

11/02

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE  
DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE



PROJET DE FIN D'ETUDES

THEME

L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES DE ROMARIN  
ET DE THYM. EVALUATION DE LEUR TOXICITE VIS-A-VIS  
D'UN INSECTE DES DENREES CEREALIERES

Proposé par :

Mlle C. BOUTEKEDJIRET  
Mme W. KHALFI

Etudié par :

Mlle S. HAMOUDI

Dirigé par :

Mlle C. BOUTEKEDJIRET  
Mme W. KHALFI

PROMOTION JUIN 2002

*A la mémoire de mon regretté père.  
A ma merveilleuse mère.*

## REMERCIEMENTS



*Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à mademoiselle C. BOUTEKEDJIRET, maître de conférences à l'E.N.P., pour m'avoir confié ce sujet ; mais aussi pour l'aide précieuse, l'intérêt et le suivi réguliers, sans lesquels ce travail n'aurait pas pu aboutir.*

*Je voudrais également exprimer mes plus vifs remerciements et toute ma gratitude à madame W. KHALFI ; chargée de cours à l'I.N.A., qui a suivi avec un grand soin l'ensemble de ce travail.*

*Ma reconnaissance ainsi que mon respect vont également à madame S. CHARCHARI, maître de conférences à l'E.N.P., pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury, ainsi que pour sa disponibilité et son aide précieuse.*

*Tous mes remerciements s'adressent également à madame R. DERRICHE, maître de conférences à l'E.N.P., et monsieur E-H. BENYOUSSEF, maître de conférences à l'E.N.P., pour avoir accepté de faire partie de ce jury.*

*Je ne saurai oublier de remercier monsieur BADJA, professeur à l'U.S.T.H.B., monsieur Biche, enseignant à l'I.N.A., pour leur soutien, ainsi que madame O. CHERIFI, Doyenne de l'institut de chimie à l'U.S.T.H.B. pour sa disponibilité.*

*Je remercie aussi le responsable du laboratoire d'analyse à l'I.N.A. pour son aide précieuse.*

*Je tiens à témoigner de ma profonde reconnaissance à ma « super » maman, pour les sacrifices, la compréhension et le soutien sans failles qu'elle m'apporte depuis toujours.*

*Je remercie mes frères MEHDI et SAMY, mon amie LAMIA ainsi que les familles KHODJA et YOUNB pour le soutien qu'ils m'ont manifesté. Je n'oublierai pas de remercier mes amis Mounib, Malya, Mounir et Yacine pour leur aide précieuse.*

*Enfin, ne pouvant citer toutes celles et ceux qui m'ont été d'un apport petit ou grand, à l'occasion de ce travail, je leur adresse ici, mes remerciements les plus sincères.*

هذه الدراسة تتعلق بإستخلاص الزيوت الأساسية لنبتتي الأكليل و الزعتر ببخارالماء و تحديد مدى سميتها على حشرة مخربة للزرع.  
لوحظ أن المردود المتحصل عليه أثناء الإستخلاص يتماشى مع القيم المعتادة.  
دراسة حركية الإستخلاص بينت أنها تمر بمرحلتين متتاليتين:  
الأولى سريعة (سرعة ثابتة) و الثانية بطيئة (سرعة متناقصة).  
النتائج المتحصل عليها من تجارب سمية الزيوت الأساسية بينت فعالية زيوت الأكليل و الزعتر على ريزوبرتا دومنكا الذي يمثل خطرا كبيرا على الحاصلات الزراعية.  
وبينت التجارب أيضا أن فعالية هذه الزيوت الأساسية تزداد مع زيادة تركيزها.

## ABSTRACT

This work concerns the extraction of the essential oils of rosemary and of thyme by steam distillation and the evaluation of their toxicity on an insect devastator of cereals. The outputs in essential oil are comparable to those quoted in the literature.

The study of the kinetic of extraction has shown that this one happened in two stages: the first is swift with a constant speed, however the second is more slow. The results of the tests of toxicity show that the oils of rosemary and thyme possess insecticide properties on *Rhizopertha dominica*, which is a ravager economically important in Algeria. We notice that the toxicity increases with the dose of used oil.

## RÉSUMÉ

Ce travail porte sur l'extraction des huiles essentielles de romarin et de thym par entraînement à la vapeur d'eau et l'évaluation de leur toxicité sur un ravageur des céréales. Les rendements en huile essentielle sont comparables à ceux cités dans la littérature.

L'étude de la cinétique d'extraction a montré que celle-ci se faisait en deux étapes : une première rapide à vitesse constante et une seconde plus lente à vitesse décroissante.

Les résultats des tests de toxicité montrent que l'huile de romarin et de thym possèdent des propriétés insecticides sur *Rhizopertha dominica*, ravageur économiquement important en Algérie. Nous remarquons que la toxicité augmente avec la dose d'huile utilisée.

Mots clé : Rosmarinus Officinalis L. , Thymus fontanesii , huile essentielle, extraction, entraînement à la vapeur, Rhizopertha dominica, toxicité

# SOMMAIRE



pages

**RESUMES**

**SOMMAIRE**

**INTRODUCTION GENERALE**

1

## **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE I : LES MATIERES VEGETALES : LE THYM ET LE ROMARIN**

I.	THYM	2
	1. Description botanique et utilisations	2
	2. Variabilité du thym	3
II.	ROMARIN	6
	1. Description botanique et utilisations	6
	2. Travaux antérieurs	8
	3. Localisation des dépôts d'huile essentielle de romarin	8

### **CHAPITRE II : LES HUILES ESSENTIELLES**

I.	INTRODUCTION	12
II.	DEFINITION	13
III.	LOCALISATION	13
IV.	RENDEMENT	14
V.	PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES	14
VI.	TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES	15
VII.	PROPRIETES PHYSIQUES	15
VIII.	COMPOSITION CHIMIQUE	16
IX.	LA VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES	17
X.	CARACTERISATION ET NORMALISATION	18
XI.	LES TECHNIQUES D'EXPLOITATION DES PLANTES AROMATIQUES	19

1. Entraînement à la vapeur et Hydrodistillation	19
2. L'expression à froid	19
3. L'enfleurage	20
4. L'extraction par solvants organiques volatils	20
5. L'extraction par dioxyde de carbone liquide ou supercritique	20
6. L'entraînement par solvants	21
XII. UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES	23
XIII. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES	23

### CHAPITRE III : LES RAVAGEURS DE STOCKS

I. INTRODUCTION	24
II. STRUCTURE DE L'ECOSYSTEME DES CEREALES STOCKEES	25
II.1 La céréale	25
II.2 L'environnement	26
III. LES DIVERS AGRESSIONS SUBIES PAR LES STOCKS	26
IV. RHIZOPERTHA DOMINICA	29
IV.1 Description	29
IV.2 Biologie	30
V. MOYENS DE LUTTE	32
V.1 Lutte par des substances chimiques	32
V.2 Lutte par le froid	33
V.3 Lutte par la chaleur	33
V.4 Stockage étanche ou sous atmosphère inerte	33
V.5 La destruction par les ondes électromagnétiques non ionisantes	34
V.6 Lutte par irradiations ionisantes	34
V.7 Autres méthodes	34
VI. LA PHYTOTHERAPIE DANS LA LUTTE CONTRE LES RAVAGEURS DE STOCKS	35
VI.1 L'utilisation des végétaux sous forme de poudre	35
VI.2 L'utilisation des végétaux sous forme d'huiles essentielles	36
VI.3 L'utilisation des végétaux sous forme d'extraits aqueux	37
VI.4 L'utilisation des végétaux sous forme d'extraits organiques	37
VII. CONCLUSION	38

## PARTIE EXPERIMENTALE

### **CHAPITRE IV : EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROMARIN ET DE THYM**

I.	INTRODUCTION	40
II.	MATERIEL ET METHODE	40
III.	RESULTATS ET DISCUSSION	42
	III.1 Rendement en huile essentielle	42
	III.2 Etude de la cinétique d'extraction	42
IV.	CONCLUSION	45

### **CHAPITRE V : PROPRIETES PHYSIQUES ET COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES**

I.	PROPRIETES PHYSIQUES DES HUILES ESSENTIELLES	46
II.	COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	49
	II.1 Définition de la chromatographie en phase gazeuse	49
	II.2 Conditions opératoires	49
	II.3 Identification de l'huile essentielle de romarin et de thym	50

### **CHAPITRE VI : EVALUATION DE LA TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES**

I.	INTRODUCTION	57
II.	DEFINITION DE LA TOXICITE	58
III.	EVALUATION DE LA TOXICITE	58
	III.1 Critère biologique	58
	III.2 Seuil de tolérance	58
	III.3 Relation stimulus - réponse	58
	III.4 Correction de la mortalité	60
	III.5 Calcul de l'efficacité	60
	III.6 Estimation de la <i>DL50</i>	61
	III.7 Les droites de régression	62

IV.	MATERIEL ET METHODE	63
IV.1	Matériel biologique	63
IV.2	Protocole opératoire	63
V.	RESULTATS ET DISCUSSION	64
V.1	Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact	64
V.2	Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par ingestion - contact	66
V.3	Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation	68
VI.	APPRECIATION DE LA PRECISION DE LA METHODE ET DE LA REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES	70
VII.	DETERMINATION DES DL50	71
VII.1	Détermination des <i>DL50</i> pour les tests de toxicité par contact	73
VII.2	Détermination des <i>DL50</i> pour les tests de toxicité par ingestion- contact	74
VII.3	Détermination des <i>DL50</i> pour les tests de toxicité par inhalation	75
VIII.	CONCLUSION	76
	<b>CONCLUSION GENERALE</b>	<b>77</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	<b>78</b>

# INTRODUCTION GENERALE

# INTRODUCTION

## GENERALE



L'utilisation d'insecticides de synthèse pendant plusieurs années a entraîné de nombreux problèmes, entre autres le développement du phénomène de résistance chez les insectes et la présence de résidus de pesticides sur les denrées stockées. Cette situation a suscité depuis quelques années l'orientation de la recherche vers les produits naturels issus de plantes comme une alternative pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées.

De par les huiles essentielles qu'elles renferment, de nombreuses plantes sont reconnues actuellement comme possédant des propriétés insecticides. Leur action toxique par fumigation et par contact de même que leur effet anti-appétant et répulsif ont été à maintes reprises prouvés.

Les propriétés insecticides et anti-appétantes des huiles essentielles sont causées par des produits secondaires que la plante métabolise. Des métabolites secondaires de plantes ont été isolés et purifiés, ce qui constitue une source d'étude fructueuse pour l'avenir.

En vue de minimiser l'utilisation des insecticides de synthèse dans les stocks algériens, nous nous proposons de déterminer l'activité insecticide de l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* . L) et de thym (*Thymus fontanesii*) selon trois modes de pénétration : contact, ingestion - contact et inhalation.

# CHAPITRE I

## **LES MATIERES VEGETALES : LE ROMARIN ET LE THYM**

# I LES MATIERES VEGETALES LE ROMARIN ET LE THYM

## I. LE THYM

### 1. Description botanique et utilisations

Le thym (*Thymus*) est une petite plante aromatique ne dépassant pas 30 cm, à la tige très ramifiée, ligneuse et aux branches duveteuses et grisâtres. Ses feuilles ont des formes variées, linéaire à elliptico-lancéolée ou rhomboïdale, à bord replié et à surface velue.

Ses fleurs, réunies en épis au sommet des branches, ont un calice tubuleux se terminant par 2 lobes, le lobe supérieur étant lui-même divisé en 3 dents et le lobe inférieur en 2 dents allongées, et une corolle également tubuleuse et bilabée dont la lèvre supérieure est entière et la lèvre inférieure découpée en 3 petits lobes. Le fruit est formé de 4 akènes marrons et presque ronds[1].

*Thymus fontanesii* (Figure 1), objet de notre étude, « *zaâteur* » en arabe, est aussi appelé « *thym vrai* », présente un calice à cinq dents toutes longuement subulées, bien plus longues que le tube, à lèvre supérieure divisée dans son tiers supérieur. Les tiges sont dressées et robustes. Ses feuilles sont oblongues et lancéolées entières et glabres rarement hispides. Les Inflorescences sont plus ou moins interrompues vers le bas. Les fleurs du *Thymus fontanesii* sont blanches ou pâles à peine plus longues que le calice. On trouve cette espèce de thym dans les garrigues et pelouses [2].

