

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMERY de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale

Mémoire de Master II en Diversité et adaptation de la flore
méditerranéenne.

Thème :

Contribution à l'étude comparative du rendement et des
composés chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*
globulus L entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de
la forêt de Harouza (Commune de Tizi-Ouzou)

Réalisé par :

M^{elle}. KARA kahina

et

M^{elle}. SAIDI siham

Soutenue le : 02/10/2016

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} CHEBHEB M.

M.C.A à L'UMMTO

Promoteur : M^r ASLA T.

M.A.A à L'UMMTO

Examineur 1 : M^r ARKOUB M.

M.A.A à L'UMMTO

Examineur 2 : M^r LIMANE K.

M.A.A à L'UMMTO

2015 / 2016



REMERCIEMENTS

Au terme de ce modeste travail, nos vits remerciements vont s'adresser :

A notre promoteur Mr ASLA T d'avoir dirigé et suivi ce travail.

A Mme CHEBHEBE M pour l'honneur qu'elle nous fait de présider le jury, nous lui exprimant toute notre reconnaissance.

A Mr ARKOUB M, et Mr LIMANE K, d'avoir accepter d'examiner et de juger ce travail, nous leurs sommes très reconnaissantes.

A Mr MOUSSAOUI pour son aide ainsi que pour le temps qu'il nous a accordé.



Dédicaces

Dieu merci,

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents KACI et
CHERIFA pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études,*

*A mes chères frères : amazigh et Lyes qui m'ont soutenue dans les
Moments les plus difficiles*

A mes chères sœurs : dihia et Hakima

A mes chères amis : Youssef et Mahmoud

A mes meilleures copines : Saida, razika, Samira, Lydia

A mon binôme : Kahina

A toute la promotion : 2015-2016,

A toutes les personnes, qui de près ou de loin, m'ont aidé.

Siham 2016....



Dédicaces

Dieu merci,

*Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents SAID et SALIHA pour leur aide et leur soutien tout au long de mes études,
A mes chères frères : Yacine, Toufik et chérif qui m'ont soutenue dans
Les Moments les plus difficiles*

A m'as petite cousine que j'aime beaucoup: mimi

A mes chères amis : Meziane et Salas

A mes meilleures copines : Saida, razika .kenza

A mon binôme : Siham

A toute la promotion : 2015-2016,

A toutes les personnes, qui de près ou de loin, m'ont aidé.

Kahina 2016....

Sommaires

Introduction	1
Chapitre I : Huiles Essentielles	
I.1. Généralités sur les Huiles Essentielles.....	3
I.2. Historique des HE	3
I.3. Définition	4
I.3.1 huiles essentielles.....	4
I.3.2. Plantes aromatiques	4
I.3.3. Essences	4
I.4. Marché mondiale des huiles essentielles	5
I.5.Répartition et localisation	5
I.5.1.répartition.....	5
I.5.2.localisation	6
I.6.méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	6
I.6.1.distillation par entrainement à la vapeur d'eau	6
I.6.2.l'hydro distillation.....	7
I.6.3.distillation à la vapeur saturée.....	8
I.6.3.1.l'hydro diffusion	8
I.7.Autre méthodes d'extraction.....	8
I.7.1.expression à froid	8
I.7.2.extraction par co2 supercritique	9
I.7.3.extraction par solvant volatils	9
I.7.4.extraction par le corps gras	10
I.8.Méthodes d'identification des huiles essentielle.....	10
I.8.1.Chromatographie en phase gazeuse	11
I.8.2.Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	11
I.9.Conservation des huiles essentielles	12
I.10.Propriétés physique des huiles essentielles.....	12
I.11.composition chimiques des huiles essentielles	12
I.11.1.groupe des terpènes.....	12
I.11.1.1.les mono terpènes.....	13
I.11.1.2.les sesquiterpènes.....	13
I.11.2.composés aromatiques	13

I.11.3.compose d'origines diverses	14
I.12.critères déterminants la qualité des huiles essentielles	14
I.12.1.l'existence de chémotype	14
I.12.2.la culture de la plante	15
I.12.3.l'origine géographique	15
I.12.4.méthodes d'extractions des huiles essentielles	15
I.13.détermination de la qualité des huiles essentielles.....	16
I.13.1.l'examen organoleptique.....	16
I.13.2.les analyses physique	16
I.13.3.les analyses chimiques	16
I.14.activité biologique et écologique des huiles essentielles	16
I.14.1.activité biologique.....	16
I.14.2.activité écologique	17
I.15.domaine d'application des huiles essentielles.....	18
I.15.1.la phytothérapie.....	18
I.15.2.agro-alimentaires.....	18
I.15.3.parfumerie et cosmétologie	19

Chapitre II : Quelques connaissances sur l'*Eucalyptus globulus*

II.2.Caractéristiques botaniques de la famille des Myrtacées	20
II.2.1.L'appareil végétatif.....	20
II.2.2.Appareil reproducteur	21
II.3.Genre <i>Eucalyptus</i>	22
II.3.1.Historique et origines des eucalyptus	22
II.3.2. Description du genre <i>Eucalyptus</i>	23
II.4. L'espèce <i>Eucalyptus globulus</i> L.....	24
II.4.1. Description botanique de l'espèce	24
II.4.2.La place dans la systématique selon Cronquist (1981).....	26
II.4.3.Ecologie de l'espèce	27
II.4.4.Propriétés thérapeutiques d' <i>Eucalyptus globulus</i>	27

Chapitre III : Matériel et Méthode

III.1.Présentation de la zone d'étude	28
III.1.1.Cadre régional	28
III.1.2.Cadre local.....	29
III.1.3.Géomorphologie	29

III.1.3.1.Le réseau hydrographique	29
III.1.3.2.Relief et topographie	29
III.1.4.Présentation de la végétation de la zone d'étude.....	29
III.1.4.1.La végétation naturelle	29
III.1.4.2.Espèces introduite (Reboisement)	30
III.2.Méthodes d'approche	30
III.3.Extraction des huiles essentielles	31
III. 3.1. Matériel végétal	31
III.3.2.Matériel de laboratoire	32
III.3.2.1.Réactifs utilisés	33
III.3.2.2. Mode opératoire	33
III.3.2.3. Calcul de rendement	34
III.3.2.4.Etude de la cinétique de rendement.....	35
III.4.Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	35
III.4.1.Indice d'acide (IA)	35
III.4.1.1.Réactifs chimique nécessaires	35
III.4.1.2.Mode opératoire	35
III.4.2.Indice de réfraction.....	36
III.5. L'analyse chromatographique	36

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1.Caractère organoleptiques de l'huile essentielle	37
IV.2. Cinétique du rendement d'extraction	37
IV.2.1. La cinétique du rendement des feuilles âgée du versant nord.....	37
IV.2.2.La cinétique du rendement des feuilles âgées du versant sud.....	40
IV.2.3. La cinétique du rendement des feuilles jeunes du versant nord.....	43
IV .3. Synthèse des résultats.....	46
IV.4. Comparaison des rendements.....	47
IV .5. Indices physico – chimiques	49
IV.5.1. Indice de réfraction	49
IV.5.2. Indice d'acide.....	49
IV.6. Comparaison avec la norme AFNOR	49

IV.7.Résultats des analyses chromatographiques en phase gazeuse pour les trois types des feuilles (jeunes, âgées versant nord, âgées versant sud)	51
IV.7 .1. Comparaison de la composition chimique d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> étudiée avec d'autres espèces de même genre	54
IV.7.1.1. Comparaison avec <i>Eucalyptus elaeophora</i>	55
IV.7.2.2 Comparaison avec <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	55
IV.8. Discussion	56
Conclusion.....	57
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des Figures

Figure I.1. Hydro-distillation assiste par micro-onde	7
Figure I.2. Entraînement à la vapeur d'eau ascendante	8
Figure I.4. Les différents types d'extraction par solvants volatils	10
Figure. II.1. Diagramme florale de la famille des myrtacées.....	21
Figure. II.2. distribution naturelle de genre eucalyptus	22
Figure. II.3. dessin des feuilles, fleurs et fruits d'eucalyptus	25
Figure. II.4. feuilles jeunes et âgées d' <i>Eucalyptus globulus</i>	26
Figure III.1. Situation géographique de la forêt de Harouza : Cadre régional et cadre local	28
Figure III.2. Schéma général de la procédure expérimentale	31
Figure III.3. Dispositif de l'hydro distillation	32
Figure III.4. Les ampoules utilisées pour la décantation du distillat.....	33
Figure IV.1. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles âgées (versant nord) d' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la durée d'extraction pour les trois essais.....	40
Figure IV.2. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles âgées (versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la durée d'extraction	43
Figure IV.3. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles jeunes d' <i>Eucalyptus globulus</i> en fonction de la durée d'extraction	46
Figure IV.4 . Rendement en huile essentielle des feuilles jeunes et des feuilles âgées (versant nord et versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i>	48

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau III.1 : condition opératoire de l'hydro distillation	34
Tableau IV.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> ...	37
Tableau IV.2: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai n°1).....	38
Tableau IV.3: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai n°2).....	38
Tableau IV.4: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d' <i>eucalyptus globulus</i> (essai n°3)	39
Tableau IV.5 : Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d' <i>Eucalyptus globulus</i>	39
Tableau IV.6 .Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai 1).....	41
Tableau IV.7. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai2).....	41
Tableau IV.8. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai3).....	42
Tableau: IV.9 .Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d' <i>Eucalyptus globulus</i>	42
Tableau IV.10. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai1).....	44
Tableau IV.11. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai2).....	44
Tableau IV.12. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d' <i>Eucalyptus globulus</i> (essai3).....	45
Tableau IV.13. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d' <i>Eucalyptus globulus</i>	45
Tableau IV.14. Résultats de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes et des feuilles âgées (versant nord et versant sud)	47
Tableau IV.15. Caractéristiques physique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	50
Tableau IV.16 .Composition chimique des HE de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	52

Liste des tableaux

Tableau IV.17. Le composé majoritaire des huiles essentielles prélevées des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> dans différents pays.....	53
Tableau IV.18. Composés communs à l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> et celle d' <i>Eucalyptus elaeophora</i>	55
Tableau IV.19. Teneur des composés communs à l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> et <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	56

Liste des abréviations

HE : huile essentielle

PAM : plante Médicinale et Aromatique

RHE : Rendement des huiles essentielles

PTP : poids des tubes pleins

PTV : poids du tube vide

IA : Indice d'acide

CPG : chromatographie en phase gazeuse

GPC/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

PH : Potentiel d'hydrogène

AFNOR : Association Française de Normalisation

HA : Hectare

m : mètre

km : Kilomètre

R : Rendement

Introduction générale

Au travers des âges, l'Homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, médicaments, abris et également pour ses besoins en matière première pour des produits de première nécessité. Bien qu'une grande partie du XXème siècle ait été consacrée à la mise au point de molécules de synthèse, la recherche de nouveaux agents pharmacologiques actifs a conduit à la découverte d'un grand nombre de plantes à huile essentielle. Ces plantes commencent à jouer un rôle majeur dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

L'utilisation des plantes et de leurs vertus pour répondre à certains besoins de l'homme est connue depuis l'antiquité et évolue avec l'histoire de l'humanité. C'est pour cela que l'ethnobotanique et l'ethnopharmacologie s'emploient à recenser, partout dans le monde, des plantes réputées actives pour lesquelles il convient de préciser les propriétés et valider les usages.

L'Algérie est considérée parmi les pays connus par leur diversité taxonomique vu sa position biogéographique, la flore Algérienne est potentiellement riche, beaucoup d'espèces endémiques peuvent y être, en plus présente un terrain de prédilection au développement de la culture des plantes aromatiques et médicinales (Chouitah, 2011). Parmi ces plantes et dans le but d'une éventuelle valorisation de patrimoine national en plantes médicinales, nous avons étudié les propriétés physico-chimiques et la composition chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*.

Pour ce faire, nous avons subdivisé notre travail de recherche en trois parties :

La première partie consiste à une synthèse bibliographique sur les huiles essentielles avec leurs utilisations. Etude bibliographique de la matière végétale

La deuxième partie représente la partie expérimentale ou nous présenterons les techniques utilisées :

- Extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes et adultes de l'*Eucalyptus globulus* par la technique d'hydro distillation à l'échelle de laboratoire
- La détermination du rendement en huiles essentielles des feuilles jeunes et adultes de l'espèce étudiée.

- La détermination de quelques paramètres physico-chimiques, organoleptiques et la composition chimique de l'huile essentielle des différents échantillons par méthode chromatographique.
- Enfin la troisième partie consiste à l'interprétation et la discussion des résultats, et nous terminons par une conclusion générale qui portera une synthèse globale des différents résultats obtenus.

I.1. Généralité sur les huiles essentielles

Les végétaux fabriquent leurs huiles essentielles (HE) pour se réparer, attirer les insectes pollinisateurs, se protéger du soleil ou du froid, des prédateurs et des maladies, on en utilise encore à guérir blessures et attaques diverses. Les HE ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenus avec des pressoirs comme l'huile de tournesol, l'huile de maïs, l'huile d'amande douce, etc...

Les HE et les arômes extraits à partir des herbes aromatiques et d'épices sont le résultat d'un mélange complexe de substances volatiles (Garnero, 1996). Elles sont généralement présentes à des très faibles concentrations dans les plantes à parfums.

Avant de pouvoir utiliser ou analyser de telles substances, il est nécessaire de les extraire de leur matrice. Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point telles que l'hydro-distillation, l'entraînement à la vapeur, l'hydro-diffusion, la distillation-extraction simultanée. (Durville, 1893), au CO₂ supercritique et l'hydro-distillation par micro-ondes. Elles sont ensuite séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques. L'huile ainsi obtenue possède certaines caractéristiques physico-chimiques qu'il est possible de mesurer au laboratoire à l'aide de techniques simples ou d'appareillages plus complexes.

I.2. Historique des huiles essentielles

- Il y a 40.000 ans, les aborigènes utilisaient déjà les feuilles de *Melaleuca alternifolia* Maiden et Betche à des fins médicales.

- 7 000 ans avant notre ère, les eaux aromatiques étaient utilisées en Inde pour traiter le corps et l'esprit mais également au cours des sacrifices religieux.

- 3.000 ans avant notre ère, les Égyptiens utilisaient les plantes aromatiques à des fins thérapeutiques, pour des pratiques magiques et religieuses. Ces plantes étaient locales mais aussi importées d'Extrême Orient et d'Éthiopie.

- Vers 1.500 avant Jésus-Christ, des écrits d'Imhotep mettent en évidence une utilisation proche de l'aromathérapie moderne.

- Les premières distillations sont apparues en Perse autour de l'an 1.000 avant J-C.

- Au premier siècle de notre ère, le traité *De Materia Medica*, de Pedanius Dioscoride, sert de référence en phytothérapie pour la médecine occidentale ; cet ouvrage fut utilisé durant un millénaire. Les Romains et les Grecs étaient de grands utilisateurs d'onguents

et de parfums. Puis, vers 1.200 après J. -C., les Arabes utilisèrent l'alambic de façon généralisée afin de préparer des huiles essentielles et des eaux aromatiques (Bouvet , 1937).

À la fin du XVIème siècle, la fabrication des eaux florales se développe. À cette époque, on emploie les huiles essentielles pour traiter des malades mais également pour se parfumer afin de masquer les odeurs corporelles.

Avec la civilisation industrielle, l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles est véritablement tombée dans l'oubli.

I.3. Définitions

I.3.1 Les huiles essentielles

Il existe plusieurs expressions pour définir les huiles essentielles :

- Selon le professeur Valnet (1983) père de l'aromathérapie « huile essentielles est la partie atomique de la plante et le concentré de ses propriétés »
- Le terme « huile » provient du fait que les volatiles contenu dans le végétale sont visqueux et hydrophobe, elles ont des propriétés de solubiliser dans les huiles végétales et minérales, et les graisses, les alcools et l'éther. La dénomination « essentielle » reflète le caractère principal des plantes qui dégagent des odeurs agréables (Boumer et *al.* , 2004).
- Selon la 8^{ème} éditions de la pharmacopée française (1965) les huiles essentielles (essence=huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (Broneton, 1999).

I.3.2 plantes aromatiques

Les plantes aromatiques sont des plantes dont les tissus secrètent suffisamment d'essence pour que celle-ci puisse être extraite par distillation. Elles contiennent les molécules aromatiques ou odorantes dans un ou plusieurs de ces organes producteurs : feuilles, fleurs, fruits, graines, racine.... Toute plante à odeur n'est pas toujours une plante aromatique : le tilleul est un arbre odorant mais il ne contient pas d'huiles essentielles (Patricia ,2005).

