

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 08 MAI 1945 GUELMA

Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des Sciences de la Matière

Mémoire du projet de fin d'étude
Master 2



Spécialité : CHIMIE PHYSIQUE ET ANALYTIQUE

Présenté par :

TRAIKIA Ahlem

MANSOURI Maroua

=====

*Etude des caractéristiques physiques et chimiques
des huiles essentielles du clou de girofle et de
l'eucalyptus*

=====

Sous la Direction de :

Dr. ZEKRI Kamel Eddine

Septembre 2020

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et nous a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que nous dois à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Nous tenons très sincèrement à remercier notre encadreur de mémoire, Mr. ZEKRI Kamel Docteur au département des Sciences de la matière, Faculté des mathématiques et de l'informatique et des Sciences de la matière, Université de 08 mai 1945 Guelma, Pour nous avoir donné la possibilité de réaliser ce travail et aussi pour toute sa confiance, son soutien, sa disponibilité et pour ses conseils sur le plan pratique et théorique tout au long du parcours. Merci Monsieur pour votre aide précieuse qui nous a été grandement utile au cours des différentes étapes et lors de la rédaction de ce mémoire, et nous lui souhaitons la santé et le bonheur.

Nous exprimons aussi nos remerciements aux membres du jury :

- Pr. MERDES Rachid De nous faire l'honneur de présider cette mémoire.
- Pr. TEGUICHE Mabrouk pour avoir accepté d'être examinateur de ce travail.

Nous tenons à vous exprimer notre sincère reconnaissance et notre plus profond respect.

Nous exprimons nos vifs remerciements à toute l'équipe de laboratoire de chimie pour leur aide précieuse durant la réalisation de notre travail.

Nos vifs et sincères remerciements s'adressent tout particulièrement Monsieur HAMEL Abd el Wahab chef de département des sciences de la matière, à Monsieur CHAGUETMI Salem Le responsable de notre spécialité et également à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire.

Dédicace

Avec l'aide et la grâce de Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie particulièrement:

A ma très chère MAMAN symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse, lumière de mes yeux. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte que Dieu la garde pour moi.

A mon très cher PAPA allahyarhmou que j'aime beaucoup qui a toujours cru en moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Je le remercie vivement pour son soutien permanent même en son absence que Dieu te bénisse papa.

A ma sœur NASIRA, son mari KAMEL et leurs enfants WISSALE, ALAEDDINE, IYED, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous. Pour vos encouragements permanents, et votre soutien moral et matériel.

A mon frère MOUHAMED, son épouse FARIDA et leur petit WAEL, aucun langage ne saurait exprimer mon respect et ma considération pour votre soutien et encouragements.

A ma petite sœur, SAMAH pour ce bonheur d'avoir grandi ensemble et pour tous ces bons moments que l'on continue à passer, Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de succès.

Mes remerciements s'adressent aussi mes oncles, mes tantes, leurs maris, leurs enfants et toute la famille TRAIKIA et CHOURFA.

Je tiens également à remercier ma chère amie et mon binôme MAROUA pour sa patience et sa ténacité durant les bons et parfois durs moments qu'on a passés ensemble.

Ainsi que mes sincères remerciements pour tous mes collègues d'études, particulièrement mon Promotion., pour tous les moments qu'on a partagés et pour l'ambiance qu'on a vécue pendant ces cinq dernières années, Je n'oublierai jamais l'expérience que j'ai vécue avec eux.

Je ne peux clôturer cette dédicace sans adresser à toutes les copines FATMA, BAHYA, SELMA, BOUCHRA, SOUNIA, WAFI, SAMIRA et SANA bien d'autres qu'elles trouvent ici au nom des souvenirs qu'on a partagés ensemble, ma grande sympathie.

A toute personne qui m'a aidée d'un geste si petit soit-il je dis «Merci »

Dédicace

Je remercie tout d'abord « Allah » le tout puissant de m'avoir donné, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Du profond du mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A mes chers parents : Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon l'éducation et mon bien-être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis ma naissance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Je souhaite que ce travail soit le fruit de vos durs labeurs. Dieu Tout-Puissant, vous donne la santé, le bonheur et une longue vie.

A mon petit frère et sœurs :

Ibtissem et son mari Islam : de votre patience, de votre sagesse, d'être des parents poules et à votre magnifique petite poulette Mayer.

Kaouther : docteur en médecine, de m'avoir guidé lors de cette mémoire. De toujours être là pour me faire avancer, de me comprendre, à toutes nos longues discussions constructives et de pouvoir tout partager avec toi.

Seif Eddine : d'être mon petit frère chéri qui sait m'écouter, qui aura toujours une place au premier plan malgré la distance... et a toute les familles Mouassa et Mansouri.

A ma chère collègue et ma sœur Ahlem qui ne cesse d'être patiente durant les moments difficiles partagés que nous avons passé ensemble et sa famille.

A mes chères amies les quelles je considère comme mes sœurs : Bahya, Fatma, Selma, Hana, Chaima, Assia. Et bien d'autres qu'elles trouvent ici au nom des souvenirs qu'on a partagés ensemble, ma grande sympathie. En souvenir de nos éclats de rire et des bons moments. En souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble. J'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement. A tous ceux qui me sont chers.

A toute ma promotion : Nor,Aicha,Maroua ,Selma ...qui ont fait que toutes ces années d'étude sont passées si vite et si intensément.

A toutes personnes qui m'a aidé d'un mot, d'une idée ou d'un Encouragement. A tous ceux que je vais oublier, je m'en excuse et je vous remercie aussi

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

PREMIERE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

I. Généralité sur les huiles essentielles.....	03
I.1. Histoire des huiles essentielles.....	04
I.2. Définition des huiles essentielles.....	05
I.3. Notion de chimiotype.....	06
I.4. Critère de qualité des huiles essentielles.....	06
I.4.1. La certification botanique.....	06
I.4.2. L'origine géographique.....	07
I.4.3. Le mode de culture.....	07
I.4.4. Le stade de développement botanique.....	07
I.4.5. L'organe utilisé.....	08
I.4.6. Le mode d'extraction.....	08
I.4.7. Le chimiotype.....	08

Chapitre II : Procédé d'obtention des huiles essentielles

II.1 La distillation à la vapeur d'eau.....	09
II. 2. L'expression.....	09
II.3. Les autres techniques.....	10
II.3.1. L'hydrodistillation.....	10
II.3.2. La distillation à vapeur saturé.....	10
II.3.3. L'hydro diffusion.....	10
II.3.4 Extraction par solvant.....	10
II.3.5. Extraction par micro-ondes.....	11
II.3.6. Extraction par du CO_2 supercritique.....	11

Chapitre III : Les constituantes chimiques des huiles essentielles

III.1. La biogénèse de quelques familles de produits naturels.....	12
III.2. Les terpènes.....	13
III.2.1. Définition.....	13

III.2.2. Terpènes acycliques.....	15
III.2.3. Terpènes monocycliques.....	15
III.2.3.1. Terpène (p-menthan-1,8-diol).....	16
III.2.3.2. Eucalyptol ou céneol.....	16
III.2.4. Terpènes bicycliques.....	17
III.2.4.1. Préparation.....	17
III.2.4.2. Groupe de pinane : pinènes.....	18
III.2.4.3. Groupe du bornane : bornéols et isoborneols.....	18
III.2.4.4. Groupe du bornane : camphre.....	19
III.3. Les composés aromatiques.....	19
III.3.1. Les phénols.....	19
III.3.2. Les aldéhydes aromatiques.....	20

Chapitre IV : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

IV.1 Caractéristiques organoleptiques.....	21
--	----

Chapitre V : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

V.1. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles.....	22
V.1.1. L'indice d'acide I_a	22
V.1.2. L'indice de saponification I_s	22
V.1.3. L'indice d'ester I_e	22
V.2. Caractéristiques physiques des huiles essentielles.....	22
V.2.1. L'indice de réfraction.....	23
V.2.2. Pouvoir rotatoire.....	23

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle

VI.1. L'arbre de géroflier.....	24
VI.2. Composition chimique de l'huile essentielle.....	25
VI.2.1. L'eugénol.....	25
VI.2.1.1. Synthèse de l'eugénol.....	25
VI.2.1.2. Propriétés biologiques de l'eugénol.....	26
VI.2.1.3. Propriété chimique de l'eugénol.....	27
VI.2.1.4. Propriété du benzoate de l'eugénol.....	27
VI.2.1.5. Synthèse de la vanilline.....	27

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

VII.1. L'arbre de l'eucalyptus.....	29
VII.2. Les principales espèces.....	30
VII.3. Caractéristiques de l'huile essentielle d'eucalyptus.....	31
VII.3.1.Huile essentielle de l'eucalyptus radié.....	31
VII.3.1.1.Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus radié.....	31
VII.3.1.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	31
VII.3.1.3.Caractéristiques organoleptiques.....	31
VII.3.1.4.Caractéristiques thérapeutiques.....	32
VII.3.2.Huile essentielle de l'eucalyptus citronné.....	32
VII.3.2.1.Caractéristiques biochimiques.....	32
VII.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	32
VII.3.2.3.Caractéristiques organoleptiques.....	32
VII.3.2.4.Caractéristiques thérapeutiques.....	33
VII.3.3.Huile essentielle de l'eucalyptus globulus.....	33
VII.3.3.1.Caractéristiques biochimiques.....	33
VII.3.3.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	33
VII.3.3.3.Caractéristiques organoleptiques.....	33
VII.3.3.4.Caractéristiques thérapeutiques.....	34
VII.4. Propriétés des molécules aromatiques dans l'huile essentielle de l'eucalyptus.....	34

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I : Objectif et matériel

I.1. Objectif.....	36
I.2. Matériel.....	36
I.2.1 Matériel végétal.....	36

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des HE de l'eucalyptus globulus

II.1 Extraction de l'HE par hydrodistillation.....	37
II.1.1.Extraction de l'HE de l'eucalyptus en provenance d'Oued Cheham.....	38
II.1.2. Extraction de l'HE de l'eucalyptus en provenance de l'université de Guelma.....	39
II.1.3. Extraction de l'HE de l'eucalyptus en provenance d'El Machroha.....	40
II.1.3.1. Courbe de rendement en HE en provenance d'El Machroha.....	41

II.1.4. Discussion des résultats.....	42
II.1.5. Analyse par Chromatographie sur couche mince.....	43
II.2. Propriété physico-chimique de l'huile essentielle de l'eucalyptus.....	45
II.2.1. Caractéristiques physiques.....	46
II.2.1.1. L'indice de réfraction.....	46
II.2.1.2. Mesure de la densité.....	47
II.2.2. Caractéristiques chimiques.....	48
II.2.2.1 Détermination de l'indice d'acide.....	48
II.2.2.2 Détermination de l'indice de saponification.....	51
II.2.2.3 Détermination de l'indice d'ester.....	52

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

III.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	54
III.2. Extraction de l'huile essentielle par solvant : la macération.....	56
III.2.1. Macération à froid.....	56
III.2.2. Macération à reflux.....	56
III.3. Calcul du rendement.....	56
III.4. Discussion des résultats.....	57
III.5. Propriété physico-chimique de l'HE du clou de girofle de l'hydrodistillation.....	58
III.5.1. Caractéristiques physiques.....	58
III.5.1.1 L'indice de réfraction et la densité.....	58
III.5.2. Caractéristiques chimiques.....	58
III.5.2.1 Détermination des indices d'acide, de saponification et d'ester.....	58
III.6. Discussion des résultats.....	59
III.7. Séparation des composants contenus dans l'HE du clou de girofle.....	59
III.7.1. Séparation de l'eugénol et de l'acétate d'eugényl.....	59
III.7.2. Révélation à la CCM.....	61
III.7.3. Calcul du rendement en eugénol.....	62
III.8. Etude de la réaction d'estérification de l'eugénol.....	63
III.8.1. Synthèse de l'acétate d'eugényl.....	64
III.8.2. Discussion des résultats.....	65
Conclusion.....	66

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 01</i> : Schéma du fonctionnement de la distillation à lavapeurd'eau.....	09
<i>Figure 02</i> : Biosynthèse des molécules aromatiques.....	13
<i>Figure 03</i> : L'isoprène, un diène(2-méthylbuta-1,3-diène).....	14
<i>Figure 04</i> : Assemblage des terpènes.....	14
<i>Figure 05</i> : Quelques monoterpènes acycliques.....	15
<i>Figure 06</i> : La cyclisation de géranyl pyrophosphate conduit au limonène.....	15
<i>Figure 07</i> : Quelquesmonoterpènes monocycliques.....	16
<i>Figure 08</i> : Trans-terpine et cis-terpine de p-menthane-1,8-diol.....	16
<i>Figure 09</i> : Structure de l'eucalyptol.....	17
<i>Figure 10</i> : Synthèse d'eucalyptol à partir de p-menthane-1,8-diol monohydraté.....	17
<i>Figure11</i> : Formation de pinène.....	18
<i>Figure 12</i> : Exemples de quelques terpènes bicycliques.....	18
<i>Figure13</i> : Représentation de L' α -pinène.....	18
<i>Figure 14</i> : Représentation de Le β -pinène.....	18
<i>Figure15</i> : Bornéols et isobornéol.....	19
<i>Figure16</i> : Structure de camphre.....	19
<i>Figure17</i> : Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.....	20
<i>Figure18</i> : Structure d'un aldéhyde terpénique (géraniol) et d'un aldéhyde aromatique).....	20
<i>Figure19</i> : Indice de réfraction.....	23
<i>Figure20</i> : Allure d'un giroflier de Madagascar (photographie personnelle).....	24
<i>Figure21</i> : Boutons floraux du clou de girofle.....	25
<i>Figure22</i> : La molécule d'eugénol.....	25
<i>Figure23</i> : Le chemin de la biosynthèse d'eugénol et l'isoeugénol.....	26
<i>Figure24</i> : Synthèse de vanilline.....	28
<i>Figure25</i> : Arbre d'eucalyptus (photo personnelle).....	30
<i>Figure26</i> : La zone géographique des régions de récolte de l'eucalyptus.....	36
<i>Figure27</i> : Montage pour l'obtention de l'huile essentielle de l'eucalyptus par hydrodistillation.....	37
<i>Figure28</i> : Courbe de rendement d'HE d'Eucalyptus d'El Machroha en fonction du temps.....	42
<i>Figure29</i> : Lampe UV pour révélation CCM.....	44
<i>Figure 30</i> : Schéma de chromatogramme de l'HE d'eucalyptus décrit dans la littérature.....	45
<i>Figure 31</i> : Schéma de chromatogramme de l'huile essentielle d'eucalyptus.....	45
<i>Figure 32</i> : Refractomètre.....	47
<i>Figure33</i> : Echelle de lecture.....	47
<i>Figure34</i> : Mesure de l'indice d'acide par dosage acido-basique.....	50
<i>Figure35</i> : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle par hydrodistillation	54

<i>Figure36</i> : Séparation des deux phases.....	55
<i>Figure37</i> : Eugénol.....	60
<i>Figure38</i> : Mécanisme de formation d'eugénolate de sodium.....	60
<i>Figure39</i> : L'acétate d'eugényl.....	60
<i>Figure40</i> : Mécanisme de régénération de l'eugénol dans un milieu acide.....	61
<i>Figure41</i> : Schéma du chromatogramme CCM.....	61
<i>Figure42</i> : Réaction d'estérification avec l'eugénol.....	64
<i>Figure43</i> : Réaction d'estérification avec l'eugénolate de sodium : réaction plus rapide.....	64
<i>Figure44</i> : Montage de la synthèse de l'acétate d'eugényle.....	65

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 01</i> : Différentes espèces d'Eucalyptus et leurs principales propriétés.....	07
<i>Tableau02</i> : Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus radié.....	31
<i>Tableau 03</i> : Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus globulus.....	33
<i>Tableau 04</i> : Les propriétés des molécules aromatiques dans l'huile essentielle de l'eucalyptus.....	34
<i>Tableau 05</i> : Volume d'eau et masse d'HE d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps.....	38
<i>Tableau 06</i> : Volume d'eau et masse d'HE d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps.....	39
<i>Tableau 07</i> : Volume d'eau et masse d'HE d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps (10 jours après récolte).....	39
<i>Tableau 08</i> : Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus de l'université de Guelma en fonction du Temps.(01 jours après récolte).....	40
<i>Tableau 09</i> : Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'El Machroha en fonction du temps (avec chauffage lent).....	40
<i>Tableau 10</i> : Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'El Machroha en fonction du temps (avec chauffage brutal).....	41
<i>Tableau 11</i> : Rendement en HE en fonction du temps de l'eucalyptus en provenance d'Elmachroha....	41
<i>Tableau 12</i> : Rendement en huile essentielle de l'eucalyptus selon les régions de récolte.....	43
<i>Tableau 13</i> :Rapports frontaux R_f pour les HE d'eucalyptus selon les différentes régions avec un mélange d'éluants toluène/acétate d'éthyle 93/7.....	46
<i>Tableau 14</i> : Indices de réfraction de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions.....	46
<i>Tableau 15</i> : Densité de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions.....	47
<i>Tableau 16</i> : Indices d'acide de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions de récoltes.....	50
<i>Tableau 17</i> : Indices de saponification de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions.....	52
<i>Tableau 18</i> : Indices d'ester de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions.....	53
<i>Tableau 19</i> :Rendements obtenus d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle.....	57
<i>Tableau 20</i> :Indice de réfraction et densité de l'HE de clou de girofle.....	58
<i>Tableau 21</i> :Indice d'acide, indice de saponification et indice d'ester de l'HE de clou de girofle.....	58
<i>Tableau 22</i> :Rapports frontaux R_f de l'huile essentielle et de l'eugénol.....	62

LISTE DES ABREVIATIONS

$[\alpha]_D^{20}$:	Pouvoir rotatoire spécifique de l'HE ou angle de rotation spécifique à 20° C .
ADoHcy :	S-Adénosylhomocystéine .
AFNOR :	Association Française de Normalisation.
CCM :	Chromatographie en couche mince.
EC :	Enzyme Commission numbers.
ESCOPI :	The European Scientific Cooperative On Phytotherapy.
F.C.C :	Food Chemical Codex.
GC/MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectrométrie de masse.
GPP :	Diphosphate de géranyl .
HE :	Huile essentielle.
IPP :	Isoprènes pyrophosphates.
IR :	Infrarouge.
IUPAC :	L'Union internationale de chimie pure et appliquée.
MF :	Macération à froid.
MR :	Macération à reflux.
NADPH :	Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.
OPP :	Pyrophosphate.
ORL :	Otho-rhino-laryngologie.
pH :	Potentiel d'Hydrogène.
R(%) :	Le rendement .
R_f :	Rapport frontal.
RMN :	Résonance magnétique nucléaire.
UV :	Ultraviolet.

Introduction

Introduction

Introduction

Depuis des siècles, l'homme a utilisé les plantes dans plusieurs domaines, tels que la parfumerie, la pharmacologie et l'agroalimentaire, grâce à leurs propriétés découvertes par hasard. Les plantes produisent un grand nombre de composés. Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse mais résultent de réactions chimiques ultérieures d'où le nom de métabolites secondaires. C'est après le développement de la chimie que les huiles essentielles (HE) extraites de plantes commencent à livrer leurs secrets et leurs composants principaux ont été identifiés. Actuellement, plus de 100000 substances sont connues. [1]

Les huiles essentielles sont des liquides concentrés en composés aromatiques (odorants), volatils. Leur composition chimique est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentant les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature de la fonction chimique du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle prépondérant dans l'efficacité de leurs activités biologiques. [2]

Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie. [3]

Dans notre étude nous avons choisi d'utiliser deux plantes connues par ses effets bénéfiques. L'eucalyptus et le clou de girofle sont les plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des huiles essentielles de ces plantes sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, les deux plantes sont entrées dans la médecine moderne.

Le Giroflier ; son bouton floral (clou de girofle) possède une odeur caractéristique et à saveur chaude et piquante. La plante renferme 15 à 20% d'HE extraite à partir des boutons floraux du giroflier.

L'essence renferme 85 à 93 % en volume d'eugénol libre et combinés. [5]

L'eugénol est un composé aromatique de la famille des phénylpropènes, ce qui est caractéristique des composés d'origine naturelle. C'est pourquoi cette molécule peut être obtenue au moyen d'extraction à partir d'huile essentielle de clou de girofle, et forme la majeure partie de l'essence. [6] [7]

On l'utilise notamment en chimie pour la synthèse de vanilline, un constituant de la vanille naturelle. En pharmacie l'eugénol est par ailleurs connu pour ses vertus antiseptiques et analgésiques. [8][9]

L'eucalyptus est une plante que l'on retrouve dans de nombreux produits de notre quotidien. En pratique officinale, les plantes du genre eucalyptus sont présentes sous de nombreuses formes comme par exemple d'huiles essentielles (d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata, d'Eucalyptus citriodora...). Chaque espèce d'Eucalyptus peut contenir des huiles essentielles dont la composition est variable, voire complètement différente, ce sont les "chénotypes". L'huile essentielle communément

Introduction

appelée d'eucalyptus peut provenir de plusieurs espèces, elle doit contenir principalement de "l'eucalyptol" ou "1-8 cinéole". Une "bonne " huile essentielle d'eucalyptus doit provenir d'une espèce chémotypée et contenir au moins 60-70% d'eucalyptol (1-8 cinéole). Certaines huiles essentielles en contiennent jusqu'à 90 %. [10].