Le thym est un arbrisseau sauvage originaire de la Méditerranée, il pousse sur les montagnes arides (1500 m), en Algérie, au Maroc, au Sud de la France et dans les provinces de l'Espagne [3].



**Figure 1 :** Le thym : *Thymus fontanesii*

Le nom thym vient du mot grec « thymos » qui veut dire odeur, et à ce titre, le thym est très largement utilisé en qualité de plante aromatique, en particulier dans la cuisine méditerranéenne en tant que condiment [4].

Le thym est renommé pour ses vertus médicinales, il est recommandé en infusion contre les refroidissement de toutes sortes, les rhumes ,les rhumatismes et douleurs articulaires [5].

## 2. Variabilité du thym

La botanique de la plante à partir de laquelle on distille l'huile essentielle est confuse [3]. En Espagne, principal pays producteur de cette essence, il existe tellement d'espèces et de variétés de thym sauvages, que certaines portent des noms assez originaux (tableau I). La même chose est observée au Maroc et autres pays méditerranéens.

Dans le commerce, l'appellation de « l'huile de thym » est occasionnellement appliquée, de façon erronée, à l'huile distillée à partir des plantes appartenant à des espèces autres que *Thymus vulgaris L.* ou *Thymus zygis L.*

Ainsi depuis 1929, certains auteurs ont proposé une classification des huiles de thym en se basant sur la composition de l'huile selon les appellations suivantes :

1. Thyme oil : type thymol : l'huile contient 42 à 60% de phénols , essentiellement : le thymol (phénol cristallisable).
2. Origanum oil : type carvacrol : cette fois les phénols représentent 63 à 74% et le principal constituant est le carvacrol (phénol non cristallisable).
3. Lemon Thym oils : cette huile contient du citral et présente une certaine odeur du citron.

Il y a une similitude entre les essences de *Thymus vulgaris* et de *Thymus zygis*, la seule différence réside dans les taux d'éther méthylique de thymol. Il y a aussi des variations minimales en fonction du stade végétatif et de l'époque de récolte [6].

Les essences produites par *Thymus vulgaris*, *Thymus satureioides*, *Thymus serpyllum* et *Thymus zygis*, présentent une similitude de composition chimique qui rend leur différenciation difficile dans certains cas, puisqu'il n'y a pas de différences qualitatives notables dans la constitution chimique des différents échantillons. Par contre, les variations quantitatives présentent une certaine importance [7].

Matéo (1978), examinant des échantillons de 16 sortes de thym provenant de diverses localités d'Espagne, dénote des différences significatives du point de vue composition qui sont liées à la race chimique et à la distribution géographique et climatique [8].

Ces résultats ont été confirmés par Passet (1979) qui a analysé des échantillons provenant de plus de 200 stations naturelles, réparties dans toute l'aire d'expansion de l'espèce en France et en Espagne, et s'aperçoit que déjà au niveau des seuls caractères organoleptiques, les huiles essentielles sont différentes [9].

Ces variations de composition ont été signalées, au sein d'une même espèce par différents auteurs. En ce qui concerne *Thymus vulgaris* L., Granger et Passet (1973) après une étude d'échantillons prélevés dans 150 stations de France, ont mis en évidence, l'existence de 6 chémotypes : Géraniol, linalol,  $\alpha$ -terpineol , thujanol-4-terpipéol-4, thymol et carvacrol [10].

La fréquence de distribution des chémotypes dans les populations relève de facteurs génétiques et écologiques.

Granger et Passet (1974), poursuivant leur étude des essences provenant d'une même espèce de thym, mais provenant de stations différentes, constatent une variation hautement significative dans la composition de l'huile essentielle en fonction de l'altitude [11]. Cette variabilité de la composition de l'essence de thym a été signalée par Granger (1964) [12a], Karawya et Hifnawy (1974) [12b] et Delitala (1983) [12c], qui ont pu établir des courbes donnant la variabilité de certains constituants de l'huile essentielle de thym au cours de l'année.

**Tableau I :** Quelques espèces de thym d'Algérie, d'Espagne, de France et du Maroc [13].

Espèces	Pays
<i>Thymus aceitunero</i>	Espagne
<i>Thymus afer</i>	Maroc
<i>Thymus algeriensis</i>	Algérie, Maroc
<i>Thymus andaluz</i>	Espagne
<i>Thymus antoninae</i>	Espagne, France
<i>Thymus baeticus</i>	Maroc
<i>Thymus bleicherianus</i> P.	Maroc
<i>Thymus broussonetii</i> B.	Maroc
<i>Thymus capitatus</i>	Algérie
<i>Thymus commutatus</i>	Algérie
<i>Thymus chamaedrys</i>	France
<i>Thymus ciliatus</i> D.	Maroc
<i>Thymus commitatus</i> B.	Maroc
<i>Thymus de las olivias</i>	Espagne
<i>Thymus dreatensis</i>	Algérie
<b><i>Thymus fontanesii</i></b>	<b>Algérie</b>
<i>Thymus gadoreusis</i>	Maroc
<i>Thymus glandulosus</i>	Algérie, Maroc
<i>Thymus guyonni</i>	Algérie
<i>Thymus herba barona</i>	Espagne, France
<i>Thymus herperidium</i>	Maroc
<i>Thymus hiemalis</i>	Espagne
<i>Thymus hirtus</i> W.	Algérie, Maroc
<i>Thymus lancealatus</i>	Algérie, Maroc
<i>Thymus leptobotrys</i> M.	Maroc
<i>Thymus longiflorus</i>	Espagne, France
<i>Thymus loscossi</i>	Espagne
<i>Thymus lusitanicus</i> B.	Maroc
<i>Thymus maroccanus</i> B.	Maroc
<i>Thymus mastichina</i>	Espagne
<i>Thymus menbranaceus</i>	Espagne, France
<i>Thymus munbyanus</i>	Algérie
<i>Thymus negros</i>	Espagne
<i>Thymus nitens lamotte</i>	France
<i>Thymus numidicus</i>	Algérie
<i>Thymus pallidus</i> C.	Maroc
<i>Thymus piperella</i>	Espagne, France
<i>Thymus pseudo-micromeria</i>	Algérie, Maroc
<i>Thymus sanjuanero</i>	Espagne
<i>Thymus satureioides</i> C.	Maroc
<i>Thymus serpyllum</i>	France, Maroc
<i>Thymus tencrioides</i>	Espagne, France
<i>Thymus thymol</i>	Espagne
<i>Thymus vulgaris</i>	Espagne, France
<i>Thymus zygis</i>	Espagne, France, Maroc

## II. LE ROMARIN

### 1. Description botanique et utilisations

Commun à l'état sauvage, le romarin «*Rosmarinus officinalis L.* », (Figure 2) est sans doute l'une des plantes les plus populaires en Algérie où il recouvre plus de 50000 ha du territoire national. Plante aromatique, médicinale et condimentaire, spontanée dans toute la région méditerranéenne, elle est répandue sur la plupart des maquis et des garrigues. Il abonde dans tous les pays sauf en Egypte, au Liban et à Chypre où il est plus rare. Le romarin est un ornement des collines et des coteaux ou des montagnes basses (500 à 1000 m d'altitude) surtout calcaires, argileuses ou argileuses-limoneuses [14-17]. Il accompagne souvent le pin d'Alep, la sauge, le thym, l'aspic et le myrte. Le romarin affectionne les endroits secs et ensoleillés où la pluviométrie est parfois faible et très aléatoire. Il supporte néanmoins les climats extrêmes et résiste aussi bien au gel qu'à la sécheresse [15,16,18].

Le romarin appartient à la deuxième série de la famille des *Labiées* qui en compte six. Cette famille, l'une des plus importantes de la flore d'Algérie, compte plus de 200 genres et 3500 espèces [14,19,20]. La classification complète du genre *Rosmarinus L.* n'a été achevée qu'au début de ce siècle. Trois espèces ont été décrites : *Rosmarinus officinalis L.*, objet de notre étude, *Rosmarinus eriocalyx* et *Rosmarinus tomentosus* [21,22].

L'appellation *Rosmarinus*, qui signifie rosée de la mer, pourrait s'appliquer au parfum de la plante, à la couleur de sa fleur ou même à sa prédilection pour le littoral. *Officinalis* rappelle les propriétés médicinales de la plante [23].

Les anciens vouaient une grande vénération au romarin. On s'en servait généreusement dans toutes les fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. Les mariées portaient des couronnes de romarin tandis que les invités recevaient des branches enjolivées de rubans de soie multicolores.

Les Egyptiens plaçaient des rameaux de romarin dans la tombe des pharaons afin de fortifier leur âme. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes qu'ils portaient lors des examens pour stimuler l'intellect. L'histoire veut que la reine de Hongrie, qui souffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de romarin alors qu'elle était âgée de 72 ans [1].

D'un point de vue morphologique, *Rosmarinus officinalis L.* est un arbuste très odorant et bien ramifié, pouvant atteindre 2 m de hauteur. Ses feuilles sont nombreuses, dures, étroites, linéaires et mesurent jusqu'à 3 cm de long. Elles sont gaufrées, verdâtres au dessus, plus ou moins hispides et blanchâtres en dessous, et présentent une marge révoletée. Ses fleurs, longues de 1 à 3 cm, sont disposées en épis courts et serrés partant de l'aisselle des feuilles. Elles présentent un calice en cloche, bilabié à corolle tubuleuse de 2 cm de long, de couleur blanchâtre ou bleu variable [3,14,17,20].



**Figure 2 :** Le romarin : *Rosmarinus officinalis L.*

On utilise le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour les plaies et sous forme d'onguent ou de baume pour soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux.

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.), mais aussi dans l'industrie alimentaire (desserts, bonbons, etc.) [1].

Depuis très longtemps, le romarin est utilisé à des fins très diverses. Il est cultivé comme plante condimentaire et ornementale. Ses feuilles, à la saveur un peu amère, dégagent une odeur qui rappelle l'encens et le camphre. Il fleurit de septembre à mai, selon les climats, période pendant laquelle les fabricants de miel exploitent ses fleurs, tandis que les parfumeurs préfèrent le cueillir de mai à juillet [24-26].

En cuisine, il est utilisé comme aromate ; sa forte teneur en bornéol lui confère de puissantes propriétés antiseptiques qui font de lui un bactéricide de choix en conserverie. Butiné par les abeilles, il donne au miel sa saveur agréable et forte.

*Rosmarinus officinalis L.* est également employé dans de nombreuses préparations médicinales en raison de ses propriétés aromatiques, stimulantes, antispasmodiques et antiseptiques. Il stimule la fonction du cœur, provoque la transpiration, excite l'appétit et ranime les fonctions de l'estomac.

Le romarin est aussi conseillé pour traiter la dyspepsie, l'ictère, les scrofules, les affections nerveuses hystériques ainsi que les affections de la tête, du cerveau et de la mémoire. En revanche, il est proscrit dans les maladies inflammatoires et son abus entraîne l'hypertension artérielle. Le romarin peut se conserver jusqu'à une année [17-19,27,28].

## 2. Travaux antérieurs

Le romarin, plante aromatique et médicinale méditerranéenne, est connu et utilisé depuis l'Antiquité. Il a été cité par des savants arabes du Moyen Age qui l'utilisaient en médecine classique [29]. Cependant, il y a à peine un demi-siècle, avec l'avènement des méthodes d'analyses, que l'identification des extraits de romarin a commencé. Le romarin a depuis fait l'objet de plusieurs études.

En 1989, Fournier et Coll. [30] montrèrent que le romarin de Tunisie contenait plus de 50% de 1,8-cinéole.

En 1992, Flamini et Cioni [31] étudièrent la variation de la composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* en fonction de la période de cueillette et de la coloration de la fleur. Ils constatèrent que l'huile extraite du romarin à fleurs blanches contenait plus d'hydrocarbures et de 1,8-cinéole que celle du romarin à fleurs bleues et cela au détriment des alcools monoterpéniques et de leurs esters, tandis que les rendements en huile semblaient plus élevés au mois de septembre qu'au mois de mars.

