

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département : Génie des Procédés

Mémoire du Projet de fin d'étude
2^{ème} Année Master

Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de
***Eucalyptus Globulus* :**
Application comme insecticide

Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie Chimique

Présenté par :
REGHAISSIA Imène

Sous la Direction de :
Pr. BENHAMIDA Aida

2020

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma mère chérie, pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa confiance, sa disponibilité, son écoute permanente et pour son soutien moral et matériel sans égal.

A mon père, qui m'a toujours poussée pour aller toujours de l'avant et qui m'a appris les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils, encouragement et la confiance qu'il m'a donnée.

A mon frère KHALED qui m'a toujours aidée et qui a été toujours à mes côtés.

A mes chères sœurs SARA et AMIRA et leurs maris.

A ma nièce adorée SADJA et mes neveux ANES et AMINE.

A mon grand-père et mes chères tantes.

A madame Aida BENHAMIDA, qui m'a guidée avec patience et gentillesse tout au long de la réalisation du mémoire.

A toutes mes amies surtout : HADIL, IMENE, BOUTHEINA, ma confidente INES, RANDA et FERIEL.

A tous mes camarades de la promotion 2019/2020.

A tous ceux qui m'ont encouragé et qui ont contribué de loin ou de près pour la réalisation de ce modeste travail.



Remerciements

Mes remerciements s'adressent à toutes les personnes qui m'ont aidée et soutenue tout le long de l'élaboration de ce travail, en particulier :

Je remercie tout d'abord ALLAH tout puissant de m'avoir accordée la force, le courage et la patience pour terminer ce mémoire.

Je tiens à remercier mes chers parents pour leur encouragement et leur soutien moral durant toute la période de la réalisation de ce travail ♥

Je remercie particulièrement mon encadreur ***Pr Aida BENHAMIDA***, d'abord pour son aide en ce qui concerne mon stage à l'étranger, pour ses remarques et conseils précieux qu'elle m'a prodiguée avec gentillesse, pour son encouragement et son accompagnement tout le long de la réalisation de ce travail, aussi pour son dévouement à mon égard.

Je tiens à adresser mes profonds remerciements à ***Mr CHERAITIA A.*** pour son aide précieuse afin de réaliser les tests des analyses spectroscopiques malgré ses occupations.

Aux ingénieures du laboratoire de Génie des Procédés de l'Université de Guelma ***MARIEM BOUYEDA, NISSA*** et ***SIHAM*** et ceux des laboratoires du département des Sciences de la Matière.

A ma meilleure amie ***Hadil BELGHARBI*** pour son soutien moral, son encouragement et son partage d'idées tout au long de mon travail.

Sans oublier les membres de jury de ma soutenance qui ont accepté d'évaluer mon travail.

Liste des abréviations

OMS	Organisation Mondiale de la Santé
°C	Degré Celsius
Ha	Hectare
BPCO	La broncho-pneumopathie chronique obstructive
HSV	Herpes Simplex Virus
2D, 3D	2 dimensions, 3 dimensions
Rotavap	Evaporateur rotatif
AFNOR	Association française de normalisation
CO ₂	Dioxyde de carbone
T _c	Température critique
KOH	Hydroxyde de potassium
R _{HE} %	Rendement en huile essentielle
m _{HE}	Poids de l'huile essentielle
m _v	Poides de la matière sèche de la plante
I _a	Indice d'acide
V	Volume
M	Molarité
m	Masse
T	Température
I _D ²⁰	Indice de réfraction à 20°C
d	Densité
d ₂₀ ²⁰	Densités relative
pH	Potentiel d'hydrogène
CCM	Chromatographie sur couche mince
UV	Ultra-violet
R _f	Rapport frontal
D, d	Diamètre
IRTF	Infrarouge à transformée de Fourier
nm	Nanomètre
Log	Logarithme
I	Intensité

λ	Longueur d'ondes
max	maximum
μm	Micromètre
μl	Microlitre
M %	Taux de mortalité
DL	Dose létale
TL	Temps létal
HE	Huile essentielle
GC/MS	Chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse

Listes des figures et tableaux

☞ Liste des figures

Chapitre I : L'*Eucalyptus globulus*

Figure		Page
Figure I-1	Fossiles d' <i>Eucalyptus</i> retrouvés à Lagune Del Hunco	3
Figure I-2	L'arbre d' <i>Eucalyptus globulus</i>	5
Figure I-3	L'écorce	6
Figure I-4	Feuilles juvéniles	6
Figure I-5	Feuilles adultes	6
Figure I-6	Feuilles sèches et coupées	6
Figure I-7	Fruits et graines	7
Figure I-8	Fleurs	7
Figure I-9	Squelette de base des flavonoïdes	9
Figure I-10	Structure des flavonoïdes après oxydation	9

Chapitre II : Les huiles essentielles

Figure II-1	Quelques exemples d'appareils sécréteurs	13
Figure II-2	Structure des quelques monoterpènes	15
Figure II-3	Structure de quelques sesquiterpènes	16
Figure II-4	Chromatogramme type d'une huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	18
Figure II-5	Structure d'Eucalyptol en 2D et 3D	18
Figure II-6	Structure de l'Alpha-pinène en 2D et 3D	19
Figure II-7	Structure du Globulol en 2D et 3D	20
Figure II-8	Structure du Limonène en 2D et 3D	20
Figure II-9	Etapes d'obtention des huiles essentielles	24
Figure II-10	L'hydrodistillation traditionnelle	25
Figure II-11	Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante	26
Figure II-12	Soxhlet	27

Figure II-13	Evaporateur rotatif	27
Figure II-14	Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes	28
Figure II-15	Diagramme de phase d'un fluide	29
Figure II-16	Schéma de l'extraction au CO2 supercritique	29
Figure II-17	Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore	30

Chapitre III : Méthodes et matériel

Figure III-1	Les fruits et feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	31
Figure III-2	Dispositif de l'hydrodistillation	32
Figure III-3	L'huile extraite des feuilles (a) et des fruits (b)	33
Figure III-4	(a) : avant le changement de couleur ; (b) : après le changement de couleur après un certain volume de KOH	35
Figure III-5	Le réfractomètre	35
Figure III-6	La gamme de couleur selon le pH	37
Figure III-7	Etapas de la CCM	37
Figure III-8	Lampe UV	38
Figure III-9	Spectromètre infrarouge	39
Figure III-10	Principe de la loi d'absorptiomètre	40
Figure III-11	Spectromètre HACH LANGE DR 6000	40
Figure III-12	Cycle de développement d' <i>Ephestia kuehniella</i>	42
Figure III-13	Photo réelle d'une des fourmis utilisées	43
Figure III-14	L' <i>Ephestia kuehniella</i> et les fourmis	44
Figure III-15	Les larves de mites lors du test	45
Figure III-16	Les fourmis lors du test	46

Chapitre IV : Résultats et discussion

Figure IV- 1	Rendement d'huile essentielle extraite d' <i>Eucalyptus globulus</i>	48
Figure IV- 2	Coupe transversale des feuilles d' <i>E. globulus</i>	49
Figure IV- 3	Résultat du test CCM	52

Figure IV-4	Spectre IRTF de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> enregistré entre 4000 et 650 cm ⁻¹	53
Figure IV-5	Spectre UV-visible de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	54
Figure IV-6	Mortalité observée (%) sur les larves d' <i>Ephestia kueniella</i> , en fonction du temps et des doses de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	56
Figure IV-7	Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> après 4h	57
Figure IV-8	Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> après 24h	58
Figure IV-9	Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 50 µl de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	59
Figure IV-10	Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 150 µl de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	60
Figure IV-11	Mortalité observée (%) des fourmis, en fonction du temps et des doses de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	62
Figure IV-12	Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> après 7min	63
Figure IV-13	Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 10 µl de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	64

☞ Liste des Tableaux

Chapitre I : L'*Eucalyptus globulus*

Tableau		Page
Tableau I-1	Classification systématique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	5

Chapitre II : Les huiles essentielles

Tableau II-1	Parents hydrocarbonés des terpènes des huiles essentielles	15
--------------	--	----

Chapitre III : Méthodes et matériel

Tableau III-1	Matériel et produits utilisés	32
Tableau III-2	La position systématique d' <i>Ephestia kuehneilla</i>	41
Tableau III-3	Position systématique des fourmis	43
Tableau III-4	Table de transformation des pourcentages en probit	47

Chapitre IV : Résultats et discussion

Tableau IV-1	Rendement d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	48
Tableau IV-2	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	49
Tableau IV-3	Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	50
Tableau IV-4	Résultat de la CCM	52
Tableau IV-5	Résultats de l'effet insecticide de l'HE sur le taux de mortalité en % des larves d' <i>Ephestia kuehniella</i>	55
Tableau IV-6	Résultats de l'effet insecticide de l'HE après correction des taux de mortalités	55
Tableau IV-7	Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigées en probit, après 4h	56
Tableau IV-8	Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigés en probit, après 24h	57
Tableau IV-9	Les doses létales après 4h et 24h d'exposition à l'HE	58
Tableau IV-10	Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 50 μ l	59
Tableau IV-11	Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 150 μ l	60
Tableau IV-12	Les temps létaux en utilisant 50 μ l/ml et 150 μ l/ml d'HE	60
Tableau IV-13	Résultats de l'effet insecticide de l'HE sur le taux de mortalité en % des fourmis	61

Tableau IV-14	Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigées en probit, après 7min	62
Tableau IV-15	Les doses létales après 7 min d'exposition à l'HE	63
Tableau IV-16	Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 10 μ l	63
Tableau IV-17	Les temps létaux à une concentration de 10 μ l	64

SOMMAIRE

SOMMAIRE

SOMMAIRE	PAGE
Introduction générale	1
Chapitre I : L'<i>Eucalyptus globulus</i>	
I-1- Historique	3
I-2- Généralités	4
I-3- Taxonomie et systématique	5
I-4- Description botanique	5
I-5- Condition de culture.....	7
I-6- La répartition géographique.....	8
I-7- Constituants.....	9
I-7-1- Flavonoïdes.....	9
I-7-2- Tanins.....	10
I-7-3- Huiles essentielles	10
I-8- Propriétés des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	10
Chapitre II : Les huiles essentielles	
II-1- Définition	12
II-2- Synthèse et stockage des huiles essentielles	12
II-3- Propriétés physiques	13
II-4- Composition chimique	14
II-4-1- Les composés terpéniques	14
II-4-2- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane	16
II-4-3- Les composés d'origines diverses	17
II-5- L'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	17
II-5-1- Les principaux composants chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	18
II-6- Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides	21
II-7- Activité insecticide des huiles essentielles	21
II-8- Méthodes d'extraction	23

II-8-1- L'hydrodistillation	24
II-8-2- Entrainement à la vapeur	25
II-8-3- Extraction au Soxhlet	26
II-8-4- Extraction assistée par micro-ondes	28
II-8-5- Extraction par fluide à l'état supercritique	28
II-8-6- Extraction par ultrasons	30

Chapitre III : Méthodes et matériel

PARTIE I : Extraction de l'huile essentielle et l'étude physicochimique

III-1-1- Matériel utilisé	31
III-1-1-1- Matériel végétal	31
III-1-1-2- Matériel et produits du laboratoire	32
III-1-2- Extraction des huiles essentielles	32
III-1-2-1- Principe de l'extraction par hydrodistillation	32
III-1-2-2- Protocole d'extraction	33
III-1-2-3- Rendement des huiles essentielles	33
III-1-2-4- Conservation des huiles essentielles	33
III-1-3- Caractérisation de l'huile essentielle	34
III-1-3-1- Caractéristiques organoleptiques	34
III-1-3-2- Caractéristiques physico-chimiques	34
III-1-3-2-1- L'indice d'acide	34
III-1-3-2-2- L'indice de réfraction	35
III-1-3-2-3- La densité	36
III-1-3-2-4- Mesure du pH	37
III-1-4- Analyse chromatographique	37
III-1-5- Analyses spectroscopiques	38
III-1-5-1- Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	38
III-1-5-2- Spectroscopie UV-visible	39

PARTIE II : Evaluation de l'effet insecticide de l'HE extraite des feuilles

III-2-1- Matériel biologique	41
III-2-1-1- <i>Ephestia kuehniella</i>	41
III-2-1-2- Les fourmis	43
III-2-2- Test de l'effet insecticide de l'huile essentielle	44

III-2-2-1- Mode opératoire	44
III-2-2-2- Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle	45
III-2-2-3- Correction de mortalité	46
III-2-2-4- Calcul des doses létales et temps létaux (DL ₅₀ DL ₉₀ et TL ₅₀ DL ₉₀)	46

Chapitre IV : Résultats et discussion

PARTIE I : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

IV-1-1- Le rendement des huiles essentielles	48
IV-1-2- Propriétés organoleptiques	49
IV-1-3- Analyses des caractéristiques physico-chimiques	49
IV-1-3-1- Indice d'acide	49
IV-1-3-2- L'indice de réfraction	50
IV-1-3-3- La densité	50
IV-1-3-4- Le pH	50
IV-1-4- Analyse chromatographique sur couche mince CCM	51
IV-1-5- Analyses spectroscopiques	52
IV-1-5-1- Analyse de la structure par Spectroscopie IRTF	52
IV-1-5-2- Spectroscopie UV-visible	53
PARTIE II : Application de l'huile essentielle extraite en tant que bio-insecticide	54
IV-2-1- Effet de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur l' <i>Ephestia kuehniella</i>	55
IV-2-1-1- Calcul des doses létales	56
IV-2-1-2- Calcul des temps létaux	59
IV-2-2- Effet de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur les fourmis	61
IV-2-2-1- Calcul des doses létales	62
IV-2-2-2- Calcul des temps létaux	63

Conclusion Générale	66
----------------------------------	-----------

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction générale

Les plantes et les végétaux représentent une source de principes actifs inépuisable et renouvelable, dont l'usage traditionnel et médical est connu depuis plusieurs siècles. Il existe ainsi un besoin de production de substances bioactives isolées, concentrées et purifiées, pour une utilisation dans un large champ d'application entre autres, les cosmétiques, le pharmaceutique, les additifs nutritionnels, etc. [1].

Les huiles essentielles et les arômes extraits à partir des plantes aromatiques sont le résultat d'un mélange complexe de substances volatiles. Ils sont généralement présents à de très faibles concentrations dans les plantes à parfum. Avant de pouvoir utiliser ou analyser de telles substances, il est nécessaire de les extraire de leur matrice. Plusieurs méthodes d'extraction ont été mises au point telles que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur, l'hydro-diffusion et la distillation-extraction simultanée. Cependant les composés volatils sont connus comme étant thermo-sensibles et vulnérables aux réactions chimiques [2].

La valorisation de ces substances naturelles passe préalablement par l'étape de détermination de leur composition chimique, permettant de les caractériser, d'en contrôler la qualité et de mettre en évidence une éventuelle spécificité pour des applications précises. Cependant, l'identification et la quantification des constituants d'un mélange naturel demeurent toujours des opérations délicates nécessitant l'utilisation de techniques diverses. De ce fait, la démarche analytique utilisée doit présenter une grande fiabilité et nécessite l'association de plusieurs techniques d'analyse complémentaires [3].

Les huiles essentielles extraites des substances naturelles en particulier végétales, trouvent des applications dans des domaines très variés en raison des propriétés intéressantes qu'elles présentent. Il est bien connu que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles exhibent une activité antibactérienne, antivirale, antimycotique, antioxydante, antiparasitaire, et aussi un effet insecticide [4].

D'autres parts, il est connu que pour des raisons sanitaires et environnementales, les instances internationales telle que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) ont interdit l'usage de certains produits insecticides synthétisés chimiquement comme les organochlorés. Ils ont imposé l'arrêt de la production du bromure de méthyle en 2005 puisqu'il est toxique pour la santé humaine et polluant pour l'environnement. En particulier, il contribue à la destruction de la couche d'ozone [5]. Il existe donc un grand souci causé par le danger présenté par les

produits chimiques utilisés pour lutter contre les insectes ravageurs [6]. Ainsi, les scientifiques ont cherché à trouver dans la nature, des matières premières permettant d'aboutir aux biopesticides à qualité biodégradable et non toxique dans l'espoir de substituer les pesticides chimiques [7].

Les recherches se sont orientées vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation des substances naturelles d'origines végétales : biopesticides à base des huiles essentielles.

Ces molécules peuvent avoir différents effets chez les insectes : répulsif, attractif, perturbateur du développement, inhibiteur de la reproduction, etc. Leur toxicité peut être directe ou indirecte sur les organes cibles (organes sensoriels, système nerveux, système endocrines, appareil digestif, appareil reproductif, etc.) [5].

Dans le cadre de la préparation de mon mémoire de fin d'études, je me suis intéressée à l'utilisation des huiles essentielles extraites d'une plante médicinale largement disponible en Algérie : *L'Eucalyptus globulus*.

Ce travail a donc pour objectif d'extraire les huiles essentielles à partir des feuilles et des fruits d'*Eucalyptus globulus* et l'étude de leurs propriétés physicochimiques ainsi que l'évaluation de leur effet insecticide contre deux espèces d'insectes différentes.

Ce mémoire comprend deux grandes parties :

√ La première est l'étude bibliographique, elle comporte deux chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude botanique d'*Eucalyptus globulus* ;

Le deuxième chapitre présente des généralités sur les huiles essentielles et leurs compositions chimiques ainsi que les différentes méthodes d'extraction.

√ Une deuxième partie expérimentale, qui comporte deux principaux chapitres :

Le premier est basé sur la présentation des méthodes utilisées pour l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, la détermination de quelques propriétés physico-chimiques et l'étude de son effet insecticide sur deux insectes ;

Le deuxième chapitre rapporte les résultats obtenus dans cette étude et leur discussion.

CHAPITRE I

CHAPITRE I : ***L'Eucalyptus Globulus***

I-1- Historique

Les premiers fossiles d'eucalyptus retrouvés à Laguna del Hunco en Argentine datent de l'Eocène Inférieur c'est-à-dire il y a près de 50 millions d'années. Des similarités morphologiques permettent de les relier au genre Eucalyptus actuel comme les feuilles, les infructescences, les capsules avec leurs opercules et les inflorescences [8].

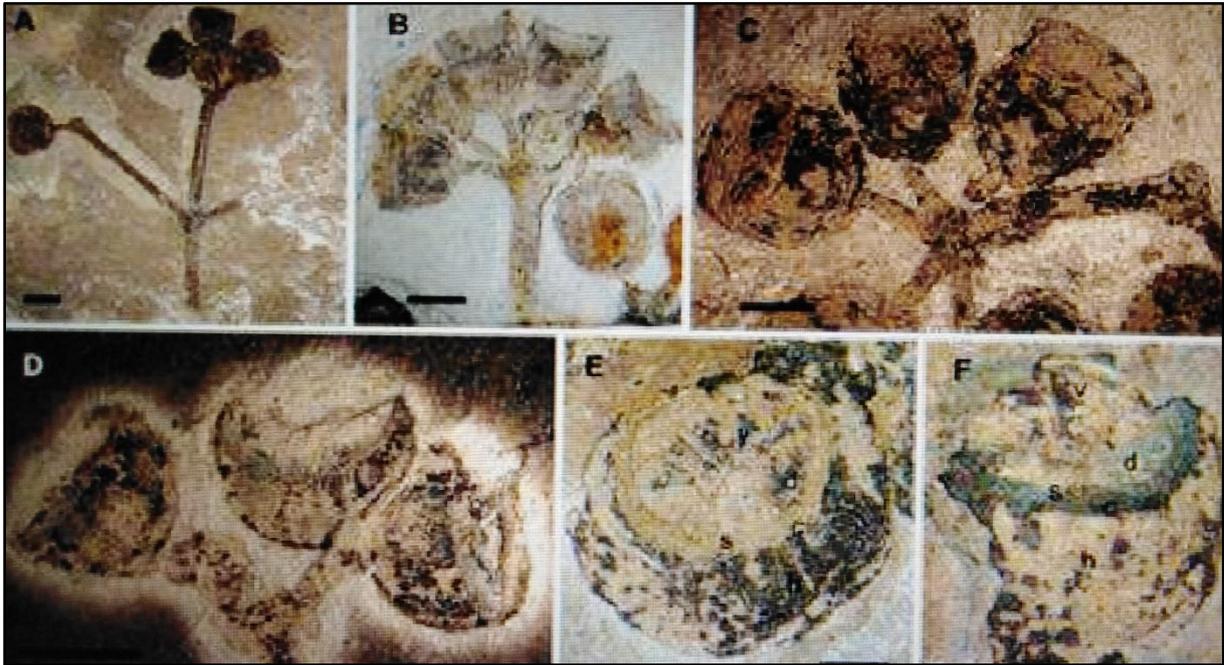


Figure I-1 : Fossiles d'Eucalyptus retrouvés à Lagune Del Hunco [8].