Le but principal de notre travail c'est de faire une étude comparative des propriétés physico-chimiques de huiles essentielles d'eucalyptus provenant d'endroits différents et de faire une étude sur l'évolution de ces caractéristiques physico-chimiques en fonction du temps et de la température . Pour le clou de girofle nous avons programmé de faire une étude sur l'activité antioxydante de l'huile essentielle extraite des boutons du clou de girofle, et la comparé à l'activité antioxydante de l'eugenol constituant principal de l'HE du clou de girofle et aussi à l'activité antioxydante de l'acetate de l'eugenyl.

Dans le cadre de cette étude, ce mémoire est composé de deux parties importantes:

La première partie est structurée en sept chapitres. Nous avons commencé par la réalisation d'une étude bibliographique qui a porté sur les huiles essentielles et leurs constituants principaux. Nous avons aussi donné un rappel sur la notion de chimiotype et les critères de qualité des huiles essentielles. Ensuite on a décrit les principales techniques d'extractions conventionnelles des huiles essentielles et des extraits aromatiques actuellement utilisées et les caractéristiques physiques et chimiques. Puis on a donné des généralités sur l'huile essentielle du clou de girofle et l'huile essentielle d'eucalyptus.

La deuxième partie composée de trois chapitres, illustre le matériel et les méthodes utilisés dans l'extraction de l'huile essentielle de clou de girofle et l'huile essentielle d'eucalyptus et ainsi que les résultats du rendement obtenus. Puis nous avons fait l'analyse chromatographique de l'huile essentielle par CCM et déterminé ensuite les caractéristiques physico-chimiques des HE, enfin une discussion sur les résultats obtenus.

Partie
Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

I. Généralité sur les huiles essentielles

Les végétaux, comme tous êtres vivants, ont besoin pour vivre de l'énergie qu'ils tirent de substances organiques issues de leur métabolisme. On distingue deux types de métabolismes :

Le métabolisme primaire regroupe toutes les voies de synthèse de composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Les métabolites primaires qui en proviennent ont donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (acides aminés et protéines, acides gras, sucres et polysaccharides...).[11][12]

Par opposition, le métabolisme secondaire regroupe les autres voies de synthèse de composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante. Les métabolites secondaires interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement (soutien, protection contre les UV, défense, mise en place de symbiose, attraction d'insectes utiles pour la pollinisation...). Certains de ces composés participent à la défense contre les bioagresseurs. [11] [12]

Les métabolites secondaires des plantes appartiennent à trois groupes en fonction de leurs origines biosynthétiques :

- les composés phénoliques sont des molécules aromatiques. Il en existe environ 4500. On peut nommer dans cette famille les tanins, les coumarines, la lignine ou encore les flavonoïdes. [13] [14]
- Les alcaloïdes sont les principaux composants du métabolisme secondaire. Il en existe environ 12000 répertoriés à ce jour, comme La morphine, La codéine, La quinine, La scopolamine, L'atropine, La vinblastine et la nicotine.. [13] [14]
- Les terpènes, c'est la plus grande catégorie de métabolites secondaires, il existe plus de 22 000 molécules. Elle contient. les hormones végétales, les pigments, les stérols, les hétérosides et une grande partie d'huiles essentielles. [13] [14]

Les huiles essentielles sont donc des métabolites secondaires. Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes. [2]

Mais par un grand pourcentage à la classe des terpénoïdes. La classe des terpènes est la plus variée au niveau structural on estime à environ 3000, le nombre d'huiles essentielles connues et autour de 300 celles ayant un intérêt commercial, principalement pour l'industrie du parfum et des arômes. Elles présentent de multiples propriétés exploitables qui leur permettent de trouver des applications dans des domaines très variés. [15]

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

La synthèse des essences se fait au sein de différents tissus sécréteurs présents dans tous les organes de la plante : les fleurs (bergamotier), les feuilles (menthe poivrée), mais aussi dans des écorces (cannelier de Ceylan), des bois (santal), des racines (angélique), des rhizomes (gingembre), des fruits (badiane), ou encore des graines (muscade). [16]

L'Aromathérapie est l'utilisation de composés aromatique extrait de plante, les huiles essentielles à des fins médicales. L'aromathérapie, est l'art de soigner par les huiles essentielles. Elles sont surtout appréciées pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales et antiparasitaires, pour leurs propriétés anti-inflammatoires contre les affections musculaires et tendineuses et pour leurs propriétés sédatives ou toniques contre les troubles liés au dysfonctionnement du système nerveux.[04] [16]

Les industries de la parfumerie, des arômes et de la cosmétique sont les principales consommatrices d'huiles essentielles. Ce sont en effet les produits de base utilisés pour ajouter des odeurs, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse. Dans l'agro-alimentaire, on utilise des HE pour incorporer aux aliments des saveurs, et aussi pour la conservation des aliments et la médecine vétérinaire

I.1. Histoire des huiles essentielles

Les premières traces d'utilisation de l'aromathérapie remontent à plus de trente mille ans. Les aborigènes d'Australie, au moyen de la fumigation, étaient de grands utilisateurs de teatree (arbre à thé) ou encore Melaleucaalternifolia, une huile essentielle aujourd'hui très prometteuse sur les plans antibactérien, antiviral, antiparasitaire et antifongique. [17]

La Chine est un berceau de l'utilisation des plantes et de leurs essences pour guérir. Le Pen Tsao, premier ouvrage médicinal datant du 3e millénaire avant J.C., relate l'emploi d'une centaine de plantes telles que l'anis, le curcuma, la cannelle, le gingembre. [17]

Les Egyptiens et les Perses étaient experts dans l'art de la distillation. Pour preuve des inscriptions retrouvées, datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits égyptiens datant de 3500 ans.

Les Grecs aussi firent grand cas des " huiles à parfum " et s'en servaient pour guérir. Lors de l'épidémie de peste à Athènes. [17]

Les Romains, grands utilisateurs de parfums, utilisaient les aromates sous forme de graisse aromatique ou huile parfumée. Ils connaissaient les propriétés antibactériennes et antiseptiques des plantes aromatiques qu'ils cultivaient. Lors de la grande épidémie de peste. [17]

Les civilisations avancées des Aztèques, Mayas et Incas connaissaient l'emploi des drogues végétales aromatiques pour guérir les infections et les plaies.

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

L'Aromathérapie "moderne" provient directement du monde arabe où les savants commencèrent à distiller les plantes à la vapeur d'eau. Le grand savant Avicenne met au point l'alambic autour de l'an 1000. Ce n'est qu'au XIIIème siècle que l'aromathérapie arrive en Europe. De retour des croisades. [17] Au XIVème siècle, les appareils distillatoires évoluent et font leur apparition dans les laboratoires médicaux et alchimiques. Mais tous ces distillats étaient fortement alcoolisés et l'on n'avait encore aucune notion des huiles essentielles. Seule l'huile de térébenthine représente une véritable huile essentielle. [17]

Après bien des ouvrages sur l'art de la distillation, le "Liber de distillatione" écrit par Giovanni Battistadella Porta en 1563, où il fait la distinction des huiles grasses, des huiles essentielles et la manière de séparer les essences des eaux distillées aromatiques. [17]

Ce n'est qu'au cours des XVIe et XVIIe siècles que les huiles essentielles ont reçu leurs premières applications en tant que telles et leur introduction dans le commerce. [17]

A la fin du XIXème, avec l'avènement de la chimie organique, les essences livrent peu à peu leurs secrets : elles sont le mélange de nombreux composants, terpènes, alcools, esters, aldéhydes, cétones, phénols... [17]

En 1964, le Dr Jean Valnet, auteur d'une vulgarisation importante, relance l'usage médicinal des huiles essentielles. Paul Duraffourd invente l'aromatogramme, Christian Duraffourd et Jean-Claude Lapraz prendront le relais. Ces spécialistes en phytothérapie et en aromathérapie vont concevoir des préparations magistrales à base d'huiles essentielles, un ensemble thérapeutique capable de soulager voire de guérir. [17]

I.2. Définition des huiles essentielles

Plusieurs définitions disponibles d'une huile essentielle convergent sur le fait que les huiles essentielles, communément appelées `` essences ``.Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues des végétaux par entraînement à la vapeur d'eau et d'autres méthodes. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des mélanges liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie. [17]

L'Association Française de Normalisation, a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. [18] [19]

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

I.3. Notion de chimiotype

Un même végétal peut sécréter des huiles essentielles biochimiquement différentes en fonction de son biotope (composition du sol, climat, ensoleillement). C'est pourquoi a été créée la notion de chimiotype. C'est une forme de classification chimique, biologique et botanique définissant la molécule majoritairement présente dans une huile essentielle. [20]

Si on prend l'exemple du romarin dont on utilise la sommité fleurie, une même espèce peut donner des huiles essentielles différentes qui auront des propriétés différentes :

- *Rosmarinus officinalis à camphre* : propriétés anti-inflammatoires et action contre les contractures musculaires.
- *Rosmarinus officinalis à cinéole* : propriétés antiseptiques pulmonaires et mucolytiques.
- *Rosmarinus officinalis à verbénone* : propriétés cicatrisantes, cholagogues et hépatoprotectrices.

Il est donc important de savoir quel est le chimiotype d'une huile essentielle avant de l'utiliser afin d'en connaître les propriétés et la toxicité. [21]

I.4. Critère de qualité des huiles essentielles

Les huiles essentielles doivent être 100% naturelles c'est à dire non dénaturées, 100% pures c'est à dire sans alcool, sans autres huiles essentielles proches, sans huiles végétales et 100% intégrales c'est à dire non déterpénées, non rectifiées, non amputées. Les huiles essentielles doivent répondre à un certain nombre de critères [21]

I.4.1. La certification botanique

La plante utilisée pour fabriquer une huile essentielle doit être définie par son genre, son espèce et si possible la sous-espèce à laquelle elle appartient. [22]

Dans l'exemple des eucalyptus, il est très important de bien définir l'huile essentielle car il existe plusieurs espèces : *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus citriodora*, *Eucalyptus dives*, *Eucalyptus smithii*, etc. [21]

En fonction de l'espèce, les propriétés vont être très différentes [21]

Nom courant : *Eucalyptus radié*

Nom scientifique :

<i>Eucalyptus</i>	<i>Radiata Ssp</i>	<i>Radiata</i>	(<i>Myrtacées</i>)
<i>Genre</i>	<i>Espèce</i>	<i>Sous-espèce</i>	<i>Famille</i>

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

Tableau 1 : Différentes espèces d'*Eucalyptus* et leurs principales propriétés [21]

	E. globulus	E. radiata	E. citriodora	E. dives	E. smithii	E. polybractea
Molécules Principales	1,8-cinéole (70-75%) α-pinène (10-12%)	1,8-cinéole (62 à 72 %) α-terpinéol (14 %)	Citronnellol (15 à 20 %) Citronnellal (40 à 80 %)	Pipéritone (40 à 50 %) α-phellandrène (30 %)	1,8-cinéole (70-85%) α-pinène (5-10%) Limonène (4-8%) α-terpinéol (1-3%)	1,8-cinéole (83-92%) α-pinène (2-5%) 4-terpinéol (1%)
Propriétés	<input type="checkbox"/> anticatarrhale <input type="checkbox"/> expectorante <input type="checkbox"/> antiinflammatoire <input type="checkbox"/> antibactérienne <input type="checkbox"/> antivirale <input type="checkbox"/> stimulante immunitaire énergisante <input type="checkbox"/> traite les pathologies des voies respiratoires basses	<input type="checkbox"/> anticatarrhale <input type="checkbox"/> expectorante <input type="checkbox"/> antiinflammatoire <input type="checkbox"/> antibactérienne <input type="checkbox"/> antivirale <input type="checkbox"/> stimulante Immunitaire énergisante <input type="checkbox"/> traite les pathologies des voies respiratoires hautes	<input type="checkbox"/> antispasmodique <input type="checkbox"/> antiinflammatoire <input type="checkbox"/> antalgique <input type="checkbox"/> apaisante cutanée <input type="checkbox"/> fongicide <input type="checkbox"/> hypotensive <input type="checkbox"/> répulsive des Moustiques	<input type="checkbox"/> anticatarrhale <input type="checkbox"/> mucolytique <input type="checkbox"/> lipolytique <input type="checkbox"/> draineur hépatique et rénal <input type="checkbox"/> antibactérienne	<input type="checkbox"/> anticatarrhale <input type="checkbox"/> expectorante <input type="checkbox"/> antiinflammatoire <input type="checkbox"/> antibactérienne <input type="checkbox"/> anti-infectieuse <input type="checkbox"/> antivirale <input type="checkbox"/> stimulante immunitaire <input type="checkbox"/> antitussive <input type="checkbox"/> dégage le nez et les bronches	<input type="checkbox"/> anticatarrhale <input type="checkbox"/> expectorante <input type="checkbox"/> antiinflammatoire <input type="checkbox"/> antibactérienne <input type="checkbox"/> antivirale <input type="checkbox"/> anti-infectieuse <input type="checkbox"/> antiambienne <input type="checkbox"/> antipaludéenne

I.4.2. L'origine géographique

Le nom du pays ou de la région apporte des précisions intéressantes sur le biotope de la plante et caractérisera sa composition biochimique particulière.

I.4.3. Le mode de culture

Cela indique si la plante est sauvage ou cultivée et si elle est issue d'une culture biologique ou non. Pour un usage thérapeutique, il est très important d'utiliser des huiles essentielles issues de l'agriculture biologique. En effet, cela permet d'avoir des huiles essentielles de qualité mais cela permet également de se protéger des dangers des pesticides qui peuvent être présents sur les plantes et qui peuvent donc se retrouver concentrés dans les huiles essentielles. [22]

I.4.4. Le stade de développement botanique

Les propriétés d'une huile essentielle peuvent parfois être dues au stade au cours duquel la plante a été cueillie : avant, pendant ou après floraison.

Chapitre I : Généralité sur les huiles essentielles

I.4.5. L'organe utilisé

La composition biochimique d'une huile essentielle dépend de la partie de la plante distillée. Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon la localisation. [21]

Dans le cas de l'oranger amer, *Citrus aurantium*, le zeste, c'est à dire le péricarpe frais du fruit, fournit l'huile essentielle d'orange amère ou essence de Curaçao, la fleur fournit l'huile essentielle de Néroli et la feuille conduit à l'huile essentielle de petit grain bigaradier. L'utilisation de ces huiles essentielles sera très différente. Les feuilles auront plutôt une action antispasmodique, les fleurs une action calmante et le fruit aura plutôt une action neurotonique. [21]

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : [21]

Fleurs (bergamote).

Feuilles (eucalyptus, citronnelle).

Écorces (cannelle), bois (santal).

Racines (vétivier), rhizomes (curcuma, gingembre).

Fruits (anis, badiane).

Graines (muscade).

Zestes (citrons, agrumes en général).

I.4.6. Le mode d'extraction

Pour la plupart des huiles essentielles, l'extraction se fait par distillation par entraînement à la vapeur d'eau sous basse pression. Pour ce qui est des *Citrus* (orange amère, orange douce, citron, mandarine, bergamote, lime, pamplemousse) dont l'essence est très fragile, l'extraction de l'huile essentielle se fera par un procédé mécanique. [21]

I.4.7. Le chimiotype

Le chimiotype peut être indiquée par l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse GC/MS.

Chapitre II : Procédé d'obtention des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression, la solubilité et la volatilité. 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. [23]

II.1. La distillation à la vapeur d'eau

La distillation par vapeur d'eau est le procédé le plus anciennement utilisé et le mieux adapté pour extraire l'huile essentielle des végétaux. Il s'agit d'une méthode douce qui respecte les végétaux. Ils ne sont pas plongés directement dans l'eau bouillante car cela risquerait d'altérer les différents composants. 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 : l'huile essentielle. 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. [24]

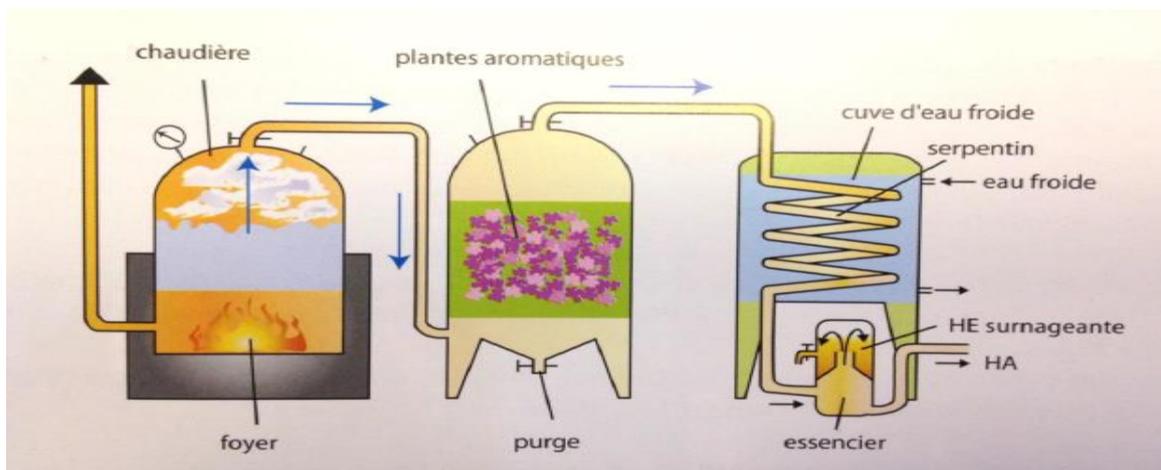


Figure 01 : Schéma du fonctionnement de la distillation à la vapeur d'eau

II.2. L'expression

L'extraction à froid est une technique qui a pris naissance en Sicile, avant d'être utilisée par tous les pays producteurs d'agrumes. Elle se faisait autrefois manuellement par un procédé dit (à l'éponge).

Le procédé consiste dans ce cas à frotter les écorces contre un système d'éponges naturelles fixées sur une bassine en terre cuite. La pression était accompagnée par un mouvement de rotation de la main. Le mélange exprimé était recueilli par essorage des éponges. Finalement, par simple décantation, l'huile

Chapitre II : Procédé d'obtention des huiles essentielles

essentielle est séparée de la phase aqueuse qui contient aussi des détritres produits par la lacération des tissus de l'écorce toutefois, même cette méthode est aujourd'hui en partie considérée comme archaïque. [24].

II.3. Les autres techniques

II.3.1. L'hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée.

Le principe de l'hydro distillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Il consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est-à-dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. [24]

II.3.2. La distillation à vapeur saturée

Dans cette variante, la matière végétale n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est injectée au travers de la masse végétale disposée sur des plaques perforées.

En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées. [24]

II.3.3. L'hydro diffusion

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. [24]

II.3.4.Extraction par solvant

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. [24]

Chapitre II : Procédé d'obtention des huiles essentielles

II.3.5. Extraction par micro-ondes

Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. [24]

II.3.6. Extraction par du CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant. [24]

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

III.1. La biogénèse de quelques familles de produits naturels

La synthèse des essences est issue du métabolisme secondaire des plantes, à partir du fructose provenant de la photosynthèse. [25] [26] [27]

Celui-ci sera métabolisé directement en PEP (Phosphoénolpyruvate) ou après plusieurs réactions intermédiaires en IPP (Isopentényl-pyrophosphate) qui serviront de base à la synthèse des molécules aromatiques volatiles via deux voies principales :

- La voie des terpènes : consiste en la conjugaison de plusieurs unités d'IPP suivie de transformations (cyclisation, hydrogénation, oxygénation...) permettant l'obtention des mono, di- ou sesquiterpènes constituant un grand nombre des familles chimiques contenues dans les HE (phénols, alcools, oxydes, aldéhydes, cétones...)... [25] [26] [27]
- La voie du phénylpropane : après passage par des intermédiaires tels que l'acide shikimique ou cinnamique, elle aboutit à des substances aromatiques tels que certains acides (acide salicylique), leurs esters (salicylate de méthyle), certains phénols (eugénol)... [25] [26] [27]

Leur élaboration est liée à l'activation ou l'inactivation d'enzymes spécifiques influencés par des facteurs endogènes (chromosomiques) ou exogènes (climat, sol...).