I.3.3 Essence

L'essence se différencie de l'huile essentielle, il s'agit d'une substance aromatique naturelle que secrète la plante dans ses organes producteurs. Ce terme ne peut être employé que pour certaines plantes comme celles contenant des citrals (orange, citron, mandarine...)

avec des principes trop lourds pour être entraînés par la vapeur d'eau utilisée pour la distillation des huiles essentielles. L'huile essentielle est donc une « essence distillée ».

I.4. marché mondial des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont valorisées principalement sur les marchés de l'aromathérapie, de la parfumerie et de la cosmétique. Elles peuvent, soit rentrer dans la composition de produits élaborés (savons, crèmes, parfums, bougies,...), soit être utilisées en l'état. Elles sont recherchées pour leurs propriétés odorantes ou thérapeutiques. Les principaux marchés de consommation sont les pays développés qui représentent 80% des débouchés mondiaux (Europe 30 %, Japon et Amérique du Nord 50 %) (Trager, 1976).

Les pays d'Amérique du Sud et d'Asie font partie des plus grands producteurs mondiaux d'huiles essentielles. Plus de 50% des exportations des huiles essentielles du marché européen sont dominées par quelques pays : l'Allemagne constitue le plus grand marché (20 %), suivi par la France (18 %), le Royaume-Uni (16 %), l'Italie (14 %) et l'Espagne (10 %) qui disposent d'industries de parfumerie, de cosmétique et de détergence. Ce secteur connaît une croissance modérée de l'ordre de 3,5 % par an pour le marché européen. Le marché des pays émergents constitue un marché prometteur particulièrement pour les produits de gamme basse et moyenne.

En Afrique, les quantités produites sont très faibles et les besoins sont compensés par des volumes importants importés à travers le monde, excepté l'Afrique du Nord où les pays du Maghreb (Maroc et Tunisie principalement) sont les leaders dans cette région. Les Comores et Madagascar font partie aussi des grands producteurs mondiaux qui exportent leur production.

I.5. Répartition et localisation

I.5.1. Répartition

Selon Bruneton (1999), les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, les plantes capables d'élaborer les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, réparties dans un nombre limité de familles, ex : Myrtacées, Lauracées, Rutacées, Lamiacées, Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Poacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc.

Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles en particulier les sommités fleuries (Lavande, Menthe). On les trouve aussi dans les écorces (Cannelier), les

racines (Vétiver), les rhizomes (Gingembre), les fruits (Fenouil), le bois (Camphrier), les feuilles (Eucalyptus), les graines (Muscade) et les boutons floraux (clou de Girofle) (Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999 ; Ghuestem et *al.* , 2001).

Sur le plan quantitatif, les teneurs en huiles essentielle des plantes pouvant les contenir sont très faibles, souvent inférieures à 1%. Des teneurs fortes comme celle du bouton floral du girofler (15%) sont rares et exceptionnelles.

1.5.2. Localisation

Les HE sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit « secondaire » (Mann ,1987). La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisés, le plus souvent situées sur ou à la proximité de la surface du végétal (Bruneton, 1987). Il existe quatre structures sécrétrices :

- Les cellules sécrétrices chez Lauraceae et les Zingibéracées
- Les poils glandulaires épidermiques chez les espèces appartenant aux familles botaniques des Lamiaceae, Geraniaceae et Verberaceae
- Les poche sphériques schizogènes. Les glandes de type poche se rencontrent chez les Asteraceae, les Hypericaceae, les Rosaceae, les Rotaceae, les Myrtaceae, etc....
- L'excrétion de l'huile essentielle dans la cavité des poches ou canaux est réalisée par exocytose chez les Myrtaceae ou par lyse des cellules bordant la cavité, chez les Rutaceae.
- Les canaux glandulaires lysigènes présents chez les Pinophytes, les Apiaceae ...

1.6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Parmi les différentes étapes les plus importants pour l'isolement et l'exploitation des substances bioactives d'origine naturelle on trouve l'étape d'extraction. Il existe plusieurs modes d'extraction des huiles essentielles dont le principe est la distillation à la vapeur d'eau.

1.6.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et leur caractère hydrophobe. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et

l'huile essentielle se sépare par décantation. (Bruneton, 1993) Les principes variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont : l'hydro distillation, la distillation à la vapeur saturée et l'hydro diffusion.

1.6.2. L'hydro distillation

Dans le cas de l'hydro distillation, la plante se trouve dans un réacteur ou elle est en contact directe avec l'eau bouillante. Selon la densité ou la qualité de la plante utilisée, elle peut flotter, ou être complètement immergée dans l'eau .Elle est généralement conduite a pression atmosphérique .Le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale. La vitesse de vaporisation des composés volatiles des PAM par l'hydro distillation est connue par la variation de leur concentration en fonction de la résistance à la diffusion d'HE dans les tissus cellulaires et également selon la solubilité des molécules volatiles dans l'eau. (AFNOR, 1980 ; Hernandez, 2005).

A titre encore expérimental, est apparue une nouvelle technique appelée : **hydro distillation par micro- onde** (Lucchesi et *al .*, 2004). Dans ce procédé, le végétale est chauffé par micro-ondes dans une enceinte close ou la pression est réduite de manière séquentielle .Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classique de condensation, refroidissement et décantation .Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie.

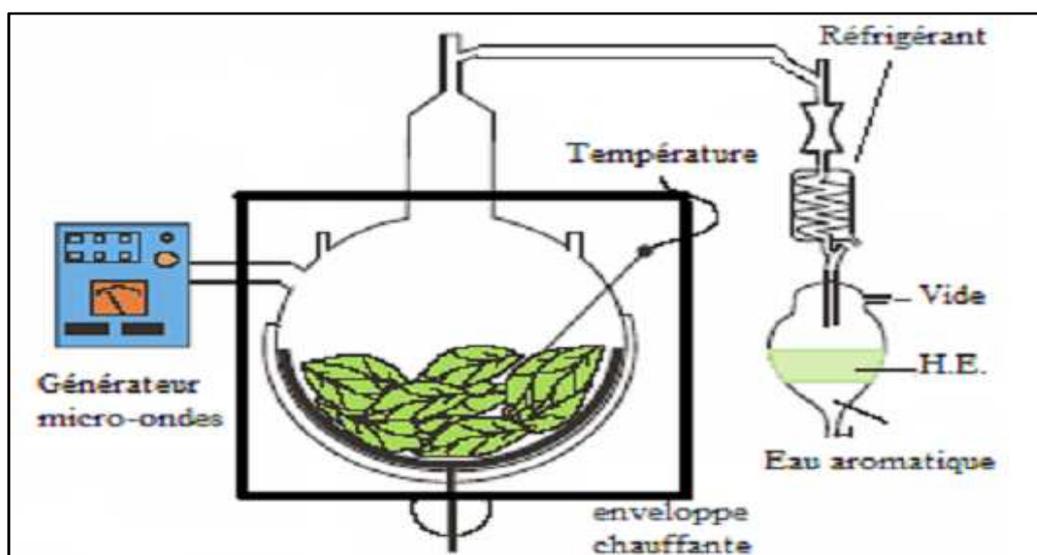


Figure I.1. Hydro-distillation par micro-onde (Lucchesi et *al .*, 2004)

1.6.3. Distillation à la vapeur saturée

C'est le moyen le plus répandu pour extraire les molécules volatiles des PAM. Le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau, mais la vapeur d'eau produite par une chaudière est injectée et traverse la matière végétale de bas en haut fait éclater les cellules et entraîne les molécules volatiles. En traversant un tube réfrigérant, la vapeur d'eau saturée en composés volatils se condense en un mélange hétérogène composé d'HE et d'hydrolat. (Hernandez, 2005 ; Marrouf et *al.*, 2009).

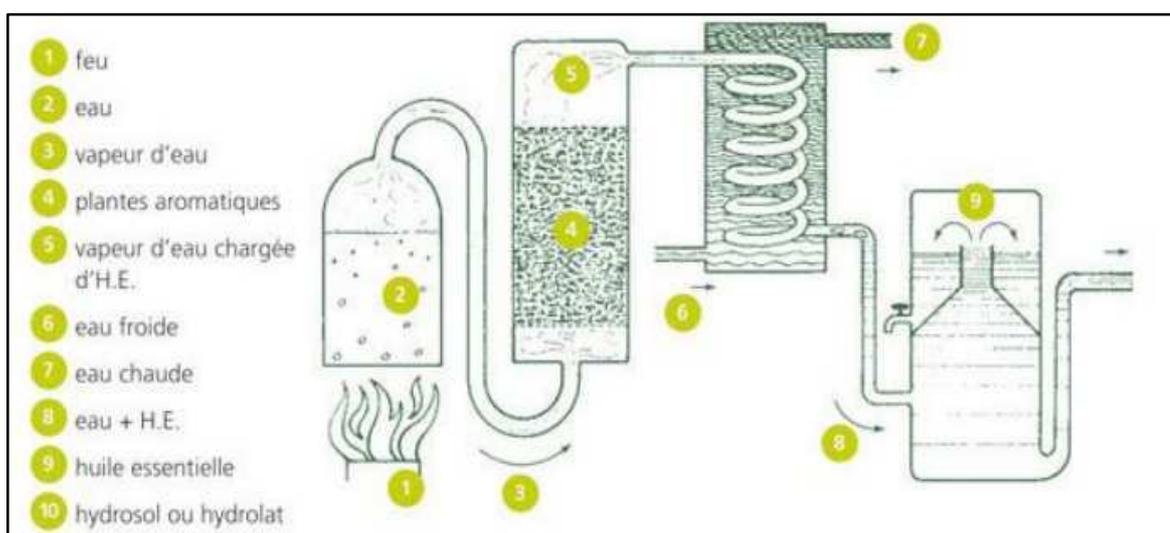


Figure I.2. Entraînement à la vapeur d'eau ascendante (Herzi, 2013)

1.6.3.1. L'hydro diffusion

Aussi appelé percolation, la percolation consiste à envoyer la vapeur de haut en bas à travers la plante aromatique. Son avantage est une rapidité et une meilleure qualité des composés aromatiques, par contre l'inconvénient est de changer les huiles essentielles en substance non volatiles. Le produit obtenu est appelé « essence de percolation » et non huile essentielle (Fronchomme et *al.*, 2003).

1.7. Autres méthodes d'extraction

1.7.1. Expression à froid

L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes comme le citron, l'orange, la mandarine, etc., Ce procédé est choisi en raison de la fragilité des essences de ces fruits due à leur composition terpénique et aldéhydique sensible à la chaleur. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile

essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (Chemat, 2009).

1.7.2. Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. (Chemat, 2009).

1.7.3. Extraction par solvants volatils

Le principe est d'extraire des essences grâce à des solvants volatils, pour cela, on fait traverser le matériel végétal par le solvant. Après deux ou trois passages, le solvant s'est chargé en molécules aromatiques. Il faut ensuite éliminer le solvant par évaporation car la température d'ébullition du solvant est inférieure à celle de l'huile essentielle. On obtiendra des concrètes de feuilles ou de fleurs et des résinoïdes de racine ou d'écorce. Les produits obtenus par ce procédé contiennent des cires et des corps gras. On réalise ensuite une série de lavages avec l'alcool comme solvant car la cire et les corps gras de la concrète y sont insolubles, chaque lavage consiste à mettre en contact l'essence concrète et l'alcool pendant quelques jours. Ainsi il restera simplement à évaporer l'alcool pour avoir des absolues.

La qualité des produits obtenus ne permet pas un usage thérapeutique car il pourrait rester des traces de solvant ; cette technique n'est pas admise par la pharmacopée européenne.

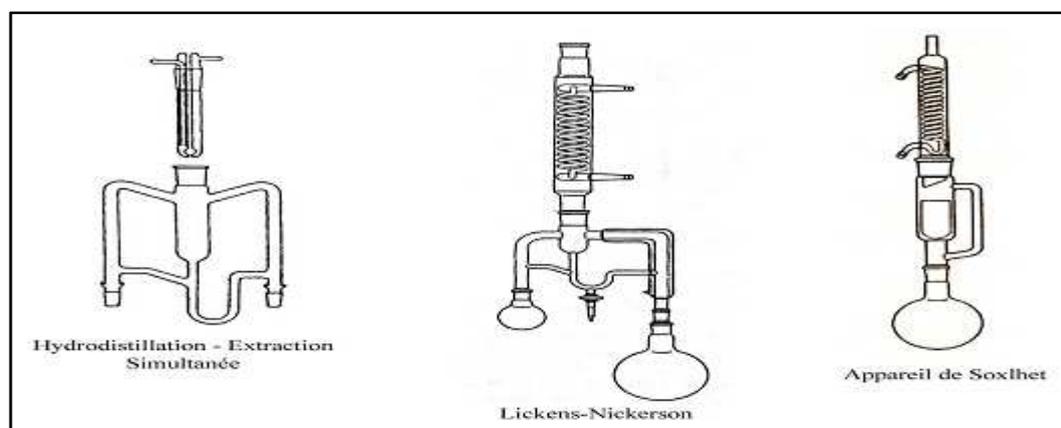


Figure I.3. Les différents types d'extraction par solvants volatils (Brian, 1995)

1.7.4. Extraction par le corps gras

La méthode d'extraction par le corps gras est utilisée dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de températures. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite (Chemat, 2009).

1.8. Méthode d'identification

La chromatographie est le procédé fréquemment utilisé pour séparer les constituants des huiles essentielles. Elle se base sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leurs adsorptions et de leurs désorptions successives sur la phase stationnaire, soit de leurs solubilités différentes dans chaque phase (Schwedt, 1993). Plusieurs méthodes existent :

1.8.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Elle s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans décomposition dans l'injecteur. C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. La phase mobile est un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur. Le principe de la chromatographie en phase gazeuse basé sur la séparation des différents solutés gazeux par migration différentielle le long de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis-à-vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine...), on parle de chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption (Audigie et *al.*, 1995).

La CPG permet une évaluation quantitative et qualitative de la composition chimique des huiles essentielles. Elle présente de nombreux avantages : facilité de mise en œuvre, temps d'analyse assez court et fiabilité des résultats (Bruneton, 1999).

I.8.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine, car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier et, dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (De maack et Sablier, 1994). Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert et *al.*, 1997; Bruneton, 1999).

I.9. Conservation des huiles essentielles

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement (Valnet, 1984 ; Salle et Pelletier, 1991).

I.10. Propriétés physiques des huiles essentielles

A la température ordinaire, on trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide. Toutes les huiles essentielles sont volatiles, odorantes et inflammables, leur densité est plus souvent inférieure à 1. Seules trois huiles essentielles ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les huiles essentielles de cannelle, de girofle et

sassafras .Elles sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles et la vaseline, très altérable, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière. (Charpentier, 2008).

I.11. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges variables et complexes de différents composés chimiques, dissous l'un dans l'autre, formant des solutions homogènes. Les principaux constituants des huiles essentielles appartiennent de manière quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques.

I.11.1. groupe des terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels de structure cyclique ou chaîne ouverte. On les trouve fréquemment dans les huiles volatiles des plantes .Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) Ils sont subdivisés selon le nombre d'unité isoprène en mono terpène forme de deux isoprènes($C_{10}H_{16}$) , en sesquiterpènes forme de trois isoprènes($C_{15}H_{24}$) , en di terpènes forme de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$) , en tétra terpènes, huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes, en poly terpènes (C_5H_8)_n ou n peut être de 9 à 30 (Hernandez , 2005).

C'est précisément parce que les terpènes proviennent de l'isoprène qu'ils sont également nommés : « isoprénoïdes» ou « terpénoïdes »défini l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés.

D'une manière générale, les huiles essentielles ne contiennent que les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée telles que les : mono et les sesquiterpènes.

I.11.1.1. Les monoterpènes

Sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représente la majorité des constituants des huiles essentielles parfois plus de 90%.Ils peuvent être acyclique (myrcène, ocymène), monocyclique (terpinène, p-cimène), ou bicyclique (pinène, sabinène).A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique :

- **Alcool** : géraniols, menthol
- **Aldéhydes** : géraniol, citronellal, sinensal

- **Cétones** : carvone, menthone
- **Esters** : Acétate de géranyle, acétate de cédryle
- **Ethers** : 1-8cineole : appelé aussi eucalyptol
- **Phénols** : carvacrol, thymol
- **Les peroxydes** : ascaridole

I.11.1.2. Les sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : le farnesol, le β -bisabolène (Bruneton, 1999 ; Ernandez, 2005). Les mêmes structures chimiques rencontrée dans la série des monoterpènes se retrouvent dans les sesquiterpènes : les alcools, les carbures et les cétones étant les plus fréquents.

I.11.2. Composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C₆-C₃), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogénèse est totalement différente (Paris et Hurabielle, 1981). Bruneton (1999) considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées (Anis, Fenouil: anéthole, anisaldehyde, méthyl-chavicol=estragole. Persil : apiole) mais aussi de celles du Girofle (eugénol), de la Muscade (safrol, eugénol), de l'Estragon (eugénol), du Basilic (eugénol), de l'Acore (asarones) ou des Cannelles (cinnamaldéhyde eugénol safrol). On peut également selon le même auteur, rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C₆ - C₁ comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques (par exemple les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles.

