

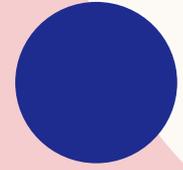
M1 Biotechnologie microbienne

**VALORISATION DES
SUBSTANCES À
INTÉRÊT
BIOTECHNOLOGIQUE**

Chargé de cours : Dr. CASASNI

Année universitaire : 2024/2025

MÉTHODES D'ÉTUDES DES COMPOSÉS NATURELS



TECHNIQUES D'EXTRACTION

Une **extraction** consiste à **extraire** (**retirer** / **prélever**) une ou des espèces chimiques d'un mélange solide ou liquide.

Plusieurs **techniques d'extraction** existent, par exemple :

- Expression (ou pressage)
- Décantation
- Filtration
- Hydrodistillation
- Vapo-hydrodistillation
- Extraction par solvant (extraction liquide-liquide, extraction solide-liquide)....

EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

4

Les **terpènes** sont souvent extraits des plantes afin d'isoler les **parfums/arômes** et de les utiliser dans différents produits.

- **Enfleurage**
- **Pressage (rosin press)**
- **Distillation** (Hydro distillation, vapo-hydrodistillation)
- **Extraction Soxhlet**
- **Extraction par solvant**
- **Extraction par CO₂ supercritique**

Seules la **distillation** ou l'**entraînement à la vapeur** et l'expression sont utilisées pour la préparation des huiles **essentielles officinales** (huiles essentielles à usage pharmaceutique ou thérapeutique).

EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

5

- **Enfleurage** : est une forme d'extraction utilisée en parfumerie. Il repose sur le pouvoir d'**absorption** d'une **huile essentielle** par les **corps gras**, et permet d'extraire les **terpènes** de la matière végétale dans la graisse. Il peut être effectué « **à chaud** » ou « **à froid** », le premier étant plus rapide, mais plus complexe.
- **L'enfleurage à froid** consiste à laisser la matière végétale aromatique dans la **graisse** pendant 1–3 jours, au cours desquels les terpènes seront naturellement extraits. Plus la durée de l'enfleurage est longue, meilleure sera l'extraction.
- **L'enfleurage à chaud** consiste à chauffer la graisse jusqu'à ce qu'elle fonde, puis à y incorporer la matière végétale. Cette extraction est beaucoup plus rapide. Une fois refroidie, on obtient un onguent d'enfleurage parfumé.

Comme de nombreuses personnes souhaitent obtenir des terpènes purs, la graisse peut ensuite être « **purgée** » avec un solvant afin d'extraire les terpènes de la graisse.

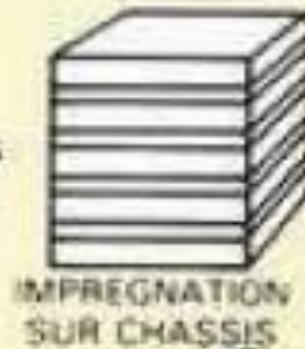
EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

6

- Enfleurage :

ENFLEURAGE

La fleur fraîche est en contact avec le corps gras étendu en couches minces sur des châssis de verre.



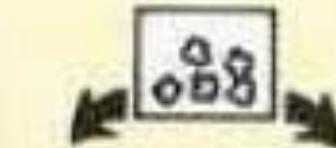
IMPREGNATION SUR CHASSIS

MACERATION

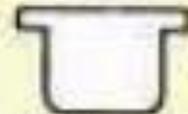
Procédé à chaud dans les corps gras fondus, on immerge les fleurs jusqu'à saturation.



