera faite après l'incubation. Par conséquent, la variation de la coloration d'INT témoigne l'inhibition de la croissance bactérienne. Subséquemment, la concentration minimale inhibitrice (CMI) sera déterminée selon le virage de la coloration de l'INT qui disparaîtrait dans le cas d'une inhibition élevée. Cette valeur sera validée lors de la détermination de la CMB d'où les concentrations déterminées lors de la mesure de CMI serontensemencées sur un milieu de culture pour vérifier une éventuelle existence d'une croissance bactérienne.

2.6.2 Mesure de pouvoir antioxydant

2.6.2.1 Par la méthode 1,1- diphényle-di-picrylhydrazyle du DPPH

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'HE sera faite par la méthode du 1,1-diphényle-di-picrylhydrazyle (DPPH). Après quelques modifications du protocole de

(Poaty et al., 2010) cette expérience a été menée. Cette méthode vise à mesurer le pouvoir des HE à piéger les radicaux libres qui sont des atomes d'oxygène instables. En effet, les radicaux libres sont susceptibles et aptes à arracher les électrons d'une molécule et parfois la détruire. Ce piégeage entraîne le virage de la coloration de la solution initiale du violet au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H. La mesure durant cette méthode se fait par l'utilisation d'un spectrophotomètre UV/visible (Cary 300 Bio Varian). Subséquemment, plusieurs solutions de l'HE sont préparées avec du méthanol avec différentes concentrations dans à différentes concentrations (20 µg/mL, 50 µg/ml, 100 µg/mL, 200 µg/mL, 300 µg/mL, 400 µg/mL et 500 µg/mL) et après mélangé avec du DPPH. La concentration de la solution du DPPH utilisé pour les tests est de 0,861 mg/mL. La longueur d'onde choisie pour déterminer l'absorbance des échantillons était de 517 nm. Le but de ces préparations est le traçage de la courbe du pourcentage d'inhibition des radicaux libres en fonction de la concentration des HE. En effet, à partir de cette courbe, le facteur IC₅₀ correspondant à 50 % d'inhibition sera déterminé pour évaluer l'activité antioxydante des huiles extraites. Le BHT est un antioxydant synthétique très fort et qui est utilisé comme un contrôle positif. Le pourcentage d'inhibition des radicaux libres est déterminé selon la formule de l'équation 3 :

$$I(\%) = 100 * \left(\frac{A_{Témoin} - A_{Test}}{A_{Témoin}} \right) \quad [3]$$

Avec :

$A_{Témoin}$: L'absorbance du témoin DPPH + Méthanol

A_{Test} : L'absorbance du test

2.6.2.2 Dosages des phénols totaux (Folin-Ciocalteu)

Le dosage des phénols totaux est une méthode permet de doser la quantité des polyphénols totaux retenus dans l'HE (Ardestani et al., 2007). Elle permet aussi de mesurer la capacité réductrice d'un échantillon. Un mélange des HE avec le réactif de Folin-Ciocalteu a été préparé en triplicata et a été laissé reposer pendant 5 min. De plus, l'ajout d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) (7,5 %) sera ajouté et l'incubation de la solution pendant 90 min. Le réactif de Folin-Ciocalteu est composé d'un mélange d'acide phosphomolybdique et d'acide phosphotungstique (il(s) sera éventuellement réduit durant l'oxydation des phénols en un complexe de bleu de tungstène et molybdène) et ayant une absorption de longueur d'onde de 760 nm. Le degré de coloration est proportionnel avec le taux des composés phénoliques. Durant cette manipulation, l'acide gallique est utilisé comme un étalon. Enfin, la quantité des phénols est exprimée en mg d'équivalent acide gallique de matière sèche.

2.6.2.3 Méthode de réduction de fer (FRAP)

La méthode de réduction de fer permet de mesurer la capacité réductrice du fer des HE (Ardestani et al., 2007). Elle s'effectue par des composés chimiques qui réduisent l'ion ferrique (Fe^{3+}) en ion ferreux (Fe^{2+}) tout en perdant un électron. Cette méthode permet de déterminer l'action des HE vis-à-vis la molécule de fer. C'est une molécule instable qui cherche sa stabilité par le piégeage des molécules d'oxygènes et des électrons des composantes des cellules. Ceci engendre la dégradation cellulaire. La mesure de pouvoir de réduction ferrique s'effectue par l'ajout de 2,5 mL de ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) à 1 mL d'HE avec. Ce mélange reste réagir pendant 20 min à une température de 50 °C dans un bain-marie. 2,5 mL d'acide trichloracétique (TCA) sera par la suite ajouté pour stopper la réaction. Un ajout de tétrachlorométhane (CCl_4) est effectué pour faciliter la séparation de phase par centrifugation et récupérer le surnageant. Le surnageant récupéré sera dilué avec de l'eau distiller et mixer avec le

chlorure ferrique FeCl_3 (1 %). La réaction de réduction des Fe^{3+} en Fe^{2+} est témoignée par une coloration bleu foncé. La formation de ce nouveau composé permet de mesurer l'absorbance de la solution par un spectrophotomètre à une longueur d'onde 700 nm. Le pouvoir réducteur des HE est exprimé en fonction d'acide ascorbique qui est un réducteur fort.

2.7 Traitement statistique des résultats

2.7.1 Description des données et analyse effectuée

2.7.1.1 ANOVA

Les résultats de cette étude ont été traités par une analyse de variance ANOVA en utilisant le logiciel R version 3.5.0-2018. Cette analyse permet d'évaluer les effets des facteurs et estimer les interactions qui ont un effet significatif sur le modèle choisi.

L'homogénéité des variances et la normalité des résidus ont été calculées par R. Les traitements appliqués sur la biomasse ont été effectués en triplicata. Le niveau de signification a été fixé au seuil de $\alpha = 0,05$. L'impact du conditionnement de la BFR par mise en fagot sur le rendement des HE a été étudié selon un dispositif factoriel où les facteurs indépendants sont le niveau de compression des fagots (6 niveaux : 0=témoins, 10 kN, 20 kN, 30 kN, 40 kN, 50 kN); l'essence (3 essences: sapin baumier, épinette noire et pin gris) et le procédé d'extraction (2 procédés: hydrodistillation (HD) et l'entraînement à la vapeur (EV)). La variable réponse est le rendement en HE.

L'expression de ce modèle s'écrit sous la forme :

$$Y_{ijk} = \mu + E_i + F_j + G_k + E * F + E * G + F * G + F * G * E + \varepsilon_{ijk}$$

Où Y est la réponse qui représente le rendement en HE (rdt); μ est l'effet général (intercepte); E est l'effet de l'essence; F est l'effet du niveau de compression de la biomasse; G est l'effet des méthodes d'extraction. $E*F$ est l'effet de l'interaction entre l'essence et le niveau de compression, $E*G$ est l'effet de l'interaction entre l'essence et procédé d'extraction, $F*G$ est l'effet de l'interaction entre les méthodes d'extraction et le niveau de compression, finalement $F*G*E$ l'effet de l'interaction entre les trois facteurs. ε représente l'erreur résiduelle. De plus, le test de comparaison multiple (Tukey HSD) a été effectué afin de déterminer les différences significatives entre les moyennes des deux procédés d'extraction, des trois essences et des niveaux de compression de la BFR.

2.7.1.2 Analyse multivariée des données

Concernant la composition chimique des HE la statistique descriptive et les représentations graphiques réalisées sont insuffisantes pour explorer ces données. À cet effet, on a eu recours à la statistique multivariée, l'analyse en composante principale (ACP), pour mieux comprendre les raisons de la variation de cette composition et pour clarifier les résultats. L'ACP est une méthode qui permet de traiter les données dans une matrice contenant les échantillons (les différents HE) et leurs teneurs en composés chimiques qui sont : le α -pinène, β -pinène, camphène, limonène et le δ -carène). Cette analyse permettra de maximiser la visualisation de la variation entre les variables prises individuellement et leurs corrélations. Le cercle de corrélation pour la recherche des interactions entre les variables et le plan formé par les deux composantes principales (PC1 et PC2) permettent de fixer les similitudes entre les échantillons. Cette méthode illustre plusieurs variables dans un seul graphique au lieu d'avoir plusieurs nuages de points.

CHAPITRE III

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Ce chapitre expose et discute les résultats de l'extraction des HE à partir de la BFR prétraînée. Durant ce projet, les travaux ont été réalisés sur trois types d'essence de la forêt boréale à savoir le sapin baumier, l'épinette noire et le pin gris. Deux procédés d'extraction ont été testés durant cette étude : l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. Dans un premier lieu, l'hydrodistillation a été appliquée sur la BRF déchiquetée, broyée, densifiée en granules et densifiée sous forme de fagots. Dans un second lieu, l'entraînement à la vapeur a été effectué sur la BFR densifiée en fagots. Finalement, une analyse comparative sur l'effet de ces prétraitements mécaniques sur la quantité et la qualité des HE a été effectuée.

3.2 Effet des prétraitements mécaniques sur les propriétés quantitatives des HE

3.1.1 Méthode d'hydrodistillation de la BFR densifiée en fagots

- Cas de sapin baumier

L'hydrodistillation est l'une des méthodes les moins coûteuses couramment utilisées pour l'extraction des HE. Cette méthode nécessite des quantités importantes d'eau. Néanmoins, elle assure une récupération maximale des composés odorantes à partir des poches cellulaires du matériel végétal. La figure 3.1 présente l'évolution de l'extraction des HE à partir de la BFR de sapin baumier (SB) qui a subi une densification sous forme de fagots. Cinq niveaux de compression à savoir 10 kN, 20 kN, 30 kN, 40 kN,

50 kN ont été testés. Une amélioration du rendement en HE a été notée suite à la densification en fagots. Le témoin présente un rendement de l'ordre de $6,16 \pm 1,17$ mL/kg. Des augmentations significatives de $16 \pm 1,17$ % et $34 \pm 0,32$ % ont été observées pour les niveaux de compression 40 kN et 50 kN, respectivement, par rapport au témoin (SBB). Alors que, des augmentations de $5 \pm 0,2$ %; $3 \pm 1,2$ %; $2 \pm 1,36$ % faible ont été observées pour 10 kN, 20 kN et 30 kN, respectivement, par rapport au SBB. Ces observations sont expliquées par l'effet de la mise en fagot sur l'entraînement des composés odorantes et l'accessibilité de l'eau à toutes les poches cellulaires qui contiennent les HE.

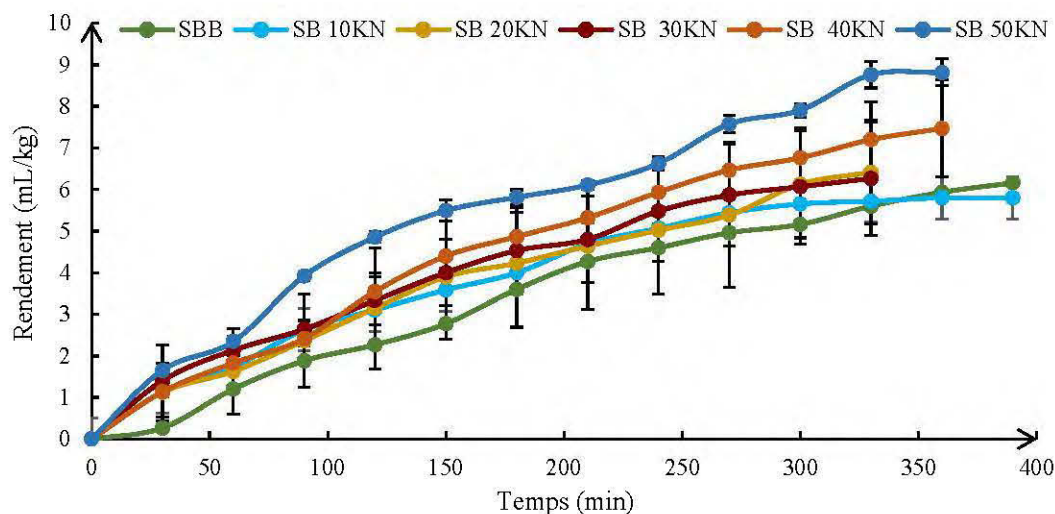


Figure 3.1 Effet de la mise en fagots sur le rendement d'extraction des HE par hydrodistillation du sapin baumier

La figure 3.1 montre que la mise en fagots assure la récupération du maximum des HE en une durée plus courte par rapport au témoin. En effet, l'extraction des HE à partir des fagots 50 kN a récupérée $8,81 \pm 0,32$ mL/kg en 320 min, alors que $6,16 \pm 1,17$

mL/kg d'HE ont été récupérées à partir du témoin après 400 min. La mise en fagots est un prétraitement qui a favorisé les contacts entre les branches. Par conséquent, les phénomènes de transfert de la chaleur par conduction et convection durant l'hydrodistillation se sont améliorés. En effet, la conduction de la chaleur à partir de la surface vers le cœur de la matrice est devenue plus prononcée, ceci favorise l'entraînement des composés volatils. L'évaporation et la condensation des HE du cœur de la matrice vers la surface sont assurées par le mécanisme de diffusion suivant la loi de Fick qui dépend principalement du gradient de la température et de la pression partielle (Al Haddad, 2007; Besombes, 2008; Hamitouche, 2016). Ces résultats sont corroborés avec l'étude de (Douville et al., 2006), qui a mentionné que la mise en fagot est un prétraitement plus adapté pour les résineux grâce à ces branches maniables et ayant une taille réduite. Ceci préserve la composition chimique de la BFR et minimise les attaques fongiques observées suite aux changements des conditions environnementales (Douville et al., 2006). La saison de récolte semble aussi être un facteur crucial à considérer durant l'extraction des HE. Par exemple, le sapin baumier a été récolté pendant la saison d'été (juin - juillet). À cet effet, les essences durant l'été sont en phase de floraison avec une activité hormonale élevée. De même, les plantes produisent des quantités importantes en HE. Cependant, la saison d'hiver pendant laquelle la récolte du pin gris a été effectuée, caractérise la phase de dormance du végétal et elle entraîne le ralentissement des métabolismes primaires et secondaires (Royer et al., 2013). En effet, la période de récolte de la BFR pourra avoir un impact important sur la quantité des HE qui seront récupérées (Hellal, 2011).

- Cas de l'épinette noire

La figure 3.2 présente les courbes d'extraction harmonieuses des HE de l'épinette noire (EPN) densifiée en fagots. Les rendements obtenus ont augmenté en comparaison avec le témoin (EPNB). Les valeurs qui ont été notées sont de l'ordre de $19 \pm 0,28 \%$, $42 \pm$

0,2 %, $36 \pm 0,1$ %, $46 \pm 0,31$ % et $47 \pm 0,18$ % pour des niveaux de compression 10, 20, 30, 40 et 50 kN, respectivement.

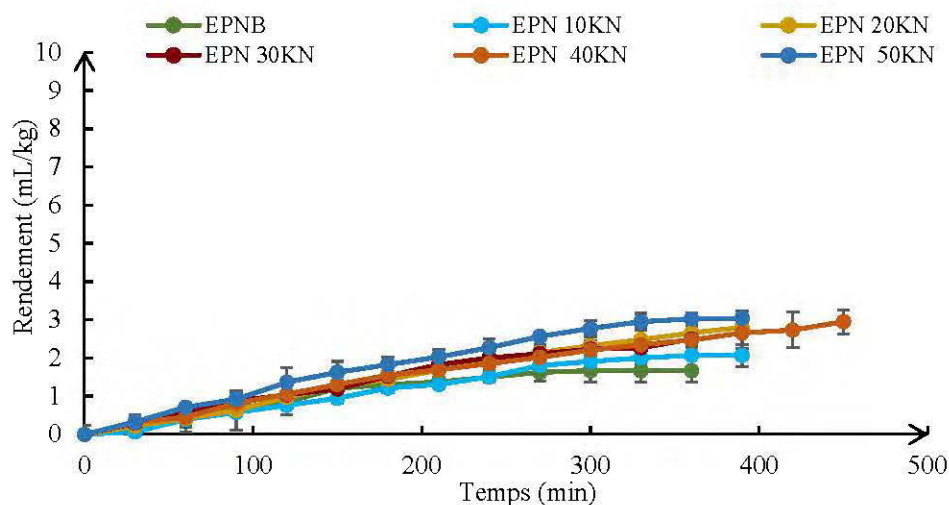


Figure 3.2 Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par hydrodistillation des HE de l'épinette noire

La densification sous forme de fagots est un prétraitement qui préserve la forme des branches et aiguilles et permet d'éviter l'éclatement des cellules qui contiennent les HE. Ce prétraitement favorise aussi le transfert de la chaleur entre la BFR d'où la récupération davantage des HE. Par ailleurs, la teneur en HE de l'épinette noire est faible en comparaison avec le sapin baumier. Le sapin baumier contient des cellules et des vaisseaux résinifères localisés en dessous de l'écorce qui sécrètent des substances terpéniques (Francezon, 2018). L'étude de Tremblay et al., (1974) a trouvé que les feuillages de sapin baumier ont un rendement entre 1 et 1,4 % tandis que l'épinette

noire a un rendement qui varie aux alentours de 0,5 et 0,7 %. Pour conclure, la BFR du sapin baumier est plus riche en HE en comparant avec l'épinette noire.

- Cas du pin gris

La figure 3.3 présente la variation du rendement des HE pour le pin gris (PG). La densification sous forme de fagot a entraîné une diminution du rendement des HE par rapport au témoin (PGB). Les valeurs qui ont été obtenues sont de l'ordre de $2,28 \pm 0,13$ mL/kg, $1,74 \pm 0,22$ mL/kg, $1,97 \pm 0,18$ mL/kg, $1,76 \pm 0,2$ mL/kg, $1,45 \pm 0,12$ mL/kg et $1,64 \pm 0,04$ mL/kg pour l'état brut et les cinq niveaux de compression 10, 20, 30, 40 et 50 kN, respectivement.

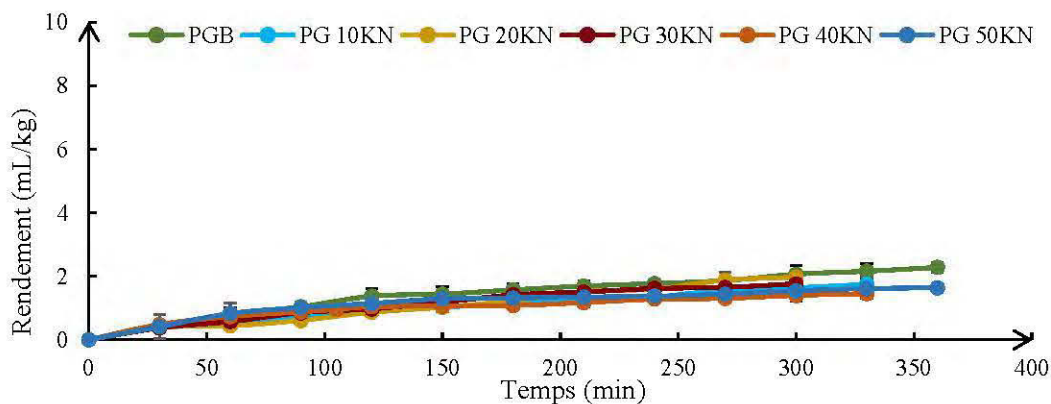


Figure 3.3 Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par hydrodistillation des HE du pin gris

La récolte du pin gris pendant cette étude a été effectuée pendant l'hiver. Cette saison pendant laquelle la plante est en dormance et tous les métabolismes primaires et secondaires seront bloqués. Par conséquent, le rendement en HE du pin gris est faible.

Le contact prolongé du matériel végétal avec l'eau durant l'hydrodistillation provoque des réactions secondaires qui peuvent modifier la nature chimique de certains composés (Guenther, 2013). En effet, la surface spécifique de la BFR qui est en contact direct avec l'eau. Ceci a un effet sur le rendement des HE et pourra engendrer des phénomènes de tassement et un agglutinement et entraîne la formation d'une masse compacte qui bloque le passage à la vapeur. L'hydrodistillation est une méthode qui consomme des quantités importantes d'eaux, du temps et de l'énergie. Selon Lucchesi et al., (2004), l'eau est un solvant polaire qui engendre des effets thermiques et hydrolytiques et cause des pertes de plusieurs composés (Lucchesi et al., 2004). De plus, les travaux de Vekiari et al., (2002) ont renforcé ces résultats. Or, la localisation géographique, la période de récolte, les conditions climatiques et l'organe utilisé de la plante ont un effet sur la quantité des HE récupérées et sur leurs compositions chimiques (Vekiari et al., 2002).

3.1.2 Étude comparative du rendement des HE issues des différents types de prétraitements

- Cas de sapin baumier

Dans le cadre des analyses préliminaires, la BFR a subi trois types de prétraitement mécanique : le déchiquetage, le broyage et la densification en granules. Afin de comparer la densification en fagots et les différents prétraitements appliqués sur la BFR, la figure 3.4 montre l'évolution du rendement en HE en fonction du temps. Le sapin baumier brut (SBB) sert comme témoin. Ce dernier présente un rendement en HE de l'ordre de $6,16 \pm 1,17$ mL/kg. Ce rendement est amélioré suite à la densification de la BFR sous forme de fagots par rapport aux autres prétraitements mécaniques testés. En effet, des augmentations de $68 \pm 1,41$ %, $83 \pm 0,74$ %, $93 \pm 0,24$ % ont été notées par rapport à la BFR déchiquetée, broyée et densifiée en granules, respectivement.