I.11.3. composés d'origines diverses

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles renferment des composés aliphatiques généralement de faible masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydro-distillation, ces produits peuvent être azotés ou soufrés (Teisseire, 1991).

I.12. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles

Les travaux de nombreux auteurs ont montré que les plantes réagissaient au milieu environnant et qu'au cours de leur vie, la composition chimique de leurs métabolites pouvait évoluer. Extraites des végétaux, les huiles essentielles sont donc fluctuantes dans leur composition qui peut varier en fonction des conditions géographiques et climatiques, du terrain de la culture de la plante, de l'année de culture (ensoleillement, hygrométrie) du mode cultural, de la période de récolte, de l'individu ou l'organe considéré et de la méthode d'extraction.

I.12.1. L'existence de chémotype

La notion de chémotype a été introduite scientifiquement par Jean Passet dans sa thèse en 1971 intitulée « *Thymus vulgaris* L, chémotaxonomie et biogène mono terpénique ». Plus tard, le professeur Jacques Pellecuer écrit : « les chémotypes constituent à l'intérieur de chaque espèce des races chimiques possédant chacun un équipement enzymatique particulier, déterminé génétiquement qui oriente la biosynthèse vers la formation préférentielle d'un constituant précis » (Pellecuer, 1981). Le professeur Pellecuer a aussi montré comment l'influence solaire explique les variations chimiques saisonnières rencontrées dans les composants des HE.

Une même plante dans des lieux différents, peut donc sécréter des essences biochimiquement et olfactivement différentes en fonction du biotope (ensoleillement, climat, composition du sol, altitude ...) avec des propriétés et indications d'utilisation différentes. L'exemple le plus marquant est celui de l'espèce sauvage *Thymus vulgaris* présente dans le sud de la France. Il existe en effet six chémotype différents pour cette seule espèce. Ces différences sont au niveau de la nature de monoterpène majoritaire de l'huile essentielle qui peut être le géraniol, l'ex-terpinéol, le thuyanol-4, le linalol, le carvacrol ou le thymol. (Tompson et al., 2003).

I.12.2. La culture de la plante

Les plantes utilisées pour la production d'HE peuvent provenir de 3 circuits différents de cultures :

- La culture dite « traditionnelle » utilisant engrais et pesticides.
- La culture « biologique » avec un cahier des charges réglementant de façon très stricte l'emploi des pesticides.

- La culture « sauvage » : les plantes sont simplement récoltées dans leur environnement naturel. Les plantes sauvages seront privilégiées pour garantir une qualité maximale, en effet dans leur environnement naturel les plantes poussant à leur rythme, en synthétisant les molécules dont elles ont besoin pour se protéger, ou pour communiquer entre elles.

I.12.3. L'origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine.

Une même plante grandissant dans des milieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude) avec variation de la nature du sol peut produire des huiles essentielles différentes. Par exemple le thymus vulgaire à géraniol ne produit cette molécule qu'en hiver alors que l'acétate de géranyle la remplacera en été (Florence, 2012).

I.12.4. Méthodes d'extractions des huiles essentielles

La composition et la qualité des HE peuvent varier selon le procédé d'extraction et les critères d'extraction. Il existe une abondante littérature sur les modifications de la composition au cours de l'extraction de l'essence d'une plante sous l'action de la chaleur, de pH, de la teneur en oxygène, de l'état d'hydratation et de la pression du milieu d'extraction.

I.13. Détermination de la qualité des huiles essentielles

Selon les référentiels classiques (pharmacopée, ISO, AFNOR) l'évaluation de la qualité des huiles essentielles est réalisée par la mesure d'un certain nombre d'indices et d'analyses sur chaque lot avant commercialisation.

I.13.1. L'examen organoleptique

Il permet d'apprécier :

- l'aspect liquide et volatile
- la couleur : elle peut varier avec l'oxydation
- l'odeur caractéristique
- la saveur

I.13.2. Les analyses physiques

Chaque huile essentielle présente des constantes qui lui sont propres :

- la densité
- la solubilité dans l'alcool
- les points de congélation d'ébullition et de fusion
- l'indice de réfraction
- le pouvoir rotatoire

I.13.3. Les analyses chimiques

La chromatographie en phase gazeuse permet de séparer et de comptabiliser les différentes molécules contenues dans ce mélange complexe qu'est l'HE. Couplée à la spectrométrie de masse, c'est la méthode la plus adéquate et facile à mettre en œuvre pour obtenir l'identité et l'abondance relative des composés aromatiques. Les méthodes d'analyse sont normalisées dans la Pharmacopée européenne V^{ème} édition, ainsi que dans les normes AFNOR NF T 75-400 et 401, équivalent ISO 7359 et 7609.

I.14. Activités biologiques et écologiques des huiles essentielles

1.14.1. Activité biologique

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origines bactérienne et fongique (Burt,2004) cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques (Delaquis et *al.*,2002) qui les rapprochent des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents Antimicrobiens à large spectre .

Dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques(Davidson et Parish,1989 ; Mourey ,2002).

Dans les domaines phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs sont également employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires (Karatzas et *al.*,2001 ; Harris,2003). Les huiles essentielles, plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antimicrobiennes, Antibactériennes et antifongiques possèdent également des propriétés anti-inflammatoires, Antivirales (Santiesteban et *al.*, 2007), stimulantes, toniques et même irritantes (Karatzas et *al.* , 2001 ; Harris, 2003). Ces propriétés sont étroitement liées à la nature de leurs constituants et des groupements ou fonctions chimiques qu'ils possèdent ; c'est le cas de l'activité antifongique qui décroît selon le

type de fonctions Chimiques :Phénols >Alcools> Aldéhydes> Cétones> Ethers> Hydrocarbures.

Les propriétés biologiques des huiles essentielles sont associées à la prédominance des fonctions chimiques. Etant donné la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, et malgré de possibles synergies, certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile (Chaumont et Leger, 1989 ; Billerbeck, 2007).

I.14.2. Activité écologique

Les monoterpènes possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales comme agent allélopathique, c'est-à-dire inhibiteurs de la germination, mais aussi lors des interactions (végétale-animale) comme agent de protection contre les prédateurs. (Al mousawi et Alnaib, 1975).

I.15. Domaine d'application des huiles essentielles

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plantes aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie et l'aromathérapie....

I.15.1. La phytothérapie

L'aromathérapie est une branche de la phytothérapie qui utilise les HE pour traiter un certain nombre de maladies. Les HE sont largement utilisés pour traiter certaines maladies internes et externes (Infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs HE ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries (Souraip, 1989 ; Kato et al., 1990) la listerine qui est une solution constituée d'HE de thymol et d'eucalyptol possède une grande activité bactéricide sur les micro-organismes de la salive et de la plaque dentaire (Kato et al., 1990).

La Menthe poivrée (*Mentha piperita*) occupe une place privilégiée dans la phytothérapie digestive grâce à l'HE que renferment ses feuilles, et qui lui confère un grand pouvoir calmant des spasmes intestinaux.

Des études ont montré que le géraniol a une action sur les cellules cancéreuses du colon (Canesecchi et al., 2001), en plus de l'activité anti-inflammatoire, récemment mise en

évidence (Siani et al., 1999). Juven et al., (1994) ont obtenu une diminution importante des cellules vivantes de *Salmonella thyphimirum* en le traitant par l'huile de thym et ses constituants actifs. Une étude in vitro a montré l'effet antiviral de l'HE d'origan et du girofle sur le virus Type 1 de l'herpès simplex ainsi que sur le virus de la maladie de Newcastle (Siddiqui et al., 1996). L'effet de l'huile de *Melaleuca alternifolia* (Tea treeoil) et celle d'Eucalyptus d'origine Australienne ont été testées sur le virus de l'herpès simplex dans des cultures cellulaires (Schnitzler et al., 2001).

I.15.2. Agro-alimentaire

La lutte contre les champignons toxigènes est l'un des objectifs de cette conservation, en effet ces micro-organismes élaborent des substances toxiques, les aflatoxines, les ochratoxines et les zéaralenones, réputés pour leurs effets hépatotoxique et cancérigène (Hitokoto, 1980 ; Fan et al., 1999). Plusieurs travaux ont montré que les HE de thym, d'origan, de cannelle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires (Beraoud et al, 1991 ; Arora et al., 1999).

La quantité d'épices et d'aromates habituellement utilisés étant faible, leur pouvoir antimicrobien semble synergique (Madhyasta et al., 1948 ; Beuchat, 1976) Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HE, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire (Hammer et al., 1999). Ils y sont rajoutés pour rehausser le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (Busta et al., 1980 ; Hitokoto et al., 1980).

L'eugénol et le cinnamalehyde, extraits à partir d'HE du Cinnamum, comptent parmi les principaux agents de conservation alimentaire, d'origine végétale. Ils sont employés comme additifs pour la préservation des olives de table contre la flore cryptogamique, (Kiwank et al., 1990 ; Wild, 1994).

I.15.3. Parfumerie et cosmétologie

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bais «calmant» ou «relaxant»), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. (Bouamer et *al.*, 2005 ; Bounane et *al.*, 2005).

II. Quelques connaissances sur l'*Eucalyptus globulus*

Dans les principaux pays planteurs d'*Eucalyptus*, *Eucalyptus globulus* a été la principale source commerciale d'huiles essentielles, ses feuilles renfermeraient environ (60-75 %) de cinéol- 1,8 (eucalyptol).

Ces huiles essentielles peuvent constituer un revenu intérieur intéressant étant donné qu'on peut même obtenir des quantités massives de feuilles par les rejets repoussant après l'exploitation du peuplement. Cette espèce appartient à la famille des myrtacées.

II.1 La famille des myrtacées :

La famille des Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones qui comprend plus de trois mille espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques, des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie et en Amérique tropicale. (Kesbi amrane, 2011).

II.2 Caractéristiques botaniques de la famille des Myrtacées**II.2.1 L'appareil végétatif**

Les myrtacées appartiennent à la grande classe des plantes dicotylédones.

Elles sont toutes hermaphrodites, le plus souvent arborescentes ou sous-frutescentes, rarement herbacées.

- Tiges et rameaux sont cylindriques ou quelques fois quadrangulaire, le plus souvent contournés.
- Feuilles, toujours simples, entières ou peu denticulées sont pétiolées, opposées, rarement alternes ou verticillées.
- Limbe, tantôt cylindrique ou plan, trinervée ou penninervée, offre parfois des nervures marginales.

II.2.2 Appareil reproducteur

Les inflorescences de cette famille sont en cyme ou en grappe et parfois réduites à une seule fleur solitaire. Elles sont auxiliaires ou terminales.

Les fleurs des Myrtacées ont une odeur suave et sont pollinisées par divers insectes, oiseaux ou mammifères. Elles sont généralement hermaphrodites. Le réceptacle floral est en

forme de coupe plus ou moins allongée et la fleur actinomorphe, tétramère ou pentamère. (Heywood, 1996 ; Judd, 2002 ; Botineau, 2010).

Sur le bord du réceptacle floral s'incèrent deux verticilles qui se soudent et forment un calypstre, en forme de capuchon. Ce dernier sera soulevé par les étamines qui se redressent lors de l'anthèse ce qui entraîne sa chute. Chaque verticille est constitué de 4 ou 5 pièces libres ou soudées, imbriquées entre elles.

L'androcée est composé généralement d'un grand nombre d'étamines, se développant de façon centripète ; elles sont libres ou réunies à la base en 4 ou 5 faisceaux. Ainsi chez les Myrtacées, on trouve généralement 4 ou 5 sépales, libres ou soudés. Les pétales sont au nombre de 4 ou 5 libres ou soudés également, petits et arrondis ils sont imbriqués et parfois agrégés au capuchon. Les étamines sont en grand nombre « n » alors qu'on trouve entre 2 à 5 carpelles.

Le gynécée est composé de carpelles généralement infères à semi infères. Le style est long et simple avec un stigmate souvent capité. L'ovaire est habituellement infère avec une ou plusieurs loges (souvent 2 à 5) Le nombre d'ovules par loge varie de deux à un nombre plus important. Les ovules sont anatropes.

La pollinisation est favorisée par la présence d'un disque nectarifère qui recouvre l'ovaire, la fleur est dite entomophile.

Le fruit est généralement une baie surmontée d'un calice ou une capsule loculicide ou encore, plus rarement, une drupe ou un akène. En général, les graines sont peu nombreuses voir même uniques dans chaque loge. Ces graines sont ex albuminées, c'est à dire que l'embryon a consommé la totalité de l'albumen lors de sa maturation.

Les fruits des espèces à fruits charnus sont disséminés par les oiseaux et les mammifères, alors que les espèces à fruits capsulaires ont de petites graines disséminées généralement par le vent ou par l'eau. (Judd, 2002 ; Botineau, 2010).

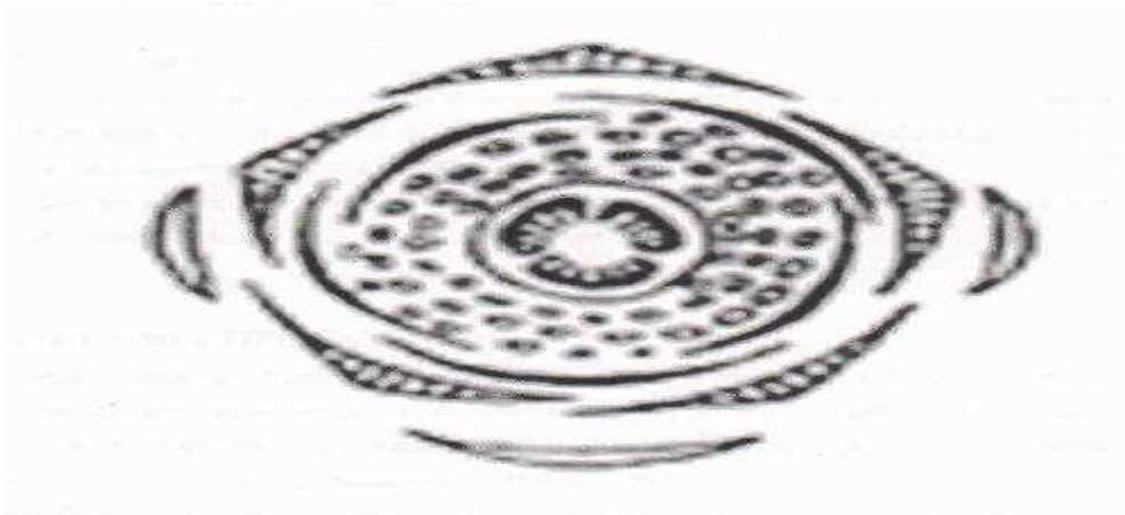


Figure. II.1.Diagramme florale de la famille des myrtacées (Crete, 1965)

Formule florale : 4-5 S+ 4-SP + n ET+ 2-S C

II.3 Genre *Eucalyptus*

II.3.1 Historique et origines des *Eucalyptus* :

On dénombre aujourd'hui plus de 500 espèces différentes d'*Eucalyptus*. Ils sont originaires d'Australie mais on en retrouve également en Amérique du sud, en Afrique et en Europe, où ils se sont acclimatés.

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles- Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « vrai » et « calyptos » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des *Eucalyptus*, les capsules. C'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous les *Eucalyptus*. De nombreux botanistes ont essayé de créer des classifications du genre *Eucalyptus* la première était la classification de Mueller qui se basait sur les différents types d'écorces.

Bentham s'est concentré sur les caractéristiques des étamines et en particulier des anthères. Mueller a, par la suite, créé lui - aussi une classification sur les anthères, puis il a été suivi de Maiden et Blakely mais cette classification a vite connu ses limites. De nombreuses classifications ont vu le jour en fonction des nervures des feuilles, de la morphologie des graines, de la nature de la capsule et de la structure de l'inflorescence. Une classification complète, mais informelle, de toutes les espèces d'*eucalyptus* connues a été

publiée en 1971 par Pryor et Johnson. Elle comprend sept grands groupes basés sur l'association de plusieurs caractères morphologiques et suggérées par l'incompatibilité de reproduction entre eux. Leur système a été soumis à un examen minutieux au cours des 30 dernières années. De nombreuses améliorations de cette classification ont été proposées par Johnson lui-même et par d'autres, même s'il n'a jamais officiellement publié un système de classification. Dans le volume 19 de « Flora of Australia », publié en 1988, tous les eucalyptus ont été groupés en 513 espèces par Chippendale. (Euclid ; in Nathalie, 2015) (Figure II.2).