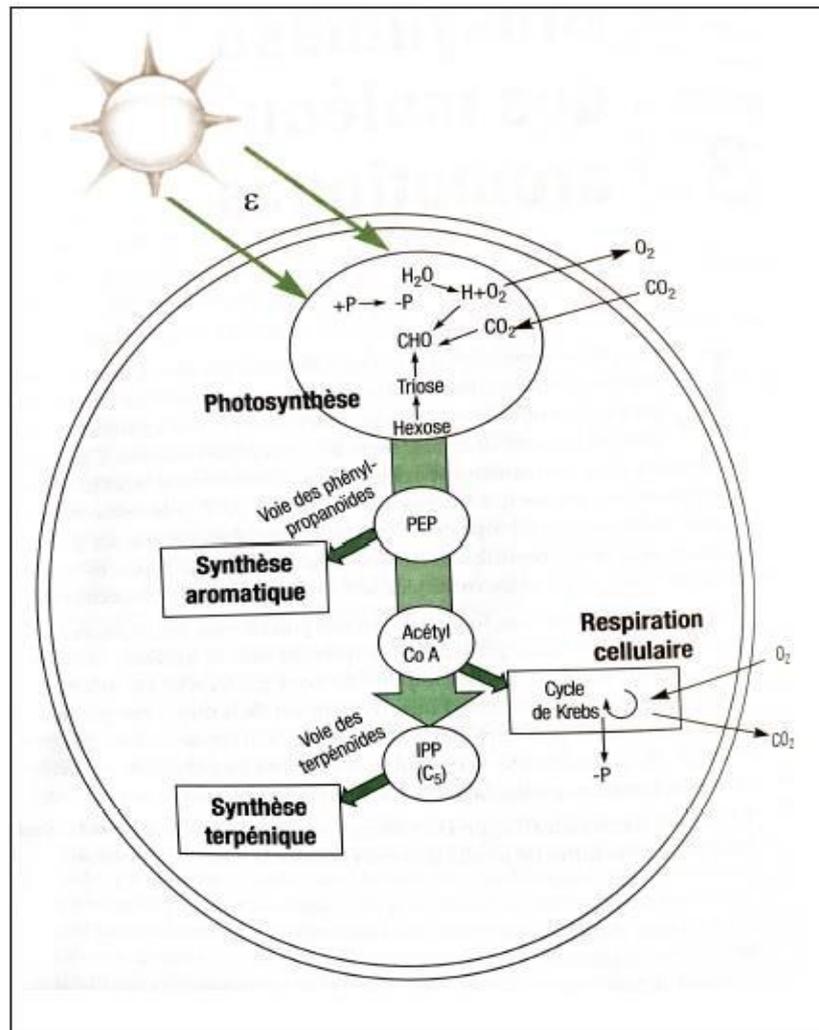


Figure 02: Biosynthèse des molécules aromatiques [25]

III.2. Les terpènes

III.2.1. Définition

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C_5H_8) et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$. On considère généralement l'isoprène comme l'un des éléments de construction préférés de la nature. [28]

Les terpènes sont des molécules très volatiles fréquentes dans la nature, surtout dans les plantes où ce sont les principaux constituants des huiles essentielles. Ils sont issus du couplage d'au moins 2 sous-unités isopréniques à 5 carbones. [29]

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

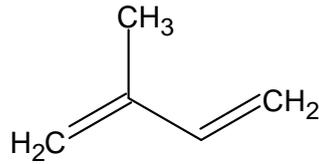


Figure 03 : *L'isoprène, un diène (2-méthylbuta-1,3-diène)*

La synthèse d'une grande variété de terpènes, cycliques et acycliques, dans les plantes, fait intervenir un nombre variable d'éléments isopréniques (le 2-méthylbuta-1,3-diène).

Suivant le nombre entier d'unités isopréniques penta carbonées (C_5)_n ramifiées, on peut les classer en :

- Monoterpène (n=2).
- Sesquiterpènes (n= 3).
- Diterpènes (n=4).
- Sesterpènes (n=5).
- Triterpènes (n=6).
- Tetraterpènes (n=8).
- Polyterpènes (> C 40) c'est le caoutchouc naturel.

Les huiles essentielles contiennent surtout de monoterpènes(C_{10}), sesquiterpènes-(C_{15}), et plus rarement des diterpènes(C_{20}). [30]

Les termes tête-à-queue et queue -à-queue sont utilisés pour décrire comment les unités d'isoprène sont assemblées (Figure 04).

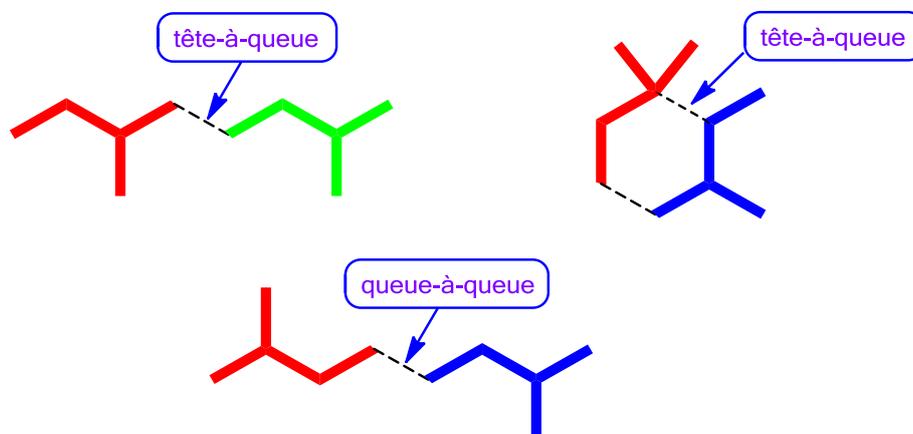


Figure 04 : *Assemblage des terpènes*

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

Selon la structure des composés terpéniques, on peut les classer en:[31]

- Terpènes acycliques.
- Terpènes monocycliques.
- Terpènes bicycliques.

III.2.2. Terpènes acycliques

Ces composés contiennent deux unités de l'isoprène.[31]

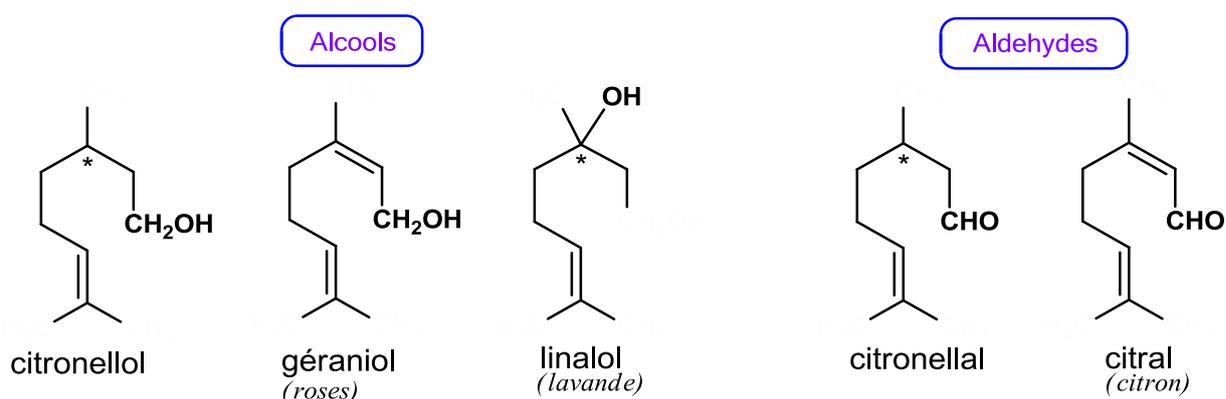


Figure 05 : Quelques monoterpènes acycliques [31]

III.2.3. Terpènes monocycliques

Sont les plus nombreux, leurs structures cycliques dérivent du p-menthane ou 1-méthyl-4-isopropylcyclohexane. [31]

Préparation par cyclisation. [32]

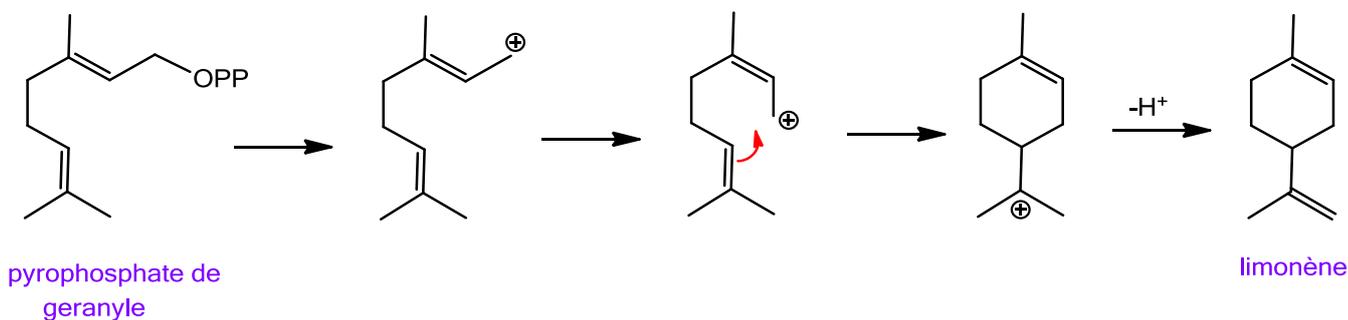


Figure 06 : La cyclisation de géranyl pyrophosphate conduit au limonène

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

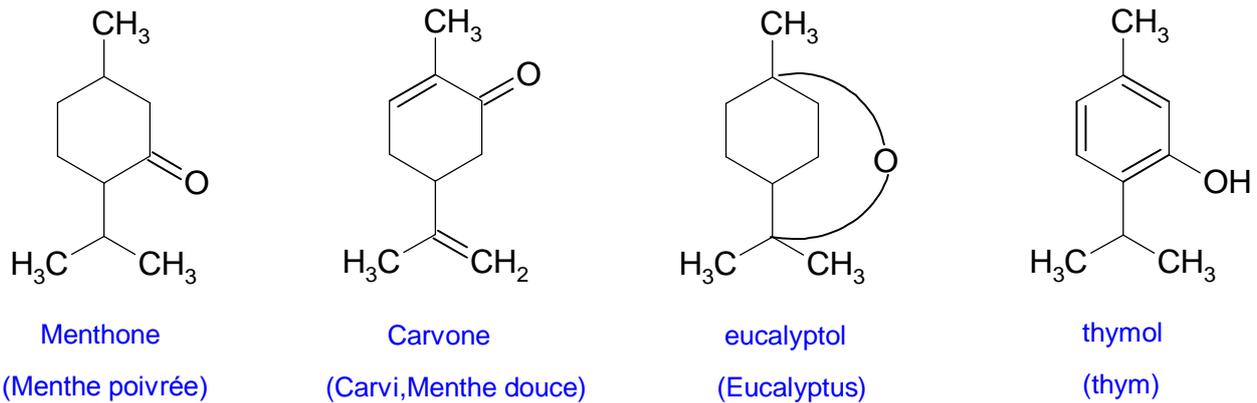


Figure 07 : Quelques monoterpènes monocycliques [31]

III.2.3.1. Terpène (p-menthan-1-8-diol)

Cis-p-Menthane-1, 8-diol se trouve dans les herbes et les épices. Le cis-p-Menthane-1, 8-diol est isolé des fruits du poivre de Californie, il a une odeur proche du menthol et agit comme réfrigérant.

La terpène cis, officinale cristallise sous forme d'un monohydrate peu soluble dans l'eau. [33]

Isomérisie [33]

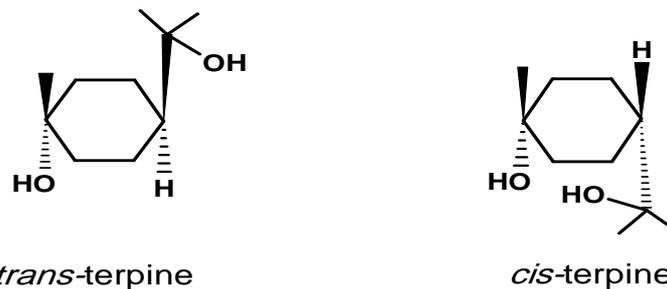


Figure 08 : *Trans-terpene* et *cis-terpene* de p-Menthane-1, 8-diol

Usages

La terpène (en chimie hydrate de terpène) est un expectorant, utilisée couramment pour favoriser l'évacuation du mucus lors des bronchites et autres infections du système respiratoire, Antiseptique respiratoire antitussif (associé à la codéine) et mucomodificateur. [34]

III.2.3.2. Eucalyptol ou céneol

L'eucalyptol est un composé naturel organique incolore. C'est un éther cyclique et un monoterpène. [35]

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

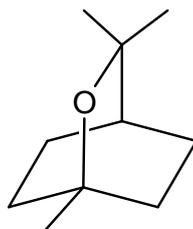


Figure 09 : structure de l'eucalyptol

Préparation

L'eucalyptol joue un rôle important dans l'industrie de la médecine, qui peut être préparé par la déshydratation intramoléculaire du p-menthane-1,8-diol monohydraté.[37]. Rhein a préparé de l'eucalyptol par la déshydratation du terpinmonohydraté avec le catalyseur d'acide sulfurique (figure10), le produit est le mélange de 1,8-époxy-p-menthane (c'est-à-dire 1,8-cinéole) et de 1,4-époxy-p-menthane (c'est-à-dire 1,4-cinéole). [36]

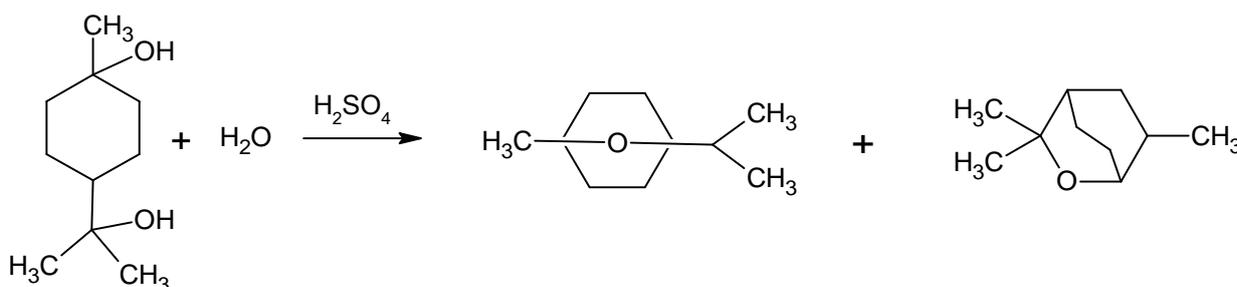


Figure 10 : Synthèse d'eucalyptol à partir de p-menthane-1,8-diol monohydraté [36]

Propriétés

Le nom IUPAC est : 1,3,3-triméthyl-2-oxabicyclo [2.2.2] octane de formule brute : $C_{10}H_{18}O$ [Isomères] et de masse volumique : $0,9225 \text{ g/cm}^3$, Insoluble dans l'eau, soluble dans les éthers, l'éthanol et le Chloroforme. [38]. La seule propriété chimique importante est la basicité au sens de Lewis ; l'eucalyptol donne avec certains acides forts (HCl, HI, $HClO_4$, H_3PO_4) des sels d'oxonium stables en milieu anhydre.

Usages

Il peut diminuer les douleurs et les inflammations et peut détruire des cellules cancéreuses. Aussi il est médicament antiseptique des voies respiratoires. [35]. En 1994 eucalyptol a été répertorié comme l'un des 599 additifs dans les cigarettes. Il est ajouté pour améliorer la saveur. [39]

III.2.4. Terpènes bicycliques

Les carbures, de formule $C_{10}H_{16}$, résultent de la condensation de deux isoprènes avec persistance

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

d'une seule double liaison. [31]

III.2.4.1. Préparation

Le pyrophosphate de géranyle peut également subir deux réactions de cyclisation pour former les monoterpènes bicycliques, tels que le pinène. [40]

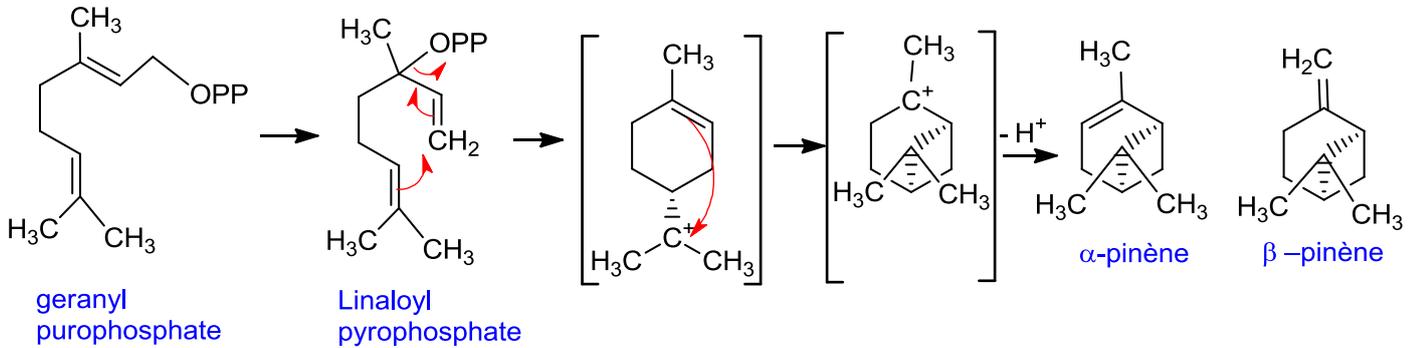


Figure 11 : Formation de pinène

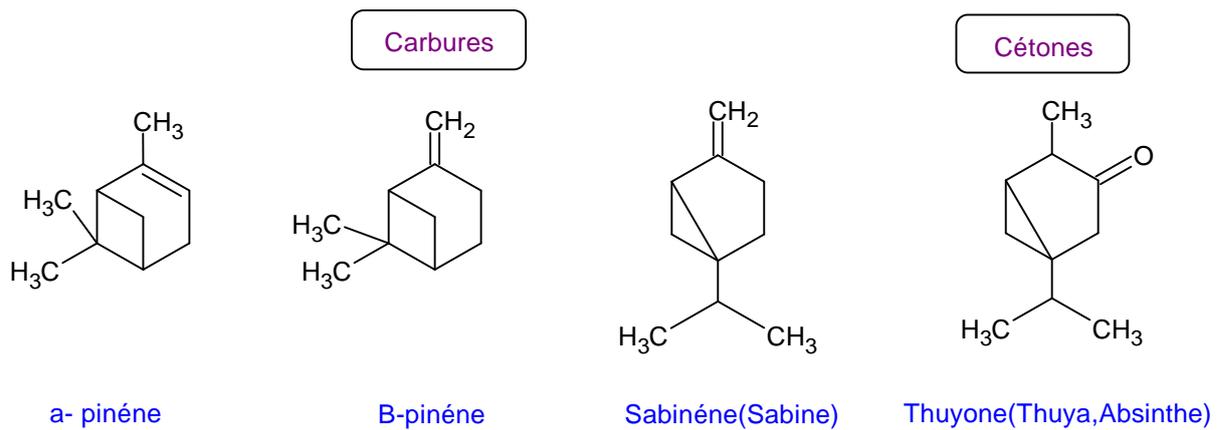


Figure 12 : Exemples de quelques terpènes bicycliques [31]

III.2.4.2. Groupe du pinane : pinènes

L' α -pinène est un monoterpène bicyclique. Il a pour isomère β -pinène. Ils sont connus pour ses propriétés antiseptiques. [41]

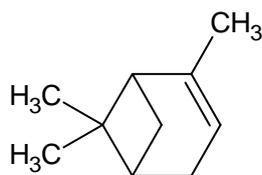


Figure 13 : Représentation de L' α -pinène

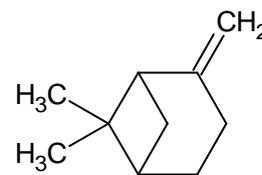


Figure 14 : Représentation de Le β -pinène

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

III.2.4.3. Groupe du bornane : bornéols et isobornéols

Le bornane, ou camphane, est un hydrocarbure bicyclique ponté saturé de formule $C_{10}H_{18}$. Ce monoterpène est étroitement apparenté au norbornane.

Isomérisation

La réduction du camphre par l'hydrure d'aluminium et de lithium a conduit à un mélange d'isobornéols (HO endo) et de bornéols (HO exo). [42]

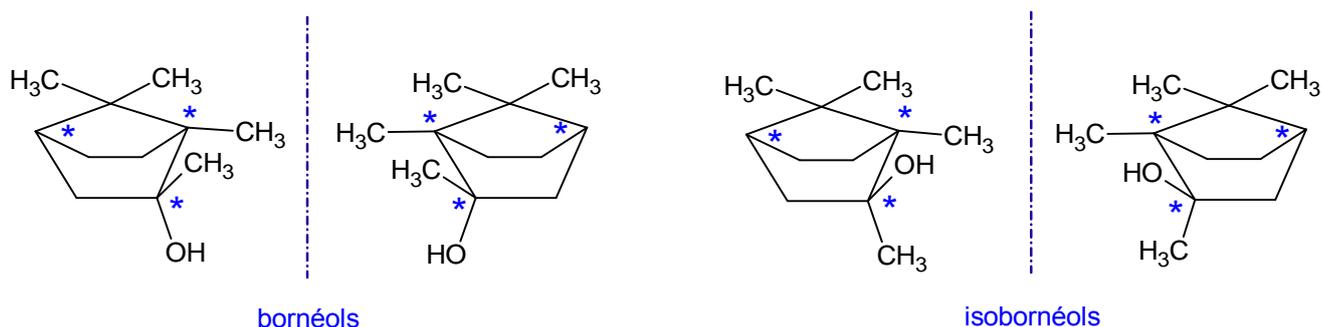


Figure15 : Bornéols et isobornéols

III.2.4.4. Groupe du bornane : camphre

Le camphre est un composé organique bicyclique solide issu du camphrier, arbre connu scientifiquement comme *Cinnamomum camphora*. Le camphre se présente comme un solide cristallin, blanc, translucide, onctueux au toucher, rayé par l'ongle, d'odeur vive, de saveur amère et aromatique. En 1858, le chimiste Berthelot a également synthétisé le camphre par oxydation du bornéol $C_{10}H_{18}O$ ou du camphène $C_{10}H_{16}$. [43]

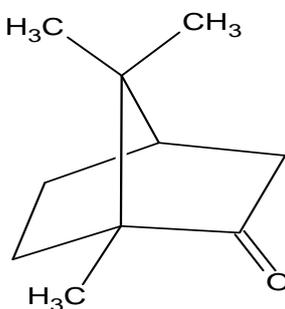


Figure 16 : Structure de camphre

Sa solution alcoolique est dextrogyre et le degré varie avec la concentration et la provenance. [43]

Chapitre III : Les constituants chimiques des huiles essentielles

III.3. Les composés aromatiques

III.3.1. Les phénols

Ce sont des composés chimiques aromatiques avec une fonction hydroxyle. Les phénols sont les molécules aromatiques avec le plus grand coefficient antibactérien et le plus large spectre. [44]

La figure 17 indique la structure de trois substances importantes : L'eugénol, le carvacrol et le thymol.