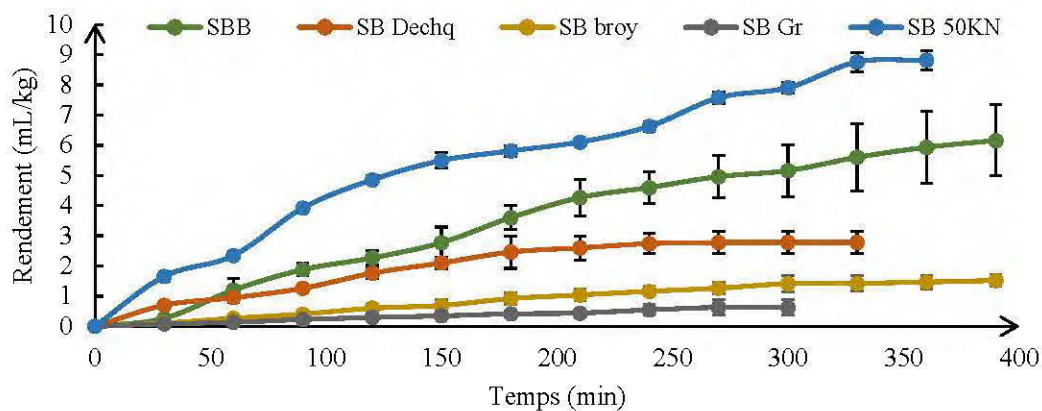


Figure 3.4 Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation du Sapin baumier

- Cas d'épinette noire

Les variations des rendements en HE de l'épinette noire (EPN) extraites de la BFR déchiquetée, broyée, granulée et densifiée en fagots sont présentées dans la figure 3.5. Le témoin (EPNB) présente un rendement en HE de $1,6 \pm 0,3$ mL/kg qui est faible par rapport aux autres formes. Tandis que, les fagots de l'épinette noire à 50 kN ont montré une augmentation de 63 % du rendement versus l'épinette noire broyée et granulée. Cependant, la densification en fagots a engendré une augmentation du rendement en HE en comparaison avec la BFR broyée et granulée. En outre, cette amélioration est de l'ordre de $14 \pm 0,18$ % et 24 % par rapport à la BFR broyée et densifiée en granules, respectivement.

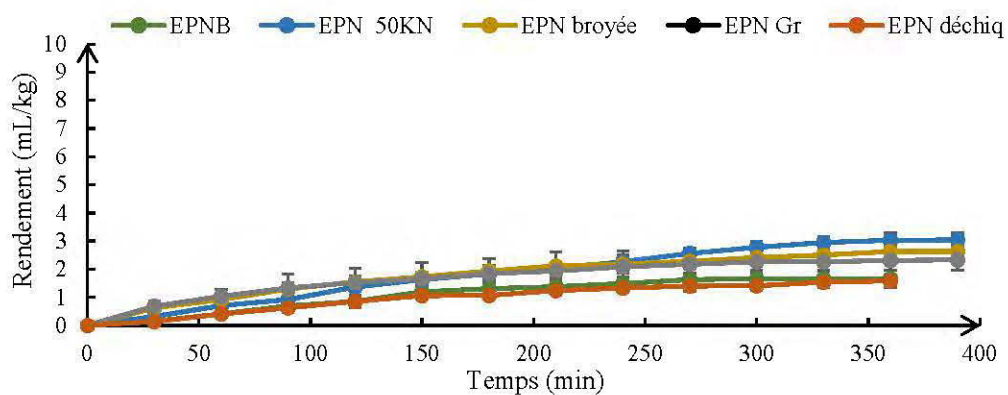


Figure 3.5 Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation de l'épinette noire

- Cas du pin gris

Les prétraitements mécaniques appliqués à la BFR du pin gris ont engendré des variations du rendement en HE suite à l'extraction par hydrodistillation (Figure 3.6). Le témoin du pin gris a enregistré un rendement de $2,88 \pm 0,13$ mL/kg. Une diminution de ce rendement en HE a été observée suite aux broyage et granulation. En effet, la mise en fagot a entraîné une augmentation de 2 % et 26 % par rapport à la BFR broyée et densifiée en granules, respectivement.

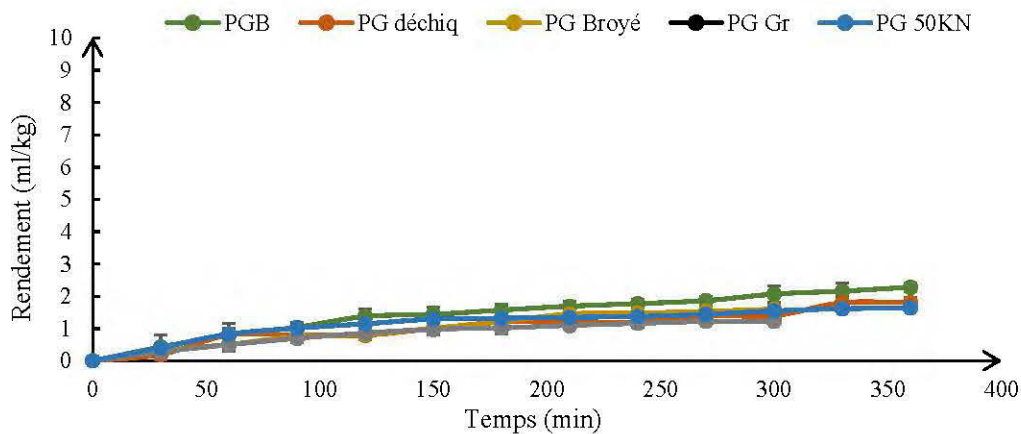


Figure 3.6 Courbe de la cinétique d'extraction des HE par hydrodistillation du pin gris

Les trois prétraitements mécaniques qui ont été effectués à la BFR ont engendré une diminution du rendement des HE. Ceci pourrait être expliqué par les variations des paramètres opératoires du déchiquetage, broyage et granulation. En effet, l'étude de Tischer et al. (2017) a montré que le type de broyeur, la forme de la BFR et sa teneur en humidité sont parmi les facteurs qui affectent la productivité en HE. Le broyage de la BFR est une méthode appliquée habituellement pour assurer la stabilité et l'homogénéité des échantillons lors de l'extraction des HE. Néanmoins, la revue de la littérature a confirmé que durant le procédé du broyage, il y aura des variations des températures qui engendrent la volatilisation de certains composés retenus dans les glandes du matériel végétal. Murthy et al. (1999) ont corroboré que le broyage entraîne la réduction de la taille des particules et engendre une augmentation de la surface d'exposition avec l'atmosphère. Subséquemment, ce prétraitement subit des variations de la température qui cause des pertes quantitatives en HE. En effet, la volatilisation des fractions aromatiques et la modification des caractéristiques organoleptiques sont

les résultantes de la réduction de la taille des particules (Saxena et al., 2010; Phanphanich et al., 2011). La granulation peut être de même un facteur de réduction du rendement, car il y a des variations de la température qui atteint 90°C dus aux forces de friction. Ceci entraîne des pertes élevées en composés hydrocarbonés tels que les monoterpènes et d'autres constituants ayant des températures d'ébullition faibles (Yokouchi et al., 1984). Pour élucider l'impact des prétraitements mécaniques sur la quantité des HE extraites, une étude récente a montré que le broyage de cumin a engendré des pertes environ 23,2 % des huiles volatiles. La réduction de ces pertes et la préservation de la qualité des HE pourront être assurées par un broyage cryogénique. Ce dernier pourra prévenir la volatilisation des substances odorantes et améliorer la quantité des HE récupérées qui peut atteindre 40 %. Le broyage à de faibles températures engendre la solidification des HE ce qui facilitera le procédé de broyage. Les particules obtenues à la suite de ce prétraitement sont plus fines et uniformes tout en conservant la teneur en HE (Sharma et al., 2016). Pour conclure, le déchiquetage, le broyage et la granulation sont des prétraitements mécaniques qui engendrent des pertes en quantité des HE. Tandis que la densification en fagots entraîne une amélioration de la quantité des huiles récupérées.

3.1.3 Méthode d'entraînement à la vapeur

- Cas de sapin baumier

Pour l'extraction par entraînement à la vapeur seule la BFR densifiée en fagots a été étudiée puisqu'elle a donné les meilleurs rendements en HE pour le procédé d'hydrodistillation. La figure 3.7 illustre la cinétique d'extraction des HE pour les différentes formes de la BFR : Témoin, BFR densifiée en fagots de 10 kN jusqu'à 50 kN. Le rendement en HE obtenu par entraînement à la vapeur pour le témoin est de $3,93 \pm 0,12$ mL/kg. Ceci a augmenté de 32 % pour le cas des HE extraites des fagots de 50 kN.

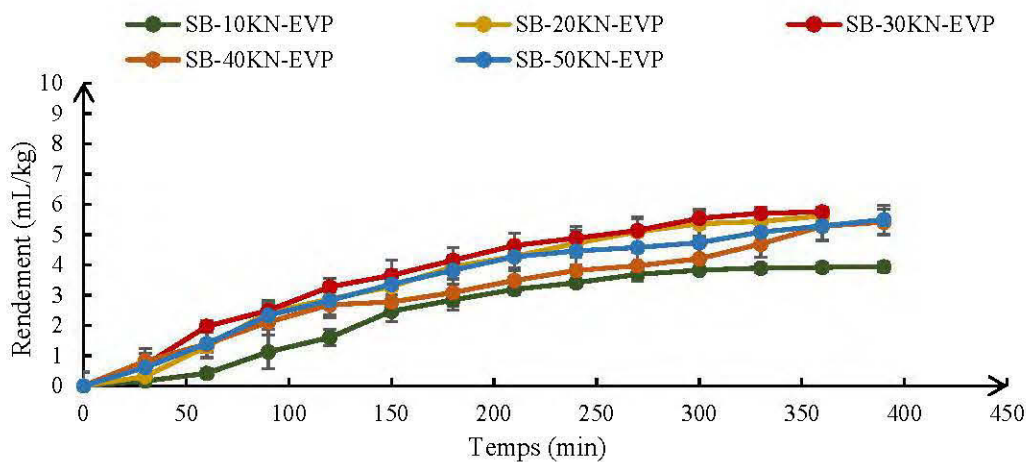


Figure 3.7 Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entrainement à la vapeur des HE du sapin baumier

La différence du rendement des HE du sapin baumier versus le témoin et les fagots de 50 kN est expliqué par les phénomènes de transferts de chaleur. Ces phénomènes sont améliorés grâce à la forme et la disposition de la BFR. En effet, la vapeur saturée assure le transfert de la chaleur par la convection sur la surface externe du végétal. Par conséquent, une augmentation de la température de surface qui s'accompagne avec un transfert de chaleur interne par le phénomène de conduction. La solubilisation des molécules suite aux procédés d'entrainement à la vapeur n'est pas faisable. En outre, la migration de ces molécules volatiles s'effectue grâce aux gradients de concentration (du milieu le plus concentré vers le milieu le moins concentré) et gradient de pression totale. Ce transfert a été effectué jusqu'à aboutir à un équilibre thermodynamique (Allaf et al., 2016; Hamitouche, 2016). Selon Besombes (2008), l'évaporation des substances odorantes dépend du volume des pores et de la surface d'échange du matériel végétal. La variabilité du rendement en HE via les deux méthodes d'extraction pourra être expliquée par plusieurs façons telles que la saison de récolte. En effet, des échantillons

ont été récoltés durant la saison d'hiver (février – mars), durant laquelle tous les métabolismes et les phénomènes de sécrétion des substances aromatiques de la plante sont ralentis. Néanmoins, l'extraction par entrainement à la vapeur s'effectue en une courte période comparativement à l'hydrodistillation qui nécessite une longue durée pour le réchauffement de l'eau. Ceci empêche l'entrainement d'une grande proportion des constituants des HE. En effet, les composés terpéniques oxygénés ont un point d'ébullition élevé et exigent une durée d'extraction plus élevée (Lucchesi, 2005).

- Cas de l'épinette noire

La figure 3.8 illustre la cinétique d'extraction des HE de l'épinette par entrainement à la vapeur (EVP) en fonction du temps. Les fagots compactés à 50 kN ont le meilleur rendement en HE qui s'est amélioré de 24 % comparativement au témoin (EPNB-EVP).

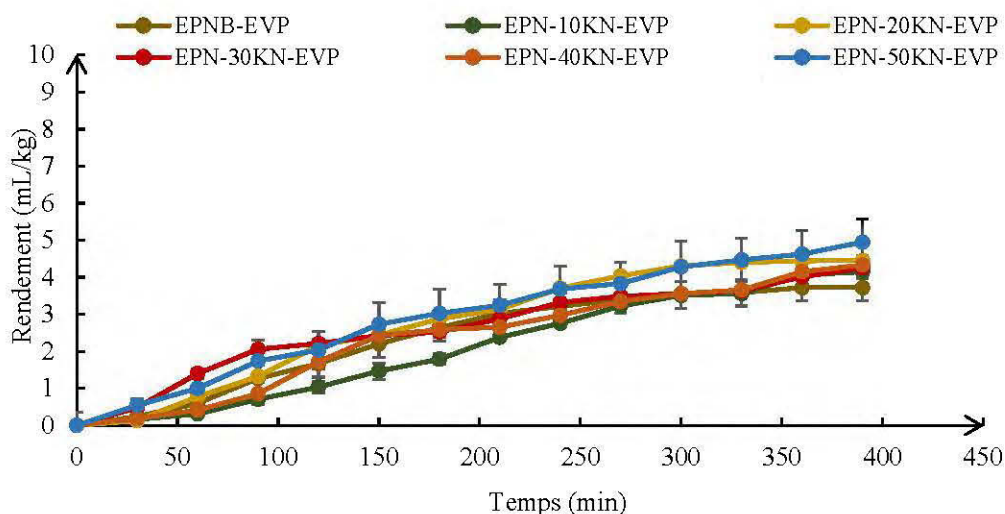


Figure 3.8 Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entrainement à la vapeur des HE de l'épinette noire

La variabilité du rendement des HE pourra être expliquée par plusieurs facteurs parmi lesquels on cite le type de solvant utilisé. Dans ce cas, l'eau a servi comme solvant capable d'extraire tous les constituants hydrosolubles. De plus ce procédé est recommandé, car il permet d'éviter la dégradation de plusieurs composés suite à une longue durée d'exposition à des températures élevées (Khoddami et al., 2013).

- Cas de pin gris

La figure 3.9 montre qu'il y a une amélioration du rendement suite à l'extraction par entraînement à la vapeur. Les fagots de 50 kN présentent une amélioration du rendement de l'ordre de 25 %.

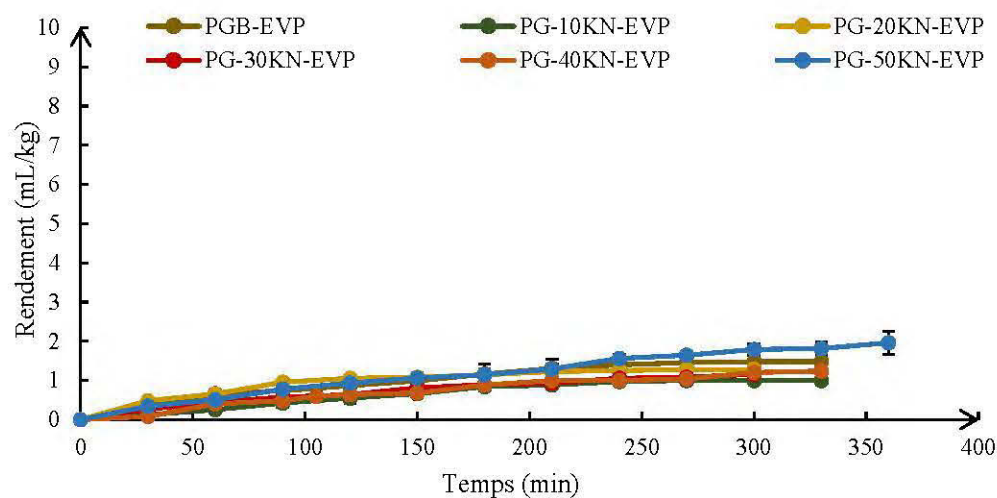


Figure 3.9 Effet de la mise en fagot sur le rendement d'extraction par entraînement à la vapeur des HE du pin gris

L'étude de l'effet du vieillissement a été menée en second lieu. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une diminution du rendement des HE en fonction de temps. En outre, le dosage des phénols totaux a montré que les HE du pin gris sont riches en polyphénols solubles dans l'eau et qui sont facilement récupérables suite au contact direct avec l'eau (Jerez et al., 2007). Le rendement des HE du pin gris témoin extraites par entraînement à la vapeur (PGB-EVP) a montré une diminution de 35 %. Ceci pourra être expliqué par le flux de chaleur et forces motrices de la vapeur qui sont moins prononcés comparativement à ceux de l'eau. Le faible rendement des HE du pin gris pourra être lié aussi à sa faible teneur en extractibles qui se situe entre 0,6 – 1 % (Tremblay, 1974; Hamitouche, 2016).

3.1.1.1 Analyse statistique

L'analyse des données par le logiciel R a permis de présenter l'effet de chaque prédicteur (l'essence, le niveau de compression et la méthode d'extraction) et leurs interactions sur la variable réponse (le rendement des HE). La figure 3.10 suggère qu'il y a une interaction entre le niveau de compression et le type d'essence. Le niveau de compression le plus élevé 50 kN donne les meilleurs rendements pour les trois essences. De plus, le type d'essence affecte le rendement des HE. Dans ce contexte, il y a une forte relation entre le niveau de compression, le type d'essence et le rendement.

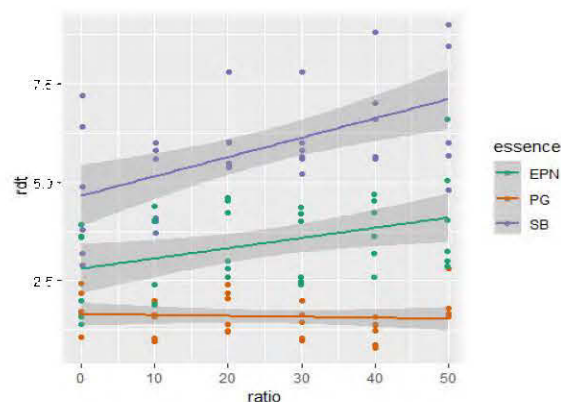


Figure 3.10 Variation du rendement en huile essentielle en fonction du niveau de compression et le type d'essence avec épinette noire, pin gris et sapin baumier

La figure 3.10 montre aussi qu'il n'y a aucune différence en termes de rendement des HE pour le pin gris et pour l'épinette noire à l'état brut. Cependant, le sapin baumier présente une différence en rendement d'HE par rapport aux autres essences. Le niveau de compression engendre une amélioration dans la quantité des HE récupérées surtout pour l'épinette noire et le sapin baumier. Elle affecte négativement le rendement en HE du pin gris. Ici, le type d'essence et le niveau de compression sont deux paramètres importants et qui auront un impact sur la productivité des HE.

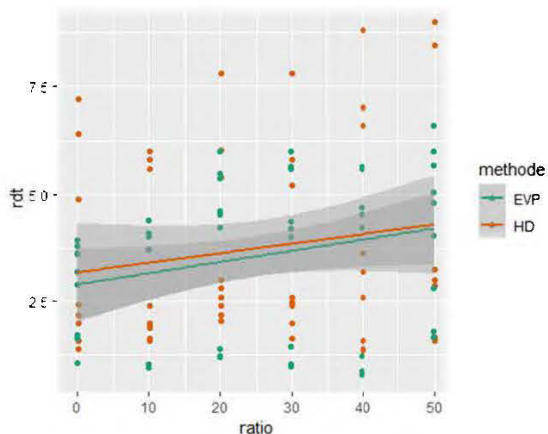


Figure 3.11 Effet des méthodes d'extraction et du niveau de compression sur le rendement des HE

La figure 3.11 montre l'interaction entre l'effet des méthodes d'extraction sur le rendement des HE. Le rendement des HE semble indépendant des méthodes d'extraction. En effet, l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation ont les mêmes rendements en HE, ceci est perceptible par des intervalles de confiance superposés. Cependant, il faut noter que, la mise en fagot est un mode de prétraitement qui améliore le rendement des HE dans le cas des deux méthodes.

Le tableau 3.1 ci-dessous donne l'analyse ANOVA et montre l'effet des différents facteurs (type d'essences, niveau de compression et les méthodes d'extraction) et leurs interactions sur le rendement des HE. Cette analyse statistique confirme qu'il y a une interaction positive entre les trois facteurs et qui a un effet significatif sur le rendement des HE pour les trois essences.

