

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département d'agronomie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master en sciences agronomiques
Spécialité : Cultures Pérennes.

Thème

Recherche d'un effet synergique entre une huile d'olive vierge (Artisanale) et deux huiles essentielles (orange : *Citrus sinensis* L.) et (armoise : *Erioccephalus africanus*) à l'égard du *Tribolium confusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae)

Présenté par :

M^{elle} : BOUZEGANE Fatma

et

M^{elle} : DJEMAI Sabrina

Promoteur : M^r ARKOUB.M

Maître assistant A.UMMTO

Devant le jury

Président : M^r KELLOUCHE

Professeur A.UMMTO

Examineur 1: M^{me} KERBAL. S

Doctorante A.UMMTO

Examineur 2 : M^{me} KHELOUL. L

Doctorante A.UMMTO

Promotion : 2017 / 2018

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie bibliographique

Chapitre I : Description de la plante hôte

1.1. Présentation de la plante hôte 2
1.2. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) 2
1.3. Taxonomie du blé tendre 2
1.4. Les maladies et ravageurs 3

Chapitre II : Description de l'insecte ravageur *Tribolium confusum*

2.1. Les caractères généraux des Tenebrionidae 4
2.2. Position systématique de *Tribolium confusum* 4
2.3. Origine et répartition 4
2.4. Morphologie de *Tribolium confusum* (Duv) 5
2.5. Biologie 6
2.6. Régime alimentaire et dégâts 7
2.7. Les ennemis naturels 7

Chapitre III : Les moyens de lutte contre les ravageurs des denrées stockées

3.1. La lutte préventive 8
3.2. La lutte curative 8

Chapitre IV : Huile d'olive

4.1. Définition de l'huile d'olive 10
4.2. Les catégories de l'huile d'olives vierge 10
4.3. La composition de l'huile d'olive 11

Chapitre VI : Les huiles essentielles

6.1 Définition 32
6.2 Répartition 32

6.3 Localisation	32
6.4 Composition chimique	33
6.5 Facteurs de variabilité	38
6.6 Contrôle de qualité	40
6.7 Procédés d'obtention	41
6.8 Toxicité pour l'Homme	41
6.9 Activités biologiques des huiles essentielles	42
6.10 Toxicité des huiles essentielles.....	43
6.11 Conservation des huiles essentielles	43
6.12 Importance économique des extraits de plantes	44
6.13. L'oranger Doux	44
6.14. L'armoise	48

Partie expérimentale

Chapitre VII : Matériels et Méthodes

7.1. Objectif de nos expériences	51
7.2. Matériel de laboratoire	51
7.3. Matériel biologique	53
7.4. Matériel végétal du quel sont issues les huiles utilisées.....	54
7.5. Les méthodes appliquées	55
Conclusion.....	89

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

A% : acidité libre

AGMI : Acides Gras Mono- Insaturés

AGPI: Acides Gras Poly- Insaturés

AGS : acides gras libres

ANOVA : Analysis of variance

C.C.L.S : coopérative des céréales et des légumes secs

CLHP : chromatographie liquide à haute performance

COI : Conseil Oléicole Internationale

CPG-SM : chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse

DI 50 : dose létale

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl

Duv : duval

HE : Huile essentielle

HO1 : huile d'olive primeur, du 24/11/2017

HO2 : Huile d'olive de pleine saison, du 24/12/2018

HO3 : Huile d'olive tardive, du 28/01/2018

HOAR : Huile d'olive + huile d'armoise.

HOR : Huile essentielle d'orange

IP : indice de peroxyde

Me : Médiane

p-HPEA : Tyrosol

p-HPEA-EA : Ligstroside aglycone

p-HPEA-EDA : Décarboxyméthyl ligstroside aglycone

ppm: partie par million

PR : pourcentage de répulsion

UV : ultra violet

Liste des figures

Figure 1: Différents états de développement de <i>T. confusum</i>	6
Figure 2 : Dégâts de <i>T.confusum</i> sur la farine commerciale	7
Figure 3 : Structures chimiques des principaux alcools phénoliques de l'huile d'olive	19
Figure 4 : Structures chimiques des lignanes présents dans l'huile d'olive	20
Figure 5 : Structures chimiques des hydroxy-isochromanes de l'huile d'olive	21
Figure 6 : Principaux monoterpènes constitutifs des huiles essentielles	36
Figure 7 : Principaux sesquiterpènes constitutifs des huiles essentielles.....	37
Figure 8 : Composés aromatiques importants des huiles essentielles	38
Figure 9 : Dégradation de l'hydrate de sabinène au cours de l'hydrodistillation	40
Figure 10: Photographie de fruits <i>citrus sinensis</i>	46
Figure 11 : <i>Eriocephalus africanus</i> L	49
Figure 12 : Matériels de laboratoire utilisé	53
Figure 13: Photo originale du <i>Tribolium confusum</i>	54
Figure 14 : La plante d'armoise	55
Figure 15 : Elevage de masse.....	55
Figure 16 : Extraction de l'huile d'olive d'une manière artisanale.....	56
Figure 17 : Hydro distillateur	57
Figure 18 : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression	57
Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique	60
Figure 20: Dispositif expérimental des tests par contact pour le blé tendre	61
Figure 21: Dispositif expérimental des tests de germination du blé tendre	62
Figure 22: Dispositif expérimental des tests par inhalation	63
Figure 23: Dispositif expérimental des tests par répulsion	64

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité.....	10
Tableau 2 : Composition de l'huile d'olive en acides gras	12
Tableau 3 : Structure chimique des acides phénoliques présents dans l'huile d'olive	17
Tableau 4 : Structures chimiques des sécoiridoides présents dans l'huile d'olive	18
Tableau 5 : Structures chimiques des flavonoides présents dans l'huile d'olive	20
Tableau 6 : Les caractéristiques générales de <i>citrus sinensis</i>	45
Tableau 7 : Principaux composés de l'orange	46
Tableau 8 : Pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et <i>al.</i> , (1970).....	64
Tableau 9 : Rendement en huile des olives récoltées à trois stades différents	66
Tableau 10 : Résultats des analyses de l'acidité des trois huiles étudiées	67
Tableau 11 : Résultats des analyses de l'indice de peroxyde des trois huiles étudiées à deux dates différentes.....	68
Tableau 12 : Teneur en composés phénoliques des trois huiles étudiées	68
Tableau 13 : Composition et teneur en acides gras des huiles utilisées (%).....	69
Tableau 14 : Principaux Composés en % de l'huile essentielle des écorces d'orange	70

Introduction

Les insectes ravageurs des denrées, majoritairement des Coléoptères peuvent causer la perte totale d'un stock.

Le moyen le plus courant pour limiter leurs activités est l'usage des pesticides dont les effets indésirables sont malheureusement très nombreux.

L'importance des désordres écologiques observés au cours des dernières années suite à l'utilisation abusive des produits phytosanitaires organiques de synthèse met en évidence l'intérêt d'une réflexion sur des approches alternatives ou complémentaires pour le développement durable de l'agriculture.

C'est pourquoi l'utilisation des substances naturelles des plantes en tant que bio pesticides dans la protection des grains de céréales et de légumineuses est un objectif stratégique à atteindre parce qu'il permet de limiter la toxicité des insecticides d'origines chimiques, ils se présentent sous plusieurs formes : extraits aqueux (Gwinner et *al.*, 1996 ; Aouinty et *al.*, 2006), extraits organiques (Regnault-Roger et *al.*, 1993), huiles végétales (Kellouche, 2005) ainsi que les huiles essentielles et les poudres végétales.

L'utilisation de plantes ou extraits de plantes (racines, feuilles, écorces et fruits) dans la protection des récoltes contre les insectes ravageurs au cours de stockage est une pratique ancienne très répandue en Afrique et en Asie (Kaloma et *al.*, 2008).

Le laboratoire d'Entomologie Appliquée de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou a déjà testé plusieurs familles de bio-insecticides et c'est dans ce contexte que nous avons opté pour le choix de l'huile essentielle d'orange douce, d'une armoise appelée aussi romarin d'Afrique associés à une huile d'olive extraite par nos propres moyens d'une manière artisanale, provenant de la variété Chemlal, *Olea europaea L.* variété africana de la région de Bouhinoune, situé au sud de la wilaya de Tizi-Ouzou.

Dans une première partie, nous identifions chacune des huiles ainsi que le ravageur étudié.

Dans une deuxième partie, il sera question de présenter les différents tests effectués, ce qui donnera lieu à une troisième partie, dans laquelle on a expliqué les résultats obtenus.

1.1. Présentation de la plante hôte : le blé

Le blé est une céréale de la famille des graminées, cultivée pour l'alimentation depuis les temps préhistoriques par les peuples des régions tempérées. La culture du blé remonte au néolithique, elle est largement répartie sur tous les continents, mais reste présente principalement en Europe et en Asie (SIMON, 1989).

1.2. Le blé tendre (*Triticum aestivum*)

Le blé est une monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des *Gramineae*. C'est une céréale dont le grain est un fruit sec et indéhiscant, appelé caryopse, constitué d'une graine et de téguments (Feuillet, 2000). Le genre *Triticum* appartient à la tribu des *Triticées* au sein de la famille des *Poacées* et plus largement au groupe des angiospermes monocotylédones (Bolot et *al.*, 2009).

L'aire d'origine des blés est le proche Orient, dans la zone dite du Croissant fertile, l'Irak, la Syrie et la Turquie (Baldy, 1986). La diffusion du blé vers l'Europe, l'Asie et l'Afrique du Nord est très ancienne. Le blé tendre (*Triticum aestivum*) est apparu il y'a 7000 à 9500 ans, probablement par la domestication des blés (Nesbitt et Samuel, 1995). Les botanistes classe le blé tendre dans le groupe des blés hexaploïdes ($2n= 42$) (Bonjean, 2001). Le blé hexaploïde *Triticum aestivum* à génome (BBAADD) est très vraisemblablement apparu seulement après la domestication des blés diploïdes et tétraploïdes (Chantret et *al.*, 2005) .

1.3. Taxonomie du blé tendre

Le blé tendre est une céréale autogame appartenant à la classe des monocotylédones et au genre *Triticum*. D'après la classification citée par BONJEAN et PICARD (1990), les céréales à paille appartiennent toutes au super ordre des Comméliniflorales, ordre des Graminales. Ce dernier comporte sept (7) familles dont celles des graminacées cette dernière est l'une des principales du règne végétal non seulement de son importance numérique (500 genres, 800 espèces), mais en raison de la première place qu'elle occupe dans la biosphère et dans l'agriculture (OZENDA, 2000). Le blé appartient au :

- Sous Règne : Cormophytes
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Monocotylédones
- Ordre : Graminales
- Famille : Graminacées

- Sous famille : Festucoide
- Genre : *Triticum*
- Espèce : *Triticum aestivum* L.

1.4. Les maladies et ravageurs

Les maladies les plus fréquentes chez le blé tendre sont :

- La rouille : Provoquée par des champignons basidiomycètes appartenant à l'ordre des Urédinales et au genre *Puccinia* (CLEMENT, 1971). Elle se développe à la surface des feuilles et des tiges et attaque le blé ainsi que d'autres plantes.
- L'ergot : C'est un sclérote, c'est-à-dire un mycélium condensé constituant l'organe de vie d'un champignon. On trouve l'ergot sur le blé tendre, le blé dur et le seigle. L'ergot contient des amines qui lui donnent une odeur désagréable qui se communique aux produits cuits ; il contient aussi des alcaloïdes dont l'ergotine qui est responsable de sa toxicité (GODON et LOISEL, 1997).
- La carie : Le grain carié provient d'un épi parasité par la *Tellitia*. Le grain est alors de couleur brune, plus petit et plus globuleux que le grain sain, avec le sillon à peine visible et le grain est recouvert d'une poussière brunâtre constituée des spores du champignon (GODON et LOISEL, 1997).

Les animaux les plus nocifs sont les pucerons, les cicadelles et les limaces, les premiers sont susceptibles de transmettre des maladies à virus tel que le nanisme du blé, aussitôt après la levée (ANONYME 3, 2002).

L'enrobage des semences constitue un traitement préventif efficace à la fois contre des prédateurs animaux (tels que : Les charançons, les triboliums, les capucins des grains, les teignes, les silvains, les rongeurs et les oiseaux) et contre certaines maladies (ANONYME 3, 2002).

Plus d'une centaine d'espèces d'insectes et d'acariens se rencontrent dans les denrées entreposées, mais seules quelques-unes d'entre elles peuvent causer des dommages importants. Les autres espèces sont mycophages, détritivores, prédateurs ou parasites.

Chez les coléoptères et les lépidoptères, les plus communs des insectes associés aux denrées entreposées, le cycle vital comporte quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte.

2.1. Les caractères généraux des Tenebrionidae

Les tenebrionidae sont des coléoptères de taille comprise entre 2 mm et 80 mm, de forme très varié, à téguments le plus souvent rigides, épais, noir mat ou luisant, de teinte sombre, coloré ou «métallique» par interférence, avec des yeux généralement grands, ovales ou ronds chez certaines sous-familles. Antennes de 11 articles, plus rarement 10. aptères ou ailées, avec nervation alaire du type primitif, 5 sternites abdominaux, pattes longs ou tout au contraire, contractées, souvent fouisseuses (Balachowsky, 1962).

Un certain nombre de tenebrionidae ont été signalées comme nuisibles sur les plantes cultivées et autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou emmagasinées. Parmi ces dernières le genre *Tribolium* comprend deux espèces principales cosmopolites et nuisibles: *T. castaneum* Herbst. et *T. confusum* Duv.

2.2. Position systématique de *Tribolium confusum*

Selon Lepesme (1944) la classification cette espèce

Embranchement:	Arthropoda.
Classe:	Insecta.
Ordre:	Coleoptera.
Sous Ordre:	Polyphaga.
Famille:	Tenebrionidae.
Sous Famille:	Ulominae.
Genre:	<i>Tribolium</i> .
Espèce:	<i>Tribolium confusum</i> (Duval.)

2.3. Origine et répartition

Le *Tribolium* est d'origine Indo-Australienne (Smith et Whitman, 1992) et est trouvé dans des secteurs tempérés, mais survivra l'hiver dans les endroits protégés, particulièrement où il y a de la chaleur centrale (Tripathi et autres 2001). En Afrique le *Tribolium* à une

distribution différente en ce que se produit dans le monde entier dans les climats les plus frais (Smith et Whitman, 1992).

2.4. Morphologie de *Tribolium confusum* (Duv.)

2.4.1. Description des différents états de *Tribolium confusum* (Duv.)

a) L'œuf

L'œuf est oblong et blanchâtre, presque transparent surface lisse recouverte d'une substance visqueuse qui lui permet d'adhérer à la denrée infestée il mesure en moyenne 0.6 x 0.3 mm (Lepesme, 1944) (fig.4).

b) La larve

L'éclosion de l'œuf donne naissance à une la larve néonatale et de couleur blanche, de petite taille ne dépassant pas 1.4 mm. Elle passe par plusieurs stades dont le nombre varie de 5 à 12 selon la température, l'humidité relative et la qualité de l'alimentation.

La larve de dernier stade est cylindrique mesure environ 7 mm de long et 0,8 mm de large, sa couleur est d'un jaune pâle. Son corps presque glabre, se termine par deux paires urogomphes (Figure 1).

c) La nymphe

Est blanche et nue, les segments de son abdomen sont explantés latéralement en lames rectangulaires à bords crénelés (Balachowsky, 1936). La nymphe reste sans protection et est incapable de se déplacer (Figure 1).

d) L'imago

L'imago est d'un blanc jaunâtre, son tégument se sclérотinise et se pigmente 2 à 3 jours après son émergence. La couleur devient brun rouge, sa taille atteint 3 à 4 mm. Ces élytres allongés, parallèles et arrondis à l'extrémité postérieure, portent des lignes régulières de ponctuation séparées par des cotés très fins (Lepesme, 1944). Les pattes sont courbées, les tarses postérieurs sont formés de quatre articles (Figure1).