Svoboda et Deans [32] étudièrent les propriétés antioxydantes de l'huile essentielle commerciale de romarin anglais et aboutirent à de bons résultats.

En 1997, Arnold et Coll. [33] publièrent les résultats relatifs à une étude comparative des huiles essentielles de *Rosmarinus eriocalyx* Jordan et Fourr. d'Algérie et de *Rosmarinus officinalis* d'Espagne et d'Italie. Ils constatèrent que les mêmes composés se retrouvaient dans ces huiles mais à des teneurs différentes.

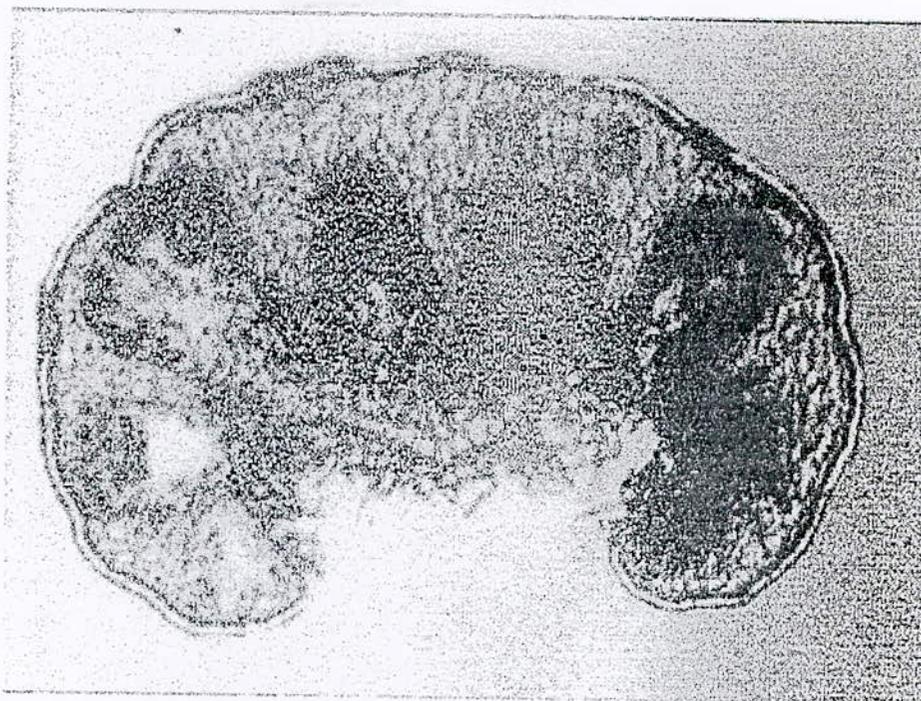
A travers cette revue bibliographique nous constatons que l'huile essentielle de romarin a été très étudiée. Toutefois, les travaux concernant l'huile essentielle de romarin d'Algérie sont rares [33-37].

## 3. Localisation des dépôts d'huile essentielle de romarin

L'huile essentielle de romarin est produite par des poils sécréteurs irrégulièrement ramifiés, abondants à la face inférieure et quelques rares poils unicellulaires courts à la face supérieure des feuilles. Des glandes uni et pluricellulaires sont également signalées à la surface des feuilles et des tiges [38].

Des observations au microscope photonique de coupes transversales des feuilles ont mis en évidence la présence de glandes et poils sécréteurs superficiels (figures 3 et 4). La seule différence réside dans le fait que dans le de la feuille, seule la face inférieure est abondamment recouverte de poils. Par ailleurs, des taches internes de couleur marron clair pouvant éventuellement correspondre à des gouttes d'huile ont été signalées.

D'autre part, des glandes internes ont été mises en évidence par des observations au microscope électronique à balayage des coupes de feuilles (figures 5 et 6) [39].



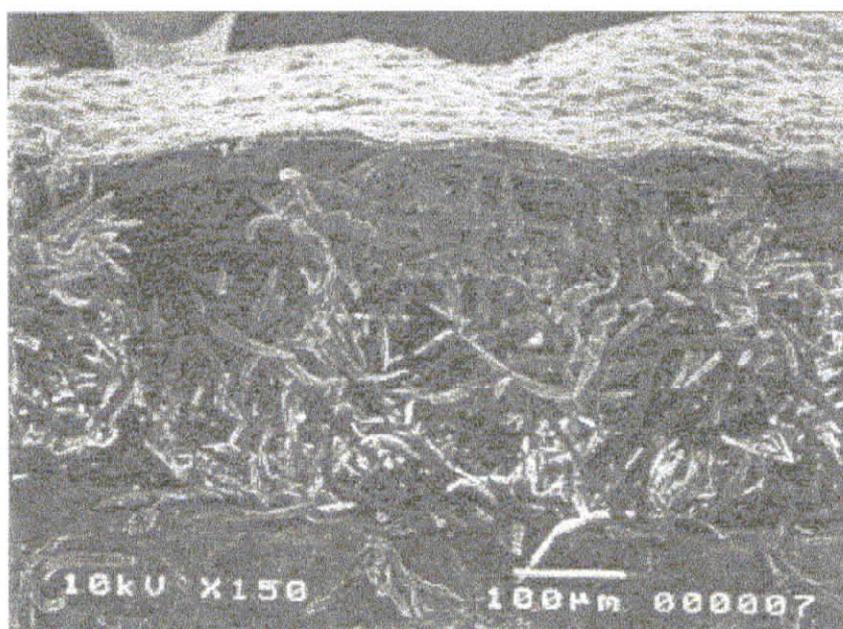
**Figure 3 :** Coupe transversale d'une feuille de romarin observée au microscope photonique  
Gr : 6.3 x 3.2



**Figure 4 :** Coupe transversale d'une feuille de romarin observée au microscope photonique  
Gr : 12.5 x 3.2



**Figure 5:** Coupe transversale d'une feuille de romarin observée au microscope électronique à balayage.



**Figure 6:** coupe longitudinale d'une feuille de romarin observée au microscope électronique à balayage

## **CHAPITRE II**

# **LES HUILES ESSENTIELLES**

# **II**

## **LES HUILES ESSENTIELLES**

### **I. INTRODUCTION**

Depuis la plus haute Antiquité, les parfums et les arômes furent parmi les premiers signes de reconnaissance qui marquèrent la vie des hommes. Ils furent étroitement associés à la vie spirituelle de l'homme (Egypte, Inde), ainsi qu'à l'histoire de la médecine (Grèce, Empire Romain, Empire Arabe). Au début du XVI<sup>ème</sup> siècle, Paracelse, médecin suisse considéré comme le père de la pharmacochimie étudia l'extraction de «l'âme» des végétaux sous forme de «quintessence» (ou cinquième essence) à laquelle on donnera le nom «d'esprit» puis «d'essence» et finalement «d'huile essentielle»[40].

La conséquence de cette omniprésence est la génération d'une activité économique considérable à l'échelle planétaire tant pour les arômes artificiels que naturels. Le chiffre d'affaire à l'échelle mondiale s'élève à 1 milliard de dollars pour les arômes artificiels, chiffre identique pour les huiles essentielles. Quant aux compositions aromatiques (l'art de mise en œuvre des matières premières), elles dégagent un chiffre d'affaire annuel de 3,5 milliards de dollars. L'importance de ce marché, en croissance continue, de l'ordre de 300 millions de dollars par an, n'a pas permis de stabiliser la production, soumise aux aléas de l'offre et de la demande [41].

Le producteur d'huile essentielle n'a en effet actuellement aucune alternative. L'outil dont il dispose, l'hydrodistillateur, ne lui permet d'exploiter qu'une fraction centésimale (en général inférieur à 1%) de la plante ou organe de plante traité.

## II. DEFINITION

Les parfums qu'exhalent certaines plantes et principalement leurs fleurs, sont dus à la présence dans les cellules de molécules volatiles que l'on désigne par le terme « d'essence », sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal [42]. L'huile essentielle est l'extrait naturel obtenu par distillation à la vapeur d'eau de ce même organisme végétal [43]. Elle est donc en fait l'essence distillée. Quand la distillation est parfaite, la constitution de l'huile essentielle se rapproche sensiblement de celle de l'essence. Les composés volatils ont la propriété de se solubiliser dans les huiles et les graisses et par la même ont reçu empiriquement le nom d'huile essentielle. Le terme « huile » soulignant le caractère visqueux et hydrophobe de ces substances, le terme « essentiel » se comprenant comme la caractéristique principale de la plante à travers ses exhalaisons. La dénomination d'huile prête parfois à confusion : ce ne sont pas des corps gras alimentaires.

Selon NAVES, « les huiles essentielles sont des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale. Ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation dans un courant de vapeur d'eau » [44]. Cette définition est restrictive car elle ne tient pas compte des produits obtenus par expression à froid (à la température ordinaire) du péricarpe ou zeste de fruits de Citrus.

La définition selon certaines normes est la suivante : « Les huiles essentielles sont des produits généralement odorants obtenus par expression du péricarpe frais de certains hesperides ». Cette définition est aussi restrictive et n'est pas toujours appliquée à la lettre car elle exclut, d'une part les produits odorants d'origine animale, d'autre part les essences obtenues selon d'autres procédés d'extraction.

Quant à la norme AFNOR [45], elle définit les huiles essentielles comme étant « le produit obtenu 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 ».

## III. LOCALISATION

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal avec des familles à haute teneur en matières odorantes comme les conifères, rutacées, myrtacées, ombellifères, labiacées, géraniacées etc. Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux comme les écorces chez le cannellier, les sommités fleuries chez la lavande ou la menthe, les racines chez le vétiver, les rhizomes chez le gingembre, les fruits chez l'anis ou le fenouil, le bois chez le camphrier... Dans la même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes, la composition des essences pouvant varier d'un organe à l'autre. On obtient par exemple deux huiles essentielles différentes pour la feuille et la fleur du citronnier.

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des lauracées et magnolacées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques. On peut citer par exemple les poils sécréteurs externes des labiacées et géraniacées, les poches sécrétrices shizogènes des myrtacées, les poches sécrétrices schizolysigènes des auranticées ou bien encore les canaux sécréteurs des ombellifères et conifères. Les poils sécréteurs peuvent être externes comme dans un bon nombre de labiacées ou bien internes comme c'est le cas pour les différents eucalyptus (myriacées) [46].

On comprend dans ces conditions qu'il ne puisse pas exister un procédé unique d'obtention des huiles essentielles. Bien au contraire, les moyens les plus divers ont été mis en œuvre pour retirer des végétaux les essences aromatiques avec le rendement le plus élevé, tout en conservant aussi intacts que possible les parfums les plus délicats [47].

L'extraction essences se fait par différentes méthodes. Ce qui introduit cette diversité c'est d'abord la variété des matières premières et c'est ensuite la sensibilité considérable de certains parfums qui oblige à n'employer que des moyens peu violents sans intervention d'agents chimiques trop énergique.

#### **IV. RENDEMENT [46]**

La teneur en huiles essentielles des végétaux est généralement faible de l'ordre de 1%. Il existe toutefois quelques exceptions comme la badiane de Chine dont la teneur en essence est supérieure à 5% ou bien entendu le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence.

#### **V. PROPRIETES THERAPEUTIQUES DES HUILES ESSENTIELLES [48]**

Les huiles essentielles sont connues et utilisées depuis les débuts de l'humanité soit pour leurs parfums, soit pour leurs vertus bienfaisantes, soit enfin pour leurs vertus antiseptiques.

Si chaque huile possède des propriétés spécifiques pour soulager des maux particuliers, toutes ont en commun certaines qualités :

##### **1. Pénétration cutanée**

Les huiles essentielles passent très facilement dans la peau, pénètrent dans les capillaires sanguins et peuvent ainsi agir en profondeur dans tout l'organisme.

## 2. Propriété antiseptique

La plupart des huiles essentielles sont antimicrobiennes, voire antivirales. Ce pouvoir est plus ou moins important selon les plantes et certaines sont plus actives au niveau de certaines régions de l'organisme.