Tableau 3.1 Analyse de variance (ANOVA) de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur le rendement des HE

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Niveau	5	21,4	4,29	4,39e-10**
Essence	2	334,0	166,98	< 2e-16**
Procédé	1	0,9	0,92	0,076266*
Niveau: Essence	10	15,5	1,55	5,82e-06**
Niveau: Procédé	5	1,4	0,28	0,433434*
Procédé: Essence	2	63,2	31,61	< 2e-16**
Niveau: Procédé: Essence	10	10,4	1,04	0,000604**
		$R^2 = 0,96$	$R_{\text{Ajusté}}^2 = 0,93$	

* : non significatif, ** : significatif

3.2 Effet du vieillissement sur le rendement des HE extraites par entraînement à la vapeur

Le suivi de l'effet du vieillissement de la BFR sur le rendement des HE distillées par entraînement à la vapeur des trois essences est présenté dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2 Effet du vieillissement sur le rendement des HE du sapin baumier, épinette noire et pin gris extraites par entraînement à la vapeur

Essences	Rendement en HE extraites par entraînement à la vapeur (mL/kg)		
	BFR fraîche	7 jours	21 jours
Sapin baumier	9,33 ± 0,22	7,08 ± 0,08	5,09 ± 0,15
Épinette noire	3,24 ± 0,87	3,04 ± 0,54	2,2 ± 0,44
Pin gris	1,68 ± 2,4	1,48 ± 0,02	1,04 ± 0,65

La période du vieillissement de la BFR a un effet significatif sur la quantité des HE récupérées. Pour la BFR l'extraction a été faite pour des fagots de 50 kN qui ont enregistré les meilleurs rendements par rapport aux autres fagots. Le rendement a été déterminé après 7 jours et après 21 jours. La BFR du sapin baumier fraîchement récoltée a enregistré le rendement suivant $9,33 \pm 0,22$ mL/kg. Néanmoins, la durée de vieillissement a engendré des pertes quantitatives des HE. La diminution du rendement est de l'ordre de $24 \pm 0,08$ % et $45 \pm 0,15$ % après une semaine et trois semaines, respectivement. Pour le cas de l'épinette noire, la BFR fraîchement récoltée a noté un rendement de 3,24 mL/kg. Suite aux vieillissements une diminution a été observée avec des pourcentages de l'ordre de 6 % et 47 % après 7 jours et 21 jours, respectivement. Pour le pin gris, le rendement à l'état frais est $1,68 \pm 2,4$ mL/kg, qui a diminué de 12 % et 38 % pour les mêmes périodes respectives. Le temps de vieillissement entraîne une diminution significative du rendement en HE (Tableau 3.3). La diminution notable de ces rendements est expliquée par les variations saisonnières qui peuvent avoir lieu

dans le milieu environnant. En effet, des études ont montré que les variations de la température affectent négativement le rendement des HE. Les nutriments disponibles, et la lumière sont parmi les facteurs responsables de la production des métabolites secondaires dans les aiguilles des conifères (Sangwan et al., 2001). En effet, même après la récolte, une théorie a confirmé que la lumière affecterait directement les réserves des monoterpènes. La lumière influence l'apport de l'énergie responsable pour la biosynthèse des monoterpènes. Aussi, elle engendre des modifications de la morphologie des aiguilles et affecte le fonctionnement des phytochromes qui sont responsables de la sécrétion des monoterpènes (Lamontagne et al., 2000).

Le tableau 3.3 présente l'analyse de la significativité des résultats obtenus par rapport à la durée du vieillissement de la BFR.

Tableau 3.3 Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur le rendement des HE après une durée de vieillissement

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Temps	2	4,16	4,162	0,02899*
Essence	2	59,73	29,864	0,00152**
Temps: Essence	4	1,93	0,967	0,15859
		$R^2 = 0,99$	$R^2_{\text{Ajusté}} = 0,97$	

* : non significatif, ** : significatif

3.3 Effet des prétraitements mécaniques sur les propriétés qualitatives des HE

3.3.1 Densité relative

La densité des HE est un critère important à considérer lors du procédé d'extraction. Plus la densité de l'huile est faible plus le procédé d'extraction est facilité. De plus, ce critère sert pour évaluer la qualité des HE avant leur utilisation dans plusieurs domaines (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire et chimique). Dans la présente étude, les deux procédés d'extraction n'ont pas d'effet sur la densité des HE extraites à partir de la BRF densifiée. Le sapin baumier, l'épinette noire, et le pin gris ont des densités moyennes qui sont de l'ordre de $0,758 \pm 0,01$ g/mL, $0,8525 \pm 0,012$ g/mL et $0,8735 \pm 0,012$ g/mL, respectivement.

3.3.2 Composition chimique par GC/MS

- Cas du sapin baumier

La caractérisation des HE par GC/MS permet d'identifier et quantifier les composés majoritaires constitutifs du sapin baumier (Djenane et al., 2002). Mis à part les composants majeurs (la cellulose, l'hémicellulose et la lignine), on note la présence des extractibles appartenant à la classe des hydrocarbures terpéniques. Parmi ces hydrocarbures, on définit α -pinène, β -pinène, limonène, camphène et δ carène (Royer et al., 2013; Poaty et al., 2015). Dans cette étude, cinq composés ont fait l'objet de l'étude et ont été sélectionnés pour l'identification qualitative et la quantification des HE. D'après la figure 3.12, les HE issues du sapin baumier témoin et celles extraites de la BFR densifiée en fagots présentent des similitudes au niveau des concentrations des composés chimiques des HE. Ainsi, la mise en fagot semble n'avoir aucun impact sur la composition chimique, tandis que le broyage et la granulation testés ont causé des pertes de la concentration de la totalité des composés (Tableau 3.5). Ces pertes sont

expliquées par la sensibilité de ces constituants aux variations de la température (Murthy et al., 1999). La figure 3.12 montre que les HE du sapin baumier extraites par le procédé d'hydrodistillation sont riches en β -pinène avec des concentrations de l'ordre de 357,8 $\mu\text{g/mL}$, 270,7 $\mu\text{g/mL}$, 259,7 $\mu\text{g/mL}$, 384,6 $\mu\text{g/mL}$, 342,11 $\mu\text{g/mL}$ et 289,22 $\mu\text{g/mL}$ pour les HE issues de la BFR témoin, et densifiées en fagots à des niveaux de compression de 10 kN jusqu'à 50 kN, respectivement. D'autres composés sont présents avec des teneurs notables : le limonène (177,4 $\mu\text{g/mL}$ HE témoin ; 256,1 $\mu\text{g/mL}$ HE 30 kN, et 317,92 $\mu\text{g/mL}$ pour l'HE 50 kN) et le α pinène (103,4 $\mu\text{g/mL}$ HE témoin ; 165,79 $\mu\text{g/mL}$ HE 30 kN, et 110,78 $\mu\text{g/mL}$ pour l'HE 50 kN). Les autres composés présents dans la quasi-totalité sont : le camphène, le α terpinéol, l'acétate de bornyle et le bornéol. Il a été constaté aussi que les méthodes d'extraction affectent la composition chimique des HE. Ceci a été vérifié par l'analyse statistique élaborée auparavant (Tableau 3.5). Pour la BFR distillée par entrainement à la vapeur, la concentration de α -pinène varie de 82,5 $\mu\text{g/mL}$, 79,5 $\mu\text{g/mL}$, 99,1 $\mu\text{g/mL}$, 107,2 $\mu\text{g/mL}$, 121,4 $\mu\text{g/mL}$, 88,2 $\mu\text{g/mL}$ pour l'état brut et les niveaux de compression 10, 20, 30, 40 et 50 kN, respectivement. Par ailleurs, la concentration du limonène a diminué de 30 % suite à l'extraction par entrainement à la vapeur. La diminution est expliquée principalement par le phénomène de la solubilité et par l'effet de la température d'extraction. Le α -pinène et le limonène sont deux composés monoterpéniques ayant un faible point d'ébullition d'où il nécessite des températures d'extraction élevées et une courte durée d'extraction. Selon Charles et al. (1990), certains composés monoterpéniques (le limonène, le β -pinène et l' α - pinène) ont des points d'ébullition faibles et qui peuvent être dénaturé suite à un temps d'exposition élevé à de fortes températures durant l'hydrodistillation (Charles et al., 1990). Cependant, la solubilité joue un rôle primordial pendant l'extraction des composés monoterpéniques. Par exemple, le limonène et le β -pinène ont une solubilité faible, voire quasi nulle dans l'eau de l'ordre de 0,150 mmol/L pour le limonène et 0,081 mmol/L pour le β pinène.

Cette insolubilité est due au caractère apolaire de ces composés qui ne sont pas miscibles dans l'eau et qui nécessitent des solvants organiques tel que le cyclohexane pour une meilleure solubilisation. À cet effet, le temps d'exposition à des températures élevées facilite leurs récupérations. De même, ces composés monoterpéniques sont formés par des groupements aromatiques qui confèrent une rigidité et une stabilité chimique durant l'extraction (Fichan et al., 1999). En outre, l'étude de Lucchesi et al. (2005), a confirmé que l'hydrodistillation est parmi les procédés qui favorise la récupération de la totalité des composés terpéniques tels que le limonène (Lucchesi, 2005). De plus, les composés oxygénés sont dotés d'un moment dipolaire élevé qui favorise leurs solubilisations dans l'eau et assure leurs récupérations en premier pendant l'extraction (Lucchesi, 2005). L'étude de Hamitouche (2016) a montré que les molécules d'eau se condensent à la surface de la matrice par la suite diffusent vers l'intérieur selon la loi de Fick, dépendamment du gradient de concentration. La récupération des composés volatils implique nécessairement une quantité de chaleur qui est capable de transformer le liquide en gaz à l'intérieur (Hamitouche, 2016). Pour résumer, les méthodes d'extraction affectent la composition chimique des HE.

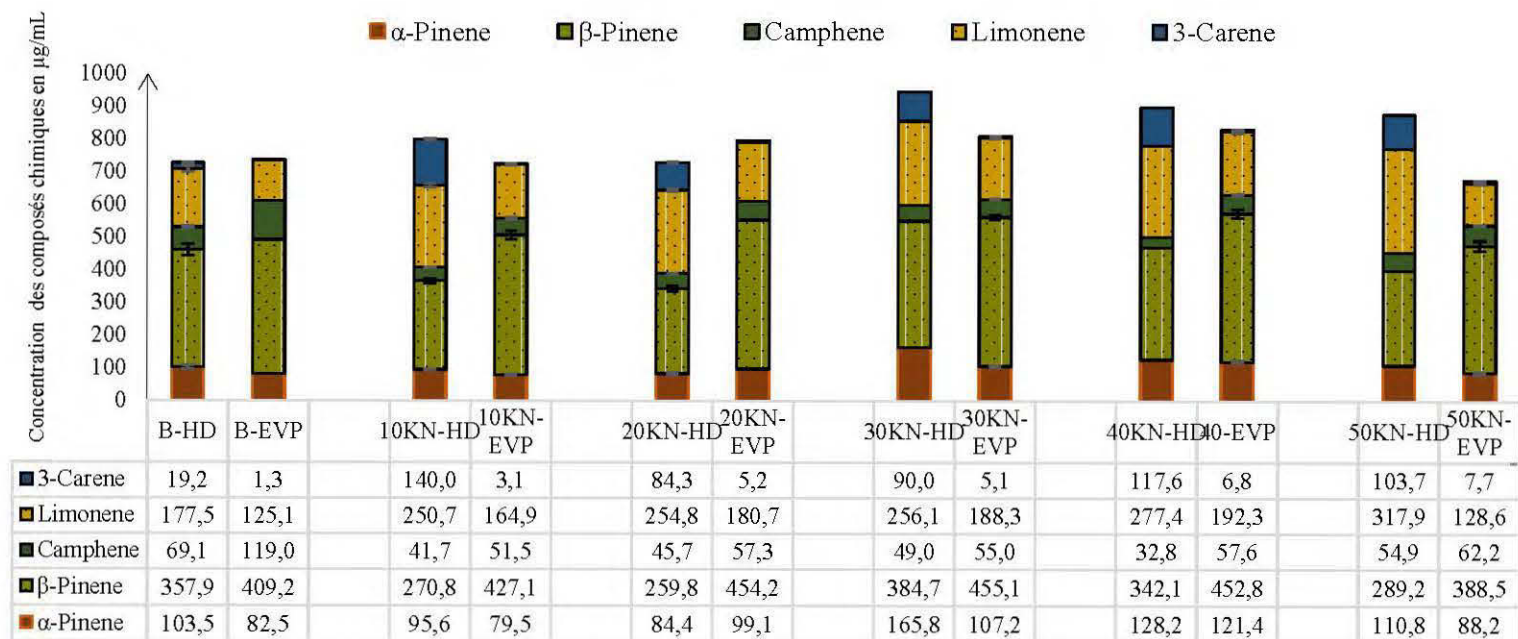


Figure 3.12 Comparaison de la composition chimique des HE du sapin baumier extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur

- Cas de l'épinette noire

Les résultats des analyses par GC/MS des HE de l'épinette noire sont présentés dans la Figure 3.13. L'analyse qualitative des HE de l'épinette noire a relevé la présence de plusieurs composés tels que : le camphène, le α pinène, le β pinène, le limonène, le δ carène, l'acétate de bornyle, le 1,8. cinéole, le linalol, le bornéol, le α -terpinène, le β -Myrcene, le α -Muuroolene et le β -Guaiene. La composition chimique des HE varie d'une essence à l'autre. Royer et al. (2010) ont rapporté que cette variabilité dépend de plusieurs conditions : édaphiques, climatiques et morphologiques (Royer et al.2010). Les HE de l'épinette noire extraites par l'hydrodistillation et par entraînement à la vapeur sont fortement concentrées en camphène et α -pinène avec des concentrations de l'ordre de (156,54 $\mu\text{g/mL}$ - 139,09 $\mu\text{g/mL}$) et (173,5 $\mu\text{g/mL}$ - 117,0 $\mu\text{g/mL}$), respectivement. D'ailleurs, une diminution de la concentration de ces deux composés a été signalée suite à l'entraînement à la vapeur, soulignant la présence d'une structure aromatique stable qui nécessite des températures élevées pour leur solubilisation. Au final, les méthodes d'extraction peuvent varier la composition chimique et affecter par conséquent les propriétés chimiques et microbiologiques des HE. De même, la concentration des constituants des HE dépend du stade phénologique de la plante et du stress biotique et abiotique. Par exemple, les échantillons de l'épinette noire ont été récoltés en septembre qui coïncide avec des conditions favorables pour la biosynthèse du camphène (Ghanmi et al., 2010).

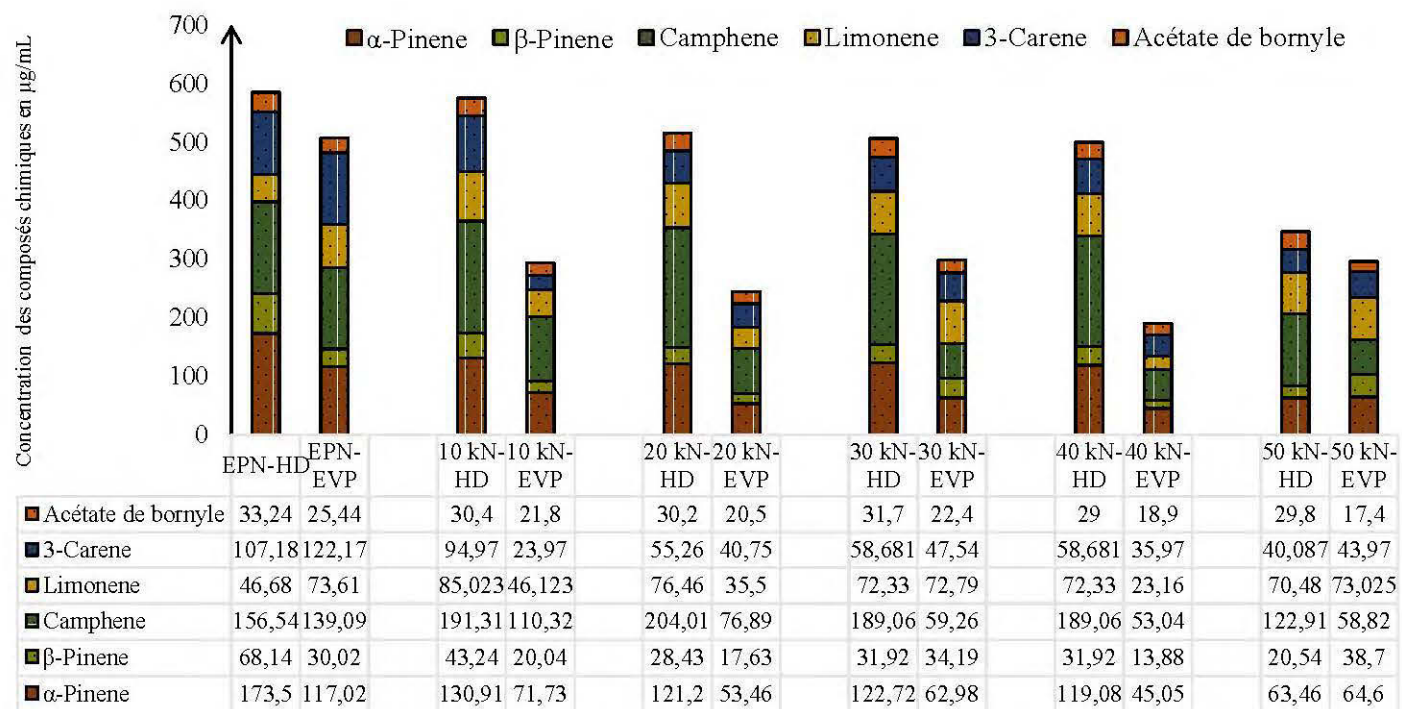


Figure 3.13 Comparaison de la composition chimique des HE de l'épinette noire extraits par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur

- Cas du pin gris

La figure 3.14 montre que la composition chimique des HE du pin gris extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur. Ces HE sont riches en α pinène et δ carènes. À l'état brut, la concentration de l' α -pinène et δ carène varie de 189,4 $\mu\text{g/mL}$ à 359,1 $\mu\text{g/mL}$ et de 32 $\mu\text{g/mL}$ à 219,5 $\mu\text{g/mL}$, respectivement, pour l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. Cette augmentation s'explique par la sensibilité des composés hydrocarbonés aux températures élevées. Filly et al. (2014) ont approuvé que la méthode d'extraction ait un effet sur la composition chimique des HE. Suite à une étude comparative entre l'extraction par microondes et hydrodistillation, ils ont trouvé que les composés oxygénés tels que : le linalol, bornéol, récupérés par la microonde; sont les plus élevées. Par ailleurs, la méthode d'extraction par microondes est une méthode qui provoque des effets thermiques et hydrolytiques moins intenses avec une consommation importante d'eau (Filly et al., 2014).

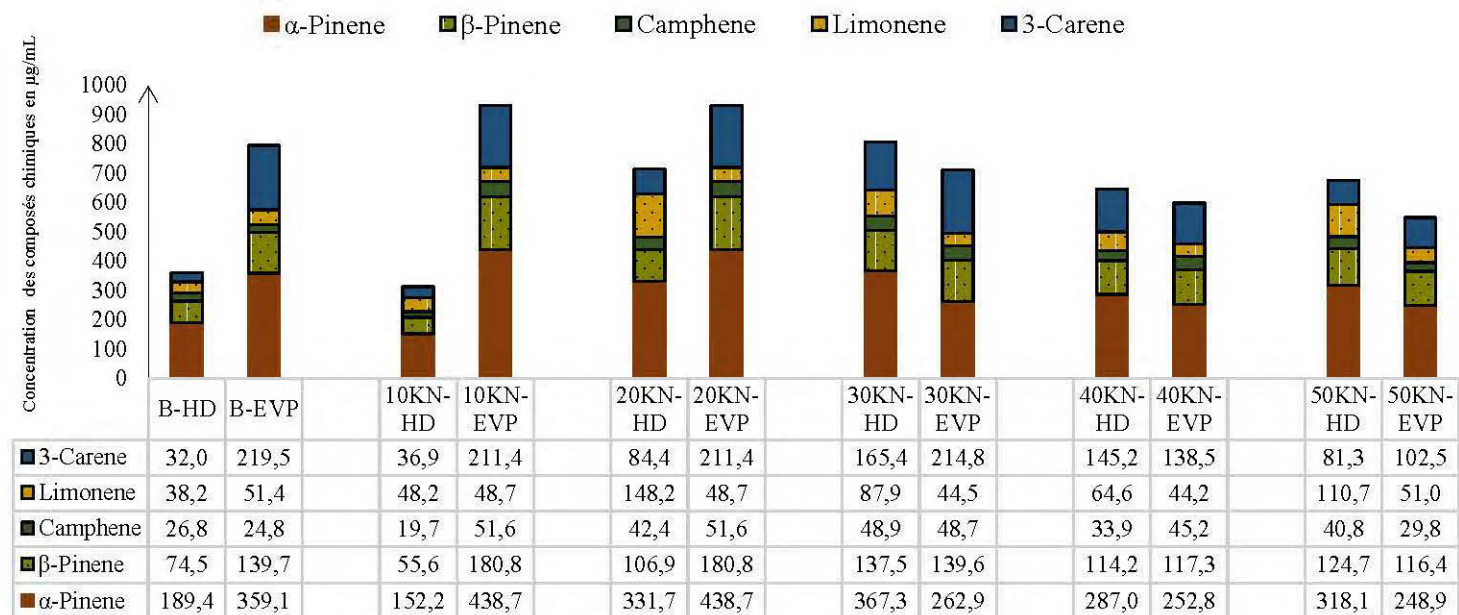
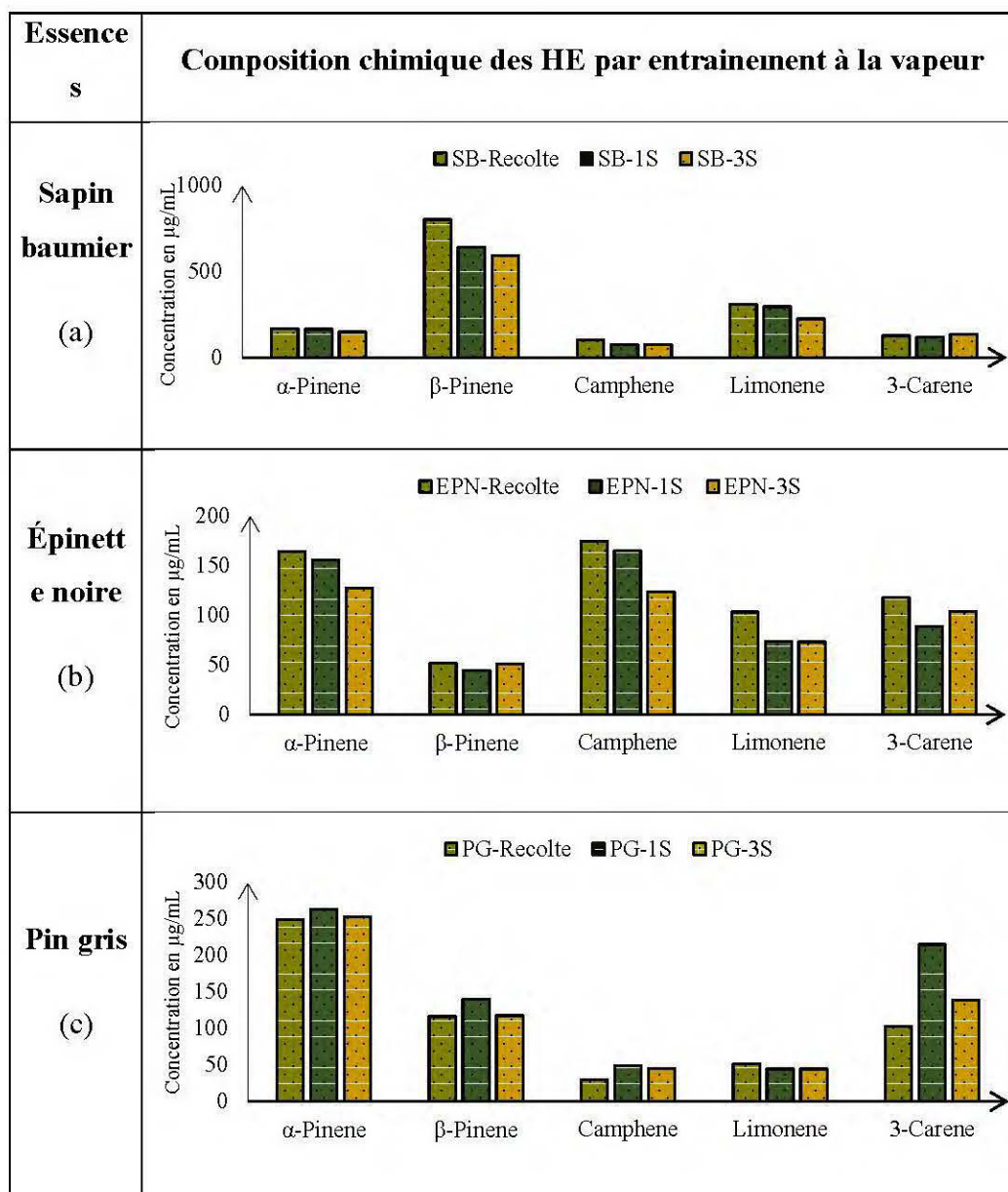