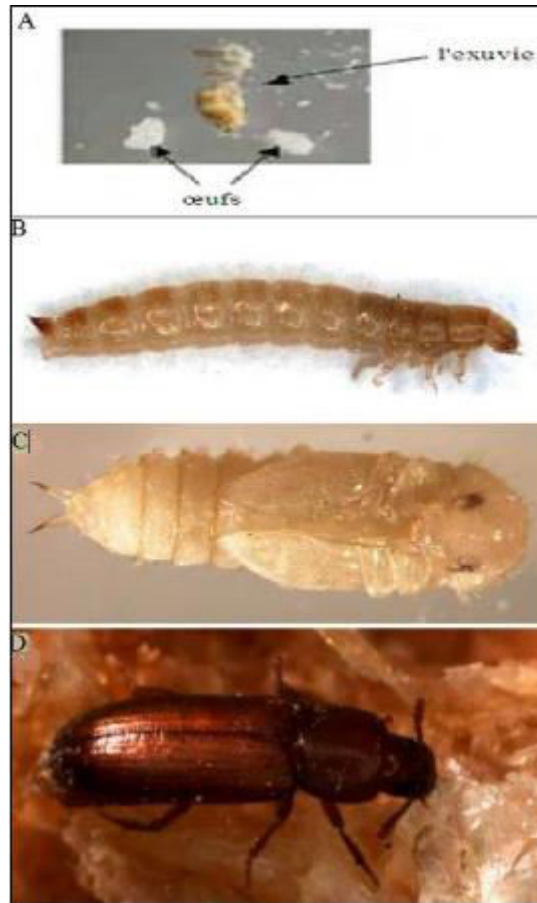


Figure 1: Différents états de développement de *T. confusum* (Duval.) A : l'œuf (Rebecca *et al*, 2003) ; B: larve, C: nymphe, D: adulte (Walter, 2002)

2.5. Biologie

Le premier accouplement a lieu environ 2 jours après l'émergence des imagos et dure de 3 à 15 minute. Chez *Tribolium confusum* (Duv.) l'échelonnement des pontes est conditionné par plusieurs copulations. Les œufs sont pondus en vrac sur les marchandises et ils sont difficiles à déceler. Au cours de sa vie, la femelle pond entre 500 et 1000 œufs.

Les jeunes larves, passent par 5 à 12 stades larvaires selon des conditions de température et d'humidité. La larve, circule librement dans la denrée infestée ou elle nymphose. L'émergence de l'adulte a lieu six jours après la nymphose à 32,5°C et une humidité relative de 70%, la durée du cycle est de 24 à 26 jours, *Tribolium confusum* (Duval.) est une espèce dont l'optimum thermique se situe entre 32°C et 35 ° C, son développement s'arrête au-dessous de 22°C. Il résiste aux basses hygrométries.

En absence d'alimentation, *Tribolium confusum* exerce le cannibalisme, dévore les œufs et les larves de leur congénère (Steffan in Scotti, 1978).

2.6. Régime alimentaire et dégâts

Le *Tribolium* recherche surtout les denrées amylacées pulvérulentes comme la farine, le son, ... etc. (LEPESME, 1944). Les adultes sécrètent une substance nauséabonde, riche en quinones qui communique au lot infesté une odeur particulièrement désagréable.

D'après STEFFAN in SCOTTI (1978), ils sont très polyphages, ce sont des cléthrophages secondaires, car les larves et les adultes se nourrissent surtout de brisures, elles attaquent les grains endommagés, escortent souvent les charançons ou parachèvent leurs dégâts (Figure 2).



Figure 2 : Dégâts de *T.confusum* sur la farine commerciale (ORIGINAL).

2.7. Les ennemis naturels

Certains arthropodes particulièrement les acariens, tels que : *Pediculoides ventricosus* Nemp. *Acarophenax tribolu* Nemp. Et Duval. Tendent à limiter l'activité de *Tribolium*, deux hyménoptère de la famille des bethylides parasitant les larves sont: *Rhabdepyris zea* Turu et Waterst. *Sleroderma immigrans* Bridw.

3.1. La lutte préventive

La lutte préventive consiste en une hygiène rigoureuse des moyens de transport et des machines de récolte. Il faudra faire un nettoyage convenable des locaux de conservation et vérifier les crevasses et les endroits qui peuvent recouvrir des insectes. Les grains doivent être sécher avant le stockage. Ces mesures sont indispensables pour réduire ou empêcher toute infestation (DUCOM, 1982).

3.2. La lutte curative

3.2.1. La lutte physique

➤ La chaleur

Tous les adultes sont détruits après quelques minutes d'exposition à une température de 55°C, sans altérer le pouvoir germinatif des grains (LABEYRIE, 1962).

➤ Le froid

Les basses températures ralentissent l'activité biologique et provoquent la mort de certains ravageurs. A une température inférieure à 8°C, la larve ne peut pas pénétrer à l'intérieur de la graine (SERPEILLE, 1991).

A une température de -1°C, les insectes ne peuvent pas survivre plus d'un mois (LABEYRIE, 1962).

➤ Stockage sous atmosphère inerte

Le stockage sous les gaz carbonique et l'azote, ne laisse aucune chance pour les insectes de survivre (GWINNER *et al.*, 1996). Il s'agit d'abaisser le taux d'oxygène de l'atmosphère inter granulaire jusqu'à un taux létal pour les insectes (moins 1% d'O₂).

3.2.2. La lutte chimique

Deux types d'insecticides sont à distinguer

a- Insecticides de contact

Les insecticides organiques de synthèse (organochlorés, organophosphorés, carbamates et les pyréthrinoides), et non organiques qui sont des composés arsenicaux, fluorés ou soufrés ou bien de l'acide cyanhydrique (DAJOZ, 2002).

b- Fumigants

Les insecticides à forte tension de vapeur sont les fumigants. Ils sont destinés à un traitement curatif de choc qui atteint même les formes cachées des insectes. Ils détruisent rapidement le développement des œufs, des larves et des nymphes des insectes ravageurs contenus dans les grains (KELLOUCHE, 1987).

3.2.3. La lutte biotechnologique

Les moyens utilisés dans cette action sont les phéromones de synthèse induisant un dérèglement du comportement des adultes par confusion de substances odorantes répulsives, des hormones de croissance causant des troubles de développement. Ces (IRG) régulateurs de la croissance des insectes sont efficaces à tel point que la descendance devient incapable de se reproduire (GWINNER et *al.*, 1996).

3.2.4. La lutte biologique

C'est une méthode classique, qui permet d'utiliser des micro-organismes (AUGER et *al.*, 1999). Elle vise à réduire les populations des insectes ravageurs, en utilisant leurs ennemis naturels qui sont soit des prédateurs (Acarian : Cheyletidae), soit des parasites (*Lariophagus distinguendus*) ou des agents pathogènes (bactéries, champignons...etc), ainsi que des produits naturels d'origine végétale comme des poudres minérales, des huiles végétales et huiles essentielles...(SECK, 1991).

4.1. Définition de l'huile d'olive

On désigne par l'huile d'olive vierge toute huile extraite du fruit de l'olivier (*Olea europaea* L.) uniquement par des procédés mécaniques ou d'autres procédés physiques et dans des conditions, notamment thermiques, n'entraînant pas d'altération de l'huile, à l'exception des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de réestérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature. L'huile d'olive vierge ne doit avoir subi aucun autre traitement que le lavage, la décantation, la centrifugation et la filtration (COI, 2003).

4.2. Les catégories de l'huile d'olives vierge

L'huile d'olive vierge comprend diverses appellations: vierge extra, vierge ou vierge fine, courante et lampante (Perrin, 1992). L'appartenance à une catégorie est définie en fonction de l'évaluation de quelques paramètres de qualité de l'huile d'olive à savoir : l'acidité, l'indice de peroxyde, l'absorbance dans l'UV et les caractéristiques organoleptiques (Christopoulou et *al.*, 1995; Fedeli, 1999).

Les différentes catégories d'huile d'olive vierge ainsi que les limites des critères de qualité établies par le COI (2003), sont représentées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Les différentes catégories d'huile d'olive vierge et leurs critères de qualité (COI, 2003).

Huile Paramètres	Huile d'olive vierge extra	Huile d'olive vierge	Huile d'olive courante	Huile d'olive Lampante
Caractéristiques organoleptiques				
-Fruité	Me >0	Me >0	Me = 0	
-Défaut	Me = 0	0 < Me < 2,5	2,5 < Me < 6,0	Me > 6,0
Acidité libre (% d'acide oléique)	≤ 0,8	≤ 2	≤ 3,3	> 3,3
Indice de peroxyde (méq O2/Kg)	≤ 20	≤ 20	≤ 20	Non limité
Extinction spécifique (UV)				
-K232	≤ 2,5	≤ 2,6	-	-
-K270	≤ 0,22	≤ 0,25	≤ 0,3	-

- Me : Médiane

4.3. La composition de l'huile d'olive

La composition chimique de l'huile d'olive (*Olea europaea L.*) dépend largement de la variété du fruit, des conditions agronomiques, du degré de maturité, des procédés d'extraction et des conditions de stockage (Cichelli et Pertesana, 2004).

Les constituants de l'huile d'olive sont souvent classés en deux catégories : la fraction saponifiable et la fraction insaponifiable.

4.3.1. La fraction saponifiable

La fraction saponifiable est constituée d'acides gras et de leurs dérivés (acylglycérols, phosphatides). Elle représente environ 99% de l'huile et lui confère la plupart de ses caractéristiques physiques, chimiques et métaboliques (Ryan *et al.*, 1998).

a) Les glycérides

Les triglycérides sont les composants majoritaires de l'huile d'olive (95,4 %), les diglycérides ne représentent qu'environ 1-2,8 % (Zarrouk *et al.*, 1996; Boskou *et al.*, 2006).

Les principaux triglycérides de l'huile d'olive sont : la trioléine « OOO » (40 à 60 %), la dioléopalmitine « POO » (10 à 20 %), la dioléolinoléine « OOL » (10 à 20 %), la palmitooléolinoléine « POL » (5 à 7 %) et la dioléostéarine « SOO » (3 à 7 %) (Ryan *et al.*, 1998; Boskou *et al.*, 2006).

b) Les acides gras

La composition en acides gras totaux est un paramètre de qualité et d'authenticité des huiles d'olives. Cette composition est très variable et dépend de la variété, du climat et de la région de production, de l'année et la période de récolte ainsi que des techniques d'extraction et des conditions de stockage (Zarrouk *et al.*, 1996; Ait Yacine *et al.*, 2002). Comparée à d'autres huiles végétales, l'huile d'olive est caractérisée par sa richesse en acides gras monoinsaturés et présente de faibles teneurs en acides gras saturés (Ajana *et al.*, 1998; Salas *et al.*, 2000; Keceli et Gordon, 2001).

De toutes les huiles végétales, l'huile d'olive est celle qui présente le plus fort rapport acides gras monoinsaturés/acides gras polyinsaturés. Cette particularité confère à l'huile d'olive une plus grande stabilité à l'auto-oxydation (Perrin, 1992; Baccouri *et al.*, 2008).

L'huile d'olive présente un profil en acides gras (tableau 2) dominé par l'acide oléique (C18: 1) présent en grande quantité (55 à 83 %) et renferme des teneurs moindres en acide linoléique (C18: 2), en acide palmitique (C16: 0) et en acide stéarique (C18: 0). Les acides palmitoléique (C16 :1), linoléique (C18 :3) et arachidique (C20 :0) sont présents en faibles quantités (Ryan *et al.*, 1998).

Tableau 2 : Composition de l'huile d'olive en acides gras (COI, 2003).

Acides gras	Symboles	Limite de variabilité (%)
Acide myristique	C14 : 0	$\leq 0,05$
Acide palmitique	C16 : 0	7,5 – 20,0
Acide palmitoléique	C16 : 1	0,3 – 3,5
Acide heptadécanoïque	C17 : 0	$\leq 0,3$
Acide heptadécénoïque	C17 : 1	$\leq 0,3$
Acide stéarique	C18 : 0	0,5 – 5,0
Acide oléique	C18 : 1	55,0 – 83,0
Acide linoléique	C18 : 2	3,5 – 21,0
Acide linolénique	C18 : 3	$\leq 1,0$
Acide arachidique	C20 : 0	$\leq 0,6$
Acide gadoléique	C20 : 1	$\leq 0,4$
Acide béhénique	C22 : 0	$\leq 0,2$
Acide lignocérique	C24 : 0	$\leq 0,2$

4.3.2. La fraction insaponifiable

Cette fraction, dénommée constituants mineurs, représente environ 2% de la composition totale de l'huile d'olive et comptent plus de 230 composés différents (Visioli et Galli, 1998).

4.3.2.1. Les stérols

Les stérols représentent les constituants majeurs de la fraction insaponifiable de l'huile d'olive (20%) et sont présents sous forme libre et estérifiée avec les acides gras (Phillips et *al.*, 2002). Les principaux stérols de l'huile d'olive sont le β -sitostérol (75% à 90%), le Δ -5-avenastérol et le campesterol. D'autres stérols sont également présents à l'état de traces, à savoir : le cholestérol, le Δ -7-stigmastérol, le Δ -7-avenastérol et le campestanol (Boskou et *al.*, 2006).

Les teneurs en stérols de l'huile d'olive varient de 1000 à 3000 mg/Kg (Ryan et *al.*, 1998; Matos et *al.*, 2007). Ces teneurs varient en fonction de la variété, de la maturité des olives (Ajana et *al.*, 1998; Pardo et *al.*, 2007) et de l'origine géographique des olives (Ben Temime et *al.*, 2008).

Les stérols de l'huile d'olive, en particulier, le β -sitostérol et le Δ -5-avenastérol, sont doués de propriétés antioxydantes (Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

Plusieurs travaux ont signalé que la composition de la fraction stérolique constitue un paramètre important dans la détection d'adultérations des huiles (Phillips et *al.*, 2002; Velasco et Dobargane, 2002; García-González et *al.*, 2007; Pardo et *al.*, 2007).

4.3.2.2. Les composés aromatiques

Plus de cent composés contribuent à l'arôme délicat et unique de l'huile d'olive. Ces composés proviennent des fruits et ils sont incorporés à l'huile durant le broyage et le malaxage des olives (Salas et *al.*, 2000; Angerosa et *al.*, 2001). Ils sont constitués d'un mélange de composés volatils tels que les hydrocarbures, les aldéhydes, les alcools, les cétones, les furanes et les esters, qui sont des molécules de faible poids moléculaire (Vichi et *al.*, 2003; Luna et *al.*, 2006).

Ils sont principalement générés par la voie de lipoxigénase par oxydation des acides gras polyinsaturés (les acides linoléique et linolénique), ce qui conduit à la formation des principaux aldéhydes en C6, des alcools et des esters dans l'huile d'olive (Sánchez et Harwood, 2002). D'autres composés volatiles se forment durant le métabolisme des acides gras et des acides aminés (désamination) aboutissant à la production des acides acétique et propionique, d'aldéhydes, d'alcools et d'esters (Luna et *al.*, 2006).

La teneur en composés volatils dépend étroitement de l'activité des enzymes de la voie de la lipoxigénase et varie selon le cultivar, le degré de maturité des olives, le stockage des olives, l'opération de lavage, le temps et la température du malaxage, les conditions climatiques et l'état sanitaire des olives (Miliauskas et *al.*, 2004; Runcio et *al.*, 2008).

4.3.2.3. Les tocophérols

Les tocophérols se présentent sous quatre formes (α , β , γ et δ) qui se diffèrent entre elles par le nombre et la position des groupements méthyles fixés sur le noyau aromatique (Soulier et Farines, 1992). Les tocophérols de l'huile d'olive se trouvent libres ou estérifiés, l' α tocophérol, doté de la plus forte activité antioxydante, représentent plus de 95% des tocophérols totaux (Ryan et *al.*, 1998).