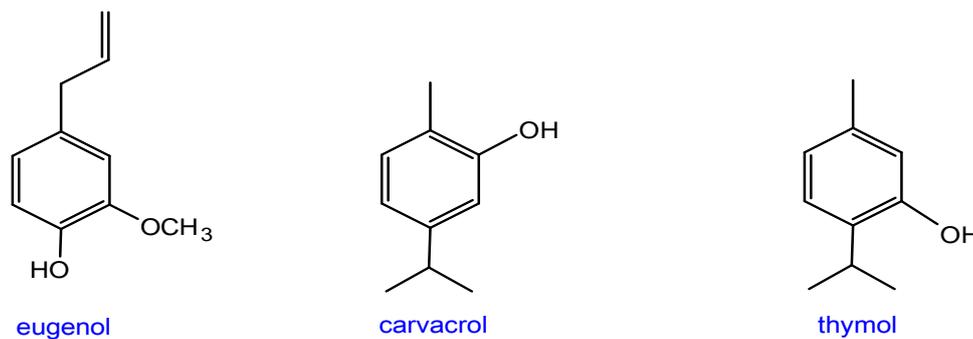


Figure 17: Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles [44]

III.3.2. Les aldéhydes aromatiques

Les aldéhydes sont obtenus par déshydrogénation des alcools primaires. Ils portent le suffixe -al.

On distingue deux types d'aldéhydes : Les aldéhydes terpéniques et aromatiques.

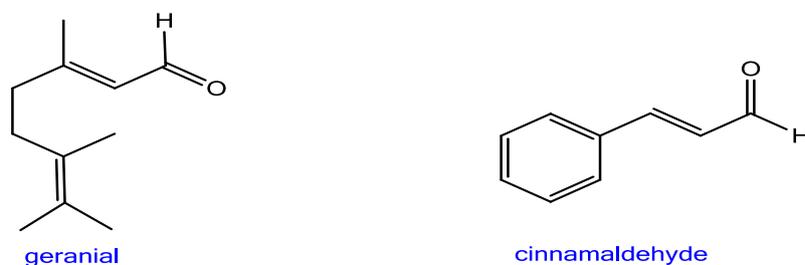


Figure 18 : Structure d'un aldéhyde terpénique (géraniol) et d'un aldéhyde aromatique (cinnamaldéhyde)

Les aldéhydes aromatiques sont principalement anti-infectieux, mais néanmoins irritants en application locale et en diffusion. Le meilleur exemple est celui du cinnamaldéhyde que l'on retrouve dans le cannelier de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*), excellent anti-infectieux mais très dermocaustique. [45]

Ces aldéhydes ont des propriétés :

- Antivirales.
- Anti-infectieuses majeures à large spectre et surtout sur les infections intestinales et urinaires.
- Stimulantes générales avec effets antidépresseurs. [45]

Chapitre IV : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

IV. Caractéristiques organoleptiques

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques (caractéristiques d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens : saveur, odeur, aspect et consistance de l'objet) communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau.

Elles sont aussi très odorantes et incolore ou jaune pâle sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée. En parfumerie, l'examen olfactif qui précède ou suit toute analyse d'huile essentielle est du plus grand intérêt car, si l'odeur de l'huile essentielle n'est pas satisfaisante, il importe peu que les constantes physicochimiques soient correctes : le produit doit être rejeté. Cet essai olfactif est conduit par comparaison avec un échantillon type de l'huile essentielle aussi frais que possible et conservé dans les meilleures conditions.

Elles sont, enfin, sensibles à l'oxydation et change de couleur, conservation limitée, à la lumière et à la chaleur. Il convient de la conserver à l'abri de la lumière et de l'air. [46]

Chapitre V : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les propriétés physiques principales des huiles essentielles sont la densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, la miscibilité dans un alcool. Quant à leurs propriétés chimiques elles sont représentées par la détermination de leurs indices d'acide, d'ester, de saponification, d'iode et de peroxyde qui permettent d'évaluer la nature des composés organiques (acide, ester, alcène, carbonyle) présents dans l'essence. Les huiles essentielles doivent répondre aux critères de qualité imposés par certains organismes comme AFNOR qui a été le 1^{er} organisme certificateur en Europe à s'être lancé dans la validation de méthodes alternatives d'analyse.

V.1. Caractéristiques chimiques des huiles essentielles

V.1.1. L'Indice d'acide I_a

L'indice d'acide témoigne de la « fraîcheur » d'une huile essentielle et permet de vérifier sa qualité, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage. Cette méthode convient pour toutes les H.E, sauf pour celles qui sont riches en Lactones. L'indice d'acide correspond à la masse nécessaire d'hydroxyde de potassium KOH (en milligramme) à ajouter à un gramme d'huile, afin de neutraliser tous les acides libres se trouvant dans la prise d'essai. [47]

V.1.2. Indice de saponification I_s

L'indice de saponification (I_s) correspond à la masse d'hydroxyde de potassium KOH (exprimée en milligrammes) nécessaire pour saponifier les esters et neutraliser les acides non estérifiés contenus dans un gramme de l'huile essentielle. [48]

V.1.3. L'Indice d'ester I_e :

L'indice d'ester correspond à la masse en mg d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire pour neutraliser les acides libérés par l'hydrolyse des esters en milieu basique contenus dans 1g d'huile essentielle, à l'aide du dosage en retour de l'excès de potasse par une solution (initialement titrée) d'acide chlorhydrique. [49]

V.2. Caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche elles le sont dans les solvants organiques et huiles végétales. Par contre elles ont des caractéristiques différentes :

Chapitre V : Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

V.2.1. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence θ_1 et le sinus de l'angle de réfraction θ_2 d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air à l'huile essentielle maintenue à une température constante. Cet indice peut être mesuré par un réfractomètre. [50]

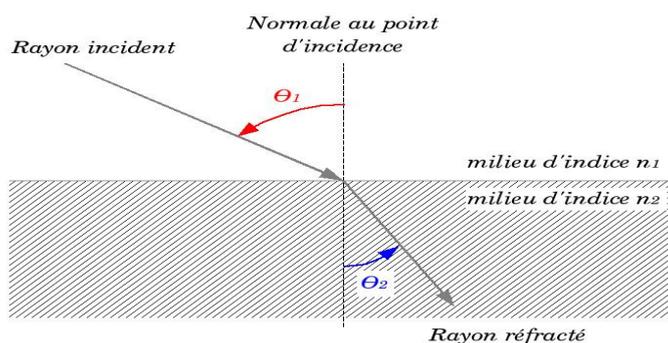


Figure 19 : indice de réfraction

Voici à titre indicatif quelques intervalles d'acceptation relevés des indices de réfractions, pour les huiles essentielles suivantes:[46]

Eucalyptus : 1.458 à 1.470

Lavande (aspic) :1.463 à 1.468

Thym : 1.495 à 1.505

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles et de composés liquides divers. Chaque substance a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Cette pureté est définie dans des intervalles considérés comme acceptable.

V.2.2. Le pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est l'angle exprimé en milli radians et /ou degrés d'angle dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde $\lambda = (589,3 * 0,3)$ nm, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celles-ci traversent une épaisseur de 100 mm d'huile essentielle dans des conditions déterminées de température. On peut mesurer le pouvoir rotatoire avec un polarimètre appareil de mesure de la polarisation (Propriété des ondes électromagnétiques) d'un corps. [51]

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle

VI. L'huile essentielle du clou de girofle



L'huile essentielle de clou de girofle se présente sous la forme d'un liquide huileux, de couleur jaune foncé au brun à la lumière. Il est obtenu par distillation. Le rendement est très élevé.

VI.1. L'arbre de gérofler

Le Girofler est un arbre tropical appartenant à la grande famille des Myrtacées, Originaire d'Indonésie, dans la partie sud des Philippines et les îles de Moluques, d'Afrique et D'Amérique du sud, principalement dans des pays tropicaux. [52]

Il s'agit d'un ligneux de 6 à 12 m de haut, qui peut vivre jusqu'à 150 ans. C'est un arbre sempervirent, de forme pyramidale ou conique, qui possède un tronc principal de forme oblique. De nos jours, il ressemble souvent à un arbuste car il est régulièrement taillé pour faciliter la cueillette. [52]



Figure 20 : *Allure d'un girofler de Madagascar (photographie personnelle [53]*

Le clou de girofler (*Eugenia caryophyllus* ou *Syzygium aromaticum*) s'obtient en récoltant les boutons floraux avant leur épanouissement. La corolle dont les pétales sont repliés au sommet du clou de girofle s'appelle « tête de clou ». [54] [55]

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle



Figure 21 : Boutons floraux du clou de girofle

VI.2. Composition chimique de l'huile essentielle

La composition biochimique est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production et de la qualité de l'huile. Néanmoins, on peut se fier à cette composition pour évaluer la qualité d'une huile :

Composé chimique principal : Phénols 70 à 85% (Eugénol). Autres composés chimiques : Esters 15 à 20% (Benzoate d'eugényl), Sesquiterpènes 5 à 15% (Caryophyllène), traces de : Monoterpènes, Monoterpénols, Oxydes, Cétones, Sesquiterpénols et Aldéhydes. [56]

VI.2.1. L'eugénol

L'eugénol, qui a une formule brute $C_{10}H_{12}O_2$, Il s'agit du 4-allyl-2-méthoxyphénol.

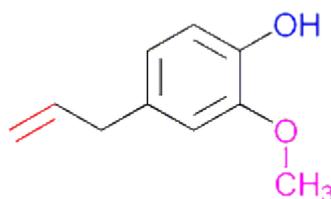


Figure 22 : La molécule d'eugénol

Est une molécule possédant un cycle aromatique, ce qui est caractéristique des composés d'origine naturelle. On remarque que la molécule possède une fonction alcène (en rouge), une fonction éther : le groupement méthoxy en violet et une fonction phénol en bleu.

VI.2.1.1. Synthèse de l'eugénol

La biosynthèse

La biosynthèse des essences au sein de la plante pour origine le phénomène de photosynthèse. Ce mécanisme est considéré comme le point de départ primordial de tous les processus métaboliques végétaux. De ce fait, la chlorophylle capte au niveau du système foliaire, les photons provenant du rayonnement solaire. Cette énergie solaire permet de scinder les molécules d'eau, indispensables à la

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle

vie et au développement du végétal, en hydrogène et oxygène. L'oxygène est rejeté en grande partie, ou utilisé dans d'autres réactions métaboliques. L'hydrogène se combine au gaz carbonique absorbé par la plante pour former différents sucres. A partir de celles-ci, le métabolisme cellulaire élabore, par divers processus et réactions d'oxydoréductions, des structures moléculaires complexes et variables selon les caractéristiques génétiques propres à l'espèce végétale. Les plantes aromatiques élaborent des composés selon plusieurs voies de biosynthèse. [57]

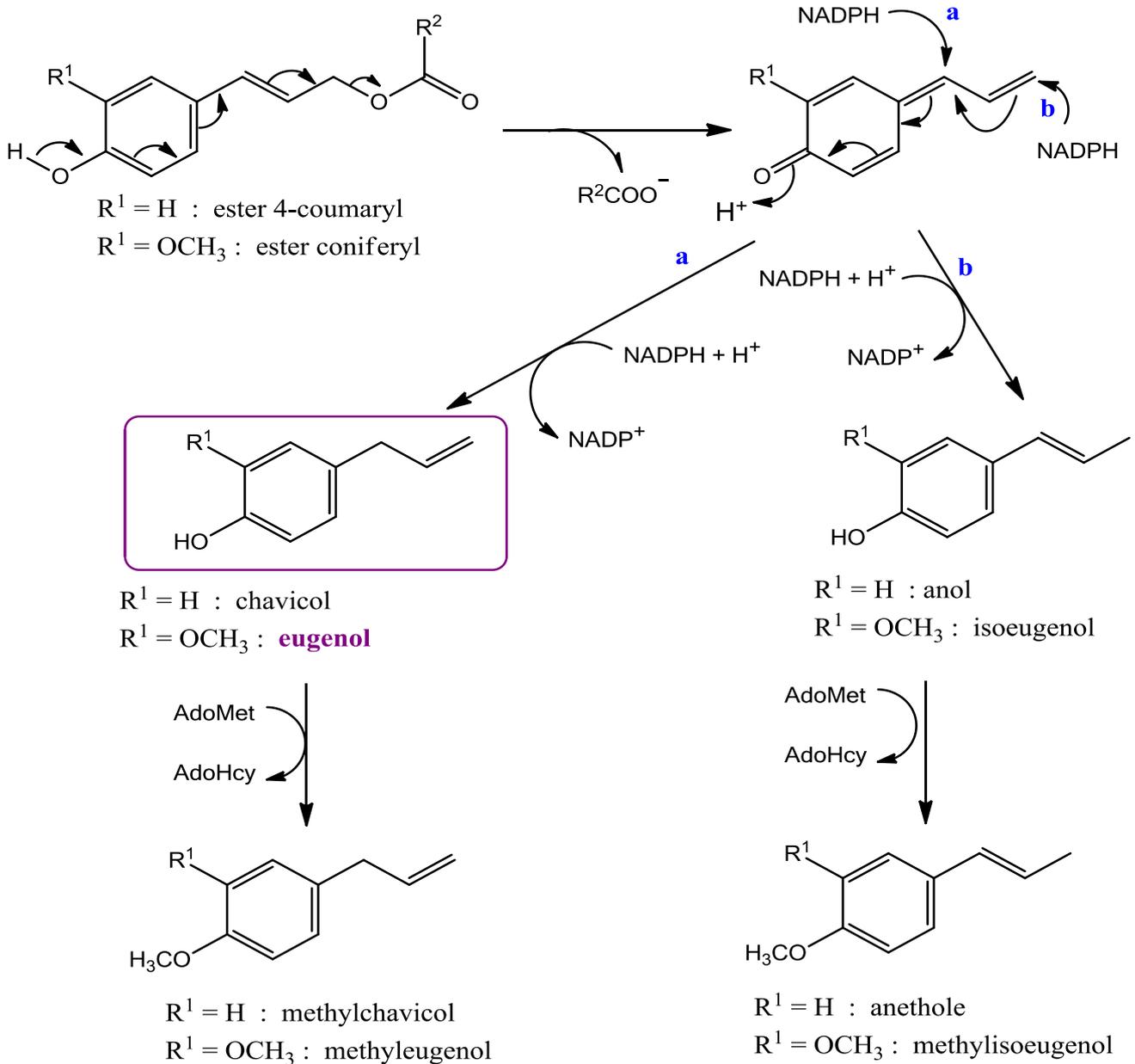


Figure 23 : Le chemin de la biosynthèse d'eugénol et l'isoeugénol

VI.2.1.2. Propriétés biologiques de l'eugénol

La molécule d'eugénol possède deux principales propriétés biologiques : antiseptique et anesthésiante.

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle

L'action antiseptique a été mise à profit très tôt. Ainsi, l'eugénol a été préconisé dans le traitement de la tuberculose et de la gangrène pulmonaire. [58]

Cette propriété antiseptique peut s'expliquer par l'action sur la membrane cellulaire.

Son action anesthésique a été mise à profit dans le domaine dentaire. Par le mélange d'oxyde de zinc et d'eugénol, on obtient un ciment utilisé en tant que matériau de restauration temporaire permettant à la fois un excellent scellement et une anesthésie de la pulpe. En plus, ce ciment est en général très bien toléré par les patients. L'eugénol est ainsi toujours utilisé de nos jours, principalement dans les préparations dentaires : bains de bouche, pâte dentifrice, ciments, etc. [59]

Depuis quelques années, de nouvelles propriétés et applications ont été découvertes : anti-oxydantes et anti-inflammatoire, conservateur (goût, valeur nutritive et développement microbien sur les grappes de raisins) et anesthésique. [60]

VI.2.1.3. Propriété chimique de l'eugénol

L'eugénol a une température de fusion (à 1 bar) de $-9\text{ }^{\circ}\text{C}$, d'ébullition de $253\text{ }^{\circ}\text{C}$, une densité 1,06 à $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, il est peu soluble dans l'eau et insoluble dans l'eau salée. Il est cependant particulièrement soluble dans l'éthanol et le dichlorométhane légèrement dans le chloroforme. [61]

VI.2.1.4. Propriété du benzoate de l'eugénol

L'eugénol benzoate est un puissant inhibiteur de la lipoxygénase. Les inhibiteurs d'une grande efficacité peuvent être utilisés dans des médicaments destinés à combattre toutes formes d'inflammation, des affections allergiques, l'asthme, la bronchite et le psoriasis.

VI.2.1.5. Synthèse de la vanilline

La vanilline, a été synthétisée pour la première fois par Erlenmeyer en 1876 à partir de l'eugénol (extrait de clous de girofles) et par Reimer à partir de gaïacol (extrait de goudrons de hêtres) Il s'agit donc d'hémisynthèses (synthèses réalisées à partir de composés naturels possédant déjà une partie de la molécule visée). [62]

L'eugénol est utilisé particulièrement fréquemment pour la synthèse de la vanilline, constituant principal de la vanille naturelle. L'eugénol est transformé en isoeugénol par action de l'hydroxyde de potassium à chaud, l'eugénol est isomérisé en isoeugénol. La coupure oxydante de la chaîne latérale de l'isoeugénol conduit à la vanilline selon la réaction suivante. [62] [63]

Chapitre VI : L'huile essentielle du clou de girofle

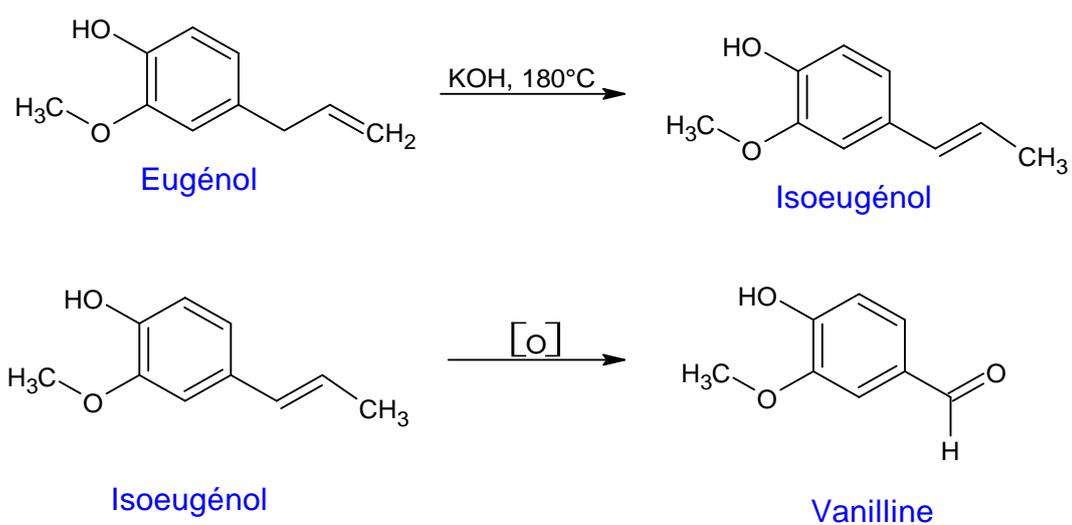


Figure 24 : Synthèse de vanilline. [62]

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

VII. L'huile essentielle de l'eucalyptus



L'huile essentielle d'eucalyptus est une huile claire, de couleur jaune pâle, forte avec une odeur fraîche et très caractéristique.

VII.1. L'arbre de l'eucalyptus

L'Eucalyptus est originaire de Tasmanie en Australie. Il fait partie de la famille des Myrtacées, Ce sont des arbres très adaptables, de croissance souvent rapide, et la taille adulte est très variable selon l'espèce, les petits eucalyptus si moins de 10 mètres, et les très grands eucalyptus de plus de 60 mètres (obliqua, delegatensis, diversicolor, nitens, globulus et viminalis). [64]

L'écorce est de couleur et de texture variable selon les espèces. Souvent elle présente plusieurs couleurs, comme un platane, mais l'écorce peut être aussi dure, fibreuse, floconneuse, lisse. [64]

La plupart des espèces ont la particularité d'avoir deux formes de feuilles selon leur âge : sur l'arbre jeune elles sont ovales, glauques à bleutées et opposées sur la tige, puis elles deviennent alternes, allongées, plutôt vertes sur l'arbre adulte. Les fleurs nombreuses sont très particulières car elles n'ont pas de pétale, mais de grandes étamines qui donnent cet aspect si particulier. La couleur est variable : blanc, crème, jaune, rose, rouge. La floraison peut survenir à différentes périodes de l'année, selon le climat. [64]

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus



Figure 25 : *Arbre d'eucalyptus (photo personnelle)*

VII.2. Les principales espèces

Depuis la nuit des temps, les indigènes utilisent l'eucalyptus pour assainir et préparer le corps aux périodes hivernales, d'où son nom « l'arbre à fièvre ». Il y aurait environ 600 à 700 espèces d'eucalyptus. Il existe plusieurs centaines d'espèces d'eucalyptus portant toutes le nom "eucalyptus" mais dont les différentes huiles essentielles présentent des compositions extrêmement diverses et dont les propriétés sont donc plus ou moins éloignées, voire parfois opposées les unes aux autres. [65]

Ci-dessous quelques typologies d'huile essentielle d'eucalyptus, qui sont le plus souvent utilisées pour l'aromathérapie : [65]

Eucalyptus radiata ou Eucalyptus radié.

Eucalyptus globulus ou Eucalyptus globuleux, aussi appelé "gommier bleu".

Eucalyptus citronné Eucalyptus citriodora.

Eucalyptus polybractea ou Eucalyptus à Cryptone Eucalyptus polybractea cryptonifera.

Eucalyptus camaldulensis : le gommier rouge.