Figure 3.14. Comparaison de la composition chimique des HE du pin gris extraites par hydro distillation et par entrainement à la vapeur

- Cas des HE extraite par entrainement à la vapeur suite à des périodes de vieillissement

Le tableau 3.4 présente la composition chimique des HE des trois essences extraites à partir d'une BFR qui a passé par différentes durées de vieillissement. La figure (a) montre une diminution significative de la concentration des composés monoterpéniques des HE du sapin baumier extraits de la BFR fraîchement récoltée, après 7 jours et après 21 jours (Tableau 3.5). Cette diminution est proportionnelle à la saison de la récolte et aux conditions de stockage de la BFR. Tout d'abord, le sapin baumier fraîchement récolté est fortement concentré en le β pinène, alors qu'après 3 semaines de vieillissement, une diminution de sa concentration de 26% est enregistrée. Pour le cas de l'épinette noire une diminution de 29% et 36%, est notée pour le camphène et l' α pinène, respectivement (Figure (b)). Tandis que pour le pin gris, les valeurs des concentrations sont presque constantes, car la récolte a été effectuée pendant l'hiver qui est une saison pendant laquelle les températures n'ont pas d'impact sur les composés aromatiques de la BFR.

Tableau 3.4 Composition chimique des HE extraites par entrainement à la vapeur de la BFR du (a) sapin baumier(b) épinette noire et (c) pin gris après des périodes de vieillissement.



4.3.2.1 Analyse statistique

Durant cette étude, l'objectif est de déterminer l'effet des méthodes de prétraitements, des méthodes d'extraction et le type d'essence sur les concentrations des composés chimiques constitutifs des HE. L'analyse de la composante principale (ACP) est une méthode qui permet d'illustrer le maximum des variations qui peuvent avoir lieu entre les trois essences. La figure 3.15 présente l'ACP des HE selon les deux composantes principales PC1 et PC2 qui présentent 35 % de la variance et 25 % de la variance, respectivement. Elle illustre les variations de la composition chimique des HE en fonction des types d'essences et des procédés d'extraction. Elle permet de déterminer les facteurs les plus influençant sur la composition chimique des HE.

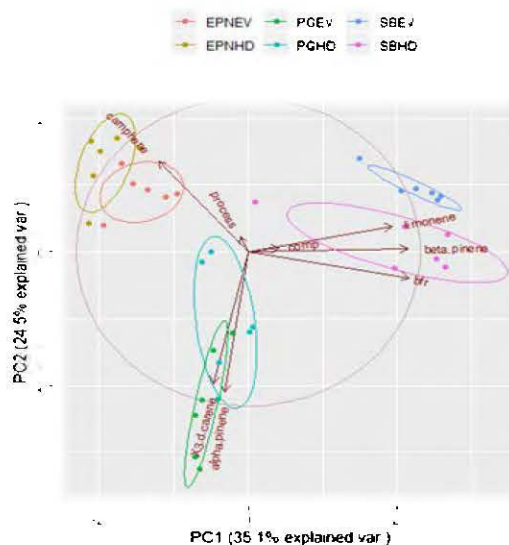


Figure 3.15 Variation de l'effet de type d'essence et des méthodes d'extraction sur la composition chimique des HE

L'ACP étudié dans cette partie est construit sur une base de 5 variables. Le β pinène et le limonène sont corrélés positivement et sont majoritaires dans la composition chimique des HE du sapin baumier. Le δ carène et le α pinène sont aussi fortement corrélés et sont présents majoritairement dans les HE du pin gris. Tandis que le camphène est le composé le plus fréquent dans les HE de l'épinette noire. À partir de la figure 3.15, on peut déduire que si la concentration en β -pinène et en limonène augmente, la concentration en camphène diminue. Il est à noter que les deux facteurs type d'essence et le niveau de compression sont corrélés positivement. La figure 3.15 permet d'identifier 6 groupes qui sont : EPNHD, EPNEVP, SBHD, SBEVP, PGHD et PGEVP. Ces échantillons présentent une forte variabilité interne selon leurs compositions chimiques. En effet, EPNHD, EPNEVP montre une forte corrélation avec le camphène. Les échantillons de SBHD et SBEVP sont corrélés avec le β -pinène et en limonène et finalement les HE du PGHD et PGEVP sont concentrées avec le α -pinène et le 3-d-carène. Le tableau 3.5 montre l'analyse de la significativité de chaque facteur et leurs coefficients de corrélation. En effet, le niveau de compression n'a pas d'effet sur la composition chimique des HE. Tandis que, le type d'essence et le procédé d'extraction sont fortement corrélés et ont un effet sur la concentration des constituants chimiques.

Tableau 3.5 Analyse ANOVA de l'effet de type d'essence, du procédé d'extraction et leurs interactions sur la composition chimique des HE

Facteurs	Coefficients	<i>p</i>	R ²
Niveau		0,45*	0,85
Essence		0,001**	0,82
Procédé		0,068*	0,66
Essence : Procédé		0,001**	0,86

* : non significatif, ** : significatif

3.3.3 Pouvoir antioxydant

3.3.3.1 Dosage des phénols totaux

- Hydrodistillation

La teneur en phénols totaux des HE des trois essences : sapin baumier, épinette noire et pin gris extraites par une hydrodistillation est exprimée en $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.16. Le pin gris révèle une forte teneur en polyphénols par rapport à l'épinette noire et le sapin baumier. Cette teneur varie entre $178,13 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique à l'état brut et $282,83 \mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique pour les HE extraites par les fagots de 50 kN.

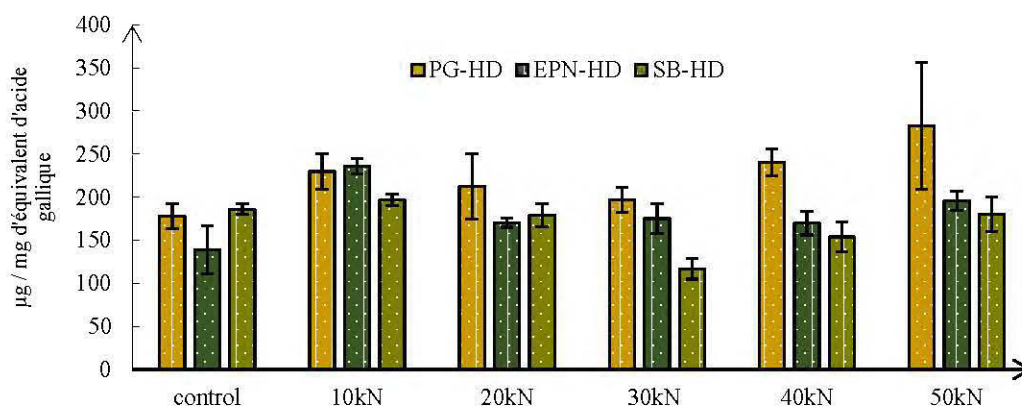


Figure 3.16 Effet du niveau de compression, type d'essence et de l'hydrodistillation sur la teneur des phénols totaux

Cette augmentation est reliée à la nature des écorces du pin gris qui sont riches en polyphénols (Jerez et al., 2007). L'étude de Nozzolillo et al., (1990) a montré que la saison d'automne (novembre) est la meilleure saison où la plante est caractérisée par une forte sécrétion des composés phénoliques. C'est la période de gel caractérisé par des variations de la température. De plus, l'arbre subit des changements chimiques avec un changement de couleur due principalement à la biosynthèse des anthocyanes. Ces composés appartenant à la famille des flavonoïdes confèrent la pigmentation de la plante (Nozzolillo et al., 1990). L'étude comparative de Preston et al. (2014) a montré que les aiguilles du pin gris sont riches en polyphénols par rapport à l'épinette noire. La présence de ces composés phénoliques dans la plante dépend du type d'essence, la période de la récolte, les traitements post-récolte, les conditions de prétraitement et la taille des particules des échantillons durant l'extraction (Stevanovic et al., 2009).

- Entrainement à la vapeur

La figure 3.17 présente les concentrations des phénols totaux des HE distillées par entrainement à la vapeur à partir du sapin baumier, de l'épinette noire et du pin gris. Les méthodes d'extraction et les niveaux de compression de la BFR n'ont pas d'effet sur la teneur en polyphénols (Tableau 3.6). Par contre, la teneur en phénols totaux varie selon le type d'essence. D'ailleurs, le pin gris est le plus riche en polyphénols avec une teneur qui varie entre $231,5 \pm 30,0813$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique pour la BFR brute et $209,8 \pm 4,11$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique pour les HE extraites à partir des fagots à 50 kN. L'épinette noire, de sa part, présente une teneur en phénols totaux qui est aux alentours de $191,66 \pm 35,15$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique à l'état brut et $210,3 \pm 24,3$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique pour les HE distillées des fagots de 50 kN. Tandis que le sapin baumier présente une faible teneur en polyphénols par rapport aux autres essences et qui est aux alentours de $178,73 \pm 17,4$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent

d'acide gallique $199,76 \pm 31,4$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ d'équivalent d'acide gallique pour l'état brut et pour les HE extraites des fagots de 50 kN, respectivement.

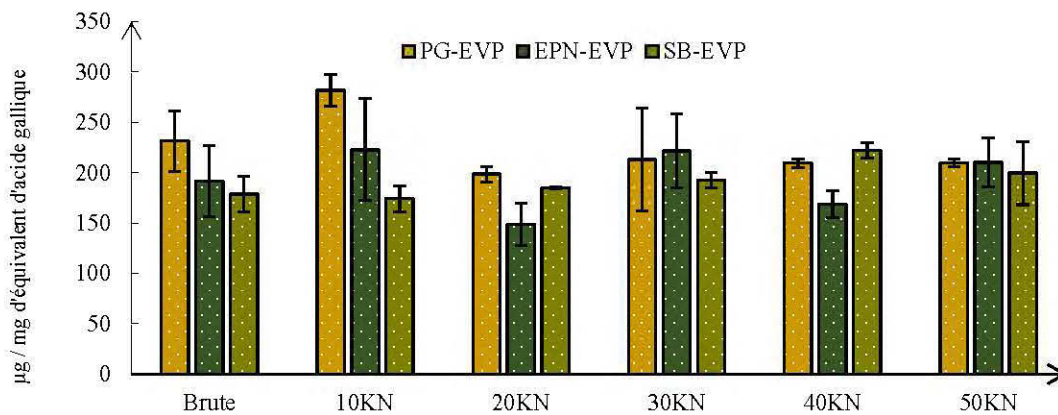


Figure 3.17 Effet du niveau de compression, de type d'essence et de l'entraînement à la vapeur sur la teneur des phénols totaux

4.2.2.1.1 Analyse statistique

D'après le tableau 3.6, il a été constaté que les valeurs de p pour le type d'essence et le procédé d'extraction sont tous inférieures à 0,01 indiquant ainsi leur influence positive sur la réponse de la teneur en phénols totaux. De même, le niveau de compression, le procédé et le type d'essence s'interagissent positivement avec un p égal à 0,00135.

Tableau 3.6 Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la teneur des phénols totaux des HE

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Niveau	5	35050	7010	0,207*
Procédé	1	7261	7261	0,018651**
Essence	2	26712	13356	8,83e-05**
Niveau: Procédé	1	8792	1758	0,233495*
Niveau: Essence	2	21573	2157	0,092295*
Procédé: Essence	2	671	335	0,765927*
Niveau: Procédé: Essence	2	41663	4166	0,001351**
		$R^2 = 0,61$	$R^2_{\text{Ajusté}} = 0,42$	

* : non significatif, ** : significatif

3.3.3.2 Détermination du pouvoir antioxydant par la méthode de réduction ferrique

- Cas de sapin baumier

La méthode de réduction ferrique (FRAP) est une méthode simple, reproductible et rapide qui permet d'identifier les extractibles capables de réduire l'oxyde de fer (II) en oxyde ferrique (III). La figure 3.18 montre la capacité de réduction ferrique des HE

extraites à partir de différentes formes de la BFR du sapin baumier. La mise en fagot est un prétraitement qui n'a pas d'effet sur le pouvoir de la réduction ferrique des HE. Dans cette étude, l'acide ascorbique joue le rôle de référence et présente un pouvoir oxydant de l'ordre de 315,54 mmol Fe²⁺/mL des HE. Les HE du sapin baumier brut extraites par hydrodistillation présente une capacité réductrice élevée de 205,46 mmol de Fe²⁺/mL des HE, comparativement à celle des fagots de 10 kN à 50 kN qui varie de 241,84 jusqu'à 298,7 mmol de Fe²⁺/mL des HE. L'extraction par entrainement à la vapeur a engendré une diminution de 56 % de la capacité réductrice des HE. En effet, l'état brut a révélé un pouvoir réducteur de 88,8 mmol de Fe²⁺/mL des HE. Les fagots 10, 20, 30, 40 et 50 kN présentent des pouvoirs réducteurs qui varient entre 91 mmol de Fe²⁺/mL des HE et 166,06 mmol de Fe²⁺/mL des HE. Le test ANOVA a vérifié également que les procédés d'extraction ont un effet significatif sur le pouvoir de réduction ferrique (Tableau 3.7).

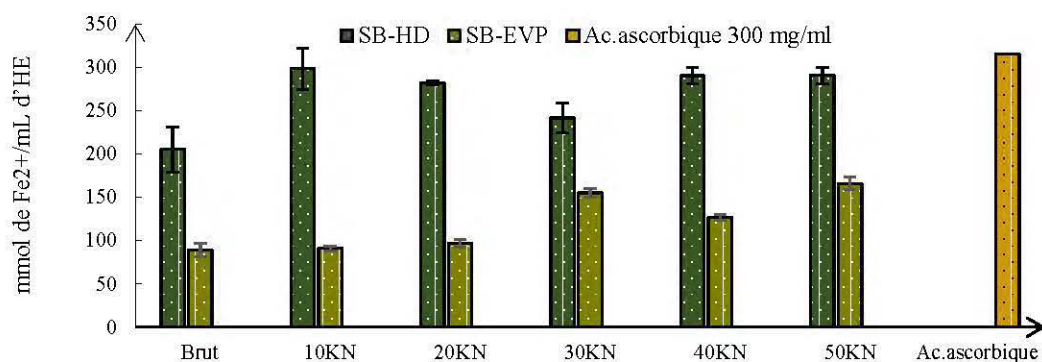


Figure 3.18 Évaluation de la capacité de réduction ferrique des HE des fagots du sapin baumier extraites par hydro distillation et par entrainement à la vapeur

Le pouvoir de réduction ferrique des HE est étroitement lié avec la composition chimique. Ce pouvoir cherche à réduire le fer qui est une molécule très active capable de capter l'oxygène et causer le phénomène d'oxydation. Les résultats obtenus précédemment ont montré que les HE extraites par hydrodistillation sont riches en phénols qui sont capables de céder les atomes d'hydrogène grâce à leurs groupements hydroxyles et inactiver les oxydants causant ainsi la dénaturation de la composition chimique des produits agroalimentaires et cosmétiques (Bougandoura et al., 2013). De même, les HE issues du procédé d'hydrodistillation sont concentrées en composés monoterpéniques qui contribuent à la réduction ferrique avec les phénols totaux (Edris, 2007).

- Cas de l'épinette noire

La figure 3.19 traduit la capacité de réduction ferrique des HE de l'épinette noire par rapport au niveau de compression et au procédé d'extraction. Pour le cas des HE extraites par hydrodistillation, le pouvoir de réduction ferrique passe de 223,63 mmol de Fe^{2+}/mL des HE pour l'état brut jusqu'à 157,6 mmol de Fe^{2+}/mL pour les HE extraites des fagots de 50 kN. De l'autre côté, l'extraction par entraînement à la vapeur entraîne une amélioration de 23 % de ce pouvoir et qui passe de 171,4 mmol de Fe^{2+}/mL des HE jusqu'à 225,3 mmol de Fe^{2+}/mL des HE. En effet, pour l'épinette noire, ce pouvoir peut être expliqué par la forte affinité créée entre les polyphénols et les ions métalliques du fer ferrique (Fe^{3+}). De même, d'autres composés tels que : les alcools (linalool et 1,2-cineol), les cétones (menthone et isomenthone), les aldéhydes (neral et citronellol), les esters et les hydrocarbures (α -térpinène et α -terpinol) peuvent participer à la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}) et peuvent agir en synergie pour déterminer l'activité antioxydante des HE et la capacité réductrice (Edris, 2007). Ces observations concordent avec l'analyse qualitative des HE de l'épinette noire qui montre la présence des composés oxygénés. Ces derniers sont mieux récupérés par entraînement à la vapeur qui provoque des effets thermiques moins intenses que

l'hydrodistillation et favorisent leurs récupérations rapides sans perte (Filly et al., 2014).

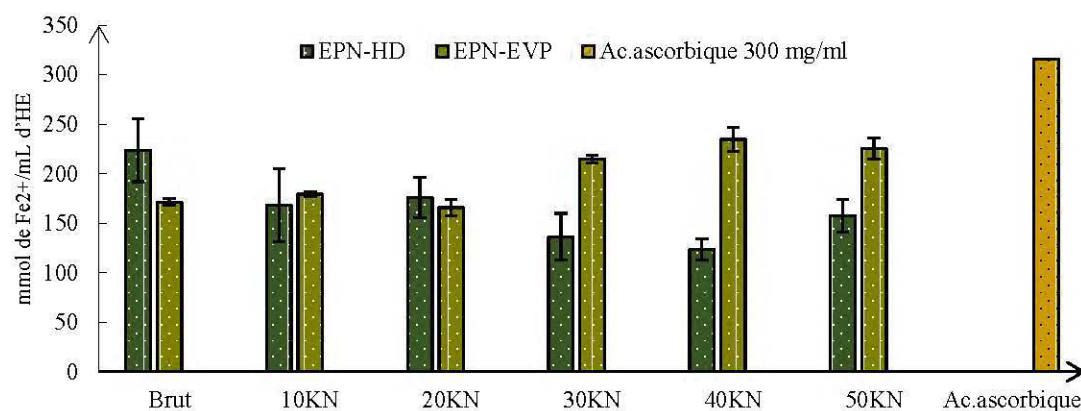


Figure 3.19 Évaluation de la capacité de la réduction ferrique des HE des fagots de l'épinette noire extraites par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur

- Cas de pin gris

En comparant les deux procédés d'extraction, il y a une amélioration du pouvoir réducteur des HE de pin gris qui passe de 14,07 mmol de Fe²⁺/mL des HE pour l'état brut de l'hydrodistillation jusqu'à 198,03 mmol de Fe²⁺/mL des HE par entrainement à la vapeur (Figure 3.20). Une amélioration de 75 % du pouvoir de réduction des HE suite à l'extraction par entrainement à la vapeur est observée pour les cinq niveaux de compression. Ceci est expliqué tout d'abord par la forte teneur en composés phénoliques des HE du pin gris. Les phénols sont des composés formés par un ou plusieurs noyaux aromatiques qui forment un système capable de délocaliser les électrons non appariés facilement. De même, grâce à leurs groupements hydroxyles, ils cèdent les atomes d'hydrogène qui réagissent avec les radicaux libres et assurent la

stabilité des produits. Une forte corrélation est observée entre la teneur des phénols totaux et le pouvoir de réduction ferrique (Lagha-Benamrouche et al., 2013). L'analyse de la composition par GC/MS a montré que les HE du pin gris sont riches en monoterpènes et des composés cycliques avec plus de deux doubles liaisons tels que : le limonène, γ -terpinène et le α -pinène qui sont à leurs tours capables de céder des atomes d'hydrogène pour la réduction ferrique (Jeya H., 2012).