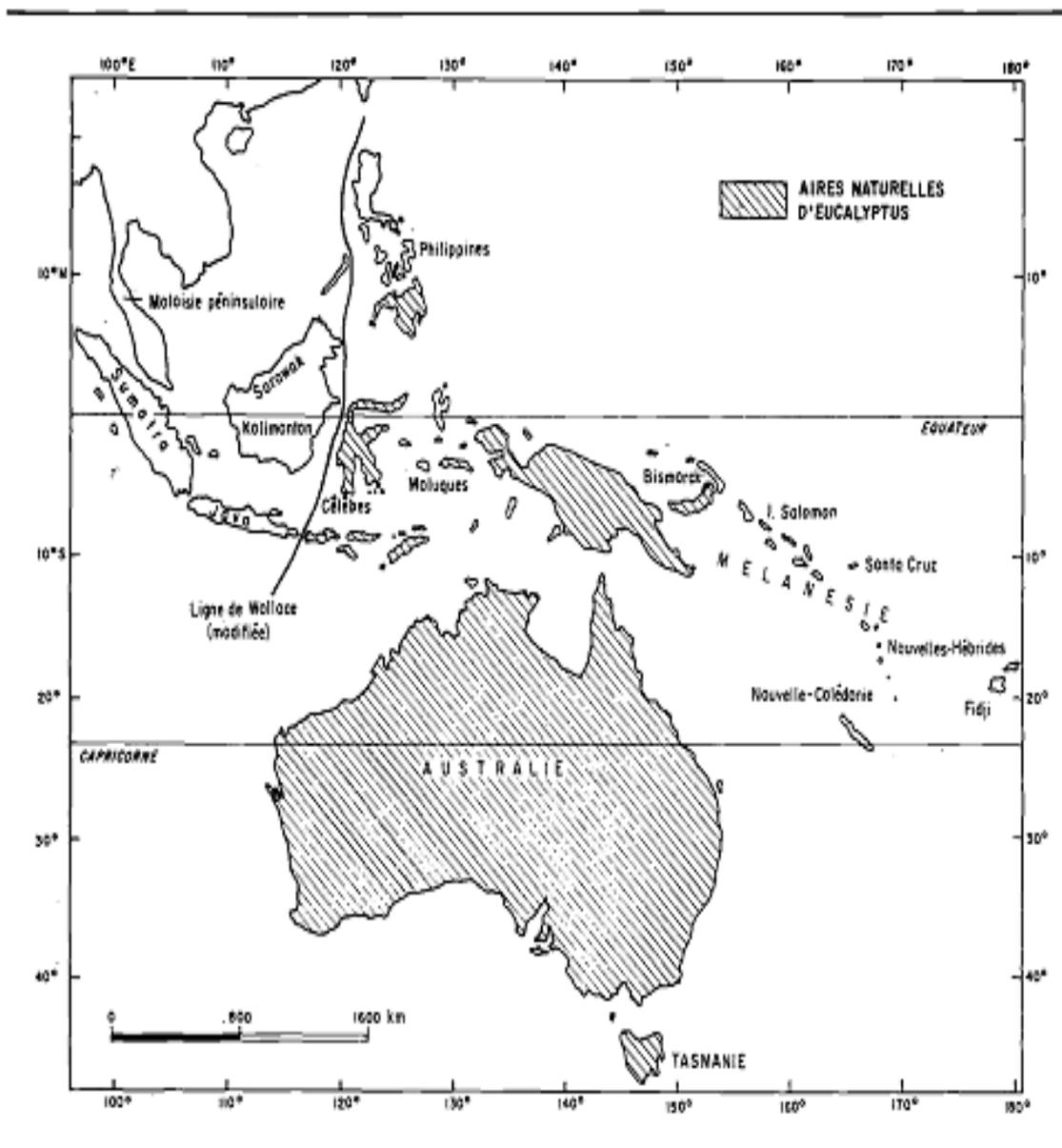


Figure. II.2. Distribution naturelle de genre eucalyptus. (Fao, 1982).

II.3.2. Description du genre *Eucalyptus*

Les *Eucalyptus* sont de grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur, originaire d'Australie, notamment de la province de Tasmanie ; l'*Eucalyptus* fut rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. Possédant une exceptionnelle capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît, l'*Eucalyptus* assèche rapidement les marais qu'il colonise. Il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria, d'où le nom d'« arbre à la fièvre » ou *Australian fevertree*.

La plupart des *Eucalyptus* ont des feuilles persistantes. Comme les autres membres de la famille des myrtaceae, les feuilles d'*Eucalyptus* sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre.

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique: sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauques, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant.

Les fleurs forment une petite boîte s'ouvrant par un couvercle : les étamines sont enfermées dans un étui fermé par un opercule (**d'où le nom d'*Eucalyptus* du grec *eu* = bien et *kaluptos* = couvert**) formé par la fusion des pétales et/ou des sépales.

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge.

Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol.

De nombreux *Eucalyptus* sont utilisés dans le monde pour produire du bois de service: poteaux, bois de mine, bois de feu, perches, bois de construction.

II.4. L'espèce *Eucalyptus globulus* L**II.4.1. Description botanique de l'espèce**

L'Eucalyptus globulus, Labillard est un grand arbre des forêts de l'Australie, remarquable par la rapidité de sa croissance, l'aspect tout particulier de son feuillage et la beauté de son bois, qui est incorruptible. Il fut découvert par Labillardière au cap Van-Diemen (1792). Il appartient à l'icosandrie monogynie du système artificiel de Linné au genre *Eucalyptus* de (L'héritier) à la famille des Myrtacées, et à la tribu des Leptospermées (de Candolle), tribu de la même famille. Le nom spécifique (*globulus*) lui a été donné par Labillardière, à cause de l'analogie qu'il y aurait entre la forme de son fruit et celle de certains boutons de chemise. C'est un arbre qui atteint communément à l'âge adulte 30à35mètre de hauteur, dans la région méditerranéenne il peut atteindre 100m dans les climats qui lui sont plus favorable (Taillotte, 1872).

La partie du tronc est dépouillée est lisse et cendrée, recouvert d'un écorce fine ou périderme qui s'exfolie (se détache) en longs lambeaux. Il possède des anfractuosités dans lesquelles on peut recueillir de la gomme dite « Kino », dont la couleur varie de rouge sang au rouge sombre.

Les rameaux jeunes qui supportent les feuilles jeunes sont des tiges quadrangulaires ailées, elles sont pruiteuses a leur surface (recouverte d'un enduit d'aspect cireux).ses rameaux adultes sont des tiges cylindriques, leur surface est pratiquement dépourvue de pruine.

Les racines de l'*Eucalyptus globulus* s'étendent assez horizontalement dans le sol et sont plutôt traçantes que pivotantes.

Les feuilles sont nombreuses, persistantes et de deux sortes essentiellement différentes. Quand le végétal est jeune, elles sont opposées et sessiles ; quand il est adulte, alternes et longuement pétiolées.

Les fleurs sont axillaires, sessiles, au nombre d'une à trois sur un pédoncule commun très-large. Avant leur épanouissement, elles sont formées d'un bouton quadrangulaire pruiteux et verruqueux. Elle est composée d'un calice tout particulier, qu'on peut considérer comme formé de deux pièces, l'une inférieure, l'autre supérieure.



Figure. II.3. Dessin des feuilles, fleurs et fruits d'*Eucalyptus* (Kesbi, 2011).

Les étamines sont très-nombreuses, de couleur jaune pâle ou légèrement rosée, libres, pèrigynes et insérées sur un disque qui borde la gorge du calice, et qui forme une espèce de coussin au-dessus de l'ovaire.

Le fruit est une capsule glauque, turbinée, très-aromatique, adhérente au tube du calice, qui est persistant. Dans son passage à l'état de fruit, l'ovaire, par son accroissement, efface peu à peu le disque qui borde la gorge du calice, et fait subir à ses angles une augmentation sensible.

Les graines sont à placentation axile, et en grand nombre. Elles sont petites, dépourvues d'endosperme. Elles sont fertiles ou stériles (Taillotte, 1872).



Feuilles jeunes



Feuille âgées

Figure .II.4. Feuilles jeunes et âgées d'*Eucalyptus globulus* (Anonyme, 2008)

II.4.2. La place dans la systématique selon Cronquist (1981)

Règne : plantae

Sous règne : Tracheobiota

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Eucalyptus*

Espèce : *Eucalyptus globulus* Labill

II.4.4. Ecologie de l'espèce

L'*Eucalyptus globulus* est espèce dominante ou sous dominante dans les forêts sclérophylles humides et tempérées.

On le trouve rarement en vastes peuplements purs, étant généralement associé d'autres espèce d'*Eucalyptus*.

Dans certaines zones, il se trouve étroitement assujettie à une gamme restreinte d'habitats de sorte qu'il en résulte la formation d'une mosaïque composé de peuplement locaux d'*E.globulus* séparés par des peuplements d'espèces occupant des habitats différents (Anonyme, 2006).

Dans les parties les plus fraîches de son aire de répartition, cet *Eucalyptus* se rencontre dans les régions vallonnées au voisinage des côtes, mais dans les parties chaudes on le trouve dans les vallées humides des régions montagneuses. Il vient le mieux dans les sols moyennement profonds, bien drainés.

II.5. Propriétés thérapeutiques d'*Eucalyptus globulus*

L'HE d'*Eucalyptus globulus* est un antiseptique des voies respiratoires, expectorant, analgésique (Duraffourd, 1997) en usage interne et externe, décongestionnant, hypoglycémiant, une action détoxifiante des toxines diphtérique et tétanique, antimicrobien sur les bactéries Gram +, antifongique, anti-inflammatoire, améliore les épreuves fonctionnelles respiratoires, mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge, tropisme broncho-pulmonaire très marqué, asséchante en forte proportion.

Les propriétés médicinales de l'*Eucalyptus* sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. Le 1,8-cinéole que contient l'*Eucalyptus* s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme (Juergenset et al. ,2003) et pour combattre le rhume (Tesche, 2008 ; Kehrl et al., 2008).

III.1. Présentation de la zone d'étude

III.1.1. Cadre régional

La forêt périurbaine de Harouza est située à la périphérie Nord de la ville de Tizi-Ouzou (figure III.2). Située au Nord-est de l'Algérie, elle se caractérise essentiellement par son relief montagneux accidenté et escarpé. Les pentes sont souvent supérieures à 25% avec des versants abrupts.

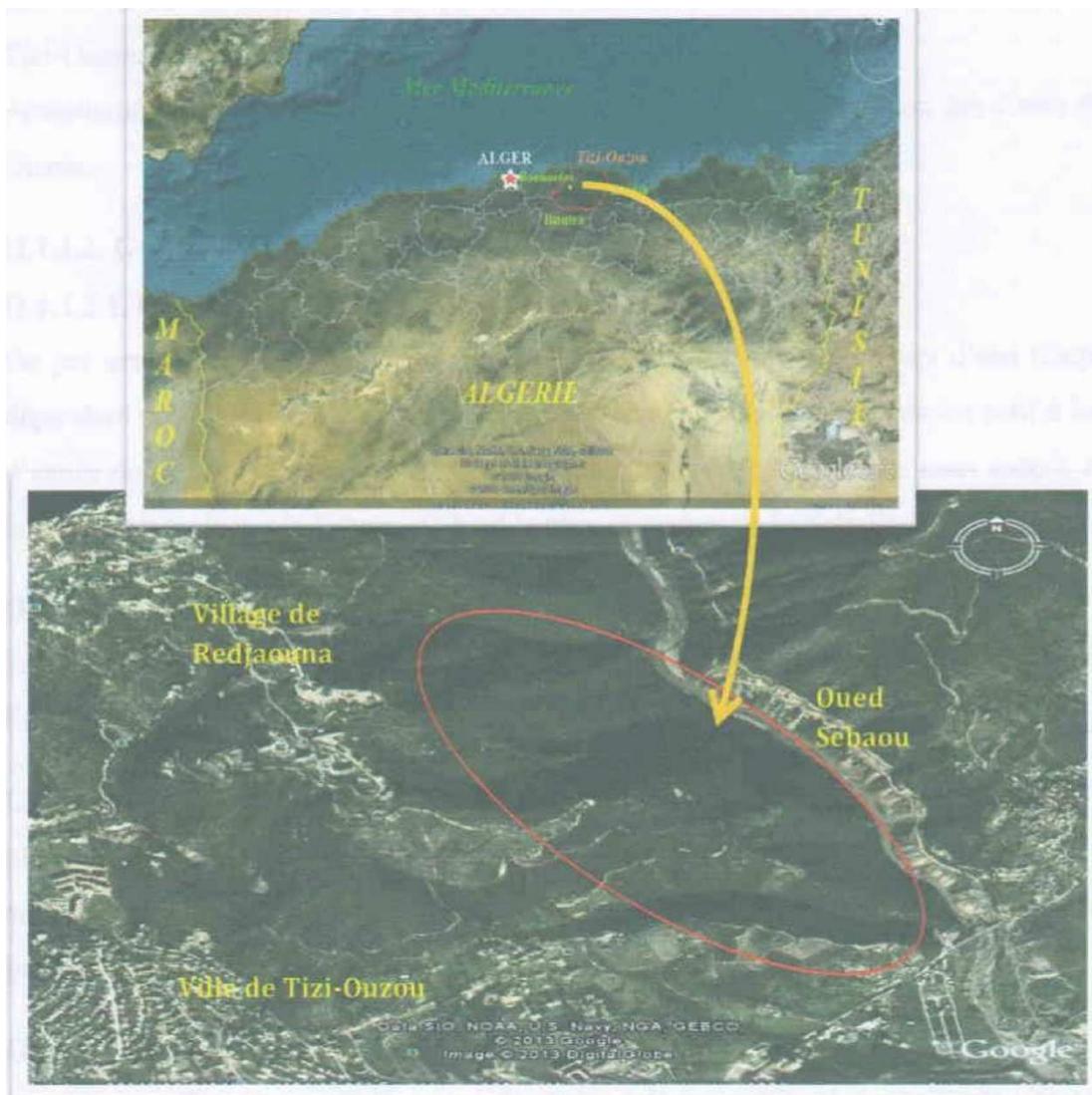


Figure III .1. Situation géographique de la forêt de Harouza : Cadre régional et cadre local (Image satellitaire Google earth, 2013) .

III.1.2.Cadre local

La forêt de Harouza s'étale sur une superficie équivalente à 250 ha, son altitude va de 60 à 500 m (Larbi, 2000). Elle est limitée au Nord et à l'Est par l'Oued SEBAOU, au Sud par la ville de Tizi-Ouzou, et à l'Ouest par le chemin de willaya reliant Tizi-Ouzou au village de Redjaoua.

III.1.3.Géomorphologie**III.1.3.1.Le réseau hydrographique**

De par son relief, la forêt de Harouza présente une multitude de cours d'eau temporaires dépendant principalement du régime pluviométrique. Un seul cours d'eau est actif a longueur d'années dont la qualité de l'eau est déclarée (déversements des eaux usés). A l'Est, la forêt est bordée par le Sebaou, l'Ouest le plus important de la Kabylie.

III.1.3.2.Relief et topographie

Le massif forestier de Harouza se trouve sur la montagne du Belloua. Celle – ci s'allonge de l'Ouest à l'Est sur 6,5 km et d'une largeur moyenne d'environ 2,5 km

L'altitude du massif forestier de Harouza varie entre d'environ 60m à plus de 500m, dont la plus basse est sur la rive de Sebaou (pont de bougie) et la plus haute est la limite de la forêt sur la route de Redjaoua. Cette variation procure à la forêt un relief très accidenté avec des pentes excédant 40% en certains endroits (Larbi, 2000).

III.1.4.Présentation de la végétation de la zone d'étude**III.1.4.1.La végétation naturelle**

La forêt de Harouza est occupée par différents types de végétation. Nous avons des parcelles occupées par une végétation naturelle très dense, généralement dominée par : *Quercus suber* et *Olea europea* « oleaster » dont les hauteurs peuvent atteindre les 7m.