## 3. Propriété équilibrante

L'ensemble de leurs qualités leur confère un pouvoir équilibrant sur les différentes fonctions de l'organisme, sans aucun effet d'accoutumance.

## VI. TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES [18]

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue ; on connaît par contre beaucoup mieux le risque de toxicité aiguë lié à une ingestion massive, en particulier la neurotoxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, sauge officinale, tanaïs) ou à pinocamphone (hysope). Ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation.

Cette toxicité non négligeable conduit à adopter une attitude prudente face aux pratiques telles que l'aromathérapie lorsqu'elles utilisent des huiles essentielles pures et à fortes doses, par voie orale et à fortiori en mélange.

## VII. PROPRIETES PHYSIQUES [46]

Les huiles essentielles forment un groupe homogène quant à leurs propriétés physiques que nous résumerons en sept points :

- Etat liquide en général à température ambiante.
- Leur volatilité les oppose aux «huiles fixes»(lipides). Elle est liée à leur caractère odorant.
- Elles sont incolores à jaune pâle à quelques exceptions telle que l'huile essentielle de camomille romaine (*Anthemis nobilis*) dont la couleur bleue clair est due à la présence de chamazulène.
- Densité inférieure à l'unité, exception faite des huiles essentielles de cannelle, girofle et sassafras.
- Indice de réfraction et pouvoir rotatoire généralement élevés puisque composées principalement de molécules asymétriques.

- Peu polaires donc peu soluble dans l'eau, mais solubles dans les alcools à titre élevé, contrairement aux lipides, ainsi que dans les huiles et la plupart des solvants organiques.
- Sensibles à l'oxydation, elles ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

### VIII. COMPOSITION CHIMIQUE [46]

Au sein d'une huile essentielle, on trouve les molécules les plus diverses, de sorte qu'il est bien difficile d'établir une classification basée sur une fonction chimique, d'autant plus que les essences en renferment un grand nombre, en proportions variables, suivant leur origine. Ces molécules sont généralement :

- Des hydrocarbures : à l'intérieur de ce groupe on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques et sesquiterpéniques comme le limonène, pinène, phellandrène, camphène, caryophyllène, humulène, etc. Quelques fois des hydrocarbures saturés comme l'heptane (*Pinus Sabiniana*) ou la paraffine (camomille, arnica).
- Des alcools, des éthers-oxydes : comme le bornéol, le garanil, (rose et géranium), le linalol (thym, lavande), le citronellol, le menthol (menthe) ou encore le cinéole-1, 8 (éther-oxyde provenant principalement de l'eucalyptus et encore appelé eucalyptol).
- Des phénols : comme le thymol (thym), le carvacrol (serpolet), l'eugénol (girofle) et l'anéthole (badiane, anis, fenouil).
- Des aldéhydes : comme l'aldéhyde cuminique (cumin), l'aldéhyde cinnamique (cannelle), l'aldéhyde anisique (anis), le citronnellal ou encore le citral (mélisse, citron).
- Des cétones : comme la thuyone (absinthe, thuya, sauge), la carvone (carvi), la menthone (menthe) ou encore le camphre (romarin, sauge, lavandin).
- Des esters : comme l'acétate de linalyle (bergamote, lavande) ou l'acétate de géranyle (neroli).
- Des aldéhydes-phénols : comme l'aldéhyde salicylique (reine des prés) ou l'aldéhyde protocatéchique.
- Des acides : comme l'acide benzoïque, l'acide cinnamique.
- Des lactones : comme l'ambrettolide (ambrette), la ligustilide (livèche).
- Des composés sulfurés : comme l'isosulfocynate.

La photosynthèse est à l'origine de la formation des huiles essentielles au sein des plantes et arbres odorants, par deux voies métaboliques dites secondaires.

La première est celle des composés terpéniques : monoterpéniques (C<sub>10</sub>), sesquiterpéniques (C<sub>15</sub>), diterpéniques (C<sub>20</sub>), triterpéniques (C<sub>30</sub>) et tetraterpéniques (C<sub>40</sub>), tous formés à partir d'un multiple pair ou impair d'unités isopréniques. Ils ont tous la même origine biogénique : l'isopentyl pyrophosphate, de structure hémiterpénique qui est le précurseur commun de ces molécules, bien que n'existant pas à l'état libre dans le végétal. Les huiles essentielles contiennent surtout des monoterpènes, quelques sesquiterpènes et plus rarement des diterpènes ; ces terpènes sont prépondérants. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils sont formés dans cet ordre chronologique dans le végétal et sont, selon leur degré d'oxydation, fonctionnalisés par des groupes hydroxyles, époxydes, aldéhydes ou carbonyles.

Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants de type «phénylpropanoïde» qui empruntent une voie biosynthétique dite de l'acide shikimique conduisant essentiellement à la synthèse de la lignine. Quelques déviations biomoléculaires sont responsables de la biosynthèse de molécules très connues par leur qualité odorante et antiseptique comme :

- L'acide et l'aldéhyde cinnamique (huile essentielle de cannelle).
- L'eugénol (huile essentielle de girofle).
- L'anéthol et l'aldéhyde anisique (huile essentielle d'anis badiane et fenouil).
- Le saffrole (huile essentielle de sassafras).

Outre les dérivés terpéniques et les dérivés de phénylpropane, il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines huiles essentielles : acides organiques, cétones de faible poids moléculaire, coumarines volatiles, flavonoïde...

## IX. LA VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition, sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres qu'ils soient d'ordre naturel, soit d'origine intrinsèque (génétique, localisation, maturité), soit d'origine extrinsèque (sol, climat...) ou d'ordre technologique c'est-à-dire liés au mode d'exploitation du matériel végétal.

La composition d'une huile essentielle varie au sein d'un même genre (Eucalyptus à dominance citral, cinéole ou menthol), mais aussi d'une même espèce. On parle alors de races chimiques ou chemotypes. Il s'agit en effet d'un polymorphisme chimique : une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire plusieurs variantes d'huile essentielle. Exemple : le thym possède sept chemotypes : thym à geraniol, linalol,  $\alpha$ -terpinéol, carvacrol, thymol, transthuyanol, myrcénol [49].

La variabilité de la composition peut aussi provenir de l'organe considéré. Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles du cannelier de Ceylan produisent trois huiles essentielles différentes.

D'autre part, au cours du cycle végétal, des modifications importantes dans la composition des essences peuvent être révélées. Par exemple, en début de sa maturation, le carvi comporte une forte proportion de terpènes dont le taux diminue peu à peu alors que la quantité de carvone augmente.

Les caractéristiques écologiques ont un effet déterminant sur la composition des huiles essentielles : facteurs géographiques (altitude, latitude...), nature du sol, climat (ensoleillement, température, pluviométrie...) sont autant de paramètres responsables de variations [50]. Ainsi la menthe poivrée, en période de journées brèves, donne une essence dont le menthol et son acétate sont substitués par le menthofuranne. Certains agents exogènes peuvent aussi intervenir. Par exemple lorsque la menthe poivrée est parasitée par *Eriophyes menthae* (acarien), sa teneur en menthofuranne chute.

Enfin une huile essentielle peut subir de profondes modifications lors de son exploitation [50] : récolte, séchage et stockage du matériel végétal, hydrodistillation, conditionnement. De nouvelles molécules odorantes peuvent apparaître lors d'un séchage violent. Des modifications d'origine enzymatiques peuvent subvenir lors du stockage. Toutefois les perturbations les plus importantes se manifestent lors de l'hydrodistillation, en particulier sous l'effet de la température et de la durée d'extraction. La chaleur entraîne des phénomènes d'hydrolyses sur les essences fragiles telles la rose et le jasmin. Le temps de distillation reste cependant le facteur déterminant, dans la mesure où la cinétique d'extraction de chacun des composants varie selon sa structure et ses propriétés physico-chimiques. La formation d'artefacts est aussi une cause de modification chimique, mais celle-ci est parfois recherchée car typique de l'essence. Ainsi, c'est au cours de l'hydrodistillation de la matricaire ou de la camomille que les pro-chamazulénogènes se transforment en azulène, colorant le produit final en bleu.

## X. CARACTERISATION ET NORMALISATION

Les très nombreux facteurs susceptibles de modifier les essences natives de la plante ont induit un besoin de normalisation. Les normes AFNOR sont au nombre de douze.

Elles concernent principalement [45] :

- Les propriétés organoleptiques : couleur, aspect, odeur,
- Les caractéristiques physiques : densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, point de congélation, solubilité dans l'éthanol.
- Les caractéristiques chimiques : indices d'acide et d'ester.

- Le profil chromatographique ou aromagramme et la quantification relative des différents constituants.

## **XI. LES TECHNIQUES D'EXPLOITATION DES PLANTES AROMATIQUES**

Cinq techniques d'extraction des principes végétaux sont à ce jour connues [51]. Toutefois les normes liées à leur utilisation industrielle limitent en général le choix du procédé. La localisation histologique des composés aromatiques dans le végétal peut aussi orienter le choix technologique.

### **1. Entraînement à la vapeur et Hydrodistillation**

Depuis toujours l'extraction des huiles essentielles contenant la majeure partie des arômes d'une plante est pratiquée selon une technologie inchangée à ce jour dans son principe. Le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau est basé sur le fait que la plupart des composés odorants volatils contenus dans les végétaux sont susceptibles d'être entraînés par des aérosols de vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Ils ne sont donc ni retenus par et dans les biopolymères de la plante, ni solubilisés dans l'eau. Pour ce faire, la plante ou organe de la plante est placé dans un alambic, traversé par un courant de vapeur d'eau. Les principes volatils, peu solubles dans l'eau, sont entraînés et après condensation, séparés du distillat par décantation.

L'hydrodistillation, variante de cette méthode, consiste à placer le matériel végétal directement dans l'eau, portée ensuite à ébullition. Cette technique [52] est réservée habituellement au dosage des huiles essentielles en laboratoire. Ce terme par abus de langage, est aujourd'hui généralement employé pour qualifier ce qui est en fait un entraînement à la vapeur d'eau.

Plusieurs appareillages industriels sont aujourd'hui proposés. Ils correspondent parfois à l'exploitation d'un brevet stipulant des améliorations technologiques : alimentation de l'alambic, séparation des condensats...

### **2. L'expression à froid**

Ce procédé concerne uniquement les huiles essentielles d'agrumes (hesperidés) tels que citron, orange douce et amère, mandarine, bergamote et limette. En effet, les huiles essentielles facilement peroxydables, ne supportent pas une préparation à chaud et sont altérables par la vapeur d'eau. Elles sont donc extraites du péricarpe frais des agrumes par différents modes d'expression [53]. Dans l'industrie, on procède par scarifications

mécaniques et entraînement par un courant d'eau. L'essence est ensuite séparée par décantation.

### **3. L'enfleurage**

Cette technique est réservée aux organes végétaux particulièrement fragiles que sont les fleurs. En raison du prix prohibitif de cette matière première, et de l'importante main d'œuvre que cette technique requiert, celle-ci n'est quasiment plus pratiquée. Elle consiste à mettre les pétales en contact avec un corps gras sur des châssis superposés à température ambiante. Au bout de quelques jours, le saindoux ou l'oxonge, généralement utilisés, sont saturés en essence végétale. On renouvelle ensuite les fleurs 10 à 15 fois jusqu'à l'obtention d'une pommade de plus en plus parfumée. La pommade ainsi obtenue est épuisée par l'alcool absolu dans lequel les corps gras sont peu solubles. Les composés volatils extraits par la fraction éthanolique sont isolés par simple évaporation de l'alcool [51].

### **4. L'extraction par solvants organiques volatils**

Les huiles essentielles ont la propriété d'être solubles dans la plupart des solvants organiques, particulièrement les carbures aliphatiques (pentane, hexane) ou aromatique (benzène). On opère à température ambiante, ce qui ne provoque aucune modification ou altération dans les structures moléculaires composant la partie aromatique extraite. Ceci explique son utilisation très courante et son développement dans l'industrie actuelle des parfums.