Le terme Eucalyptus a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « Bien » et « calyptos » qui signifie « couvert ». Le genre Eucalyptus comprend 7 sous-genres et environ 700 espèces. Leur nombre précis évolue au fil des études taxonomiques. Il appartient à la famille des myrtacées qui compte 90 genres et environ 3000 espèces. La description botanique des eucalyptus date de la fin du dix-huitième siècle [9].

Le 6 mai 1792, le botaniste Jacques-Julien Houtou de La Billardière découvre l'*Eucalyptus globulus* lors de son voyage à la recherche de la Pérouse, il détaille soigneusement leurs feuilles à la loupe et remarque que les hautes branches portent des fleurs. Après avoir abattu un exemplaire pour en observer les fleurs il est surpris par la forme du bouton floral [8].

I-2- Généralités

Origine : Australie ;

Noms communs : gommier, gommier bleu, arbre de koala, arbre à la fièvre ;

Etymologie : globulus fait référence à la forme de l'opercule du fruit [8] ;

Les noms vernaculaires : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie et sont appelés ainsi dans plusieurs différentes régions [10].

L'arbre possède une très grande capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît, il assèche rapidement les marais qu'il colonise. Il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria [10].

Sa croissance rapide, son odeur aromatique qui éloigne les insectes et son pouvoir absorbant de l'humidité l'ont fait introduire dans la région méditerranéenne pour assainir certaines étendues marécageuses [11].

Cette capacité à assécher les sols pose d'ailleurs un problème en Australie et en Afrique. En effet, pendant les périodes de fortes chaleurs, de nombreux feux de forêts se déclarent dans les forêts d'Eucalyptus à cause de cette sécheresse. De plus, en réaction à la chaleur, les eucalyptus libèrent leur huile essentielle dans l'atmosphère ce qui crée un phénomène nommé le « Blue haze », ou brouillard bleu, qui est très inflammable [12].

Les eucalyptus ont des capacités de survie et de croissance exceptionnelles, ce qui leur permet de coloniser des terrains nus dévastés par les feux, les inondations, l'activité volcanique, grâce notamment aux graines petites et assez nombreuses. La plupart des eucalyptus possèdent également des organes de sauvegarde souterrains appelés lignotubers, qui sont des renflements visibles à la base du collet racinaire. Ces formations contiennent des réserves glucidiques, qui permettent la régénération de l'arbre en cas de feu ou de gel par exemple, et elles permettent à l'arbre de mieux résister au sec [13].

L'*Eucalyptus globulus* a été choisi pour la production destinée à l'industrie papetière en Algérie et dans d'autres pays et pour la fourniture de la matière première à l'industrie du bois. Il est très apprécié pour la construction légère et lourde, les poteaux, les pieux et même les traverses de chemin de fer [11, 14].

Il convient bien à la lutte contre l'érosion, aux plantations d'agrément et d'alignement, aux brise-vent et à d'autres emplois en rapport avec la protection des bassins versants et de l'environnement.

La sous-espèce globulus s'hybride avec un certain nombre d'espèces voisines. Peu d'hybrides présentent un intérêt économique. Deux variétés de cultivars sont reconnues, *Eucalyptus globulus* var. *compacta* et *Eucalyptus globulus* var. *coromfera* [14].

I-3- Taxonomie et systématique

Tableau I-1 : Classification systématique d'Eucalyptus globulus [8].

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	Eucalyptus globulus

I-4- Description botanique

L'*Eucalyptus globulus*, de la famille des Myrtacées, arbre sempervirent à croissance rapide et pouvant atteindre entre 30 et 60 mètres de hauteur [8].



Figure I-2 : L'arbre d'Eucalyptus globulus [15].

- Ecorce : rugueuse, grise, persistante à la base du tronc, lisse au-dessus [14].



Figure I-3 : L'écorce [16]

- Feuilles de jeunesse : opposées, sessiles, amplexicaules et glauques ;

- Feuilles adultes : alternes, pétiolées, lancéolées, souvent courbes ;

Ce sont des feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles peuvent atteindre 25 centimètres de long [12, 14] ;



Figure I-4 : Feuilles juvéniles [17].



Figure I-5 : Feuilles adultes [17].

- Les feuilles ont une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille [12].



Figure I-6 : Feuilles sèches et coupées [12].

- Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules [4].



Figure I-7 : Fruits et graines [11].

- Le tronc dont les lames corticales extérieures sont souvent détachées, est lisse et cendré.
- Les boutons floraux sont pruneux, verruqueux, ridés ou presque lisses, à double opercule [18].
- Fleurs : blanches, régulières le plus souvent solitaires.



Figure I-8 : Fleurs [11].

- Rameaux : tétragones au sommet, quadrangulaires et glauques (juvéniles) puis cylindriques (adultes).
- Bois : brun-jaune clair, texture lâche, fibre fréquemment entrecroisée, cernes d'accroissement assez distincts, bonnes qualités mécaniques, moyennement durable [14].
- Les filets des étamines sont allongés, les anthères subovales.
- Odeur : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- Saveur : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable [9].

I-5- Conditions de culture

- **Rusticité** : La plupart des eucalyptus ne supportent pas des températures inférieures à -3/5°C, c'est le facteur qui limite le plus leur culture en dehors de leur zone d'origine.

Toutefois, cette résistance est variable selon les espèces. Le niveau de résistance au froid va dépendre aussi de la provenance du jeune arbre, de la durée du froid, de l'âge et de l'état général de l'arbre et des caractéristiques du sol [13].

Eucalyptus globulus résiste à des températures :

Moyenne des maxima du mois le plus chaud entre 18 et 23°C

Moyenne des minima du mois le plus froid : 4°C

Supporte les périodes de gel jusqu'à 7°C

Gelées : 0 à 5 jours [14].

• **Exposition :**

- Plein soleil en donnant un espace suffisamment grand pour assurer le plein développement de l'arbre [13].

- Apprécie simultanément les sols bien drainants et irrigués ;

- Supporte les vents modérés et des embruns occasionnels [18].

• **Sol et pluies :** L'eucalyptus est très plastique, dans le sens où il peut s'adapter à la sécheresse et à différents types de sol. Par contre, il supporte mal la présence de calcaire actif dans le sol, qui entraîne une chlorose des feuilles et les sols hydromorphes, c'est-à-dire saturés régulièrement d'eau [13].

L'*Eucalyptus globulus* résiste aux pluies d'hiver à pluies uniformes au total de 500-1500 mm, et dans les saisons sèches peu sévères jusqu'à 3 mois [14].

I-6- La répartition géographique

➤ **Dans le monde :**

Les eucalyptus sont indigènes au continent australien, où ils dominent d'ailleurs 95 % des forêts. Certaines espèces, notamment *Eucalyptus globulus*, ont été introduites en Europe, où elles se sont très bien acclimatées sur les rivages méditerranéens, ainsi qu'au Portugal, où d'immenses forêts d'eucalyptus ont été plantées pour la production de pâte à papier. Ces espèces ont également été plantées en Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. On les rencontre aussi dans les îles de Madagascar, de Mayotte, de Malte et de La Réunion, au Sri Lanka, en Afrique du Sud, sur les pentes du mont Elgon en Ouganda, en Californie, en Argentine, au Brésil, au Chili, en Équateur et au Pérou.

Le total des plantations d'eucalyptus dans le Monde Méditerranéen est de l'ordre de 540.000 ha et il s'accroît d'environ 30.000 à 40.000 ha par an [13].

➤ **En l'Algérie :**

Les eucalyptus furent introduits en Algérie entre 1854 et 1860, plusieurs espèces ont donné d'excellents résultats dans les secteurs subhumides et semi-arides du pays, principalement au-

dessous de 800 m d'altitude, et dans des régions recevant plus de 400 mm de précipitations annuelles. Les superficies plantées étaient estimées en 1965 à 28 200 hectares [14].

L'Eucalyptus globulus prit rapidement une grande extension en Algérie entre 1860 et 1870 [18] ;

Ils occupaient une surface de 5 855 hectares dont plus de la moitié dans la région Oranaise, actuellement des plantations longent le littoral d'El-Kala et d'Azzefoun. On retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout [7] ;

Aussi à Blida, Boumerdes (93 HA), Relizane, Skikda (2250 HA), S.Belabas (342 HA), Sétif (10 Ares), et Ataref (1000 HA) [19].

I-7- Constituants

I-7-1- Flavonoïdes

Sont des composés polyphénoliques, presque toujours hydrosolubles et très répandus dans le règne végétal. Ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. La plupart des flavonoïdes ont une structure de base relativement simple. Ils sont composés de deux cycles aromatiques de type phényle (A et B) liées par une chaîne de trois atomes de carbone généralement cyclique. Soit un système C₆-C₃-C₆ comme le montre les figures suivantes [20] :

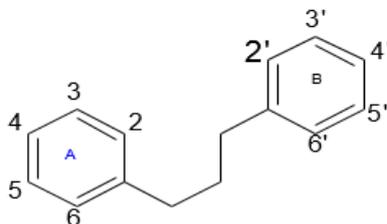


Figure I-9 : *Squelette de base des flavonoïdes* [20].

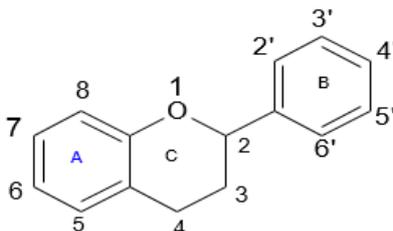


Figure I-10 : *Structure des flavonoïdes après oxydation* [20].

Ils peuvent être regroupés en une douzaine de classes, la variation du degré d'oxydation de la chaîne carbonée (formant, en générale un hétérocycle C, par condensation avec un OH phénolique du noyau A) [20].

I-7-2- Tanins

Les tannins sont des composés phénoliques à haut degré de polymérisation et de poids moléculaire élevé. La caractéristique la plus déterminante des tanins est leur capacité à former des complexes (par précipitation) avec les polymères naturels comme les protéines et les polysaccharides. En raison de leur structure et de leurs propriétés chimiques, deux classes sont distinguées : les tannins hydrolysables et les tannins condensés [21].

I-7-3- Huiles essentielles

Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; Sesquiterpènes : aromadendrène ; Sesquiterpénols : globulol, lédol) [20].

I-8- Propriétés des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*

➤ *Expectorante et mucolytique*

Grâce à une stimulation directe des cellules sécrétrices de la muqueuse bronchique, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va permettre de fluidifier les sécrétions bronchiques afin qu'elles soient expulsées plus facilement. Cette huile va également permettre de relâcher les muscles lisses des voies aériennes [12].

Le 1,8-cinéole que contient l'*Eucalyptus* s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme et pour combattre le rhume ; Elle est utilisée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques en raison de ses multiples vertus sur l'arbre respiratoire [22].

➤ *Antibactériennes et cicatrisantes*

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est dotée de propriétés antibactériennes et cicatrisantes. Elle pourra être utilisée afin de désinfecter les plaies et de raccourcir le temps de cicatrisation. Elle sera particulièrement efficace dans le traitement des ampoules, des brûlures, des coupures, des blessures et des plaies [12] ;

L'effet antiseptique bactéricide est surtout lié à la présence du 1,8-cinéole. L'effet de l'huile essentielle est supérieur à celui du 1,8-cinéol utilisé seul. Elle agit sur les *Escherichia*, *Staphylococcus aureus*... etc [22].

➤ *Analgésique et anti inflammatoire*

Des études ont prouvé que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques grâce à la présence de 1,8-cinéole. On pense qu'il s'agirait des

propriétés anti-oxydantes de la plante qui pourraient être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire.

L'huile essentielle inhibe la formation des prostaglandines et de cytokines par les monocytes d'où l'effet anti-inflammatoire. Elle sera ainsi utilisée comme antidouleur notamment dans les douleurs musculaires et rhumatismales [12] ;

Il est démontré aussi qu'un traitement rapide avec le 1,8 cinéol est efficace et semble sans danger chez les patients atteints des rhinosinusite aigue non purulente, aussi il a été prouvé que ce dernier est un régulateur actif de l'inflammation des voies respiratoires dans la BPCO (la broncho-pneumopathie chronique obstructive) en intervenant dans la physiopathologie de l'inflammation des voies respiratoires de la membrane muqueuse [8].

➤ **Antivirale**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui. Les huiles essentielles constituent une des solutions pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques [23].

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une activité antivirale. Elle est notamment importante concernant Herpes Simplex Virus (HSV) [12].

➤ **Antifongique**

En plus de ses propriétés antibactériennes et antivirales, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente des propriétés antifongiques. Ces trois propriétés rendent l'usage de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* en diffusion très recommandé [12].

➤ **Insecticide**

La présence de 1,8-cinéole dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va lui conférer des propriétés répulsives et insecticides. On pourra l'utiliser par exemple en diffusion pour éloigner les moustiques en été [12].

Des compositions à base de limonène présentant une activité insecticide contre les fourmis, les araignées, les mouches, les chenilles... ont été également 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 présentent en plus l'avantage d'être biodégradables [24].

CHAPITRE II

CHAPITRE II :

Les huiles essentielles

II-1- Définition

Les huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables et qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ambiante et peuvent être obtenues soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits par des procédés mécaniques et qui sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques [25].

Une norme AFNOR définit l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* comme suit : il s'agit « d'une huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et rameaux, broyés ou non, et récemment récoltés, d'*Eucalyptus globulus Labillardière* de la famille des Myrtaceae. On distingue les huiles essentielles crues provenant d'un broyat et celles traditionnellement distillées en vrac dans l'alambic. Cependant, les produits commercialisés sous les appellations : 70% - 75% et 80% - 85% sont des huiles essentielles rectifiées sous vide pour obtenir une teneur en cinéole-1,8 respectivement supérieure à 70% et 80% » [12].

II-2- Synthèse et stockage des huiles essentielles

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essences aromatiques. Les genres capables d'élaborer les constituants des huiles essentielles sont répartis dans un nombre de familles limité : Myrtacée, Lauracée, Rutacée, Lamiacée, Asteraceae, Cupressacée, Poacée, Zingiberacée et Piperacée [26].

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, comme les glandes de type poche chez la famille des Myrtaceae [7] ;

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles

essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices ou dans des canaux sécréteurs.

Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et/ou les graines [9].

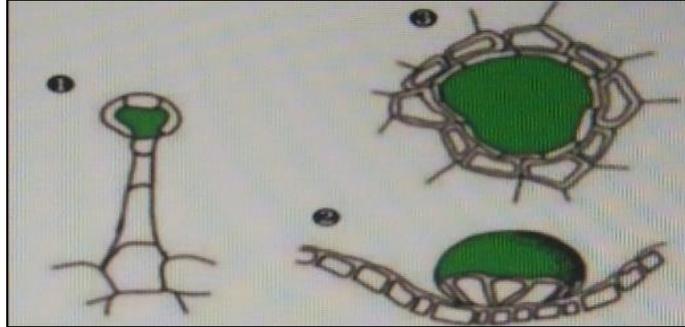


Figure II-1 : Quelques exemples d'appareils sécréteurs [9]

- 1) Poil face inférieure feuille de Sauge officinale
- 2) Poil glandulaire d'Hysope officinale
- 3) Canal glandulaire schizogène de feuille de pin [2]

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. Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle [7], d'où le prix élevé de certaines huiles essentielles.

II-3- Propriétés physiques

- Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle ;
- La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînaibles à la vapeur d'eau ;
- La densité nous renseigne sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques ;
- Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires ;
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire ;

- Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides, en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur ;
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires, la solubilité est plus ou plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite «eau distillée florale» [27, 28].

II-4- Composition chimique

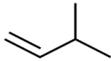
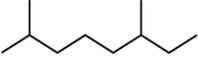
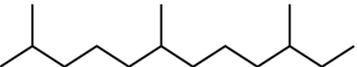
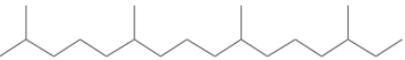
Contrairement à ce que son nom laisse supposer, l'huile essentielle pure et naturelle ne contient aucun corps gras. Elle est composée de molécules à squelette carboné. Les huiles essentielles ne contiennent ni vitamine, ni sels minéraux, mais peuvent modifier leur absorption et leur assimilation par l'organisme. Les huiles essentielles sont des substances complexes qui contiennent plusieurs centaines de composants, cependant on peut les regrouper en familles de substances chimiques. Ce sont ces molécules connues et chimiquement bien définies qui confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés thérapeutiques [26].

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, moins fréquents. Elles peuvent également renfermer d'autres composants non volatils issus des processus de dégradation [29].

II-4-1- Les composés terpéniques

Les terpènes constituent le groupe le plus important des produits naturels, comprenant environ 30000 composés. Les terpènes sont constitués de l'assemblage d'une ou plusieurs unité(s) à cinq atomes de carbones à squelette 2-méthylbutane, très fréquemment représentée par une unité isoprène (C₅H₈)_n. Dans la nature, les terpènes peuvent présenter diverses fonctions chimiques : alcools, oxydes, aldéhydes, cétones, acides carboxyliques et esters [3].

Tableau II-1 : Parents hydrocarbonés des terpènes des huiles essentielles [3]

Hémiterpènes C5	 2-méthyl butane	 2-méthyl-1,3 butadiène (isoprène)
Monoterpènes C10	 2,6- diméthyl octane	
Sésquiterpène C15	 2, 6,10 – triméthyl dodécane (farmésane)	
Diterpènes C20	 2, 6, 10,14 – tetraméthyl hexadécane	

➤ **Les monoterpènes**

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$. Ces composés peuvent être des monoterpènes acycliques, monoterpènes monocycliques et des monoterpènes bicycliques ; la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes et phénols [29].

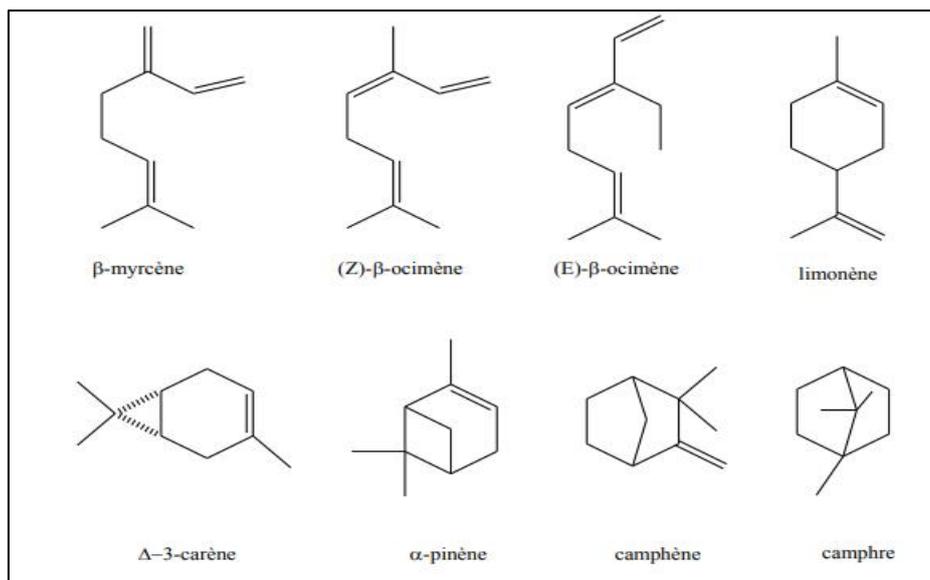


Figure II-2 : Structure des quelques monoterpènes [3].