III.1.4.2.Espèces introduite (Reboisement)

Plusieurs reboisements ont été exécutés dans cette forêt et à différentes époques, dont les premiers datent du début des années cinquante pendant la période coloniale. Les principales espèces utilisées sont :

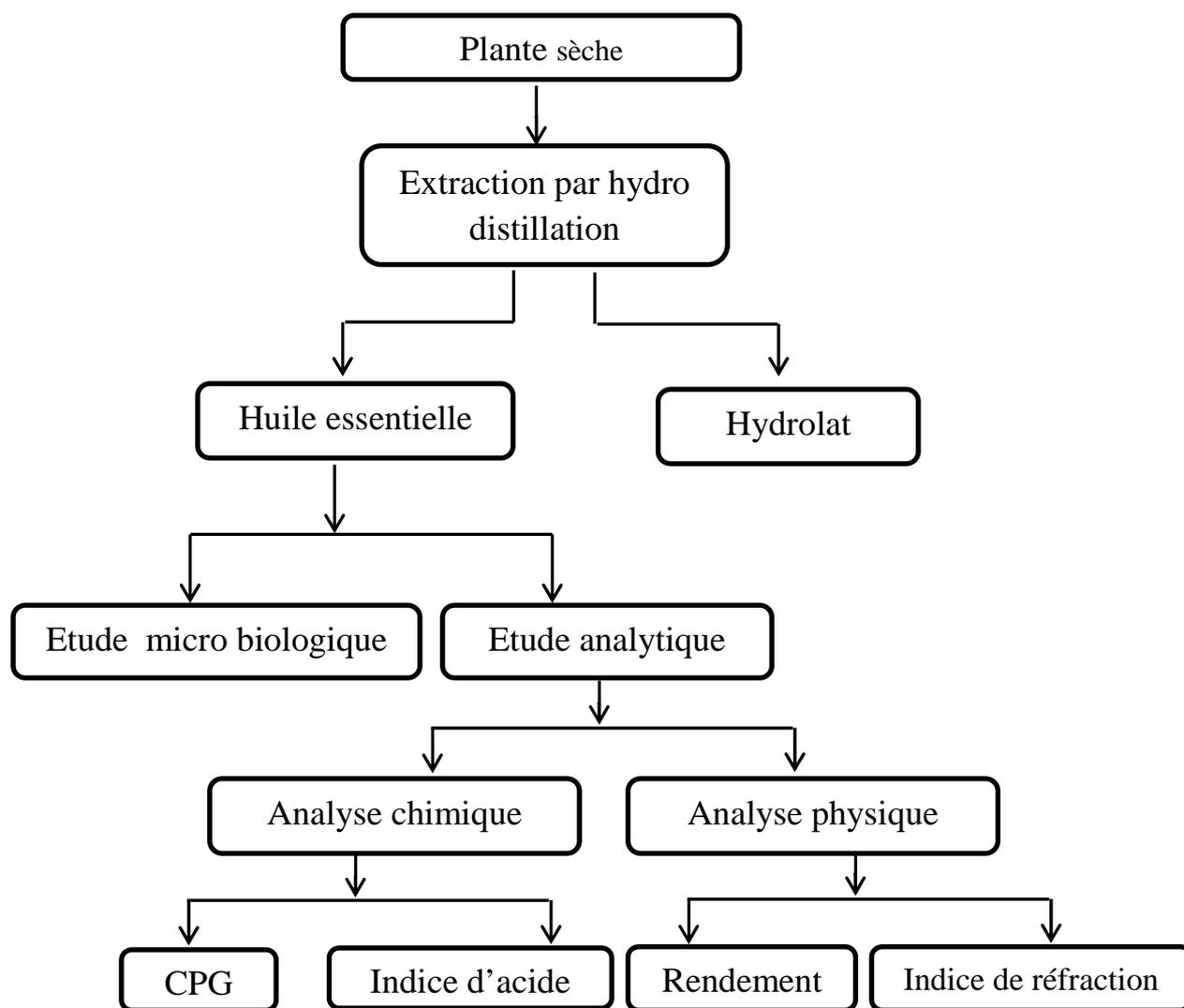
*Eucalyptus maideni**Eucalyptus globulus**Eucalyptus viminalis**Eucalyptus eburnea**Eucalyptus camaldulensis**Eucalyptus cladocalyx**Eucalyptus gomphocephala**Eucalyptus ovata**Eucalyptus meliodora Celtisaustralis**Eucalyptus umbellata**Eucalyptus sempervirens**Eucalyptus sideroxylon**Eucalyptus bicostata*

III.2.Méthodes d'approche

L'objectif de ce travail est de comparer la cinétique des rendements et la composition en huiles essentielle entre les feuilles jeunes et les feuilles adultes d'*Eucalyptus globulus*.

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé par la figure

III.2



>

Figure III.2. Schéma général de la procédure expérimentale

III.3.Extraction des huiles essentielles

III. 3.1. Matériel végétal

Ce travail concerne les feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltées au niveau de la forêt de Harouza (commune de Tizi-Ouzou).

Les échantillons sont constitués de feuilles jeunes et de feuilles adultes récoltées sur versant Nord et Sud, l'échantillonnage des feuilles jeunes et des feuilles adultes sur les deux versants a été fait d'une manière aléatoire au mois de mars pendant une journée très ensoleillée.

Le matériel biologique est séché à l'abri de la lumière et à température ambiante au laboratoire pendant au moins 6 jours, puis ce dernier a subi une hydro distillation à l'aide d'un extracteur de type « Clevenger modifier ».

III.3.2. Matériel de laboratoire

L'étude est réalisée dans le laboratoire protection des végétaux au niveau du département de biologie sur un montage de type « Clevenger modifier ». Ce montage se compose de différentes parties principales :

- Le réacteur : est constitué d'un ballon dans lequel on introduit la matière végétale et l'eau
- Chauffe –ballon : est un appareil électrique qui permet de chauffer le ballon
- Le tube réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs
- L'extraction nécessite aussi l'emploi des tubes et des ampoules à décanter.



Figure III.3. Dispositif de l'hydro distillation (photo originelle, 2016)



Figure III.4. Les ampoules utilisées pour la décantation du distillat (photo originale, 2016)

III.3.2.1. Réactifs utilisés

Le solvant d'extraction utilisé est l'éther di éthylique et le sulfate de sodium anhydre (Mg SO_4).

III.3.2.2. Mode opératoire

50g de feuilles séchées d'*Eucalyptus globulus* sont découpées en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon de 1l rempli d'eau. Le tout est ensuite chauffé dans le chauffe ballon jusqu'à ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatiles. Cette vapeur s'élève et passe dans le tube réfrigérant qui est constamment refroidi à une température comprise entre 15°C et 18°C. Les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielles + eau) qui seront séparées par extraction liquide-liquide (décantation) au moyen d'un solvant organique (10ml de l'éther di éthylique). L'huile essentielle primaire récupérée est mélangée à l'éther di éthylique (phase organique) pour éliminer toute trace d'eau. La phase organique est séchée sur une surface de sulfate de sodium anhydre. Après évaporation de l'éther l'huile finale obtenue est pesée pour le calcul de rendement puis conservée dans des flacons hermétiques pour les analyses physico-chimiques. L'huile essentielle est collectée à 5mn, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 et enfin 180mn. Trois essais ont été réalisés pour chaque type de feuilles et type de versants.

Les conditions opératoires liées à l'hydro distillation de chaque type de feuilles sont regroupées dans le tableau :

Tableau III.1 : condition opératoire de l'hydro distillation

Quantité de matière végétale sèche (gr)	50
Quantité de l'eau (litre)	1
Température max (°C)	100
Temps d'hydro distillation (heure)	3

III.3.2.3. Calcul de rendement

Selon la norme AFNOR(2000) le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction(M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage et il est donné par la formule suivante

$$\text{RHE}(\%) = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle

M' : masse d'huile essentielle en gramme

M : masse de la matière végétale utilisé en gramme

III.3.2.4. Etude de la cinétique du rendement

La cinétique de rendement est le suivi de l'évolution de la quantité d'huile essentielle extraite par l'hydro-distillation d'une masse végétale en fonction du temps.

Nous avons procédé à l'étude des cinétiques de rendement pour différentes types de feuilles d'*Eucalyptus globulus*.

Après décantation l'huile essentielle est récupérée dans des erlens a différents pointages du temps .Le contenu de chaque erlens est versé dans un tube à essai préalablement pesé pour déterminer le poids du tube vide (PTv) et par la suite les tubes sont de nouveau

pesés pour déterminer le poids des tubes pleins (PTp) et nous déduisons le poids de l'huile essentielle.

Notons au passage que trois essais ont été effectués pour chaque types de feuilles d'Eucalyptus et ce sont les moyennes des essais qui ont été prises en compte pour tracer les courbes des cinétiques traduisant les rendements en huiles essentielles des déférentes types de feuilles étudiées en fonction du temps.

III.4.Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*

Les déférentes mesures effectuées sur les huiles essentielles fraîchement distillées donnent les résultats d'une constance très utile pour vérifier leur qualité, ainsi que pour déterminer leur pouvoir thérapeutique.

Après l'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* on a fait les analyses suivantes :

- indice d'acide
- indice de réfraction
- analyse chromatographique

III.4.1.Indice d'acide (IA)

L'indice d'acide d'une huile essentielle est défini comme étant le nombre de milligramme de potassium (KOH) nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle (AFNOR, 2000).

III.4.1.1.Réactifs chimique nécessaires

- Ethanol à 99%
- hydroxyde de potassium : on prépare une solution de 0.1N dans l'éthanol
- phénophtaléine : 1g de phénophtaléine complété avec l'éthanol jusqu'un 100ml

III.4.1.2.Mode opératoire:

Nous avons Introduit 0.5g de l'échantillon d'huile essentielle d'Eucalyptus dans un bécher propre et sec et nous avons ajouté 1 ml d'éthanol neutraliser avec la pipette et 2 gouttes de phénolphtaléine puis neutraliser la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à l'aide de la burette pendent quelques secondes.si la couleur de la solution a

varié on arrête le titrage. En fin de titrage nous avons lis le volume de m_{KOH} consommé pour le calcul de l'indice d'acide à l'aide de la relation suivante :

$$\text{IA} = V \times C \times (56.11 / M)$$

IA: indices d'acide

V : volume de KOH utilisé (ml)

C : concentration exacte, en moles par litre de solution de KOH

M : masse de la prise d'essai

III.4.2.Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une matière, est un nombre qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière, à ralentir et à dévier la lumière. L'indice de réfraction d'une matière (souvent noté n) est le rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide ($C = 299\,792\,458$ km/s) et la vitesse de la lumière dans le corps transparent (V). $n = C/V$. L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière est ralenti, plus la matière à un indice de réfraction élevé.

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre à la température de laboratoire puis ramenés à 20°C par la formule :

$$N_d = n_t + 0,00045 (T - 20^\circ\text{C}) \quad \text{Où : } N_d: \text{Indice à } 20^\circ\text{C}$$

N_t : Indice à la température de chambre ;

T : Température de mesure.

III.5. L'analyse chromatographique

Les analyses chromatographiques ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Chrompack CP 9002, équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 μm d'épaisseur de film, d'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 280°C et alimenté par un mélange de gaz H_2/air et d'un injecteur splitsplitless réglé à 250°C . Le gaz vecteur est l'azote à 1 ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite de 1/50). La température de la colonne est programmée de 50°C (3mn) à 250°C à raison de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, puis est maintenue à 250°C pendant 10 min.

Méthode de calcul des indices de Kovats : IK

$$IK = 100n + \left[100 \times \frac{Tr(A) - Tr(Cn)}{TrC((n+1)) - Tr(Cn)} \right]$$

Ou :

IK est l'indice de Kovats.

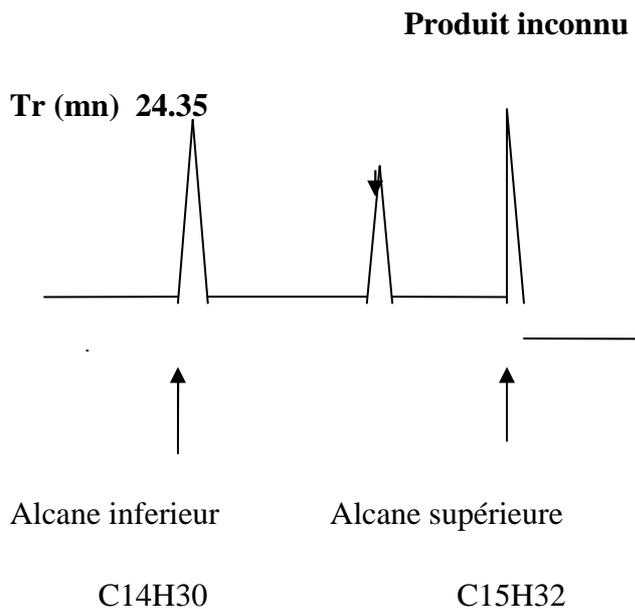
n est le nombre de carbone de l'alcane précédant immédiatement le composé étudié.

Tr(A) est le temps de rétention du composé étudié.

Tr (Cn) est le temps de rétention de l'alcane précédent immédiatement le composé étudié.

Tr C (n+1) est le temps de rétention de l'alcane à n+1 atomes de carbone suivant immédiatement le composé.

Exemple de calcul d'un indice :



Chapitre IV : Résultats et discussion

Nous présentons dans ce chapitre les résultats obtenus lors de cette étude, suivies d'une discussion pour chaque étape étudiée.

IV.1. Caractères organoleptiques de l'huile essentielle

Selon AFNOR (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité inférieure à celle de l'eau.

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, aspect, couleur, odeur sont résumés dans le **IV.1**.

Tableau IV.1. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR	Liquide limpide Fluide et mobile	Jaune très pâle à transparent	Fraiche et épicée
Notre huile	Liquide limpide	Jaune à jaune pâle	Fraiche et épicée

IV.2. Cinétique du rendement d'extraction

Dans le but d'optimiser la durée d'extraction, nous avons étudié la cinétique du rendement en HE d'*Eucalyptus globulus*. De ce fait, trois essais ont été effectués sur chaque type de feuilles.

IV.2.1. La cinétique du rendement des feuilles âgées du versant nord

Les résultats de calcul des rendements obtenus lors de l'extraction de l'HE à partir des feuilles âgées (versant nord) pendant 3 h sont regroupés dans les tableaux (**IV.2**, **IV.3**, **IV.4**, **IV.5**) et représentés par la figure (**IV.1**).

Tableau IV.2:Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d'*Eucalyptus globulus* (essai n°1)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	18,403	21,187	2,784	2,784	5,568
10	19,158	19,933	0,775	3,559	7,118
15	28,471	28,596	0,125	3,684	7,368
30	18,993	19,613	0,62	4,304	8,608
45	26,449	26,928	0,479	4,783	9,566
60	19,082	19,548	0,466	5,249	10,498
90	36,092	36,5	0,408	5,657	11,314
120	53,347	53,693	0,346	6,003	12,006
150	52,696	53,151	0,455	6,458	12,916
180	32,92	33,095	0,175	6,633	13,266

Tableau IV.3: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d'*Eucalyptus globulus* (essai n°2)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	18,403	21,187	2,784	2,784	5,568
10	19,158	19,636	0,478	3,262	6,524
15	19,082	19,269	0,187	3,449	6,898
30	18,993	19,428	0,435	3,884	7,768
45	26,449	26,99	0,541	4,425	8,85
60	19,082	19,152	0,07	4,495	8,99
90	36,092	36,31	0,218	4,713	9,426
120	53,347	53,492	0,145	4,858	9,716
150	52,696	52,883	0,187	5,045	10,09
80	32,92	33,078	0,158	5,203	10,406

Tableau IV.4: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d'*eucalyptus globulus* (essai n°3)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	18,403	18,822	2,304	2,304	4,608
10	19,158	19,448	0,886	3,19	6,381
15	19,082	19,328	0,152	3,342	6,684
30	18,993	19,286	0,402	3,744	7,488
45	26,449	26,969	0,676	4,42	8,84
60	19,082	19,31	0,57	4,99	9,98
90	36,092	36,407	0,094	5,084	10,168
120	53,347	53,513	0,016	5,1	10,2
150	52,696	52,782	0,026	5,126	10,252
180	32,92	33,07	0,302	5,428	10,856

Tableau IV.5: Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant Nord) d'*Eucalyptus globulus*

Temps (min)	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	R Moyen (%)	Ecart type	CV (%)
0	0	0	0	0	0	
5	5,568	5,568	4,609	5,248	0,553	10,549
10	7,118	6,524	6,381	6,674	0,390	5,855
15	7,368	6,898	6,684	6,983	0,349	5,010
30	8,608	7,768	7,488	7,954	0,582	7,327
45	9,566	8,85	8,84	9,085	0,416	4,582
60	10,498	8,99	9,98	9,822	0,766	7,800
90	11,314	9,426	10,168	10,302	0,951	9,232
120	12,006	9,716	10,2	10,640	1,206	11,342
150	12,916	10,09	10,252	11,086	1,586	14,314
180	13,266	10,406	10,856	11,509	1,537	13,361

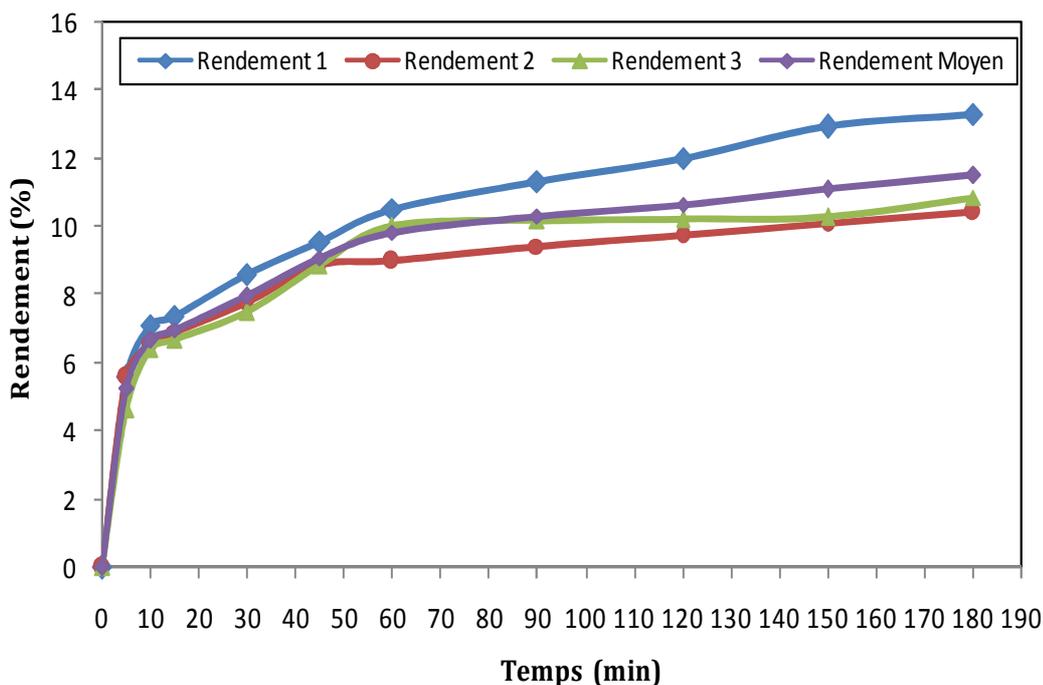


Figure IV.1. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles âgées (versant nord) d'*Eucalyptus globulus* en fonction de la durée d'extraction pour les trois essais.