Eucalyptus cordata.

Eucalyptus gunnii : l'eucalyptus à feuilles rondes, utilisé pour parfumer de nombreux produits ménagers.

Eucalyptus regnans : l'eucalyptus royal, le plus grand des eucalyptus.

Eucalyptus smithii : l'eucalyptus de Smith.

Eucalyptus niphophila : l'eucalyptus à feuilles lancéolées, il est le plus rustique de son espèce.

Eucalyptus regnans : l'eucalyptus royal, le plus grand des eucalyptus.

Eucalyptus sidéroxyton : l'eucalyptus à écorce de fer.

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

VII.3. Caractéristiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus

VII.3.1. Huile essentielle de l'Eucalyptus radié

VII.3.1.1. Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus radié:[66]

Tableau 02 : Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus radié

Famille de composés	Forme retrouvées
Oxydes 65-75%	1,8-Cinéole (70%)
Monoterpènes 10%	α -pinène (3%) Limonène (5%) Myrcène (2%) Sabinène (1%)
Monoterpénols 20%	α -terpinéol (14%) Géranol (2,6%) Linalol (0,4%) Isoterpinéol (2%) Terpinen-4-ol (1%)
Sesquiterpènes 2% Aromadendène	Sesquiterpènes 2% Aromadendène
Aldéhydes 1% Monoterpéniques	Myrténal Citronellal Géranial Néral
Esters 3%	Terpinyle d'acétate

VII.3.1.2. Caractéristiques physico-chimiques : [67][68]

Densité à 20°C : 0,905 à 0,925.

Indice de réfraction à 20° : 1,455 à 1,475 .

Pouvoir rotatoire à 20 °C : -5° à +10°.

Point éclair : +51°C.

III.3.1.3. Caractéristiques organoleptiques : [67] [69]

Aspect : liquide mobile limpide.

Couleur : incolore à jaune pâle.

Odeur : menthée, cinéolée et fraîche.

Culture : agriculture biologique.

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

III.3.1.4. Caractéristiques thérapeutiques :

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata est constituée de nombreuses molécules agissant en synergie. Le principe actif l'eucalyptol ou 1,8-Cinéole ($C_{10}H_{18}O$) y est très majoritaire et lui confère les propriétés médicinales suivantes : [70] [71] [72] [73]

- Expectorante et mucolytique.
- Bactéricide et antifongique.
- Anti-acnéique.
- Tonifiante.
- Tonique hépatique.
- Anti-inflammatoire.
- Immunostimulante.

VII.3.2. Huile essentielle de l'Eucalyptus citronné

VII.3.2.1. Caractéristiques biochimiques :

L'huile essentielle de Corymbiacitriodora contiendra très peu de 1,8-cinéole (moins de 1%). Le composant principal de l'huile essentielle sera le citronellal (qui confère à la plante son odeur citronnée si caractéristique). On utilise les feuilles et les rameaux pour produire l'huile essentielle. L'extraction se fait par entraînement à la vapeur d'eau. [67]

Profil chromatographique : [67]

- Oxydes: 1,8-cinéole (0.48%).
- Monoterpénols: Citronellol (4.6%), isopulégol (8.4%), isopulégol-iso (4.2%).
- Aldéhydes terpéniques : citronellal (77%).

VII.3.2.2. Caractéristiques physico-chimiques : [67] [74]

- Densité à 20°C : 0,864 à 0,882.
- Indice de réfraction à 20°C : 1,450 à 1,460.
- Pouvoir rotatoire à 20°C : -1° à +3°.
- Point éclair : +78°C.

VII.3.2.3. Caractéristiques organoleptiques: [67] [74]

- Odeur : citronnée due à la présence en grande quantité de citronellal, piquante, zestée.
- Apparence : Liquide.
- Couleur : Jaune à orangé.

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

VII.3.2.4. Caractéristiques thérapeutiques : [75] [76]

- Antalgique myorelaxante.
- Analgésique cutané.
- Anti parasitaire.
- Antispasmodique efficace.
- Répulsive des moustiques.
- Anti-inflammatoire.

VII.3.3. Huile essentielle de l'Eucalyptus globulus

VII.3.3.1. Caractéristiques biochimiques:[77] [78]

Tableau 03 : Principaux composés des huiles essentielles d'eucalyptus globulus

Auteur	Composition
(Song et al, 2009)	Feuilles: 1,8-eucalyptol: 72,71 %, α -pinene: 9,22 %, α -terpineol: 2,54 %, globulol: 2,77 %, α -terpineol acetate: 3,11 %, et alloaromadendrene: 2,47 %.
(Tyagi et al, 2011)	Feuilles : 20 composés ont été identifiés: 44,5% monoterpènes hydrocarbonés et 52% monoterpènes oxygénés, donc environ 96,5% des composés détectés. Les constituants majoritaires sont le 1,8-cineole : 45,4%, limonène : 17,8%, p-cymène : 9,5%, cterpinène : 8,8%, a-pinene : 4,2% et a-terpineol : 3,6%.

VII.3.3.2. Caractéristiques physiques- chimiques : [67] [79]

- Densité à 20°C : 0,905 à 0,925.
- Indice de réfraction à 20°C : 1,460 à 1,466.
- Pouvoir rotatoire à 20°C : 0° à +10°.
- Point éclair : +44°C.

VII.3.3.3. Caractéristiques organoleptiques: [80] [81]

Aspect : Liquide mobile limpide.

Couleur : presque incolore à jaune claire.

Odeur : forte, fraîche caractéristique de l'eucalyptol balsamique « odeur d'une baume », camphrée.

Récolte : en Février et en Novembre à la taille des arbres.

Partie à utiliser : essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés.

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

VII.3.3.4. Caractéristiques thérapeutiques : [82] [83] [84]

- Activité antibactérienne et antifongique.
- Activité antioxydante.
- Activité antiparasitaire.
- Activité insecticide.
- Antivirale.
- Antidouleur.

VII.4. Propriétés des molécules aromatiques dans l'huile essentielle de l'eucalyptus

Afin de comprendre comment fonctionne une huile essentielle et quelles sont ses propriétés, il est important de connaître les molécules qui la composent.

Tableau 04 : Les propriétés des molécules aromatiques dans l'huile essentielle de l'eucalyptus [67]

	E. globulus	E. radiata	E. citriodora
Molécules principales	1,8-cinéole (70-75%) α -pinène (10-12%)	1,8-cinéole (62 à 72 %) α -terpinéol (14 %)	Citronnellol (15 à 20 %) Citronnellal (40 à 80 %)
propriétés	<ul style="list-style-type: none">•anticatarrhale• expectorante• anti inflammatoire• antibactérienne• antivirale• stimulante immunitaire• énergisante• traite les pathologies des voies respiratoires basses	<ul style="list-style-type: none">•anticatarrhale• expectorante• anti inflammatoire• antibactérienne• antivirale• stimulante immunitaire• énergisante• traite les pathologies des voies respiratoires hautes	<ul style="list-style-type: none">•antispasmodique• anti inflammatoire• antalgique• apaisante cutanée• fongicide• hypotensive• répulsive des Moustiques

L'huile essentielle d'Eucalyptus radiata est reconnue comme antibactérienne, antivirale, puissante et efficace, s'utilise surtout pour la sphère ORL (voie respiratoire haute).

Cette huile se rapproche beaucoup de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus par sa composition (voies respiratoires basses).

Chapitre VII : L'huile essentielle de l'eucalyptus

En effet la présence d'une grande quantité de 1,8-cinéole, molécule qui possède une activité expectorante et mucolytique puissante lui confère des propriétés principales commune à *Eucalyptus globulus*. [70]

L'huile essentielle de *Corymbiacitriodora* contiendra très peu de 1,8-cinéole (moins de 1%), c'est une huile peu couteuse et très utile pour soulager tous les états inflammatoire. [21]

Toutefois, au-delà de ses propriétés anti inflammatoires et antidouleur, cette huile essentielle présente d'autres atouts : de par ses actions antifongiques et anti-moustique elle fera aussi partie des synergies à utiliser lors de mycoses cutanées ou d'attaques de moustiques inopportunes.

Partie Expérimentale

Chapitre I : Objectif et Matériel

I.1. Objectif

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de la chimie organique à la faculté des sciences de matière et mathématique à l'université de 8 Mai 1945 Guelma.

Notre objectif est de faire d'une part une étude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de plantes d'eucalyptus globulus récoltés dans plusieurs endroits et d'autre part, après l'étude comparative des méthodes d'extractions et l'étude des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'une deuxième plante ; le clou de girofle on cherche à faire une étude comparative des propriétés antioxydants de l'huile essentielle du clou de girofle et l'eugénol le principal constituant de cette huile essentielle.

I.2. Matériel

II.2.1. Matériel végétal

Les plantes d'eucalyptus globulus ont été récoltées pendant la période du 20 février au 10 mars dans la région d'Oued Cheham, El Machroha et Guelma. Les échantillons sont constitués de feuilles non triées (feuilles jeunes et adultes). Quant à la plante du clou de girofle elle se présente sous forme de boutons floraux du girofler, que nous avons acheté dans le commerce.

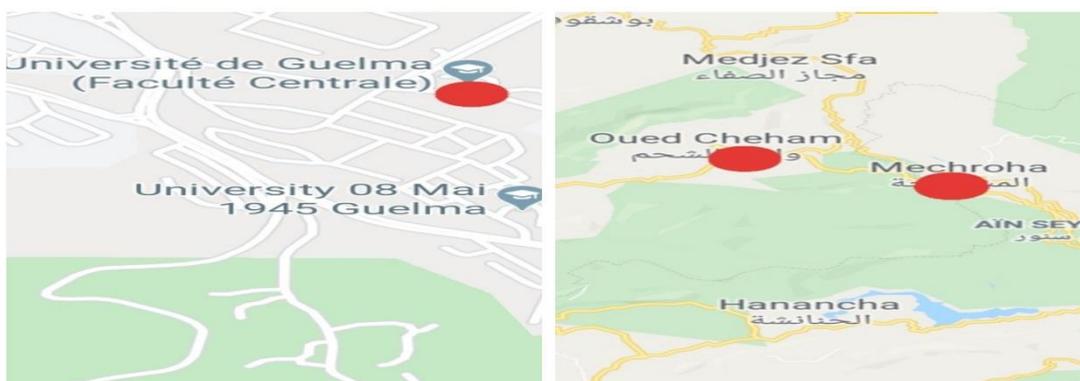


Figure 26 : La zone géographique des régions de récolte de l'eucalyptus

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

II.1. Extraction de l'huile essentielle (HE) par hydrodistillation

Parmi les techniques d'extraction d'une huile essentielle, l'hydrodistillation ou l'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des plus anciennes et la plus utilisée. Elle est très facile à mettre en œuvre et ne nécessite pas beaucoup de moyens. Le principe est le suivant : après avoir découpé en petits morceaux les feuilles de la plante d'eucalyptus fraîchement récolté, on introduit ces derniers dans un erlenmeyer de 3 litres surmonté d'un appareil de distillation équipé d'un réfrigérant. On ajoute ensuite une certaine quantité d'eau de robinet dont le niveau dépasse légèrement la surface de ces morceaux de plante. Le mélange est ensuite porté à ébullition à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant. Au cours de la distillation les cellules végétales de la plante éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont ensuite entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un récipient gradué. L'huile essentielle se sépare de l'eau par différence de densité en formant ainsi deux phases liquides dans le récipient récepteur. L'HE obtenu est ensuite séché, afin d'éliminer l'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, un déshydratant (sulfate de sodium anhydre) est additionné, c'est l'opération de séchage. L'HE ainsi obtenue est mise dans des flacons en verre sombre et conservés à 4°C jusqu'à son analyse.

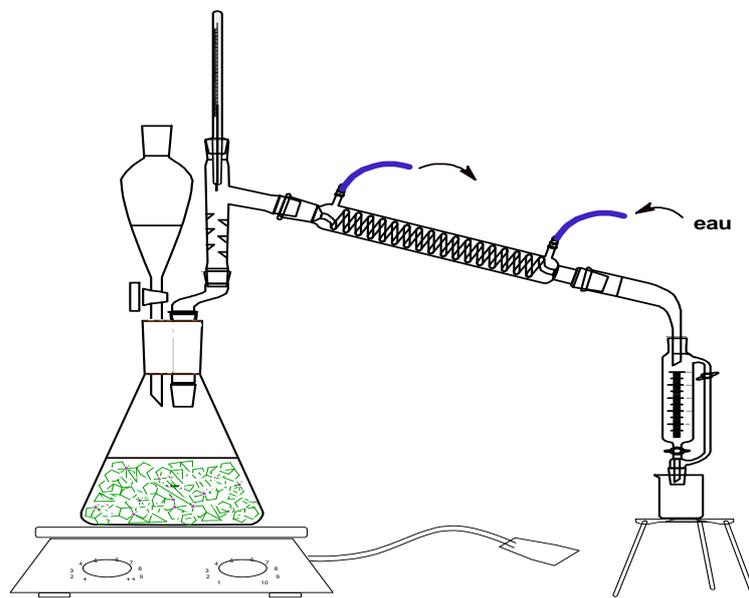


Figure 27 : Montage pour l'obtention de l'huile essentielle de l'eucalyptus par hydrodistillation

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

II.1.1. Extraction de l'huile essentielle de l'eucalyptus en provenance d'Oued Cheham:

Dans cette partie nous allons d'abord faire une comparaison sur les rendements en huile essentielles des plantes d'eucalyptus récoltées dans différents endroits.

Calcul du rendement en huile essentielle

Le rendement en H.E. est le rapport entre la masse de l'huile extraite et la masse du matériel végétal utilisé. Le rendement exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m_{HE}}{m_p} \times 100$$

Où **R**: rendement en huile essentielle

m_{HE} : Masse de l'huile essentielle

m_p: Masse de la plante

1^{er}Essai : (1^{er} jour après la récolte) avec chauffage lent.

Quantité d'eucalyptus : 170g.

Quantité d'eau : 1200ml.

Durée d'expérience : 1heure et 30mn.

Tableau 05 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90
V (l'eau) en ml	21	21, 5	22	23	23	23,5
masse(HE) en g	0,21	0,13	0,10	0,03	0,02	0,01

La quantité totale obtenue en HE est : 0,5g ce qui correspond à un rendement de :

$$R = 0,5 \times 100 / 170 = 0,3\%$$

2^{ème} Essai : (1 jour après la récolte) avec chauffage lent.

Quantité d'eucalyptus : 250g.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Quantité d'eau : 1200ml.

Durée d'expérience : 1h et 30min.

Tableau 06 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90
V (l'eau) en ml	31	30	29	29	30	30
masse(HE) en g	0,50	0,22	0,16	0,10	0,08	0,04

La quantité totale obtenue en HE est : 1,10g ce qui correspond à un rendement de :

$$R = 1,1 \times 100 / 250 = 0,44\%$$

3^{ème}Essai : (10 jours après la récolte) avec chauffage lent.

Quantité d'eucalyptus : 250g.

Quantité d'eau : 1200ml.

Durée d'expérience : 1h 30mn.

Tableau 07 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'Oued Cheham en fonction du Temps. (10 jours après récolte)*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90
V (l'eau) en ml	45	39	42	47	34	39
masse(HE) en g	0,3	0,1	0,07	0,06	0,06	0,03

La quantité totale obtenue en HE est : 0,62g ce qui correspond à un rendement de :

$$R = 0,62 \times 100 / 250 = 0,25\%$$

II.1.2. Extraction de l'huile essentielle de l'eucalyptus en provenance de l'université de Guelma

4^{ème}Essai : (01jour après la récolte) avec chauffage lent.

Quantité d'eucalyptus : 250g

Quantité d'eau : 1200ml.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Durée d'expérience : 3h

Tableau 08 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus de l'université de Guelma en fonction du Temps. (01 jours après récolte)*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
V (l'eau) en ml	06	10	10	10	12	10	11,5	12	11	13	12	10
masse(HE) en g	1,32	0,35	0,25	0,23	0,17	0,12	0,11	0,14	0,11	0,10	0,04	0,04

La quantité totale obtenue en HE après 3 heures de distillation est : 2,98g ce qui correspond à un rendement de :

$$R = 2.98 \times 100 / 250 = 1.2\%$$

La quantité totale obtenue en HE après 1h 30mn de distillation est : 2,44g ce qui correspond à un rendement de : **0,98%**

II.1.3. Extraction de l'huile essentielle de l'eucalyptus en provenance d'El Machroha:

5^{ème}Essai : (1 jour après la récolte) avec chauffage lent.

Quantité d'eucalyptus : 250g.

Quantité d'eau : 1200ml.

Durée d'expérience : 3heures.

Tableau 09 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'El Machroha en fonction du temps (avec chauffage lent)*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
V (d'eau) en ml	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
masse (HE) en g	0,6	0,18	0,11	0,08	0,07	0,05	0,05	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01

La quantité totale obtenue en HE après 3 heures de distillation est : 1,27g ce qui correspond à un rendement de : **R = 1,27x100/250 = 0,51%**

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

6^{ème} Essai : (1 jours après la récolte) avec chauffage brutal.

Quantité d'eucalyptus : 250g.

Quantité d'eau : 1200ml.

Durée d'expérience : 3heures.

Tableau 10 : *Volume d'eau et masse d'huiles essentielles d'eucalyptus d'El Machroha en Fonction du temps (avec chauffage brutal)*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
V (d'eau) en ml	50	65	80	95	100	120	135	150	160	175	190	205
Masse (HE) en g	0,6	0,20	0,12	0,08	0,06	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01

La quantité totale obtenue en HE après 3 heures de distillation est : 1,27g ce qui correspond à un rendement de :

$$R = 1,27 \times 100 / 250 = 0,51\%$$

II.1.3.1. Courbe de rendement en HE en provenance d'El Machroha

La courbe de rendement correspond à une représentation graphique des rendements partiels obtenu chacun pendant un intervalle de temps fixe lors de la distillation de la plante en fonction du temps.

Tableau 11 : *Rendements en HE en fonction du temps de l'eucalyptus en provenance d'El Machroha*

Temps (mn)	15	30	45	60	75	90	105	120	135	150	165	180
masse (HE) en g	0,6	0,18	0,11	0,08	0,07	0,05	0,05	0,04	0,03	0,03	0,02	0,01
Rendement en %	0,24	0,072	0,044	0,032	0,028	0,02	0,02	0,016	0,012	0,012	0,008	0,004

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

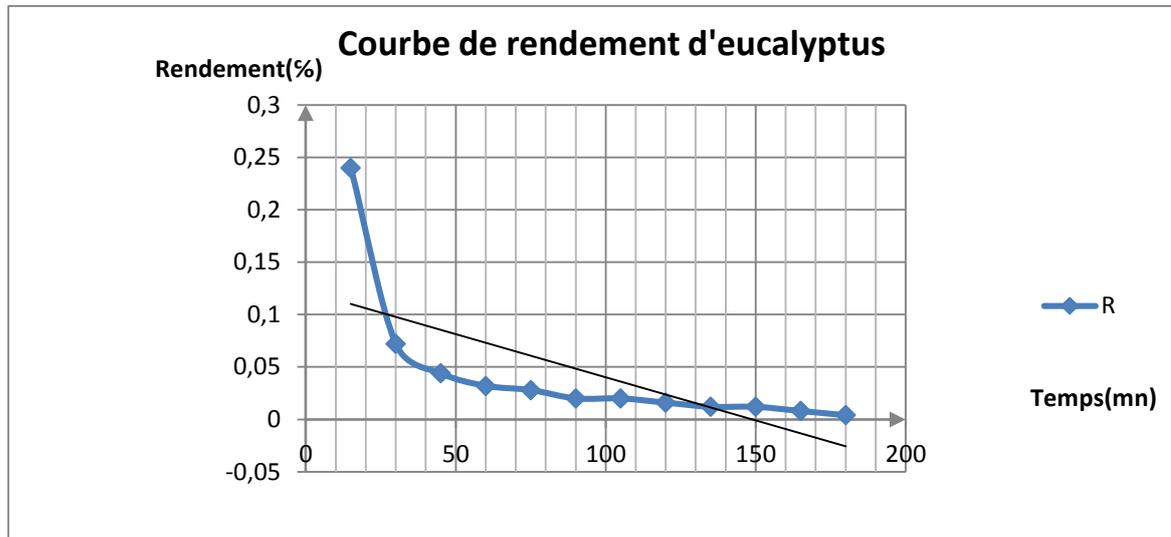


Figure 28 : Courbe de rendement d'huile essentielle d'Eucalyptus d'El Machroha en fonction du temps

On a une diminution du rendement en fonction de temps puis se stabilise car la quantité de la matière végétale diminue, cet eucalyptus a un rendement d'ordre 0,51%.

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle.

La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier d'une plante à une autre selon : l'âge, le cycle végétatif de l'organe, le mode d'extraction, les facteurs climatiques et la nature du sol.

Une huile essentielle est très fluctuante dans son rendement sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres : d'origine intrinsèque (génétique, stade végétatif), d'origine extrinsèque (sol, climat, latitude) ou d'ordre technologie c'est-à-dire lié aux technique d'exploitation du matériel végétal.