➤ **Les sesquiterpènes**

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules [30]. Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demie (sesqui) la molécule des terpènes. Ils présentent une grande variété dans les structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé l'élucidation de leurs structures.

Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques, monocycliques ou polycycliques. Ils renferment aussi des fonctions comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, et les esters [29].

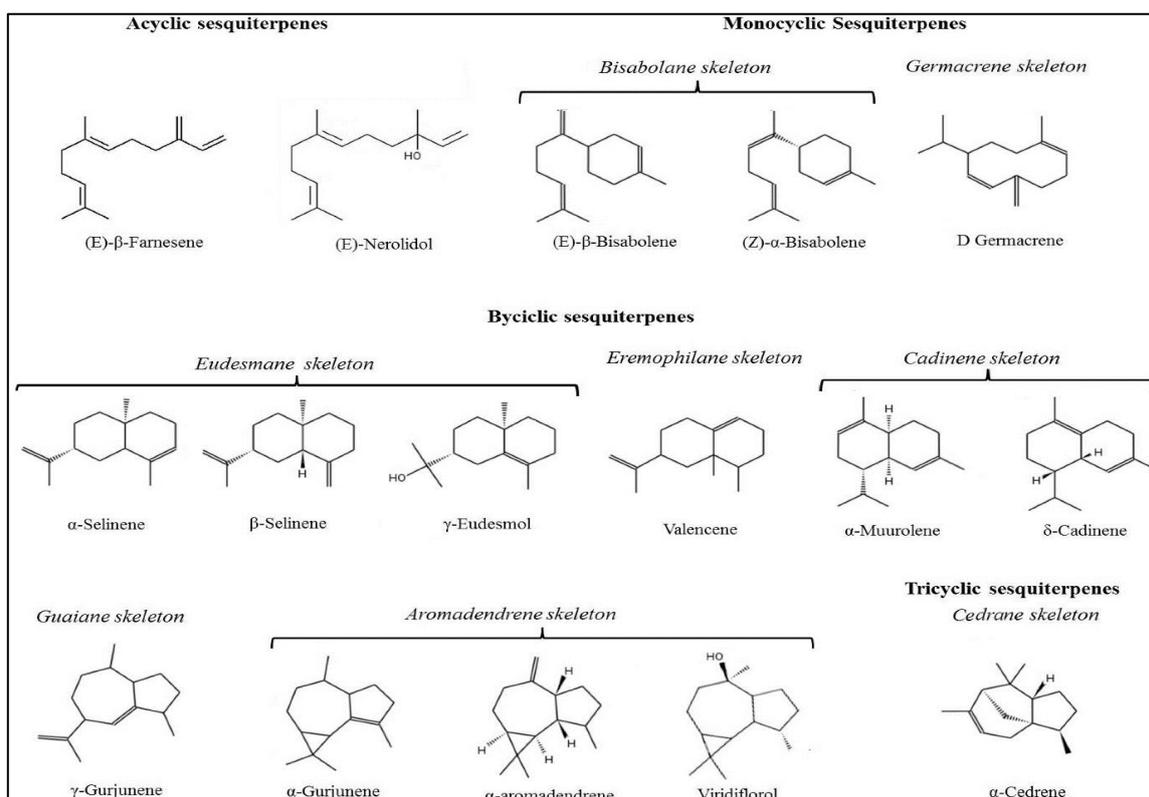


Figure II-3 : Structure de quelques sesquiterpènes [31].

II-4-2- Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

En plus des terpènes, les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente. Il est considéré que ces composés sont très souvent des allyl et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, on peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en C_6-C_1 comme la vanilline ou l'antranilate de méthyle. Les lactones dérivées des cinnamiques étant au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaient par la vapeur d'eau, sont également présentes dans certaines huiles essentielles [29].

II-4-3- Les composés d'origines diverses

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles à la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Enfin, il n'est pas rare de trouver dans les concrètes, des produits de masses moléculaires plus importantes non entraînaibles à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants tels que les homologues des phénylpropanes, diterpènes...etc. Il faut noter que le composé soufré le plus rencontré est l'allyl-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigrósíde qui se trouve dans les graines de moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renfermant l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, qui se trouve dans l'huile essentielle du citron et des fleurs de jasmin [29].

II-5- L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

Les *Eucalyptus* sont extrêmement intéressants pour leurs tanins, résines et huiles essentielles que renferment les feuilles, les fruits, les tiges et même l'écorce et qui ont des applications très importantes [22].

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles des feuilles et des fruits d'*Eucalyptus globulus*. Les composés majoritaires sont le 1,8-cineole, camphène, α -pinène, globulol, b-pinène, p-cymène, myrcène, g-terpinène, a-terpineol et le limonène.

Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit dont les monoterpènes, les sesquiterpènes. Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrène, suivi de phellandrène, 1,8-cineole, ledène et du globulol [4].

47 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles des feuilles : le composé majoritaire est le 1,8-cinéole avec une concentration de 70 à 85% [4], plus les monoterpènes (α -pinène, s-pinène, δ -limonène, para-cymène, camphène, alphaphellandrène, alphafenchène, γ -terpinène), les sesquiterpènes (aromadendrène, alloaromadendrène), les alcools (eudesmol, α -terpineol, globulol, pinocarveol), les aldehydes (citrál, myrtenal), les cétones (carvone, pinocarvone, verbenone) et l'acétate de geranyl [22].

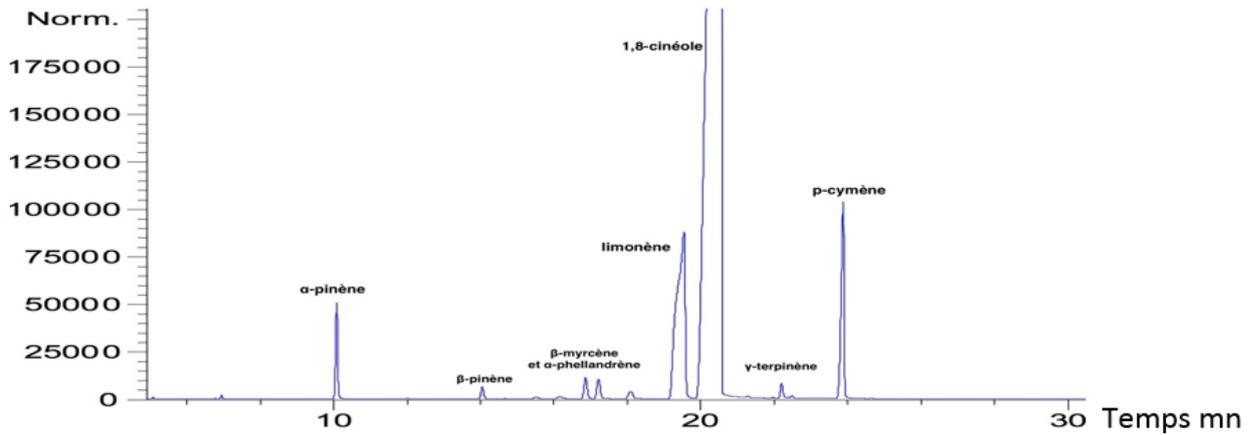


Figure II-4 : Chromatogramme type d'une huile essentielle d'Eucalyptus globulus [12].

II-5-1- Les principaux composants chimiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus

L'huile essentielle d'Eucalyptus globulus est également inscrite à la Pharmacopée Européenne.

D'après celle-ci, elle contient :

- 1,8-cinéole : au minimum 70%
- α -pinène : 0,05 à 10 %
- limonène : 0,05 à 15%
- β -pinène : 0,05 à 1,5 %
- sabinène : au maximum 0,3%
- α -phellandrène : 0,05 à 1,5%
- camphre : au maximum 0,1% [12].

1,8-Cinéole

C'est un composé naturel monoterpénique avec une odeur rafraichissante et épicée de camphre.

- **Autre nomenclature** : 1, 3,3-triméthyl-2-oxabicyclo [2, 2,2] octane
- **Solubilité** : Insoluble dans l'eau, soluble dans les éthers, l'éthanol et le chloroforme [8]
- **Aspect physique** : Liquide incolore [32].
- **Structure** :

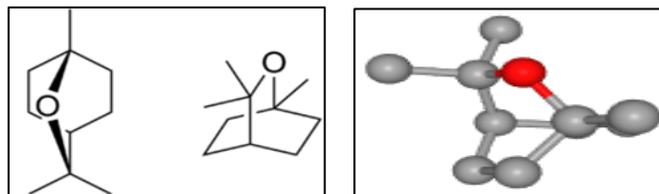


Figure II-5 : Structure d'Eucalyptol en 2D et 3D [8,33]

Propriétés physique	- Température d'ébullition : 176,4 °C - Température de fusion : 1,5 °C - Masse volumique : 0,9225 g / cm ³
Propriétés chimiques	- Formule brute : C ₁₀ H ₁₈ O - Masse molaire : 154,2493± 0,096 g/mol
Propriétés optiques	- Indice de réfraction : n_D^{25} 1,4555 [8]

Alpha-pinène

Est un composant organique de la classe des terpènes et c'est l'un des deux isomères du pinène, et appartient à la classe des monoterpénoïdes bicycliques [8,34].

- **Autre nomenclature** : 2, 6,6-triméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-ène
- **Solubilité** : Insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, chloroforme, éther, acide acétique glacial, huiles fixes
- **Aspect physique** : Liquide clair et incolore [34]
- **Structure** :

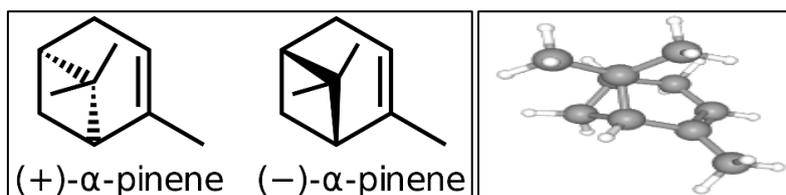


Figure II-6 : Structure de l'Alpha-pinène en 2D et 3D [8,34]

Propriétés physiques	- Température de fusion : -62,5 °C - Température d'ébullition : 156 °C - Masse volumique : 0,858 g/mL
Propriétés chimiques	- Formule brute : C ₁₀ H ₁₆ - Masse molaire : 136,23 g / mol [34]

Globulol

Appartient à la classe des composés organiques appelés sesquiterpénoïdes ; 5,10-cycloaromadendrane. Ce sont des sesquiterpénoïdes aromadendrane qui résultent de la cyclisation C₅-C₁₀ du squelette aromadendrane.

- **Autre nomenclature** : 1, 1, 4, 7-tétraméthyldécahydro-1H-cyclopropa [e] azulén-4-ol
- **Aspect physique** : Solide [35]

• **Structure :**

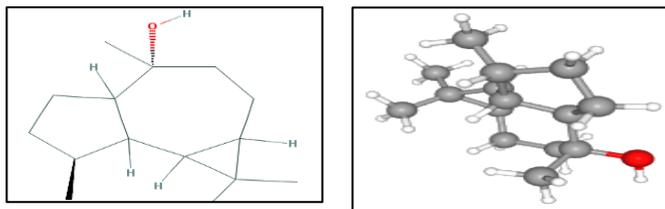


Figure II-7 : Structure du Globulol en 2D et 3D [35]

Propriétés physiques	<ul style="list-style-type: none"> - Température de fusion : 88.5°C - Température d'ébullition : 233°C - Masse volumique : 0.0043 g/L
Propriétés chimiques	<ul style="list-style-type: none"> - Formule brute : $C_{15}H_{26}O$ - Poids moléculaire : 222.37 g/mol [35]

+ **Limonène**

Est un hydrocarbure terpénique présent dans de nombreuses huiles essentielles à partir desquelles il peut être obtenu par distillation.

- **Autre nomenclature :** 1-méthyl-4-prop-1-én-2-yl-cyclohexène
- **Solubilité :** Insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol et les huiles
- **Aspect :** Liquide incolore [8,36]
- **Structure :**

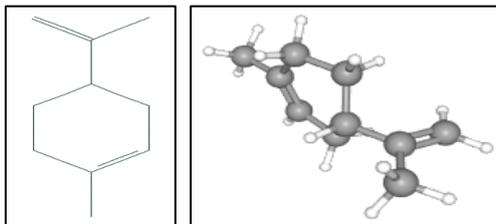


Figure II.8 : Structure du Limonène en 2D et 3D [36]

Propriétés physiques	<ul style="list-style-type: none"> Température de fusion : -75 °C Température d'ébullition : 176 °C Masse volumique : 0,84 g / cm³
Propriétés chimiques	<ul style="list-style-type: none"> Formule brute : $C_{10}H_{16}$ Masse molaire : 136,234 g / mol [8]

II-6- Utilisation des huiles essentielles en tant que biopesticides

Il ne fait aucun doute qu'au cours des cinquantes dernières années les pesticides (insecticides, fongicides, herbicides...etc.) ont été au cœur du développement agricole, ils ont été au fondement de la mise en place de systèmes de production intensifs, permettant une productivité élevée pour répondre aux besoins conséquents et sans cesse croissant des populations mondiales [37].

Les insecticides synthétiques sont largement utilisés pour le contrôle phytosanitaire. Par contre, ces produits chimiques peuvent entraîner des résidus toxiques dans les plantes. De même, ils peuvent provoquer la pollution de l'environnement à cause de leur lente dégradation et avoir des effets néfastes sur la santé humaine. Ceci a conduit à des réglementations de plus en plus sévères visant la restriction de leur utilisation voire même leur interdiction totale [38].

Dans la quête de nouveaux biopesticides, plus respectueux de l'environnement, une attention particulière est portée à certains métabolites secondaires synthétisés par une variété de plantes dite aromatiques. Parmi les extraits botaniques, les huiles essentielles constituent une alternative prometteuse en tant que biopesticides.

L'intérêt croissant pour les huiles essentielles provient d'un certain nombre de facteurs tels que : les huiles essentielles sont biodégradables et se décomposent rapidement lors de l'application, cela empêche la bioaccumulation et les problèmes de pollution, leur disponibilité générale, leur coût relativement bas, la conviction que les extraits d'origine végétale sont moins toxiques que les pesticides conventionnels.

Lorsqu'ils sont utilisés dans le cadre de programmes de lutte intégrée, les biopesticides peuvent réduire considérablement l'utilisation de pesticides classiques, alors que les rendements des cultures restent élevés [37].

II-7- Activité insecticide des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles peut être par contact, inhalation, ingestion ou par combinaison de ces modes. Les techniques de détermination de l'activité insecticide d'une huile essentielle ont une grande influence sur les résultats. Elles se répartissent en deux catégories principales, la méthode de micro- atmosphère et de contact direct. Quelle que soit la technique utilisée, la lecture porte sur le nombre d'insectes morts après un temps bien déterminé d'exposition à l'huile essentielle [38].

Les insecticides à base de huiles essentielles peuvent fonctionner en tant que :

a. Répulsifs

Un bioinsecticide a une propriété répulsive et se définit comme une substance qui agit localement ou à distance permettant d'éloigner les insectes. Certaines substances volatiles et huiles essentielles dérivées de plantes sont connues pour repousser plusieurs parasites et sont considérées comme des pesticides à risque minimum. Cette activité est liée aux principes actifs et aux autres constituants chimiques [37].

b. Anti-appétant

Parmi les insecticides botaniques, l'huile essentielle est l'une des meilleures suggestions de produits naturels qui peut affecter négativement la consommation alimentaire d'insectes, ils sont connus comme dissuasifs ou anti-appétant. En rendant les matériaux traités peu attrayants ou peu appétissants. Cette substance induit une alimentation plus difficile en modifiant le comportement des insectes, par une action directe sur les sensilles périphériques des insectes. Les insectes restent sur le matériau traité et finissent par mourir de faim. Cela indique que les composés actifs présents dans la plante inhibent le comportement alimentaire des larves, tandis que d'autres perturbent l'équilibre hormonal ou rendent l'aliment désagréable [37].

Ils agissent sur les insectes par effet « Knock down » chez les adultes, ou en entraînant un effet antiappétant, en inhibant la ponte ou alors par effet ovicide et larvicide [39].

c. Toxicité

L'activité insecticide de nombreuses huiles essentielles a été évaluée par rapport à un certain nombre d'insectes. L'apparition rapide de toxicité à partir d'huile essentielle ou de leurs constituants chez les insectes et autres arthropodes suggère un mode d'action neurotoxique. Ils représentent la majeure partie des composants d'huile essentielle, en particulier des monoterpénoïdes. La toxicité des huiles essentielles ne dépend pas seulement des composés chimiques qui agissent comme toxines, mais également de nombreux autres facteurs tel que : le point d'entrée de la toxine, les poids moléculaires et les mécanismes d'action [37].

La diversité des mécanismes d'action impliqués dans les activités des huiles essentielles permettrait en particulier de limiter le taux de développement des résistances. Les huiles essentielles semblent en effet ne pas avoir de cibles cellulaires spécifiques, du fait de la diversité de leurs constituants. Elles peuvent par exemple avoir une action de lyse de la cellule entière du fait de l'endommagement de la membrane, altérer la perméabilité de la membrane cellulaire et de ce fait mettre en cause les capacités de régulation osmotique de la cellule ou d'exclusion des composés toxiques, et empêcher la respiration cellulaire des mitochondries, comme mis en évidence dans le cas de l' α - pinène sur des levures. D'autres mécanismes, comme des

perturbations des voies de biosynthèse ou des systèmes enzymatiques, peuvent également être impliqués. Ces actions sont dues aux constituants lipophiles des huiles essentielles, pouvant donc traverser facilement les membranes cellulaires et en bouleverser la structure et le fonctionnement [39].

d. Retardateurs de croissance et inhibiteurs de développement

Des recherches rapportées en littérature avaient montré que plusieurs huiles essentielles et leurs composants avaient des propriétés similaires à celles des hormones juvéniles et agissaient en tant que régulateurs de croissance. Cette perturbation de la croissance des insectes pourrait contribuer à l'inhibition de différents processus de biosynthèse des insectes à différents stades de croissance. Les insecticides à base des huiles essentielles ont eu des effets délétères sur la croissance et le développement des insectes, en réduisant le taux de survie des larves et l'émergence des adultes. Ainsi que plusieurs huiles essentielles sont de bons inhibiteurs de la ponte des organismes nuisibles, ce qui empêche la croissance générale des populations [37].

e. Attractants

Les huiles essentielles de certaines plantes influencent à la fois les récepteurs gustatifs et olfactifs ou les sensilles. Elles ne tuent pas les insectes et ne perturbent donc pas l'écosystème. Elles peuvent être utilisées pour mal orienter les insectes vers de mauvais sites de ponte, diminuant leur nombre par la famine ou la production d'œufs non fertilisés [37].

II-8- Méthodes d'extraction

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction.

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quel que soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure suivante [23] :

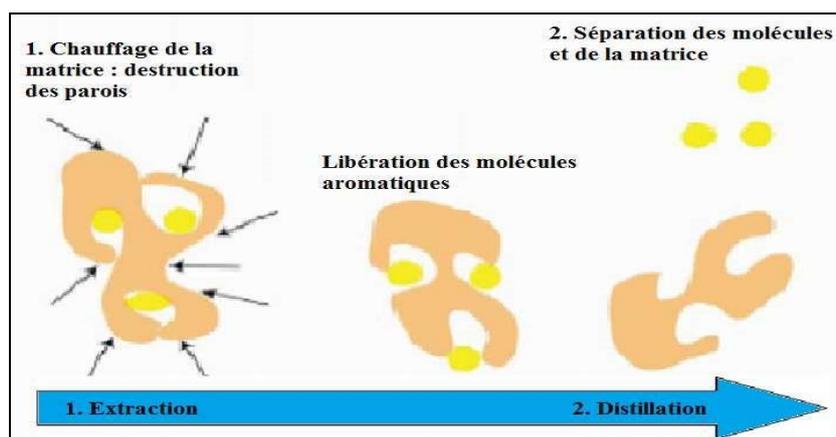


Figure II-9 : Etapes d'obtention des huiles essentielles [23]

II-8-1- L'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotrope. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotrope « eau + huile essentielle » distille à une température égale à 100°C à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En laboratoire le système équipé d'une cohobe qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la Pharmacopée Européenne est le Clevenger [40-41].