Interprétation

D'après la figure **IV.1**, nous constatons que l'évolution du rendement en huile essentielle des feuilles âgées (versant nord) se corrèle significativement avec l'évolution du temps de l'hydro distillation. Il ressort trois étapes dans l'évolution des rendements en huile essentielle au niveau de la figure (IV.1).

- La première étape : durant cette étape qui correspond à 5 minutes à partir du début d'ébullition nous constatons un très fort rendement en huile essentielle qui se traduit avec presque 6% en moyenne.
- La deuxième étape : à partir de 5 min à 120 min, nous observons aussi une augmentation du rendement moins important que la première étape
- La troisième étape 120 min - 180 min : phase pendant laquelle l'augmentation du rendement tend à se stabiliser pour former un palier.

IV.2.2. La cinétique du rendement des feuilles âgées du versant sud

Les résultats de calcul des rendements obtenus lors de l'extraction de l'HE à partir des feuilles âgées (versant sud) pendant 3h sont regroupées dans les tableaux (**IV.6**, **IV.7**, **IV.8**, **IV.9**) est représentés par la figure (**IV.2**).

Tableau IV.6.Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d'*Eucalyptus globulus* (essai 1)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	29,045	0,576	0,576	1,152
10	19,124	19,451	0,327	0,903	1,806
15	19,091	19,303	0,212	1,115	2,23
30	19,017	19,286	0,269	1,384	2,768
45	26,451	26,803	0,352	1,736	3,472
60	18,455	18,722	0,267	2,003	4,006
90	36,128	36,383	0,255	2,258	4,516
120	53,535	53,562	0,027	2,285	4,57
150	52,831	52,846	0,015	2,3	4,6
180	33,004	33,042	0,038	2,338	4,676

Tableau IV.7.Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d'*Eucalyptus globulus* (essai2)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	29,063	0,594	0,594	1,188
10	19,124	19,538	0,414	1,008	2,016
15	19,091	19,609	0,518	1,526	3,052
30	19,017	19,304	0,287	1,813	3,626
45	26,451	26,925	0,292	2,105	4,21
60	18,455	19,696	0,011	2,116	4,232
90	36,128	36,382	0,152	2,268	4,536
120	53,535	53,708	0,208	2,476	4,952
150	52,831	52,977	0,073	2,549	5,098
180	33,004	33,148	0,072	2,621	5,242

Tableau IV.8.Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d'*Eucalyptus globulus* (essai3)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	28,944	0,475	0,475	0,95
10	19,124	19,613	0,489	0,964	1,928
15	19,091	19,326	0,235	1,199	2,398
30	19,017	19,226	0,209	1,408	2,816
45	26,451	26,711	0,26	1,668	3,336
60	18,455	18,692	0,237	1,905	3,81
90	36,128	36,35	0,222	2,127	4,254
120	53,535	53,726	0,191	2,318	4,636
150	52,831	52,997	0,166	2,484	4,968
180	33,004	33,12	0,116	2,6	5,2

Tableau: IV.9 .Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles adultes (versant sud) d'*Eucalyptus globulus*

Temps (min)	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	R Moyen (%)	Ecart type	CV (%)
0	0	0	0	0	0	
5	1,152	1,188	0,95	1,096	0,128	11,697
10	1,806	2,016	1,928	1,916	0,105	5,502
15	2,23	3,052	2,398	2,56	0,434	16,964
30	2,768	3,626	2,816	3,07	0,482	15,705
45	3,472	4,21	3,336	3,672	0,470	12,805
60	4,006	4,232	3,81	4,016	0,211	5,258
90	4,516	4,536	4,254	4,435	0,157	3,547
120	4,57	4,952	4,636	4,719	0,204	4,326
150	4,6	5,098	4,968	4,888	0,258	5,283
180	4,676	5,242	5,2	5,039	0,315	6,257

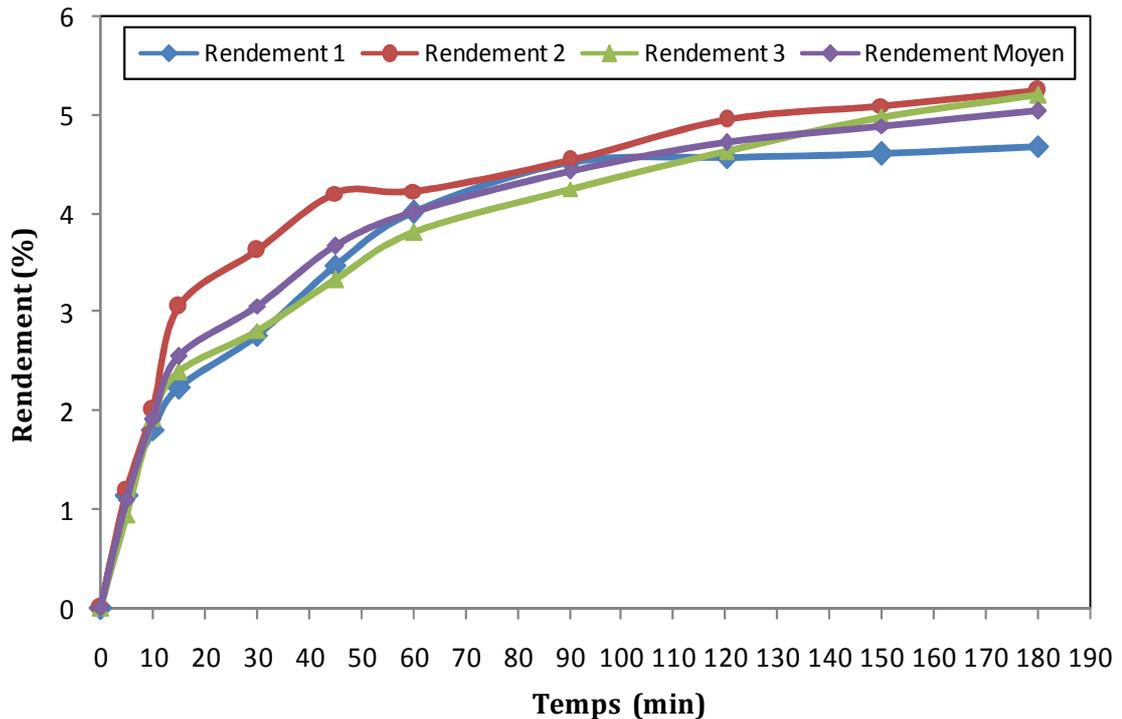


Figure IV.2. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles âgées (versant sud) d'*Eucalyptus globulus* en fonction de la durée d'extraction.

Interprétation

Nous constatons à partir de la figure IV. 2 que cette cinétique peut être divisée en deux parties :

- La première partie de $t=5$ min à $t= 120$ min, où nous observons une évolution significative des rendements
- La deuxième partie de $t= 120$ min à 180min, la courbe tend vers un palier qui correspond au rendement maximum.

IV.2.3. La cinétique du rendement des feuilles jeunes du versant nord

Les résultats de calcul des rendements obtenus lors de l'extraction de l'HE à partir des feuilles jeunes du versant nord pendant 3h sont regroupés dans des tableaux (IV.10, IV.11, IV.12, IV.13) est représentés par le graphe (IV. 3).

Tableau IV.10. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus* (essai1)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	30,186	0,717	0,717	1,434
10	19,124	20,073	0,449	1,166	2,332
15	19,091	20,02	0,429	1,595	3,19
30	19,017	19,936	0,445	2,04	4,08
45	26,452	27,452	0,174	2,214	4,428
60	18,455	19,343	0,188	2,402	4,804
90	36,128	36,845	0,198	2,6	5,2
120	53,535	54,135	0,619	3,219	6,438
150	52,831	53,462	0,131	3,35	6,7
180	33,004	33,157	0,05	3,4	6,8

Tableau IV.11. Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus* (essai2)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	28,924	0,455	0,455	0,91
10	19,124	19,435	0,311	0,766	1,532
15	19,091	19,254	0,163	0,929	1,858
30	19,017	19,243	0,226	1,155	2,31
45	26,452	26,801	0,349	1,504	3,008
60	18,455	19,082	0,627	2,131	4,262
90	36,128	36,483	0,355	2,486	4,972
120	53,535	53,652	0,117	2,603	5,206
150	52,831	53,001	0,17	2,773	5,546
180	33,004	33,372	0,368	3,141	6,282

Tableau IV.12.Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus* (essai3)

Temps (min)	Tube vide (mg)	Tube plein (mg)	masse d'HE (mg)	Masse d'HE cumulée (mg)	Rendement (%)
0	0	0	0	0	0
5	28,469	29,085	0,616	0,616	1,232
10	19,124	19,429	0,305	0,921	1,842
15	19,091	19,292	0,201	1,122	2,244
30	19,017	19,482	0,465	1,587	3,174
45	26,452	26,682	0,23	1,817	3,634
60	18,455	18,723	0,268	2,085	4,17
90	36,128	36,404	0,276	2,361	4,722
120	53,535	53,619	0,084	2,445	4,89
150	52,831	53,046	0,215	2,66	5,32
180	33,004	33,217	0,213	2,873	5,746

Tableau IV.13.Résultat de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus*

Temps (min)	R1 (%)	R2 (%)	R3 (%)	R Moyen (%)	Ecart type	CV (%)
0	0	0	0	0	0	
5	1,434	0,91	1,232	1,192	0,264	22,171
10	2,332	1,532	1,842	1,902	0,403	21,207
15	3,19	1,858	2,244	2,430	0,685	28,195
30	4,08	2,31	3,174	3,188	0,885	27,762
45	4,428	3,008	3,634	3,69	0,711	19,286
60	4,804	4,262	4,17	4,412	0,342	7,7648
90	5,2	4,972	4,722	4,964	0,239	4,815
120	6,438	5,206	4,89	5,511	0,817	14,840
150	6,7	5,546	5,32	5,855	0,740	12,641
180	6,8	6,282	5,746	6,276	0,527	8,397

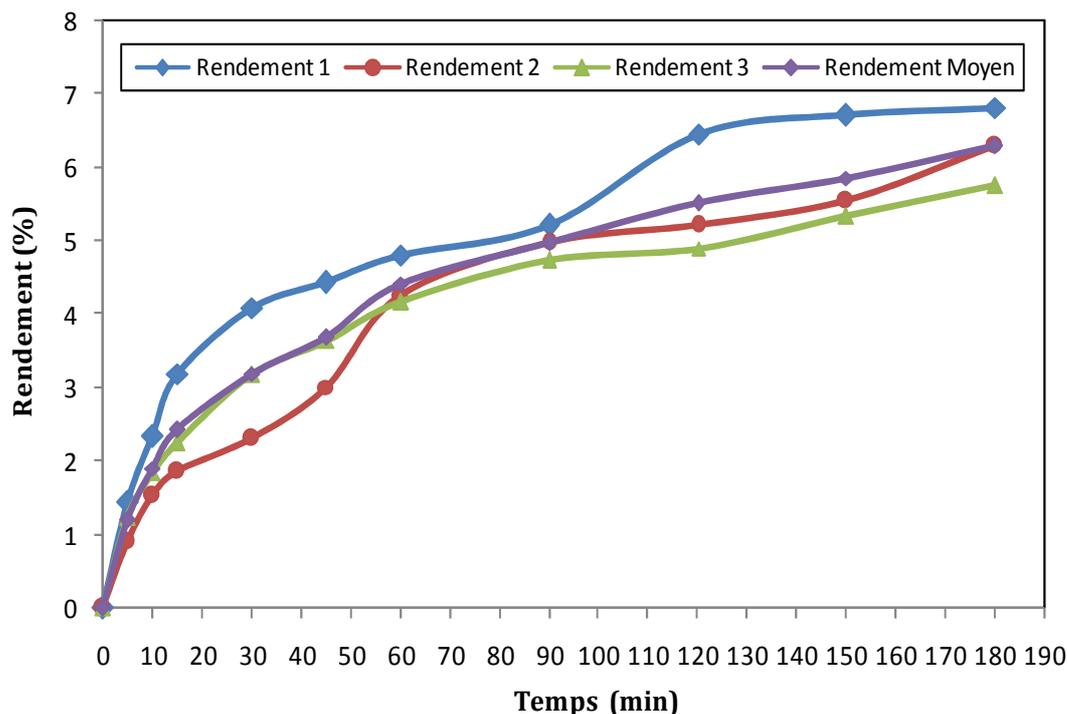


Figure IV.3. Evolution du rendement en huile essentielle des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus* en fonction de la durée d'extraction.

Interprétation

D'après la figure IV. 3, nous constatons que l'évolution des rendements en huile essentielle augmente en fonction de la durée d'extraction.

Il ressort une seule étape de $t = 5 \text{ min}$ à $t = 180 \text{ min}$, durant cette étape nous observons une évolution constante du rendement pour atteindre son maximum à 180 min.

IV .3. Synthèse des résultats

La cinétique d'extraction de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus* indique que le rendement augmente en fonction du temps puis il se stabilise . Ceci peut être expliqué par une évaluation brutale et soudaine de la température qui conduit à la destruction des structures cellulaires.

La durée d'extraction est théoriquement le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. En pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment où nous observons plus de l'huile dans le distillat.

Les résultats présentés dans les tableaux(**IV.1** à **IV.10**) et les figures (**IV.1**, **IV.2**, **IV.3**) montrent que pour une durée de traitement de 180 min, nous avons pu atteindre le palier traduisant la fin de l' extraction, de ce fait nous pouvons dire que l' essentiel de l' HE est extraite lors des 3 premières heures de traitement, et il ne serait économiquement pas avantageux de prolonger l' extraction dans ces conditions au-delà de 3 heures.

Cette durée d'extraction est conforme à celle rapporté par différents auteurs pouvant s'étendre de 3 à 5 heures (Ramaneolina, 1992).