EAU CHAUDE MACERATION



FLEURS EPUISÉES



POMMADE PARFUMÉE



FILTRAGE



POMMADE PARFUMÉE

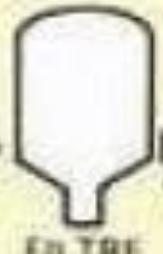
TRAITEMENT PAR LES GRAISSES



BATTEUSE



GLACIÈRE



FILTRE



CONCENTREUR SOUS VIDE

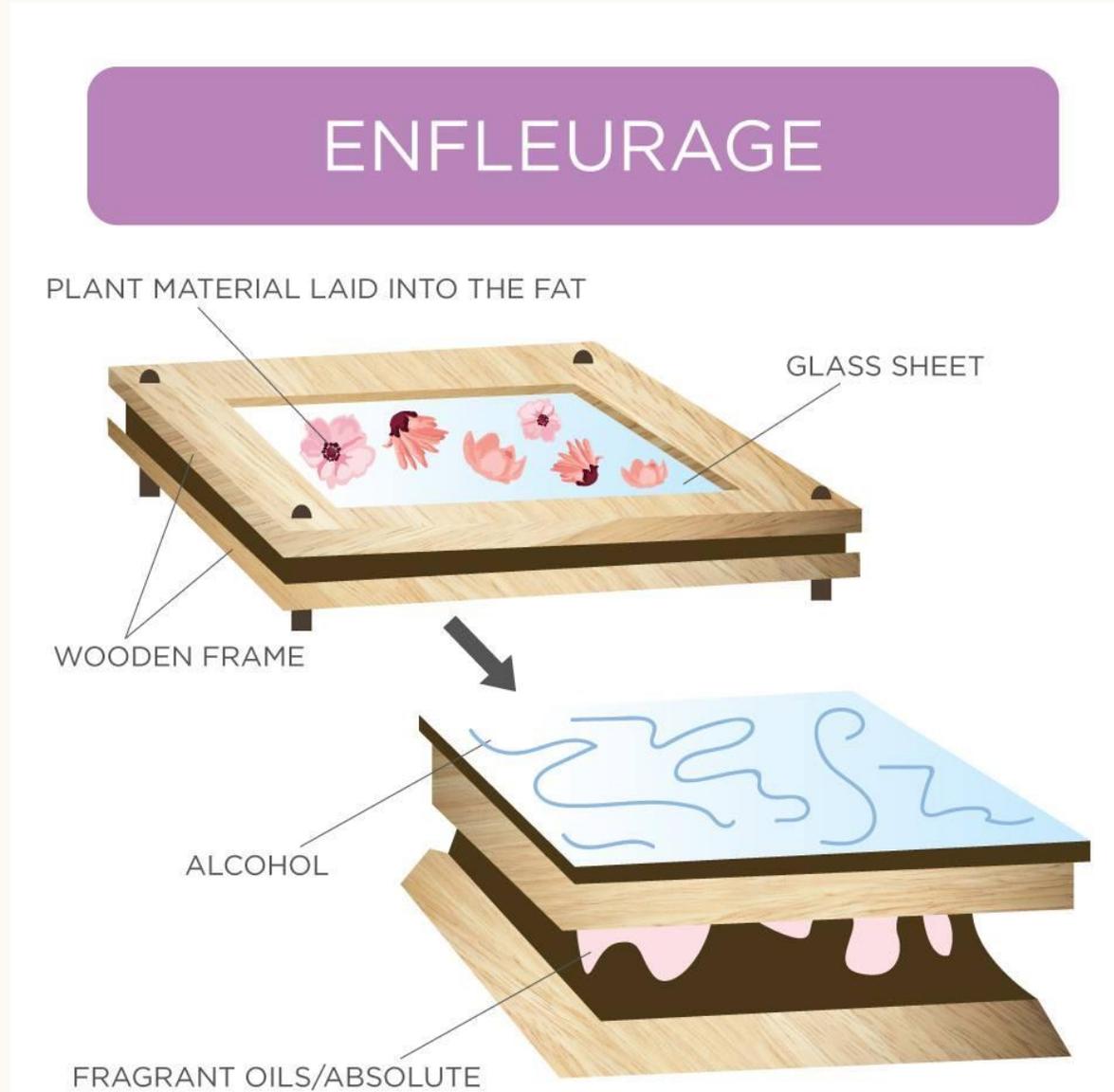


ABSOLU

les pommades parfumées sont "épuisées" à l'alcool et concentrées sous vide pour obtenir "l'absolu"

EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

- **Enfleurage :**



EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

- **Pressage** : L'extraction par pressage, appelée rosin press, consiste à soumettre les fleurs à une pression mécanique élevée (plusieurs tonnes) afin d'en séparer la résine (la "live résine"). Le principe est simple, mais en pratique, il existe plusieurs inconnus, dont le temps de presse et la température des plaques. Ces variables influencent en effet la qualité organoleptique du produit. Par exemple :
 - Si le pressage est effectué à une température comprise entre 65°C et 105°C, alors la résine récoltée est très parfumée, car les terpènes sont intacts, mais cela se fait au détriment du rendement, qui n'est pas optimal ;
 - En revanche, si les fleurs sont pressées entre des plaques dont la température est comprise entre 105°C et 120°C, alors le rendement est bien meilleur, mais le produit final sera légèrement moins parfumé.

EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

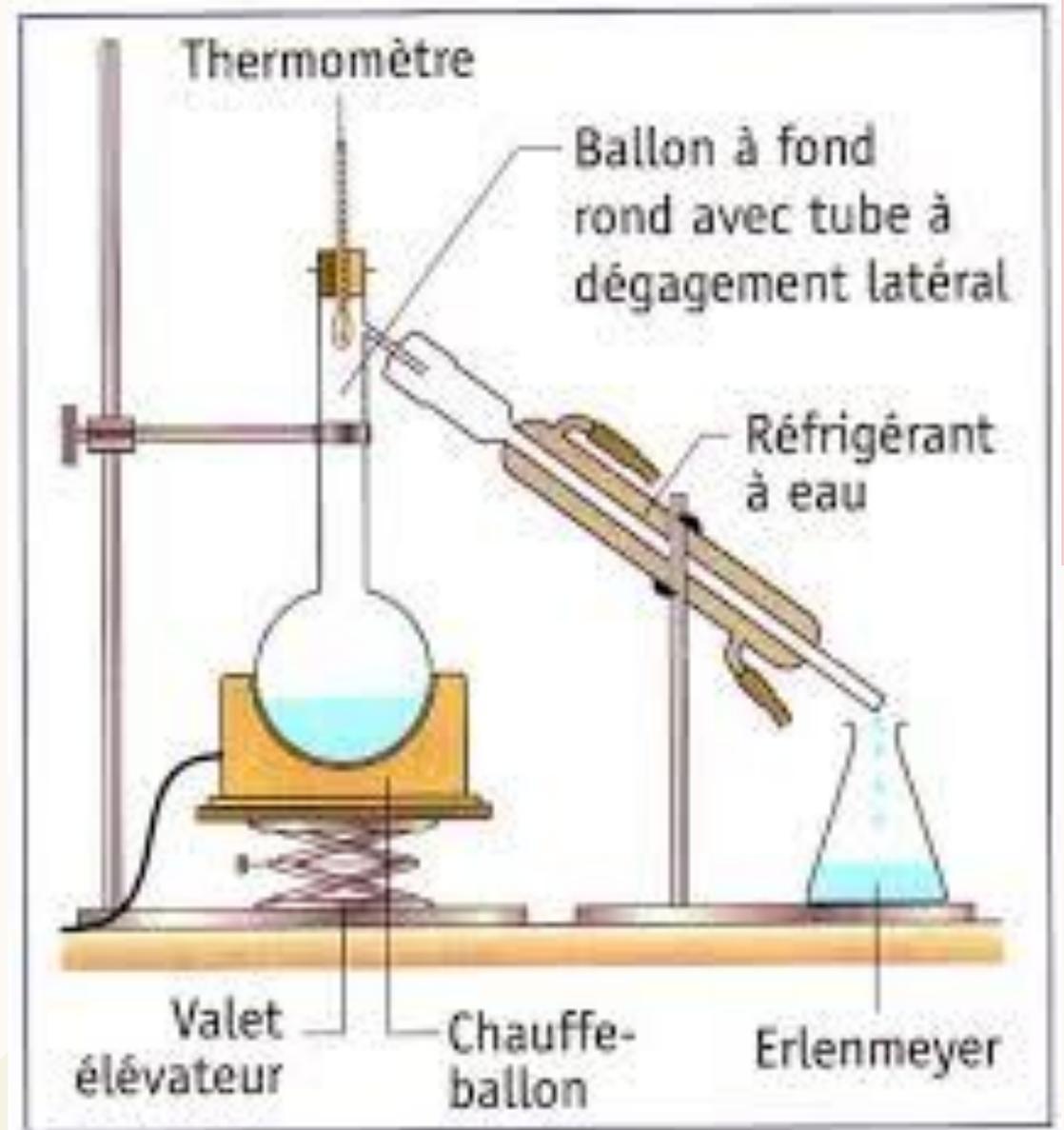
9

- **Pressage** : À l'issue de l'extraction par pression, on obtient une live résine full spectrum de grande qualité que l'on peut ensuite éventuellement purifier afin d'obtenir une résine encore plus concentrée en terpènes (la chlorophylle et autres résidus végétaux sont retirés).



HYDRODISTILLATION

L'hydrodistillation est une technique permettant d'extraire des espèces chimiques volatiles contenues dans un produit naturel en le faisant bouillir dans l'eau.