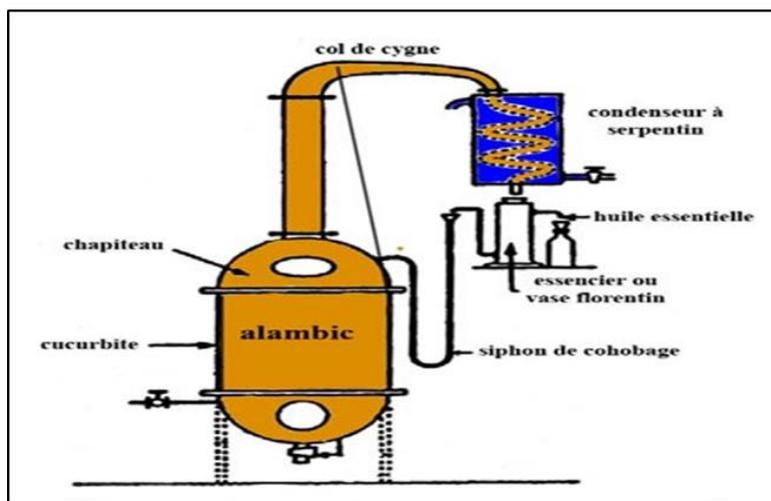


Figure II-10 : L'hydrodistillation traditionnelle [40]

La turbodistillation est un procédé d'hydrodistillation accélérée en discontinue développée en France par la société DCF-Aromaprocess. Cette technique est prédestinée aux matières premières végétales difficiles à traiter comme les racines, les ligneux ou les graines, comme cela a été le cas pour la badiane de Chine ou les graines de céleri. Elle représente une alternative à des hydrodistillations de longue durée ou en surpression. Le réacteur contenant la matière végétale est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part, une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation. Outre le recyclage des eaux de cohobage, ce procédé permet la récupération des fractions les plus volatiles grâce à un système de condensation secondaire. La présence d'une colonne à plateaux contribue à l'enrichissement des vapeurs en huile essentielle, d'où une amélioration du rapport d'entraînement [40].

II-8-2- Entraînement à la vapeur

C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters) [4]. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique.

Les huiles essentielles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrates donc l'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques

évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [28, 40].

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie de temps, de vapeur et d'énergie. [26, 40].

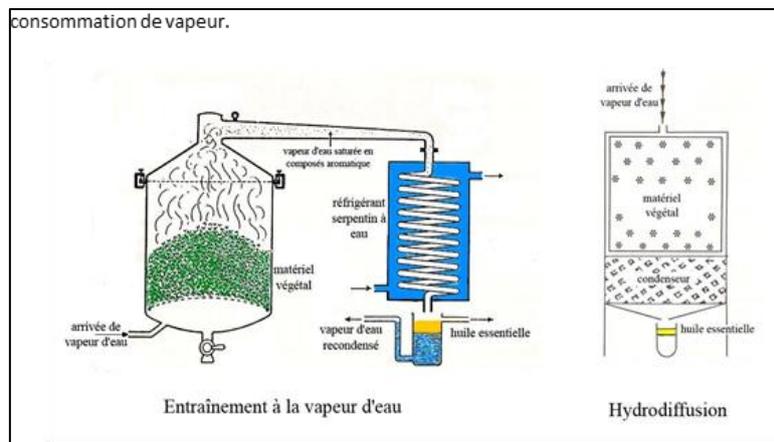


Figure II-11 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante [40]

II-8-3- Extraction au Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode simple et convenable permettant de répéter infiniment le cycle d'extraction avec du solvant frais jusqu'à l'épuisement complet du soluté dans la matière première.

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la figure II-12. Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais pénétrable pour le solvant, d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au sommet du tube-siphon,

suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi, le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche [1].

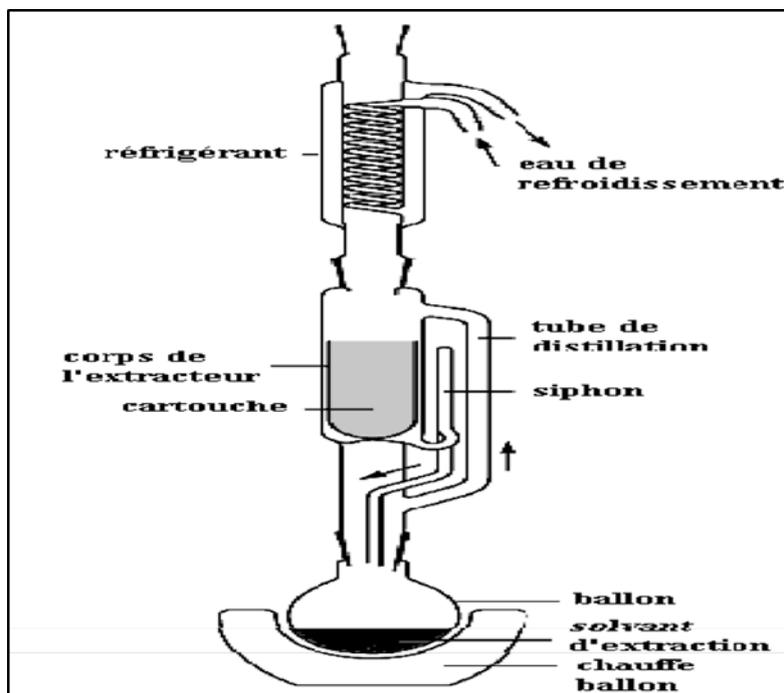


Figure II-12 : Soxhlet

La séparation du solvant de l'extrait est faite à l'aide de l'appareil appelé Rotavap (évaporateur rotatif). Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide. L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide [1].



Figure II-13 : Evaporateur rotatif [42]

II-8-4- Extraction assistée par micro-ondes

C'est un procédé innovant qui utilise les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances. Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes. Ce procédé est très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui est le plus souvent de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle [27].

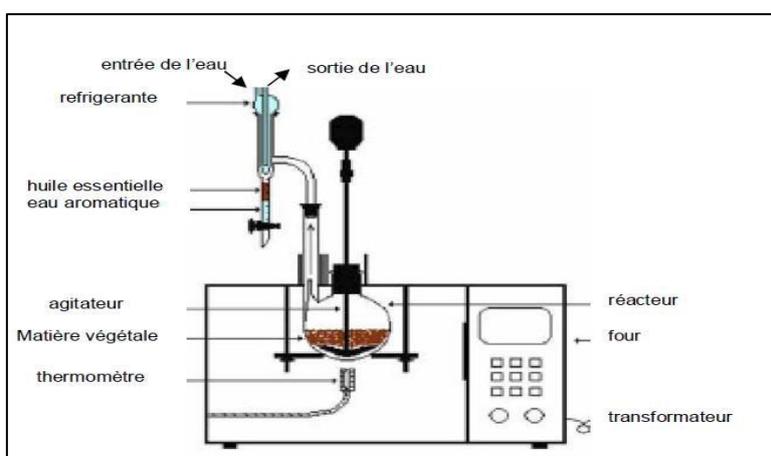


Figure II-14 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes

[27]

II-8-5- Extraction par fluide à l'état supercritique

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO_2), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO_2 est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait. La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des huiles essentielles

ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation [43].

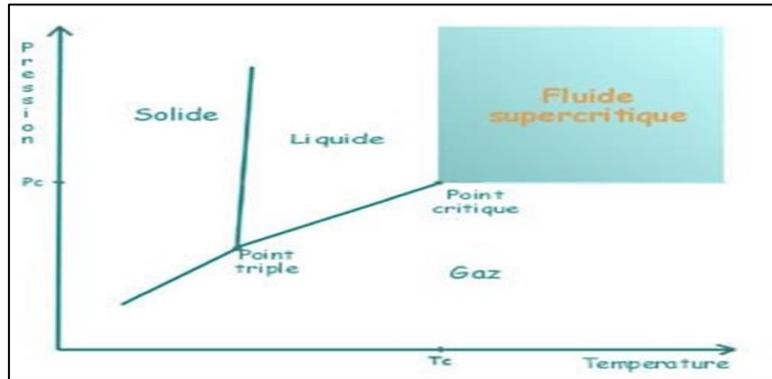


Figure II-15 : Diagramme de phase d'un fluide [44]

D'une manière générale, le CO₂ supercritique permet de solubiliser des composés apolaires et de faibles poids moléculaires. Grâce à sa faible température critique (T_c de 31° C) le CO₂ se place en tête des fluides supercritiques industriels : il permet de développer des procédés à basse température pour des produits thermosensibles. Comparativement à l'hexane qui est un solvant fréquemment utilisé en agro-alimentaire, le CO₂ supercritique n'est pas inflammable et pose moins de problèmes de sécurité. Sa densité (à 31,1°C - 73,8 bar) est d'environ 0,47 g.cm⁻³ et celle de l'hexane (à 20°C- sous pression atmosphérique) est de 0,66 g.cm⁻³ (eau = 1) [44].

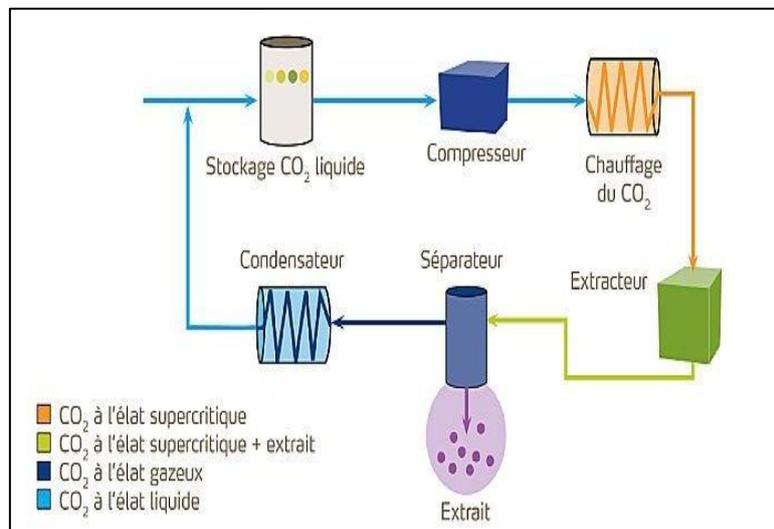


Figure II-16 : Schéma de l'extraction au CO₂ supercritique [45]

L'extraction au fluide supercritique consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique. Le fluide ainsi obtenu traverse le produit à traiter et le charge en composé à extraire ensuite, il est détendu et passe en phase gazeuse et finalement se sépare du composé extrait. L'extraction des huiles essentielles par le CO₂

supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques [27].

II-8-6- Extraction par ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatiques ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique [25].

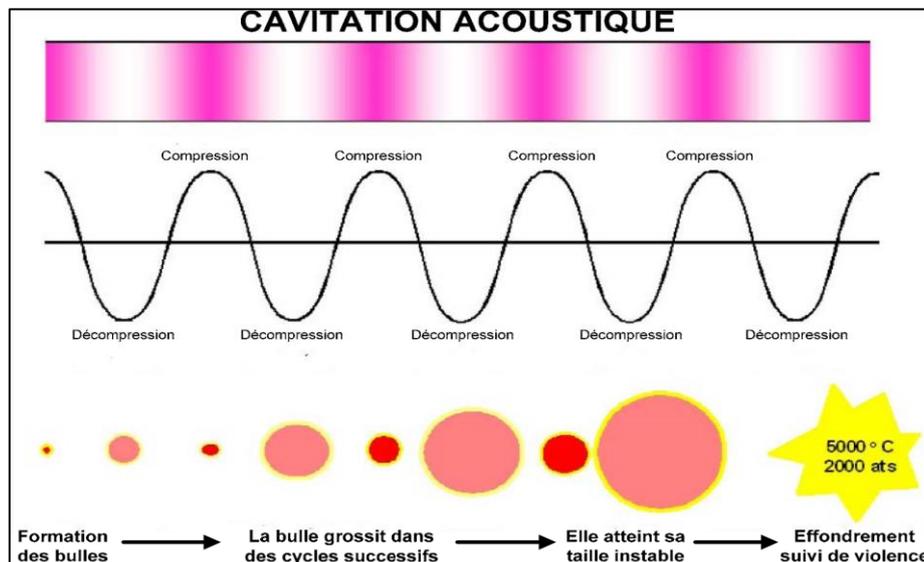


Figure II-17 : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore [25]

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides [25].

Les micro-cavitations, générées par ultrasons, désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines cellulosiques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée d'extraction, d'augmenter le rendement en extrait et de faciliter l'extraction de molécules thermosensibles [27].

CHAPITRE III

CHAPITRE III

Matériel et méthodes

Ce chapitre est consacré à la présentation du matériel et méthodes utilisés dans notre étude à savoir pour l'extraction de l'huile essentielle de l'espèce *Eucalyptus globulus* à partir des feuilles et des fruits par hydrodistillation, ainsi que la caractérisation physicochimique de l'huile extraite. Également, pour l'étude de son effet en tant que bio-insecticide contre les *Ephestia kuehniella* et les fourmis du genre *Formica*.

Partie I : Extraction de l'huile essentielle et l'étude physicochimique

III-1-1- Matériel utilisé

III-1-1-1- Matériel végétal

Les feuilles adultes sont étroites, lancéolées et d'un vert foncé luisant. Elles mesurent de 15 à 35 cm de long. Les fruits ligneux mesurent de 1,5 à 2,5 cm de diamètre ont une capsule très dure. De nombreuses petites graines s'échappent par des valves qui s'ouvrent sur le dessus du fruit [10].

Les feuilles et les fruits d'*Eucalyptus globulus* utilisés dans ce travail ont été récoltés en septembre 2020, à l'Université de Guelma.



Figure III-1 : Les fruits et feuilles d'Eucalyptus globulus

III-1-1-2- Matériel et produits du laboratoire

Tableau III-1 : Matériel et produits utilisés

Matériel	Produits
- Un ballon	- Eau distillée
- Un réfrigérant	- Hydroxyde de potassium
- Une ampoule à décantation	(KOH)
- Tubes en verre	- L'éthanol
- Une balance	- Indicateur coloré
- Pipette pasteur	- n-Hexane
- Erlenmeyer	- Dichloro-méthane
- Burette	

III-1-2- Extraction des huiles essentielles

III-1-2-1- Principe de l'extraction par hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est basé sur l'éclatement et la libération des molécules odorantes (non solubles dans l'eau) contenues dans les cellules de la matière végétale une fois mise en contact avec de l'eau chaude. Ces molécules aromatiques une fois condensées, dans un réfrigérant, donnent les huiles essentielles.

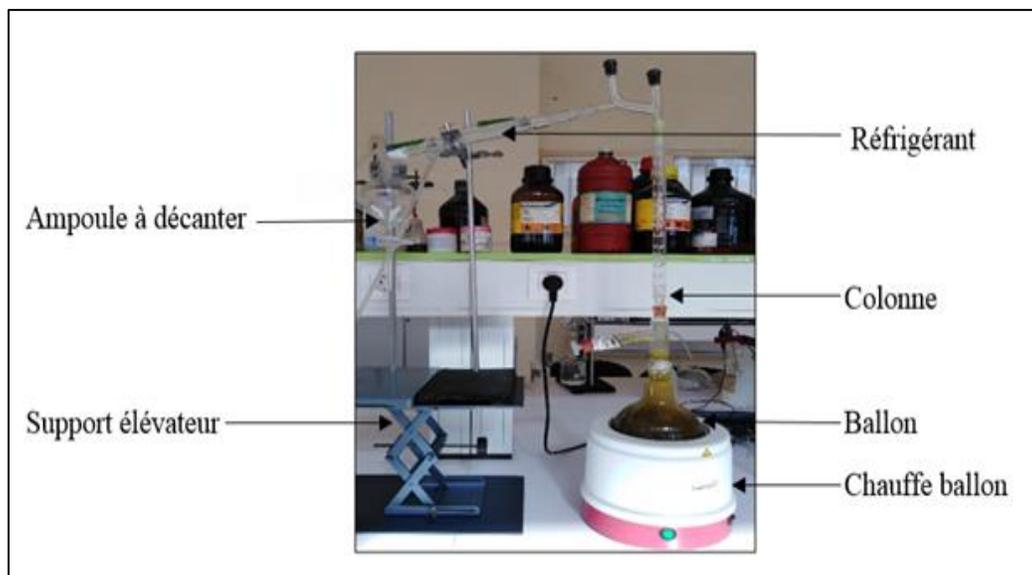


Figure III-2 : Dispositif de l'hydrodistillation

III-1-2-2- Protocole d'extraction

- Préparer 200g de matière végétale (feuilles ou fruits), l'introduire dans un ballon avec 1000 ml d'eau distillée (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers pour éviter les débordements au cours de l'ébullition) ;
- L'ensemble est ensuite porté à ébullition, une fois on atteint l'ébullition, les cellules éclatent et commencent à dégager leurs contenus en huiles essentielles, qui par la suite sont transportées avec la vapeur d'eau jusqu'au réfrigérant ;
- Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter ;
- L'eau et l'huile se séparent par différence de densité ;
- L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sera par la suite récupérée et pesée pour le calcul du rendement.

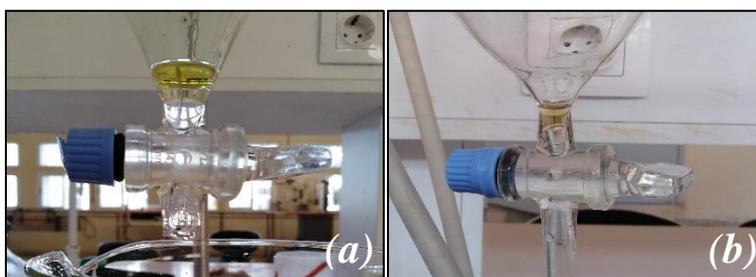


Figure III-3 : L'huile extraite des feuilles (a) et des fruits (b)

III-1-2-3- Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, il est exprimé en pourcentage et est calculé par la formule suivante :

$$R_{HE} = [m_{HE}/m_v] \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile en %

m_{HE} : Poids de l'huile en (g)

m_v : Poids de la matière sèche de la plante en (g)

III-1-2-4- Conservation des huiles essentielles

La plupart des molécules constitutives des huiles essentielles sont insaturées, ce qui les rend instables et sensibles à l'altération. Selon les conditions de conservation, les essences naturelles

peuvent être sujettes à des réactions secondaires telles que : le réarrangement moléculaire, la polymérisation, l'oxydation, la fermentation, l'hydrolyse, etc [23].

L'huile essentielle extraite à partir d'*Eucalyptus globulus* obtenue a donc été conservée à une température voisine de 4°- 6°C, dans des tubes en verre fermé et couverts avec du papier aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière.

III-1-3- Caractérisation de l'huile essentielle

III-1-3-1- Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle.

III-1-3-2- Caractéristiques physico-chimiques

Comme les propriétés organoleptiques ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises.

III-1-3-2-1- L'indice d'acide

L'indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse en mg nécessaire pour neutraliser les acides libres. L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage.