Ils contribuent à la stabilité oxydative et aux qualités nutritionnelles de l'huile d'olive (Ryan et *al.*, 1998 ; Gimeno et *al.*, 2002). En effet, ils exercent une activité antioxydante par rupture de la chaîne radicalaire lors des étapes de propagation de l'oxydation lipidique, comme ils peuvent prévenir l'action de l'oxygène singulet, initiateur de la peroxydation des lipides (Psomiadou et Tsimidou, 2002a; Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

Les teneurs en tocophérols, généralement rapportées pour une huile d'olive d'une bonne qualité, varient de 100 à 300 mg/Kg (Perrin 1992; Allalout et *al.*, 2009). Ces teneurs varient en fonction de plusieurs facteurs dont la variété de l'olive et sa maturité ainsi que les conditions et la durée de la conservation de l'huile (Assmann et Wahrburg, 1999; Gimeno et *al.*, 2002).

4.3.2.4. Les pigments

La couleur de l'huile d'olive est un paramètre de qualité qui dépend de sa composition en pigments (Roca et Minguez-Mosquera, 2001; Beltran et *al.*, 2005). Ils sont responsables de la couleur verdâtre à jaune de l'huile d'olive (Cichelli et Pertesana, 2004).

Deux groupes de pigments sont identifiés dans l'huile d'olive, ceux qui sont présents naturellement dans le fruit d'olive : chlorophylle a et b, lutéine, β -carotène, anthéroxanthine, violaxanthine et neoxantine et ceux qui se forment durant le processus d'extraction de l'huile d'olive : phéophytine a et b, lutéoxanthine, auroxanthine et mutatoxanthine (Minguez-Mosquera et *al.*, 1990; Gandul-Rojas et Minguez-Mosquera, 1996a; Criado et *al.*, 2007).

a) Les chlorophylles

Les chlorophylles représentent un groupe de tetrapyroles à magnésium, leurs teneurs varient de 0 à 20 ppm et elles sont responsables de la nuance verdâtre de l'huile d'olive (Gandul-Rojas et Minguez Mosquera, 1996a).

Les chlorophylles a et b sont naturellement présentes dans les olives fraîches; les phéophytines a et b présentent 40 à 80% des chlorophylles totaux de l'huile et sont formées durant les étapes de broyage et le malaxage suite à la libération d'acides (Minguez-Mosquera et *al.*, 1990; Criado et *al.*, 2007). En effet, au cours de l'extraction de l'huile, la libération d'acides provoque une perte en chlorophylles a et b, par transformation en phéophytines a et b suite à la perte du Mg^{+2} (Minguez-Mosquera et *al.*, 1990).

En présence de lumière, les chlorophylles et les phéophytines ont une activité prooxydante, en induisant à la formation de l'oxygène singulet qui promeut la première phase du processus d'auto-oxydation (Minguez-Mosquera et *al.*, 1990; Cichelli et Pertesana, 2004).

Au cours de la maturation des olives, la teneur en chlorophylles diminue suite à leur dégradation par les lipooxygénases, les peroxydases ou les chlorophyllases (Gandul-Rojas et

Minguez-Mosquera, 1996b). Selon Garcia *et al.* (1996), ces pigments sont remplacés par les anthocyanes.

b) Les caroténoïdes

Les principaux caroténoïdes dans l'huile d'olive sont la lutéine, le β -carotène et les xanthophylles suivantes: néoxanthine, violaxanthine, lutéoxanthine, anthéroxanthine, mutatoxanthine et beta-cryptoxanthine (Ryan *et al.*, 1998; Mateos et García-Mesa, 2006).

Leur teneur dans l'huile d'olive dépend de la variété, du degré de maturité, des conditions environnementales, du procédé d'extraction et des conditions de stockage (Criado *et al.*, 2004; Giuffrida *et al.*, 2007). Cette teneur oscille entre 1 à 100 ppm, avec une prédominance de la lutéine et du β -carotène (Minguez-Mosquera *et al.*, 1991; Psomiadou et Tsimidou, 2001).

Les caroténoïdes possèdent une activité antioxydante (Soulie et Farines, 1992; Salvador *et al.*, 2001; Giuffrida *et al.*, 2007). Ils exercent un effet inhibiteur sur la photooxydation en désactivant l'oxygène singulet induit par les pigments chlorophylliens (Perrin, 1992; Kiritsakis et Osman, 1995).

4.3.2.5. Les hydrocarbures

Deux hydrocarbures sont présents en quantité considérable dans l'huile d'olive : le β -carotène et le squalène. Ce dernier est un terpène insaturé (isoprénoïde) et constitue le composé majoritaire des hydrocarbures (plus de 90%). Sa teneur varie de 200 à 7500 mg/Kg d'huile (Perrin, 1992).

Le squalène, précurseur de synthèses des stérols, est caractérisé par une stabilité élevée sous des conditions d'autooxydation et contribue ainsi à la stabilité de l'huile après exposition à la lumière (Psomiadou et Tsimidou, 2002b).

4.3.2.6. Les composés phénoliques

L'huile d'olive renferme plus de 30 composés phénoliques (Visioli et Galli, 1994; Tuck et Hayball, 2002). Ce sont des substances naturelles qui confèrent à l'huile d'olive des propriétés organoleptiques et contribuent à la bonne stabilité de l'huile à l'auto-oxydation (Perrin, 1992; Ollivier *et al.*, 2004; Tura *et al.*, 2007).

Les composés phénoliques de l'huile d'olive appartiennent à diverses familles : acides et alcools phénoliques, sécoïridoïdes, lignanes, flavonoïdes, etc. (Ninfali *et al.*, 2001). Ils sont soit liés, etherifiés ou estérifiés avec les glycosides (Perrin, 1992; Dhifi *et al.*, 2006) soit à l'état libre suite à des réactions d'oxydation et d'hydrolyse au sein de ces composés au cours de la maturation du fruit, ou lors du processus de l'extraction (Vazquez-Roncero, 1978; Tsimidou, 1998; Dhifi *et al.*, 2006).

6.1 Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés odorants, volatils et lipophiles (Teuscher, 2005) d'origine végétale obtenues par entraînement à la vapeur d'eau (cas général). Généralement ce sont des liquides à la température ordinaire, d'odeur aromatique forte. Elles sont très peu solubles dans l'eau, et sont solubles dans les solvants organiques apolaires usuels et dans les alcools de titre élevé (Paris, 2001 *in* Ghestem et *al.*, 2001).

6.2 Répartition

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs : il y aurait, selon Lawrence, 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, *e.g* : Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Apiaceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae, Piperaceae, etc (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs de (bergamotier, tubéreuse), feuilles de (citronnelle, eucalyptus, laurier noble), écorces de (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des rhizomes de (curcuma, gingembre), des fruits de (toute-épice, anis, badiane), des graines de (muscade ; du vétiver) (Bruneton, 1999).

6.3 Localisation

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices (Teuscher, 2005) telles que : les cellules à huiles essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiaceae, poches sécrétrices des Myrtaceae et des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Astereceae (Bruneton, 1999) et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes, comme par exemple les rhizomes de fougère mâle (Teuscher, 2005).

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes. En raison de leurs lipophilie et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz, ces membranes limitent fortement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation (Teuscher, 2005).

6.4 Composition chimique

Les métabolites primaires des plantes se réfèrent aux groupes chimiques tels que les glucides, les protéines, les acides nucléiques et les acides gras. Leur fonction est en relation à la structure, la physiologie et la génétique, lesquelles impliquent leur rôle crucial dans le développement de la plante. *Contrario*, les métabolites secondaires se présentent normalement à des concentrations moindres. Ils sont impliqués dans les mécanismes de signal et de défense de la plante. Bien que beaucoup de ces métabolites montrent des structures similaires aux métabolites primaires. On peut diviser ces métabolites secondaires à ces groupes chimiques les plus importants : les terpénoïdes, les alcaloïdes, les composés phénoliques, rarement des acides aminés, les amines et les glycosides (Rohloff, 2003).

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des « terpénoïdes » d'une part et le groupe des « composés aromatiques » dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents ; d'autre part (Bruneton, 1999).

La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, ou quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés (Pibiri, 2005).

Cette structure varie en fonction (Franchomme, Pénoël et *al.*, 1990; Mailhebiau, 1994 *in* Pibiri, 2005)

- Du nombre d'atomes de carbone qui la constitue :
 - Les monoterpènes C₁₀,
 - Les sesquiterpènes C₁₅,
 - et plus rarement diterpènes C₂₀
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- De la nature des groupes fonctionnels :

- Terpènes $R_1-HC=CH-R_2$
- Alcools terpéniques $R-OH$
- Aldéhydes $R-CHO$
- Cétones R_1-CO-R_2
- Phénols C_6H_5-OH
- Esters $R_1-COO-R_2$
- Ethers R_1-O-R_2

6.4.1. Terpénoïdes (terpènes):

Les Terpénoïdes (ou terpènes) sont des composés hydrocarbonés classés par le nombre d'unités de cinq carbones (isoprène : $CH_2=C(CH_3)-CH=CH_2$) qu'ils contiennent (Lichtenthaler et *al.*, 1997 ; Little et Croteau, 1999 in Ibrahim et *al.*, 2001).

6.4.1.1 Monoterpènes :

Les monoterpènes contiennent une base squelettique atomique de dix carbones, dérivés à partir de la fusion de deux unités d'isoprène (cinq carbones) (Lichtenthaler et *al.*, 1997 ; Little et Croteau, 1999 in Ibrahim et *al.*, 2001). Les monoterpènes sont produits dans les plastides via le geranyl diphosphate (GPP) (Rohloff, 2003). Les monoterpènes sont les molécules les plus représentatives, 90% de l'huile essentielle et renferment une grande variété de structures, qui consistent en beaucoup de fonctions (Bakkali et *al.*, 2008 ; Burt, 2004) qui sont :

✓ Hydrocarbures :

- Acyclique (aliphatiques) : myrcène, ocimène, etc.
- Monocyclique : limonène, terpinènes, *p*-cimène, phellandrènes, etc
- Bicyclique : pinènes, -3-carène, camphène, sabinène, etc.

✓ Alcools :

- Acyclique : géraniol, linalol, citronellol, lavandulol, nérol, etc.
- Monocyclique : menthol, α -terpinéol, carvéol
- Bicyclique : bornéol, fenchol, chrysanthénol, thuyon-3-ol, etc.

✓ Aldéhydes :

- Acyclique: géraniol, néral, citronellal, etc

✓ Cétones :

- Acyclique : tégétone, etc.

- Monocyclique : menthones, carvone, pulégone, pipéritone, etc.
- Bicyclique : camphre, fenchone, thuyone, ombellulone, pinocamphone, pinocarvone, etc.

✓ **Esters :**

- Acyclique : acetate de linalyl ou propionate, acétate de citronéllyl etc.
- Monocyclique : menthyl ou acétate d' α -terpinyl etc.
- Bicyclique : acétate d'isobornyl etc.

✓ **Ethers :**

1,8-cinéole, menthofurane, etc..

✓ **Phénols :**

- Thymol, carvacrol, etc.

✓ **Peroxydes:**

- ascaridole, etc.

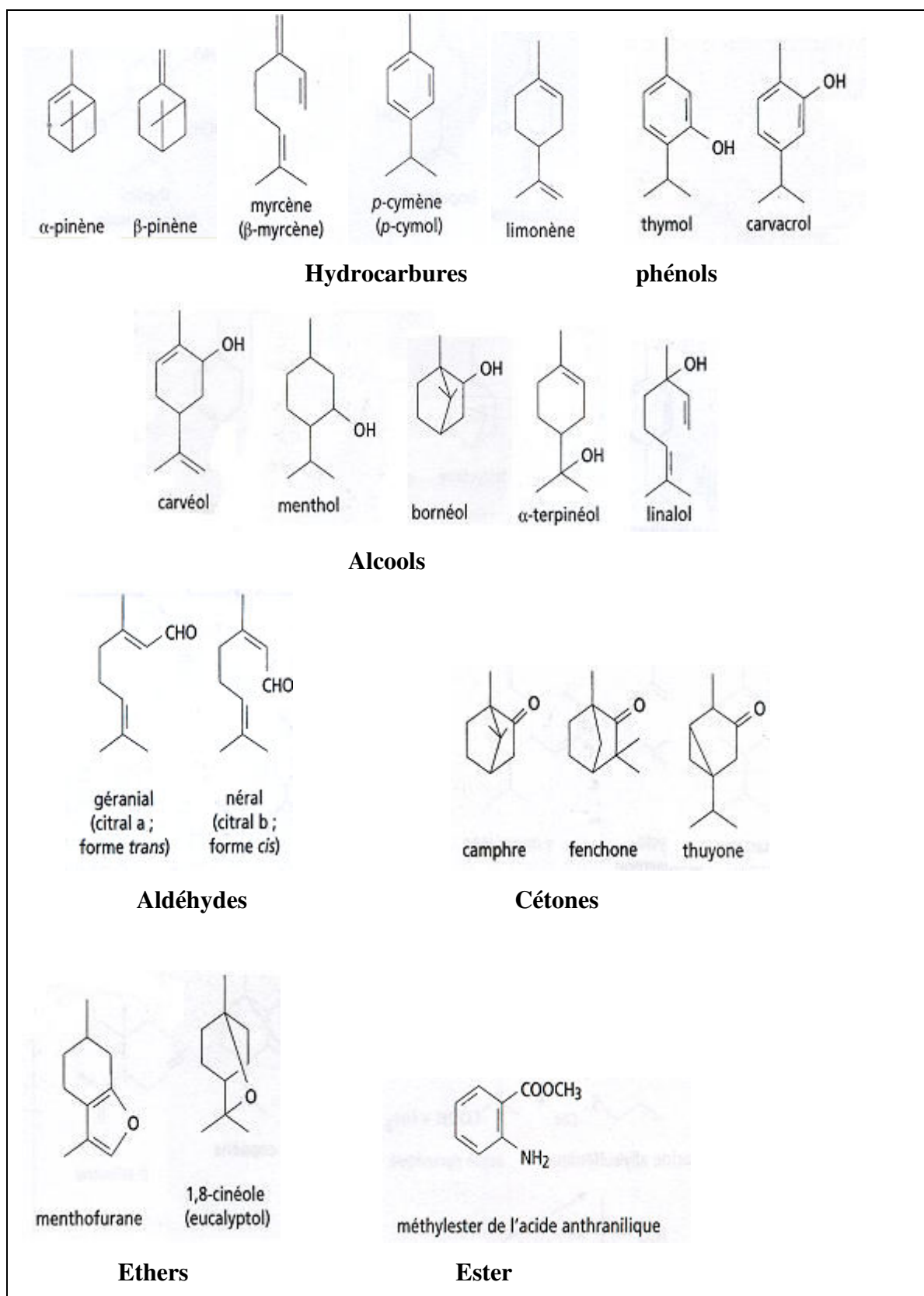


Figure 6 : Principaux monoterpènes constitutifs des huiles essentielles (Teuscher, 2005).

6.4.1.2 Sesquiterpènes :

Les sesquiterpènes contiennent une base squelettique atomique de quinze carbones, dérivés à partir de la fusion de trois unités d'isoprène (Lichtenthaler et *al.*, 1997 ; Little et Croteau, 1999 in Ibrahim et *al.*, 2001). Les sesquiterpènes sont produits dans le cytosol via le farnésyl diphosphate (FPP) (Rohloff, 2003).

L'allongement de la chaîne (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles, d'où la très grande variété des structures connues, et elles sont de même nature que les monoterpènes, carbures ; alcools et cétones sont les plus fréquents (Bruneton, 1999), parmi eux (Bakkali et *al.*, 2008):

Carbures: azulène, β -bisabolène, cadinènes, β -caryophyllène, logifolène, curcumènes, elemènes, farnesènes, zingiberène, etc.

Alcools: bisabol, cédrol, β -nérolidol, farnésol, carotol, β -santalol, patchoulol, viridiflorol, etc.

Cétones: germacrone, nootkatone, cis-longipinan-2,7-dione, b-vétinone, turmérone, etc.