I.4. Discussion des résultats

Nous récapitulons dans le tableau 12 tous les résultats mentionnés dans les tableaux précédents.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Tableau 12 : Rendement en huile essentielle de l'eucalyptus selon les régions de récolte

région de récolte de l'Eucalyptus	Quantité en gramme mise en œuvre	Temps d'attente avant distillation en jour	Temps de distillation	Rendement en %
Oued Cheham (T1)	170	1	1h 30mn	0.3
Oued Cheham (T2)	250	1	1h 30mn	0,44
Oued Cheham (T3)	250	10	1h 30mn	0.25
Guelma (T4)	250	1	1 h 30mn	0,98
Guelma (T4)	250	1	3 h	1,2
El Machroha (T5)	250	1 (lente)	3 h	0,51
El Machroha (T6)	250	1 (brutale)	3 h	0,51

On remarque d'après les résultats mentionnés dans les tableaux 05 et 06 que l'eucalyptus d'Oued Cheham donne de meilleur rendement en huile essentielle lorsque la quantité initiale de la masse végétale est plus grande (à partir de 250g on obtient 0,44% d'HE par contre à partir de 170g on obtient à 0,3% d'HE), après 1h 30mn de distillation.

On remarque d'après les résultats mentionnés dans les tableaux 06 et 07 que l'eucalyptus de l'Oued Cheham donne de meilleur rendement 0,44% en huile essentielle lorsque l'extraction se fait dans un jour de la récolte après 1h30 de distillation, par contre avec celui qui est distillé après 10 jours de la récolte on en extrait uniquement 0,62g d'huiles essentielles qui correspond à 0,25% de rendement, pendant la même durée c'est à dire en 1h 30mn. Ceci s'explique par le fait que l'huile essentielle volatile constituant de ces feuilles se sépare par gravité de l'eau à laquelle elle n'est pas miscible et se perd dans l'atmosphère avec le temps.

Dans les mêmes conditions opératoires On remarque d'après les résultats mentionnés dans les tous tableaux que l'eucalyptus de l'université de Guelma donne de meilleur rendement en huile essentielle 0,98% que l'eucalyptus des autres lieux après 1h 30mn de distillation et qui donne un rendement de 1,2g après 3 heures de distillation. L'eucalyptus de l'université de Guelma est caractérisé par des feuilles légèrement plus larges et vertes, le froissement de ses feuilles libère une forte odeur caractéristique du 1,8-cinéol.

L'extraction de l'huile essentielle d'El Machroha soit par chauffage lent ou bien rapide donne la même quantité d'huile essentielle soit 1,27g qui correspond à un rendement de 0,51% mais on obtient une quantité d'eau plus élevée avec le chauffage brutal ; la chaleur qui s'applique sur la matière première végétale permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules contenues après la formation d'un mélange azéotrope contenant l'eau et les molécules volatiles, dont la température d'ébullition est

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

proche de 100°C alors on préfère la distillation par le chauffage lent afin de ne pas gaspiller l'énergie thermique.

II.1.5. Analyse par Chromatographie sur couche mince

Nous avons utilisé des plaques CCM gel de silice 60 F₂₅₄ activée dont le support est en aluminium. Comme éluant nous avons utilisé un mélange de solvants, « toluène-acétate d'éthyle » dans le rapport respectif est 93:7. Nous avons utilisé l'iode comme révélateur et aussi la révélation par la visualisation des plaques sous une lampe UV à la longueur d'onde : 365nm.

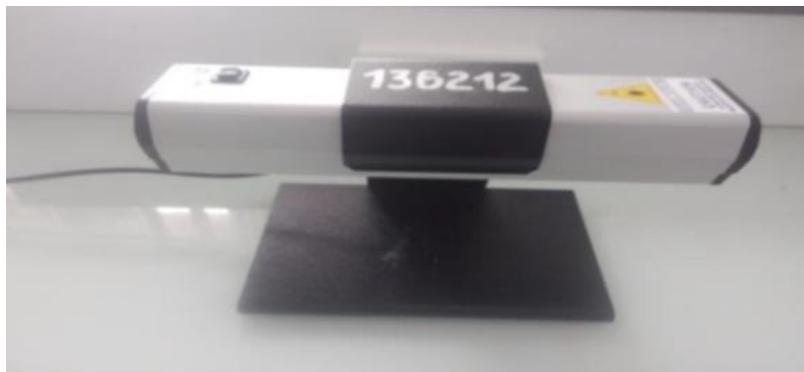


Figure 29 : *Lampe UV pour révélation CCM*

Nous avons pris comme référence d'identification, des chromatogrammes CCM se trouvant dans la littérature. [85]

Dans la littérature on considère que les taches des principaux produits sont caractérisés par des rapports frontaux R_f répartis de la façon suivante :

- de 0,2-0,3 ce sont les alcools terpéniques et les pinènes tels que : α -terpineol, α -pinène, limonène, *p*-cymène, terpinène.
- aux alentours de 0,5 c'est le 1,8-eucalytol appelé aussi 1,8-cinéol produit majoritaire de l'HE.
- de 0,6-0,7 ce sont les esters tels que les acétates.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

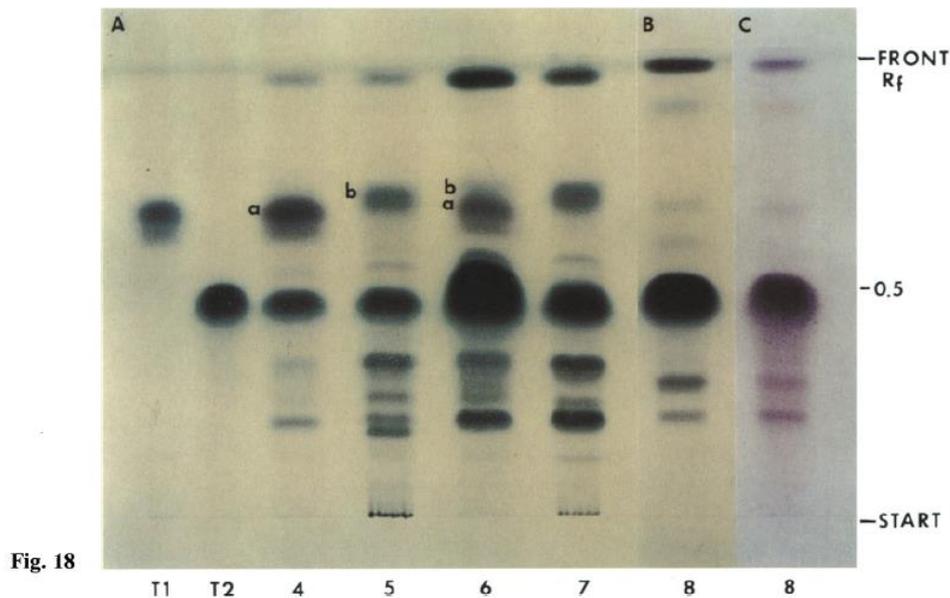


Figure 30 : Schéma de chromatogramme de l'huile essentielle d'eucalyptus décrit dans la littérature [85]

La tâche en T2 appartient au 1,8-eucalyptol, les chromatogrammes en position 8B et 8C appartiennent aux huiles essentielles de l'eucalyptus. le 8C est révélé par pulvérisation avec une solution : vanilline-acide sulfurique et le 8B est révélé par pulvérisation avec une solution d'acide phosphomolybdique.



Figure 31 : Schéma de chromatogramme de l'huile essentielle d'eucalyptus

Les résultats obtenus par la CCM sont résumés dans le tableau 13. On obtient 3 taches les plus apparentes, celle du milieu caractérisant le 1,8-eucalyptol est bien plus foncée.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Tableau 13 : *Rapports frontaux R_f pour les HE d'eucalyptus selon les différentes régions avec un mélange d'éluant toluène/acétate d'éthyle 93/7*

région de récolte de l'Eucalyptus	Rapports frontaux R_f	Produits caractéristiques	Couleur de la tache
	0,21	alcools terpéniques et les pinènes	Brune
Oued Cheham	0,48	1,8-eucalytol	brune foncée
	0,65	Esters	Brune
	0,25	alcools terpéniques et les pinènes	Brune
El Machroha	0,51	1,8-eucalytol	brune foncée
	0,68	Esters	Brune
	0,26	alcools terpéniques et les pinènes	Brune
Guelma	0,52	1,8-eucalytol	brune foncée
	0,70	Esters	Brune

II.2. Propriété physico-chimique de l'huile essentielle de l'eucalyptus

L'objectif de la présente étude est de déterminer d'abord les caractéristiques physiques (indice de réfraction et densité) et les caractéristiques chimiques (Indice d'acide, indice d'ester), des différentes huiles essentielles et de faire ensuite une étude comparative entre ces différentes propriétés des HE.

II.2.1. Caractéristiques physiques

II.2.1.1 L'indice de réfraction

L'indice de réfraction est une valeur sans grandeur qui caractérise la vitesse de la lumière dans une solution. Cet indice est un indicateur de pureté d'une solution.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle est généralement élevé, il est supérieur à ceux de l'eau à 20C° égal à 1.3355 ; ceci montre leur richesse en composants qui dérivent la lumière polarisée.

L'appareil employé pour mesurer l'indice de réfraction est le réfractomètre.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus



Figure 32 : Refractomètre

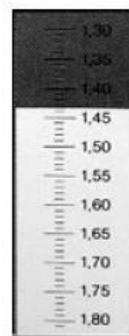


Figure 33 : Echelle de lecture

L'indice de réfraction est utilisé pour l'identification et comme critère de pureté des huiles essentielles et de composés liquides divers. Chaque substance a son indice de réfraction spécifique. Plus l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. Cette pureté est définie dans des intervalles considérés comme acceptable.

A titre indicatif l'intervalle d'acceptation relevée dans le F.C.C. III (Food Chemical Codex) pour l'huile essentielle de l'eucalyptus est : 1.458 à 1.470.

Nous avons trouvé pour des huiles essentielles de l'eucalyptus des différents lieux les indices de réfraction représentés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Indices de réfraction de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions

région de récolte de l'Eucalyptus	indice de réfraction	indices de réfraction selon les normes FCC
Oued Cheham	1,463	1.458 à 1.470
El Machroha	1,461	1.458 à 1.470
Guelma	1,465	1.458 à 1.470

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 14, tous les indices de réfractons mesurés sont conformes aux normes FCC. Ce qui indique que les huiles essentielles que nous avons obtenus, liquide de couleur jaune très pale est bien pure.

II.2.1.2. Mesure de la densité

La mesure de la densité selon la norme NF T 75-111 est effectuée à l'aide d'un pycnomètre d'un millilitre de volume, à la température de 20°C. Comme le laboratoire n'est pas équipé d'un pycnomètre de telle dimension, nous avons procédé à la mesure de la densité avec les moyens disponibles au

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

laboratoire de la façon suivante : à l'aide d'une micropipette de 200µL on retire un certain volume d'HE qu'on pèse à l'aide d'une balance analytique de haute précision dont la plage de lecture se situe jusqu'à 1mg. On calcul ainsi la densité par le rapport entre la masse de l'HE et son volume. La densité (sauf pour les gaz) est égale à la masse volumique sans unité.

$$d_{HE} = \frac{m_{HE}}{V_{HE}}$$

Où d_{HE} : densité de l'HE

m_{HE} : masse de l'HE

V_{HE} : volume de l'HE

Nous avons trouvé pour 200 µL des huiles essentielles de l'eucalyptus des différents lieux les densités représentés dans le tableau 15.

Tableau 15 : Densité de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions

région de récolte de l'Eucalyptus	Masse d'EH en g	Densité	densité selon les normes AFNOR
Oued Cheham	0,1826	0,913	0,901-0,917
El Machroha	0,1820	0,910	0,901-0,917
Guelma	0,1832	0,916	0,901-0,917

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 15, toutes les densités mesurées sont conformes aux normes AFNOR.

II.2.2. Caractéristiques chimiques

II.2.2.1. Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide, noté I_a , indique la quantité d'acides libres dans une huile. Il est défini comme la masse d'hydroxyde de potassium, exprimée en mg, nécessaire au titrage de tous les acides libres contenus dans 1,0 g de cette huile.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

L'huile dégradée contient de plus en plus d'acides libres ce qui fait croître son indice d'acide. La mesure de cette acidité libre est un moyen pour déterminer son altération. Cette mesure permet d'évaluer par exemple le vieillissement d'une peinture sur toile.

La manipulation consiste à déterminer l'indice d'acide de l'huile essentielle par titrage acido-basique d'une quantité connue de cette huile essentielle dissoute dans l'éthanol, en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

Principe et réaction

Cette méthode est basée sur la neutralisation d'acide libre dans l'huile par une solution caustique KOH.



Réactifs utilisés

- Ether diéthylique pur
- Ethanol (95 °)
- Phénolphtaléine 1% dans l'éthanol.
- Solution d'hydroxyde de potassium KOH alcoolique (éthanol à 95 °) de concentration molaire 0,05 M

Mode opératoire

Dans un bêcher de 100 ml, on a introduit une quantité précise de **1g** d'huile essentielle d'eucalyptus puis on a ajouté 20 ml d'un mélange d'éther éthylique et d'éthanol 95% à proportion (2 ÷ 1) pour dissoudre l'huile. On agite vivement le mélange avec un agitateur magnétique, si l'huile se dissout difficilement, on peut chauffer légèrement le mélange en agitant vivement dans un bain – marie.

Notre huile est soluble dans le mélange, on refroidit à la température ambiante et on titre le mélange par une solution de KOH 0,05N (dissout dans l'éthanol pour éviter la réaction d'hydrolyse de savon), on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine comme indicateur puis on titre jusqu'à l'obtention de la couleur rose.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Calcul de l'indice d'acide I_A de l'huile essentielle de l'eucalyptus

Le calcul de l'indice d'acide I_A est effectué à partir de la relation suivante :

$$I_A = \frac{56,1 \cdot V \cdot N_{\text{KOH}}}{m} \quad (1)$$

V : volume en ml de KOH nécessaire pour le titrage de l'huile essentielle

N_{KOH} : normalité d'hydroxyde de potassium KOH soit **0,05N**

m : masse en gramme de l'huile essentielle de l'eucalyptus à titrer soit **1g**

56,1 : masse molaire du KOH

Nous avons trouvé pour un volume de KOH versé dans le bécher contenant l'huile essentielle,

Pour les échantillons des huiles essentielles des différents eucalyptus récoltés dans les trois régions, nous avons obtenu pour chacun d'eux le volume de solution de KOH. Nous avons réalisé trois essais pour chacun. La valeur prise de l'indice d'acide est la moyenne entre les trois valeurs des indices d'acide des trois essais.

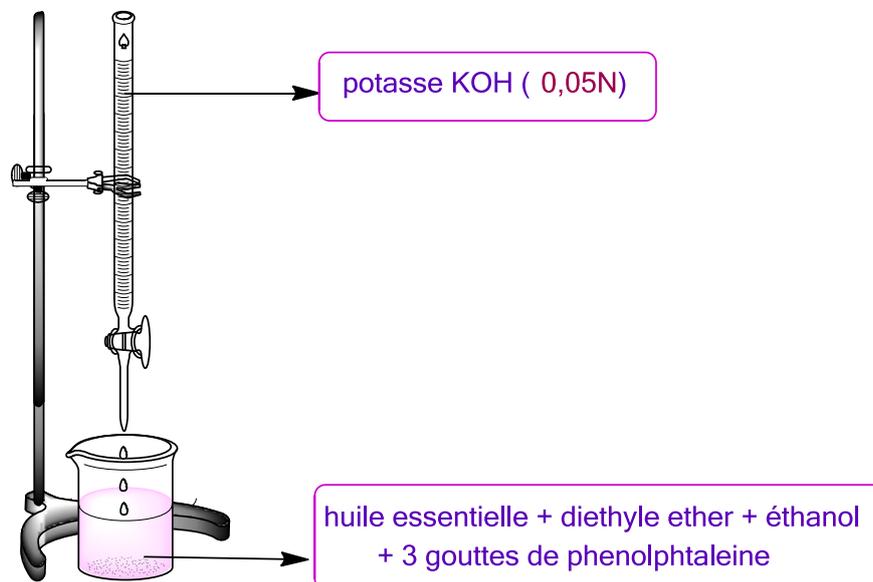


Figure 34 : Mesure de l'indice d'acide par dosage acido-basique

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

Tableau 16 : Indices d'acide de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions de récoltes

région de récolte de l'Eucalyptus	Essai	Volume de KOH en mL	Indice d'acide	Indice d'acide selon les normes AFNOR
Oued Cheham	Essai 1	1,2	3,366	< 10
	Essai 2	1,5	4,208	
	Essai 3	1,3	3,647	
		moyenne	3,740	
El Machroha	Essai 1	1,9	5,330	< 10
	Essai 2	2,1	5,891	
	Essai 3	1,9	5,330	
		moyenne	5,517	
Guelma	Essai 1	0,6	1,683	< 10
	Essai 2	0,7	1,964	
	Essai 3	0,7	1,964	
		Moyenne	1,870	

D'après les résultats représentés dans le tableau 16, on constate que les valeurs des indices d'acide de l'HE de l'eucalyptus des trois régions sont conformes aux normes, ils doivent être inférieurs à 10. Ce qui indique que notre HE est bien pur et qu'elle n'a pas subi de dégradation oxydative au cours du temps écoulé avant le titrage.

Il était intéressant d'étudier la dégradation de cette huile essentielle en fonction de la température et en fonction du temps. Nous avons programmé de faire cette étude pour les HE récoltés des trois régions pour une période de deux mois en mesurant à chaque fois l'indice d'acide pendant chaque semaine et à des températures de : 04 °C , 20 °C et 45 °C, mais malheureusement le confinement nous empêche de réaliser ce travail.

II.2.2.2. Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification correspond à la masse de potasse (KOH) nécessaire pour saponifier les esters et neutraliser les acides libres non estérifiés contenus dans un gramme d'huile essentielle.

Le principe repose sur un dosage en retour. On fait réagir à chaud une solution de l'huile essentielle avec un excès de KOH. Cet excès est ensuite dosé par une solution d'acide chlorhydrique (HCl_{aqueux}).

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

L'indice de saponification est exprimé par la relation suivante :

$$I_s = \frac{(V_{\text{KOH}} - V_{\text{HCl}}) \times N_{\text{HCl}} \times 56,11}{m} \quad (2)$$

V_{KOH} : volume de potasse KOH mélangé avec une quantité d'huile essentielle (15 mL)

V_{HCl} : volume de HCl en ml nécessaire pour neutraliser l'excès de la potasse utilisé pour la prise d'essai.

m : masse de l'huile essentielle prise en gramme (1g)

N_{HCl} : la normalité de la solution de HCl (0,5 N)

56,11 : masse molaire de KOH

Mode opératoire

On pèse exactement 1g d'huile essentielle dans une fiole de 200ml. On additionne 14ml de solution aqueuse de KOH 0,5 N avec quelques gouttes de phénolphthaléine. On titre le mélange avec une solution d'acide chlorhydrique 0,5N jusqu'à ce que la solution revienne à sa couleur initiale presque jaune. (Notre solution avec quelques gouttes de phénolphthaléine donne une couleur rouge brique). On lit le volume V_{KOH} de la solution de potasse versée au moment du virage.

Le tableau 17 rassemble les indices de saponifications des HE de l'eucalyptus des trois régions. Nous avons effectué qu'un seul essai pour les trois HE.

Tableau 17 : Indices de saponification de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions

région de récolte de l'Eucalyptus	Volume de HCl en mL	Indice de saponification
Oued Cheham	13,3	48,4
El Machroha	13,6	39,9
Guelma	13,2	51,3

Dans notre étude ce qui nous intéresse le plus c'est l'indice d'ester, les valeurs des indices de saponifications que nous avons trouvé vont nous permettre de calculer les indices d'ester des HE de l'eucalyptus des différentes régions.

Chapitre II : Etude comparative des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de l'eucalyptus globulus

II.2.2.3. Détermination de l'indice d'ester

L'indice ester est un indicateur renvoyant directement à la qualité de l'huile essentielle étudiée. En effet, les huiles essentielles de très bonnes qualités renferment une très grande quantité d'esters (et proportionnellement, plus la qualité d'une huile est élevée, et plus elle contiendra d'esters). Le test de l'indice acide est un procédé indirect pour déterminer le taux d'ester contenu dans l'huile essentielle. Durant l'hydrolyse d'un ester (dans l'eau), on observe l'apparition d'acide. L'indice d'ester correspond à la masse de la base de potasse KOH nécessaire pour neutraliser les acides libérés durant l'hydrolyse des esters, et pour déterminer cette masse de potasse consommée durant la réaction, on doit effectuer un dosage en retour (en dosant l'excès de potasse avec de l'acide chlorhydrique pour déterminer la quantité, et donc la masse). Ce que nous avons effectué lors du dosage pour rechercher l'indice de saponification. L'indice d'ester I_e d'une huile essentielle est donc lié à l'indice de saponification I_s et l'indice d'acide I_a et est exprimé par la relation (3) suivante :

$$I_e = I_s - I_a \quad (3)$$

Le tableau 18 rassemble les indices d'ester des HE de l'eucalyptus des trois régions calculés à partir de la relation (3).

Tableau 18 : Indices d'ester de L'HE de l'eucalyptus selon les différentes régions

région de récolte de l'Eucalyptus	Indice d'acide	Indice de saponification	Indice d'ester
Oued Cheham	3,740	48,4	44,66
El Machroha	5,517	39,9	34,38
Guelma	1,870	51,3	49,43

D'après les résultats représentés dans le tableau 18 nous constatons que l'HE essentielle de Guelma possède un indice d'ester le plus élevé, il est donc considéré de meilleur qualité que celui des autres régions. Ceci est déjà confirmé par la valeur de son indice d'acide qui est la plus faible, c'est-à-dire que l'HE de Guelma n'a pas subi une dégradation oxydative avant son analyse. Nous avons programmé de faire une étude de l'évolution de l'indice d'ester à trois températures différentes : 4°C, 25°C et 45°C et au cours du temps en mesurant à chaque semaine l'indice d'ester aux trois températures. Mais ce travail n'a pas été réalisé à cause du confinement.