- **Principe**

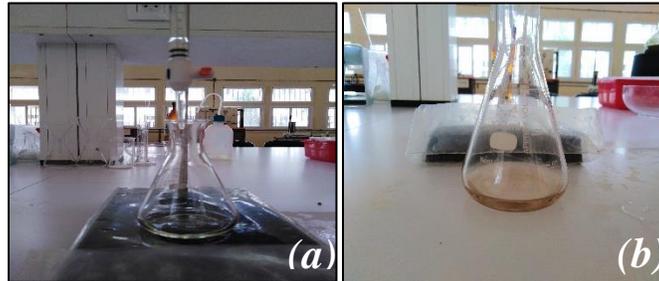
L'indice d'acide des huiles essentielles revient à neutraliser les acides libres de celles-ci par l'hydroxyde de potassium (KOH).

- **Mode opératoire**

- Introduire 0.2 g de l'échantillon d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans l'erenmeyer propre et sec ;
- Ajouter 5 ml d'éthanol avec la pipette et mettre 3 gouttes de phénolphtaléine utilisé comme indicateur coloré ;
- A l'aide de la burette, neutraliser la solution obtenue avec une solution de KOH d'une concentration (molarité) de 0,1 mol/l ;
- On arrête le titrage au moment du virage de la couleur ;
- Noter le volume KOH consommé (V_{KOH}) pour le calcul l'indice d'acide à l'aide de la relation suivant :

$$I_a = \frac{56,1 \times M \times V}{m}$$

V= volume de KOH ; 56.1 = masse de KOH ; m= masse d'huile ; M = molarité de KOH



*Figure III-4 : (a) : avant le changement de couleur ;
(b) : après le changement de couleur après un certain volume de KOH*

III-1-3-2-2- L'Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une matière est une grandeur qui caractérise le pouvoir qu'a cette matière, à ralentir et à dévier la lumière. L'indice de réfraction d'une matière est mesuré par un réfractomètre.

- **Le réfractomètre :** Est un instrument optique servant à déterminer l'indice de réfraction d'une substance, c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance.



Figure III-5 : Le réfractomètre

- **Mode opératoire**
 - Ouvrir le prisme secondaire puis déposer 2 ou 3 gouttes de l'HE sur la partie centrale du prisme principal ;
 - Fermer doucement le prisme secondaire. L'échantillon s'étale entre le prisme principal et le prisme secondaire en un film mince ;

- Attendre que la température soit stable pour effectuer la mesure. La valeur de mesure pour un échantillon liquide étant modifiée suivant le changement de température ;
- Lire l'indicateur de température pour connaître le degré de mesure réelle, et le joindre sans faute à la valeur mesurée.

- **Méthode de calcul**

L'indice de réfraction, à la température de référence 20 °C, est donné par l'équation suivante :

$$I_D^{20} = I + 0,0003 (T - 20 \text{ °C})$$

Où I : est la valeur de lecture, obtenue à la température T à laquelle a été effectuée la détermination (Exprimer le résultat avec quatre décimales).

III-1-3-2-3- La densité

La densité est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume. On définit la densité relative à 20°C d'une huile essentielle comme le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C et son symbole est d_{20}^{20} .

- **Méthode**

- Balance sensible et une seringue de 5 ml propre et sèche ;
- Démarrer la balance et la laisser se stabiliser, ensuite peser la seringue vide ;
- Remplir la seringue avec 0,5 ml d'huile et repeser l'ensemble huile + seringue ;
- Répéter avec le même volume d'eau distillée.

- **Mesure de densité**

La densité relative est donnée par la formule :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

m_0 : est la masse en gramme de la seringue vide.

m_1 : est la masse en gramme de la seringue rempli d'eau distillée.

m_2 : est la masse en gramme de la seringue rempli d'huile essentielle

- **Méthode du calcul de la densité relative**

En ajoutant le facteur de correction 0,00073 par degré, la formule générale de calcul de la densité relative à 20° C est la suivante :

$$d_{20} = (\rho_{HE} / \rho_{eau \text{ à } 20^\circ C}) + (0,00073 (T - 20))$$

III-1-3-2-4-Mesure du pH

pH est l'abréviation de potentiel d'hydrogène et mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+) (appelés aussi couramment protons) en solution.

Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre.

- **Mode opératoire**
 - Mettre quelques gouttes d'HE d'*Eucalyptus globulus* sur un bout de papier pH ;
 - Après le changement de la couleur du papier, comparer avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.



Figure III-6 : La gamme de couleur selon le pH

III-1-4- Analyse chromatographique

La chromatographie sur couche mince CCM

- **Principe**

Cette technique est une chromatographie d'adsorption où la phase stationnaire est un solide, il s'agit par exemple de silice ou d'alumine traitée et la phase mobile un liquide. La séparation est basée sur l'adsorption sélective des espèces à la surface du solide. L'éluant migre à travers la phase stationnaire par capillarité.

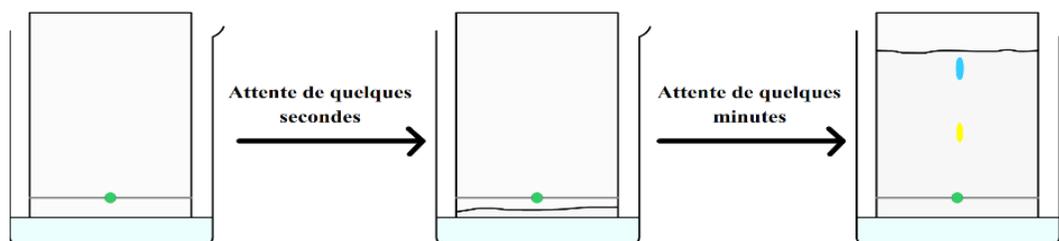


Figure III-7 : Etapes de la CCM

- **Méthode**

- Déposer sur la ligne de dépôt une goutte d'huile essentielle ;
- Après introduction de la plaque dans une cuve contenant l'éluant, celui-ci migre lentement le long de la plaque, en entraînant les différentes espèces chimiques des échantillons ;
- Chaque espèce se déplace à sa propre vitesse derrière le front de l'éluant ;
- La plaque est retirée de la cuve et le front de l'éluant est noté au crayon. On fait sécher la plaque afin de vaporiser l'éluant.

L'éluant utilisé : n Hexane - dichloro méthane ;

Révélation : la visualisation de la plaque est faite par la méthode physiques (sous une lampe UV par la longueur d'onde : 254 nm).



Figure III-8 : Lampe UV

- **Exploitation de la CCM**

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de chaque tâche dans des conditions données (phase fixe et éluant connus), nous permet de calculer le rapport frontal pour chaque tâche selon la relation suivante :

$$R_f = d / D$$

d: La distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche, c'est la distance parcourue par l'espèce chimique

D : La distance parcourue par l'éluant dans le même temps ; c'est la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.

III-1-5- Analyses spectroscopiques

III-1-5-1- Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse qualitative et quantitative qui permet d'identifier et de caractériser les différents pics correspondants aux groupements fonctionnels.

Pour identifier les liaisons de vibration existant dans la matière organique, on fait une comparaison entre les bandes de vibration de nos spectres IRTF et celle de la bibliographie.

- **Méthode**

On a réalisé notre analyse au laboratoire pédagogique du département de Génie des Procédés de l'Université de Guelma, à l'aide d'un appareil de type Agilent Technologies Cary 360 FTIR ;



Figure III-9 : Spectromètre infrarouge

- Mettre une goutte d'huile essentielle sur le cristal ;
- L'analyse se fait en mode ATR avec une vitesse de résolution de $4 \text{ cm}^{-1} / \text{min}$ et une cumulation de 16 scans.
- Le spectre s'affiche sur l'écran de l'ordinateur qui pilote l'appareil d'analyse.

III-1-5-2- Spectroscopie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible permet la mesure de la quantité de la lumière absorbée à chaque longueur d'onde de bandes ultraviolettes et visibles du spectre électromagnétique. L'absorbance de la lumière fait passer des électrons d'un niveau d'énergie plus bas, état stable, à un niveau d'énergie plus élevé à l'état excité.

- **Principe**

Pour enregistrer le spectre UV visible d'une substance, on prépare une solution diluée que l'on introduit dans une cuve en verre ou en quartz. Le solvant doit être transparent dans la zone de longueurs d'onde choisie. Sa nature doit être relevée, car elle peut avoir une influence sur les caractéristiques du spectre. Dans le spectrophotomètre, l'échantillon est traversé par un faisceau lumineux et un détecteur mesure, pour chaque longueur d'onde, l'intensité avant et après absorption (I_0 et I).

C'est une spectroscopie quantitative, qui est régie par la loi de Beer-Lambert si la solution est suffisamment diluée : $\text{Log } I/I_0 = A = \epsilon l c$

A : absorbance

ϵ : coefficient d'absorbance ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{l} \cdot \text{cm}^{-1}$)

l : longueurs de la cuve en cm

C : concentration de la solution en $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$

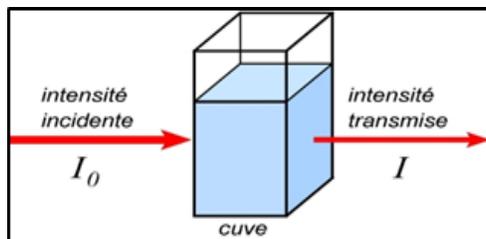


Figure III-10 : Principe de la loi d'absorptiomètre

Le spectre UV-visible est constitué par la courbe d'absorbance en fonction de la longueur d'ondes $\log (I/ I_0) = f(\lambda)$, λ étant exprimé en nm.

Il se présente sous la forme de larges bandes que l'on caractérise par leurs longueurs d'onde au maximum d'absorption (λ_{max}) et leurs coefficients d'absorbance (ϵ).

- **Méthode**

- Nettoyer la cuve en quartz avec de l'acétone ensuite avec du cyclohexane (le solvant utilisé) ;
- Remplir la cuve de référence avec du cyclohexane, l'introduire dans le spectromètre UV et appuyer sur zéro ;
- Remplir à nouveau la cuve avec du cyclohexane et mettre dedans quelques gouttes d'huile essentielle à analyser ;
- Mettre la cuve pleine dans le spectromètre UV, où elle est traversée par le faisceau lumineux.



Figure III-11: Spectromètre HACH LANGE DR 6000

Partie II : Evaluation de l'effet insecticide de l'HE extraite des feuilles

Les huiles essentielles sont les pesticides verts du futur, ce sont des mélanges complexes de nombreux composés organiques naturels prédominés par les terpènes. Les huiles essentielles testées sont celles extraites et caractérisées dans la première partie.

III-2-1- Matériel biologique

Dans cette expérience, on a testé l'effet insecticide de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sur deux espèces différentes d'insectes : Un ravageur de denrées stockés *Ephestia kuehniella* et les fourmis du genre *Formica*.

III-2-1-1-Ephestia kuehniella

Ephestia kuehniella (Zeller), appelée communément « Pyrale de la farine » est une mite des denrées stockées dont les larves et s'attaquent essentiellement à la farine, aux grains de céréales, la semoule, les pâtes alimentaires et aux fruits secs, provoquant ainsi des pertes considérables [46].

- **Position systématique**

Tableau III-2 : La position systématique d'*Ephestia kuehneilla* [46]

Règne	Animalia	Ordre	Lepidoptera
Embranchement	Arthropoda	Famille	Pyralidae
Classe	Insecta	Genre	Ephestia
Sous- classe	Pterygota	Espèce	Ephestia kuehniella

- **Cycle biologique**

Chez *Ephestia kuehniella*, la durée totale du cycle complet de l'évolution dure environ 61 jours à une température constante de (27°±1°C), et une humidité relative de 70 %, ce Lépidoptère holométabole est passée par 4 stades successifs : œuf, larve, nymphe et adulte.

- **L'œuf** : Il est de couleur blanchâtre et de forme ovoïde, sa durée d'incubation varie de 3 à 14 jours, selon la température ambiante. Il mesure 460 µm de longueur et de 230 µm de largeur.

- **La larve ou chenille** : Elle passe par six stades larvaires. La larve du premier stade mesure de 1 à 1,5 mm de long, elle peut atteindre jusqu'à 15 à 20 mm au stade final. Dès son exuviation, la larve se nourrit directement de la farine, elle est de couleur blanche virant légèrement vers le rose. Le mâle se diffère de la femelle par la présence de deux tâches noires à la face dorsale de l'abdomen.
- **La chrysalide ou nymphe** : La larve du dernier stade subit une mue nymphale et devient chrysalide. De profonds remaniements se manifestent, ça consiste en la destruction des organes larvaires et à l'édification de ceux de l'adulte, notamment la maturation sexuelle. La nymphe est de couleur blanchâtre et devient de plus en plus foncée avec l'âge. Entourée d'un cocon de soie blanche contenant des substances nutritives, la chrysalide aboutit à un adulte après une durée du développement nymphale variant de 8 à 12 jours.
- **L'adulte** : La chrysalide subit une mue imaginale apportant les dernières modifications en réalisant l'insecte parfait qui est un papillon de 20 à 25 mm d'envergure, les ailes antérieures sont grisâtres satinées, avec des points noirs, les ailes postérieures sont blanchâtres finement frangées. Les femelles adultes pondent juste après l'accouplement qui aura lieu quelques heures après l'émergence et la fécondité est de 200- 300 œufs en amas au fond et sur les parois des sacs de farine [36].

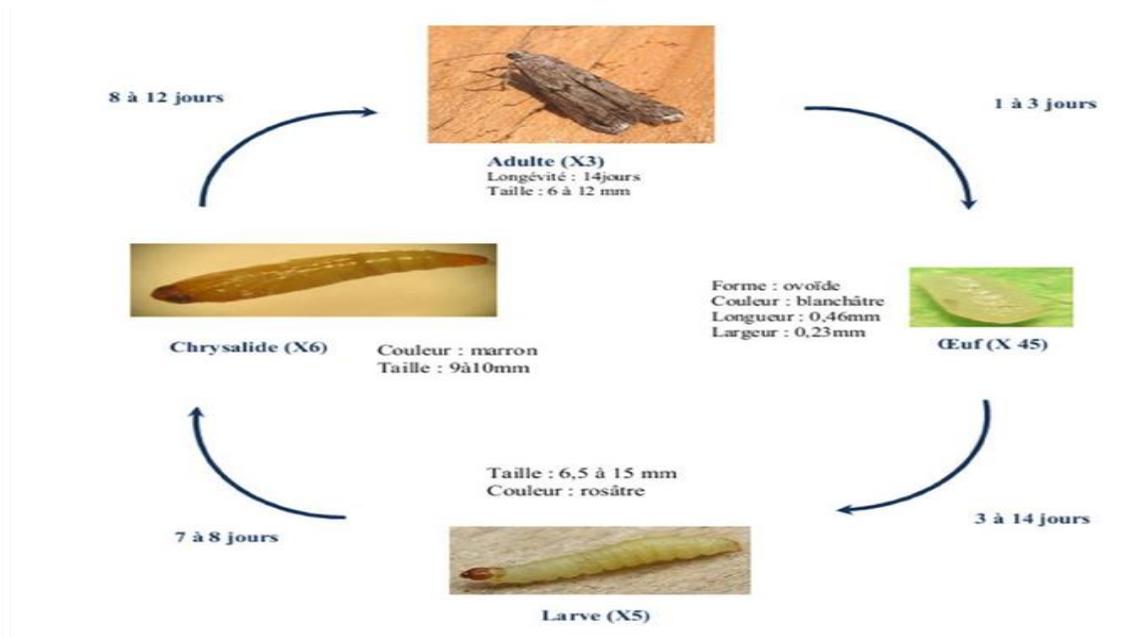


Figure III-12 : Cycle de développement d'*Ephestia kuehniella* [46]

- **Elevage**

Les larves d'*Ephestia* élevées dans la semoule stockée dans un endroit humide et à l'obscurité, ont été déposées dans des boîtes en verre avec une petite quantité de semoule et recouvertes avec du papier film.

III-2-1-2-Les fourmis

Les fourmis du genre *Formica* sont de taille moyenne, principalement insectivores, très communes en régions froides ou humides [47].



Figure III-13 : Photo réelle d'une des fourmis utilisées

- **Position systématique**

Tableau III-3 : Position systématique des fourmis [47]

Règne	Animalia	Sous-classe	Ptérygota
Embranchement	Arthropoda	Ordre	Hyménoptera
Sous embranchement	Hexapoda	Sous-ordre	Apocrita
Classe	Insecta	Famille	Formicidae

- **Développement des fourmis**

Les fourmis possèdent quatre stades de développement, l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte. La taille et la forme d'œufs dépendent de l'espèce, comme leur durée de maturation qui varie entre 2 et 6 semaines.

Les larves éclosent généralement sans pattes et sans yeux, elles sont nourries par les ouvrières, leur forme est spécifique à l'espèce.

Les stades de nymphoses ressemblent beaucoup à l'adulte. Les nymphes sont sans coloration et immobiles ; certaines sont encoconnées d'autres non [47].

- **Elevage**

Les fourmis utilisées ont été collectées à l'Université de Guelma, ensuite elles sont déposées dans des boîtes en verres recouvertes avec une compresse maintenue avec un ruban adhésif.

III-2-2- Test de l'effet insecticide de l'huile essentielle

III-2-2-1- Mode opératoire

- Des tests insecticides par contact d'huile essentielle sont réalisés dans des boîtes de pétri de 9 cm de diamètre.
- Sur la base des tests préliminaires, on s'est assuré que le solvant utilisé à savoir l'acétone n'a aucune influence sur la mortalité des insectes utilisés (en plus l'acétone s'évapore en quelques minutes et permet la propagation de l'huile sur toute la surface du papier filtre sans laisser des traces résiduelles).
- Les doses sont exprimées en μl d'huile essentielle pure, ensuite ajoutées à l'acétone.
- Les témoins ne reçoivent aucun volume d'huile essentielle.
- Les essais sont réalisés sur 2 espèces d'insectes : l'*Ephestia kuehniella* et les fourmis.



Figure III-14 : L'Ephestia kuehniella et les fourmis

III-2-2-2- Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle

➤ Application sur l'*Ephestia kuehniella*

- Dans chacune des 3 boîtes de notre essai, mettre un certain volume d'HE (50, 100 et 150 μ l), ajouter 1ml d'acétone et immerger immédiatement les papiers filtre ;
- Dans la boîte des témoins, immerger le papier filtre dans l'acétone seul ;
- Ajouter dans chaque boîte 20 larves d'*Ephestia kuehniella* avec une petite quantité de semoule et fermer les boîtes avec du papier film ;
- La mortalité a été enregistrée après 4h, 8h, 12h et 24h d'exposition.

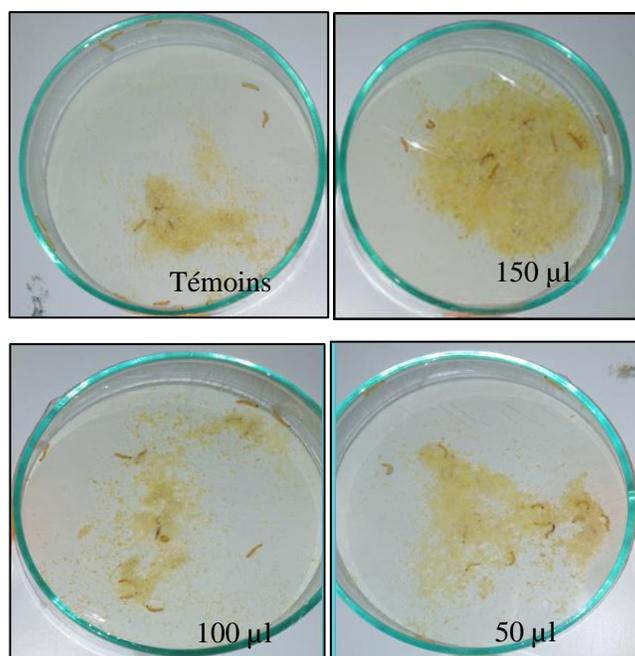
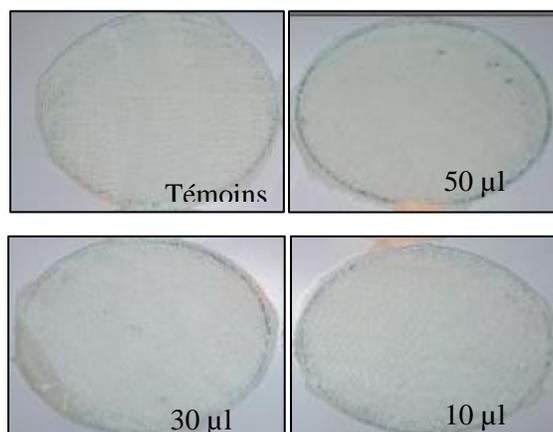


Figure III-15 : Les larves de mites lors du test

➤ Application sur les fourmis

- Dans chacune des 3 boîtes, mettre un certain volume d'HE (10, 30 et 50 μ l), ajouter 1ml d'acétone et immerger immédiatement les papiers filtre ;
- Dans la boîte des témoins, immerger le papier filtre dans l'acétone seul ;
- Ajouter dans chaque boîte 5 individus de fourmis et fermer la boîte avec une compresse (pour permettre la respiration et empêcher la sortie des individus), et maintenir avec du ruban adhésif ;
- La mortalité a été enregistrée après 7min, 30min, 40min, 50min et 54 min d'exposition.