Le produit obtenu, après évaporation du solvant, est appelé «concrète». Ce terme résulte de la tendance du produit à se solidifier en raison de la présence de matières grasses entraînées par le solvant organique. Le traitement à froid de la concrète par de l'alcool absolu permet ensuite de séparer les graisses et d'obtenir après évaporation de l'éthanol, la phase dite «absolue» qui contient la majeure partie des composés odorants [54,55].

### **5. L'extraction par dioxyde de carbone liquide ou supercritique**

Il s'agit d'un procédé qui utilise le dioxyde de carbone sous deux états, liquide ou supercritique. Cette technique est basée sur le fait que certains gaz, notamment le dioxyde de carbone, dans des conditions de pression dites critiques ou supercritiques, présentent un pouvoir de dissolution accru vis-à-vis de divers huiles essentielles, les arômes, les colorants naturels, les graisses, etc.[56-60].

Le diagramme de phases pression/température du dioxyde de carbone traduit l'état d'équilibre des 3 phases au points triple. Au-delà du point critique (31,4°C, 73bars), le dioxyde de carbone ne peut plus être liquéfié : il est dit état supercritique. Sa densité est alors voisine des liquides et ses qualités dissolvantes sont plus ou moins sélectives selon la température, la

sont à écarter de l'aromathérapie. De même leur présence sur une liste de produits destinés à l'aromathérapie peut la rendre suspecte et inciter à une certaine prudence [61].

Dans le tableau II, sont résumés les principaux symptômes d'intoxication relatifs à certains solvants.

**Tableau II :** Principaux symptômes d'intoxication relatifs aux solvants usuels [61].

Solvants	Indication chronique	Intoxication aiguë
<b>Du propane à l'hexane</b>	Altération de l'état général, anémie, irritation des muqueuses superficielles, troubles sensitifs et moteurs.	Intoxication du système nerveux central, agitation, incohérence du langage, tremblements, convulsions, accélération du pouls et volter de la face suivies de narcose avec cyanose des lèvres.
<b>Benzène, toluène</b>	Anémie, éosinophilie constante, action élective sur le système nerveux central et périphérique, manifestations pathologiques respiratoires, cardiaques, du foie, de la rate, hémorragies des muqueuses, dégénérescence graisseuse, avitaminose C.	Lésions des organes hématopoïétiques, vertiges, céphalées, nausées puis mouvements convulsifs, paralysie et perte de connaissance. Une atmosphère à 7,5 % présente un danger mortel en 30 mn, à 20 % elle entraîne la mort en quelques minutes.
<b>Méthanol</b>	Irritation des muqueuses, céphalées, manifestations pathologiques au niveau du foie et de la rate, action élective sur le système nerveux central et périphérique.	Lésions du système nerveux, narcose, séquelles oculaires (cécité).
<b>Alcool éthylique</b>	Céphalées, manifestations pathologiques au niveau du foie et de la rate, action élective sur le système nerveux central et périphérique	Vertige, ébriété, nausées, syncopes
<b>Acétone</b>	Vertiges, syncopes.	Irritation des muqueuses, narcose. Certains individus ont une idiosyncrasie accusée pour ce solvant.

Il est bien évident que la composition aromatique diffère selon le procédé d'extraction utilisé. D'après les normes en vigueur, l'hydrodistillation et l'expression à froid conduisent à des huiles essentielles, l'extraction par solvant à une concrète ou une absolue, l'extraction par gaz à l'état critique à une composition aromatique à laquelle la normalisation n'a pas encore attribuée d'appellation précise.

## **XII. UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES [18]**

L'industrie du parfum est le débouché principal des huiles essentielles, des concrètes, des absolues et autres résinoïdes. La cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène sont également des consommateurs, même si le coût souvent élevé des produits naturels conduit à privilégier les produits synthétiques.

Certaines huiles essentielles sont aussi utilisées dans l'industrie pharmaceutique, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, et plus généralement pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à être administrées par voie orale. Les huiles essentielles constituent également le support d'une thérapie particulière : l'aromathérapie.

Les huiles essentielles trouvent également des applications dans diverses industries telles que les industries agro-alimentaires (tous les secteurs alimentaires sont consommateurs : boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, soupes, sauces, snacks, boulangerie sans oublier la nutrition animale), et les industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles) comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes etc. Les isolats sont également utilisés en parfumerie.

## **XIII. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES [18]**

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation difficile ; de ce fait, les possibilités de dégradation sont nombreuses. Il est possible de limiter celles-ci en utilisant des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockés à basse température ou conservés sous atmosphère d'azote. Il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants.

## CHAPITRE III

# LES RAVAGEURS DE STOCKS

# III

## LES RAVAGEURS DE STOCKS

### I. INTRODUCTION

Depuis que les grains sont stockés par l'homme, le problème de leur conservation est posé. Elle consiste à mettre hors d'atteinte des intempéries, des déprédateurs et des parasites, des masses de grains plus ou moins importantes, pour des durées variables. Le grain stocké constitue un biotope créé artificiellement par l'homme dont l'équilibre instable peut être détruit par l'action de tout agent physique ou biologique.

Ces modifications qui conduisent à la détérioration des grains sont nombreuses et se produisent irrégulièrement. L'écologie du stockage est l'étude des interactions entre ces divers organismes biologiques et leur milieu.

Les produits entreposés hébergent de nombreuses espèces d'insectes. Parmi elles, seules quelques-unes abîment directement le produit.

Un produit peut abriter, outre les ravageurs primaires, toute une colonie d'insectes dont des insectes nécrophages, prédateurs et parasites. Chaque espèce fera preuve d'un comportement, de tolérances et de préférences différents face à :

- La denrée
- L'humidité et la température
- L'état du produit (intact, abîmé, usiné, etc.).

## II. STRUCTURE DE L'ECOSYSTEME DES CEREALES STOCKEES [62]

### II.1. La céréale

Les grains sont des organismes vivants, ils constituent une forme naturelle de préservation de la vie et ils se trouvent à l'état de vie très ralentie ; néanmoins ils respirent et sont toujours prêts à accélérer leur rythme vital. Les manifestations vitales essentielles sont les phénomènes d'oxydation en aérobiose, de fermentation en anaérobiose et de germination en milieu très humide.

Une microflore importante et caractéristique accompagne normalement le grain ; elle appartient à de très nombreux genres de bactéries, de moisissures, de levures et même d'actinomycètes.

Certaines propriétés physiques des grains sont importantes pour la conservation, en particulier celles qui ont trait aux équilibres hydrique et thermique. Les grains constituent une masse granulaire avec un volume d'air interstitiel très important, environ 40% du volume total apparent ; cette masse d'air interstitiel tend à se mettre en équilibre de température et de pression gazeuse avec les grains (équilibre d'adsorption de vapeur d'eau et de gaz carbonique).

La conductibilité thermique des grains est très faible ce qui entraîne une accumulation rapide des calories produites par les phénomènes vitaux.

La nécessité technologique de préserver pendant le stockage certaines propriétés nécessaires aux transformations ultérieures (activité amylasique, intégrité des protéines) doit rester présente à l'esprit.

La céréale stockée évolue en cours de stockage, cette évolution est liée à son conditionnement et à son état sanitaire . Le conditionnement protège la céréale contre les agressions, il est une barrière physique qui permet de maintenir des critères physiques favorables de conservation. Toute discontinuité favorise la création d'une zone propice à l'attraction et à l'évolution des ravageurs animaux.

L'état sanitaire évolue sous l'action des facteurs physiques ou biologiques, il doit être en permanence connu pour assurer le contrôle de toute dérive physico-chimique.

L'appréciation objective de l'état sanitaire d'un lot de grains nécessite que l'on détermine les caractéristiques physiques des grains (teneur en eau, température, impuretés, grains cassés), l'état biochimique et le niveau d'infestation par les prédateurs et les micro-organismes.

## II.2. L'environnement

Il concerne les facteurs ambiants comme le climat et les facteurs liés aux structures d'accueil de la céréale : la manutention et le stockage en cellules ou en greniers.

- a) Le climat : les variations climatiques se répercutent dans le temps et dans l'espace aux diverse strates des stocks de céréales. Les variations s'amplifient en chaîne, entraînent des accidents d'échauffement. La respiration des grains augmente, il se produit un dégagement de chaleur et de gaz carbonique qui perturbent l'équilibre entre la teneur en eau des grains et l'humidité relative (une augmentation de 5°C de température du grain ou de 1% de sa teneur en eau diminue de moitié la durée de conservation probable).
- b) La manutention : les opérations de manutention du lieu de production à celui du stockage multiplient les risques d'agression. Les batteuses peuvent contaminer les grains sains dès la récolte. Les mélanges de lots de différentes provenances accroissent les risques de propagation des attaques d'insectes et d'acariens.
- c) Le stockage : les structures de stockage influencent l'état sanitaire des céréales : l'évolution économique récente de ce secteur est caractérisée par une industrialisation de plus en plus poussée et par une augmentation de la capacité des cellules.

Indépendamment de la nature de la céréale, de sa qualité et de son utilisation ultérieure, les structures de stockage varient. Le risque est lié aux choix du stockeur en matière de cellules mais aussi à la mobilité du stock depuis la récolte jusqu'à sa commercialisation. Certaines opérations mécaniques de manutention permettent d'intervenir efficacement sur l'évolution des altérations dues aux micro-organismes et aux acariens (ventilation, nettoyage).

## III. LES DIVERSES AGRESSIONS SUBIES PAR LES STOCKS [62]

Elles se répartissent en quatre groupes principaux (figure 7) :

- Les agressions d'origine biologique sont dues à des être vivants (rongeurs, oiseaux, insectes, acariens et micro-organismes).

Les animaux prédateurs et micro-organismes sont une cause d'altération très grave par la consommation qu'ils font des denrées, par souillures diverses, contaminations (germes pathogènes) dont ils sont les vecteurs privilégiés, ou par libération de substances nouvelles dans les grains (enzymes, toxines), d'eau et de chaleur résultat normal de leur métabolisme et dont l'accumulation accélère les processus d'altération.

Même lorsque leur activité est très réduite, la seule présence de quelques animaux parasites ou de micro-organismes constitue un risque potentiel très grave, car placés dans des conditions de milieu favorable, leur croissance peut être extrêmement rapide.

- Les agressions d'origine enzymatique sont dues à des hydrolases qui vont tendre à dégrader les réserves biochimiques du grain.
- Les agressions d'origine biochimique et chimique sont très variées : dénaturation des protéines, dégradation de la structure de l'amidon, destruction des amidons.
- Les agressions d'origine mécanique sont dues à des chocs entraînant des fissures ou des brisures.

En général, pour un endroit, une denrée et une méthode d'entreposage déterminés, seules quelques espèces s'avèrent des ravageurs importants.

Il importe d'identifier les principales espèces de ravageurs afin de :

- juger si les insectes présents sont susceptibles de causer des dégâts sérieux et s'ils méritent d'être combattus;
- choisir une technique de lutte appropriée, nombre de traitements ayant une action sélective.

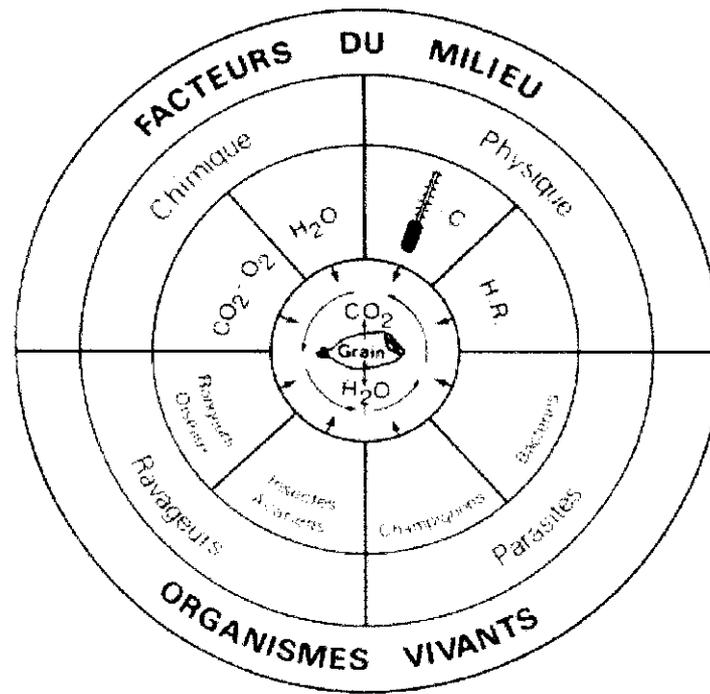
On peut renforcer de façon non négligeable l'efficacité des mesures de lutte avec un minimum de connaissances sur la biologie des espèces nuisibles. Par exemple, quelle est l'origine probable de l'infestation? Le ravageur a-t-il une phase de résistance? Est-il suffisamment mobile pour provoquer ailleurs une autre infestation? Quelles sont ses tolérances?