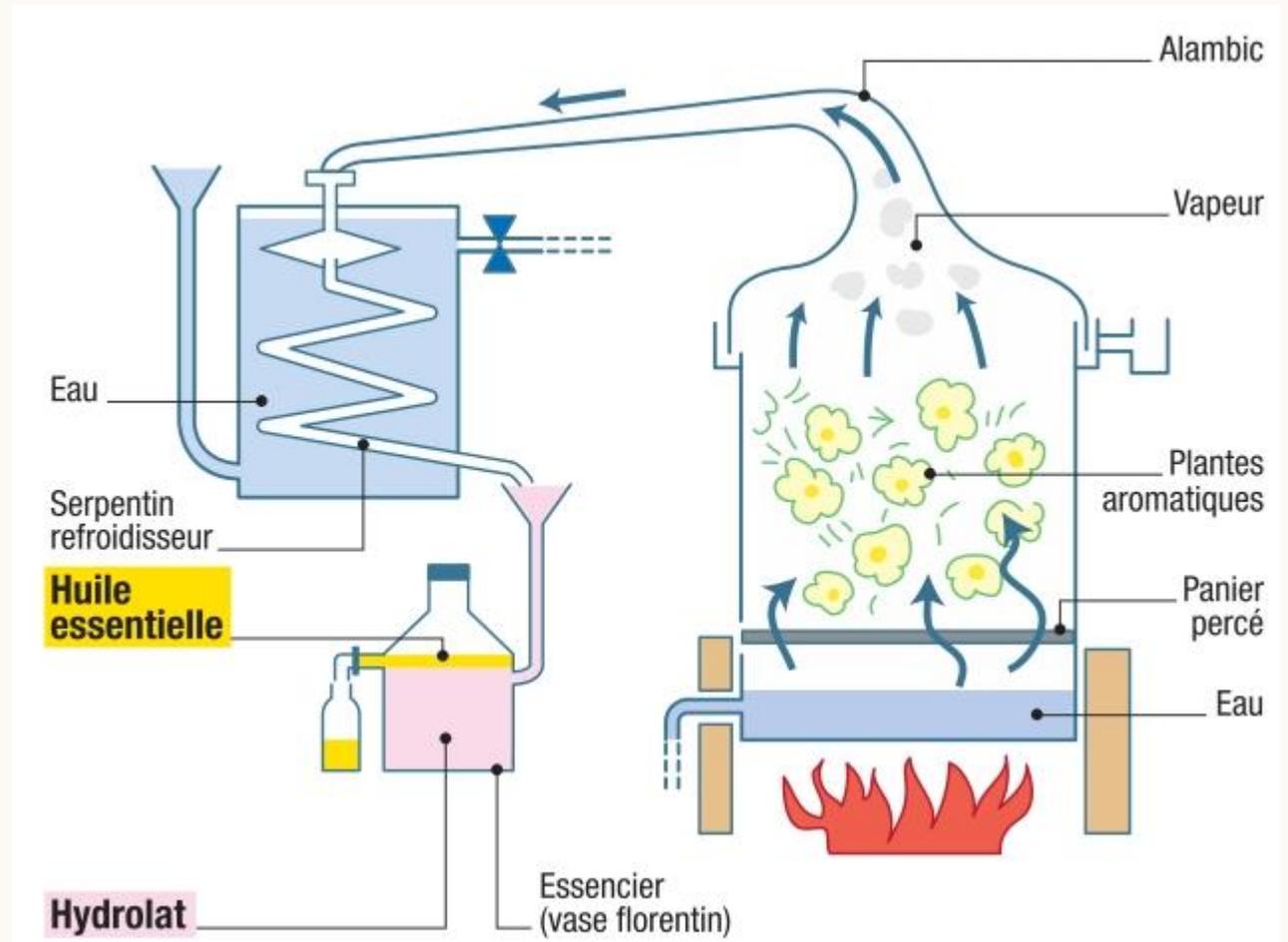


VAPO-HYDRODISTILLATION

Avec cette méthode , l'alambic est directement posé sur la flamme : foyer gaz, foyer bois, plaques électriques...

mais les plantes ne sont pas en contact avec l'eau car une grille sépare les plantes de l'eau bouillante.