Figures III-16 : Les fourmis lors du test

III-2-2-3- Correction de mortalité

L'efficacité de l'huile essentielle est évaluée par la mortalité. Les résultats des tests effectués ne représentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile ; mais il y a aussi la mortalité naturelle. Le comptage des individus morts est réalisé après 4h, 8h, 12h et 24h pour les larves d'*Ephestia kuehniella*, et après 7min, 30min, 40min, 50min et 54min pour les fourmis.

Le pourcentage des individus morts dans chaque traitement est corrigé selon la formule suivante :

√ **1^{er} cas** : Mortalité inférieure à 5% dans les témoins. Pourcentages retenus sont les valeurs de l'essai ;

√ **2^{ème} cas** : Mortalité naturelle dans le témoin est comprise entre 5% et 20%. Elle est corrigée par la formule d'Abbott (1925) :

$$M_C \% = (M_T - M_t) / (100 - M_t) \times 100$$

M_C % : pourcentage de mortalité corrigée

M_T : Mortalité obtenue dans la population traitée

M_t : Mortalité enregistrée dans la population de témoins

√ **3^{ème} cas** : Si la mortalité dans le lot témoin est supérieure à 20% le test est à refaire.

Toutefois aucune mortalité naturelle n'a été observée dans le témoin donc la correction de mortalité n'est pas nécessaire. Le nombre d'individus dénombrés morts dans la population de la boîte pétrie est le nombre réel de mortalité.

III-2-2-4- Calcul des doses létales et temps létaux (DL₅₀ DL₉₀ et TL₅₀ DL₉₀)

Après transformation angulaire des pourcentages de mortalité corrigée, les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification. Les mortalités

corrigées obtenues permettent d'établir une courbe de probits en fonction des logarithmes décimaux des doses et du temps.

➤ **Les doses létales DL₅₀ et DL₉₀**

Pour estimer l'efficacité de l'huile essentielle obtenue, nous avons procédé au calcul des DL₅₀ et des DL₉₀ qui représentent les concentrations entraînant la mortalité, respectivement de 50 % et 90% d'individus de la même espèce.

➤ **Les temps létaux TL₅₀ et TL₉₀**

Les temps létaux 50 et 90 représentent les temps au bout desquels nous avons observé respectivement une mortalité de 50 % et 90 % de la population traitée, sous l'effet entraîné par la toxine à une concentration bien déterminée. Les TL₅₀ et TL₉₀ sont fixés par les droites de régression des tests.

Les transformations vont nous permettre par l'intermédiaire du logiciel Origin 2018 d'établir les droites de régression de type $Y = ax + b$

Y = probit de mortalité corrigée ; x = logarithme de la dose ou du temps.

A partir de cette équation la DL₅₀ DL₉₀ et le TL₅₀ DL₉₀ sont déterminés.

Tableau III-4 : Table de transformation des pourcentages en probit

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0		2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,5	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,8	4,82	4,85	4,87	4,9	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,08	5,1	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,33	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,61	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,95	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,41	6,48	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
99	7,33	7,37	7,41	7,46	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	8,09

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV

Résultats et discussion

Ce dernier chapitre est consacré à la présentation des résultats expérimentaux obtenus dans notre étude et leur discussion. Il portera essentiellement deux grandes parties. La première dédiée à l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et sa caractérisation par diverses techniques, et la seconde traitera les résultats de l'étude de l'effet insecticide de cette huile.

PARTIE I :

Extraction et caractérisation de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus

Cette partie comprend les résultats obtenus suite à l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par hydrodistillation : Rendement, propriétés organoleptiques, caractéristiques physico-chimiques, analyse chromatographique et les analyses spectroscopiques.

IV-1-1- Le rendement des huiles essentielles

Ce rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle extraite par rapport au poids de la masse végétale utilisée (feuilles ou fruits) dans l'hydrodistillation, soit :

$$\mathbf{R\% = \frac{\text{le poids de l'huile extraite}}{\text{le poids de la matière végétale}} \times 100}$$

Tableau IV-1 : Rendement d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus

Echantillon	Feuilles fraîches	Fruits frais
Poids de l'HE extraite (g)	0,82	0,56
Rendement (%)	0,41	0,28

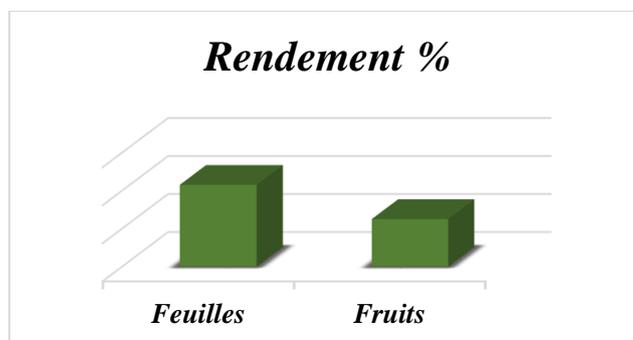


Figure IV-1 : Rendement d'huile essentielle extraite d'Eucalyptus globulus.

Les huiles essentielles obtenues sont 100 % pures, 100 % naturelles et la quantité est toujours faible par rapport à la masse végétale utilisée.

Dans notre étude, on remarque que le rendement de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles est supérieur à celui de l'huile essentielle extraite à partir des fruits. Différemment des résultats obtenus en 2014 par BEY-OULD Z. [4], qui a trouvé que le rendement en HE des fruits est supérieur à celui des feuilles (0,4 % à partir des fruits et 0,1 % à partir des feuilles). Cette différence pourrait être expliquée par la différence de la technique d'extraction utilisée (Clevenger) ou même au taux d'humidité des organes. En effet, dans son étude, l'auteur a utilisé de la matière sèche et a attribué son résultat à l'effet de la saison de la récolte.



Figure IV-2 : Coupe transversale des feuilles d'E. globulus

IV-1-2- Propriétés organoleptiques

Tableau IV-2 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.

	Couleur	Odeur	Aspect	Saveur
Feuilles	Jaune foncé	Forte odeur, fraîche et épicée	Liquide limpide	Aromatique, un peu amer
Fruits	Jaune Pâle	Forte odeur, fraîche et épicée	Liquide limpide	Aromatique

La couleur des huiles essentielles obtenues diffère bien qu'elles soient extraites de la même plante, ces différences peuvent être attribuées à la composition chimique de l'huile essentielle qui peut varier dans une même plante selon les organes utilisés lors de l'extraction. Ce résultat est conforme à ceux rapportés en littérature [4,22].

IV-1-3- Analyse des caractéristiques physico-chimiques

IV-1-3-1- Indice d'acide

L'indice d'acide est déterminé par de la relation suivante : $Ia = 56,1 \times N \times V / m$

Où le volume de KOH consommé $V_{\text{KOH}} = 6,3$ ml. Donc : **Ia = 1,767**

IV-1-3-2- L'indice de réfraction

L'indice de réfraction a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre à une température $T = 26,1$ °C :

- Indice de réfraction de l'huile essentielle des feuilles = 1,448
- Indice de réfraction de l'huile essentielle des fruits = 1,447

L'indice de réfraction à $T = 20^\circ\text{C}$ est déterminé par la relation : **$I_D^{20} = I + 0,0003 (T - 20^\circ\text{C})$**

- $I_D^{20} = 1,4498$ pour les feuilles
- $I_D^{20} = 1,4488$ pour les fruits

IV-1-3-3- La densité

La densité a été déterminée en utilisant une seringue une fois pleine de l'huile et une fois avec de l'eau distillée, et à l'aide de cette relation : **$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$**

Où : $m_0 = 5,66$ g ; $m_1 = 6,16$ g ; $m_2 = 6,12$ g pour les feuilles

Et : $m_0 = 5,66$ g ; $m_1 = 5,99$ g ; $m_2 = 5,96$ g pour les fruits

- La densité de l'huile essentielle des feuilles $d_F = 0,92$
- La densité de l'huile essentielle des fruits $d_{Fr} = 0,90$

La densité relative est déterminée par la relation : **$d_{20} = (\rho_{HE} / \rho_{eau} \text{ à } 20^\circ\text{C}) + (0,00073 (T - 20))$**

- Pour les feuilles : $d_{20} = 0,9243$
- Pour les fruits : $d_{20} = 0,9043$

IV-1-3-4- Le pH

Le pH a été mesuré à l'aide du papier pH en posant une goutte d'huile essentielle et en comparant avec la gamme de couleur selon le pH.

- pH de l'huile essentielle des feuilles : pH = 5
- pH de l'huile essentielle des fruits : pH = 5

Tableau IV-3: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus

Caractéristiques	Feuilles	Fruits
Indice d'acide	1,767	/
Indice de réfraction	1,4498	1,4488
pH	5	5
Densité	0,9243	0,9043

D'après les normes AFNOR, l'indice de réfraction de l'HE d'*Eucalyptus globulus* varie entre 0.48 et 3.74, et l'indice d'acide varie entre 0,84 et 3,74. En comparaison avec ceux de notre huile on trouve que l'indice de réfraction des huiles essentielles extraites d'*Eucalyptus globulus* est de 1,4498 pour les feuilles et 1,4488 pour les fruits. Ce résultat est donc conforme à la norme française AFNOR,

L'indice d'acide de l'huile essentielle extraite des feuilles est de 1,767, est conforme à la norme AFNOR.

Les pH et les densités sont conformes aux normes AFNOR, où le pH varie entre 4 et 6, et la densité entre 0,905 à 0,921.

- L'indice de réfraction indique la capacité de l'HE à réfléchir la lumière. Ce rapport est généralement élevé, il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356. Cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température, il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donne un indice plus élevé.
- L'indice d'acide est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acides libres existant dans une huile essentielle, ce paramètre peut aider à connaître la qualité du produit. Quand l'indice d'acide est faible veut ont dit que l'HE est stable et ne subit pas d'oxydation inquiétante, car en s'oxydant, elle se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide [48], donc on peut dire que notre huile essentielle est stable.
- La densité relative à 20 °C de ces huiles essentielles varie entre 0.9243 et 0.9043. Les résultats obtenus sont conformes à la norme AFNOR.
- Le pH de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles est identique à celui de l'huile des fruits. Les pH ont été mesurés à l'aide du papier pH qui donne juste des intervalles et pas une valeur exacte.

IV-1-4- Analyse chromatographique sur couche mince CCM

Les résultats de l'analyse par CCM de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont résumés dans le tableau et la figure suivants. Il s'agit des informations sur les facteurs de rétention (R_f) des constituants chimiques et leur comportement à la lumière UV (254 nm).



Figure IV-3 : Résultat du test de CCM

Tableau IV-4 : Résultat de la CCM.

Nombre de spots	1	2	3
Facteur de rétention R_f (cm)	0,58	0,82	0,94

Dans l'analyse de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par la méthode de chromatographie sur couche mince, on trouve que cette huile contient de nombre de constituant qui apparait sous forme des tâches.

En observant les chromatogrammes obtenus, on note la présence de 3 zones distinctes qui sont synonymes de la présence de 3 espèces chimiques majoritaires et d'autres composants chimiques avec des concentrations plus faibles.

Les composés majoritaires pourraient être : Le 1,8-cinéol, α -pinène et le globulol.

IV-1-5- Analyses spectroscopiques

IV-1-5-1- Analyse de la structure par Spectroscopie IRTF

Cette technique nous a permis d'identifier et de caractériser les différents pics correspondants aux groupements constitutionnels de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

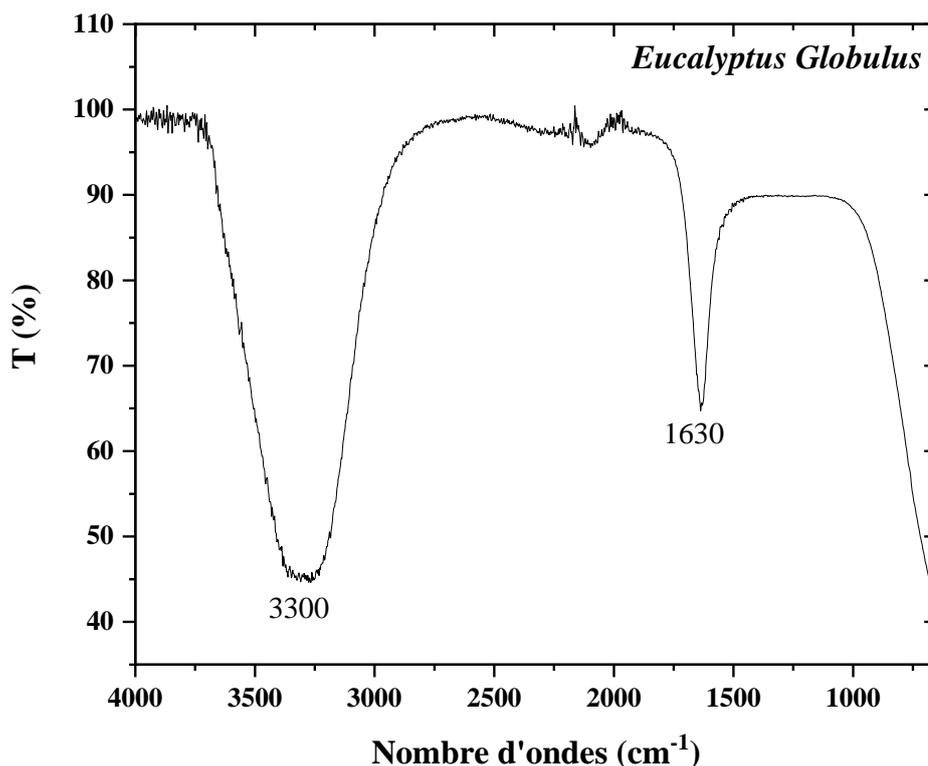


Figure IV-4 : Spectre IRTF de l'HE d'Eucalyptus globulus enregistré entre 4000 et 650 cm^{-1}

D'après le spectre IRTF, les principales bandes d'absorption IR caractéristiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus sont :

- ❖ Une bande intense et large situé à 3300 cm^{-1} [entre 3200 – 3600 cm^{-1}], qui est attribuée à la liaison O-H d'un alcool lié.
- ❖ Une bande située à 1630 cm^{-1} [entre 1620 – 1680 cm^{-1}] caractéristique d'élongation de la liaison C=C, de la fonction alcène.

En effet, il a été rapporté que l'HE d'Eucalyptus contient essentiellement le globulol (1, 1, 4, 7-tétraméthyldécahydro-1H-cyclopropano [e] azulén-4-ol) et α -pinène (2, 6,6-triméthylbicyclo [3.1.1] hept-2-ène) [34-35].

IV-1-5-2- Spectroscopie UV-visible

L'analyse par spectroscopie UV-Vis nous permet de faire un balayage de longueur d'onde entre 200 et 800 nm pour détecter les bandes d'absorption caractéristiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.

La dilution de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus dans le cyclohexane permet d'enregistrer un maximum d'absorption vers $\lambda = 245$ nm.

Le spectre d'absorption UV-visible de notre extrait végétal est présenté sur la figure IV-5.

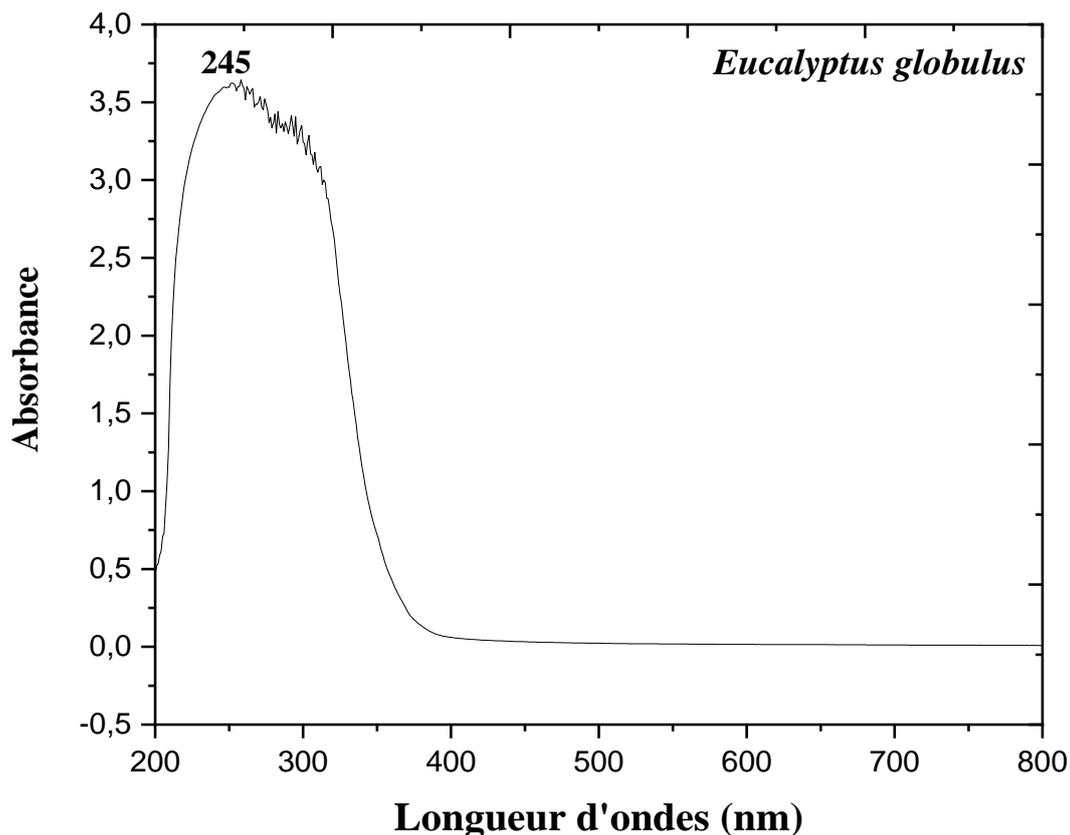


Figure IV-5 : Spectre UV-visible de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

Le spectre montre clairement l'apparition d'une large bande d'absorption maximale située dans le domaine UV et plus précisément à 245 nm. Cette bande pourrait être attribuée aux composés contenant des doubles liaisons conjuguées particulièrement les triènes (3 doubles liaisons). Il est en effet connu que l'huile essentielle d'*Eucalyptus* contient des composés triènes tels que le Limonène, le β -myrcène et le P-cymène

PARTIE II :

Application de l'huile extraite en tant que bio-insecticide

Cette partie du travail est consacrée à la présentation des résultats de la mortalité, la DL₅₀, DL₉₀ et le TL₅₀, TL₉₀ issus du traitement à l'aide des huiles essentielles des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sur les larves d'*Ephestia kuehniella* et les fourmis. Le test ainsi que les paramètres étudiés sont clairement présentés dans le chapitre III.