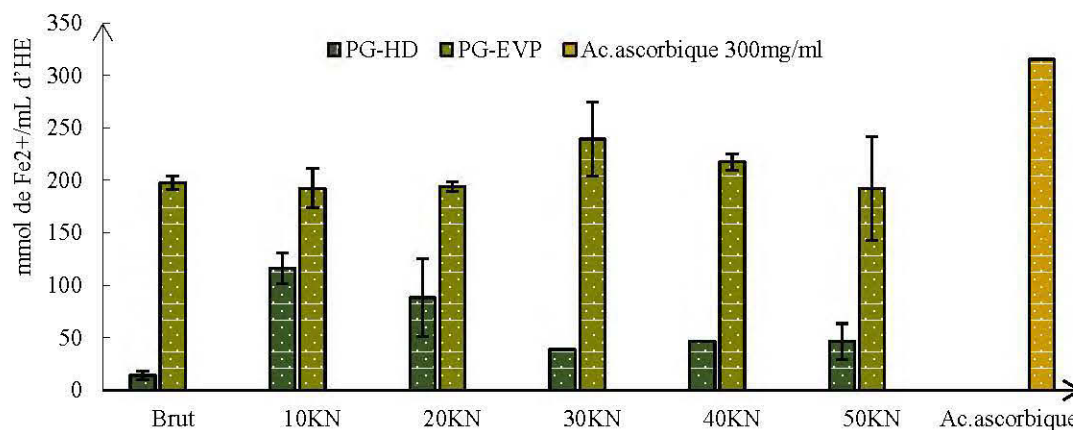


Figure 3.20 Évaluation de la capacité de la réduction ferrique des HE des fagots du pin gris extraites par hydrodistillation et par entrainement à la vapeur

4.3.3.2.1 Analyse statistique

Le tableau 3.7 expose l'influence de chaque facteur et l'ensemble des interactions sur la capacité de réduction ferrique. En somme, il a été constaté que le pouvoir de réduction ferrique diffère d'une essence à l'autre à cause de leurs compositions chimiques différentes. L'analyse ANOVA valide cet effet avec une valeur de p hautement significative ($p < 2,57e-11$). Non seulement le type d'essence qui affecte ce

pouvoir, mais encore le procédé d'extraction et différentes interactions ont tous des effets significatifs.

Tableau 3.7 Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la FRAP des HE

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Niveau	5	3060	3060	0,08741*
Procédé	1	1449	1449	0,02377**
Essence	2	65225	32613	<2,57e-11**
Niveau: Procédé	1	10523	10523	0,00185**
Niveau: Essence	2	8048	4024	0,02308**
Procédé: Essence	2	402661	201331	< 2e-16**
Niveau: Procédé: Essence	2	11528	5764	0,00494**
		$R^2 = 0,84$	$R_{\text{Ajusté}}^2 = 0,82$	

* : non significatif, ** : significatif

3.3.3.3 Détermination du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH

La détermination du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH permet de déterminer la concentration d'inhibition IC_{50} capable de réduire 50% des radicaux libres (Figure 3.21). Le BHT est utilisé comme une référence avec une IC_{50} qui est égale à 50 $\mu\text{g/mL}$. Le tableau 3.8 résume les IC_{50} des trois essences après les deux procédés d'extraction. Les HE extraites de la BFR par entrainement à la vapeur de l'épinette noire brute et les fagots de 50 kN ont atteint une IC_{50} qui est égale à 80 $\mu\text{g/mL}$, similaires à celle du BHT. Tandis que les HE extraites des fagots 10, 20, 30 et 40 kN ont enregistré des concentrations : 120, 120, 110 et 110 $\mu\text{g/mL}$, respectivement. Par contre, l'extraction par hydrodistillation a montré une différence de la concentration d'inhibition à 50 % qui atteint 400 $\mu\text{g/mL}$ pour le cas des HE extraits des fagots 10 kN. Cela reflète l'importance de la concentration des phénols totaux qui a été notée plus élevée suite à l'extraction par entrainement à la vapeur pour les trois essences. En outre, les composés phénoliques ont la capacité de transférer leurs atomes d'hydrogène et assurer la réduction des radicaux libres du DPPH pour donner une molécule stable. La réaction d'inhibition des radicaux libres est assurée par les composés phénoliques. De plus les composés minoritaires tels que (1,8.cinéole, le linaol, le bornéol, le α -terpinène, le β -Myrcene, le α -Muurolene et le β -Guaiene) peuvent interagir d'une façon synergique avec les composés majoritaires auront la capacité de piéger ou faciliter le piégeage les radicaux libres du DPPH (Laib, 2012). Ici, la conclusion à tirer est que la densification en fagot n'a pas d'effet significatif sur les propriétés antioxydantes, alors que le type d'essence et la composition chimique ont un impact important sur ce pouvoir.

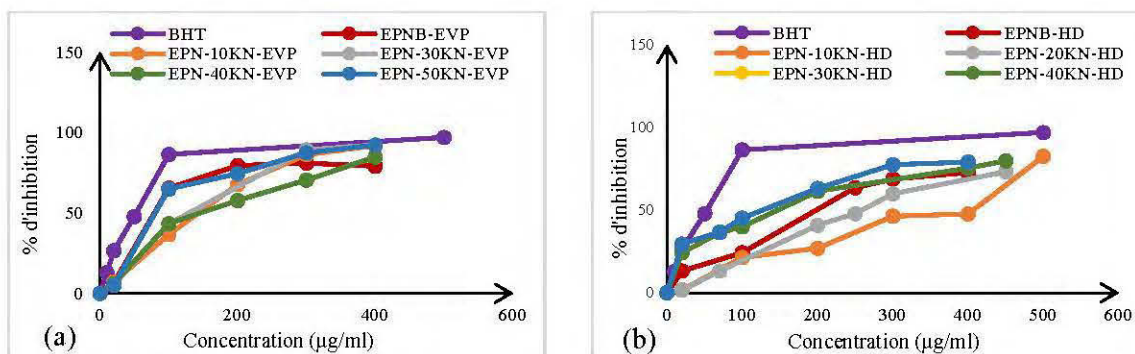


Figure 3.21 Mesure de la capacité de piégeage des radicaux libres du DPPH des HE des fagots de l'épinette noire : (a) par hydrodistillation (b) par entrainement à la vapeur

Tableau 3.8 La valeur de IC₅₀ pour les trois types d'essences et par rapport aux deux procédés d'extraction

Échantillons	IC ₅₀ (µg/mL)	
	Hydrodistillation	Entrainement à la vapeur
BHT	50 ± 1,2	50 ± 3,4
Sapin baumier brut	300 ± 1,6	380 ± 1,2
Sapin baumier 10 kN	300 ± 1,8	180 ± 3
Sapin baumier 20 kN	300 ± 5,2	280 ± 3
Sapin baumier 30 kN	380 ± 2,7	100 ± 2
Sapin baumier 40 kN	300 ± 1,6	110 ± 3
Sapin baumier 50 kN	280 ± 4,7	300 ± 5,3
Épinette noire brut	180 ± 0,39	80 ± 2,32
Épinette noire 10 kN	400 ± 0,44	150 ± 1,0
Épinette noire 20 kN	250 ± 3,42	110 ± 2,4
Épinette noire 30 kN	200 ± 4,42	110 ± 2,8
Épinette noire 40 kN	150 ± 3,6	120 ± 1,1
Épinette noire 50 kN	110 ± 3,9	80 ± 0,8
Pin gris brut	310 ± 3	300 ± 2,4
Pin gris 10 kN	200 ± 4	100 ± 0,2
Pin gris 20 kN	150 ± 2	140 ± 1,4
Pin gris 30 kN	180 ± 2	140 ± 3,2
Pin gris 40 kN	100 ± 6	140 ± 4,2
Pin gris 50 kN	200 ± 4	180 ± 0,3

3.3.3.4 Évaluation des propriétés antioxydantes des HE issue de la BFR déchiquetée, broyée et granulée

L'analyse des propriétés antioxydantes des HE par la méthode de 1,1- diphényl-dipicrylhydrazyle (DPPH) a donné différentes concentrations d'inhibition des radicaux libres. Les HE du sapin baumier présentent un pouvoir antioxydant qui s'améliore avec le type de prétraitements. Ceci est expliqué par des valeurs décroissantes d'IC₅₀ obtenu avec : un IC₅₀ = 270 µg/mL pour le cas des HE témoin et qui passe à IC₅₀ = 90 µg/mL pour la BFR broyée jusqu'à atteindre un IC₅₀ = 5 µg/mL pour les HE issues de la BFR granulée. En effet, il y a une corrélation positive entre les méthodes de prétraitement mécanique et la variation d'IC₅₀. En termes de composition chimique, l'analyse par GC/MS effectuée a montré une variation de la composition des HE issues du sapin baumier surtout par rapport à la proportion du limonène et qui passe de 10 % à l'état témoin jusqu'à atteindre 14 % à l'état granulé. Le limonène est un constituant majoritaire qui participe au pouvoir antioxydant des HE (Roberto et al., 2010). La valeur d'IC₅₀ des HE issues de l'épinette noire témoin, déchiquetée, broyée et granulée sont : IC₅₀ = 320 µg/mL, IC₅₀ = 120 µg/mL, IC₅₀ = 280 µg/mL et IC₅₀ = 170 µg/mL, respectivement. À partir des résultats obtenus, le pouvoir antioxydant des HE s'améliore avec les prétraitements mécaniques. En effet, ces prétraitements tels que le broyage entraînent l'éclatement des cellules sécrétrices, et assurent l'augmentation de la surface de contact entre les particules et la vapeur d'eau. D'où l'augmentation de la concentration des hydrocarbures terpéniques (Benov et al., 1994). La comparaison entre les deux essences montre qu'il y a une différence des concentrations qui est expliquée par la présence d'autres composés qui participent au pouvoir antioxydant tel que les composés phénoliques. D'ailleurs, Mata et al. (2007) ont rapporté que les composés monoterpéniques ont une faible capacité donatrice d'atome d'hydrogène tandis que les phénols participent fortement à la réduction des radicaux libres (Mata et al., 2007).

3.3.3.3.1 Analyse statistique

Le tableau 3.9 présente les effets du type d'essence et des procédés d'extraction sur le pouvoir antioxydant déterminé par DPPH. L'élimination du niveau de compression du modèle a été faite pour augmenter la puissance statistique.

Tableau 3.9 Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur la IC₅₀ des HE

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Essence	2	77717	38858	0,0036**
Procédé	1	49136	49136	0,0063**
Procédé: Essence	2	11839	5919	0.3659*
		$R^2 = 0,45$	$R^2_{\text{Ajusté}} = 0,36$	

* : non significatif, ** : significatif

3.3.4 Pouvoir antibactérien

3.3.4.1 Détermination par la méthode des disques

- Cas de sapin baumier

La figure 3.22 illustre l'activité antibactérienne des HE de sapin baumier contre différentes souches microbiennes telles que *Staphylococcus aureus* (Gram positif), *E.*

coli et *S. Typhimurium* (Gram négatif). L'évaluation de cette activité a été testée par la méthode de diffusion des disques. Ces bactéries sont impliquées dans plusieurs pathologies variées et elles sont souvent responsables d'infections nosocomiales répandues dans les hôpitaux. Le chloramphénicol et le penicillium sont les deux antibiotiques utilisés dans cette étude comme des contrôles positifs avec des diamètres d'inhibition variant entre 23 ± 1 mm et 25 ± 1 mm, respectivement. Il est avéré que *Staphylococcus aureus* est une souche très résistante aux pouvoirs bactéricides des HE du sapin baumier. La figure 3.22 présente les diamètres d'inhibition pour les HE extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur à partir de la biomasse à l'état brut et de la biomasse mise des fagots avec des niveaux de compression de 10 kN jusqu'à 50 kN. Les diamètres sont aux alentours de 7 ± 1 mm et $10,3 \pm 1$ mm, respectivement. La *E. coli* a montré une certaine sensibilité vis-à-vis les différentes HE du sapin baumier avec des diamètres d'inhibition variant entre 10 mm et 18 ± 2 mm pour les deux procédés d'extraction. Par contre, *S. Typhimurium* a noté une résistance élevée comparativement aux HE du sapin baumier. Une légère augmentation est remarquée pour les HE issues des fagots, extraites à la vapeur et qui sont de 12 ± 2 mm et $11,3 \pm 1$ mm, pour des niveaux de compression de 20 et 30 kN, respectivement. Suite à ces résultats, le prétraitement mécanique de la BFR n'a pas d'effet sur l'activité antibactérienne des HE alors que le procédé d'extraction a un effet sur la composition chimique qui est responsable de l'action bactéricide des HE (Tableau 3.10). D'ailleurs, les résultats de Poaty et al. (2015) ont indiqué que *E. coli* présente une sensibilité vis-à-vis le β pinène et le limonène. Ces résultats concordent avec les résultats du GC/MS pour le cas des HE du sapin baumier et qui sont riches en β pinène et le limonène. En effet, l'action antibactérienne du β pinène et limonène pourra être amélioré par une réaction d'alkylation. De même, Pelczar et al. (1988) ont confirmé que l'alkylation améliore la réaction des HE face aux bactéries Gram négatif (Pelczar et al., 1988). D'autres chercheurs ont montré que la résistance des bactéries Gram négatif peut être

expliquée par le fait qu'ils sont dotés d'une couche de peptidoglycane située entre la membrane plasmique et la couche externe contenant des protéines qui confèrent à la cellule son imperméabilité. En effet, les peptidoglycane sont des constituants qui protègent la bactérie et lui donnent la capacité pour résister à l'action des HE (Chao et al., 2000).

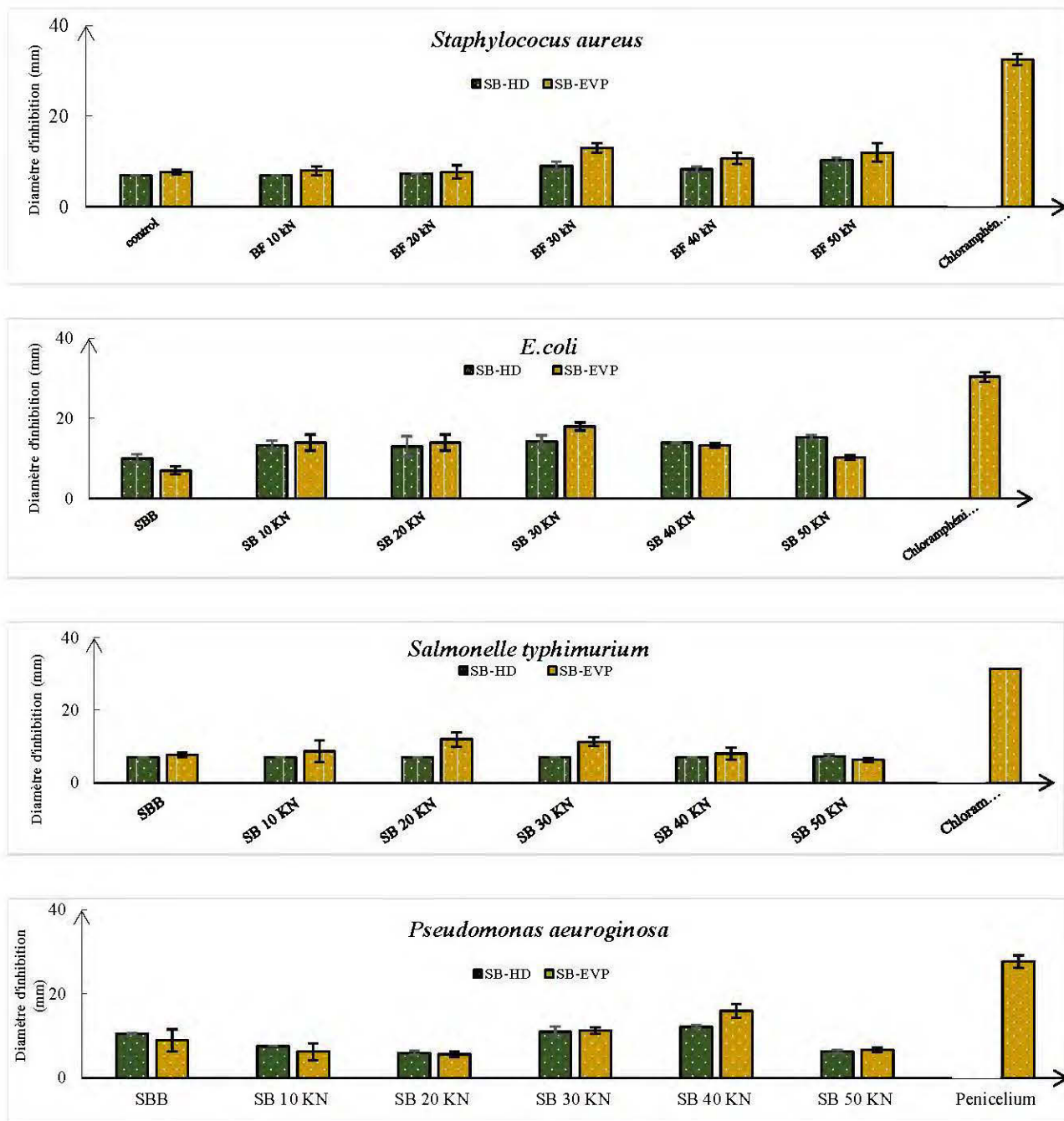


Figure 3.22 Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE du sapin baumier

- Cas de l'épinette noire

Suite aux résultats obtenus précédemment et aux analyses statistiques, la densification de la BFR sous forme de fagots n'a pas d'effet significatif sur l'activité antibactérienne des HE de l'épinette noire ($p > 0,05$). Par contre, le procédé d'extraction a un impact sur cette activité, car il affecte déjà la composition chimique des HE (Tableau 3.10). *S. aureus* a montré une forte sensibilité aux HE de l'épinette noir brute, et aux HE issues des fagots de 30 et 50 kN issues du procédé d'hydrodistillation. La sensibilité passe de sensible ($22,3 \pm 2$ mm) au très sensible ($26,7 \pm 1,3$ mm) jusqu'à extrêmement sensible ($30 \pm 0,6$ mm), respectivement. Tandis que l'extraction par entrainement à la vapeur a enregistré une diminution de l'efficacité des HE envers *S. aureus* qui reste toujours sensible. De même, les HE de l'épinette noire ont un effet important contre les souches Gram négatif. En effet, la bactérie *E. coli* est extrêmement sensible et présente des diamètres d'inhibition de $20,3 \pm 1$ mm, $38,3 \pm 1,5$ mm et 30 ± 1 mm pour l'HE de l'épinette à l'état brut et des fagots de 30 et 50 kN, respectivement. *S. Typhimurium* est inhibée par les HE de l'épinette brute et les HE issues des fagots de 40 et 50 kN avec des diamètres qui sont $16,7 \pm 1$ mm, 18 ± 1 mm et 30 ± 1 mm, respectivement. Il est à noter que l'activité antibactérienne des HE extraites par hydrodistillation est plus élevée que celle des HE extraites par entrainement à la vapeur (Figure 3.23). Ces observations concordent avec les résultats obtenus par GC/MS qui ont montré qu'il y a des pertes au niveau de la concentration des composés monterpéniques. Les HE de l'épinette noire sont riches en camphène et α pinène qui ont des capacités importantes pour attaquer *S. aureus* et *S. Typhimurium* (Poaty et al., 2015). De même, la forte concentration des phénols totaux présents dans les HE d'épinette noire améliore davantage leurs activités antibactériennes. En effet, la composition et la structure dimensionnelle des composés phénoliques jouent un rôle important dans l'activité antibactérienne. Pareil, la position du groupement hydroxyle -OH dans le cycle aromatique et la longueur de la chaîne latérale saturée affecte la sensibilité des

microorganismes. La substitution d'une double liaison par un groupement alkyle sur le noyau phénolique améliore l'activité antibactérienne (Gyawali et al., 2014). Le β pinène, le limonène et les phénols sont capables de se fusionner avec les lipides de la membrane cellulaire des microorganismes et engendrent des perturbations des métabolismes et des échanges des nutriments et des ions (Sikkema et al., 1994)