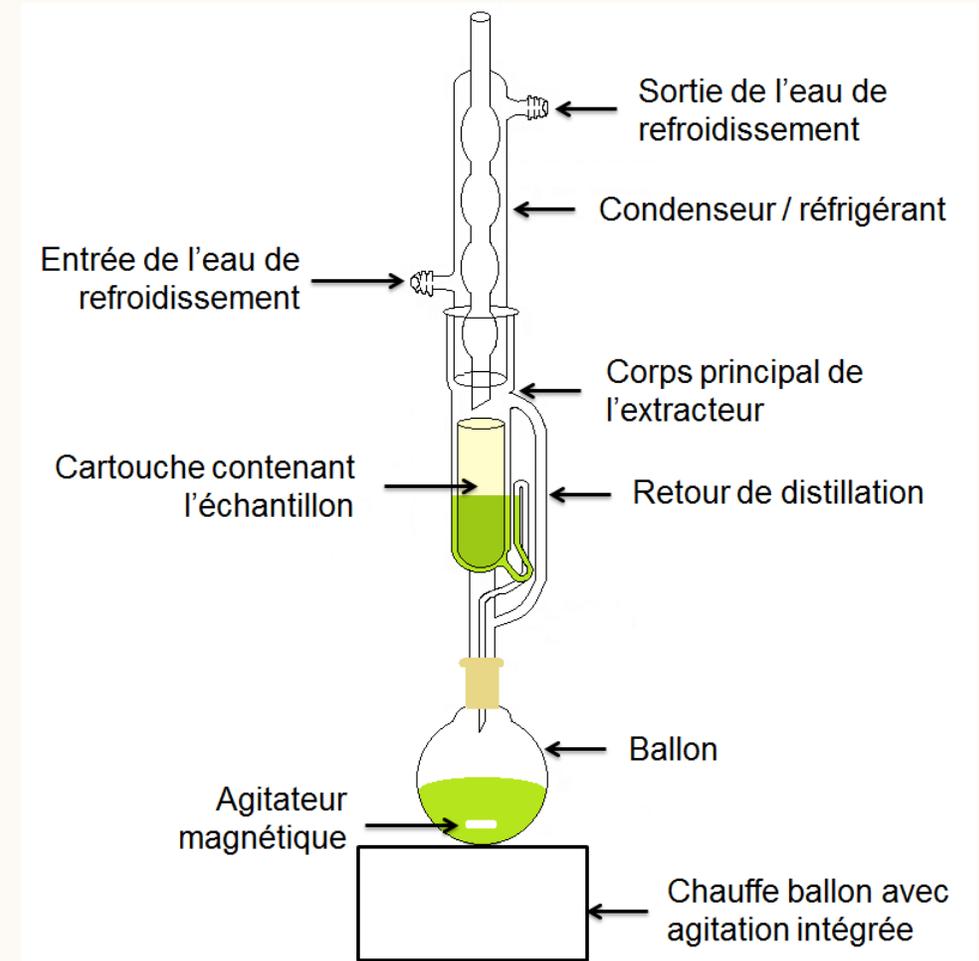
La qualité obtenue est meilleure qu'en hydro distillation.



EXTRACTION DES COMPOSÉS TERPÉNIQUES

12

- **Extraction Soxhlet** : Cette méthode utilise la distillation, la percolation et les solvants. La matière végétale est immergée dans un solvant, qui est ensuite légèrement chauffé. La vapeur passe par un percolateur et est ensuite distillée, et c'est dans ce solvant distillé que l'on obtient un extrait terpénique purgé.



EXTRACTION PAR SOLVANT

L'**extraction solide-liquide** est un procédé d'extraction d'un **soluté liquide ou solide** à partir d'un **solide** en utilisant un **liquide** comme solvant d'extraction.

Les solvants, tels que l'**éthanol**, peuvent être utilisés pour extraire les terpènes. Lorsque le matériel végétal est immergé dans des solvants, les terpènes commencent naturellement à s'extraire (l'**agitation** est utile).

Les solvants sont utiles, car ils ont un **point d'ébullition bas**, ce qui signifie qu'ils peuvent être évaporés sans endommager la structure chimique des terpènes souhaités. Même si les produits obtenus ne sont pas toujours les plus purs, les extractions par solvant sont **relativement simples et très efficaces**.

EXTRACTION PAR SOLVANT

On peut extraire une substance grâce à un solvant lorsque l'espèce chimique à extraire est **solubilisée préférentiellement** dans ce solvant.

Pour choisir un solvant dans lequel l'espèce chimique à extraire y soit **le plus soluble possible**, il faut tenir compte de la solubilité de l'espèce dans ce solvant qui doit être la plus grande possible.