IV.4. Comparaison des rendements

La comparaison du rendement en huiles essentielles des trois essais réalisées sur les trois types de feuilles d'*Eucalyptus globulus* (feuilles jeunes, âgées versant nord et âgées versant sud) est présentée dans le tableau (**IV.14**) et la figure (**IV. 4**) :

Tableau IV.14.Résultats de la cinétique d'extraction des huiles essentielles des feuilles jeunes et des feuilles âgées (versant nord et versant sud)

Temps (min)	R1 FA (VN)	R1 FA (VS)	R1 FJ	R2 FA (VN)	R2 FA (VS)	R2 FJ	R3 FA (VN)	R3 FA VS	R3 FJ
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	5,568	1,152	1,434	5,568	1,118	0,91	4,609	0,95	1,232
10	7,118	1,806	3,332	6,524	2,016	1,532	6,381	1,928	1,842
15	7,368	2,23	3,19	6,898	3,052	1,858	6,685	2,398	2,244
30	8,608	2,768	4,08	7,768	3,626	2,31	7,488	2,816	3,174
45	9,566	3,472	5,028	8,85	4,574	3,008	8,84	3,336	3,634
60	10,498	4,006	4,804	8,99	4,233	4,262	9,98	3,81	4,17
90	11,314	4,516	5,2	9,426	4,538	4,972	10,168	4,254	4,722
120	12,006	4,57	6,432	9,716	4,955	5,206	10,2	4,636	4,89
150	12,916	4,6	6,7	10,09	5,101	5,546	10,252	4,968	5,32
180	13,266	4,676	6,006	10,406	5,245	6,282	10,856	5,2	5,746

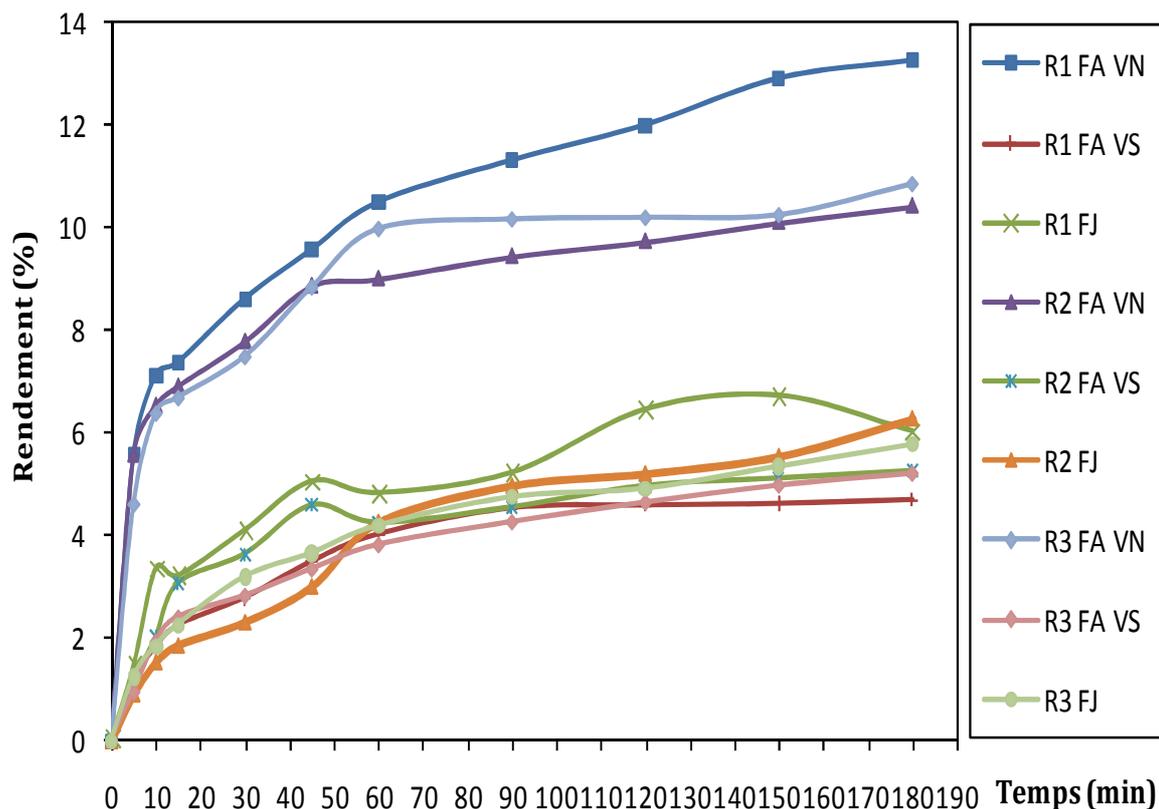


Figure IV.4 .Rendement en huile essentielle des feuilles jeunes et des feuilles âgées (versant nord et versant sud) d'*Eucalyptus globulus*.

D'après la figure IV.4, nous constatons que les feuilles âgées d'*Eucalyptus globulus* du versant nord présentent un rendement plus élevé en huile essentielle que les feuilles jeunes du versant nord et les feuilles âgées du versant sud avec un rendement moyen de 11.50%. Donc cette espèce peut constituer une source importante d'huile essentielle.

Les résultats des feuilles jeunes et feuilles adultes du versant sud sont presque identique.

Les variations importantes observées entre le rendement en huile essentielle des feuilles jeunes et adultes du versant nord sont probablement attribuer à la différence de l'âge des feuilles (Suigar ,1981 ; Juergens, 2003) et le temps d'extraction des huiles essentielles.

Les différences existantes entre les rendements d'extraction obtenus par les feuilles âgées de la même espèce sont probablement liées aux facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), géographiques (nature du sol, taux d'exposition au soleil, altitude) entre le versant nord et le versant sud (Sandret, 1967 ; Hajji et al ., 1989).

La lumière stimule aussi la production des huiles essentielles. Des études sur *Mentha piperita* L, ont montré que l'obscurité a diminué le rendement en huiles essentielle de 1.43% à 1.09% (El- Zakhem, 2013).

IV .5. Indices physico – chimiques

Les indices physico- chimiques des huiles essentielles des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont déterminés selon un protocole précis et obéissent à des normes édictées par l'association française de normalisation (AFNOR).

IV.5.1. Indice de réfraction

Pour calculer l'indice de réfraction on utilise la formule suivant:

$$N_d = n_t + 0.0045 (T - 20 \text{ } ^\circ\text{C})$$

➤ Feuilles adultes du versant nord

On a la température $T = 30^\circ\text{C}$ et la lecture dans l'appareille est 1.365

$$\text{Donc: } N_d = 1.356 + 0.0045 (30-20) = 1.401$$

L'indice de réfraction des feuilles de versant nord est 1.401

➤ Feuilles adultes du Versant sud

$$N_d = 1.365 + 0.0045 (30-20) = 1.401$$

L'indice de réfraction des feuilles de versant sud est 1.401

➤ Feuille jeune du versant nord

$$N_d = 1.3465 + 0.0045 (30-20) = 1.3915$$

L'indice de réfraction des feuilles jeunes est 1.3915

IV.5.2. Indice d'acide $IA = V \times C \times (56.11 / M)$

- Feuille adulte du versant nord : $IA = 0.2 \times 0.05 (56.11 / 0.5) = 1.1222$
- Feuilles adulte du versant sud: $IA = 0.4 \times 0.05 (56.11 / 0.5) = 2.2444$
- Feuille jeune du versant nord: $IA = 0.1 \times 0.05 (56.11 / 0.5) = 0.5611$

IV.6. Comparaison avec la norme AFNOR

Après avoir analysé l'indice d'acide et l'indice de réfraction de notre huile, nous voulons faire une comparaison avec les références AFNOR.

Tableau IV.15. Caractéristiques physico-chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

Propriété	Valeur pratique			NORME AFNOR
	F.J	V.N	V.S	
Indice d'acide	0.5611	1.3915	2.244	0.48-3.74
Indice de réfraction	1.122	1.401	1.401	1.460-1.476

- Les valeurs de l'indice de réfraction pour les huiles essentielles des feuilles âgées (versant nord, versant sud) sont conformes à la norme AFNOR.

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Plus l'indice de réfraction est faible, plus le composé est pur, donc plus qu'il est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. (Kanko, 2014).

- Les résultats de l'indice d'acide obtenus est conforme à la norme AFNOR

C'est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acides libres existant dans un l'huile essentielle, ce paramètre peut nous aider à savoir la qualité de notre produit.

L'indice d'acide de notre HE est faible, ce qui prouve que notre huile essentielle est stable et ne provoque pas d'oxydation inquiétante, car l'huile essentielle en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide (De Cliff et Harerimana, 2013).

En fin la détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser l'huile essentielle. Il sera donc primordiale de déterminer le profil chromatographique de l'essence aromatique.

IV.7. Résultats des analyses chromatographiques en phase gazeuse pour les trois types des feuilles (jeunes, âgées versant nord, âgées versant sud)

Dans le but d'identifier les principaux constituants de l'essence d'*Eucalyptus globulus* et d'établir son identité, nous nous sommes recourus à la chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Les résultats des analyses des huiles essentielles sont présentés sous forme de chromatogramme. Le chromatogramme de chaque huile essentielle comporte plusieurs pics (annexes : 2, 3,4).

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* ont révélés la présence de plusieurs composés volatils. Ces composés sont décrits dans le tableau (IV.16).

Tableau IV.16 .Composition chimique des HE de l'*Eucalyptus globulus*

Principaux Composés en % de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>			
Nom des composés	Echant. F.J	Echant. Versant Nord	Echant. VersantSud
α -pinène	2.03 %	Trace	Trace
Camphène	0.01 %	-	-
β -pinène	0.08 %	-	-
Myrcene	0.06 %	-	-
a.phelladrene	0.06 %	-	-
P.Cymene	0.08 %	-	-
1.8 Cinéole (Eucalyptol)	73.32 %	78.76 %	73.33 %
Gamma Terpinène	0.05 %	Trace	-
Terpinolène	0.07 %	-	-
<i>Linalol</i>	0.04 %	0.17 %	-
<i>CompholèneAldehyde</i>	0.08 %	-	-
<i>Bornéol</i>	0.47 %	0.51 %	1.22 %
<i>Terpènene-4-ol</i>	0.72 %	0.53 %	1.23 %
<i>Alpha Terpèneol</i>	2.58 %	1.50 %	0.56 %
<i>Nerol</i>	0.90 %	0.85 %	0.67 %
<i>Acetate de linalyl</i>	0.21 %	-	-
<i>Acetate de Terpènyl</i>	4.19 %	0.96 %	2.47 %
<i>Acetate de Geranyl</i>	0.15 %	-	-
<i>B.Caryophellene</i>	0.10 %	-	-
<i>ALPHA.Humulène</i>	0.15 %	----	-

Interprétation

On remarque dans ce tableau que la composition de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ce diffère d'un échantillon a un autre.

Le composé majoritaire pour les trois échantillons est l'oxyde monoterpénique : 1.8, cinéole avec le pourcentage de 73.32% pour l'huile extraite des feuilles jeunes, 78.76% pour l'huile extraite des feuilles de versant nord et enfin 73.33% pour l'huile extraite des feuilles de versant sud.

La prédominance d'oxyde terpénique 1.8, cinéole est en accord avec les résultats obtenus par la même espèce (*Eucalyptus globulus*) mais qui provient de différentes pays. Ces résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IV.17. Le composé majoritaire des huiles essentielles prélevées des feuilles d'*Eucalyptus globulus* dans différents pays.

Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>			
	Brésil	Maroc	Californie	Argentine
Composé 1.8-cinéole (%)	89.9	82.0	86.7	63.5

La composition chimique des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* prélevées des zones éloignés géographiquement (Brésil, Maroc, Argentine, Californie), est remarquablement riche en 1.8 cinéole, le taux de ce principe actif présent des variations relativement importantes d'un pays à un autre, ou les valeurs oscillent entre 63.5 et 89.9%. C'est pour cela que ce principe actif reste le marqueur spécifique de cette espèce à travers le monde et ce qui offre à ces huiles d'être des produits à chemotype cinéole et qui restent très recommandés par les utilisateurs en industrie pharmaceutique et cosmétique .

Les autres composés constituant notre huile sont minoritaires avec un pourcentage inférieur à 5 %. La majorité de ces composés sont des monoterpènes.

Pour l'HE extraite de feuille jeune, les monoterpènes oxygénés présents dans des proportions moyennes sont : acétate de terpényle et alpha terpinéol qui apportent les meilleurs

contributions avec respectivement des taux de 4.19% et 2.58% contre de très faible pourcentage en terpène. 4-ol 0.72%, bornéol 0.47%, linalol 0.04%.

Ce qui est des monoterpènes hydrocarbonés, c'est α -pinène qui apporte la meilleure contribution avec 2.03%, les autres composés sont présents en faibles quantités : β -pinène, P.cymène avec une proportion de 0.08%, α -phelladrène, Myrcène avec une proportion de 0.06%. Les seuls sesquiterpènes, révélés par l'analyse sont : le B.Caryophellène, α -humulène avec respectivement des taux de 0.10% et 0.15%.

Les seuls monoterpènes hydrocarbonés présents dans les huiles essentielles extraites des feuilles adultes du versant nord sont sous forme de trace : α -pinène et gamma terpinène . Nous avons relevé dans cette analyse, la présence d'un nombre important de monoterpènes oxygénés dans des teneurs faibles tels que : alpha terpinéol (1.50%), acétate de terpinyl (0.96%), terpène.4-ol (0.53%), bornéol (0.51%), linalol (0.17%). Pour les sesquiterpènes aucun composé n'a été identifié dans cette analyse.

Pour les huiles essentielles extraites des feuilles adultes du versant sud sont caractérisés aussi par la dominance des composés monoterpéniques oxygénés mais avec des taux plus élevés que les huiles essentielles du versant nord pour : acétate de terpinyl (2.47%), terpène.4-ol (1.23%), bornéol (1.22%). Les monoterpènes hydrocarbonés présents sous forme de trace avec un seul composé qui est le α -pinène. Pour les sesquiterpènes aucun composé n'a été identifié.

IV.7.1. Comparaison de la composition chimique d'HE d'*Eucalyptus globulus* étudiée avec d'autres espèces de même genre

Après avoir analysé les composés chimiques de notre huile essentielle, nous voulons situer les différences existantes au niveau des composés avec d'autres espèces de même genre. Pour ce faire, une étude a été réalisée par Nait Achour en 2012 concernant les composés chimiques de deux espèces d'*Eucalyptus* à savoir : *E. elaeophora* et *E. camaldulensis* poussant dans la région de Tizi- Ouzou.

IV.7.1.1. Comparaison avec *Eucalyptus elaeophora*

En Comparant la composition de l'HE d'*Eucalyptus globulus* étudiée dans ce travail avec *E. elaeophora*, nous observons des similitudes quantitative avec l'HE extraite à partir des feuilles jeunes d'*Eucalyptus globulus* que nous avons regroupées dans le tableau **IV.18**.

Tableau IV.18 .composé communs à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et celle d'*Eucalyptus elaeophora*

Composé (%)	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Eucalyptus elaeophora</i>
Alpha pinène	2.03	1.56
β-pinène	0.08	0.1
1.8, cinéole	73.32	81.9
P.Cymene	0.08	1.59
Téropène-4-ol	0.72	0.2
Alpha terpinéol	2.58	2.13

A partir de cette comparaison, nous pouvons conclure que les deux HE présentent des chemotypes identiques.

IV.7.2.2 Comparaison avec *Eucalyptus camaldulensis*

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* étudiée dans ce travail présente une composition différente de celle d'*Eucalyptus camaldulensis*. Cette dernière présente un chemotype dominé par spathulenol (41.62%), alors que notre huile présente un chemotype dominé par le 1.8, cinéole. Le tableau **IV.19** regroupe quelques composés communs aux deux huiles essentiels

Tableau IV.19. Teneur des composés communs à l'HE d'*Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus camaldulensis*

Composé (%)	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>
Alpha pinène	2.03	0.35
β-pinène	0.08	0.15
a.phelladrene	0.06	0.66
1.8 Cinéole	73.32	2.23
Gamma Terpinène	0.05	0.29
linalol	0.04	0.81
Terpène-4-ol	0.72	5.18
Alpha Terpinéol	2.58	2.68

IV.8. Discussion

Les résultats des analyses par chromatographie en phase gazeuse ont montré que la composition chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* est variable. Le taux des différents composés terpéniques est variable au sein de la même espèce.

La période de récolte des échantillons est la même, la technique d'extraction des huiles essentielles des trois échantillons est l'hydro distillation.

Nous pensons que cette variabilité entre la composition de l'huile essentielle extraite des feuilles du versant nord et la composition de l'huile essentielle extraite des feuilles du versant sud due aux conditions climatiques et édaphiques des deux versants .

Guignard ,2004 in Hedjal-Chebheb, 2014 signale qu'un climat sec et ensoleillé favorise la formation de nouveaux composés au sein de la même espèce. En effet, selon le même auteur, les facteurs climatiques, la nature du sol et les pratiques culturales sont à l'origine des chemiotypes.

Regnault Roger et *al.*, 2008 in Hedjal-Chebheb, 2014 signalent que pour une espèce donné les proportions des différentes constituants d'une huile essentielle peuvent varier tout au long de son développement , selon les facteurs pédoclimatiques (acidité de sol, chaleur , photopériode et hygrométrie), les facteurs analytiques (les différentes procédés d'obtention

des huiles essentielles interfèrent sur les constituants des extraits) et les facteurs physiologiques (le métabolisme secondaire n'est pas identique à tous les stade de développement).

Zrira 1992 a signalé que l'âge de l'arbre influence aussi sur la composition des huiles essentielles au sein de la même espèce.