Les essais toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des insecticides évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles.

IV-2-1-Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur l'*Ephestia kuehniella*

Les taux de mortalité journalière des larves d'*Ephestia kuehniella* traitées avec différentes doses de l'huile essentielle testée sont portés dans le tableau suivant :

Tableau IV-5 : Résultats de l'effet insecticide de l'HE sur le taux de mortalité en % des larves d'*Ephestia kuehniella*

	<i>D1 = 50 µl</i>	<i>D2 = 100 µl</i>	<i>D3 = 150 µl</i>	<i>Témoins</i>
4h	5 %	10 %	20 %	0
8h	15 %	10 %	30 %	0
12h	15 %	20 %	40 %	0
24h	25 %	40 %	65 %	5 %

Il a été observé que le taux de mortalité chez les larves témoins est de 5 %, enregistré après 24h, donc on doit corriger le taux de mortalité à l'aide de la formule d'Abbott (1925) [7]:

$$M_C \% = (M_T - M_t) / (100 - M_t) \times 100$$

M_C % : pourcentage de mortalité corrigée

M_T : Mortalité obtenue dans la population traitée

M_t : Mortalité enregistrée dans la population de témoins

L'efficacité de l'huile essentielle est évaluée par le taux de mortalité. Les résultats des tests effectués ne représentent pas uniquement la mortalité causée par l'huile ; mais il y a aussi la mortalité naturelle. C'est pour cela que nous procédons à la correction.

Tableau IV-6 : Résultats de l'effet insecticide de l'HE après correction des taux de mortalités

	<i>D1 = 50 µl</i>	<i>D2 = 100 µl</i>	<i>D3 = 150 µl</i>
4h	5 %	10 %	20 %
8h	15 %	10 %	30 %
12h	15 %	20 %	40 %
24h	21,05 %	36,84 %	63,15 %

D'après les résultats obtenus, l'effet insecticide de l'huile essentielle testée est confirmé après des tests avec différentes doses de l'huile essentielle. Les mortalités évoluent en fonction des doses et du temps.

Durant les 4 premières heures, on remarque une mortalité allant de 5 % à 20 %, allant de la faible dose à la plus forte. Après 24h d'exposition, la mortalité atteint des valeurs allant de 21,05 % à 63,15 %.

De même, pour une dose de 150 µl, on remarque une mortalité allant de 20 % à 63,15 %.

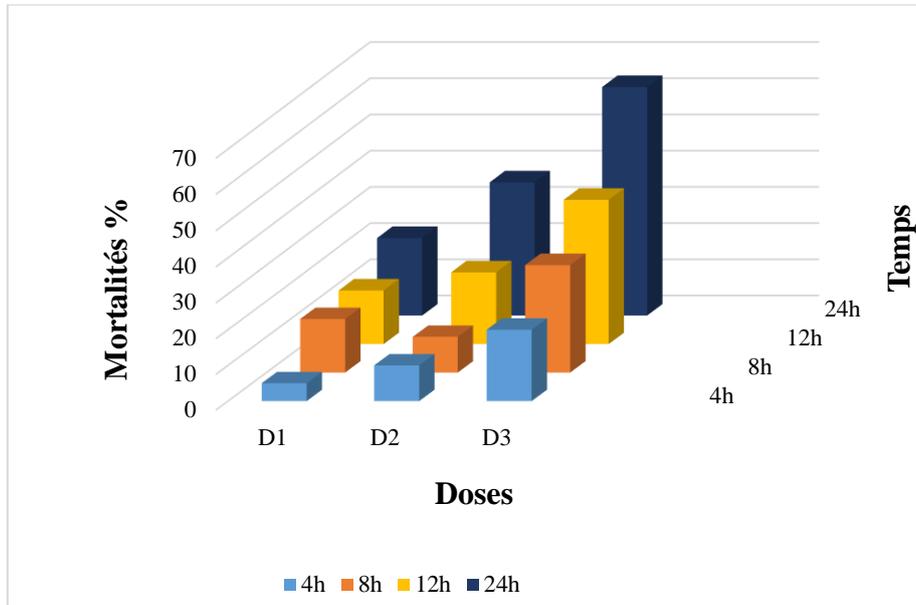


Figure IV-6 : Mortalité observée (%) sur les larves d'*Ephestia kueniella*, en fonction du temps et des doses de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

D'après les résultats obtenus dans cette partie, on remarque que le taux de mortalité maximal est enregistré après 24h d'exposition à l'huile essentielle et avec une dose de 150 µl (Un taux de mortalité de 63,15%).

IV-2-1-1- Calcul des doses létales

Rappelons que les doses létales sont définies comme étant les concentrations entraînant la mortalité, respectivement de 50 % et 90% d'individus de la même espèce.

Pour déterminer la DL₅₀ et la DL₉₀, on a réalisé une droite de régression qui représente le logarithme des doses testées et les pourcentages de mortalités corrigées en probit.

Tableau IV-7 : Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigées en probit, après 4h

<i>Doses</i>	<i>Log doses</i>	<i>Mortalités corrigées</i>	<i>Probit</i>
D1 = 50 µl	1,6989	5 %	3,36
D2 = 100 µl	2	10 %	3,72
D3 = 150 µl	2,1760	20 %	4,16

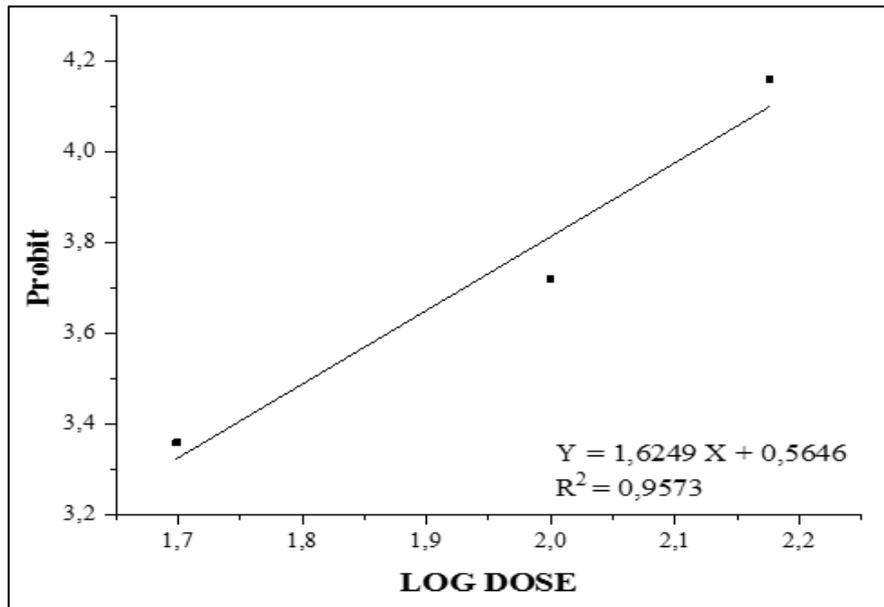


Figure IV-7 : Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d'*Eucalyptus globulus* après 4h

La figure ci-dessus montre l'effet relatif important des doses de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la mortalité des larves d'*Ephestia kuehniella* après 4h.

Pour une durée de traitement de **4h** avec l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, la DL₅₀ et la DL₉₀ sont calculées à partir de la fonction du tracé de régression et elles sont égales respectivement à 536,53 µl/ml et à 3290,78 µl/ml.

Tableau IV-8 : Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigés en probit, après 24h

Doses	Log doses	Mortalités corrigées	Probit
D1 = 50 µl	1,6989	21,05 %	4,19
D2 = 100 µl	2	36,84 %	4,64
D3 = 150 µl	2,1760	63,15 %	5,33

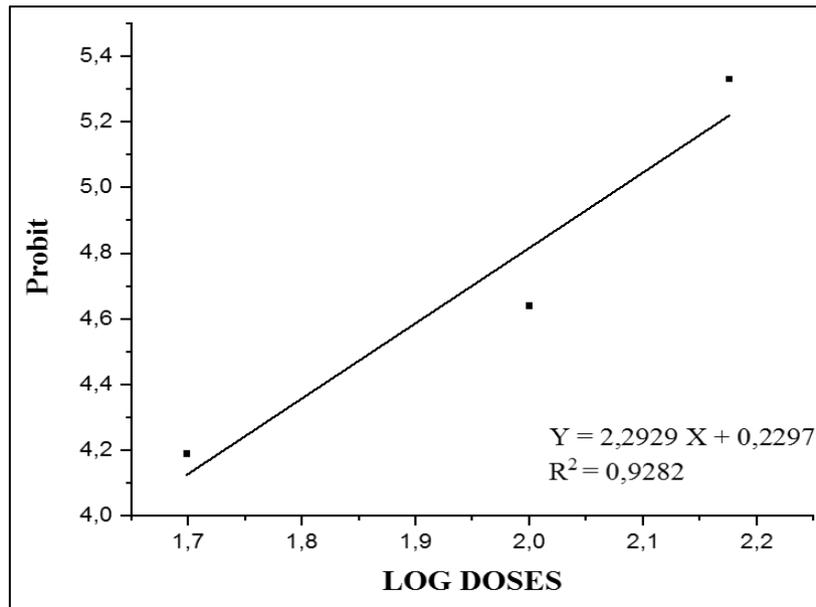


Figure IV-8 : Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d'*Eucalyptus globulus* après 24h

La figure ci-dessus montre l'effet relatif important des doses de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la mortalité des larves d'*Ephestia kuehniella* après 24h.

Pour une durée de traitement de **24h** avec l'huile essentielle du l'*Eucalyptus globulus*, la DL₅₀ et la DL₉₀ sont calculées à partir de la fonction du tracé de régression et elles sont égales respectivement à 120,22 µl/ml et à 426,57µl/ml.

Les doses létales de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* nécessaires pour une mortalité de 50% et 90% des larves d'*Ephestia kuehniella* sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau IV-9 : Les doses létales après 4h et 24h d'exposition à l'HE

	DL ₅₀ (µl/ml)	DL ₉₀ (µl/ml)
Après 4 h	536,53	3290,78
Après 24 h	120,22	426,57

Ces résultats nous indiquent que pour atteindre une mortalité de 50% des larves d'*Ephestia kuehniella* en seulement 4h, il est préférable de les exposer à une dose de 536,53 µl d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, et en 24h sous une dose inférieure soit de 120,22 µl.

Pour une mortalité de 90% des larves d'*Ephestia kuehniella* en seulement 4h, il est nécessaire de les exposer à une dose de 3290,78 µl d'huile essentielle, et en 24h sous une dose de 426,57 µl.

Ce qui s'explique par la relation dose-effet, plus la dose est importante plus le temps de mortalité sera réduit.

IV-2-1-2- Calcul des temps létaux

Rappelons que les temps létaux 50 et 90 représentent les temps au bout desquels nous avons observé respectivement une mortalité de 50 % et 90 % de la population traitée, sous l'effet entraîné par l'huile essentielle à une concentration bien déterminée. Les TL₅₀ et TL₉₀ sont fixés par les droites de régression des tests.

Pour déterminer ces temps létaux (TL₅₀ et TL₉₀), on a réalisé une droite de régression qui représente les logarithmes des temps et les pourcentages de mortalités corrigées en probit.

Tableau IV-10 : Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 50 µl

<i>Temps</i>	<i>LOG TEMPS</i>	<i>Mortalités</i>	<i>Probit</i>
4 h	0,6020	5	3,36
8 h	0,9030	15	3,96
12 h	1,0791	15	3,96
24 h	1,3802	21,05	4,19

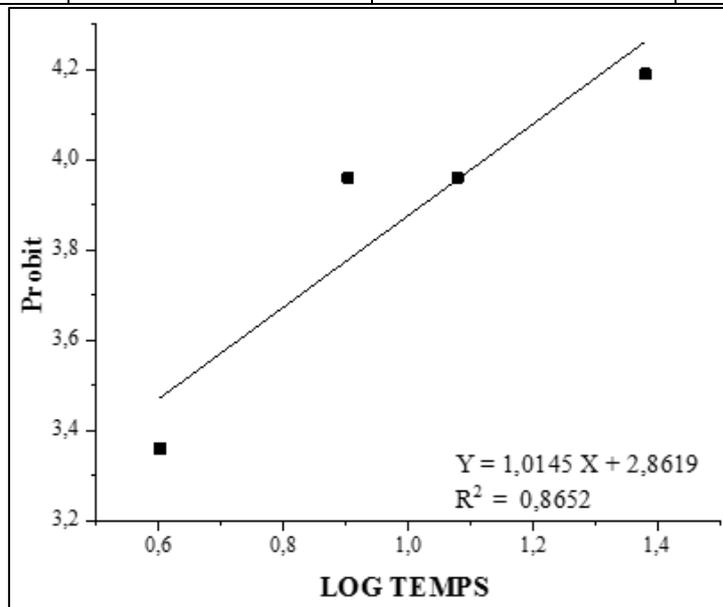


Figure IV-9 : Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 50 µl de l'HE d'Eucalyptus globulus

A partir de la droite de régression, le TL₅₀ et le TL₉₀ sont respectivement de 128,08 h et 2339,91h de mortalités sous l'effet de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus vis-à-vis des larves d'Ephestia kuehniella à une dose de 50µl.

Tableau IV-11 : Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 150 µl

<i>Temps</i>	<i>LOG TEMPS</i>	<i>Mortalités corrigées</i>	<i>Probit</i>
4 h	0,6020	20	4,16
8 h	0,9030	30	4,48
12 h	1,0791	40	4,75
24 h	1,3802	63,15	5,33

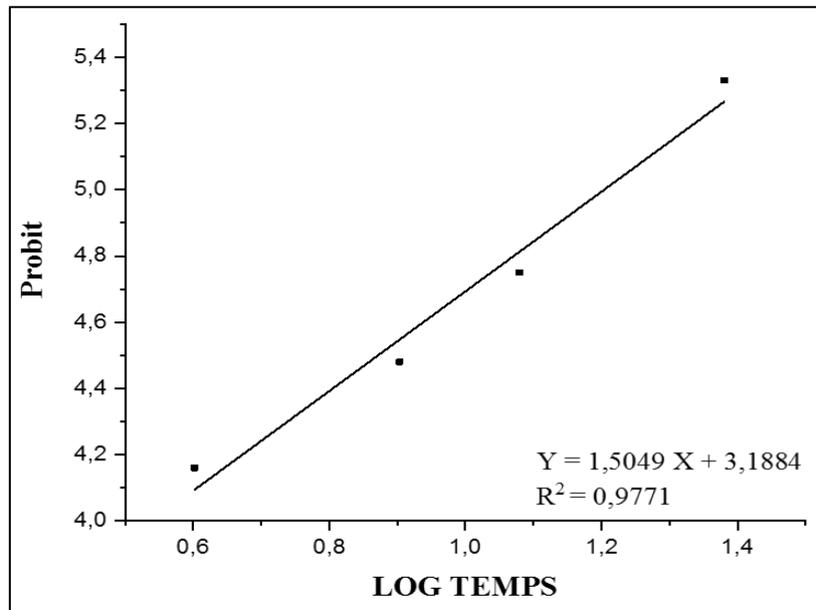


Figure IV-10 : Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 150 µl de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

A partir de la droite de régression, le TL₅₀ et le TL₉₀ sont respectivement 15,98 h et 113,31 h de mortalité sous l'effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis des larves d'*Ephestia kuehniella* à une dose de 150µl.

Les temps létaux nécessaires pour une mortalité de 50% et 90% des larves d'*Ephestia kuehniella* sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau IV-12 : Les temps létaux en utilisant 50 µl/ml et 150 µl/ml d'HE

	<i>TL₅₀ (h)</i>	<i>TL₉₀ (h)</i>
<i>D = 50 µl</i>	128,08	2339,91
<i>D = 150 µl</i>	15,98	113,31

D'après l'analyse de la variance faite par A.Haddouche et L.kirrad [7] sur l'application de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* contre le *Aphis Pomi*, montre une différence très

hautement significative pour les deux facteurs « dose et temps ». Ce qui implique que ce facteur a une grande influence sur la mortalité.

IV-2-2- Effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur les fourmis

L'étude de l'effet insecticide de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur les fourmis a également été menée.

Les taux de mortalités des fourmis du genre *Formica* traitées avec différentes doses d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sont portés dans le tableau suivant :

Tableau IV-13 : Résultats de l'effet insecticide de l'HE sur le taux de mortalité en % des fourmis

	<i>D1 = 10 µl</i>	<i>D2 = 30 µl</i>	<i>D3 = 50 µl</i>	<i>Témoins</i>
<i>7 min</i>	0 %	20 %	40 %	0
<i>30 min</i>	0 %	40 %	40 %	0
<i>40 min</i>	20 %	80 %	100 %	0
<i>50 min</i>	80 %	100 %	100 %	0
<i>54 min</i>	100 %	100 %	100 %	0

Il faut noter que le taux de mortalité chez les fourmis témoins est nul, donc les taux de mortalité sont les mortalités réelles des individus.

D'après les résultats obtenus, on remarque l'efficacité de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis les fourmis, et les taux de mortalités augmentent en fonction des doses d'huile essentielle et du temps d'exposition.

Au bout des premières 7 minutes, on note une mortalité de 20% chez les individus traités avec seulement 30 µl et 40 % chez les individus traités avec 50 µl d'huile essentielle, et à cette concentration on remarque la mortalité totale des individus après 40 min d'exposition.

Après 54 min, on remarque une mortalité totale des individus traités avec différentes doses et aucune mortalité chez les fourmis témoins.

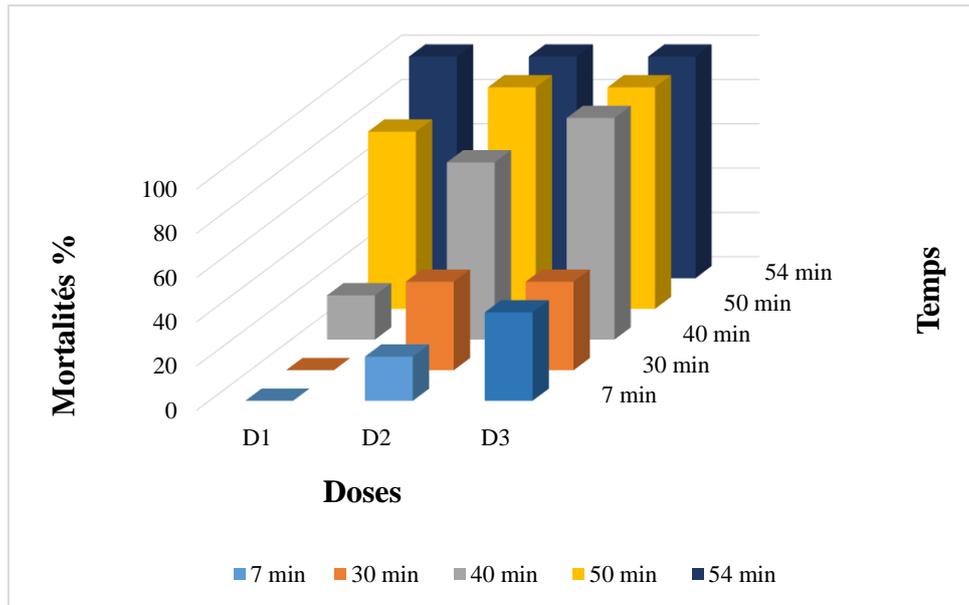


Figure IV-11 : Mortalité observée (%) des fourmis, en fonction du temps et des doses de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

IV-2-2-1- Calcul des doses létales

Pour déterminer la DL₅₀ et la DL₉₀, on a réalisé une droite de régression qui représente le logarithme des doses testées et les pourcentages de mortalités corrigées en probit.