Le **choix** de ce solvant extracteur dépend à quatre critères :

- L'espèce chimique doit être plus soluble dans le solvant extracteur que l'eau.
- Le solvant extracteur et l'eau ne sont pas miscibles.
- Le solvant extracteur ne doit pas réagir chimiquement avec l'espèce chimique.
- Le solvant extracteur doit être volatil, c'est-à-dire que sa température d'ébullition doit être basse.

EXTRACTION PAR CO₂ SUPERCRITIQUE

L'extraction par CO₂ supercritique est une méthode d'extraction très populaire pour les terpènes. Cette méthode consiste à pomper du CO₂ supercritique sur un élément solide afin d'en extraire les composés souhaités.

Mais que signifie « supercritique » ? Lorsque le CO₂ est chauffé à 31 °C et pressurisé, il reste sous forme liquide. Cette version dense du CO₂ relativement chaud est très efficace pour extraire les composés des éléments solides.

EXTRACTION DES COMPOSÉS PHÉNOLIQUES

16

Les méthodes les plus utilisées pour extraire les **composés phénoliques** sont :

- Extraction par **solvants** (éthanol, méthanol, acétone, solvant aqueux...), (par **macération**).
- Extraction par **Soxhlet**
- Extraction **assistée par micro-ondes (ultrasons)**