La majorité des ravageurs agissant sur les produits entreposés sont de petite taille et difficilement identifiables par des non spécialistes.

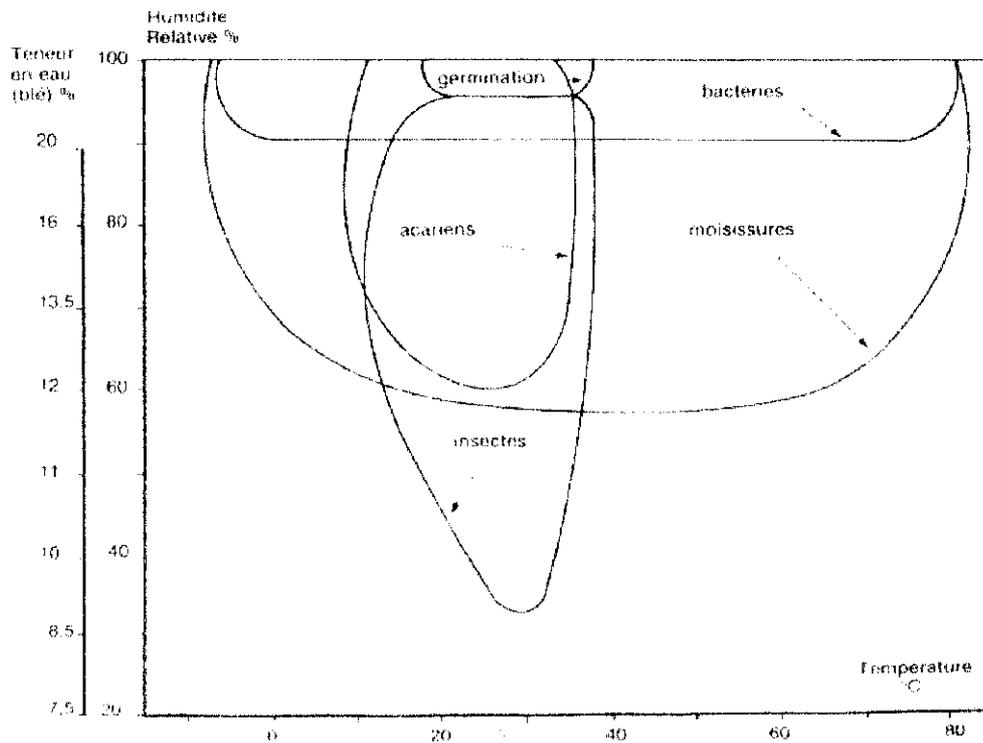
Il est plus facile pour les personnes qui travaillent sur le terrain d'identifier les insectes si elles peuvent se reporter à des collections de référence des principaux ravageurs présents dans leur région.

Il convient donc de récolter des spécimens des ravageurs les plus courants et de les envoyer pour identification à un spécialiste. Les larves, chenilles et nymphes doivent être conservées dans de l'alcool éthylique à 70%. Les insectes adultes doivent être envoyés tels quels. Les spécimens doivent être accompagnés d'une étiquette mentionnant la date et le lieu où ils ont été trouvés, et le produit attaqué.

La figure 8 représente les limites physiques pour la multiplication des agents biologiques dans un stock de céréale.



**Figure 7 :** Ecosystème du grain stocké



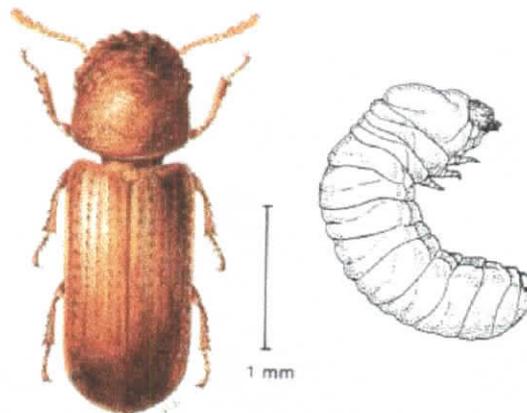
**Figure 8 :** Limites physiques pour la multiplication des agents biologiques dans un stock de céréales.

#### IV. RHIZOPERTHA DOMINICA [62]

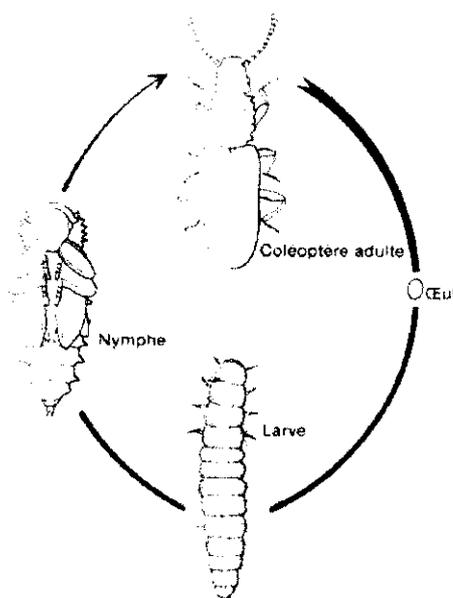
Le *Rhizopertha Dominica* est un coléoptère de la famille des Bostrychides, appelé plus communément **capucin des grains** ou **Petit perceur des céréales**.

##### IV.1 Description

- 1) Imagos (insecte adulte) : de couleur brune, de forme cylindrique avec des côtés nettement parallèles. *R.dominica* mesure entre 2,2 et 3,0 mm de longueur. Vue de haut sa tête demeure entièrement cachée par le prothorax qui l'encapuchonne et dont la surface dorsale, très bombée, s'orne de petites dents analogues à celles d'une râpe. Ce caractère est commun à tous les Bostrychides lesquels, dans leur immense majorité, sont des insectes xylophages et, par là, se trouvent conduit à forer le bois.
- 2) Œufs : les œufs, piriformes, atteignent environ 0,6mm de longueur sur 0,2mm la largeur.
- 3) Larves : munies de pattes, les larves, vermiformes et rectilignes après leur éclosion, rappellent de minuscules vers blancs de Hanneton (larves scarabéiformes) avec leurs corps arqués, un prothorax aux dimensions dépassant celles des autres segments, et l'extrémité de leur abdomen plus ou moins renflée. Elles sont, dès lors, incapables de se mouvoir. Au total, les larves subissent de 2 à 5 mues (3 en moyenne), les larves du stade I ayant une taille à peine supérieure de celle de l'œuf, les larve du dernier stade mesurant un peu plus ou un peu moins de 3,0 mm.



**Figure 9 :** *Rhizopertha dominica*



**Figure 10 :** Cycle évolutif d'un Coléoptère

#### IV.2 Biologie

*R. dominica*, dont l'Inde serait la patrie, est aujourd'hui une espèce cosmopolite, mais qui prolifère essentiellement dans les régions tropicales. Si l'espèce attaque les grains de nombreuses céréales, blé ou orge aussi bien que mil et sorgho (La première observation en ce domaine remonte à 1802), elle évolue également, sous les climats chauds, aux dépens de multiples produits d'origine végétale comme les racines de manioc ou les tubercules de patates douces .

Les adultes sont les principaux responsables de la destruction du germe et de l'albumen des grains, dont ils ne respectent, et encore partiellement, que le tégument. Ils se livrent à un véritable gaspillage car les imagos des capucins ne s'alimentent que d'une fraction de l'amande qu'ils ont réduite en farine et, de la portion consommée, une importante quantité inassimilée va encore être rejetée avec les fèces. Ils s'ensuit que leurs dégâts, si l'attaque a été sévère, sont très facilement reconnaissables : des grains de blé il ne subsiste, au dessus d'une couche de farine , de rognures et d'excréments, que des péricarpes transformés en dentelle qui s'envolent au moindre souffle.

Durant la période de ponte, les femelles, qui volent très aisément déposent, en moyenne, de 300 à 400 œufs. Les larves, moins mobiles, ne peuvent pénétrer dans le grain intact. Selon les observations de quelques entomologistes, les larves venant d'éclore se montreraient néanmoins capables de s'introduire dans du grain de maïs au voisinage du germe.

Quoi qu'il en soit, les larves du second stade et les suivantes, exploitent essentiellement les reliefs laissés par les adultes dans le grain, ou hors de ce dernier.

Le capucin résiste plus à la sécheresse que d'autres coléoptères puisqu'il s'avère capable de se reproduire dans des grains de blé contenant seulement 8,5% d'eau pour les uns, 9% pour d'autres, quand la température dépasse 34°C. Il est aussi beaucoup plus adapté à la chaleur. A une humidité relative de 70%, correspondant à une teneur en eau du grain de 13,5%, la température permettant l'accroissement optimal d'une population de *Rhizopertha* est de 34°C, son effectif double en une semaine. Pour cette même valeur de l'humidité relative ; l'effectif de la population survit péniblement à 21-22°C ou à 38°C, températures au dessous ou au dessus desquelles l'évolution de l'insecte sera impossible, que le degré hygrométrique s'élève ou s'abaisse. Dans les conditions optimales, en 28 jours, une population de *R. dominica* sera multipliée par 20. Dans le tableau III sont résumées les principales caractéristiques de *Rhizopertha dominica*.

**Tableau III :** Caractéristiques de *Rhizopertha dominica*

Adultes	Taille : 2-3mm. Couleur : brune Corps étroit et cylindrique Tête cachée sous le prothorax muni de rugosité
Larves	Vermiformes et pourvues de pattes, plus ou moins arqués et présentant l'aspect d'un minuscule ver blanc de Hanneton.
Dégâts	Surtout commis par les adultes qui réduisent en poudre le contenu du grain (germe et amande) avec les aspérités du thorax et leurs mandibules, mais ils ne consomment qu'une fraction de cette farine dont s'alimentent les larves.
Longévité	Notable, même à température élevée (32,3°C ; 70% H.R.) ; moyenne : 4mois ; maximum : 8 mois.
Ponte	Nombre d'œufs déposées par les femelles. Moyenne 250 ; maximum : 600.
Durée du cycle évolutif le plus court	25 jours à 34°C (H.R. 70% ; teneur en eau du grain : 14%)
Exigences hydriques	Entre 26°C et 36°C, peut se développer dans le grain ne contenant que 9% d'eau (H.R. 30%)
Fourchette des températures permettant le développement	21-22°C (H.R. comprise entre 40% et 70% ; teneur en eau du grain comprise entre 10% et 14%) -38,2°C (mêmes limites de teneur en eau que précédemment)

**Remarque :** H.R. : humidité relative.

## V. MOYENS DE LUTTE

Il existe différentes méthodes de désinsectisation, en utilisant les insecticides chimiques ou alors en utilisant d'autres méthodes qualifiées de « non polluantes », celles-ci font surtout partie du registre de la lutte physique et de la lutte biologique.

### V.1 Lutte par des substances chimiques [62]

Il existe une douzaine de substances chimiques actuellement utilisées pour traiter les céréales stockées. A l'exception de quelques fumigants, ces substances ne peuvent être employées directement. Pour des raisons tenant à la commodité d'emploi mais aussi à la toxicité, elles sont normalement associées à des adjuvants divers pour former des formulations commercialisables telles que liquides émulsionnables, poudres mouillables, poudres à poudrages, comprimés, etc. Il existe deux grands groupes de composés insecticides :

#### V.1.1 Substances à tension de vapeur relativement faible

Ceux pour lesquels la tendance à mettre des vapeurs est limitée et qui, sur le plan pratique, doivent nécessairement être dispersés par des moyens artificiels, sur le matériel à protéger.