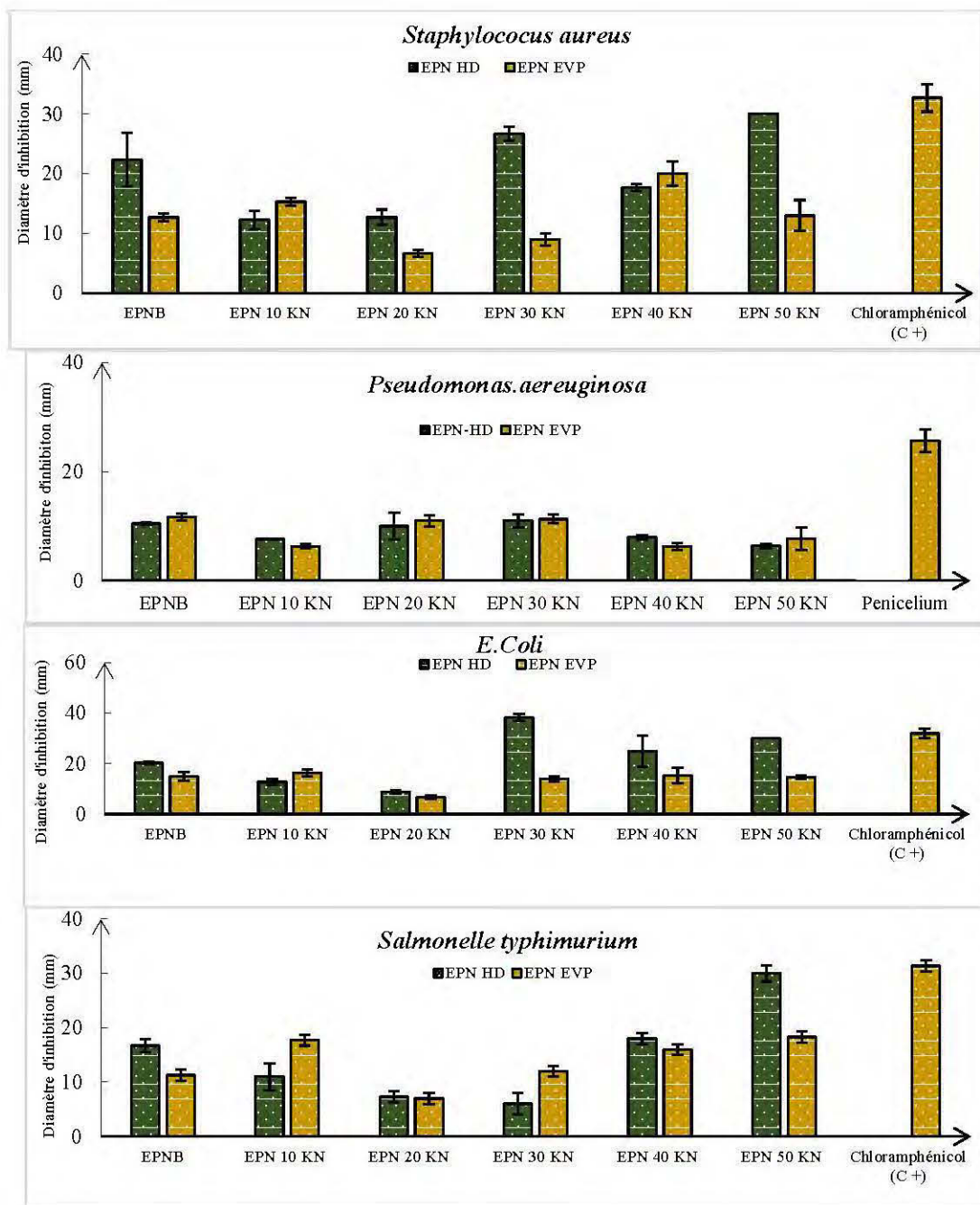


Figure 3.23 Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE de l'épinette noire

- Cas du pin gris

Les HE du pin gris extraites par entrainement à la vapeur présentent une activité antibactérienne importante par rapport aux autres entrainées par hydrodistillation. En effet, les HE du pin gris brut et des HE extraites des fagots de 40 et 50 kN, inhibent *S. aureus* avec un diamètre de 9 mm, 14,66 mm et 24 ± 2 mm, respectivement (Figure 3.24). De plus, la composition chimique déterminée par GC/MS a montré une augmentation de la concentration des composés monoterpéniques des HE et surtout le α -pinène qui a un effet important sur sensibilité des bactéries Gram positif et négatif. Selon la littérature, parmi les constituants à faible activité antibactérienne, citons, pulegone, menthone, 1,8-cinéole, p-cymène, myrcène, α -pinène, limonène, linalool, 2-terpinène, les sesquiterpènes et les composés non terpéniques (Tassou et al., 2000). Tandis que les polyphénols tels que thymol et le carvacrol, ce sont des composés ayant une forte activité antibactérienne (Bassole et al., 2001). Durant cette étude, il a été mentionné que les HE du pin gris sont riches en polyphénols et en composés monoterpéniques. Cette composition leur confère des propriétés antibactériennes intéressantes. D'ailleurs, le caractère hydrophobe des phénols leur accorde le potentiel de se fusionner avec la membrane cellulaire des bactéries (Gram négatif). Ceci, modifie la perméabilité de la cellule et cause des fuites des constituantes intracellulaires tels que les glutamates, ribose et Na. De plus, les composés phénoliques entraînent le dysfonctionnement de la membrane cellulaire et réagissent avec les nutriments et les protéines et affectent la synthèse d'acides nucléiques et l'activité des ATPase (Dorman et al., 2000). Les bactéries Gram positif, tel que la *S. aureus* sont sensible. En effet, les constituants hydrophobes des HE seront en contact direct avec les constituants intracellulaires vitaux, ce qui engendre leurs fuites et cause des déficiences des systèmes enzymatiques (Sadou et al., 2015). En outre, l'évaluation du pouvoir antibactérien des trois essences : sapin baumier, épinette noire et pin gris vis-à-vis la *P. aeruginosa* (Gram négatif) montrent que cette dernière est une souche très résistante.

Cette souche est capable de synthétiser un biofilm stratifié qui lui permet de préserver les conditions physiologiques spécifiques pour sa survie (Abi-Ayad et al., 2011).

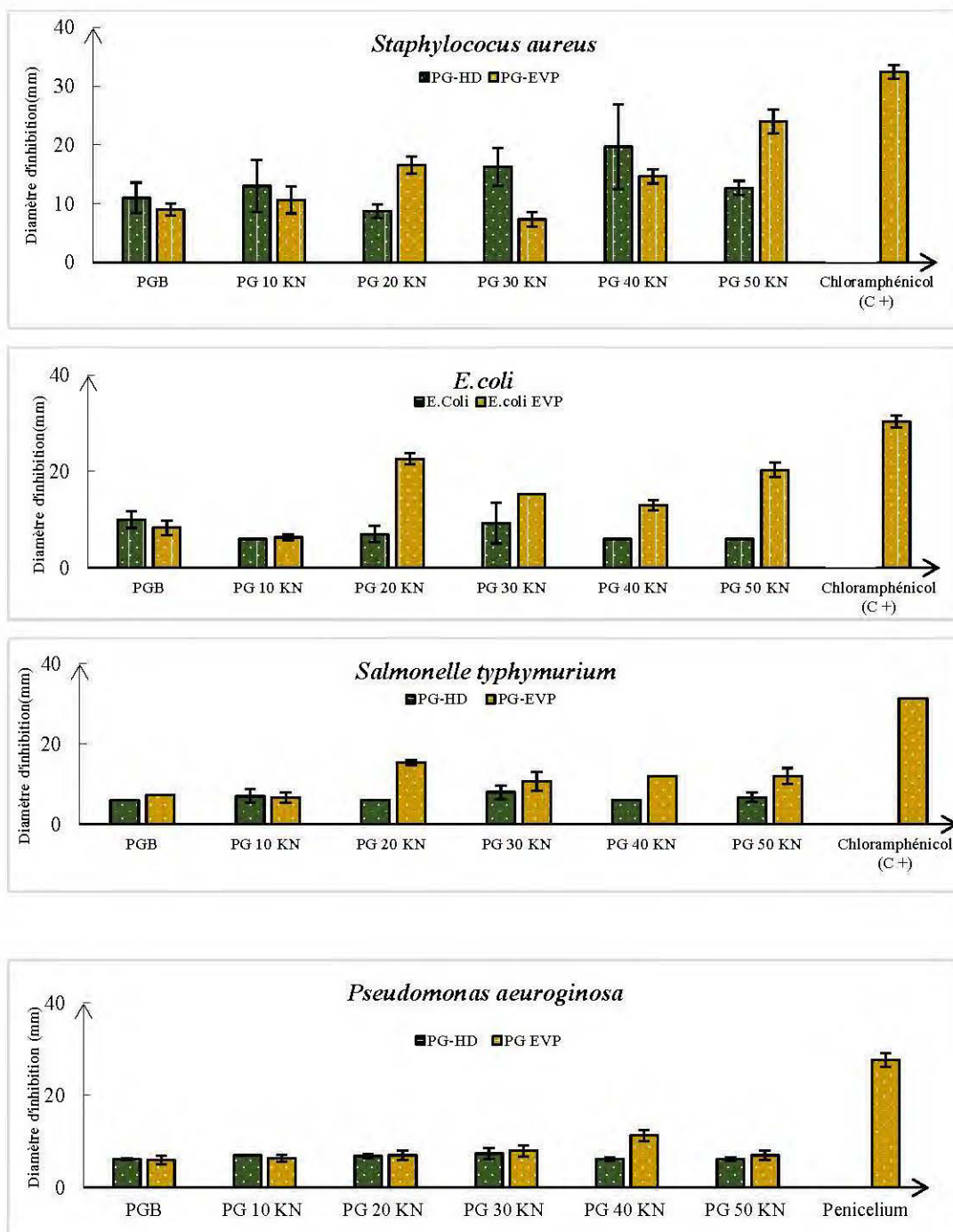


Figure 3.24 Diamètres d'inhibition des différentes souches par les HE du pin gris

3.3.4.2 Activité antibactérienne des HE issue de la BFR déchiquetée, broyée et granulée

En premier lieu, l'évaluation de l'activité antibactérienne du sapin baumier a été effectuée par la méthode de diffusion par disque. En effet, les HE du sapin baumier déchiqueté, broyé et granulé présentent des effets d'inhibition non significatifs ($p > 0,05$) contre les souches Gram négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. typhimurium*). Ces dernières ont des diamètres d'inhibition suivants : $7,80 \pm 2$ mm, $9,7 \pm 3,5$ mm, $8,7 \pm 2$ mm, respectivement. Ceci est expliqué par la structure des bactéries Gram négatif qui sont dotées d'une couche de peptidoglycane qui se trouve entre la membrane plasmique et la couche externe qui contient des protéines qui assure aux cellules leurs imperméabilités et la résistance à l'action des HE (Chao et al., 2000). De plus, l'analyse de la composition chimique par GC/MS des HE du sapin baumier déchiqueté, broyé et granulé ont montré que ces huiles présentent une teneur élevée en hydrocarbures monoterpéniques soit: 13 % α -pinène, 30 % β -pinène et 20 % du camphène ainsi qu'une teneur importante en composés monoterpéniques oxygénés : 6 % du bornéol. Les prétraitements mécaniques qui ont été appliqués n'ont pas d'effet sur la composition chimique. La concentration de ces composés et leurs effets synergiques jouent un rôle important pour la détermination des propriétés antibactériennes des HE. Ces composés sont capables de dégrader la membrane des bactéries Gram positif mieux que celle des Gram négatif (Helander et al., 1998; De Feo et al., 2003; Santoyo et al., 2005). En deuxième lieu, pour l'épinette noire, l'activité antimicrobienne des HE issues de la BFR déchiquetée, broyée et granulée présente des diamètres d'inhibition inférieurs à 10 ± 2 mm. L'analyse statistique à un seul facteur a montré que les traitements mécaniques n'ont pas d'effet significatif sur l'activité antibactérienne des HE issues de la BFR du sapin baumier et de l'épinette noire non traitée, déchiquetée, broyée et granulée.

4.3.4.1.2 Analyse statistique

D'après le tableau 3.10, il a été constaté que les valeurs de $p > F$ pour le type d'essence et le procédé d'extraction sont toutes inférieures à 0,01, ce qui confirme leurs influences significatives sur la réponse l'activité antibactérienne. De plus, l'interaction entre les trois facteurs est significative.

Tableau 3.10 Analyse ANOVA de l'effet des différents facteurs et leurs interactions sur l'activité antibactérienne des HE

Source	Degré de liberté	Somme des carrées	Carrée moyen	prob > F(p)
Niveau	5	398,3	79,7	0,71661*
Procédé	1	2,4	2,4	0,00137**
Essence	2	854,0	427,0	1,16e-08**
Niveau: Procédé	5	135,6	27,1	0,19502*
Niveau: Essence	2	581,6	58,2	0,00165**
Procédé: Essence	2	387,0	193,5	7,84e-05**
Niveau: Procédé: Essence	2	431,2	43,1	0,01560**
		$R^2 = 0,6875$	$R^2_{Ajusté} = 0,5334$	

* : non significatif, ** : significatif

3.3.4.3 Mesure de la CMI et la CMB

L'évaluation de l'activité antibactérienne des HE par le test de diffusion par disque a montré différents diamètres d'inhibition. Les capacités d'inhibition des HE suivent cet ordre décroissant, l'épinette noire, le pin gris et le sapin baumier. Le tableau 3.11 détaille les valeurs de la CMI et CMB des HE extraites par hydrodistillation et par entraînement à la vapeur contre les quatre souches : *S. aureus*, *S. Typhimurium*, *E. coli* et *P. aereuginosa*. Les résultats ont montré que les HE de l'épinette noire extraites par entraînement à la vapeur sont capables d'inhiber l'activité du *S. aureus* (Gram positif) avec des concentrations très faibles 1 % (2 µg/µl) grâce à leurs compositions chimiques qui perturbent le fonctionnement de ces souches. Néanmoins, vis-à-vis les Gram négatif, ces HE réagissent vis-à-vis *S. typhimurium* (2µg/µl) et nécessitent des concentrations élevées par rapport à *E. coli* (CMI = 40 µg/µl) et *P. aereuginosa* (CMI = 32µg/µl). Les HE de l'épinette noire sont les HE qui ont les meilleures propriétés antibactériennes suite à ce test. De plus, l'analyse qualitative montre que ces HE contiennent les composés oxygénés tels que (1,8- cinéole, linalol et bornéol) autres que les composés monoterpéniques (α pinène, β pinène, limonène, camphène et acétate de bornyle). Les composés oxygénés sont capables de capter les atomes d'hydrogène et augmenter la solubilité des HE dans l'eau (Sokovic et al., 2008). De l'autre côté, les HE du sapin baumier ont une activité modérée contre la plupart des bactéries évaluées. Les CMI et CMB présentée dans le tableau 3.11 varient entre 12-20 % (24 µg/µl et 40 µg/µl) vis-à-vis *P. aereuginosa*, *E. coli*, *S. typhimurium*, et *S. aureus*. Les HE du sapin baumier sont riches en composés monoterpéniques et contiennent aussi le α terpinol et le bornéol ce qui améliore leurs activités. Pour le cas des HE du pin gris, elles présentent une activité antibactérienne importante vis-à-vis *S. aureus* et *E. coli* mais avec des concentrations très élevées. Selon l'étude de Gulfrazet al. (2008), l'activité antimicrobienne des HE est attribuée aux composés terpéniques et aux polyphénols. En effet, la présence de ces composés améliore la capacité des HE à rendre les

microorganismes plus sensibles, car ces composés interagissent avec les éléments de la bactérie (membrane cytoplasmique, mitochondrie, etc.) et causent : des déséquilibres durant les métabolismes de la souche, perturbent les échanges ioniques, entraînent des dommages de la membrane cellulaire et des fuites du contenu cellulaires tels que les lipides et les protéines (Burt, 2004). De même, cette étude a montré des valeurs de CMI trop élevées supérieures à 20 % pour les bactéries Gram négatif. En effet, leurs résistances sont associées à la présence de la couche de liposaccharidique qui sert comme une barrière par rapport aux biomolécules intrinsèques (Bari et al., 2010).

Tableau 3.11 Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des HE extraites par hydrodistillation

Bactérie	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>S. aureus</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
	%	%	%	%	%	%	%	%
Hydrodistillation								
SBB	20	>20	1	8	12	12	1	16
SB10 kN	20	>20	1	8	12	16	1	12
SB20 kN	12	16	1	12	12	16	1	12
SB30 kN	12	16	1	12	12	16	1	16
SB40 kN	12	16	1	12	12	12	1	12
SB50 kN	12	>20	1	12	12	16	1	16
EPNB	12	12	8	16	8	20	12	12
EPN10 kN	12	16	8	16	8	20	20	>20
EPN20 kN	12	16	8	12	8	20	12	16
EPN30 kN	12	12	12	12	8	20	12	16
EPN40 kN	12	16	8	16	8	20	12	16
EPN50 kN	12	12	8	16	8	20	12	12
PGB	20	>20	12	16	16	20	8	16
PG10 kN	20	>20	16	16	16	>20	20	>20
PG20 kN	20	>20	12	20	16	>20	20	>20
PG30 kN	20	>20	12	20	16	20	20	>20
PG40 kN	20	>20	16	>20	16	16	20	>20
PG50 kN	20	>20	1	16	16	16	20	>20

Tableau 3.12 Concentration minimale inhibitrice (CMI) et concentration minimale bactéricide (CMB) des HE extraites par entrainement à la vapeur

Bactérie	<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. typhimurium</i>		<i>S. aureus</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
	%	%	%	%	%	%	%	%
Entrainement à la vapeur								
SBB	20	>20	20	20	12	20	20	20
SB10 kN	12	20	1	1	4	12	1	16
SB20 kN	12	>20	1	20	4	12	1	16
SB30 kN	12	20	1	20	4	12	1	12
SB40 kN	12	>20	1	20	4	4	1	12
SB50 kN	12	20	1	20	4	4	4	12
EPNB	4	12	1	20	1	1	1	1
EPN10 kN	8	16	1	20	1	1	1	1
EPN20 kN	8	16	1	>20	1	1	1	1
EPN30 kN	8	8	1	20	1	1	1	1
EPN40 kN	8	8	1	20	1	1	1	1
EPN50 kN	8	16	1	20	1	1	1	1
PGB	1	>20	1	20	4	>20	20	20
PG10 kN	12	12	4	4	4	>20	20	20
PG20 kN	4	4	12	12	4	20	20	20
PG30 kN	4	16	4	4	4	>20	20	>20
PG40 kN	20	20	1	4	4	>20	20	20
PG50 kN	20	20	1	4	4	4	20	20

3.3.4.4 Détermination de l'activité antifongique

Les HE des conifères sont dotés de plusieurs propriétés antioxydantes et antibactériennes. Elles sont riches en composés terpéniques et phénoliques. L'évaluation de leurs activités antifongique a été évaluée vis-à-vis *Aspergillus Niger*, un champignon très répandu dans les milieux résidentiels et l'environnement urbain. Les figures 3.25 présentées ci-dessous montrent que l'action des HE de l'épinette noire du sapin baumier et du pin gris par rapport aux spores d'*Aspergillus Niger*. En effet, les HE de l'épinette noire et du pin gris sont capables d'inhiber la croissance de ces colonies mycéliennes. Les concentrations préparées pour l'évaluation de l'action des HE était faible à 1 :100. Ceci pourra expliquer la faible inhibition observée à la figure 3.25. Selon la composition chimique les HE de l'épinette noire sont concentrés en composés terpéniques et phénoliques et ceux du pin gris sont fortement concentrés en composés phénoliques. Ces résultats concordent avec le classement établi par plusieurs études élaborées sur l'activité antifongique des HE qui est présenté dans l'ordre décroissant suivant : phénols > alcools > aldéhydes > cétones > oxydes > hydrocarbures > esters.

En effet, les phénols sont capables d'inactiver les enzymes fongiques qui contiennent le groupement SH dans leurs sites actifs, éléments clés dans la biosynthèse des protéines de la cellule (Cowan, 1999). Également, les composés terpéniques qui sont les molécules réputées des HE des conifères, ils sont capables et grâce à la faible capacité de leurs liaisons d'hydrogène et de leur faible solubilité à la modifier la perméabilité de la membrane cellulaire par une fixation sur les groupements amine et hydroxylamine des protéines membranaires (El Ajjouri et al., 2008; Debonne et al., 2018; de Oliveira et al., 2019). D'autres études ont mentionné que les HE engendrent des modifications de la morphologie des champignons et cause l'insuffisance de la

sporulation, la variation de la pigmentation et l'apparition des anomalies au niveau des hyphes et conidiospores (Sharma et al., 2008).

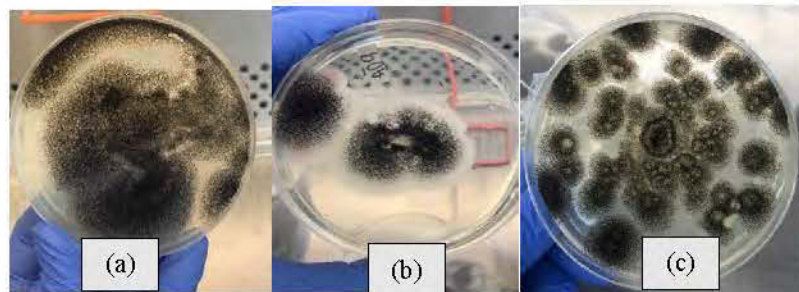


Figure 3.25 Comportement des HE de (a) sapin baumier (b) épinette noire et (c) pin gris vis-à-vis l'Aspergillus Nige

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des différentes méthodes de prétraitements mécaniques de la BFR sur la productivité des HE et leurs qualités. Trois types d'essences ont été étudiés soient, le sapin baumier, l'épinette noire et le pin gris. En premier lieu, dans le cadre d'une étude préliminaire ces résidus ont subi trois modes de prétraitements soient, le déchiquetage, le broyage et la densification en granules. En deuxième lieu, la BFR a été densifiée sous forme de fagots. L'extraction des HE à partir de ces résidus a été effectuée par deux types de procédés à savoir l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur. Conséquemment, la caractérisation des HE a été répartie en propriétés physiques (densité relative), propriétés chimiques (via la chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectroscopie de masse), propriétés antioxydantes (dosage des phénols totaux, mesure de la capacité de réduction ferrique et pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH) et propriétés microbiologiques (test de diffusion par disque, détermination de la CMI et CMB et l'activité antifongique). Des comparaisons ont été effectuées entre les HE à l'état brut et les autres issues d'une biomasse densifiée, entre différents types d'essence et entre deux procédés d'extraction. Suite à cette comparaison, les HE sont évalués quantitativement et qualitativement.