EXTRACTION PAR SOLVANT



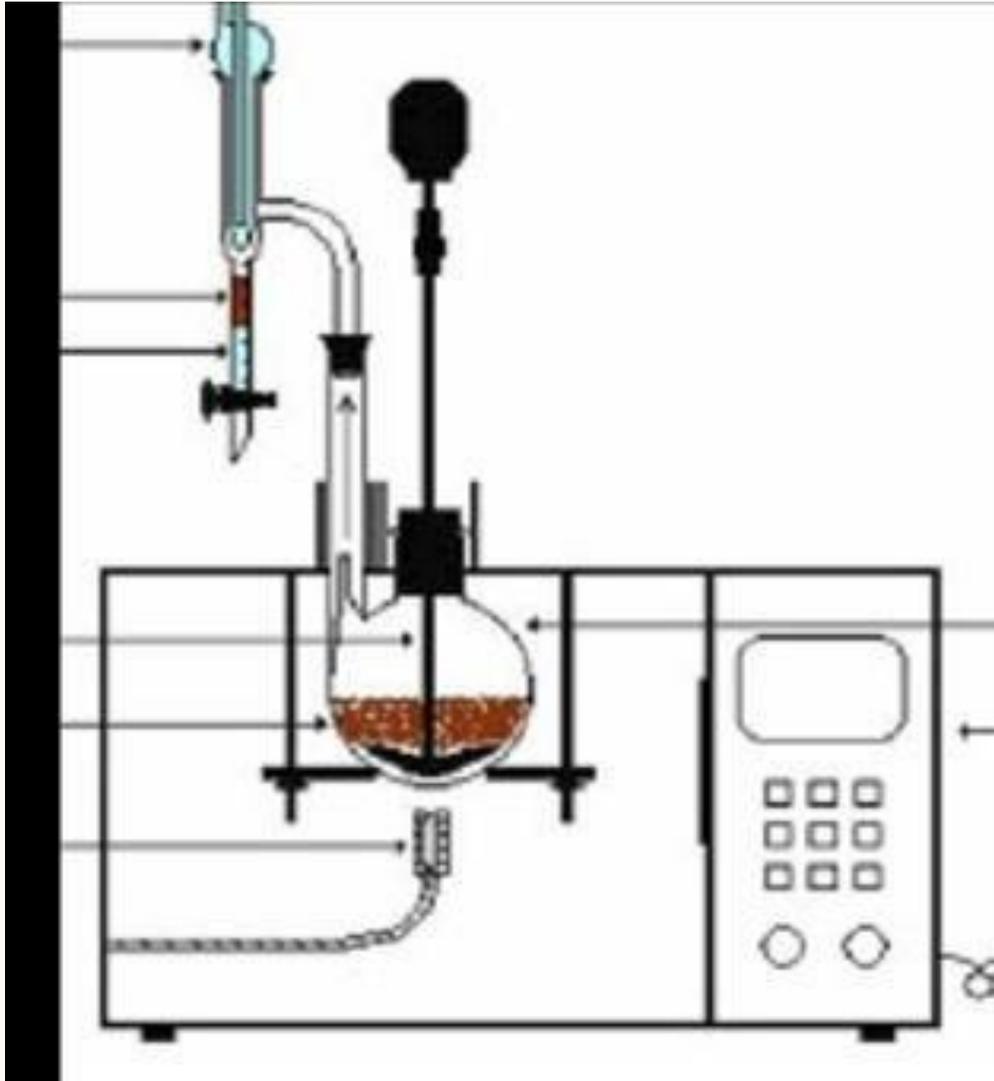
EXTRACTION ASSISTÉE PAR MICRO-ONDES

L'extraction assistée par micro-ondes est un procédé d'extraction d'une substance de n'importe quelle matrice vers une **phase liquide appropriée** (milieu d'extraction), assistée par des **micro-ondes**. Cette technique s'applique à toute extraction par un liquide tel que l'extraction **liquide-liquide** et surtout l'extraction **solide-liquide**.

L'extraction assistée par micro-ondes peut être utilisée au **laboratoire** ou à un niveau **industriel** pour collecter des composés intéressants comme des **huiles essentielles**, des **arômes**, des **huiles végétales**, des **graisses**, des **antioxydants** ou des **colorants**.

L'extraction assistée par micro-ondes est plus rapide, la consommation de solvants est plus faible et si besoin, des **températures plus élevées** peuvent être utilisées.