Pour la composition des huiles essentielles extraites à partir des feuilles jeunes et adultes de versant nord, la variabilité serait due à l'âge des feuilles ce qui rejoint les travaux de Swuigar, Silverstein, (1981). La divergence observée au niveau de la composition, peut-être la résultante d'une différence des niveaux de biosynthèse des enzymes intervenant dans la formation des monoterpènes. L'implication de facteurs héréditaires dans ce processus n'est pas à exclure, sachant que la composition des HE d'*Eucalyptus* est généralement influencée par des facteurs génétiques (Gilles, 2008).

L'effet thérapeutiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* résident essentiellement dans la concentration élevée en 1.8.cinéole, cet oxyde monoterpénique est connu pour être un bon stimulants glandulaire exocrines, il a la propriété de stimuler les glandes exocrines des muqueuses digestives et respiratoires, Propriétés expectorantes : stimulation des glandes à mucine et stimulation de l'activité cilio-motrice de la muqueuse de l'arbre respiratoire. En effet l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* constituée de nombreuses molécules agissant en synergie. L'eucalyptol est le composé majoritaire mais sont également présent : acétate de terpenyl : esters fortement utilisé comme un antispasmodique, alpha terpinéol : c'est un alcool monterpénique fréquemment employé pour :

- la fabrication de savons, champoing

-un puissant anti-infectieux polyvalent grâce à ses propriétés anti- inflammatoire antibactériennes et anti virales. Et enfin le alpha pinène (antiseptique et décongestionnant).

Conclusion générale

Le travail réalisé nous a permis de déterminer la durée d'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par l'hydro-distillation en trois heures.

Les cinétiques d'extractions des huiles essentielles des feuilles âgées du versant nord d'*Eucalyptus globulus*, nous a permis de constater que le rendement est 11,5%, alors celles des feuilles âgées du versant sud est 5,03%, et celle des feuilles jeunes est 6,27%. Nous concluons d'après ces résultats que les feuilles âgées du versant nord sont plus riches en huiles essentielles.

La détermination des propriétés physico-chimiques (indice de réfraction, indice d'acide) de l'essence recueillie nous a conduit à des valeurs conformes à la norme AFNOR.

Les résultats d'analyse chromatographique de la composition de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sont dominés par 1,8-cinéole qui représente plus de 70% du total, la prédominance de ce monoxyde terpénique est en accord avec les résultats obtenus pour les huiles essentielles de même espèce.

Cette étude montre que le rendement en huile essentielle obtenu est très intéressant sur le plan économique pour d'éventuelle utilisation commerciale, cette opportunité ouvre la voie vers la mise en valeur de la plante et ces dérivés dans le développement économique durable et dans la création de la richesse renouvelable dans notre pays. Elle permet aussi la mise en valeur de l'exploitation des HE dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques en raison de leur composition chimique.

Ces résultats préliminaires peuvent être complétés par d'autres études plus approfondies

- ✚ L'extraction des HEs par d'autres méthodes
- ✚ Effectuer le test antibactérien
- ✚ L'étude de leur activité antifongiques, antivirales
- ✚ Faire des analyses chimiques sur l'hydrolat et son potentiel antibactérien.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

AFNOR., 1980 : Association Française de Normalisation, Tour Europe, Cedex 7 - 92080 Paris.

AFNOR., 2000 : Huiles essentielle. Echantillonnage et méthodes d'analyse monographique relatives aux huiles essentielle (tome 2).

AL MOUSAWI, A.H and AL -NAIB, F.A.G., 1975: Allelopathic effects of Eucalyptus microtheca F .Muell.J. Univ .Kuwait (Sci) 2.59-65.

ANONYME., 2006 : Conservation des ressources génétique. Groupe du travail de L' IUFRO S2.02.2.

ARORA, D.S., KAUR, j., 1999: Antimicrobial activity of spices. Int j Antimicrob Agents; 12, p 257-62.

AUDIGIE C.L., DUPON G. et ZONSGAIN F., 1995 : Principes des méthodes d'analyse biochimique. T1, 2ème ED. Doin, Paris, p. 44.

AUGUSTE TAILLOTTE., 1872 : l'Eucalyptus globulus au point de vue botanique, chimique Et de ses principales applications. Thèse présentée et publiquement soutenue à l'école supérieure de pharmacie de Montpellier. Universitaire de l ère classe, pharmacien de la marine, P10-12.

B

BEUCHAT, L.R., 1976: Sensitivity of Vibrio parahaemolyticus to spices and organic acids. J. Food. Sc., 41, p 899-902.

BELAICHE P., 1979 : Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.

BOUAMER A., BELLAGHIT M.et MOLLAY AMERA.,2004 : Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla.MémoireDES .Unive. Ouargla, p 2-5; 10 ; 19 ; 21-22.

BOUANANE N, BOUSSEHEL N., 2005 : contribution agroécologiqueaux essais d'introduction de la menthe poivré (*Menthe piperata* L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation de ses huiles essentielles en thérapie; mémIng.Univ. Ouargla, p 22-23; 28.

BOUVET, M., 1937 : Histoire de la pharmacie en France des origines à nos jours. Ed. Occitania, Paris, pp 447.

BRUNETON. J ., 1999 : Pharmacognosie «Phytochimie Plantes» médicinales 3eme éd, Tec et Doc, Paris pp 484-540.

BRIAN M.L., 1995: The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem (USA), p.57-148.

BRUNETON j ., 1987 : Eléments de phytochimie et de pharmacognosie. Edition Tec et Doc. Lavoisier. P 526.

BRUNETON J., 1993 : Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2^{ième} éd. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, France.

BURT S., 2004: Essential oils: Their antimicrobial properties and potential applications in foods: A review. Int. J. Food Microbiol, p. 223-253.

BUSTA, F.F., Foegeding, P.M., 1980: Chemical food preservatives. In S. Block. 'Disinfection, sterilization and preservation, p 656-694. Lea and Fibiger Eds, Philadelphia. USA.

BOTINEAUM : Botanique Systématique et Appliquée Des Plantes A Fleurs. Ed. Tec & Doc, Paris, 2010, 1335 Pp.

C

CARNESECCHI, S., SCHNEIDER, Y., CERALINE, J., DURANTON, B., GOSSE, F., SEILER, N. RAUL, F., 2001 : Geraniol, a Component of plant essential oils, inhibits growth and polyamine biosynthesis in human colon cancer cells. J. Phamacol. Exp. Ther. 298 (1): 197-200.

CHARPENTIER, B., 2008: New therapeutic targets for antibodies and recombinant proteins in organ transplantation]. Bull. Académie Natl. Médecine 192, 883–893; discussion 893–894.

CHEMAT F., 2009: Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311 pages. ISBN : 978-81-905771-3-7.

CHEBHEB M., 2014 : Identification des principes actifs des huiles essentielles de quelques résineux et plantes aromatiques de provenance Algérienne et Tunisienne. Etude de leur activité biologique a l'égard d'un insecte ravageurs des graines stockées, *Callosobruchus maculatus*

F.1775 (Coleoptera : Bruchidae).Thèse de doctorat en biologie. Université de Tizi- Ouzou, p35.

CRONQUIST A., 1981.An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ.press. New York .1262 P.

CHOUITAH, O., 2011 : Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de Glycyrrhizaglabra. Thèse de doctorat. Faculté des sciences. Université d'Oran.

D

DAVIDSON P.M., PARISH M.E., 1989: Methods for testing the efficacy of food antimicrobials.Food Technol., 1989. 43: p. 148-155.

DELAQUIS P.J., STANICH K., GIRARD B., MAZZA G., 2002: Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. Int. J. Food Microbiol., p. 101-109.

DESJOBERT J. M., BIANCHINI A.,TOMMY P., COSTA J. ET BERNARDINI A. F. ,1997 : Etude d'huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à lavalorisation des plantes de la flore Corse. Analysis, 25 (6) , p13-16.

DE CLIFF S. etHARERIMANAP.C., 2013 : Extraction de l'huile essentielle complète des fleurs de *Canangaodorata* et la plaine de l'Imbo : vers la vulgarisation d'une nouvelle filière de plantes industrielles au Burundi :Revue de l'université de Burundi , série sciences exactes V : 28, p 1-17.

DE MAACK F. ET SABLIER M.,1994 : Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier: P2614. vol papier n°: TA3. Bases documentaires. Techniques d'analyse.

DURAFFOURD, C., LAPRAZ, J-C., 1997 : Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. Edition Phyto. 2000.

DURVELLE, J.P.,1893 : Fabrication des essences et des parfums : Extraction des essences et des parfums par distillation, par expression et par les dissolvants. J. Fritsch, Paris

F

FAN, J.J., CHEN, J.H., 1999: Inhibition of aflatoxin-producing fungi by welsh onion extracts. *J. Food protection.* 62, p 414-417.

FRANCHOMME P., PENOËL D et JOLLOIS R., 2003 :L'aromathérapie exactement. Ed. Jollois, Bayeux, pp 490.

FRANCE-IDA J., 1998 : Comment s'assurer de la pureté d'une huile essentielle? *Info – essences.* 7, p 1-2.

G

GARNERO, J., 1996 : les huiles essentielles. *Techniques de l'ingénieur*, K 345, Paris.

GHESTEM A., SEGUIN E., PARIS M. ET ORECCHIONI A.M., 2001 : Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.

H

HAMMER K.A., CARSON, C.F., RILEY, T.V., 1999: Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. ApplMicrobiol.*, 86(6), p 985-990.

HARRIS R., 2003: Synergism in the essential oil world. *Int. J. Aromather*, 2003. 12: p. 179-186.

HITOKOTO, H., MOROZOMI, S., WAUKE,T., SAKAI, S., KURATA, H., 1980: Inhibitory effects of spices on growth and growth and toxin production of toxigenic fungi. *App. Env. Microbiol.* 39, p 818-822.

HITOKOTO, H., MOROZOMI, S., WAUKE, T., SAKAI, S., KURATA, H., 1980: Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Appl. Environ. Microbil.*, 39, p 818-822.

HEYWOODV. H., 1996 : les plantes a fleurs : 306 familles de la flore mondiale. ed. nathan, paris336 pp.

HERNANDEZ OCHOA ., 2005 : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un Combine «solvant/actif» d'origine végétale, Institut National Polytechnique de Toulouse, thèse.

J

JUDD W. S., CAMPELL C.-S., KELLOGG E.-A. & STEVENS p. botanique systematique une perspective phylogenetique. ed. deboeckuniversite, paris, 2002,467 pp.

JUERGENS, UR. DETHLEFSEN, U., 2003: Anti-inflammatory activity of a 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir. Med.* 97, p 250, 256.

K

KARATZAS A.K., KETS E.P.W., SMID E.J., BENNIK M.H.J., 2001: The combined action of carvacrol and high hydrostatic pressure on *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.* p. 463-469.

KATO, T., LIJIMA, H., ISHIHARA, K., KANEK, T., HIRAI, K., NAITO, Y., OKUDA, K., 1990: Antibacterial effect of listerine on oral bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. Coll.* 31(4):301-307.

KIWANK, M., AKGUL, A., 1990: Mold growth on black table olives and preservation by sorbic acid, methyl-eugenol and spice essential oil. *Nahrung*, 34: 369-73.

KEHRL, W., SONNEMANN, U., DETHLEFSEN, U., 2004: Therapy for acute non purulent rhino sinusitis with cineole: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Laryngoscope.* 114 (4), p738-742.

KESBI AMRANE., 2011 : Etude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla.Mémoire de fin d'études .université kasdimarbah Ouargla, P18.

L

LUCCHESI M., CHEMAT F., SMADJA J., 2004: *journal of chromatography A*, 1043, 323, 327 solvent – free extraction of essential oil fromaromatic herb: comparison with conventional hydro distillation.

M

MANN J., 1987: Secondary metabolism. Second edition, Clarendonpress, Oxford, p 374.

MARROUF, G., TREMBLIN., 2009 : Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences .

MOUREY A., CANILLAC N., 2002: Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. Food Control: p. 289-292.

MORROW, P.A and FOX, L .R., 1980: Effect of variation in Eucalyptus essentielle oil yield on insect growth and grazing damage occologia, 45, 209-219.

MADHYASTA, M.S., BHAT, R.V., 1984: Aspergillusparasiticus growth and aflatoxin production on black and white pepper and the inhibitory action of their chemical constituents. Appl. Environ. Microbial, 48, p 376-379.

N

NATHALIE KOZIOL., 2015 : Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, D'Eucalyptusradiataet de *Corymbiacitriodora*: qualité, efficacité et toxicité. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de lorraine, P46.

P

PATRICIA BECHAALANY., 2005 : L'utilisation des huiles essentielles dans les affections Inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal. EuropeanSchoolofAnimalOsteopathy, pp 10,11.

PARIS M. et HURABIELLE M., 1981 : Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339.

PELLECUER J., 1981 : De la plante vers le médicament, les actualités pharmaceutiques n° 182, pp 30-34.

PRYOR., 1954 : Les Eucalyptus dans les reboisements.

R

RAMANOELINA P .A .R. BIANCHINI J .P. ADRIANTSIFERANA M., VIANO J. ET GAYDOU E. M. ,1992: Chemical composition of niaouli essential oil from Madagascar. Journal of essential oil research. Vol 4 (6), p 657-658.

S

SANTIESTEBAN-LOPEZ A., PALOU E., LÓPEZ-MALO A., 2007: Susceptibility of food-borne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected (w) and pH. J. Appl. Microbiol , p. 486-497.

SOURAI, P.G., 1989: Antimicrobial action of dental materials used in operative dentistry: a review Odontostomatol. Proodos. 43 (5): 399-408.

SIANI, A.C., RAMOS, M.F.S., MENEZES-DE-LIMA, JR., RIBEIRO-DOS-SANTOS, R., FERNADEZ FERREIRA, E., SOARES, R.O.A., ROSAS, E.C., SUSUNAGA, G.S., GUIMARAES, A.C., ZOGHBI, M.G.B., HENRIQUES, M.G.M.O., 1999: Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of Protium. J. of Ethnopharmacology, 66 (1), p 57- 69.

SIDDIQUI, Y.M., ETTAYEBI, M., HADDAD, A.M., AL-AHDAL, M.N., 1996: Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type 1 and Newcastle disease virus. Med. Sci.Res. 24, p185-186.

SCHNITZLER, P., SCHON, K., REICHLING J., 2001: Antiviral activity of Australian tea oil and Eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. Phamazie. 56(4), p 343-347.

SCHWEDT G.,1993 : Méthodes d'analyse. Ed. Flammarion.

SALLE J.L. et PELLETIER J., 1991 : Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Ed. Frison-Roche, pp.19-45.

T

TESCHE, S., METTERNICH, F., 2008: The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Arch. Otorhinolaryngo. 1265 (11):1355-1359.

Trager W., Jensen J.B., 1976 : Human malarial parasites in continuous culture. Science, p. 673 - 675.

THOMPSON , J.D., CHALCHAT J. C ., MICHET , A ., LINHART, Y.B ., EHLERS , B ., 2003 : Qualitative and quantitative variation in monoterpene co- occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes .J.Chem. Ecol. 29,859-880.

V

VALNET J., 1984 : Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.

W

WILD R., 1994: The complete book of natural and medicinal cures. Rodale Press, inc., Emmaus, Pa.

Annexes 1

Constituants	Formule	Tr mn	Indice de Kovats	Alcanes	Tr Des Alcanes
a.Thujène		13.29 mn			
A.Pinene	C10H16	14.17 mn	926	C8	7.81 mn
Camphène	C10 H16	15.00 mn	940	C9	12.55 mn
Verbenene		15.21 mn			
Sabinène		16.19 mn			
B.Pinène	C10H16	16.80 mn	970	C10	18.62 mn
Myrcène		17.18 mn			
a.phellandrène		18.82 mn			
a.Terpinene	C10H16	19.26 mn	1003	C11	25.67 mn
P.Cymene		19.71 mn			
Limonène	C10H16	19.85 mn	1020	C12	33.05 mn
Eucalyptol (Cineol)	-----	20.49 mn	1022	C13	40.43 mn
y.terpinene		22.20 mn			
Terpinolène		24.28 mn			
Linalool	-----	25.47 mn			
Compholène aldehyde		2696 mn			
			1091	C14	47.08 mn
Camphre		28.60 mn			
Bornèol	C10H18O1	30.25 mn	1159	C15	53.83 mn
4.Terpèneol		31.76 mn	1160	C16	60.21 mn
a.Terpèneol	C10H18O1	31.32 mn	1173	C17	65.50 mn
Verbenone		33.15 mn			
Anis-Aldèhyde	-----	34.40	1207	C18	71.15 mn
Citonellol	-----	34.40	1207	C19	76.90 mn
Nèrol	-----	35.14 mn	1218	C20	81.40 mn
Acétate de Linalyl	-----	34.79	1244	C21	86.20 mn
Citral	-----	35.67 mn	1246	C22	91.03 mn
Thymol	-----	39.29 mn	1278	C23	95.32 mn
Eugenol	-----	43.80 mn	1329	C24	99.99 mn
	-----			C25	103.69 mn
Acétate de Gèranyl		43.02	1364		