L'objectif général ainsi que les objectifs spécifiques de cette étude ont été atteints. Par conséquent, les résultats ont montré que :

- Le déchiquetage, le broyage et la densification de la BFR sous forme de granule engendrent des pertes en termes des quantités des HE par rapport à l'état brut

(témoin) pour les trois essences. Tandis que la densification sous forme de fagots, a entraîné une amélioration de la quantité des HE récupérées, mais pas d'amélioration pour le cas du pin gris. Ceci est dû à la forme des fagots qui donne une bonne répartition de la BFR, ce qui assure un meilleur transfert de la chaleur entre les branches. Aussi, la mise en fagots favorise la circulation de la vapeur et assure la possibilité d'accéder aux cellules sécrétrices des HE. Pour finir, ce prétraitement préserve la qualité de la BFR sans permettre la perte des composés volatils.

- Le vieillissement de la BFR est un facteur qui a entraîné des pertes quantitatives des HE tout en préservant leurs qualités.
- L'extraction par hydrodistillation a permis d'avoir des HE avec des concentrations élevées en composés monoterpéniques et phénoliques par rapport aux HE extraites par entraînement à la vapeur. De plus, les propriétés qualitatives des HE ont été préservées suite au prétraitement par mise en fagot.
- Les propriétés antioxydantes et les propriétés antibactériennes des HE dépendent principalement du type d'essence et de la concentration des polyphénols totaux, des composés monoterpéniques et des composés oxygénés.
- Les HE de l'épinette noire sont capables d'inhiber la croissance des bactéries Gram positif *S.aureus* et les Gram négatif tels que la *S. typhimurium* et la *E. coli*. De même, les HE de l'épinette noire et sapin baumier ont le potentiel d'inhiber la croissance d'*Aspergillus Niger*.

Cette étude vise à réduire la taille de la BFR toute en préservant la quantité et qualité des HE. De surcroît, elle cherche à mettre en place un produit à haute valeur ajoutée à

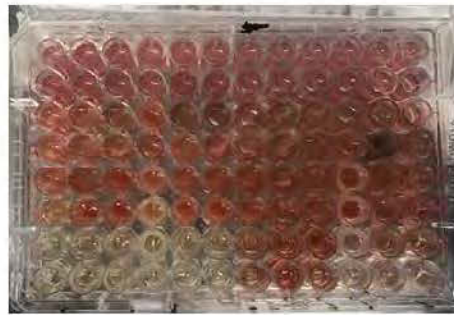
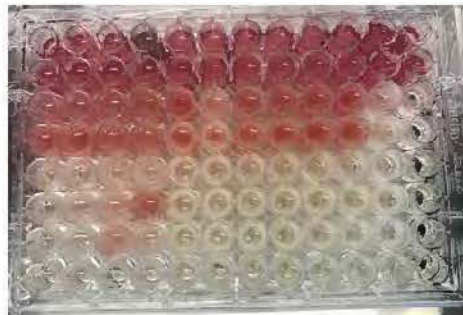
partir de ressources sous-valorisées au Québec, à savoir les branches et les aiguilles du sapin baumier, du pin gris et de l'épinette noire. L'incorporation de ces HE contenant des molécules bioactives dans la formulation chimique des produits pharmaceutiques et cosmétiques permet de promouvoir le marché des bioproduits avec de faibles coûts et assure aussi le dynamisme de la bioéconomie du pays. De même, les HE sont des produits qui peuvent être incorporés dans la composition chimique d'un matériau destinée pour l'emballage des produits alimentaires. Les HE sont aussi utilisés pour des applications phytosanitaires et incorporées dans la formulation des désinfectants de surface. Comme perspectives en vue de continuité de cette recherche, la modélisation de la chaîne d'approvisionnement de la BFR et l'évaluation de chaque composante sera exhortée pour préparer une étude technico-économique complète. Ceci permettra de fixer les conditions optimales pour aboutir un produit à fort potentiel industriel économique. La récolte de la biomasse résiduelle pendant la même période pour les trois essences est recommandée pour pouvoir bâtir une étude comparative. L'évaluation de l'effet d'autres procédés d'extraction (micro-ondes, ondes ultrasonores, CO₂ supercritique) sur le rendement et la qualité des HE est recommandée. En conclusion, la valorisation de la biomasse résiduelle issue du procédé d'extraction en granules énergétique pourra être une alternative aux produits d'origine fossile.

Le prétraitement et la valorisation de ces résidus forestiers permettent de créer des produits écologiques et permettent d'assurer la durabilité de l'écosystème tous en évitant les émissions des GES engendrés par les moyens de transport.

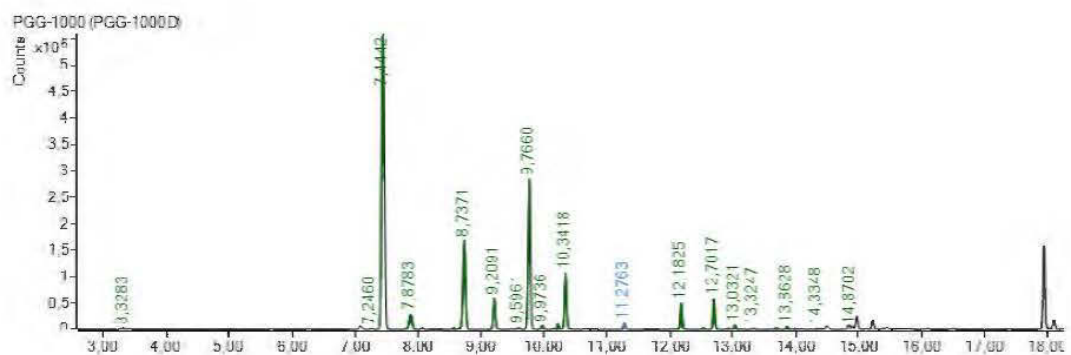
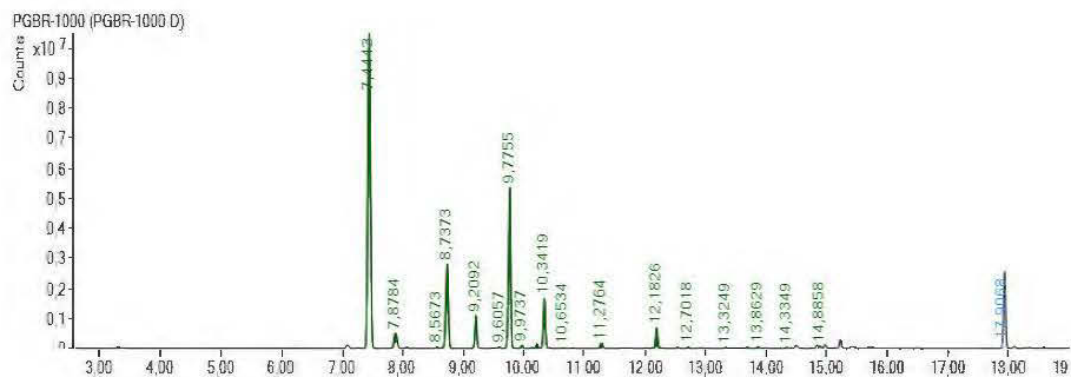
ANNEXE



Diamètres d'inhibition des différentes souches par les différents HE



Détermination de la concentration minimale inhibitrice



Le tableau ci-dessous résume les propriétés quantitatives et qualitatives des HE extraites des fagots de 50 kN du sapin baumier, épinette noire et pin gris.

Tableau 3. 13 Les propriétés quantitatives et qualitatives des HE extraites des fagots de 50 kN des trois essences : Sapin baumier, Épinette noire et Pin gris

Essences	Sapin baumier		Épinette noire		Pin gris	
	Hydrodistillation	Entrainement à la vapeur	Hydrodistillation	Entrainement à la vapeur	Hydrodistillation	Entrainement à la vapeur
Rendement (mL/kg)	8,81	5,49	3,04	4,94	1,64	1,96
Densité (g/mL)	0,758 ± 0,01		0,8525 ± 0,012		0,8735 ± 0,012	
Composés majoritaires	β-pinène, limonène		Camphène et α-pinène		α pinène et δ carène	
Teneur en phénols totaux (mg/g d'équivalent d'acide gallique)	180,53	199	195,7	210,2	282,83	209
Pouvoir de réduction ferrique (mmol de Fe²⁺/mL)	298,7 ± 1,2	166,06 ± 0,74	157,6 ± 2,4	225,3 ± 0,44	46,5 ± 3,4	192,4 ± 1,28
Capacité de réduire le de DPPH =% IC₅₀	280 ± 4,65	300 ± 5,33	110 ± 3,91	80 ± 0,78	200 ± 4	180 ± 0,26
Diamètre d'inhibition des souches	Souches résistantes		Toutes les souches sont extrêmement sensibles	Toutes les souches sont sensibles	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Et E.coli</i>
Concentration minimale inhibitrice	20 %	20 %	1 %	1 % <i>S. typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	16 %	16 %
Concentration minimale bactéricide	20 %	20 %	8 %	1 %	20 %	20 %

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abi-Ayad, M., Abi-Ayad, F., Lazzouni, H., & Rebiahi, S. (2011). Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen). *J Nat Prod Plant Resour*, 1(1), 33-36.
- Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., & Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: fundamentals toward application. *Biotechnology advances*, 29(6), 675-685.
- Al Haddad, M. (2007). *Contribution théorique et modélisation des phénomènes instantanés dans les opérations d'autovaporisation et de déshydratation*. Thèse de doctorat : Université de La Rochelle, 260p.
- Allaf, T., & Allaf, K. (2016). *Instant controlled pressure drop (DIC) in food processing*: Springer.
- Amarti, F., El Ajjouri, M., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Farah, A., Khia, A., Guedira, A., Rahouti, M., & Chaouch, A. (2011). Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Thymus zygis* du Maroc. *Phytothérapie*, 9(3), 149- 157.
- André, C., Castanheira, I., Cruz, J., Paseiro, P., & Sanches-Silva, A. (2010). Analytical strategies to evaluate antioxidants in food: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(5), 229-246.
- Ardestani, A., & Yazdanparast, R. (2007). Antioxidant and free radical scavenging potential of *Achillea santolina* extracts. *Food Chemistry*, 104(1), 21-29.

- Ares, A., Terry, T., Harrington, C., Devine, W., Peter, D., & Bailey, J. (2007). Biomass removal, soil compaction, and vegetation control effects on five-year growth of Douglas fir in coastal Washington. *Forest Science*, 53(5), 600-610.
- Ast, J. (2009). Étude de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques des plaquettes forestières en fonction des modalités de stockage et de séchage. Thèse de doctorat : Université Henri Poincaré Nancy 1, 211p.
- Atz Dick, T., Couve, J., Gimello, O., Mas, A., & Robin, J. J. (2017). Chemical modification and plasma-induced grafting of pyrolytic lignin. Evaluation of the reinforcing effect on lignin/poly(L-lactide) composites. *Polymer (United Kingdom)*, 118, 280-296. Consulté le : 2017.04.036
- Aylott, M. J., Casella, E., Tubby, I., Street, N., Smith, P., & Taylor, G. (2008). Yield and spatial supply of bioenergy poplar and willow short-rotation coppice in the UK. *New Phytologist*, 178(2), 358-370.
- Ba, B. H. (2016). *Modélisation et optimisation de chaînes d'approvisionnement en biomasses pour des bioraffineries*. Thèse de doctorat : Université De Technologie De Troyes, 168p.
- Balat, M., & Ayar, G. (2005). Biomass energy in the world, use of biomass and potential trends. *Energy sources*, 27(10), 931-940.
- Bari, M., Islam, W., Khan, A., & Mandal, A. (2010). Antibacterial and antifungal activity of *Solanum torvum* (Solanaceae). *Int J Agric Biol*, 12(3), 386-390.
- Bassman, J. H., Robberecht, R., & Edwards, G. E. (2001). Effects of enhanced UV-B radiation on growth and gas exchange in *Populus deltoides* Bartr. ex Marsh. *International Journal of Plant Sciences*, 162(1), 103-110.
- Bassole, I., Ouattara, A., Nebie, R., Ouattara, C., Kabore, Z., & Traore, S. (2001). Composition chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles des

feuilles et des fleurs de *Cymbopogon proximus* (stapf.) et d'*Ocimum canum* (sims). *Pharm. Méd. Trad. Afr*, 11, 37-51.

- Bastide, G., Thual, J., Theobald, O., Bardinal, M., Johansson, H., Piccinini, S., Maggioni, L., Al Seadi, T., Holm-Nielsen, J. B., & Da Costa, G. (2015). *European strategies benchmark of biogas production and valorization industries and French methanation industry forward-looking statements*. Final report.
- Belhadef, W. (2016). *Développement de granules énergétiques améliorées à base de bouleau blanc et de graines de canola*. Mémoire de Maitrise : Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue, 232p.
- Besombes, C. (2008). *Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées*. UFR des sciences. Thèse de doctorat : Université de La Rochelle, 290p.
- Boeriu, C. G., Bravo, D., Gosselink, R. J., & van Dam, J. E. (2004). Characterization of structure-dependent functional properties of lignin with infrared spectroscopy. *Industrial Crops and products*, 20(2), 205-218.
- Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2013). Évaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanoïque de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*(9), 14.
- Bouhlal, T., Loukili, K., Zidane, L., & Fadli, M. (2017). Plants used in traditional medicines by the human population of the Gharb plain (morocco). *Journal of Medicinal Plants*, 5(5), 170-174.
- Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). A new process for extraction of essential oil from Citrus peels: Microwave hydro diffusion and gravity. *Journal of Food Engineering*, 90(3), 409-413.

- Boyle, W. (1955). Spices and essential oils as preservatives. *Pharm. J. Spices* (EBBD, 190317544).
- Brenes, A., & Roura, E. (2010). Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action. *Animal Feed Science and Technology*, 158(1), 1-14.
- Bridgwater, A. V. (2003). Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. *Chemical Engineering Journal*, 91(2), 87-102.
- Broust, F., Girard, P., & Van De Steene, L. (2013). Biocarburants de seconde generation et Innovation. Techniques de l'ingénieur Innovations en énergie et environnement.
- Burdock, G. A. (2016). *Fenaroli's handbook of flavor ingredients. 6th Edition: Boca Raton: CRC press*, 2159p.
- Bureau en chef du Québec, 2018. Estimation des quantités récoltables de biomasse forestière dans les forêts du domaine de l'État à compter du 1er avril 2018.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods- review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Caldwell, M. M., Bornman, J., Ballaré, C., Flint, S. D., & Kulandaivelu, G. (2007). Terrestrial ecosystems, increased solar ultraviolet radiation, and interactions with other climate change factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 6(3), 252-266.
- Candelier, K., Dumarçay, S., Pétrissans, A., Desharnais, L., Gérardin, P., & Pétrissans, M. (2013). Comparison of chemical composition and decay durability of heat treated wood cured under different inert atmospheres: Nitrogen or vacuum. *Polymer degradation and Stability*, 98(2), 677-681.
- Centre de recherche industrielle de Québec. Portail d'information sur les établissements, 2018.

- Centre de recherche industrielle du Québec, 2019 Portail d'information sur les établissements. 2019 Compilation spéciale Services Québec - Direction régionale Abitibi-Témiscamingue. Février 2019. L'Observatoire a fait l'ajout de la cogénération
- Centre de recherche industrielle du Québec. Portail d'information sur les établissements. 2019.) Compilation spéciale Services Québec - Direction Régionale Abitibi-Témiscamingue. Février 2019. L'Observatoire a fait l'ajout de la cogénération.
- Chandra, R. P., Bura, R., Mabee, W., Berlin, d. A., Pan, X., & Saddler, J. (2007). Substrate pretreatment: The key to effective enzymatic hydrolysis of lignocellulosics. *Biofuels*, 67-93
- Charles, D. J., & Simon, J. E. (1990). Comparison of extraction methods for the rapid determination of essential oil content and composition of basil. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 115(3), 458-462.
- Chaturvedi, V., & Verma, P. (2013). An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products. *Biotech*, 3(5), 415-431.
- Chemat, F., Lucchesi, M., Smadja, J., Favretto, L., Colnaghi, G., & Visinoni, F. (2006). Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Analytica Chimica Acta*, 555(1), 157-160.
- Chemat, F., m. e. L. (2005). Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques. *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*, 20, 77-100.

- Chi, P. T. L., Van Hung, P., Le Thanh, H., & Phi, N. T. L. (2019). Valorization of Citrus Leaves: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities of Essential Oils. *Waste and Biomass Valorization*, 1-9.
- Comoglu, T. (2007). An overview of compaction equations. *Journal of Faculty of Pharmacy*, 36, 123-133.
- Conner, D., & Beuchat, L. (1984). Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of food science*, 49(2), 429-434.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 22-25.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Croteau, R., & Johnson, M. A. (1985). Biosynthesis of terpenoid wood extractives. *Biosynthesis and biodegradation of wood components*, 379-439.
- Czernik, S., & Bridgwater, A. (2004). Overview of applications of biomass fast pyrolysis oil. *Energy & fuels*, 18(2), 590-598.
- de Oliveira, D. H., Abib, P. B., Giacomini, R. X., Lenardão, E. J., Schiedeck, G., Wilhelm, E. A., Luchese, C., Savegnago, L., & Jacob, R. G. (2019). Antioxidant and antifungal activities of the flowers' essential oil of *Tagetes minuta*, (Z)-tagetone and thiotagetone. *Journal of essential oil research*, 31(2), 160-169.
- Debonne, E., Van Bockstaele, F., De Leyn, I., Devlieghere, F., & Eeckhout, M. (2018). Validation of in-vitro antifungal activity of thyme essential oil on *Aspergillus niger* and *Penicillium paneum* through application in par-baked wheat and sourdough bread. *LWT*, 87, 368-378.

- Dehariya, R., & Dixit, A. K. (2018). A review on different methods of determination of antioxidant activity assay of herbal plants. *Life science informatics publications*, 4(6), 708
- Demirbas, A. (2004). Combustion characteristics of different biomass fuels. *Progress in energy and combustion science*, 30(2), 219-230.
- Desmares, C., Laurent, A., & Delerme, C. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles: Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France 2008.
- Di Mascio, P., Murphy, M. E., & Sies, H. (1991). Antioxidant defense systems: the role of carotenoids, tocopherols, and thiols. *The American journal of clinical nutrition*, 53(1), 194S-200S.
- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(9), 505-512.
- Djenane, D., Sanchez-Escalante, A., Beltrán, J. A., & Roncales, P. (2002). Ability of α -tocopherol, taurine and rosemary, in combination with vitamin C, to increase the oxidative stability of beef steaks packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 76(4), 407-415.
- Djerrari, A. (1986). *Influence du mode d'extraction et des conditions de conservation sur la composition des huiles essentielles de thym et de basilic*. Thèse de doctorat : Montpellier 2, 167p.
- Dorman, H., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- Douville, G., Vallée, V., Proulx, A., Bouchard, M., Brulotte, F., Baribeault, J., Giguère, M., & Plasse, J.-G. (2006). Profil des produits forestiers première

transformation: Biomasse forestière résiduelle inventaire des méthodes et équipements de récupération ainsi que des systèmes de combustion les plus courants.

- Dridi, F. (2005). *Extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'une pommade*. Mémoire de maitrise : Université Mhamed Bougherra, Boumerdès, 192p.
- Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 21(4), 308-323.
- Ekşioğlu, S. D., Acharya, A., Leightley, L. E., & Arora, S. (2009). Analyzing the design and management of biomass-to-biorefinery supply chain. *Computers & Industrial Engineering*, 57(4), 1342-1352.
- Ekşioğlu, S. D., Acharya, A., Leightley, L. E., & Arora, S. (2009). Analyzing the design and management of biomass-to-biorefinery supply chain. *Computers & Industrial Engineering*, 57(4), 1342-1352.
- El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., Amarti, F., & Aberchane, M. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(4), 345-351.
- El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., Amarti, F., & Aberchane, M. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. & Link contre

- les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 12(4), 345-351.
- Ennis, & Lister. (1996). Granulation and coating technologies for high value-added industries. Client in-house short course. Nashville, Tenn. E&G Associates.
- Erol, M., Haykiri-Acma, H., & Küçükbayrak, S. (2010). Calorific value estimation of biomass from their proximate analyses data. *Renewable energy*, 35(1), 170-173.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., & Chemat, F. (2006). An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1), 121-126.
- Fichan, I., Larroche, C., & Gros, J. (1999). Water solubility, vapor pressure, and activity coefficients of terpenes and terpenoids. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 44(1), 56-62.
- Fiedler, P., Lange, M., & Schultze, M. (2007). *Supply logistics for the industrialized use of biomass-principles and planning approach*. Paper presented at the logistics and industrial informatics, 2007. International Symposium on logistics and industrial informatics, Wildau, Germany, 41–6.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G., & Scheffer, J. J. (2008). Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226.
- Figueredo, G. (2007). *Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne*. Thèse de doctorat : Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II, 417p.

- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., & Chemat, F. (2014). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale. *Food Chemistry*, *150*, 193-198.
- Francezon, N. (2018). *Valorisation de l'écorce de Picea mariana par la production d'extraits naturels: les extraits aqueux et l'huile essentielle*. Thèse de doctorat : Université Laval, 192p.
- Francezon, N., & Stevanovic, T. (2017). Chemical Composition of Essential Oil and Hydrosol from Picea mariana Bark Residue. *BioResources*, *12*(2), 2635-2645.
- Gabrielle, B., Perrin, A., Wohlfahrt, J., Flatberg, T., Bjorkvoll, T. H., Echevarria, G., Sanchez, D., Van Der Linden, R., Loyce, C., & Pelzer, E. (2017). Comment optimiser les chaînes d'approvisionnement en biomasse issue de cultures énergétiques? *Innovations Agronomiques*, *54*, 23-29.
- Gancel, A. L., Ollé, D., Ollitrault, P., Luro, F., & Brillouet, J. M. (2002). Leaf and peel volatile compounds of an interspecific citrus somatic hybrid [Citrus aurantifolia (Christm.) Swing.+ Citrus paradisi Macfayden]. *Flavour and Fragrance Journal*, *17*(6), 416-424.
- García, R., Pizarro, C., Lavín, A. G., & Bueno, J. L. (2017). Biomass sources for thermal conversion. Techno-economical overview. *Fuel*, *195*, 182-189.
- Gayda, A. (2013). *Étude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie*. Thèse de doctorat : Université Toulouse III, 119p.
- Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A., Isamili, M., Houti, H., El Monfalouti, H., Benchakroun, K., Aberchane, M., Harki, L., & Boukir, A. (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*(5), 295-301.

- Gold, S., & Seuring, S. (2011). Supply chain and logistics issues of bio-energy production. *Journal of Cleaner Production*, 19(1), 32-42.
- Golmakani, M.-T., & Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109(4), 925-930.
- Guan, Y., Chu, Q., Fu, L., & Ye, J. (2005). Determination of antioxidants in cosmetics by micellar electrokinetic capillary chromatography with electrochemical detection. *Journal of Chromatography A*, 1074(1-2), 201-204.
- Guenther, E. (2013). *The Essential Oils-Vol 1: History-Origin in Plants-Production-Analysis*: Read Books Ltd.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429.
- Halliwel, B., Rafter, J., & Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not?. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 268S-276S.
- Hamitouche, T. I. (2016). *Etude de l'autovaporisation instantanée dans l'intensification de l'extraction de l'huile essentielle du bois de santal*. Thèse de doctorat : Université de La Rochelle, 224p.
- Havkin-Frenkel, D., & Belanger, F. C. (2007). Application of metabolic engineering to vanillin biosynthetic pathways in *Vanilla planifolia* Applications of plant metabolic engineering, 175-196.
- Havreljuk, F., Achim, A., Auty, D., Bédard, S., Pothier, & David. (2014). Integrating standing value estimations into tree marking guidelines to meet wood supply objectives. *Canadian journal of forest research*, 44(7), 750-759.

- Hellal, Z. (2011). *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (Sardina pilchardus)*. Mémoire de maîtrise : Université de Tizi Ouzou-Mouloud Mammeri.
- Hilan, C., Sfeir, R., & Aitour, S. (2011). Chimiotypes des plantes communes au Liban du genre *Origanum* et du genre *Micromeria* (Lamiaceae). *Lebanese Science Journal*, 12(1), 79-91.
- Hofmann, R. W., Campbell, B. D., & Fountain, D. F. (2003). Sensitivity of white clover to UV-B radiation depends on water availability, plant productivity and duration of stress. *Global Change Biology*, 9(3), 473-477.
- Hu, Z. (2011). Microwave Assisted Extraction: The Effects mechanisms and application selection (72).
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Iakovou, E., Karagiannidis, A., Vlachos, D., Toka, A., & Malamakis, A. (2010). Waste biomass- to-energy supply chain management: a critical synthesis. *Waste management*, 30(10), 1860-1870.
- Imène, Laib. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technology*(7), 44.
- Ingénieur-Conseils, R. (2008). Étude de préfaisabilité–Chaufferies institutionnelles à la biomasse forestière, 114p. Disponible en ligne : http://www.agrireseau.Qc.ca/energie/documents/QWEB-Chaufferies_centrales-Rapport_final_04-07-2008.

- Jeoh, T., Ishizawa, C. I., Davis, M. F., Himmel, M. E., Adney, W. S., & Johnson, D. K. (2007). Cellulase digestibility of pretreated biomass is limited by cellulose accessibility. *Biotechnology and Bioengineering*, *98*(1), 112-122.
- Jerez, M., Selga, A., Sineiro, J., Torres, J. L., & Núñez, M. J. (2007). A comparison between bark extracts from *Pinus pinaster* and *Pinus radiata*: Antioxidant activity and procyanidin composition. *Food Chemistry*, *100*(2), 439-444.
- Jeya H., 2012, *Advances in Food and Nutrition Research*, volume 67, Academic press, Elsevier, ISBN: 978-0-12-394598-3, ISSN: 1043-4526.
- Johnson, C. B., Kirby, J., Naxakis, G., & Pearson, S. (1999). Substantial UV-B-mediated induction of essential oils in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Phytochemistry*, *51*(4), 507-510.
- Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, *10*(10), 813-829.
- Kheshgi, H. S., Prince, R. C., & Marland, G. (2000). The potential of biomass fuels in the context of global climate change: focus on transportation fuels. *Annual review of energy and the environment*, *25*(1), 199-244.
- Khoddami, A., Wilkes, M., & Roberts, T. (2013). *Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules*, *18*(2), 2328-2375.
- Kim, J.-C. (2001). Factors controlling natural VOC emissions in a southeastern US pine forest. *Atmospheric Environment*, *35*(19), 3279-3292.
- Kim, K. H., Jeong, H. S., Kim, J.-Y., Han, G. S., Choi, I.-G., & Choi, J. W. (2012). Evaluation of the antifungal effects of bio-oil prepared with lignocellulosic biomass using fast pyrolysis technology. *Chemosphere*, *89*(6), 688-693.
- Knobloch, K., Weigand, H., Weis, N., Schwarm, H., & Vogenschow, H. (1986). *Action of terpenoids on energy metabolism*: Walter de Gruyter: Berlin, Germany.

- Koechlin-Ramonatxo, C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177.
- Koumaglo, K. H., Dotse, K., Bettini, F., & Bayle, J.-C. (2009). Composition chimique de l'huile essentielle de *Chromolaena odorata* (L) King et Robinson (Asteraceae) du Togo: Effets de séchage et du site de récolte. *J. Soc. Ouest-Afr. Chem*, 28, 11-16.
- Kubeczka, K.-H. (2009). *History and sources of essential oil research Handbook of Essential Oils* : CRC Press ,12-47.
- Lacasse, C., Caron, M., Carle, J.-F., Guillemette, T., & Roy, M. (2014). Estimation de la biomasse générée par les activités de récolte prévues aux possibilités forestières 2013-2018.
- Lagha-Benamrouche, S., & Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50, 723-730.
- Lamontagne, M., Margolis, H. A., & Bauce, É. (2000). Testing the ecophysiological basis for the control of monoterpene concentrations along canopy profiles in thinned and unthinned balsam fir stands. *Oecologia*, 124(3), 318-331.
- Lucchesi, Chemat, F., & Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323-327.
- Lucchesi. (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. Thèse de doctorat : Université de la Réunion, 147p.

- Mafakheri, F., & Nasiri, F. (2014). Modeling of biomass-to-energy supply chain operations: applications, challenges and research directions. *Energy Policy*, 67, 116-126.
- McCord, J. M. (2000). The evolution of free radicals and oxidative stress. *The American journal of medicine*, 108(8), 652-659.
- MFFP (2015). Ressources et industries forestières: Portrait statistique 2015. Québec, Canada, direction du développement de l'industrie des produits du bois: 106p.
- Ministère des ressources naturelles et de la faune du Québec, G. (2009). Ministère des Ressources naturelles et de la Faune (2009). L'énergie pour construire le Québec de demain.
- Moradalizadeh, M., Samadi, N., & Rajaei, P. (2013). Comparison of Hydrodistillation, Microwave Hydrodistillation and Solvent Free Microwave Methods in Analysis of the Essential Oils from Aerial Parts of *Haplophyllum Robustum* Bge. By GC/MS Method. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 1(9), 1058-1067.
- Morency, P.-O. (2011). *Le potentiel de valorisation de la biomasse forestière à des fins énergétiques au Québec: état de la situation*. Mémoire de maîtrise : Université Laval, 116p.
- Morissette, J., N. Kinnard, R. Gal, A. Beaudoin, P. Bernier, L. Guindon, & P. Villemaire. (2014). La biomasse forestière.
- Mosier, N., Wyman, C., Dale, B., Elander, R., Lee, Y., Holtzapple, M., & Ladisch, M. (2005). Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass. *Bioresource technology*, 96(6), 673-686.

- Mouras, S., Girard, P., Rousset, P., Permadi, P., Dirol, D., & Labat, G. (2002). Propriétés physiques de bois peu durables soumis à un traitement de pyrolyse ménagée. *Annals of forest science*, 59(3), 317-326.
- MRNFQ, Ministère des ressources naturelles et de la faune du Québec, 2004.
- Mtui, G. Y. (2009). Recent advances in pretreatment of lignocellulosic wastes and production of value added products. *African Journal of Biotechnology*, 8(8), 1398-1415.
- Murray, A. T. (1999). Spatial restrictions in harvest scheduling. *Forest Science*, 45(1), 45-52.
- Nossack, A. C., Vilegas, J. H., Baer, D. v., & Lanças, F. M. (2000). Supercritical fluid extraction and chromatographic analysis (HRGC-FID and HRGC-MS) of *Lupinus* spp. alkaloids. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11(5), 495-501.
- Nozzolillo, C., Isabelle, P., & Das, G. (1990). Seasonal changes in the phenolic constituents of jack pine seedlings (*Pinus banksiana*) in relation to the purpling phenomenon. *Canadian Journal of Botany*, 68(9), 2010-2017.
- Nussbaumer, T. (2003). Combustion and co-combustion of biomass: fundamentals, technologies, and primary measures for emission reduction. *Energy & fuels*, 17(6), 1510-1521.
- Nyiramana Lunianga, M. (1991). *Stratégies de mise en marché des huiles essentielles québécoises*. Mémoire de maîtrise : Université du Québec à Chicoutimi, 184p.
- Otles, S. (2016). *Handbook of food analysis instruments*: CRC Press, Boca Raton, 201p.
- Palá-Paúl, J., Pérez-Alonso, M., Velasco-Negueruela, A., Palá-Paúl, R., Sanz, J., & Conejero, F. (2001). Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina*

- rosmarinifolia L. ssp. rosmarinifolia. *Biochemical systematics and ecology*, 29(7), 663-672.
- Pare, J. J., Sigouin, M., & Lapointe, J. (1991). Microwave-assisted natural products extraction. In: Google Patents.
- Parikka, M. (2004). Global biomass fuel resources. *Biomass and bioenergy*, 27(6), 613-620.
- Pelczar, M., Chan, E., & Krieg, N. (1988). Control of microorganisms, the control of microorganisms by physical agents. *Microbiology*, 469, 509.
- Pietsch, W. (2002). Agglomeration technologies. *Agglomeration Processes: Phenomena, Technologies, Equipment*, 133-138.
- Poaty, B., Dumarçay, S., Gérardin, P., & Perrin, D. (2010). Modification of grape seed and wood tannins to lipophilic antioxidant derivatives. *Industrial Crops and Products*, 31(3), 509-515.
- Poaty, B., Lahlah, J., Porquieres, F., & Bouafif, H. (2015). Composition, antimicrobial and antioxidant activities of seven essential oils from the North American boreal forest. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(6), 907-919.
- Podszędek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *LWT-Food Science and Technology*, 40(1), 1-11.
- Pokorný, J. (1991). Natural antioxidants for food use. *Trends in Food Science & Technology*, 2, 223-227.
- Preston, C. M., Bhatti, J. S., & Norris, C. E. (2014). Chemical quality of aboveground litter inputs for jack pine and black spruce stands along the Canadian Boreal Forest Transect Case Study. *Écoscience*, 21(3-4), 202-216.

- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Pu, Y., Zhang, D., Singh, P. M., & Ragauskas, A. J. (2008). The new forestry biofuels sector. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2(1), 58-73.
- Puy, N., Murillo, R., Navarro, M. V., López, J. M., Rieradevall, J., Fowler, G., Aranguren, I., García, T., Bartrolí, J., & Mastral, A. M. (2011). Valorisation of forestry waste by pyrolysis in an auger reactor. *Waste management*, 31(6), 1339-1349.
- Rentizelas, A. A., Tolis, A. J., & Tatsiopoulou, I. P. (2009). Logistics issues of biomass: the storage problem and the multi-biomass supply chain. *Renewable and sustainable energy reviews*, 13(4), 887-894.
- Risi, J., & Brûlé, M. (1945). Étude des huiles essentielles tirées des feuilles de quelques conifères du Québec. *Canadian Journal of Research*, 23(5), 199-207.
- Rivera, L., & Luicita. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe.
- Rolland, Y. (2004). Antioxydants naturels végétaux. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 11(6), 419-424.
- Rosenqvist, A., Shimada, M., Chapman, B., Freeman, A., De Grandi, G., Saatchi, S., & Rauste, Y. (2000). The global rain forest mapping project-a review. *International Journal of Remote Sensing*, 21(6-7), 1375-1387.
- Royer, M., Houde, R., & Stevanovic, T. (2013). Non-Wood Forest Products Based on Extractives-A New Opportunity for Canadian Forest Industry Part 2-Softwood Forest Species. *Journal of Food Research*, 2(5), 164.

- Royer, M., Houde, R., & Stevanovic, T. (2010). VOLET 1: les extractibles forestiers québécois.
- Royer, M., Houde, R., Viano, Y., & Stevanovic, T. (2012). Non-wood forest products based on extractives-A new opportunity for the Canadian forest industry part 1: Hardwood forest species. *Journal of Food Research*, 1(3), 8.
- Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadeif, Y. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne des Huiles Essentielles des aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. du Nord est Algérien. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 30(1), 33-39.
- Saikaew, W., Kaewsarn, P., (2009). Pomelo peel: agricultural waste for biosorption of cadmium ions from aqueous solutions. *World AcadSciEngTechnol*, 56(56), 287-291.
- Sangwan, N., Farooqi, A., Shabih, F., & Sangwan, R. (2001). Regulation of essential oil production in plants. *Plant growth regulation*, 34(1), 3-21.
- Schmidt, E. (2009). *Production of essential oils Handbook of Essential Oils*: CRC Press, 91-127.
- Schultz, T. P., & Nicholas, D. D. (2002). Development of environmentally-benign wood preservatives based on the combination of organic biocides with antioxidants and metal chelators. *Phytochemistry*, 61(5), 555-560.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V., & Jeon, Y.-J. (1999). Food applications of chitin and chitosans. *Trends in Food Science & Technology*, 10(2), 37-51.
- Sharma, N., & Tripathi, A. (2008). Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. *Microbiological Research*, 163(3), 337-344.

- Sheth, P. N., & Babu, B. (2009). Experimental studies on producer gas generation from wood waste in a downdraft biomass gasifier. *Bioresource Technology*, *100*(12), 3127-3133.
- Sidik, D. A. B. (2010). Comparison of Microwave-assisted Hydrodistillation with the Conventional Hydrodistillation Method in Extraction of Essential Oil. UMP.
- Sikkema, J., de Bont, J. A., & Poolman, B. (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, *269*(11), 8022-8028.
- Sokhansanj, S., Kumar, A., & Turhollow, A. F. (2006). Development and implementation of integrated biomass supply analysis and logistics model (IBSAL). *Biomass and bioenergy*, *30*(10), 838-847.
- Sokovic, M., Marin, P. D., Brkic, D., & van Griensven, L. J. (2008). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils against human pathogenic bacteria. *Food*, *1*(2), 220-226.
- Stashenko, E. E., Jaramillo, B. E., & Martinez, J. R. (2004). Analysis of volatile secondary metabolites from Colombian *Xylopiaromatica* (Lamarck) by different extraction and headspace methods and gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, *1025*(1), 105-113.
- Stevanovic, T., Diouf, P. N., & Garcia-Perez, M. E. (2009). Bioactive polyphenols from healthy diets and forest biomass. *Current Nutrition & Food Science*, *5*(4), 264-295.
- Stevens, J. T. (2014). *Climate, fire and forest management in the Sierra Nevada: Interactions and effects on understory structure and diversity*. University of California, Davis.

- Tassou, C., Koutsoumanis, K., & Nychas, G.-J. (2000). Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Research International*, 33(3-4), 273-280.
- Temmerman, M. (2011). Énergie nécessaire au broyage de la biomasse et des produits densifiés. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*.
- Thiffault, E., Samuel, A. S.-L., & Serra, R. (2015). La récolte de biomasse forestière: saines pratiques et enjeux écologiques dans la forêt boréale canadienne: Ressources naturelles Canada, Service canadien des forêts.
- Tischer, B., Vendruscolo, R. G., Wagner, R., Menezes, C. R., Barin, C. S., Giacomelli, S. R., Budel, J. M., & Barin, J. S. (2017). Effect of grinding method on the analysis of essential oil from *Baccharis articulata* (Lam.) Pers. *Chemical Papers*, 71(4), 753-761.
- Tolba, I. (2016). *Détermination d'un méta-paramètre pour l'estimation de la capacité antioxydante globale des thés, tisanes et jus*. Mémoire de maîtrise : Université du Québec à Trois-Rivières, 116p.
- Tremblay, J. (1974). *Les huiles essentielles extraites des feuilles de conifères*. Thèse de doctorat : Université Laval, 187p.
- Tumuluru, J. S., Hess, J. R., Boardman, R. D., Wright, C. T., & Westover, T. L. (2012). Formulation, pretreatment, and densification options to improve biomass specifications for co-firing high percentages with coal. *Industrial Biotechnology*, 8(3), 113-132.
- Turgeon, M. (2001). Ministère des Ressources naturelles.
- Turtola, S. (2005). The effects of drought stress and enhanced UV-B radiation on the growth and secondary chemistry of boreal conifer and willow seedlings: University of Joensuu Finland.

- Ultee, A., Bennik, M., & Moezelaar, R. (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied and environmental microbiology*, 68(4), 1561-1568.
- Uslu, A., Faaij, A. P., & Bergman, P. C. (2008). Pre-treatment technologies, and their effect on international bioenergy supply chain logistics. Techno-economic evaluation of torrefaction, fast pyrolysis and pelletisation. *Energy*, 33(8), 1206-1223.
- Van Loons.; Koppejan, J., (2008), *The Handbook of Biomass Combustion and Co-firing*. London; Sterling, VA, 442p.
- Vekiari, S. A., Protopapadakis, E. E., Papadopoulou, P., Papanicolaou, D., Panou, C., & Vamvakias, M. (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a Cretan lemon variety. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), 147-153.
- Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., . . . Wang, H. (2006). Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminumcyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1), 11-17.
- Wilkinson, J. M., & Cavanagh, H. M. (2005). Antibacterial activity of essential oils from Australian native plants. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(7), 643-646.
- Williams, G., Iatropoulos, M., & Whysner, J. (1999). Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food and chemical toxicology*, 37(9-10), 1027-1038.

- Wyman, C. E., Dale, B. E., Elander, R. T., Holtzaple, M., Ladisch, M. R., & Lee, Y. (2005). Comparative sugar recovery data from laboratory scale application of leading pretreatment technologies to corn stover. *Bioresource Technology*, *96*(18), 2026-2032.
- Xiu-Qin, L., Chao, J., Yan-Yan, S., Min-Li, Y., & Xiao-Gang, C. (2009). Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS. *Food Chemistry*, *113*(2), 692-700.
- Yadav, A., Kumari, R., Yadav, A., Mishra, J., Srivatva, S., & Prabha, S. (2016). Antioxidants and its functions in human body-A Review.
- Zeng, K., Yang, Q., Zhang, Y., Mei, Y., Wang, X., Yang, H., Shao, J., Li, J., & Chen, H. (2018). Influence of torrefaction with Mg-based additives on the pyrolysis of cotton stalk. *Bioresource technology*, *261*, 62-69.
- Zhang, H., Chen, F., Wang, X., & Yao, H.-Y. (2006). Evaluation of antioxidant activity of parsley (*Petroselinum crispum*) essential oil and identification of its antioxidant constituents. *Food research international*, *39*(8), 833-839.
- Zhang, S.Y., Koubaa, A. (2009). Les résineux de l'Est du Canada - Écologie forestière, caractéristiques, transformation et usages, FPInnovations, Publication Spéciale SP. -526F, Québec, Canada, 400 p.
- Zhu, J., & Pan, X. (2010). Woody biomass pretreatment for cellulosic ethanol production: technology and energy consumption evaluation. *Bioresource Technology*, *101*(13), 4992- 5002.
- Zhu, J., Pan, X., Wang, G., & Gleisner, R. (2009). Sulfite pretreatment (SPORL) for robust enzymatic saccharification of spruce and red pine. *Bioresource Technology*, *100*(8), 2411-2418.

Zhu, J., Wang, G., Pan, X., & Gleisner, R. (2009). Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification. *Chemical Engineering Science*, 64(3), 474-485.