Tableau IV-14 : Les logarithmes des doses et pourcentages de mortalités corrigées en probit, après 7min

<i>Doses</i>	<i>Log doses</i>	<i>Mortalités</i>	<i>Probit</i>
10 µl	1	0	0
30 µl	1,4771	20	4,16
50 µl	1,6989	40	4,75

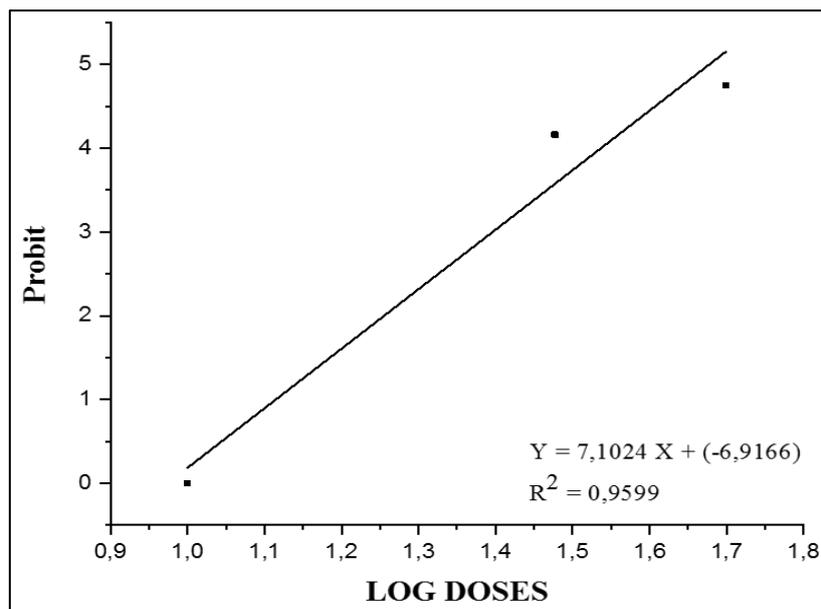


Figure IV-12 : Régression linéaire de la mortalité en fonction des concentrations de l'HE d'*Eucalyptus globulus* après 7min

La figure ci-dessus montre l'effet relatif important des doses de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur les fourmis après seulement 7 min.

Pour une durée de traitement de 7 min avec l'huile essentielle du l'*Eucalyptus globulus*, la DL₅₀ et la DL₉₀ sont calculées à partir de la fonction du tracé de régression et elles sont égales respectivement à 47,62 µl et 72,11 µl/ml.

Les doses létales nécessaires pour une mortalité de 50 % et 90 % de fourmis en juste 7 min sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau IV-15 : Les doses létales après 7 min d'exposition à l'HE

Temps (min)	DL ₅₀ (µl/ml)	DL ₉₀ (µl/ml)
7 min	47,62	72,11

IV-2-2-2- Calcul des temps létaux

Pour déterminer les temps létaux TL₅₀ et TL₉₀, on a réalisé une droite de régression qui représente les logarithmes des temps et les pourcentages de mortalités corrigées en probit.

Tableau IV-16 : Les logarithmes des temps et pourcentages de mortalités corrigées en probit, à une concentration de 10 µl

Temps	LOG TEMPS	Mortalités	Probit
40 min	1,6020	20	4,16
50 min	1,6989	80	5,84

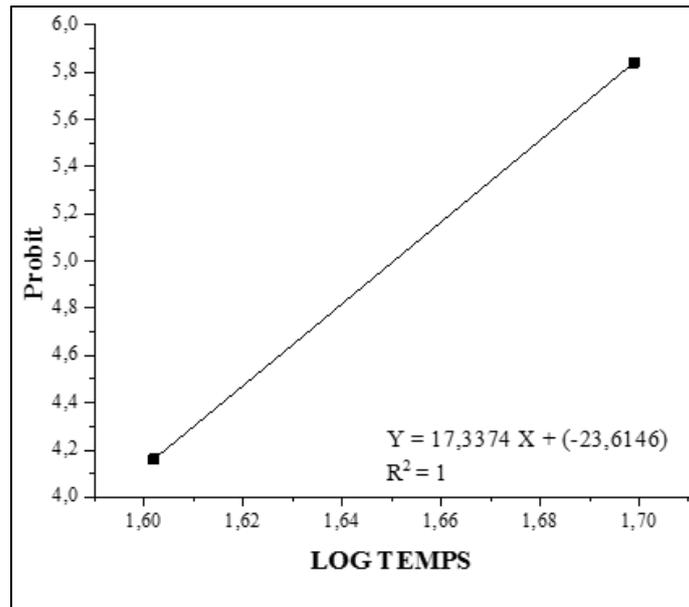


Figure IV-13 : Régression linéaire de la mortalité en fonction du temps à une dose de 10 µl de l'HE d'*Eucalyptus globulus*

A partir de la droite de régression, le TL₅₀ et le TL₉₀ sont respectivement 44,70 h et 52,99 h de mortalités sous l'effet de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* vis-à-vis les fourmis à une concentration de 10 µl.

Les temps létaux nécessaires pour une mortalité de 50% et 90% des fourmis sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau IV-17 : Les temps létaux à une concentration de 10 µl

Dose (µl)	TL ₅₀ (h)	TL ₉₀ (h)
10	44,70	52,99

Ce travail a été réalisé dans but de contribuer aux études sur l'exploitation des propriétés naturelles de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* obtenue par hydrodistillation. On s'est intéressé à la valorisation des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* de la wilaya de Guelma, en Algérie.

Ce travail consiste en une étude comparative entre les huiles essentielles obtenues à partir des différents organes d'une même plante (Feuilles et fruits), et une étude analytique de l'huile essentielle extraite des feuilles, suivie d'une application qui permet d'évaluer l'effet de cette huile essentielle en tant que bio-insecticide contre deux espèces d'insectes (*Ephestia kuehniella* et fourmis).

Un certain nombre de résultats intéressants peuvent être résumés dans ce qui suit :

↪ L'étude quantitative a montré une variation de la teneur des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, où les feuilles fournissent un rendement supérieur à celui des fruits. Ces huiles essentielles obtenues présentent des couleurs différentes, ainsi que des densités et des indices de réfraction proches. Ces différences peuvent être dû aux plusieurs facteurs extrinsèques (sol, climat, latitude, saison) et intrinsèques (stade végétatif, génétique), et peuvent influencer aussi sur la qualité et la pureté des huiles essentielles.

↪ L'analyse chromatographique par CCM a montré trois grandes tâches sous la lampe UV (254 nm), et le nombre de tâches donne une idée sur le nombre de composants dans l'huile extraite des feuilles.

↪ Le principe du spectrophotomètre IR est le même que celui utilisé en UV-visible : l'appareil envoie des radiations de fréquences bien déterminées modifiées progressivement, le IRTF nous donne la transmittance en fonction du nombre d'ondes (cm^{-1}), et l'UV-Visible nous donne l'absorbance en fonction de la longueur d'ondes (nm).

Nos résultats nous donnent deux bandes d'absorption situées à 3300 nm et 1630 nm par le IRTF, et une bande par UV-visible qui nous donne une absorption maximale à une longueur d'onde égal à 245 nm. Ces bandes donnent une estimation sur la présence d'un alcool, d'un alcène et des composés triènes qui peuvent être : le globulol, α -pinène, limonène, β -myrcène et le P-cymène.

↪ D'après les résultats obtenus, on constate que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une activité insecticide forte vis-à-vis des larves d'*Ephestia kuehniella* et des minuscules fourmis rouges avec des taux de mortalités significatif. Chez les larves d'*Ephestia kuehniella* par exemple on a obtenu un taux de mortalité qui dépasse la moitié (63,15 %) en 24 h avec une dose de 150 μl , et chez les fourmis, un taux maximum (100 %) après 40 min d'exposition avec une dose de 50 μl ;

Les doses létales et les temps létaux nous permettent d'estimer le taux de mortalité de 50 % et 90% des individus de même espèce, les résultats obtenus montrent qu'il y a une relation dose-réponse, pour un effet insecticide rapide il est nécessaire d'utiliser une dose suffisante pour avoir une mortalité de maximum d'individus ;

On peut relier l'effet insecticide de l'huile essentielle extraite par la présence de 1,8- cinéol parce que c'est le composé majoritaire dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

Notre test a montré l'efficacité de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* pure et 100% naturelle et verte pour l'environnement, contre les larves d'*Ephestia kuehniella* et les fourmis.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent une source importante des principes actifs connus par leurs propriétés diverses, d'ailleurs les huiles essentielles détiennent une place importante dans les recherches récentes pour leurs multiples activités biologiques (insecticide, herbicide, antiseptique, fongicide, bactéricide...etc.).

L'*Eucalyptus globulus* L de la famille des *Myrtaceae*, est une plante médicinale connue pour ces propriétés médicinales et biologiques grâce aux composants chimiques qu'elle possède. Son huile essentielle est riche surtout en composés terpéniques et aromatiques.

Notre travail avait pour objectifs de faire une étude physico-chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* extraite à partir de feuilles et des fruits frais, suivie d'une application de l'huile extraite à partir des feuilles pour évaluer son efficacité comme insecticide contre deux espèces d'insectes : *Ephestia kuehniella* et les fourmis du genre *Formica*.

Le premier objectif est l'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* par la méthode d'hydrodistillation, une méthode simple et convenable et qui ne nécessite pas une utilisation des solvants organiques, ce qui nous assure la pureté de notre huile essentielle.

Les caractéristiques de l'huile essentielle suivantes ont été déterminées :

- Caractères organoleptiques (aspect, couleur et odeur) ;
- Caractéristiques physico-chimiques (Indice d'acide, indice de réfraction, densité et mesure du pH) ;
- Analyse chromatographique (Chromatographie sur couche mince) ;
- Analyses spectroscopiques (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et spectroscopie UV-visible).

Une seconde partie de l'étude a porté sur l'évaluation de l'effet insecticide de l'huile essentielle extraite des feuilles. L'étude a comporté :

- Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle sur les larves d'*Ephestia kuehniella* et les fourmis ;
- Correction de la mortalité ;
- Calcul des doses létales et temps létaux (DL50 DL90 et TL50 DL90).

Les résultats expérimentaux ont abouti aux conclusions suivantes :

- L'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles et fruits frais d'*Eucalyptus globulus* par hydrodistillation a donné un rendement en huile essentielle de 0,41 % pour les

feuilles et 0,28% pour les fruits. Ce qui montre que dans la même plante, le taux d'huile essentielle diffère d'un organe à un autre.

- Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile extraite étaient conformes à la norme AFNOR, prouvant la bonne qualité et pureté sans négliger des facteurs tels que la saison de récolte de la plante, le mode de récolte, la conservation de la plante, la méthode d'extraction, de conservation de l'huile essentielle... etc, qui peuvent influencer les propriétés des huiles essentielles et donc provoquent des variations dans les résultats.
- L'analyse chromatographique par CCM a montré la présence de 3 espèces chimiques pouvant être : le 1,8-cinéole, α -pinène et le globulol qui se trouvent en majorité dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.
- Les analyses spectroscopiques par IR et UV-Visible prévoient initialement le type de fonction organique disponible dans la composition de l'huile essentielle et traduisent dans un premier temps la nature du produit,
- D'après le test IRTF, les résultats donnent une estimation de la présence d'un alcool qui peut être le globulol et un alcène qui peut être α -pinène ;
- D'après le test par UV-visible, les résultats montrent l'existence des composés triènes qui peuvent être : le Limonène, β -myrcène ou le P-cymène.

Cette caractérisation reste modeste sur le plan qualitatif et nécessite des méthodes d'analyses séparatives chromatographiques pour l'identification réelle des constituants chimiques des huiles essentielles comme la technique CG/MS qui est devenue très utilisée.

L'application de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* a montré une bonne efficacité sur les insectes cibles, après la correction de mortalité qui était faite pour évaluer l'effet réel sur les insectes en prenant en compte la mortalité naturelle des individus ;

- Chez les larves d'*Ephestia kuehniella*, on a marqué une mortalité allant jusqu'à 63,15% avec une dose d'huile de 150 μ l ;
- Chez les fourmis, on a marqué une mortalité de 100% après 40 min d'exposition à une dose de 50 μ l.
- Les doses létales (DL₅₀, DL₉₀) et les temps létaux (TL₅₀, TL₉₀), nous donne une estimation sur les doses et les temps létaux pour une mortalité de 50% et 90% des individus. D'après les résultats obtenus sur les deux insectes traités avec différentes doses à différents temps, on a remarqué la relation entre les deux facteurs dose – temps, plus la dose est importante plus le temps sera réduit pour la mortalité des individus cibles.

Les tests faits dans ce mémoire, ont confirmé l'efficacité importante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur l'*Ephestia kuehniella* et les fourmis du genre *Formica* sans être toxique envers l'environnement ou les êtres vivants, elle peut être considérée comme une bonne alternative dans la lutte contre les insectes ravageurs.

En perspectives, nous proposons également d'élargir l'étude à d'autres types d'insectes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Bibliographie et webographie

- [1]- P-I. Penchev. « Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions ». Thèse de Doctorat. Institut de Toulouse (France), **2010**.
- [2]- F. Chemat, M. Lucchesi. « Extractions assistées par micro-ondes des huiles essentielles et des extraits aromatiques ». J. Soc. Ouest-Afr. Chim. 020. (77-99). Université de la Réunion (France), **2005**.
- [3]- A. Bouzabata. « Contribution à l'étude d'une plante médicinale et aromatique *Myrtus Communis L* ». Thèse de Doctorat. Université d'Annaba (Algérie), **2015**.
- [4]- Z. Bey ould si said. « Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus* ». Mémoire de Magister. Université de Bejaia (Algérie), **2014**.
- [5]- S.Aouidet, I.Ghenaiet. « Etude de l'impact des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* sur *Rhyzopertha dominica* : Aspect toxicologique et biomarqueur ». Mémoire de Master. Université de Tebessa (Algérie), **2016**.
- [6]- S. Abid. « Effet insecticide des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus L* et *Globularia alypum L* sur *Tribolium castaneum Herbst* ». Mémoire de Master. Université de Bouira (Algérie), **2019**.
- [7]- A. Haddouche, L. Kirad. « Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis L*) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers ». Mémoire de Master. Université de Ain Defla (Algérie), **2018**.
- [8]- P. Erau. « L'Eucalyptus : Botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine ». Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie de Marseille (France), **2019**.
- [9]- A. Boudiaf, D. Bentayeb. « Pouvoir allélopathique et biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus L* et *Mentha spicata L* ». Mémoire de Master. Université de M'sila (Algérie), **2017**.
- [10]- H. Darroui-Mokaddem. « Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* ET

Chrysanthemum trifurcatum (Asteraceae) ». Thèse de Doctorat. Université de Annaba (Algérie), **2012**.

[11]- H. Mekhelleche. « Contribution à l'étude morphométrique d'*Eucalyptus globulus* Labill (Myrtacées) dans la région de Tlemcen ». Mémoire de Master. Université de Tlemcen (Algérie), **2015**.

[12]- N. Koziol. « Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : Qualité, efficacité et toxicité ». Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, **2015**.

[13]- S. Baid. « Etude de l'effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivé au Maroc par ACP ». Mémoire de Master. Université de Fès (Maroc), **2018**.

[14]- FAO 1982. « Les eucalyptus dans les reboisements ». Collection FAO : Forêts N.1, 92-5-200570-6, **1954**.

[15]- <http://a-d-a-k.blogspot.com/2011/11/eucalyptus.html>.

[16]- <https://guide-huile-essentielle.com/huile-essentielle-eucalyptus-bienfaits>.

[17]- <http://gardenbreizh.org/modules/gbdb/plante-630-eucalyptus-globulus.html>.

[18]- F. Rahmane, A. Bentboula. « Comparaison des maladies de deux espèces d'Eucalyptus (*Eucalyptus camaldulensis* et *Eucalyptus globulus*) dans la région de Medjez Amar (Guelma) ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), **2016**.

[19]- A. Benameur. « Etude physico-chimique et pollinique du miel d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tlemcen ». Mémoire de Master. Université de Tlemcen (Algérie), **2014**.

[20]- M. Rabiai. « Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région M'SILA ». Mémoire de Master. Université de M'sila (Algérie), **2014**.

[21]- A.Gueddah, K.Soualat. « Activité antioxydante et antibactérienne D'*Eucalyptus globulus* ». Mémoire de Master. Université de M'sila (Algérie), **2019**.

[22]- M. BESSEDIK, B. KHENFER. « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) ». Mémoire de Master. Université de Ouargla (Algérie), **2015**.

- [23]- H. Bouacha, N. Khafrabi, D. Seghairia. « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans* ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), **2017**.
- [24]- L. Hydra, N. Guettaf. « Caractérisation de l'huile essentielle extraite des écorces d'oranges et sa mise en évidence dans l'activité antibactérienne ». Mémoire de Master. Université de Bouira (Algérie), **2016**.
- [25]- N. Bousbia. « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». Thèse de Doctorat. L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique (Marseille, Algérie), **2011**.
- [26]- A. Guerrouf. « Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire ». Mémoire de Master. Université de Ouargla (Algérie), **2017**.
- [27]- M. Lamara. « Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula (L) Parl* et de *Filipendula hexapetala Gibb* ». Mémoire de Magister. Université de Sétif (Algérie).
- [28]- A. Tlili, H. Bentayeb. « Etude analytique comparative et caractérisation de l'huile essentielle des différentes parties d'*Ocimum basilicum L* cultivées sous climat aride ». Mémoire de master, Université de Ouargla (Algérie), **2017**.
- [29]- N. Azzedine, T.Nadji. « Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'une plante médicinale de la famille des *Euphorbiaceas* ». Mémoire de Master. Université de Boumerdes (Algérie), **2017**.
- [30]- K. Kara, S.Saidi. « Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus L* entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de la forêt de Harouza (Commune de Tizi-Ouzou) ». Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou (Algérie), **2016**.
- [31]- https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-the-sesquiterpenes-identified-in-the-analyzed-wines-samples_fig1_281734028.
- [32]- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Eucalyptol>.
- [33]- <https://booksofdante.wordpress.com/tag/1-8-cineole/>.
- [34]- <https://alchetron.com/Alpha-Pinene>.
- [35]- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Globulol>.
- [36]- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Limonene#section=2D-Structure>.

- [37]- L. Haiahem, I. Tebbani, B. Bencheghieb. « Activité bio-insecticide des huiles essentielles de l'*Ortie Urtica dioica L* sur, un ravageur des denrées stockées *Ephestia Kuehniella* (Zeller) ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie).
- [38]- D. Mnayer. « Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens ». Thèse de Doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France), **2014**.
- [39]- K. Taleb Toudert. « Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur le bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) ». Thèse de Doctorat. Université de Tizi-Ouzou (Algérie), **2015**.
- [40]- M. Lucchesi. « Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles ». Thèse de Doctorat. Université de la Réunion, **2005**.
- [41]- R. Achiche, M. Bounab. « Mise en évidence des huiles essentielles de deux plantes médicinales : *Thymeleae hirsuta* et *Thapsia garganica* ». Mémoire de Master. Université de Oum el Bouaghi (Algérie), **2013**.
- [42]- <https://www.fishersci.fr/shop/products/rotavapor-r-100-rotary-evaporator-5/15334916>.
- [43]- M. Boukhatem, A. Ferhat, A. Kameli. « Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature ». Revue Agrobiologia.1653-1659, **2019**.
- [44]- J-C. Samvura, A. Totté. « Utilisation du CO2 supercritique dans le domaine agro-alimentaire ». Pôle Technologique Agro-Alimentaire asbl – Newsletter n°10.
- [45]- <http://tpe-huiles-essentielles-2014-2015.e-monsite.com/pages/procede-d-extraction/l-extraction-au-co2-supercritique.html>.
- [46]- F. Baizid. « Contribution à l'étude toxicologique et biochimique d'*ocimum basilicum* chez un lépidoptère de denrées stockées ». Mémoire de Master. Université de Tebessa (Algérie), **2016**.
- [47]- A. Hamza, A. Kouar. « Identification de certains Arthropodes (Fourmis, Carabidés et Araignées) auxiliaires de cultures dans la région de Guelma (ITMAS) ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), **2016**.