Ces substances appartiennent à deux groupes chimiques bien différents :

- ◆ Des produits d'origine végétale ou produits apparentés comprenant les pyréthrine naturelles et la bioresméthrine.
- ◆ Des esters phosphoriques comprenant le chlorpyrifos méthyl, le dichlorvos, l'iodofenphos, le malathion et le pyrimiphos méthyl.

#### V.1.2 Substances à tension de vapeur élevée ou fumigants

Ceux pour lesquels la tendance à se vaporiser est au contraire très élevée et qui agissent par l'intermédiaire des seules vapeurs se répartissant d'elles-mêmes autour du matériel à désinsectiser.

Ces substances constituent un groupe restreint et peu homogène sur le plan de leur nature chimique, mais dont la caractéristique commune, dans le domaine de la désinsectisation des céréales stockées, est de n'être utilisées que pour les vapeurs qu'elles sont capables d'émettre. Pour être efficace et ne présenter simultanément pour l'homme qu'un minimum de danger, ces produits doivent être employés dans des conditions particulières. Si l'on fait abstraction de quelques produits industriels anciens comme le trichloréthylène, qui ne semble plus guère utilisé comme fumigant, la liste des composés de ce groupe applicables au grain, se résume alors au

bromure de méthyle, à la phosphine (phosphure d'hydrogène) et au tétrachlorure de carbone employé seul ou en association avec le dichloréthane.

## V.2 Lutte par le froid [62]

Le développement des insectes est temporairement arrêté au-dessous de 10°C et celui des acariens au-dessous de 8°C. Cette particularité biologique peut être utilisée comme mesure préventive pour obtenir une stabilisation prolongée des stocks de céréales. En abaissant la température du grain après la récolte entre 4 et 8°C et en la maintenant, les insectes ne peuvent se développer. L'inertie des céréales met à l'abri l'utilisateur de cette technique d'une remontée brutale de température à la suite d'un arrêt du système. Pendant la période hivernale, la protection peut devenir passive lorsque la température extérieure est assez froide. L'installation onéreuse, nécessite des cellules bien isolées et un puissant circuit de ventilation associé au générateur d'air frais. Mais la protection assurée est particulièrement sûre et évite tout traitement insecticide.

## V.3 Lutte par la chaleur [62]

Le séchage des céréales peut constituer, en cours de stockage un moyen de destruction efficace des insectes et surtout des acariens. Mais ce procédé ne peut être mis en œuvre sur un stock en place ou sur des semences déjà sèches. La température doit être maintenue à 60°C dans les grains pendant 10 minutes pour détruire les insectes à l'intérieur des grains.

## V.4 Stockage étanche ou sous atmosphère inerte [62]

Pendant le stockage à long terme, le confinement des céréales en cellule étanche, les met à l'abri des infestations venant de l'extérieur. La respiration des grains en début de conservation, fait s'élever dans l'enceinte la teneur en gaz carbonique provoquant la mort des insectes par privation d'oxygène et la stabilisation de l'état sanitaire. Ce procédé peut présenter des risques si la céréale n'a pas une bonne aptitude au stockage : certaines réactions physico-chimiques ou une activité microbiologique risquent de faire évoluer le lot jusqu'à la détérioration.

Un procédé plus rapide et plus sûr consiste à chasser l'air de la cellule par un gaz inerte, comme le gaz carbonique ou l'azote, et de maintenir ensuite une pression légèrement supérieure à la pression atmosphérique, avec une teneur en oxygène inférieure à 0,5%. Cette méthode semble préférable à la première mais elle ne peut être réalisée que dans des installations adéquates, en parfait état et surveillées en permanence.

### **V.5 La destruction par les ondes électromagnétiques non ionisantes [62]**

L'utilisation de rayonnement du type micro-ondes ou haute fréquences est susceptible d'assurer une bonne désinsectisation avec en plus, dans le meilleur des cas, un complément de séchage. L'attrait du procédé est lié à la nature du rayonnement qui présente des qualités appréciables : il est pénétrant, sans danger pour l'homme dans des installations adaptées ; il ne laisse pas de résidus sur le produit traité qui ne fait que s'échauffer légèrement. La destruction totale des formes cachées peut être obtenue après des irradiations de courte durée, ce qu'aucune matière active chimique (en dehors des fumigants) ne permet encore d'obtenir instantanément. La rapidité d'action est remarquable mais ne permet pas une protection durable des grains.

Le rayonnement se dégrade en chaleur lorsqu'il traverse des matériaux isolants comme les grains de blé. La libération de chaleur est d'autant plus forte que le milieu traversé est hydraté. Or les insectes sont beaucoup plus riches en eau que les grains et ils meurent rapidement du fait de l'élévation de leur température interne, sans que la céréale chauffe énormément.

Ce procédé est néanmoins onéreux et consommateur d'énergie. Il nécessite l'installation de fours tunnels d'application dans la chaîne de manutention, ce qui le réserve à des produits dérivés ou à des semences.

### **V.6 Lutte par irradiations ionisantes [62]**

Pour empêcher la reproduction des insectes parasites des grains, il est possible de les traiter avec une bombe au cobalt de forte puissance, par exemple à la dose de 25000 rad. Après un essor au cours de la dernière décennie, les applications des rayonnements nucléaires sont réduites à des stérilisations d'insectes de la nature (technique des lâchés inondatifs de mâles stériles actifs) ou à des inhibiteurs de germination (pomme de terre).

Les dangers présentés par le rayonnement gamma et le coût des sources et des protections, nécessitent des infrastructures disproportionnées avec les avantages de traitement.

### **V.7 Autres méthodes [62]**

Chez les insectes l'odorat est le sens prédominant. Il permet de découvrir le stock, la nourriture appropriée et même le conjoint.

Des copies d'hormones externes (phéromones et odeurs) obtenues par synthèse peuvent trouver une application dans la protection des denrées. Ces procédés font appel au brouillage des communications à longue distance, qui provoque un dérèglement des fonctions vitales et du comportement des insectes (confusion).

On fonde aussi des espoirs dans la découverte de substances répulsives ou « anti-appétit » qui maintiendraient les déprédateurs éloignés des lieux d'entreposage des céréales.

Des copies d'hormones internes (analogues de l'hormone juvénile) obtenues par voie chimique peuvent empêcher les formes juvéniles d'insectes de se transformer en adultes et causer des troubles du développement. Ces substances actives existent, mais le faible pouvoir de pénétration dans la masse des grains des produits actuellement étudiés ne permet pas encore une bonne efficacité pratique.

La lutte biologique à l'aide de parasites ou prédateurs, insectes eux-mêmes, n'est pas envisageable dans les stocks de céréales car la présence de l'insecte (nuisible ou utile) peut pénaliser le lot.

## **VI. LA PHYTOTHERAPIE DANS LA LUTTE CONTRE LES RAVAGEURS DE STOCKS**

Depuis que l'homme a découvert l'agriculture, il a pensé à protéger ses produits contre les déprédateurs. Bien que le travail manuel occupait une place prédominante à cette époque, l'utilisation des végétaux comme moyen de protection était déjà connue.

En 1862, Delafond constatait au microscope qu'une goutte d'huile essentielle de lavande, de citron, de fleur d'oranger, de cannelle, de moutarde, ou de thym tuait le sarcopte de la galle [63].

Pour minimiser les méfaits des pesticides, l'homme s'est orienté depuis quelques années vers l'utilisation de méthodes de lutte non polluantes entre autres les végétaux. Ces derniers ont une double action insecticide ; d'une part l'action toxique vis à vis des ravageurs et d'autre part l'inhibition de la reproduction des insectes traités.

Plusieurs travaux ont été menés par Raman (1987) pour déterminer l'effet protecteur des feuilles de certaines plantes telle que l'eucalyptus [64].

Les végétaux à propriétés insecticides sont utilisés sous plusieurs formes :

### **VI.1 L'utilisation des végétaux sous forme de poudre**

Beaucoup de plantes aromatiques et officinales sont testées sous forme de poudre pour lutter contre les ravageurs des denrées stockées.

Selon Modgil (1998), la poudre de feuilles de menthe protège le blé stocké dans les différentes structures pendant six mois alors que les feuilles d'eucalyptus pendant cinq mois [65].

## VI.2 L'utilisation des végétaux sous forme d'huiles essentielles

Gakuru (1995), rapporte que les huiles essentielles d'eucalyptus et de basilic sont très efficaces contre un insecte ravageurs des céréales [66].

D'après Obeng (1997), le 1,8-cinéole (composant majoritaire de certaines huiles essentielles) se révèle toxique sur *Sitophilus granarius* (insecte) [67].

Les effets de quelques huiles essentielles sont répertoriés dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Principales huiles essentielle utilisées dans la protection des denrées stockées [68]

Méthodes	Effets	Remarques
Huile d'arachide (5 ml/kg)	Effets toxiques sur les embryons, à l'intérieur des œufs de bruches. L'action persiste jusqu'à six mois.	Méthode simple. L'huile d'arachide ne rancit pas rapidement. Pas d'incidence sur la capacité de germination.
Huile de noix de coco (5 à 10 ml/kg)	Similaires à ceux de l'huile d'arachide.	
Huile de palme (5 à 10 ml/kg)	Similaires à ceux de l'huile d'arachide.	Du à sa couleur rouge profond, l'huile de palme modifie l'aspect de la marchandise.
Huile de sésame (5 ml/kg)	Similaires à ceux de l'huile d'arachide.	Similaire à ceux de l'huile d'arachide.
Huile de noyaux de neem (2 à 3 ml/kg)	Huile de neem agit comme les autres huiles végétales.	Huile de neem a un goût amer et devient rance en cours de stockage. Recommandé pour les semences.
Beurre de karité fondu et appliqué à raison de 5 ml/kg sur les céréales et les légumineuses à grains.	Agit comme les huiles végétales, en particulier sur le coléoptères. Les effets persistent pendant 4 mois.	Résidus de la production du beurre de karité peut être également utilisé dans le même but.

### VI.3 L'utilisation des végétaux sous formes d'extraits aqueux

Selon Regnault et Hamraoui (1997), la plus efficace des plantes est la labiate (*Lamiaceae*) utilisée en solution dans l'eau. Ces auteurs rapportent que plusieurs molécules (monoterpènes et polyphénols) synthétisées par la plante sont impliquées dans cette toxicité [69].

D'autres exemples de plantes utilisées en solution aqueuses sont donnés dans le tableau V.

**Tableau V :** Principaux extraits aqueux utilisés dans la protection des denrées stockées [68].

Méthodes	Effets	Remarques
Aspersions de la marchandise par l'extrait de pyréthre.	Action insecticide et répulsive initiale, efficace sur la totalité des ravageurs de stocks.	Impact initial élevé mais faible persistance.
Extrait de neem (25 à 50 g/l d'eau) aspersion du grain dans une proportion de 0,5 à 5 %.	Insecticide et répulsif, inhibition du développement, agit principalement jusqu'à une durée d'un an sur les coléoptères nuisibles des produits stockés.	Les extraits de neem sont plus concentrés que la formulation en poudre.
Aspersions de la marchandise aux extraits de poivron.	Effets insecticide et répulsif sur de nombreux ravageurs. Les effets persistent durant trois mois.	Utilisés sur légumineuses à grains et sur le riz. Modifient la saveur.
Aspersions de la marchandise au moyen d'un extrait à 2,5 % de racines d'annona.	Effets insecticide et répulsif qui durent pendant 3 à 4 mois, sur les bruches ainsi que sur les ravageurs du sorgho et du millet.	

### VI.4 L'utilisation des végétaux sous formes d'extraits organiques

Actuellement, les extraits organiques sont utilisés dans les stocks pour lutter contre les déprédateurs.

Selon Pascual et Robledo (1998), parmi un groupe de 50 espèces de plantes testées, trois extraits obtenus en utilisant des solvants organiques d'une polarité croissante, ont provoqué l'inhibition de la croissance de *Tribolium castaneum* (insecte). Cette inhibition était significative quand les extraits étaient incorporés à la denrée à 0,05 % [70].

Les propriétés insecticides des plantes peuvent donc être considérées comme une alternative ou une méthode complémentaire des insecticides classiques pour combattre les déprédateurs.