Époxydes : oxyde de caryophyllène, époxydes d'humulène, etc.

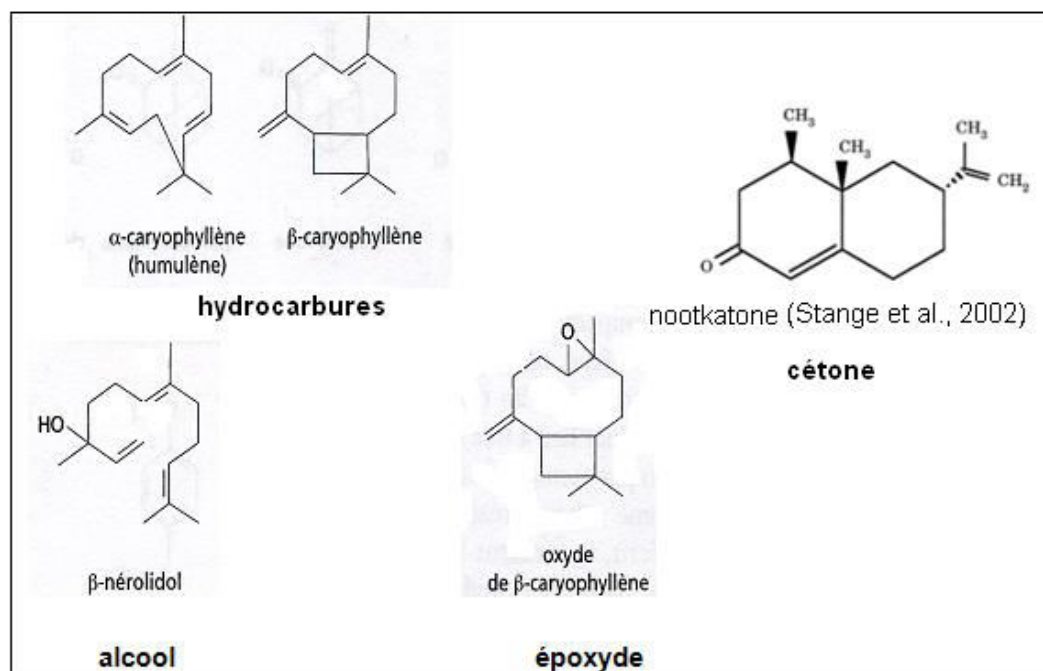


Figure 7 : Principaux sesquiterpènes constitutifs des huiles essentielles (Teuscher, 2005).

6.4.2 Composés aromatiques :

Les composés aromatiques sont des phenylpropanoïdes ou plus strictement, des phenylpropènes. Leur plus grande concentration pourrait être trouvée chez les espèces tropicales. Ces composés dérivent à partir de la voie de l'acide shikimique et leur base intermédiaire est l'acide (*E*)-cinnamique, laquelle mène à des structures différenciées sur le

plan (modification des chaînes ; groupes fonctionnels ; variation isomérique et différents niveaux d'oxydation) (Rohloff, 2003). Parmi ces composés aromatiques (Bakkali et *al.*, 2008) :

- Aldéhydes: aldéhyde cinnamique
- Alcools: alcool cinnamique
- Phénols: chavicol, eugénol
- Dérivés méthoxylés : anéthole, elemicine, estragole, méthyleugénols
- Composés dioxy-méthyléniques : apiole, myristicine, safrole.

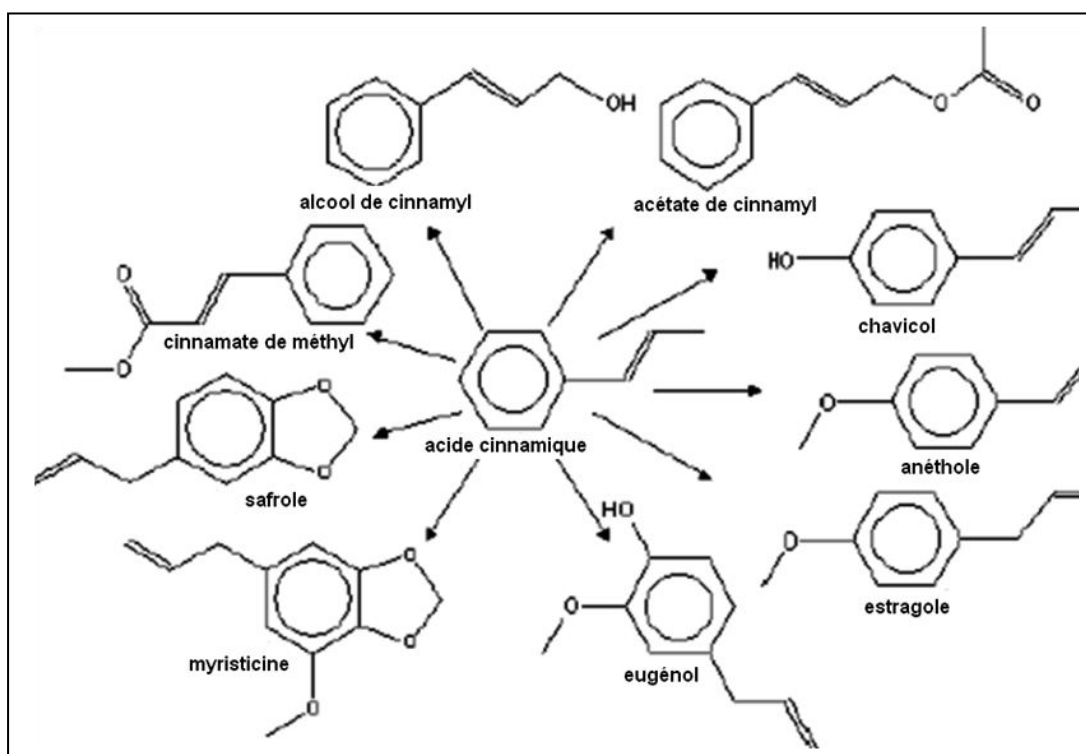


Figure 8 : Composés aromatiques importants des huiles essentielles (Rohloff, 2003).

6.5 Facteurs de variabilité

6.5.1 Existence de chimiotypes (chémotypes)

Cette influence est liée à la biosynthèse et donc le profil génétique. C'est la raison pour laquelle, une même espèce peut présenter plusieurs chimiotypes de profils chimiques différents (Benini, 2007). Les chimiotypes-on dit aussi races chimiques-sont très fréquents chez les plantes à huiles essentielles (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* (L.) Huds du nord de l'Algérie, obtenues par entraînement à la vapeur d'eau sont analysées par CPG-SM et GC-FID. Les

résultats montrent l'existence vraisemblable de deux chémotypes l'un «l'oxyde de pipéritone», le second « pipériténone » qui sont caractérisés par des teneurs différenciées en ces deux constituants. Le premier contient l'oxyde de pipéritone (19,7–31,4%) et l'oxyde de pipériténone (27,8–29,4 %) comme constituants majoritaires tandis que le second révèle une teneur très élevée en pipériténone (54,9 %) et en oxyde de pipériténone (17,6 %), ces deux espèces moléculaires représentant les 75 % des produits identifiés (Brada et *al.*, 2007abstr).

6.5.2 Influence du cycle végétatif

Pour une espèce donnée la production des différents constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement (Bruneton, 1999). Ainsi, la teneur en carvone de l'huile essentielle de carvi augmente au détriment du limonène, tout au long de la maturation du fruit (Teuscher, 2005).

D'autre part Atti-Santos et *al.* (2004) ont rapporté que le haut rendement de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* a été trouvé en printemps et après les neufs mois de la période de la cueillette, le thymol varie de 31.5 -52.4%. Avec le respect de la période de la cueillette l'huile essentielle de thym est riche en composés oxygénés en printemps, suivi par l'été, l'automne et l'hiver (Hussain, 2009).

Des variations, parfois très importantes, sont couramment observées chez la coriandre où la teneur en linalol est 50 % plus élevée chez le fruit mûr que chez le fruit vert (Bruneton, 1999).

6.5.3 Influence des facteurs extrinsèques :

Il s'agit là de l'incidence des facteurs de l'environnement et des pratiques culturales. Ainsi chez la menthe poivrée, les jours longs et les nuits tempérées conduisent à des rendements en huile essentielle plus élevés et à une augmentation de la teneur en menthofuranne. *Contrario*, les nuits froides favorisent la formation de menthol (Bruneton, 1999).

6.5.4 Influence du procédé d'obtention :

La labilité des constituants des huiles essentielles explique que la composition du produit obtenu par hydrodistillation soit, le plus souvent, différente de celle du mélange initialement présent dans les organes sécréteurs du végétal. Au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters mais aussi les réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations, etc. Le comportement de *cis*-hydrate de sabinène illustre cette instabilité. Ce composé et son dérivé acétylé sont les constituants largement dominants de l'essence obtenue par extraction au pentane après

broyage, sous azote liquide des sommités fleuries de la marjolaine (*Origanum majorana* L.). Cependant, l'hydrodistillation des mêmes rameaux fournit un produit qui renferme, entre autres, une forte proportion de terpin-1-én-4-ol, accompagné de γ - et d' α -terpinènes ; parallèlement, la teneur en acétate de *cis*-hydrate de sabinène devient négligeable (Bruneton, 2005).

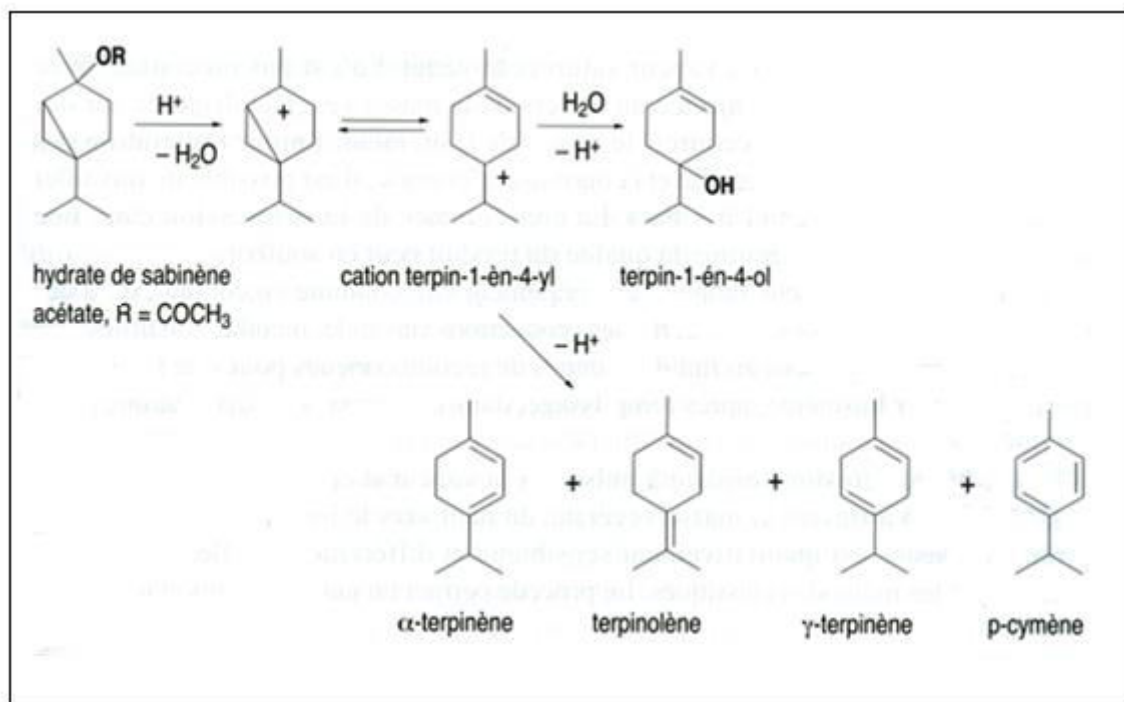


Figure 9 : Dégradation de l'hydrate de sabinène au cours de l'hydrodistillation (Bruneton, 2005).

6.6 Contrôle de qualité

L'accroissement important des huiles essentielles dans des domaines divers des activités humaines telles qu'en pharmacie, parfumerie, cosmétiques, aromathérapie, alimentation et industrie des boissons, a provoqué une demande extensive réalisable pour les analyses des huiles essentielles. Ces exigences ont été satisfaites par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et ce couplé à un spectromètre de masse (CPG-SM) (Burt, 2004).

Selon la Pharmacopée française et européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants (Pibiri, 2005).

L'analyse par le chromatographe en phase gazeuse (CPG) est la méthode la plus adaptée pour le contrôle des huiles essentielles, compte tenu de la volatilité des constituants (Bakkali *et al.*, 2008 ; Bruneton, 1999). Facilité de la mise en œuvre, temps d'analyse assez

court (Bruneton, 1999). La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le « profil chromatographique » en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (Pibiri, 2005)

La possibilité de coupler le chromatographe à un spectromètre de masse (SM) augmente considérablement la qualité et la quantité des informations obtenues. En CPG-SM, la comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec un ou plusieurs "bibliothèques" de références permet son identification (Bruneton, 1999).

Une huile essentielle pure et naturelle est caractérisée par sa composition strictement « végétale », contrairement aux essences synthétiques ou « identiques naturelles » intégralement reconstituées à partir de composés chimiques de synthèse (Pibiri, 2005).

6.7 Procédés d'obtention

6.7.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans l'alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999). Les composés de l'huile essentielle sont volatiles et sont distillés à partir du matériel végétal à une température inférieure à 100°C (Axtell et Fairman, 1992 *in* MBBCSS, 2006).

6.8 Toxicité pour l'Homme

6.8.1 Toxicité par ingestion

En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL₅₀ supérieures à 5 g/kg. En ce qui concerne la sarriette et l'origan la toxicité est un peu plus élevée autour des 1,4 g/kg (données observée chez l'animal) (Bruneton, 1999). Chez l'Homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, le plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles : girofle (eugénol), eucalyptus, gaulthérie (salicylate de méthyle). Un cas de décès aux USA a été enregistré après l'ingestion de 60 ml de gaulthérie (Pibiri, 2005).

6.8.2 Toxicité dermique

Le large usage que font la parfumerie et la cosmétique de ces huiles essentielles a suscité de nombreux travaux sur leur éventuelle toxicité (aiguë ou chronique) par application locale. Tous les ouvrages traitant des huiles essentielles donnent des concentrations

maximales, les évictions, et les mises en garde nécessaires. Le thym, l'origan, la sarriette sont connues pour leur pouvoir irritant, l'angélique et la bergamote sont photo-sensibilisantes, la cannelle est dérmocaustique et allergisante pour les terrains sensibles (Pibiri, 2005).

6.8.3 Toxicité selon la composition

Certains auteurs (Franchomme, Pénéol et *al.*, 1990; Mailhebiau, 1994) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. Une utilisation prolongée des huiles essentielles à thuyones (thuya, absinthe, sauge officinale) est neurotoxique. Ces huiles, dont la liste n'est pas exhaustive, sont inscrites dans un décret du Code de la Santé Publique Française datant de 1986 visant à interdire leur vente en France. Certaines d'entre elles sont néanmoins en vente libre dans les autres pays européens moins restrictifs, la Suisse incluse (Pibiri, 2005).

6.8.4 Toxicité sur cellules animales ou humaines

Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxiques. Les huiles essentielles de thym et de lavande selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (Inouye, 2003), sont cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois. Par ailleurs, des huiles essentielles de différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (Sivropoulou, 1996 *in* Pibiri, 2005).

En fin il est important de connaître la toxicité des huiles essentielles si on envisage de les utiliser comme médicaments par voie orale.

6.9 Activités biologiques des huiles essentielles

Un grand nombre des plantes sont étudiées pour leur huile essentielle potentielle, et sont exploitées dans des applications commerciales. Par conséquent Les huiles essentielles de celles-ci sont très intéressantes à cause de leurs propriétés, antioxydantes; antitumorales; insecticides ; antifongiques et antibactériennes (Burt, 2004) comme exemples.