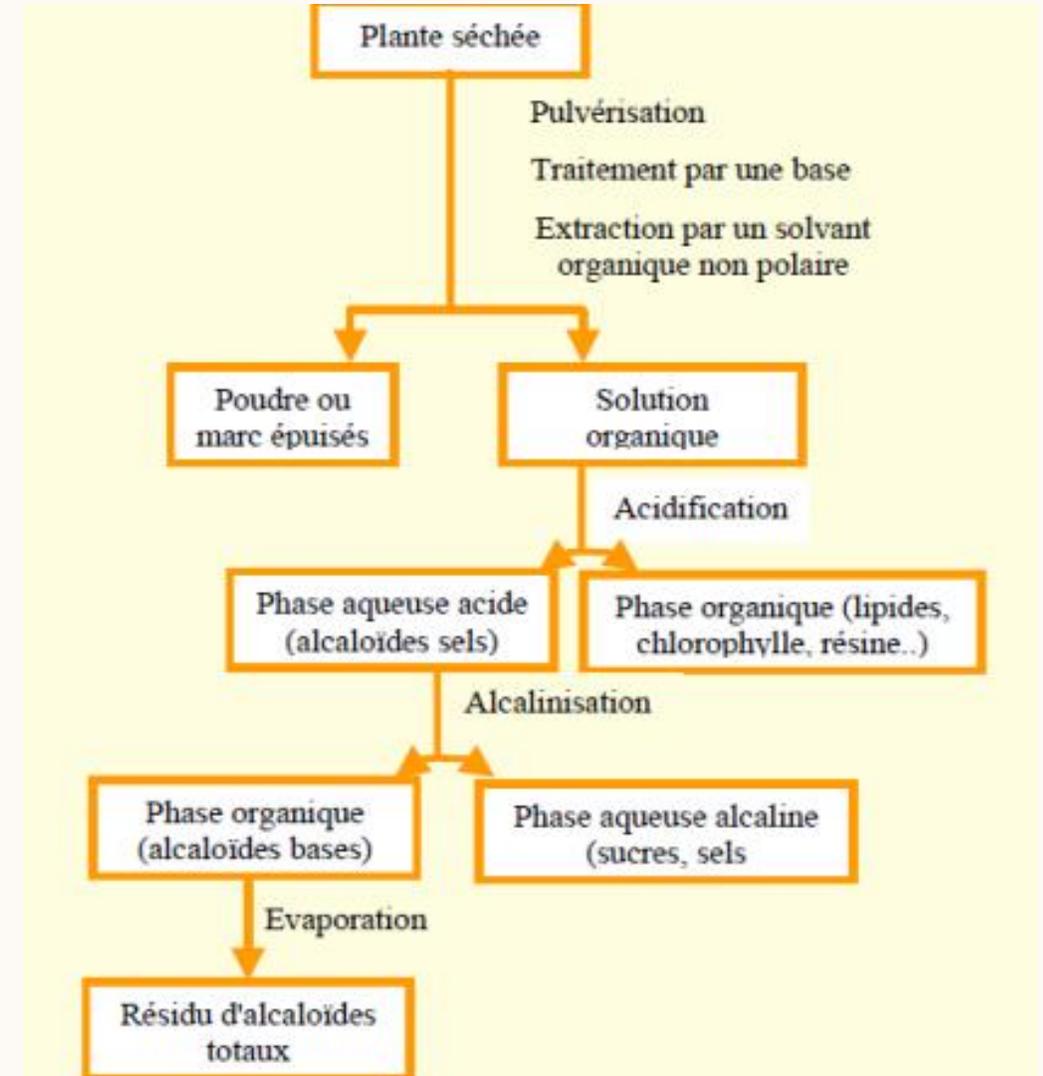
EXTRACTION ASSISTÉE PAR MICRO-ONDES



EXTRACTION DES COMPOSÉS ALCALOÏDIQUES

20

Les propriétés basiques des alcaloïdes et les solubilités différentielles qu'ils présentent avec leurs sels sont mises à profit lors de leur extraction.



EXTRACTION DES COMPOSÉS ALCALOÏDIQUES

21

Alcaloïdes volatils entraînés par la vapeur d'eau : ils sont déplacés de leurs combinaisons naturelles par une base fixe (chaux, soude, magnésie), directement à partir de la plante, puis entraînés par la vapeur d'eau. Après condensation, ils se séparent de la partie aqueuse du distillat à laquelle ils ne sont pas miscibles. Sont obtenues de la sorte la **nicotine du tabac** ou la spartéine du genêt.

Alcaloïdes fixes : la plante est traitée par de l'eau ou un alcool (éthanol à 70 %, méthanol) en présence d'acide qui entraîne les alcaloïdes sous forme de sels solubles. La solution extractive est séparée, éventuellement concentrée, et alcalinisée par de la soude ou de l'ammoniaque qui libère les alcaloïdes. Ceux-ci sont alors repris par un solvant organique non miscible à l'eau.

EXTRACTION DES COMPOSÉS ALCALOÏDIQUES

22

Les produits obtenus lors des extractions sont des **mélanges** qu'il importe de **fractionner** pour obtenir les alcaloïdes à l'état **pur**. On opère par **crystallisation progressive** dans des solvants adéquats, par **extractions successives** en milieu acide à l'aide de solutions de pH décroissant, en pratiquant une **séparation** par contrecourant d'un solvant non miscible, et surtout par chromatographie.

- **Identification à l'aide de réactifs** : Les **tanins** sont précipités par de nombreux **réactifs** ; ils précipitent : avec les sels de métaux lourds : fer, plomb, zinc, cuivre.

Avec les sels ferriques, on obtient des précipités colorés différemment selon la nature des tanins :

Bleu-noir avec les tanins hydrolysables.

Brun-vert avec les tanins condensés.

- **Identification à l'aide de réactifs** : La caractérisation de la présence d'**alcaloïde** peut se faire par **précipitation** :
- Alcaloïdes + Acide nitrique concentré = **Coloration violette**
- Alcaloïdes + Réactif à l'Iodobismuthite de potassium (Dragendorff) = **Précipité orangé à rouge.**
- Alcaloïdes + Réactif Silicotungstique (Bertrand) ou phosphotungstique = **Précipité blanc jaunâtre.**

De nombreuses méthodes peuvent être utilisées pour **identifier** et **doser** les métabolites secondaires.

- Par **chromatographie** : Les méthodes chromatographiques consistent à **séparer** les divers constituants d'un mélange en fonction de leur affinité pour un adsorbant au sein d'un solvant choisi. On fait appel ici à la **chromatographie d'adsorption sur colonne** (silice, alumine) avec sa variante, la **chromatographie liquide à haute performance** (C.L.H.P.), aux diverses modalités de **chromatographie en couche mince** (C.C.M.), à la **chromatographie d'échange d'ions**. Les méthodes chromatographiques sont surtout du domaine du laboratoire et, en raison de leur coût, assez peu utilisées dans l'industrie, qui préfère la cristallisation fractionnée.

- Par **spectrophotométrie** : La spectrophotométrie est une technique **d'analyse** qui utilise la lumière pour étudier les propriétés des substances chimiques. C'est une technique **quantitative** qui permet de mesurer la concentration d'une substance en solution en se basant sur **l'absorption de la lumière** à une **longueur d'onde spécifique**. L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie. Cette méthode utilise un instrument appelé **spectrophotomètre**.