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

Nous allons faire une comparaison entre les rendements en huile essentielle de clou de girofle par deux méthodes d'extractions différentes, à savoir l'extraction par hydrodistillation et l'extraction par solvant : la macération.

III.1. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

Les boutons du clou de girofle ont été procurés chez un herboriste de la région de Guelma.

Etape 1 : Extraction par hydrodistillation

Mode opératoire:

Dans l'hydrodistillation, on emploie le même protocole expérimental que celui pour l'obtention de l'huile essentielle de l'eucalyptus. 40g de boutons de clou de girofle sont tout d'abord écrasés dans un mortier, avec pilon (ou dans un moulin à café). On fait bouillir dans un ballon de 1L surmonté d'un réfrigérant, un mélange de 400 mL d'eau et de clou de girofle. Le chauffage est effectué à l'aide d'une chauffe ballon (figure 04). Après 3 heures de temps on récupère dans une éprouvette graduée un liquide trouble de couleur blanchâtre, il s'agit d'une émulsion de deux phases de liquides qui par la suite vont se séparer en une phase aqueuse au-dessous de laquelle se trouve l'huile essentielle dont la densité est supérieure à celle de l'eau. La phase aqueuse contient toujours une certaine quantité d'HE, pour la séparer de l'eau on emploie la technique de relargage.



Figure 35 : *Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle par hydrodistillation*

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

Etape 2 : Le relargage

Les huiles essentielles que l'on désire extraire sont des composés organiques en partie solubles dans l'eau. Le relargage consiste à les rendre moins solubles dans l'eau. De cette façon il sera plus aisé de récupérer ces huiles essentielles. Pour ce faire on ajoute une spatule du chlorure de sodium au distillat et nous agitions jusqu'à dissolution complète du sel, puis on place le mélange dans une ampoule à décanter. On agite et on laisse décanter. Cette étape permet ainsi de mieux séparer l'huile essentielle de la phase aqueuse puisque l'huile essentielle est moins soluble dans l'eau salée que dans l'eau.

Etape 3 : Extraction par le dichlorométhane

On choisit le dichlorométhane comme solvant extracteur puisqu'il est non miscible avec l'eau salée et que l'huile essentielle du clou de girofle est très soluble dans le dichlorométhane. Le distillat étant déjà dans l'ampoule à décanter avec l'eau salée, nous rajoutons 15 mL du dichlorométhane. Nous agitions, dégazons et laissons décanter. Toute l'huile essentielle contenue dans la phase aqueuse passe dans la phase organique.

Le mélange précédent se sépare en deux phases non miscibles. Une phase organique, plus dense, se situe dans la partie inférieure et une phase aqueuse, de densité plus faible, car le dichlorométhane est plus dense que l'eau.

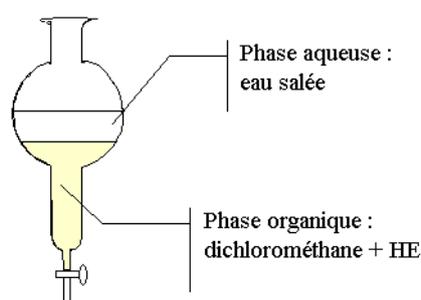


Figure 36 : Séparation des deux phases

On peut s'arrêter ici et récupérer l'huile essentielle à l'aide de l'ampoule à décanter.

Etape 4 : Séchage et filtration :

Afin d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique, on fait agir un déshydratant ce sont des grains de sulfate de magnésium anhydre (poudre) qui vont emprisonner les molécules d'eau. C'est l'opération de séchage. On filtre ensuite pour ne recueillir que la phase organique. On procède ensuite à l'évaporation du dichlorométhane à l'aide d'un évaporateur rotatif et on récupère ainsi à la fin une certaine masse de notre huile essentielle de clou de girofle un liquide transparent.

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

III.2. Extraction de l'huile essentielle par solvant : la macération

La macération est une technique qui consiste à tremper les éléments végétaux dans de l'huile chaude pour provoquer une rupture des membranes cellulaires. Lorsque l'huile a rempli sa fonction d'éclatement, elle est clarifiée et décantée.

Ce procédé est surtout préconisé pour les racines et les graines. La plante est laissée à tremper à température ambiante, en vase clos, dans un endroit sombre et frais. Dans la plupart des cas, Les solvants tels que l'éther de pétrole, le méthanol, l'éthanol ou l'hexane sont utilisés pour extraire l'huile essentielle d'éléments végétaux qui ne supportent pas la chaleur. C'est par exemple le cas de la jacinthe, du jasmin. Extraite par solvant, l'H.E. est très concentrée

III.2.1. Macération à froid

On prend une quantité de clou de girofle broyé macérée dans 100 mL de solvant (cyclohexane) à froid, pendant 24 heures, afin que le solvant retienne les composés chimiques dont on veut extraire.

Une fois le temps écoulé, il suffit de filtrer le mélange à travers un papier filtre, et après évaporation du cyclohexane on récupère une certaine quantité de notre huile essentielle de couleur verte brunâtre, qui contient certainement d'autres composants de clou de girofle.

III.2.2. Macération à reflux

Une macération à reflux de clou de girofle broyé dans le cyclohexane est réalisée pendant 6 heures. On utilise ici un réfrigérant à boule, plutôt qu'un réfrigérant droit, afin d'augmenter la surface de contact avec les vapeurs. La vapeur dégagée est condensée sur les parois froides du bas du réfrigérant ce qui permet de former des gouttes de liquide qui tombent régulièrement du réfrigérant dans le mélange. Après filtration et évaporation du solvant, nous avons obtenu une quantité d'huile de couleur verte brunâtre.

III.3. Calcul du rendement

Les résultats obtenus de la manipulation de l'extraction de l'huile essentielles du clou de girofle par hydrodistillation et macération : conditions de manipulation, les mases, les durés et les rendements sont présentées dans le tableau suivante :

Le rendement en huile essentielle a été calculé à partir de la formule suivante :

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

$$\text{rendement} = \frac{M_{HE}}{M_{CG}} \times 100$$

M_{HE} : masse de l'huile essentielle

M_{CG} : masse du clou de girofle

Tableau 19 : Rendements obtenus d'extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

procédé	Solvant	Qté de solvant (ml)	Qté de clou de girofle (g)	Durée (heures)	Masse d'HE (g)	Rendement (%)
distillation	Eau	200	40	3 h	2.62	6,55
	Eau	400	40	3 h	2,89	7,22
Macération à reflux	Cyclohexane	100	40	6 h	3.70	9.25
Macération à froid	Cyclohexane	100	40	24 h	3.50	8,75

III.4. Discussion des résultats

A travers les résultats obtenus, on remarque que les huiles obtenues par hydrodistillation sont de couleur jaune clair, et de couleur vert brunâtre pour la macération. Cette variation de couleur dépend de la composition chimique des plantes et les principes actifs extraits à partir de chacune des deux méthodes. L'huile obtenue par hydrodistillation est donc plus pure par rapport à l'huile obtenue par macération.

Lors de l'utilisation de grande quantité d'eau (400 mL) pendant le processus de l'hydrodistillation, nous avons remarqué une légère augmentation du rendement (07,22%) par rapport à celle où on utilisait 200 mL d'eau (06,75 %). On remarque que la macération à reflux donne un rendement plus important (09,25%) que la macération à froid (08,75%) pour une même quantité de clou de girofle utilisée. Ceci s'explique qu'il y eu d'autres produits qui sont uniquement soluble à chaude qui ce sont ajouté à ceux qui sont soluble à froid.

Grâce aux résultats de notre expérience que nous avons fait, la méthode la plus adaptée reste celle de l'hydrodistillation car elle est facile à réaliser et elle est peu coûteuse. De plus, l'huile essentielle

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

obtenue est de bonne qualité (plus pure). D'ailleurs, c'est cette méthode qui est la plus utilisée dans les usines pour extraire des huiles essentielles.

III.5. Propriété physico-chimique de l'EH du clou de girofle de l'hydrodistillation

III.5.1. Caractéristiques physiques

III.5.1.1. L'indice de réfraction et la densité

Pour la détermination de l'indice de réfraction et de la densité on suit le même protocole que celui présenté dans la détermination des propriétés physiques de l'HE de l'eucalyptus. Les résultats sont présentés dans le tableau 20.

Tableau 20 : *Indice de réfraction et densité de l'HE de clou de girofle*

		Norme Afnor
Indice de réfraction	1,608	1.528-1,573
Densité	1,093	1,030-1,063

D'après les résultats présentés dans le tableau 20, l'indice de réfraction et de la densité de l'HE du clou de girofle sont proches aux normes. Certainement l'huile essentielle contient des impuretés.

III.5.2. Caractéristiques chimiques

III.5.2.1 Détermination de l'indice d'acide, de l'indice de saponification et de l'indice d'ester

On suit le même protocole que celui présenté dans la détermination des indices de l'HE de l'eucalyptus.

Pour la détermination de ces indices on a appliqué les formules 1,2 et 3 décrite dans le chapitre III.2.

Nous n'avons effectué qu'un seul essai. Les résultats sont présentés dans le tableau 21.

Tableau 21 : *Indice d'acide, indice de saponification et indice d'ester de l'HE du clou de girofle*

		Norme Afnor
Indice d'acide	3,6	<30
Indice de saponification	42,6	
Indice d'ester	39	

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

D'après les résultats présentés dans le tableau 21, l'indice d'acide trouvé est conforme aux normes, puisqu'il est inférieur à 10. En réalité le but de la recherche de ces indices était de faire une étude sur leur évolution au cours du temps et en fonction de la température : 04 °C, 25 °C et 45 °C.

III.6. Discussion des résultats

Quant aux caractéristiques physiques et chimiques de l'HE de clou de girofle nous constatons que les indices de réfraction et la densité sont légèrement proche des normes ce qui indique que notre huile contient des impuretés. L'indice d'acide est conforme aux normes, mais notre objectif n'était pas juste de chercher ces indices d'acide et d'ester, mais plutôt d'étudier l'évolution de ces indices au cours du temps et en fonction de la température. Mais malheureusement nous n'avions pas pu réaliser ceci à cause du confinement.

III.7. Séparation des composants contenus dans l'huile essentielle

Il s'agit de séparer l'eugénol constituant principal de l'HE de clou du girofle en exploitant sa propriété chimique acide et sa propriété de ne pas être soluble dans l'eau. En traitant l'HE avec une base, on va neutraliser l'eugénol et le transformer en ion eugénolate plus soluble dans l'eau. Ce qui va nous permettre de le séparer du reste constituants de l'HE qui sont insoluble dans l'eau en le faisant migrer par transfert de phase dans la phase aqueuse.

III.7.1. Séparation de l'eugénol et del'acétate d'eugényl

Dans une ampoule à décanter on introduit la quantité d'huile essentielle qu'on a extraite. et on lui ajoute de dichlorométhane comme solvant. On ajoute à cette solution organique qui constitue la phase organique, 15 mL d'une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium de concentration 2 mol/L. On agite plusieurs fois, et on laisse décanter et on récupère la phase aqueuse. Cette solution aqueuse est à nouveau mise dans une ampoule à décanter, avec La phase organique restante est lavée encore deux fois par la solution d'hydroxyde de sodium. Les phases aqueuses sont rassemblées dans un béccher propre.

L'eugénol est un phénol qui se transforme en ion eugénolate sous l'action de la solution de soude :

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

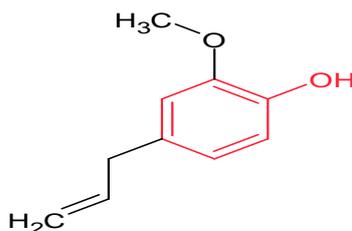


Figure 37 : Eugénol

L'eugénol réagit avec l'ion hydroxyde pour donner l'ion eugénolate, très soluble dans l'eau, donc il ne reste plus d'eugénol dans la phase organique.

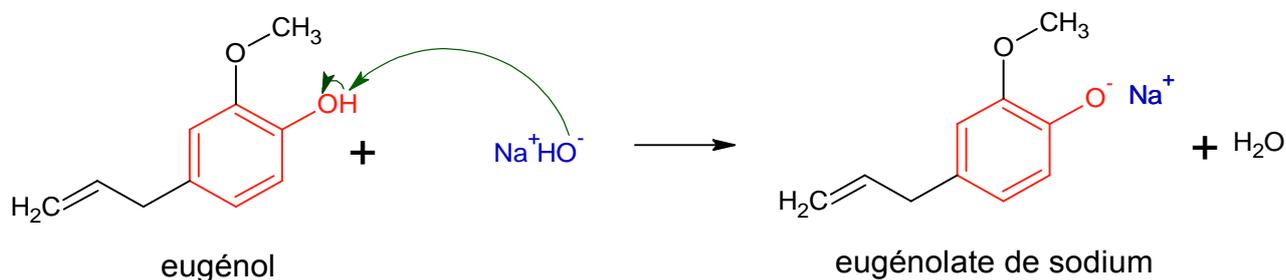


Figure 38 : Mécanisme de formation d'eugénolate de sodium

L'acétyl eugénol ne réagit pas avec l'ion hydroxyde et de plus il est très peu soluble dans l'eau : l'acétate d'eugényl se trouve donc dans la phase organique.

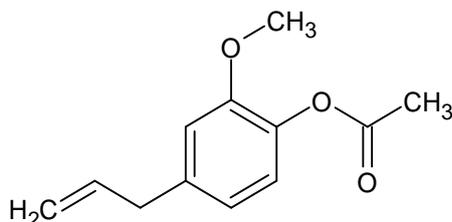


Figure 39 : Acétate d'eugényl

Dans la phase aqueuse recueillie, on introduit une solution concentrée d'acide chlorhydrique 6 mol/L jusqu'à obtenir un pH acide (3-4) en vérifiant avec le papier pH.

L'acide chlorhydrique permet de transformer les ions eugénolate contenus dans la phase aqueuse en eugénol. Il permet également de consommer l'excès d'ions hydroxyde.

On passe de l'ion eugénolate à l'eugénol, espèce majoritaire en milieu acide, par la réaction entre l'ion eugénolate et les ions oxonium apportés par la solution aqueuse d'acide chlorhydrique, selon l'équation suivante :

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

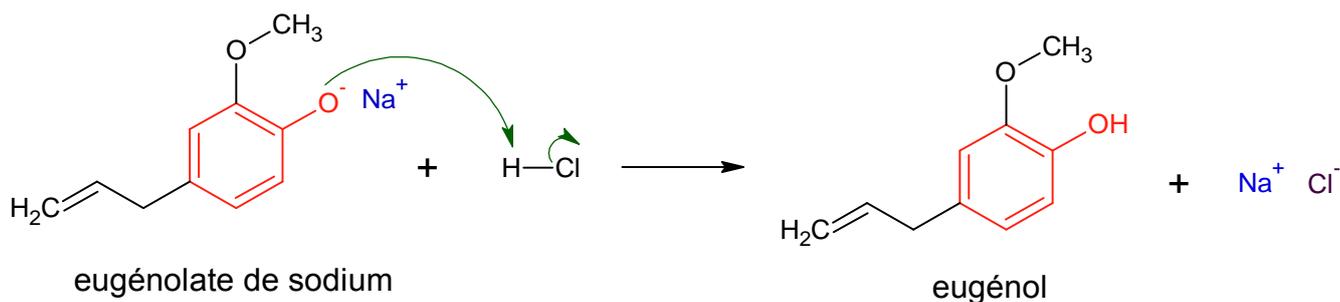


Figure 40 : Mécanisme de régénération de l'eugénol dans un milieu acide

III.7.2. Révélation à la CCM

L'évolution de l'extraction de l'eugénol a été suivie par CCM. Les conditions chromatographiques de révélation sur plaques CCM sont les mêmes que celle qu'on applique avec l'HE d'eucalyptus. Seulement on a changé la nature des solvants d'élution, dans le cas présent on a choisi deux mélanges de solvants :

- Heptane / dichlorométhane dans les proportions : 90 / 10
- Toluène / éthanol dans les proportions : 94 / 6

La CCM montre l'apparition de plusieurs taches, mais les taches les plus significatives bien rondes et bien brunes sont celle de l'eugénol et l'acétate d'eugényle.

Le schéma du chromatogramme est présenté dans la figure 42.

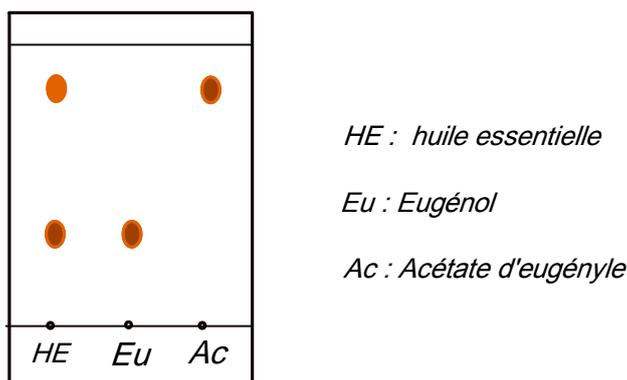


Figure 41 : Schéma du chromatogramme CCM

Les résultats des rapports frontaux R_f sont présentés dans le tableau 22 suivant :

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

Tableau 22 : Rapports frontaux Rf de l'huile essentielle et de l'eugénol

les mélanges des solvants d'éluion	Rapport frontal Rf			
	Heptane 90% + dichlorométhane10%		Toluène 94% + éthanol 6%	
Les substances à analyser.	HE	Eugénol	HE	Eugénol
Eugénol	0,45	0,45	0,65	0,65
Acétate d'eugényle	0,78		0,91	

Le contrôle de la phase organique par la CCM montre la disparition de tout l'eugénol et apparition uniquement de l'acétate d'eugényl insoluble dans l'eau. Le tableau III.16 montre les rapports frontaux de - l'eugénol seul (Rf = **0,45** dans le mélange d'heptane 90% et dichlorométhane10% et Rf = **0,65** dans le mélange de toluène 94% et éthanol 6%)

- l'acétate d'eugényl apparait respectivement avec des Rf =**0,78** et **0,91** dans les éluants cités plus haut.

III.7.3. Calcul du rendement en eugénol

On essaie de calculer le rendement en eugénol contenu dans la masse extraite d'HE de clou de girofle, on doit d'abord calculer le rendement d'eugénol contenu dans la plante de clou de girofle.

Calcul du rendement en eugénol dans le clou de girofle :

Rendement d'eugénol par rapport à la quantité de clou de girofle utilisée :

$$\gamma = \frac{M_{eugénol}}{M_{clou\ de\ girofle}} \times 100$$

On sait que l'eugénol est présent à un taux de 70 à 85 % massique dans l'huile essentielle de clous de girofle. Ce dernier représentant 15 à 20 % de la composition massique du clou de girofle, on peut alors calculer un rendement plus approprié suivant la relation :

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

$$\gamma' = \frac{M_{\text{eugénol}}}{M_{\text{eugenol max. theo.}}} \times 100$$

Qui représente le rendement d'eugénol par rapport à la quantité théorique d'eugénol présent dans le clou de girofle :

- A la quantité de 40g de clou de girofle qu'on a utilisé pendant l'hydrodistillation on a pu isoler une quantité d'eugénol égale à 2,89g (voir tableau 19). Ce qui représente :
- Un rendement de $2,89 \times 100 / 40 = 07.22\%$, par rapport à 40g de clou de girofle utilisée.
- Sachant que la masse maximale théorique d'eugénol présente dans 40g de clou de girofle est :

$$M_{\text{eugenol max. theo}} = 85\% \cdot 20\% \cdot 40\text{g} = 6,8\text{g}$$

Le rendement d'eugénol par rapport à la quantité théorique d'eugénol présent dans le clou de girofle est : $2,89 \times 100 / 6.8 = 42,5\%$.

III.8. Etude de la réaction d'estérification de l'eugénol

L'eugénol est un phénol substitué qui possède le groupe "caractéristique" $-C_6H_4-OH$. Il peut conduire, comme les alcools, à la formation d'un ester en présence d'un acide carboxylique ou un dérivé de celui-ci comme un chlorure d'acide ou un anhydride d'acide. On sait que les phénols sont moins réactifs que les alcools à chaîne aliphatique. La réaction d'estérification des phénols est très lente ; puisque la réactivité de la fonction alcool en tant nucléophile est très faible surtout en présence d'un acide carboxylique. Le but est d'obtenir un ester par une voie plus rapide et totale que la réaction simple d'estérification. Et pour atteindre l'objectif et éviter le problème, on a pensé à rendre le phénol comme réactif nucléophile plus réactif, pour cela on doit le transformer en ions phénolate qui présente une réactivité nucléophile plus importante. On aurait pu utiliser l'acide carboxylique (acide acétique) comme substrat pour synthétiser l'ester mais la réaction aurait été lente et limitée. Et c'est pourquoi on a décidé d'utiliser de l'anhydride acétique pour avoir de meilleurs résultats.