6.9.1 Activité insecticide

Santos et *al.* (1997) ont rapporté que quelques monoterpènes ont montré une efficacité contre les pestes des produits alimentaires. En effet le cymol et limonène des huiles essentielles, d'*Eucalyptus camaldulensis*, d'*Eucalyptus cameroni* et des écorces de *Citrus aurantium* L. ont une action insecticide significative, mène à la mort des pestes des produits stockés (Ibrahim et *al.*, 2001).

6.9.2 Activité antifongique

Okemo et al. (2003) ont trouvé que l'extrait de *Maesa lanceolata* var. *goulungensis* est très actif contre les champignons pathogènes des plantes : *Phytophthora cryptogea*, *Trichoderma virens*, *Aspergillus niger*, *Phoma* sp., *Fusarium oxysporium*, *Cochliobolus heterostrophus*, *Sclerotium rolfsii* and *Pyrenophora teres* (Sumyhong, 2007).

6.9.3 Activité antibactérienne

Arnold et al. (2005) ont testée l'huile essentielle de *Salvia palaestina* Benth., cultivée au Liban qui a une meilleure activité contre les bactéries à Gram positif que celles à Gram négatif. La plus forte activité est sur *Bacillus subtilis*. Les principaux composés sont sclaréol, β -caryophyllène et linalol (Al-Sheddi, 2009).

6.10 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale, la majorité de celles qui sont couramment utilisées ont une DL 50 comprise entre 2 et 5 g/Kg (anis, eucalyptus, girofle, etc...), ou ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/Kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc...) (Bruneton, 1999).

Les mêmes observations peuvent être faites pour les constituants des huiles essentielles, rares en effet sont ceux qui ont une DL 50 < 2 g/Kg comme exemple la thuyone 0.2 g/Kg (armoise), pulégone 0.47 g/Kg (menthe pulgume) et carvone 1.64 g/Kg (Menthe verte).

6.11 Conservation des huiles essentielles

L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate (Bruneton, 1993). Trois facteurs interviennent dans l'altération des huiles essentielles:

La température : obligation de stockage à basse température (entre 08°C et 25°C).

La lumière : stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.

L'oxygène : les flacons doivent être entièrement remplis et fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants.

La durée de conservation admise est de 02 à 05 ans.

6.12 Importance économique des extraits de plantes

Le nombre des espèces des plantes supérieures (angiospermes et gymnospermes) est estimé entre 215 000 et 500 000 espèces. Seulement, environ 6% de celles-ci sont étudiées, et 15% ont été évaluées phytochimiquement (Fabricant et Farnsworth, 2001 ; Verpoorte, 2000 in Sumthong, 2007).

Les buts d'utilisation des plantes comme sources d'agents thérapeutiques sont (Sumthong, 2007) :

- Isolement des composés bioactifs pour l'utilisation directe comme médicaments, *e.g.*, atropine, scopolamine, digoxine, digitoxine, morphine, réserpine, taxol, vinblastine, vincristine ;
- Production des composés bioactifs pour des structures nouvelles ou inconnues, pour une utilisation comme principaux constituants des entités naturelles nouvelles ou (semi)synthétiques avec une bonne activité et/ou toxicité moindre, *e.g.*, extraction de la l'oxycodone (et autres analgésiques narcotiques) à partir de la morphine ;
- Utilisation des produits naturels comme outils pharmacologiques, *e.g.*, mescaline, strychnine, yohimbine ;
- Utilisation de la plante entière ou une partie d'elle comme un remède, *e.g.*, *Ginkgo biloba*, ail

6.13. L'oranger Doux

6.13.1. Description de la plante

L'oranger est un arbre, pouvant atteindre 10 m de hauteur environ, avec un feuillage vert sombre persistant et légèrement ailé. La floraison blanche très parfumée, les fruits mettent 10 à 12 mois pour murir, de taille moyenne, de forme sphérique, et de couleur caractéristique orange. Il existe plusieurs variétés, les plus connues la Sanguine, Thomson navel, valencia latté, Washington navel Powell, Florida pineapple, orange portugaise etc.... (LOUSSERT, 1989).

Les caractéristiques générales de l'espèce *citrus sinensis* sont récapitulées dans le tableau 6.

Tableau 6: Les caractéristiques générales de *citrus sinensis* (Bénédicte et Michel, 2011).

Espèce	Variété	Caractéristiques générales
<i>Citrus sinensis</i>	Washington Navel	• Aspect général : arbre au port harmonieux et croissance rapide, il peut atteindre de grande taille en pleine terre (7 à 8m) • Fleurs : blanches et immaculées, très parfumées. • Feuilles : vert profond, légèrement ailées. • Fruits : de forme et de coloration variable en fonction des différents groupes auxquelles ils appartiennent. La pulpe juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés.

6.13.2. Classification

Taxonomiquement, les oranges douces appartiennent à :

Ordre : Sapindales

Sous-ordre : des géraniiineae,

Classe : des dicotyledoneae

Famille : Rutaceae

Genre : *Citrus*

Espèce : *Citrus sinensis*

6.13.3. Composition chimique et valeur nutritive d'orange

L'orange contient des glucides (40% de saccharose), de la vitamine C, vitamines P, B1, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, riche en pectines, elle a un rôle de régulateur du transit intestinal. Elle contient une flore mésophile (levures et lactobacilles) indispensable pour une bonne digestion (Bousbia, 2011).

Les principaux composés de l'orange sont résumés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Principaux composés de l'orange (Anonyme, 2007).

Constituants	Teneurs
Glucides	8.5 à 12 % dans le fruit à maturité, représenté par le saccharose (40 %). Fructose et glucose
Acides organiques	1.2 %, surtout de l'acide citrique et de l'acide malique
Autres composés Energétiques	Lipides concentrés dans les pépins peu de protéines
Vitamines	Teneur élevée en vitamine C (40 à 80 mg pour 100g). Vitamines hydrosolubles qui sont toutes des vitamines du groupe B (B1 et B9, en particulier), vitamine A (0.05 à 0.2 mg pour 100g), vitamine E (0.24mg pour 100g).
Minéraux	Calcium, Magnésium, Potassium et Phosphore
Oligoéléments	Fer, Cuivre, Zinc, Manganèse, Nickel, Iode, trace de Bore et de Sélénium
Fibres	Une teneur de 2.4 % en moyenne, elles ont l'originalité d'être riches en pectine (environ 50 %)
Flore mésophile	Levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion
Substances aromatiques	Ce sont des composés complexes caractéristiques de ce fruit (aldéhydes, esters... etc.), des essences odorantes
Pigments	Donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orangé pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violacé pour les anthocyanes

Dénomination latine : *Citrus aurantium* var. *dulcis* L., *Citrus aurantium* Risso, (Moyse, 1981), *Citrus sinensis* Gallesio. (Garnier et al., 1961)

Dénomination commune : Oranger doux, Oranger du Portugal.

Dénomination étrangère : Allemande : Susser oranger ; Anglaise : Sweet Orange-Tree ; Espagnole : Naranja dulce ; Italienne : Arancio dolce, Arancio, Pomo di Sina, Malarancio (Garnier et al., 1961).

**Figure 10:** Photographie de fruits *Citrus sinensis*. (ORIGINALE, 2018).

6.13.4. L'Huile essentielle d'orange

Les péricarpes de différents cultivars de l'oranger à fruit doux fournissent une huile essentielle appelée huile essentielle d'orange douce ou d'orange Portugal (0.5%), qui est d'un jaune plus au moins foncé.

➤ **Sa composition :**

- Monoterpenes en majorité : limonène 93.5-96.5% ; β -myrcène, 1.5-6%,
- Aldéhydes aliphatiques en faible quantité : décanal et monoterpéniques : citrals,
- Alcools : linalol, terpinéol
- Constituants présents à l'état de traces : alcool nonylique, acide butyrique, anthranilate de méthyle, un ester caprylique et de l'auraptène, dérivant de la coumarine, présente aussi dans l'essence du bigaradier. (Moyse, 1981 ; Garnier et *al.*, 1961 ; Bruneton, 1999)

Enfin, certaines huiles essentielles d'orange douce ont une teneur élevée en caroténoïdes. De ce fait, elles sont recherchées pour évaluer la concentration en colorant.

La teneur en essence s'abaisse au cours de la maturation du fruit.

6.13.5. Quelques usages de l'huile essentielle d'orange

Il a été montré que certains terpènes, tel le limonène possédaient une activité anticancéreuse, à la fois *in-vitro* et *in-vivo* (Crowell et *al.*, 1994). Les mécanismes à la base de cette action ne sont pas encore clairs mais des pistes ont cependant été explorées.

Ainsi il semble que le limonène ou son produit de dégradation majoritaire – l'acide périllique ne soient pas en eux-mêmes actifs. En revanche, Gould a identifié l'ester méthylique de l'acide périllique comme un possible inhibiteur de l'isoprénnylation de certaines protéines cellulaires (Gelb et *al.*, 1995).

Il a été montré que certaines huiles essentielles extraites de plantes poussant au Chili possèdent une activité anti-moustique, très probablement due à la présence de limonène et/ou de camphre dans ces huiles (Gilli et *al.*, 2007) .

Ces travaux permettent d'envisager le remplacement des répulsifs classiquement utilisés parfois nocif pour l'homme et pouvant endommager certains plastiques et peintures.

Des compositions à base de limonène présentant une activité insecticide contre les fourmis, les araignées, les mouches, les chenilles... ont été mises au point.

Ces insecticides d'un nouveau type sont non toxiques pour les animaux et l'homme, pouvant même être utilisés à proximité de nourriture. Ils sont de plus biodégradables.

Il est supposé que dans ces compositions, le limonène possède une action sur la carapace (en chitine) des insectes, entraînant son ramollissement et ainsi la mort de l'insecte.

6.14. L'armoise

Le genre *Eriocephalus* L. fait partie intégrante de rites de guérison pour divers groupes ethniques en Afrique du Sud et Namibie. Les infusions de feuilles d'*E. africanus* ont été utilisés comme diurétiques et diaphorétique mais également dans le traitement des complications gastro-intestinal et problèmes gynécologiques. Les infusions ont également été utilisés dans le traitement de l'inflammation et d'autres complications dermiques complications (Watt et Breyer-Brandwijk, 1962; Van Wyk et *al.*, 1997; Dyson, 1998; Van Wyk et Gericke, 2000). *Eriocephalus africanus* est utilisé comme substitut de romarin à des fins aromatiques culinaires (Dyson, 1998).

La majorité des avantages d'*E. africanus* revendiqués pour la santé restent à prouver, mais des données scientifiques à l'appui de quelques activités de la plante ont déjà été signalées.

Industriellement, les huiles de *E. punctulatus* ("Cape camomile") et *E. africanus* ("Cape snowbush") ont une large application dans les parfums, les préparations pour les soins de la peau et comme huiles de mélange dans les produits de beauté. Ces huiles ont des propriétés aroma-thérapeutiques, elles sont considérées comme analgésiques, antiallergiques, antidépresseurs, antiseptiques, anti-inflammatoires et diurétiques (Mierendorff et *al.*, 2003; Njenga, 2005).

Nom scientifique: *Eriocephalus africanus*

Noms communs: Romarin sauvage, romarin de marais, hirondelle, cape et hirondelle

(Anglais); pokbos (afrikaans)

Famille: composés

6.14.1. Description de la plante

La plante est un petit arbuste à feuilles persistantes multibranches pouvant atteindre 1 à 1,5 m de hauteur. *Eriocephalus africanus* est parfumé, avec un feuillage légèrement feutré qui donne à la plante un aspect argenté mat. Les inflorescences sont de petites têtes brunes et jaune pâle portées en corymbes; chaque tête porte quelques fleurons de disque bisexuels avec des ovaires avortés et des pétales blancs neigeux qui couvrent pratiquement un arbuste en fleur. Les fleurons du disque entourent généralement, de quatre à huit fleurons femelles au centre¹.

¹ ["The Plant List: A Working List of All Plant Species"](#). Retrieved 11 February 2015.

Le système racinaire est bien développé avec une racine pivotante qui peut pénétrer le sol à une profondeur de 6 m et latérale racines qui s'étendent sur environ 2 m autour de la plante. Les feuilles à feuilles persistantes sont environ 2, 54 cm de long.



Figure 11 : *Eriocephalus africanus* L

Sur le plan écologique, la plante est importante pour de nombreux insectes en tant que source de nectar et de pollen, et en tant que plante mineure pour les troupeaux et les antilopes. L'huile essentielle dérivée d'E. Africanus est utilisée comme ingrédient dans les produits médicaux et les parfums. La plante a été utilisée en médecine traditionnelle et en cuisine (Dyer, 1975).

6.14.2. L'Huile essentielle d'armoïse

Les extraits d'huile essentielle d'E. Africanus sont préparés par distillation à la vapeur d'eau et contiennent les principaux composants aromatiques suivants:

Acétate de linalyle 18,0%

1,8-cinéole 4,3%

o-cymène 3,5%

Camphène 2,8%

Linalool 2,5%

Camphre 2,4%

Sabinène 2,3%

α -copaène 1,8%

Limonène 1,1%

Acétate de géranyle 0,9%

Terpinen-4-ol 0,9%

α -pinène 0,8%

Valencene 0,8%

β -pinène 0,7%

α -terpinéol 0,6%

β -caryophyllène 0,5%

Myrcène 0,2% (Watt et al, 1962)

7.1. Objectif de nos expériences

Nous nous sommes proposés de tester cinq substances sur le ravageur *Tribolium confusum*. à savoir, une huile primeur, une huile de pleine saison et une huile tardive extraites de manière artisanale. A ces trois huiles, nous avons ajouté l'huile essentielle d'orange douce et un mélange d'une huile essentielle d'armoise avec son solvant qui est l'huile d'olive de pleine saison.

On a eu recours à l'extraction traditionnelle dans le but d'obtenir une huile vierge extra de première pression à froid. Notre objectif était de contrôler tout le processus d'extraction traditionnelle et s'assurer de la provenance et de l'origine variétale.

Nous avons adopté une méthode d'extraction originale, qui consiste à extraire par distillation dans le solvant, dans le but de conserver les terpènes les plus légers qui sont volatils, ce qui a permis d'avoir une huile essentielle complète.

C'est les terpènes légers et volatils qui sont actifs, c'est dans ce but qu'on a voulu les retenir dans un solvant.

7.2. Matériel de laboratoire

Le matériel de laboratoire utilisé lors de nos expériences est le suivant :

- L'extraction de l'huile essentielle d'armoise : (hydrodistillateur)
 - Un chauffe ballon ;
 - Un ballon d'une capacité de 2000 ml ;
 - Un tube recourbé de conduite de vapeur ;
 - Un réfrigérant ;
 - Un récepteur sombre pour protéger l'huile essentielle de la lumière.
- Pour l'élevage de masse :
 - Bocaux en verre ;
 - Etuve réglée à une température de 30 ± 1 C°.
- Pour les tests biologiques :
 - Boîtes de pétri en plastique de 10 cm de diamètre et de 1,8 cm de hauteur ;
 - Bocaux en verre de 15 cm de diamètre et 20 cm de hauteur ;
 - Balance de précision ;
 - Pipettes et micropipettes.

➤ Pour les tests biochimiques :❖ Verrerie :

- Béchers ;
- Burettes ;
- ErlenMeyer ;
- Eprouvette ;
- Pipettes simples (1ml, 2 ml, 5ml....25ml) ;
- Tubes à essai ;
- Verre de montre.

❖ Les réactifs

- Hexane ;
- Ethanol ;
- Hydroxyde de potassium ;
- Phénolphtaléine ;
- Chloroforme ;
- Acide acétique ;
- Iodure de potassium ;
- Thiosulfate de sodium ;
- Solution d'amidon ;
- Méthanol ;
- Eau distillée ;
- Folin ciocalteu ;
- Bicarbonate de sodium ;
- Acide gallique.

❖ Autre matériel :

- Balance analytique ;
- Plaque chauffante ;
- Agitateur magnétique.

➤ Autre :

Coton, papier filtre, pinceaux, ruban adhésif, ciseaux...

**Balance****Pipette et micropipette****Hydrodistilateur****Etuve réfrigérée****Figure 12 : Matériels de laboratoire utilisé**

7.3. Matériel biologique

7.3.1. Le tribolium

Nous avons tout au long de nos expériences utilisées des adultes provenant des élevages de masses réalisés sur des grains de blé tendre au niveau du laboratoire d'Entomologie Appliquée de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.



Figure 13: Photo originale du *Tribolium confusum* (ORIGINALE, 2018)

7.3.2. Les grains de blé

Les graines de blé utilisées dans les différents tests proviennent de la coopérative des céréales et des légumes secs (C.C.L.S) de Draa Ben Khedda de la wilaya de Tizi-Ouzou.

C'est le blé tendre HD 1220, de la catégorie R1 issu de la récolte 2016/2017. Les grains sont conditionnés dans des sachets en plastique au réfrigérateur, ils sont sains et n'ont subi aucun traitement.

7.4. Matériel végétal du quel sont issues les huiles utilisées

7.4.1. Les olives

Les olives utilisées pour l'extraction de l'huile d'olive vierge sont issues de la variété Chemlal provenant d'un verger de la région de Bouhinoune, wilaya de Tizi-Ouzou.

7.4.2. L'armoise

La plante utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle d'armoise a été cueillie dans le jardin de la faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.



Figure 14 : La plante d'armoise

7.4.3. L'orange

Les écorces d'orange utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle d'orange proviennent d'un verger de la région de Bouhinoune, wilaya de Tizi-Ouzou.

7.5. Les méthodes appliquées

7.5.1. Elevage de masse

Il consiste à mettre en contact des adultes de *T.confusum* mâles et femelles dans des bocaux en verre remplis de grains de blé sain. Ces derniers sont maintenus dans une étuve réglée à une température de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ et une humidité relative de $70 \pm 5\%$. Cet élevage permet de fournir un nombre suffisant d'adultes de *T.confusum* destinés aux différents essais biologiques.



Figure 15 : Elevage de masse (ORIGINALE, 2018).

7.5.2. Extraction des huiles

a) L'huile d'olive vierge

La méthode utilisée pour l'extraction de l'huile d'olive est la méthode traditionnelle. Après avoir écrasé (broyé) les olives préalablement cueillies à la main à l'aide d'une grosse pierre, de l'eau froide est ajoutée à la pâte afin de séparer le grignon de la pulpe (partie flottante) contenant l'huile. De l'eau chaude est ensuite ajoutée à la pulpe et on procède des lors au pressage. On laisse décanter.

Trois huiles d'olives vierges ont été obtenues suivant trois dates de récolte différentes ; l'huile d'olive (H1) du 24/11/2017, l'huile d'olive (H2) du 24/12/2017 et l'huile d'olive (H3) du 28/01/2018.



Broyage des olives

Séparation des phases

Pressage

Figure 16 : Extraction de l'huile d'olive d'une manière artisanale (ORIGINALE, 2018)

b) L'huile essentielle d'armoise

La méthode utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle d'armoise est l'hydrodistillation.

Après avoir fait sécher la plante d'armoise, cette dernière est mise en contact avec de l'eau distillée dans un ballon et le tout est mis à ébullition.

Les vapeurs sont condensées au réfrigérant et les gouttelettes du mélange eau + huile passent dans un ballon récupérateur contenant de l'huile d'olive. Les huiles se séparent de l'eau par différence de densité. On notera cette huile HOAR.



Figure 17 : Hydro distillateur (ORIGINAL, 2018).

c) L'huile essentielle d'orange :

La méthode utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle d'orange est le pressage. Ce procédé consiste à briser mécaniquement le zeste frais de l'orange en pressant les écorces entre les doigts. On obtiendra alors des microgouttelettes fortement odorantes.



Figure 18 : Gouttes d'huile essentielle perlant de la peau par simple pression (ORIGINALE, 2018).

5.7.3. Caractères chimiques des huiles :

a) De l'huile d'olive vierge :

- La composition en acide gras de l'huile d'olive

- La détermination des concentrations en pourcentage des différents acides gras constitutifs de l'huile d'olive a été réalisée après une analyse par la chromatographie en phase gazeuse, sous forme d'esters méthyliques préparés.

Le principe : Les esters méthyliques se forment par transestérification dans une solution méthanolique d'hydroxyde de potassium comme phase intermédiaire avant la saponification (point 5 de la méthode ISO 5509 : 2000. Point 5 de la méthode IUPAC 2,301).

Le mode opératoire : Dans une éprouvette à bouchon vissant de 5 ml, peser environ 0,1 g de l'échantillon d'huile. Ajouter 2 ml d'heptane ou Hexane et agiter. Ajouter 0,2 ml de la

solution méthanolique 2 N d'hydroxyde de potassium, boucher à l'aide du bouchon muni d'un joint en PTFE, bien fermer et agiter énergiquement pendant 30 secondes. Laisser reposer jusqu'à ce que la partie supérieure de la solution devienne claire. Décanter la couche supérieure, qui est celle qui contient les esters méthyliques. La solution d'heptane est prête pour l'injection dans le Chromatographe. Il est conseillé de maintenir la solution au réfrigérateur jusqu'au moment de l'analyse chromatographique. Il n'est pas recommandé de stocker la solution pendant plus de 12 heures

- Cette analyse a été réalisée à l'Ecole nationale supérieure agronomique d'Alger (Labo Technologie alimentaire).

Indice de peroxyde (IP)

Le principe : L'échantillon d'essai est dissous dans de le chloroforme et l'acide acétique glacial, et de l'iodure de potassium est ajouté. L'iode libéré par les peroxydes est titré par une solution étalon de thiosulfate de sodium en présence d'un indicateur coloré (amidon). Le point final du titrage est déterminé par visuellement.

Le mode opératoire : Peser 2g d'huile dans un erlenmeyer muni d'un bouchon. Dissoudre immédiatement la prise d'essai dans 10 ml de chloroforme, tout en agitant. Ajouter 15 ml d'acide acétique, puis 1 ml de solution d'iodure de potassium. Insérez le bouchon rapidement, agitez pendant une minute et laissez-le à l'obscurité pendant exactement cinq minutes à une température de 15 à 25 ° C.

Ajouter environ 75 ml d'eau distillée. Titrer l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium en agitant vigoureusement, en utilisant comme indicateur une solution d'amidon. Effectuer simultanément un essai à blanc. Si le résultat de l'essai à blanc dépasse 0,05 ml de la solution de thiosulfate de sodium 0,01 N, remplacer les réactifs impurs.

L'indice de peroxyde est exprimée en milliéquivalents peroxyde par 1000 g d'huile selon la formule :

$$IP_{(meq.O_2/kg)} = ((V_{ech} - V_{blanc}) \times N \times 1000) / m$$

V_{ech} : volume de thiosulfate de Na de l'échantillon

V_{blanc} : le volume requis pour titré le blanc

P : la prise d'essai en grammes

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée.

- **L'acidité libre (A %)**

Le principe : Mise en solution d'une prise d'essai dans un mélange de solvants puis titrage des acides gras libres dans une solution d'hydroxyde de potassium ou d'hydroxyde de sodium.

Le mode opératoire : Dissoudre 10g de la prise d'essai dans 50 ml du mélange d'éther diéthylique et d'éthanol (V/V) préalablement neutralisé. Titrer, tout en agitant, avec la solution à 0,1 mol/l d'hydroxyde de potassium jusqu'au virage de l'indicateur (la couleur de l'indicateur coloré persiste pendant au moins 10 secondes).

L'acidité libre est exprimée en pourcentage d'acide oléique libre selon la formule :

$$A \% = (V_{\text{KOH}} \cdot C \cdot M) / 10 \cdot m$$

V : volume en ml de la solution de KOH utilisé pour le titrage

C : concentration exacte moles/l de solution de KOH

M : masse molaire en g/mole de l'acide oléique (282 g/mole)

m : masse en gramme de la prise d'essai

- **La teneur en composés phénoliques**

La technique utilisée pour l'extraction des composés phénoliques est celle utilisée par **Vasquez-Roncero et al., (1973)**. Celle-ci consiste en une extraction par une solution aqueuse à 40% de méthanol.

Préparation de la gamme étalon d'acide gallique :

Préparer une gamme étalon d'acide gallique à une concentration de 100 ppm (0,01 d'acide gallique dans 100g de solution méthanol/eau (60/40)).

- Préparer à partir de la solution mère, des solutions diluées de 5ml aux concentrations suivantes : 80ppm, 60ppm, 40ppm, 20ppm, 00 ppm.
- Ajouter à chaque solution 0,5ml de Folin-ciocalteu.
- Ajouter 5ml d'eau distillée et 1ml de solution de bicarbonate de sodium à 35%.
- Laisser à l'obscurité pendant 2 heures, ensuite mesurer l'absorbance à 725nm.
- Réaliser en parallèle un essai à blanc.

Une courbe d'étalonnage d'acide gallique a été établie en respectant les mêmes conditions expérimentales.

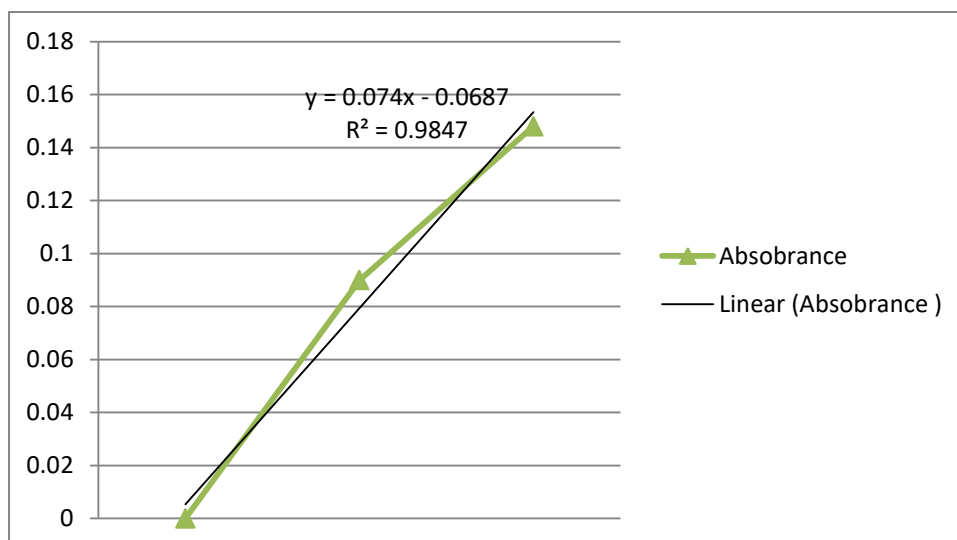


Figure 19 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Extraction des composés phénoliques à partir de l'huile d'olive :

Le dosage des phénols totaux se fait en milieu aqueux, de ce fait ces derniers doivent tout d'abord être extraits des huiles d'olives avant d'être dosés par le réactif Folin Ciocalteu.

- Peser 2,5g d'huile d'olive, ajouter 5ml d'hexane et 5ml de la solution méthanol/eau (60/40).
- Agiter vigoureusement pendant 2min et laisser reposer jusqu'à séparation de deux phases (environ 5min).
- Récupérer 5ml de la phase aqueuse, dans laquelle se trouvent les composés phénoliques, à l'aide d'une pipette.
- Ajouter 0,5 ml du réactif de Folin-ciocalteu, 5ml d'eau distillée et 1 ml de la solution de bicarbonate de sodium.
- Laisser reposer pendant deux heures à l'abri de la lumière.
- Mesurer l'absorbance à 725 nm.

Les résultats sont exprimés en ppm, en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue à partir des concentrations croissantes d'acide gallique (Figure 19)

b) De l'huile essentielle d'armoise :

L'huile essentielle d'armoise a été hydrodistillée dans de l'huile d'olive, c'est pour cela qu'une chromatographie en phase gazeuse a également été effectuée sur le mélange pour déterminer la teneur des acides gras le composant.

Cette analyse a été réalisée à l'Ecole nationale supérieure agronomique d'Alger (Labo Technologie alimentaire).

c) De l'huile essentielle d'orange :

Une chromatographie sur phase gazeuse a été effectuée sur l'huile essentielle d'écorces d'orange pour déterminer sa composition en terpènes (Annexe 1).

Cette analyse a été réalisée à l'Ecole nationale supérieure agronomique d'Alger (Labo Technologie alimentaire).

5.7.4. Dispositif expérimental :

a) Tests par contact :

Afin de mener cet essai, on introduit 20 individus de *Tribolium* dans des boîtes de pétri contenant 25 g de grains de blé.

Différentes doses des huiles étudiées sont ajoutées aux boîtes avec 4 répétitions pour chaque dose.

Les doses utilisées sont (1,2ml) – (1,6ml) et (2 ml) pour toutes les huiles (les HO 1, 2, 3 et HOAR).



25 g de blé tendre avec
les différentes doses
d'huile + 20 adultes de
Tribolium.

Figure 20: Dispositif expérimental des tests par contact pour le blé tendre (Photo originale, 2018).

➤ **Les paramètres biologiques étudiés**

• **La longévité des individus**

Il s'agit de dénombrer les individus morts suivant 4 temps : 24H, 48H, 72H et 96H après le lancement des tests.

- **La faculté germinative**

Cette faculté est évaluée en mettant 50 grains de blé sain traités avec les différentes doses étudiées dans des boîtes de pétri contenant du coton imbibé d'eau, l'opération se déroule en conditions de laboratoire avec quatre répétitions pour chaque dose.

Après 4 jours d'expérimentation, nous procédons au dénombrement des grains germés et nous calculons le taux de germination par la formule.

Taux de germination (%) = (nombre de grains germés/ nombre total de graines 50) × 100



50 grains de blé tendre

Les grains de blé germés

Figure 21: Dispositif expérimental des tests de germination du blé tendre (Photo originale, 2018).

b) Tests par inhalation :

Ce test consiste à observer l'effet des huiles essentielles d'orange et du mélange huile d'olive + huile essentielle d'armoise sur la longévité des adultes de *Tribolium Confusum* en adoptant le protocole expérimental suivant :

Nous avons utilisé des bocaux en verre d'une capacité d'un litre et a la face inférieure du couvercle de chaque bocal, nous avons fixé du fil auquel est attaché un morceau de papier filtre imbibé des huiles (HOR et HOAR) à différentes doses (300,350 et 400µl) (Figure 22).

Pour chaque dose nous avons réalisé quatre répétitions.

Nous avons introduit 20 individus de *Tribolium* à l'intérieur de chaque bocal que nous avons fermé hermétiquement. Un témoin est réalisé en parallèle sans huile.

Au bout de 24, 48, 72 et 96 heures nous avons dénombré les individus morts.



Figure 22: Dispositif expérimental des tests par inhalation (Photo originale, 2018).

c) Test de répulsion

Ce test consiste à étudier l'effet répulsif des huiles essentielles d'orange et du mélange huile d'olive + huile essentielle d'aromaise sur les adultes du *Tribolium* (Figure 23), en adoptant les étapes suivantes :

Le disque de papier filtre de 11cm de diamètre est divisé en deux demi- disques égaux. Sur l'un des demi-disques, nous répandons une quantité de 0,5 ml de la solution huileuse. Cette dernière est obtenue en diluant une dose d'huile essentielle avec 1 ml d'acétone. Sur l'autre moitié du disque nous répandant 0,5 ml d'acétone (témoin).

Les différentes doses d'huiles essentielles utilisées sont de l'ordre de 300, 350 et 400 μ l. Après évaporation du solvant, les deux parties du disque sont ressoudée par une bande adhésive et placée dans une boîte de Pétri.

20 individus de *Tribolium* sont introduits à l'intérieur de cette boîte. Quatre répétitions sont effectuées pour chaque dose.