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

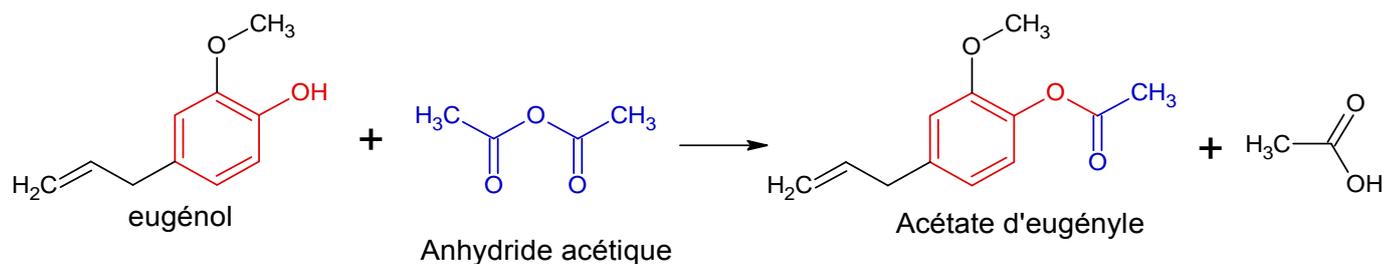


Figure 42 : Réaction d'estérification avec l'eugénol

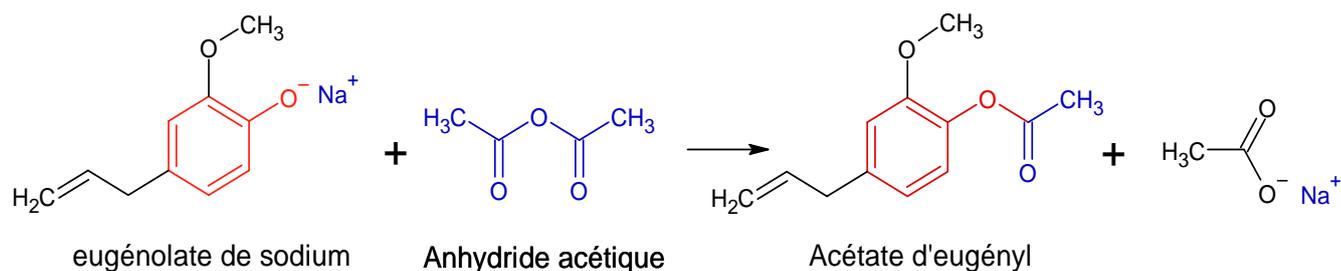


Figure 43 : Réaction d'estérification avec l'eugénolate de sodium : réaction plus rapide

III.8.1. Synthèse de l'acétate d'eugényle

Protocole expérimental

On introduit dans un ballon de 100 mL, 1 g d'eugénol et 0.9 g d'anhydride acétique et quelques grains de pierre ponce, le mélange se trouve sous forme de deux phases liquides non miscibles. On réalise un montage à reflux et on chauffe pendant 30 minutes. On arrête le chauffage et on remarque que le mélange est devenu homogène de couleur jaune brun. Dans le ballon, après le chauffage à reflux, les espèces chimiques présentes sont : l'acétate d'eugényle et l'acide acétique (produits de la réaction), et un peu d'eugénol, bien que réactif en défaut, si la réaction n'est pas terminée. On laisse refroidir après on transvase le mélange dans une ampoule à décanter et on ajoute 20 mL d'une solution de soude NaOH (2M) qui permet de neutraliser l'acide acétique formé et transformé aussi l'eugénol en ion eugénate, donc l'eugénol disparaît et l'on obtient une solution d'eugénate de sodium, très soluble dans l'eau. La phase organique ne contient plus alors que l'acétate d'eugényle. A la fin de synthèse on a obtenue deux phases :

Dans la phase aqueuse, on trouve que les sels solubles : acétate de sodium et eugénate de sodium.

Dans la phase organique, on trouve que l'ester synthétisé : l'acétate d'eugényle.

Chapitre III : Extraction de l'huile essentielle du clou de girofle

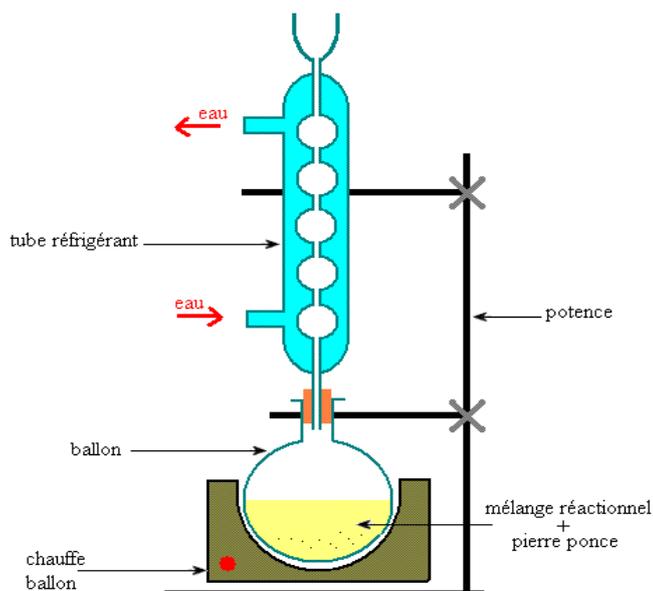


Figure 44 : Montage de la synthèse de l'acétate d'eugényle

III.2. Discussion des résultats

Dans cette partie, notre travail consistait avant tout d'extraire le constituant principal de l'HE de clou de girofle à savoir l'eugénol, de transformer ensuite une partie d'eugénol en acétate d'eugényle par une réaction d'estérification. Mais l'objectif principal c'était de faire une étude comparative des propriétés antioxydantes entre les trois espèces ; l'huile essentielle du clou de girofle, l'eugénol et l'acétate d'eugényle qui sont les constituants principaux de l'HE. Et de faire ensuite une étude sur l'évolution de l'activité antioxydante de l'HE en fonction de la concentration d'eugénol qu'on lui ajoute.

Conclusion

Conclusion

L'utilisation des HE est connue depuis l'antiquité par les anciennes civilisations pour soigner les pathologies courantes. Aujourd'hui, les huiles essentielles représentent l'un des principes actifs les plus importants en raison de leurs multiples et diverses applications grasses au potentiel thérapeutique et de leurs constituants.

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier d'une plante à une autre selon : l'âge, le cycle végétatif de l'organe, le mode d'extraction, les facteurs climatiques et la nature du sol.

Dans notre cas l'extraction par hydro-distillation par rapport à d'autres techniques d'extraction présente la particularité d'être à la fois simple, peu coûteuse et facile à mettre en œuvre. En plus de la pureté, l'étude des rendements en HE a donné des résultats acceptables pour d'extraction par hydrodistillation. Pour la plante d'eucalyptus nous avons remarqué une grande différence des rendements par rapport aux lieux de récoltes dans les trois régions que nous avons choisi.

L'eucalyptus de Guelma donne de meilleur rendement.

D'après les propriétés organoleptiques caractéristiques (odeur, couleur et aspect), on observe que l'odeur est très forte caractérise les huiles étudiés, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limités sur notre essence, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises à savoir ; les caractéristiques physiques: l'indice de réfraction, la densité et les caractéristiques chimiques (indice d'acide, d'ester et de saponification). L'étude a montré certains renseignements sur la pureté de nos huiles essentielles. Une partie des résultats sur les analyses physico-chimiques des huiles essentielles de girofle et d'eucalyptus, sont conformes aux normes. Notre objectif n'était pas juste de chercher ces indices mais plutôt d'étudier l'évolution de ces indices au cours du temps minimum 8 semaines et en fonction de la température, nous avons programmé une étude sur trois températures; la température au réfrigérateur 4°C, la température ambiante 20°C et une température d'été 40°C. Mais malheureusement nous n'avons pas pu réaliser ceci à cause du confinement.

Dans notre travail nous avons transformé une partie d'eugénol en acétate d'eugényl par une réaction d'estérification. Ce travail mérite d'être développé en cherchant des méthodes plus adéquates pour la synthèse d'autres esters d'eugénol, mais l'objectif principal de notre travail sur cette partie c'était de faire une étude sur l'évolution de l'activité antioxydant de l'HE en fonction de la concentration d'eugénol qu'on ajoute à l'HE. L'eugénol qui possède un cycle phénolique peut être considéré comme un polyphénol responsable de l'activité antioxydant de l'HE. Il est donc très

Conclusion

intéressant de voir comment évolue cette activité en jouant sur la concentration d'eugénol qu'on ajoute à l'huile essentielle.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

- [1] : N.Malo, 10^{ième} journées internationales, Digne-les-Bains 5-6-7 Sept. 1991 ; p28.
- [2]: Buchanan B.B., Grisse W., Jones R.L., 2000. - Biochemistry & molecular biology of plants. American society of plant physiologists: Rockville, MA, p 1367.
- [3]: (AFNOR, NF T 75-006 ,1998) Matières premières aromatiques d'origine naturelle – vocabulaire.
- [4]: Lardry J.-M. & Haberkorn V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles (KinesitherReved).
- [5] : Khadija Rhayour ; Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacteriumphlei* et *Mycobacteriumfortuitum* .Thèse du doctorat national, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des sciences DharMehraz -Fès-08 / 07 / 2002.
- [6] : M. Chanseau, S. Bosc, E. Galiay, G. Oules. L'utilisation de l'huile de clou de girofle comme anesthésiques pour les smolts de saumon atlantique (*SalmoSalar L.*) et comparaison de ses effets avec ceux du 2-phnoxyethanol. Bull. Fr. pêche piscic. 2002, 579-589.b) M.C.Raja, V.Srinivasan, S.Selvaraf, S.K.Mahapatra. Eugénol: Aversatrléphytomedicine.Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.2015, 7(1), 35-40.
- [7] : I.F .Stamford, I.A. Tavares, S. Jacobs, F. Capasso, N. Mascolo, G. Autore, V. Romano.The biological activity of eugenol, a major constituent of nutmeg (*Myristicafragnans*): Studies on prostaglandins, the intestine and other tissues. Phytother. Res. 1988, 2, 124–130.
- [8] : Ce document intitulé « Eugénol - Indications, posologie et effets secondaires » issu de sante-médecine (sante médecine. commentcamarche.net) Juin 2014.
- [9] : L. Amanda, S. Dos, O.Ch. Gilberto, A. Kenneth, R. Alan. Crystal structure. Determination for eugenol acetate. J ChemCrystalloger. 2009, p 39, 655-661.
- [10] : Dr Jean-Michel Hurtel : *Eucalyptus niaouli cajeput myrte*. Copyright 2019.
- [11] : Royer M ; Etude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs .Thèse de doctorat, Université de Lorraine 2013.
- [12] : Herms, D.A., Mattson, W.J., 1992. The dilemma of plants: to grow or defend. Q, Rev. Biol. p 67, 283.
- [13] : Hopkins W.G., Physiologie végétale, De Boeck Université, 2e édition, 2003.
- [14] : Roland J.C et F, Atlas de biologie végétale, T2 : Organisation des plantes à fleurs, Dunod, 8e édition, 2001.
- [15] : Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in food – areview. International journal of foodmicrobiology, 94 : 223-253, 2004.
- [16] : Robin Deschepper; variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat, Faculté de pharmacie université de Marseille 2017.

Références Bibliographiques

- [17] : Article : Catégorie Aromathérapie. Les huiles essentielles, leur culture, leur histoire .Auteur : Michel Bontemps.
- [18] : AFNOR, 2000 : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse P 471.
- [19] : Garner J, (1996). Huiles Essentielles. Dossier : K345. Base Documentaire: Constantes physico-chimiques. Vol. Papier N°: K2.
- [20] : Baudoux, D., Zhiri, A. Huiles essentielles chemotypées et leurs synergies .Edition Inspir, 2009.
- [21] : Nathalie Koziol ; Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbacitriodora : qualité, efficacité et toxicité. Thèse de doctorat, Université de Lorraine 2015.
- [22] : Franchomme, P., Jollois, R., PenoeL, D.L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Editions Jollois, 2001.
- [23] : Samate Abdoul D., Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : Valorisation .Thèse de doctorat, Univ.de Ouagadougou, Burkina Faso, 2001.
- [24] : Jean Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, techniques et documentation, 3e édition, 1999 (ISBN 2-7430-0315-4).
- [25] : M. Faucon, A. Lobstein. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Sang de la Terre, 2015.
- [26] : P. Franchomme, R. Jollois, D. Pénéol. L'aromathérapie exactement. Roger Jollois, 2001.
- [27] : D. Baudoux. Aromathérapie : 100 huiles essentielles. Dunod, 2017.
- [28] : Allinger, N.L., Cava, M.P., Dejoule, C.R., Johnson, C.R., Lebel, N.A. et Stevens, C.L., « Chimie organique », Ediscience Mc Graw. Hill, Paris, 1975, p 813.
- [29] : Lorraine Bottin, Déterminants de la variation moléculaire et phénotypique d'une espèce forestière en milieu insulaire : cas de Santalumaustralocaledonicum en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat, Université de Montpellier, 2006.
- [30] : Finar, I.L., « Organicchemistry », Ed. Longman. Scientific et Technical, 1994, Vol. II,p 354.
- [31] : Bruneton, J., « Pharmacognosie », Plantes médicinales, Ed. Lavoisier. Techniques et documentation, Paris, 1999, p 405.
- [32]: Alonso (W.R.), Croteau (R.) - Purification and characterization of the monoterpènecyclaseγ-terpinene synthase from Thymus vulgaris. -Arch. Biochem. Biophys, 1991, p 286, 511-517.
- [33] : P. Lebeau, G. Courtois, Traité de pharm. chim, t. 2, 1929, p. 503.
- [34] : United States Food and Drug Administration, Code of federal regulations, titre 21, vol. 5, 1er avril 2012.
- [35] : Paul, I., La rousse des plantes médicinaux, 2007.

Références Bibliographiques

- [36] : RheinKampfer-Fabr. U.S. Patent: 1838456 (1930).
- [37] : National Key Technologies R&D Program, Progress on preparation and application of p-Menthane-1,8-diolmonohydrate (grant No.2015BAD15B04).
- [38] : John Wiley & Sons, The properties of solvents, vol. 4, Royaume-Uni, (ISBN 0-471-98369-1) 1999, p 239.
- [39] : Office français de prévention du tabagisme, association Loi 1901 reconnue d'intérêt général, 2013.
- [40] : Rajaonarivony (J.I.M.), Gershenzon (J.), Croteau (R.) - Characterization and mechanism of (4S)-limonene synthase, Amonoterpene cyclase from the glandular Trichomes of peppermint (*Mentha X piperita*). - Arch. Biochem. Biophys., 1992, p 296, 49-57.
- [41] : Schütte (H.R.) - Secondary plant substances. Monoterpenes. - Progr. Bot., 1984, p 46, 119-139.
- [42] : Article: Nung Mn Yoon et Herbert C .Brown .-J.AmerChem.Soc., 1968, p 22, 2938.
- [43] : Millot, D.B.J.L.Histoire pharmacologique du camphre .Strasbourg :s.n, 1837.
- [44] : Mayer F, Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : Etude de cas en maison de retraite. Thèse de doctorat en pharmacie, p11, 25, 26,27, Université de lorraine 2012.
- [45] : Staub, Hervé et Bayer, Lily. Traité approfondi de phyto-aromathérapie avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013.
- [46] : Article Caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles ,13 février 2012.
- [47] : AFNOR. Norme NF ISO 1242 - Huiles essentielles -- Détermination de l'indice d'acide 1999.
- [48] : Fernandez X, Chémat F. La chimie des huiles essentielles : tradition et innovation. Edition Vuilbert. Paris; 2012.
- [49] : AFNOR. Norme NF ISO 1241 - Huiles essentielles -- Détermination de l'indice d'ester, avant et après acétylation, et évaluation de la teneur en alcools libres et en alcools totaux. 1996.
- [50] : ISO 280: (Fr) Huiles essentielles — Détermination de l'indice de réfraction 1998.
- [51] : AFNOR. Norme NF ISO 592 - Huiles essentielles -- Détermination du pouvoir rotatoire. 1999.
- [52] : Eric Penot et al. 2014. Le giroflier à Madagascar : une « success story »... à l'avenir incertain, Bois et Forêts des Tropique, p 35.
- [53] : Sophie Barbelet ; Le giroflier : historique, description et utilisations de la plante et de son huile essentielle. Thèse de doctorat, Université de lorraine 2015.
- [54] : Ghedira K., Goetz P. and Le Jeune R. (2010). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. *Phytothérapie*; 8: 37-43.

Références Bibliographiques

- [55] : Kim H.M., Lee E.H., Hong S.H., Song H.J., Shin M.K., Kim S.H. and Shin T.Y. (1998). Effect of *Syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. *J. Ethnopharmacol.*; 60: 125–131.
- [56] : PasseportSanté - Décembre 2017 D'après le travail initial réalisé par : huile du clou girofle Stéphanie Monatte Lassus, aromologue Joëlle Le Guehennec, présidente de l'école française d'aromathérapie (EFAI).
- [57] : Gayda A. (2013). Etude des principales huiles essentielles utilisées en rhumatologie. Thèse d'exercice en Pharmacie, Université Paul Sabatier. Toulouse III.
- [58] : Lebeau P., Courtois G. ; *Traité de pharmacie chimique – Tome II*, Masson et Cie, 1929.
- [59] : a) M. Chanseau, S. Bosc, E. Galiay, G. Oules. L'utilisation de l'huile de Clou de girofle comme anesthésiques pour les Smolts de daumon atlantique (*Salmo Salar L.*) et comparaison de ses effets avec ceux du 2-phnoxyethanol. *Bull. Fr. Pêche Piscic.* 2002, 579-589. b) M.C.Raja, V.Srinivasan, S.Selvaraf, S.K.Mahapatra. Eugénol: Aversatrléphytomedicine. *Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* 2015, 7(1), 35-40.
- [60] : a) L.G. Lee, T. Shibamoto. *Food Chem.* 2001, 74, 443-448. b) R. Mahboub. Structural conformational study of eugenol derivatives using semiempirical method's. *Advances in chemistry.* 2014, 1-5. c) M.R. Charan Raja. Versatile and synergistic potential of eugenol. *Pharmaceutica analytica.* 2015, 6(5).
- [61] : MemmouFaiza ; Synthèse, études cinétiques et évaluation de l'activité de dérivés de l'eugenol. composition de l'huile essentielle extraite du clou de girofle. Thèse de doctorat, Université aboubekrbelkaid de tlemcen 2015.
- [62] : J. C. Chottard, J.C.Depezay, J. P.Leroux – *Chimie fondamentale*, Hermann .1999.
- [63] : Entrée de «Eugénol» dans la base de données de produits chimiques GESTIS de la BGIA (organisme allemand responsable de la sécurité et de la santé au travail) (allemand, anglais), accès le 21 avril 2009 (JavaScript indispensable).
- [64] : Bruneton. J (1999) : *Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales*. Edition Lavoisier Technique & Documentation, Paris.
- [65] : Franchomme P, Jollois R, Pénoël D. (2001). *L'aromathérapie exactement : fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*. Edition : Roger Jollois. p 18.
- [66] : Werner, Monika et Braunschweig, Ruth von. *L'aromathérapie principes, indications, utilisations*. Paris : Vigot, 2008.
- [67] : Koziol N ; Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbiacitriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse de doctorat, université de lorraine 2015.
- [68] : Huile essentielle *Eucalyptus radiata* : toutes ses vertus-Passeport Santé.
<https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/HuilesEssentielles/Fiche.aspx?doc=huile-essentielle-eucalyptus-radiata>.

Références Bibliographiques

- [69] : Huile essentielle d'eucalyptus radié Bio : propriétés et utilisations – MyCosmetik.
<https://www.mycosmetik.fr/huile-essentielle/373-huile-essentielle-eucalyptus-radie-bio.html>.
- [70] : Berthélémy S. (2013). Conseils à un patient se plaignant d'un rhume. Actualités pharmaceutiques, vol. 52, n° 524, p 45-48.
- [71] : Lassus SM, Guehenec J. (2017). Huile essentielle d'eucalyptus radiata. Passe port santé.
- [72] : Staub, Hervé et Bayer, Lily. Traité approfondi de phyto-aromathérapie avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013.
- [73] : Chaumont, Jean-Pierre et Millet-Clerc, Joëlle. Phyto-aromathérapie appliquée à la dermatologie. Paris : Editions Tec & Doc, 2011.
- [74] : Article : Huile essentielle Eucalyptus citronné Bio Lumiflor-Experts huile essentielles. <https://www.expert-huiles-essentielles.com/fr/produit/eucalyptus-citronne-bio.php>.
- [75] : Faucon, Michel. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale%: fondements et aide à la prescription%: monographies, huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris; [S.l.] : Sang de la terre%; Médial, 2012.
- [76] : Piole, Nicolas. L'Intégrale des huiles essentielles le guide complet des huiles naturelles pour la santé et le bien-être. Saint -Victor-d'Epine: City Editions, 2012.
- [77] : Song A., Wang Y., Liu Y. (2009). Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of Eucalyptus globulusLabill from China. Asian Journal of traditional medicines.
- [78] : Tyagi A., Malik A. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globules oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. Food Chemistry 126 (2011) 228–235.
- [79] : Huile essentielle d'eucalyptus globulus : Utilisation et bienfaits – PasseportSanté.
<https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/HuilesEssentielles/Fiche.aspx?doc=huile-essentielle-eucalyptus-globulus>.
- [80] : Ereau Pauline ; l'eucalyptus : botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseille a l'officine .Thèse de doctorat, Université marseille2019.
- [81] : Max Wichtl, Robert Anton : Plantes thérapeutiques (Tradition, pratique, officinale, science et thérapeutique) ; Editeur : Tec et Doc / Em Inter ,2003 (2ème édition).
- [82] : Tesche. S, Metternich. F (2008): The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Arch. Otorhinolaryngo.
- [83] : Morigane, (2007). Grimoire des plantes. Édition Histoire Ebook. P. 71- 115.
- [84] : Paul, Iserin., 2007. La rousse de plantes médicinales: Identification, préparation, soins (Français) relié.
- [85] : H. Wagner S. Blatt E.M. Zgainski, Plant drug analysis, a thin layer chromatography Atlas, page 38.