Figure 23: Dispositif expérimental des tests par répulsion (Photo originale, 2018).

Au bout d'une demi-heure, nous comptons le nombre de mouches présentes sur la partie du disque traitée par la solution huileuse (Nt) et le nombre de mouches présentes sur la partie traitée uniquement par l'acétone (Nc). Le pourcentage de répulsion (PR) est calculé en utilisant la formule suivante :

$$PR (\%) = (Nc - Nt / Nc + Nt) \times 100.$$

Nc : représente le nombre d'insectes présents sur la partie du disque traité uniquement à l'acétone après une demi-heure de traitement.

Nt : représente le nombre d'insecte présents sur la partie du disque traité avec la solution (dose d'huile + acétone), après une demi-heure de traitement.

Le pourcentage de répulsion moyen pour chaque huile essentielle est calculé puis attribué à l'une des différentes classes répulsives selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970), qui sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 8 : pourcentage de répulsion selon le classement de Mc Donald et *al.*, (1970).

Classes	Intervalle de répulsion	Propriété
Classe 0	PR < 0,1%	Non répulsive
Classe I	10 à 20%	Très faiblement répulsive
Classe II	20 à 40%	Faiblement répulsive
Classe III	40 à 60%	Modérément répulsive
Classe IV	60 à 80%	Répulsive
Classe V	80 à 100%	Très répulsive

2.4.L'analyse statistique

L'analyse ANOVA à trois facteurs a été utilisée pour évaluer l'effet des facteurs : huile, dose et temps d'action des huiles pour établir des différences entre les valeurs moyennes des différents paramètres étudiés. Pour l'analyse ANOVA, on a utilisé cinq huiles (Huile d'olive 1,2 et 3, l'huile essentielle d'orange et le mélange huile d'olive 2 + huile d'armoise), six niveaux de dose (1,2/ 1,6/ 2 ml et 300/350 400 μ l) et quatre temps d'action (24, 48,72 et 96heures) Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel Statistica 7.0 pour Windows.

- $P > 0,05$: différence non significative ;
- $P \leq 0,05$: différence significative ;
- $P \leq 0,001$: différence hautement significative ;
- $P \leq 0,0001$: différence très hautement significative.

Conclusion

L'un des problèmes majeurs que rencontre l'écologie, c'est de trouver un palliatif à l'usage intensif de la lutte chimique contre les ravageurs de cultures et de denrées stockées. Cette lutte chimique présente un inconvénient de taille concernant l'équilibre des écosystèmes et des milieux naturels. En effet, ces produits chimiques présentent des taux de toxicité très élevés induisant la contamination de l'environnement et ayant des répercussions sur la santé des écosystèmes et par là, la santé humaine. Les huiles essentielles extraites de l'écorce d'orange et de la plante d'armoise, ainsi que les huiles d'olives des trois provenances administrées expriment un effet insecticide sur des ravageurs des denrées stockées, *Tribolium confusum*.

En effet, le taux de mortalité des adultes par rapport aux témoins a été significativement affecté durant la période d'exposition aux huiles.

Les résultats de nos chromatographies sur phase gazeuse, montrent que nos huiles, avec un taux d'acide oléique de 63.73% sont proches de celles de la Tunisie avec 68.39% (Ben Tekaya et Hassouna, 2005).

La toxicité de l'huile d'olive est due aux acides gras élevés (Acide oléique, palmitique et linoléique), cette dernière s'est mieux exprimée dans nos tests par contact, avec l'utilisation de l'huile d'olive de pleine saison, qui s'avère la plus riche en acide oléique.

L'efficacité de l'huile d'armoise revient aux composés phénoliques majoritaires la composant, tel que les alcools phénoliques, l'acétate de linolyle, le linaool et le 1.8 cinéol, son efficacité s'est observée dans les tests par contact et les tests par répulsion.

Et l'efficacité de l'huile d'orange est attribuée au limonène, substance majoritairement présente, qui a une action sur la carapace (en chitine) des insectes, entraînant son ramollissement et ainsi la mort du ravageur, son meilleur résultat est obtenu avec les tests par inhalation.

Fort de l'expérience acquise, nous recommandons de poursuivre ce travail sur plusieurs variétés, plusieurs provenances, et d'autres associations afin d'améliorer les résultats.

Ce travail est notre apport personnel à la recherche au sein du laboratoire d'entomologie appliquée, de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Nous apporté notre petite contribution et nous souhaitons poursuivre cette expérience qui nous a beaucoup apporté.



- **AGANCHICH B., EL ANTARI A., WAHBI S., TAHI H., WAKRIM R. AND SERRAJ R. (2008).** Fruit and oil quality of mature olive trees under partial rootzone drying in field conditions. *Grasas y Aceites*, 59 (3): 225-233.
- **AIT YACINE Z., SERHROUCHNI M. AND HILALI S. (2002).** Evolution de la composition acide de l'huile d'olive à différents stades de la maturité des olives. *Cas du périmètre du Tadla-Maroc. Olivae*, 94: 51-53.
- **AJANA H., EL ANTARI A. AND HAFIDI A. (1998).** Fatty acids and sterols evolution during the ripening of olives from the Moroccan Picholine cultivar. *Grasas y Aceites*, 49 (5-6):405-410.
- **ALLALOUT A., KRICHÈNE D., METHENNI K., TAAMALLI A., OUESLATI I., DAOUD D. AND ZARROUK M. (2009).** Characterization of virgin olive oil from super intensive Spanish and Greek varieties grown in northern Tunisia. *Scientia Horticulturae*, 120: 77-83.
- **AMIOT M. J., FLEURIET A. AND MACHEIX J.J. (1989).** Accumulation of oleuropein derivatives during maturation. *Phytochemistry*, 28: 67-69.
- **AMIRANTE P., MARIA LISA CLODOVEO M.L., DUGO G., LEONE A. AND TAMBORRINO A. (2006).** Advance technology in virgin olive oil production from traditional and de-stoned pastes: Influence of the introduction of a heat exchanger on oil quality. *Food Chemistry*, 98:
- **ANGEROSA F., MOSTALLINO R., BASTI C. AND VITO R. (2001).** Influence of malaxation temperature and time on the quality of virgin olive oils. *Food Chemistry*, 72: 19-28.
- **ARSLAN D., KARABEKIR Y. AND SCHREINER M. (2013).** Variation of phenolic compounds, fatty acids and some qualitative characteristics of Sariulak olive oil as induced by growing area. *Food Research International*, 54: 1897-
- **ARTAJO MEDINA L.S. (2006).** Phenolic compounds: Their role during olive oil extraction and in flaxseed-transfer and antioxidant function. *Partie de thèse de doctorat Technologie des aliments. Université de Llieda, Espagne*, 160-179.
- **ASSMANN G. AND WAHRBURG U. (1999).** Effets des composants mineurs de l'huile d'olive sur la santé. *Institut de recherche sur l'athérosclérose, Université de Mûnstre, Allemagne*, 1-8.

References bibliographiques

- **AIT AIDER F., KELLOUCHE A., FELLAG H., DEBRAS J., 2016** – Evaluation of the bio-insecticidal effects of the main fatty acids of olive oil on *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera- Bruchidae) in cowpea (*Vigna unguiculata* (L)). 123: 235-245.
- **AMELLAL F., 1980** - Etude de la valeur insecticide de quelques produits dans la lutte contre *Tribolium castaneum* H. des denrées alimentaires stockées (Coleoptera : Tenebrionidae). Thèse d'ingénieur d'Etat en Agronomie. INA, El Harrach : 6 -12.

B

- **BACCOURI O., GUERFEL M., BACCOURI B., CERRETANI L., BENDINI A., LERCKER G., ZARROUK M. AND BEN MILED D. D. (2008)**. Chemical composition and oxidative stability of Tunisian monovarietal virgin olive oils with regard to fruit ripening. Food Chemistry, 109:743-754.
- **BACCOURI O., GUERFEL M., BONOL-CARBOGNIN M., CERRETANI L., BENDINI A., ZARROUK M. AND DAOUD D. (2009)**. Influence of irrigation and site of cultivation on qualitative and sensory characteristics of a Tunisian minor olive variety (cv. Marsaline). La Rivista Italiana delle Sostanze Grasse, 86 (3): 173-180.
- **BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. ET IDAOMAR, M. 2008**. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology 46 : 446–475.
- **BAKKALI F., S. AVERBECK, D. AVERBECK & IDAOMAR M, 2008-** biological effects of essential oils: A review. Food Chemical. Toxicology., 46: 446-475.
- **BALACHOWSKY A. S., 1962** - Entomologie appliquée à l'agriculture.Ed. Masson et cie, paris, Tome I, pp .378-392.
- **BALDY C.1986**. Comportement des blés dans les climats méditerranéens. Ecologia Mediterranea, (12): 73-88.
- **BEN TEKAYA I. AND HASSOUNA M. (2005)**. Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge extra tunisienne au cours de son stockage. Oléagineux Corps Gras Lipides, 12 (5-6) : 447-453.
- **BEN TEMIME S., MANAI H., METHENNI K., BACCOURI B., ABAZA L., DAOUD D., SANCHEZ CASAS J., BUENO E.O. AND ZARROUK M. (2008)**. Sterolic composition of Chetoui virgin olive oil: Influence of geographical origin. Food Chemistry, 110: 368-374.

References bibliographiques

- **BÉNÉDICTE ET MICHEL, B. (2011).** Agrumes comment les choisir ET cultiver facilement. Les éditions eugen ulmer, 8 rue Blanche, Paris, N° d'édition: 440-01.p.127.
- **BENGANA M., BAHOUCE A., LOZANO-SÁNCHEZ J., AMIR Y., YOUYOU A., SEGURA-CARRETERO A. AND FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ A. (2013).** Influence of olive ripeness on chemical properties and phenolic composition of Chemlal extra-virgin olive oil. Food Research International, 54: 1868-1875.
- **BOLOT S., ABROUK M., MASOOD-QURAISHI U., STEIN N., MESSING J., FEUILLET C. AND SALSE J. 2009.** The “inner circle” of the cereal genomes. Current opinion in plant biology, 12(2):119–125.
- **BONJEAN A. ET PICARD E., 1990-** Les céréalesa pailles, origine, histoire, économie, sélection. Ed Soft Word. Groupe ITM. Pp 29-40 Alger. Pp 2-20.
- **BOSKOU D., BLEKAS G. AND TSIMIDOU M. (2006).** Olive oil composition In olive oil: Chemistry and Technology, Boskou, D., Ed. The American Oil Chemists' Society Press, pp 41-72.
- **BOUSBIA, N. (2009).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique.
- **BRENES M., GARCIA A., GARCIA P., RIOS J.J. AND GARRIDO A. (1999).** Phenolic compounds in Spanish olive oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(9): 3535-3540.
- **BRENES M., GARCIA A., RIOS J.J., GARCIA, P. AND GARRIDO A. (2002).** Use of 1 acetoxypinoresinol to authenticate Picual olive oils. International Journal of Food - Dağdelen A., Tümen G., Özcan M. M. and Dündar E. (2013). Phenolic profiles of olive fruits (*Olea europaea* L.) and oils from Ayvalik, Domat and Gemlik varieties at different ripening stages. Food Chemistry, 136: 41-45.
- **BRUNETON J .1999-** phytochimie, plantes médicinales, Ed. Technologie et documentation.Lavoisier, 385-623.
- **BRUNETON J.,Paris, 1999** pharmacognosie , phytochimie, plantes medicinales, Edition Tec et doc,p 327-328, p 562 a 569, p489-490. California, Berkeley.
- **BRUNETON, J. (1999).** "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes - Bendini A., Cerretani L., Carrasco-Pancorbo A., Gomez-Caravaco A.M., Segura

References bibliographiques

- **BACHROUCH O., MEDIONI-BEN JEMÄA J., CHAIEB I., TALOU T., MARZOUK B., AND ABDERRAB M. (2010)** - Insecticidal activity of *Pistacia lentiscus* essential oil on *Tribolium castaneum* as alternative to chemical control in storage. *Tunisian Journal of Plant Protection* 5: 63-70.
- **BELLAHMER C., 2012** - Effet bio insecticides de l'acide oléique et l'acide stéarique à l'égard de *C. maculatus*. Mémoire d'ingénieur. U.M.M.T.O. 45p.
- **BELTRAN G., PAZ AGUILERA M., DEL RIO C., SANCHEZ S. AND MARTINEZ L. (2005)**. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*, 89: 207-215.
- **BENBELKASSEM et BENARAB., 2012** - Effet de l'activité insecticide de différentes variétés d'huiles d'olive vierge, de deuxième pression et margine à l'égard de *C. maculatus*. Mémoire d'ingénieur. U.M.M.T.O. 45 p.

C

- **CERRETANO A., Fernandez-Gutierrez A. and Lercker G. (2007)**. Phenolic molecules in virgin olive oils; a survey of their sensory properties, health effects, antioxidant activity and analytical methods. An overview of the last decade. *Molecules*, 12 (8): 1679-1719.
- **CHRISTOPOULOU E., Lazaraki M. and Alexiou F. (1995)**. La qualité de l'huile d'olive vierge grecque : critères chimiques et organoleptiques. *Olivae*, 56: 54-59.
- **CICHELLI A. and Pertesana G. P. (2004)**. High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oil: chemometric approach to variety classification. *Journal of Chromatography*, 1046: 141-146.
- **CATARINO, Marcelo D. et al. - Characterization of phenolic constituents and evaluation of antioxidant properties of leaves and stems of *Eriocephalus africanus*. *Arabian Journal of Chemistry*. ISSN 18785352. 2015). doi: 10.1016/j.arabjc.2015.04.018.**
- **CROWELL P.L., Gould M.N.; Crit. Rev. Oncog., 1994, 5, 1** – Elson C.E. ; *J. Nutr.*, **1995**, 125, 1666S – Elson C.E., Peffley D.M., Hentosh P., Mo H. ; *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **1999**, 221, 294 – Haag J.D., Lindstrom M.J., Gould M.N. ; *Cancer Research*, **1992**, 52, 4021 – Elegbede J.A., Elson C.E., Qureshi A., Tanner M.A., Gould M.N. ; *Carcinogenesis*, **1984**, 5, 661

D

- **DHIFI W., BEN KHEDHER M., Elyes Kechouk M. and Marzouk B. (2006).** Etude qualitative et quantitative des arômes et des polyphénols de quelques huiles d'olive de Tunisie. *Olivae*, 105: 36-40.
- **DONGMOA P.M. J., Kuateb J., Boyomc F.F., Ducelierb D., Damesseb F., Zolloa P.H.A., Menutd C., BessieredJ. M.,** Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, *Fruits*, vol. 57 (2) (2001)
- **DUGO G., Lo Turco V., Pollicino D., Mavrogeni E. and Pipitone F. (2004).** Caractérisation d'huiles d'olive vierges siciliennes. Variation qualitative des huiles des fruits des cultivars « Biancolilla, Nocellara del Belice , Cerasuola , Tonda Iblea et Crastu » en fonction des techniques et de l'époque de récolte des olives. *Olivae*, 101: 44-52.
- **DYER, R. ALLEN, The Genera of Southern African Flowering Plants". ISBN 0 621 02854 1, 1975** - El Antari A., El Moudni A., Boujnah M., Cert A. and Ajana H. (2002). Region and watering frequency effects on quality and acid composition evolution of Moroccan olive oil. *New Medit*, 1 (2): 55-59.
- **DON-PEDRO., 1989** – Effets of fixed vegetable oils on oviposition and adult mortality of *Callosobruchus maculatus* (F) on cowpea *International pest Control* 31-34- 37.

E

- **EL RIACHY M., PRIEGO-CAPOTE F., LEÓN L., RALLO L. AND LUQUE DE CASTRO M. D. (2011).** Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 2: Biosynthesis and biotransformation of phenolic compounds in virgin olive oil as affected by agronomic and processing factors. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113: 692-707.

F

- **FEDELI E. (1999).** Qualité (stockage, conservation et conditionnement de l'huile), réglementation et contrôle. Séminaire international sur les innovations scientifiques et leurs applications en oléiculture et oléotechnique. Florence, 10, 11 et 12 mars 1999. Conseil Oleicole International, 1-20.

References bibliographiques

- **FEUILLET P.2000.** Le Grain de blé: composition et utilisation. Editions Quae, 2000 - 308 p.
- **FREGAPANE G. AND SALVADOR M. S. (2013).** Production of superior quality extra virgin olive oil modulating the content and profile of its minor compounds. Food Research - Hussain, A.I., 2009. Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Thèse de Doctor of Philosophy en Chimie, université d'agriculture de Faisalabad, Pakistan : 218p.

G

- **GARCIA-GONZÁLEZ D. L., Viera M., Tena N. and Aparicio R. (2007).** Evaluation of the methods based on triglycerides and sterols for the detection of hazelnut oil in olive oil. Grasas y Aceites, 58 (4): 344-350.
- **GIMENO E., CASTELLOTE A.I., Lamuela-Raventos R.M., De la Torre M.C. and Lopez- Sabater - Giuffrida D., Salvo F. Salvo A. La Pera L. and Dugo G. (2007).** Pigments composition in monovarietal virgin olive oils from various Sicilian olive varieties. Food chemistry, 101 (2): 833-837.
- **-GADA L. et MAMMAR D., 2013** – Caractérisation et effet bio insecticide de deux types de l'huile d'olive de deux variétés d'huiles d'olive (Chemlal, Azeradj) à l'égard de deux insectes ravageurs des denrées stockées *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera ; Bostrychidae) et *Tribolium castaneum* (Coleoptera ; Tenebrionidae), mémoire de master en biologie (oléiculture/oléiotechnie). U.M.M.T.O.p 27.
- **GELB M.H., TAMANOI F., Yokoyama K., Ghomashchi F., Esson K., Gould M.N. ; Cancer Letters, 1995, 91, 169**
- **GHESTEM, A., SEGUIN, É., Paris, M. et Orecchioni, A-M. 2001.**
- **GILLIJ Y.G., GLEISER R.M., Zygadlo J.A. ; Mosquito repellent activity of essentials oils of aromatic plants..., Bioresour. Technol., 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2007.04.066**

H

- **HAMRAOUI A, REGNAULT-ROGER C. 1995.** Oviposition and larval growth of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae) in regard to host and non host plants from.

I

- **ILYASOGLU H, OZCELIK B, HOED V V, VERHE R. 2010.** Characterization of Aegean Olive Oils by Their Minor Compounds. J. Am. in Mozambique. project No.J1002/2 : 188p. International, 54, 1907-1914.
- **INGLESE P. (1994).** L'influence de la variété sur les caractéristiques qualitatives de l'huile d'olive. *Olivae*, 54 : 42-44.

K

- **KECELI T. AND GORDON M.H. (2001).** The antioxidant activity and stability of the phenolic fraction of green olives and extra virgin olive oil. *Journal of Science and Food Agriculture*, 81: 1391-1396.
- **KELLOUCHE A., 2005** – Etude de la bruche de pois-chiche, (*Callosobruchus maculatus* (F) (Coleoptera: Bruchidae) : Biologie, Physiologie, reproduction et lutte. Thèse de doctorat en sciences naturelles, spécialité entomologie. U.M.M.T.O, 215 P.

L

- **LES COLÉOPTÈRES DES DENRÉES ALIMENTAIRES et des produits industriels entreposés.** Ed. P. Le chevalier, Paris, pp. 61 - 67.
- **LES INSECTES ET LES ACARIENS DES CÉRÉALES STOCKÉES.** Ed. AFNOR et I.T.F.C., Paris, pp. 1-62. Swingle, W.T. 1967. The botany of citrus and its wild relatives. Éd. Taylor & Francis, London: 504p TRIPATHI AK, PRAJAPATI V, AGGARWAL KK, KUMAR S. 2001
- **LOUSSERT, R. (1989).** Les agrumes.2.paris : production Edition Lavoisier. 157 p. - Luna G., Morales M.T. and Aparicio R. (2006). Characterisation of 39 varietal virgin olive oils by their volatile compositions. *Food chemistry*, 98: 243-252.
- Le préparateur en pharmacie-Dossier 2 « Botanique- Pharmacognosie- Phytothérapie- Homéopathie » Éditions Tec & Doc, Éditions médicales internationales, Paris : 275p LEPESME P., 1944

M

- **M.C. (2002).** The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry*, 78:207-211.

References bibliographiques

- **MATOS L.C., CUNHA S.C., AMARAL J.S., PEREIRA J.A., ANDRADE P.B., SEABRA R.M. AND OLIVEIRA B.P.P (2007).** Chemometric characterization of three varietal olive oils (Cvs. Cobrançosa, Madural and Verdeal Transmontana) MBB Consulting Services South (Pty) Ltd Stellenbosch, South Africa. "médicinales" Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, Paris : 1120p.
- **MIERENDORFF, H.-G., STAHL-BISKUP, E., POSTHUMUS, M.A., VAN BEEK, T.A., 2003.** Composition of commercial Cape Chamomile oil (*Eriocephalus punctulatus*). Flavour and Fragrance Journal 18, 510–514.
- **MILIAUSKAS G., VENSKUTONIS P.R. AND VAN BEEK T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chemistry, 85: 231-237.
- **MINGUEZ-MOSQUERA M.I, GANDUL-ROJAS B., GARRIDO-FERNANDEZ J., AND GALLARDO-GUERRERO L. (1990).** Pigments present in virgin olive oil. Journal of American Oil Chemist's Society, 67 (3): 192-196.
- **MOYSE J., PARIS, 1981** pharmacognosie et phytothérapie orientale, Edition Medipharma ASBL, p 70-71 - Ninfali P., Aluigy G., Bacchiocca M. and Magniani M. (2001). Antioxydant capacity of extravirgin olive oil. American Journal Oil Chemist's Society, 78 (3): 243-247.

N

- **NJENGA, E.W., 2005.** The chemotaxonomy, phylogeny, and biological activity of the genus *Eriocephalus* L (Asteraceae). Ph.D. thesis, Faculty of Health Sciences, University of the Witwatersrand, Johannesburg. - Patumi M., D'Andria R., Fontanazza G., Morelli G., Giorio P. and Sorrentino G. (1999). Yield and oil quality of intensively trained trees of three cultivars of olive (*Olea europaea* L.) under different irrigation regimes. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 74 (6): 729-737.
- **NAMANE D. et MEZANI F., 2014** – Composition chimique de l'huile d'olive de différentes régions de Kabylie, étude de son activité insecticide à l'égard de *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). Mémoire de Master en Biologie. U.M.M.T.O. : 20 – 34.

O

- **OLLIVIER D., BOUBAULT E., PINATEL C., SOUILLOL S., GUÉRÈRE M. AND ARTAUD J. (2004).** Analyse de la fraction phénolique des huiles d'olive vierges. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique, 965 (2): 169-196.

References bibliographiques

- **OZENDA.R., 2000** – Organismes végétaux, 2. Végétaux supérieurs Tome2.Paris 516.

P

- **PARDO J.E., CUESTA M.A. AND ALVARRUIZ A. (2007)**. Evaluation of potential and real quality of virgin olive oil from the designation of origin “Aceite Campo de Montiel (Ciudad Real, Spain). Food Chemistry, 100: 977-984.
- **PERRIN J.L. (1992)**. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l’olive et de son huile. Etude et recherche, 4 : 25-31.
- **PHILLIPS K.M., RUGGIO D. M., TOIVO J. I., SWANK M. A. AND SIMPKINS A.H. (2002)**. Free and Esterified Sterol Composition of Edible Oils and Fats. Journal of Food Composition and Analysis, 15:123-142.
- **PIBIRI, M-C., 2005**. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat, école polytechnique fédérale de Lausanne : 161p.
- **PSOMIADOU E. AND TSIMIDOU M. (2002a)**. Stability of Virgin Olive Oil. 1. Autoxidation Studies. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (4): 716-721.
- **PSOMIADOU E. AND TSIMIDOU M. (2002b)**. Stability of Virgin Olive Oil. 2. Photo-oxidation Studies. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (4): 722-727.

R

- **RAMÍREZ-TORTOSA M.C., GRANADOS S. AND QUILES J.L. (2006)**. Chemical composition, types and characteristics of olive oil In Olive oil and health. CABI Publishing, pp 45-62.
- **RANALLI A, FERRANTE ML, DEMATTIA G, COSTANTINI N. 1999**. Analytical evaluation of virgin olive oil of first and second extraction. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 417–424.
- **RESSOURCES MÉDICINALES DELA FLORE FRANÇAISE, TOME I**, Vigot Freres Editeurs, p634 à 649 Reuther, W., Batchelor, L. D. et Webber, J.H. The citrus industry - Roca M. and Minguez-Mosquera M.I. (2001). Changes in Chloroplast Pigments of Olive Varieties during Fruit Ripening. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49: 832- 939.

References bibliographiques

- **ROHLOFF, J. 2003.** Cultivation of herbs and medicinal plants in Norway– Essential oil production and quality control. Thèse de Doctor of Philosophy dans le Biocentre des plantes, Département de Biologie Faculté des Sciences naturelles et Technologies, université norvégienne des Sciences et Technologie, Trondheim, Norvège. 59p.
- **ROTONDI A. AND MAGLI M. (2004).** Ripening of olive var. Correggiuolo: Modification of oxidative stability of oils during ripening and oil storage. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 2(3&4):193-199.
- **RUNCIO A., SORGONA L., MINCIONE A., SANTACATERINA S. AND POIANA M. (2008).** Volatile compounds of virgin olive oil obtained from Italian cultivars grown in Calabria. Effect of processing methods, cultivar, stone removal, and anthracnose attack. *Food Chemistry*, 106: 735-740.
- **RYAN D., ROBARDAS K. AND LAVÉE S. (1998).** Evaluation de la qualité de l'huile d'olive. *Olivae*, 72 : 26-38.
- **REGNAUL R., 2003** - Bio pesticides d'origine végétale. Ed Tec et Doc ; Lavoisier, p369
- **REGNAULT-ROGER C, RIBODEAU M, HAMRAOUI A, BAREAU I, BLANCHARD P, GIL-MUNOZ MI, BARBERAN FT. 2004.** Polyphenolic compounds of Mediterranean Lamiaceae and investigation of orientational effects on *A. obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*. 40:395–408.
- **REGNAULT-ROGER C., HAMRAOUI A., HOLEMAN M., THERON E., PINET R., 1993** - Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obectus* Say (Coleoptera: Bruchidae), a pest of Kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L). *Journal of Chemical Ecology*, Vol. 19, pp. 1233-1244.

S

- **SALAS J.J., SANCHEZ J., RAMLI U.S., MANAF A.M., WILLIAMS M. AND HARWOOD J.L. (2000).** Biochemistry of lipid metabolism in olive and other oil fruits. *Progress in Lipid Research*, 39: 151-180.
- **SÁNCHEZ J. AND HARWOOD J.L. (2002).** Biosynthesis of triacylglycerols and volatiles in olives. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 104: 564-573. *Science and Technology*.

References bibliographiques

- **SERVILI M., SELVAGGINI R., ESPOSTO S., TATICCHI A., MONTEDORO G. AND MOROZZI G. (2004).** Health and sensory properties of virgin olive oil hydrophilic phenols: Agronomic and technological aspects of production that affect their occurrence in the oil. *Journal of Chromatography A*, 1054: 113-127
- **SECK D., 1991** - Importance économique et développement d'une approche de lutte intégrée contre les insectes ravageurs des stocks de maïs, de mil et de niébé en milieu paysan. *Sahel PV info*. N°33, pp 15-20. 37: 615-625.
- **SELVAGGINI R., SERVILI M., URBANI S., ESPOSTO S., TATICCHI A. AND MONTEDORO G.F. (2006).** Evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil by direct injection in high performance liquid chromatography with fluorometric detection. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54(4):2832-2838.
- **SMITH EH, WHITMAN R.C., 1992** - Field Guide to Structural Pests. National Pest Management Association, Dunn Loring, VA. New York, pp 59-62.
- **SOULIER J. AND FARINES M. (1992).** L'insaponifiable In: Manuel des corps gras. Lavoisier, Ed. Technique et Documents, pp.95-112. Southern and Eastern Africa, 2nd edn. Livingstone, Edinburg, UK, pp. 228–389. STEFFAN J.R., 1978-Description et Biologie des insectes in SCOTTI G., 1978

T

- **TAMENDJARI A., ANGEROSA F., METTOUCHI S. AND BELLAL M.M. (2009).** The effect of fly attack (*Bactrocera oleae*) on the quality and phenolic content of Chemlal olive oil. *Grasas y- Taticchi A., Esposto S., Veneziani G., Urbani S., Selvaggini R. and Servili M. (2013).* The influence of malaxation temperature on activity of polyphenoloxidase and peroxidase on phenolic composition of virgin olive oil. *Food Chemistry*, 136: 975-983.
- **TEUSCHER, E., ANTON, R. ET LOBSTEIN, A. 2005.** « Plantes aromatiques—épices, aromates, condiments et huiles essentielles » Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales, Paris 560p.
- **TOXICITY, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-Cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae).** *Journal of Economic Entomology*, N° 94, pp. 979-983.
- **Tuck K.L. and Hayball P.J. (2002).** Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 636-644.

References bibliographiques

- "THE PLANT LIST: A WORKING LIST OF ALL PLANT SPECIES". Retrieved 11 February 2015.



- **VANWYK, B.-E., VAN OUDTSHOORN, B., Gericke, N., 1997.** Medicinal Plants of South.
- **VAN WYK, B.-E., GERICKE, N., 2000.** People's plants. A Guide to Useful Plants of Southern Africa. Briza, Pretoria, South Africa. ISBN: 1-875093-19-2, pp. 218–219.
- **VAZQUEZ-RONCERO A. (1978).** Les polyphénols de l'huile d'olive et leur influence sur les caractéristiques de l'huile. *Revue Française des Corps Gras*, 78 (4): 21-26.
- **Velasco J. and Dobarganes C. (2002).** Oxidative stability of virgin olive oil. *European*.
- **VEKIARI S. A., OREOPOULOU V., Kourkoutas Y., Kamoun N., Msallem M., Psimouli V. and Arapoglou D. (2010).** Characterization and seasonal variation of the quality of virgin olive oil of the Throumbolia and Koroneiki varieties from Southern Greece. *Grasas y Aceites*, 61 (3): 221-231.
- **VERDEGUER, Mercedes; BLÁZQUEZ, M. Amparo; BOIRA, Herminio -** Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology*. . ISSN 03051978.37:4(2009)362–369.
- **VISIOLI F. AND GALLI C. (1998).** Olive oil phenols and their potential effects on human health. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 4292-4296.
- **VOLUME 1: 190-430. DIVISION OF AGRICULTURE SCIENCES, University of WALTER E., 2002 -** Pests of stored food products.
<http://entomology.ucr.edu/ebeling/ebeling>. *Journal of Lipid Science and Technology*. 104: 661-676.
- **VICHI S., CASTELLOTE A.I., PIZZALE L., CONTE L.S., Buxaderas S. and Lopez-Tamames E. (2003).** Analysis of virgin olive oil volatile compounds by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*, 983: 19-33.

W

- **WATT, J.M., BREYER-BRANDWIJK, M.G., 1962.** The Medicinal and Poisonous of Plants.
- **WATT, JOHN MITCHELL; BREYER-BRANDWIJK, Maria Gerdina:** The Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa 2nd ed Pub. E & S Livingstone 1962.
(<https://www.researchgate.net/publication/271444862> Activite antioxydante des composes phenoliques d'huile d'olive extraite par methode traditionnelle
[accessed Jul 05 2018].)

Z

- **ZARROUK M., MARZOUK B., Ben Miled Daoud D. and Chérif A. (1996).** Accumulation de la matière grasse de l'olive et l'effet du sel sur sa composition. Olivae, 61: 41-45.