## VII. CONCLUSION

La protection des céréales stockées contre les attaques d'insectes et acariens soulève des problèmes variés et elle doit faire appel à un ensemble de techniques différentes qu'il est nécessaire d'appliquer à bon escient. L'intégration de ces mesures dans un plan de lutte pour une bonne conduite du stockage devrait constituer un des soucis majeurs de l'organisme stockeur pour une bonne valorisation finale des céréales.

Cette lutte raisonnée se justifie pour plusieurs raisons :

- Il ne s'agit pas d'appliquer sans discernement sur les céréales qui vont finalement être consommées par les hommes ou les animaux une méthode donnée pour obtenir un résultat ; il faut tenir compte de l'utilisation et de sa transformation finale en aliment.
- Chez les insectes des denrées stockées, la notion de stade sensible et de stade résistant est secondaire car tous les stades de développement d'une ou plusieurs espèces peuvent infester les grains et être présents à la fois ; il faut donc mettre en œuvre une lutte polyvalente.

Quelle est la politique idéale de protection contre les attaques d'insectes et d'acariens ?

1. Le point le plus important est d'assurer une lutte préventive constante pour éliminer tous les foyers possibles d'infestation :

Une infestation, aussi faible soit-elle, est déjà un constat d'échec et plus le taux de contamination est important, plus il est difficile de lutter. Mieux vaut prévenir que de traiter à grands frais. Il faut envisager la prévention de deux manières :

- Eviter que l'insecte ne rencontre le stock, par l'application de toutes les méthodes de lutte préventive : nettoyage des locaux, des conteneurs, traitements chimiques des lieux de stockage et des matériels de manutention pendant qu'ils sont vides ou à l'arrêt.
  - Utiliser des méthodes simples de dépistage des infestations pour savoir détecter les stocks infestés ou juger les stocks sains, et éviter ainsi le traitement systématique des grains.
2. Les mesures préventives étant généralement insuffisantes, il faut par ailleurs respecter un plan d'intervention en fonction de la destination des lots de grains selon quelques principes simples :
- La protection chimique est toujours intéressante à condition de l'employer correctement et de ne pas en abuser. Il y a lieu cependant de contrôler la teneur en résidus qui doit être inférieure aux valeurs limites fixées par les législations nationales.

- L'utilisation constante des mêmes substances insecticides peut provoquer l'apparition de races résistantes .
- Le traitement curatif total nécessite l'équipement de tout ou partie du silo pour la fumigation et doit être prévu lors des constructions nouvelles.

**PARTIE**  
**EXPERIMENTALE**

## CHAPITRE IV

# EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROMARIN ET DE THYM

# **IV** **EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROMARIN ET DE THYM**

## **I. INTRODUCTION**

L'une des techniques d'exploitation des plantes aromatiques est l'entraînement à la vapeur d'eau. C'est le procédé classique et généralement utilisé pour la récupération des huiles essentielles.

Notre choix s'est porté sur ce procédé d'une part en raison de sa mise en œuvre facile et d'autre part, du fait que les huiles essentielles reconnues par les normes commerciales sont généralement extraites par ce procédé.

L'un des objectifs de cette étude est d'extraire les huiles essentielles de romarin et de thym, de déterminer leurs compositions chimiques et d'étudier la cinétique de leur extraction par ce procédé.

## **II. MATERIEL ET METHODE**

Pour extraire les huiles essentielles de romarin et de thym par entraînement à la vapeur, un appareillage à l'échelle laboratoire a été utilisé.

Le dispositif expérimental schématisé par la figure 11 comprend :

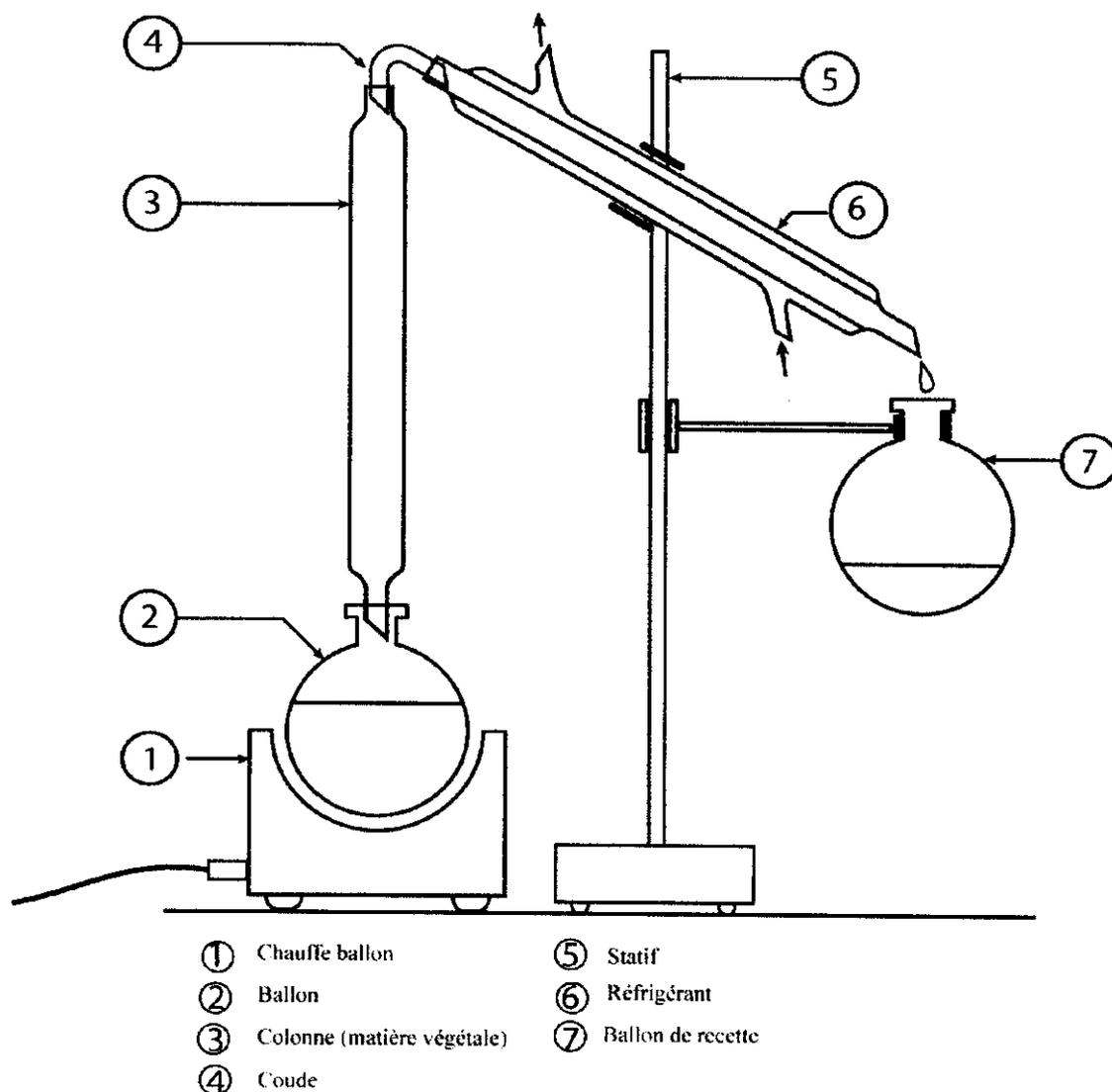
Un ballon d'une capacité de 2 litres,

Un chauffe- ballon de 2 litres.

Une colonne en verre

Un réfrigérant

Un ballon de recette.



**Figure 11 :** Dispositif de l'extraction de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau.

Le romarin utilisé pour les essais d'extraction provient de l'Institut National d'Agronomie (INA), il a été cueilli en période de floraison et séché à l'air libre et à l'abri de la lumière. Le thym utilisé a été acheté sur le marché local. Il proviendrait probablement de la région de Médéa.

Les deux plantes ont été identifiées à l'herbier de l'INA comme étant *Romarinus officinalis L.* pour le romarin et *Thymus fontanesii* pour le thym.

La matière végétale est disposée dans la colonne en verre qui est reliée par un coude au réfrigérant. La vapeur d'eau est produite dans le ballon, et traverse la matière végétale. Le distillat (mélange d'huile essentielle et d'eau) est récupéré dans un ballon de recette.

L'étape suivante consiste à séparer l'huile essentielle de l'eau. Pour cela une extraction à l'éther diéthylique est réalisée. L'huile est ensuite récupérée après évaporation à l'air libre de l'éther.

### Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle a été calculé en utilisant la relation suivante :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_{mv}} \cdot 100 \quad (\%)$$

Où :

$R_{HE}$  : est le rendement en huile essentielle, (%)

$M_{HE}$  : la masse d'huile essentielle recueillie, (g)

$M_{mv}$  : la masse de matière végétale utilisée, (g)

## III. RESULTATS ET DISCUSSION

### III.1 Rendement en huile essentielle

Les essais d'extraction de l'huile essentielle ont donné un rendement de 1,16% pour le romarin et de 1,57% pour le thym. Ces valeurs sont en accord avec celles citées dans la littérature (tableau VII).

### III.2 Etude de la cinétique d'extraction

Afin d'étudier les cinétiques d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des huiles essentielles de nos deux plantes (romarin et thym), une masse de chaque plante a été soumise à un entraînement à la vapeur d'eau à l'échelle laboratoire pendant une heure. Le débit moyen du distillat, imposé par le montage était de 4,5 ml/mn. L'huile essentielle a été récupérée à des intervalles de temps réguliers.

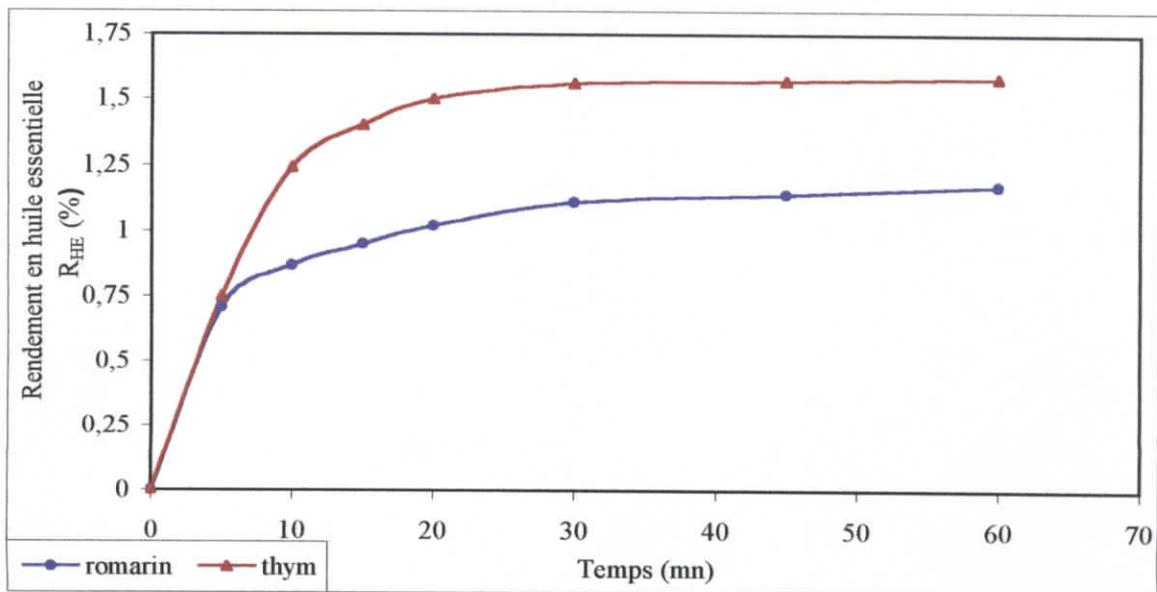
La masse de matière végétale utilisée était de 35g pour le romarin et de 30g pour le thym.

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant :

**Tableau VI :** Résultats de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de romarin et de thym par entraînement à la vapeur d'eau

Temps (mn)	Rendement en huile essentielle (%)	
	Romarin	Thym
0	0	0
5	0,71	0,75
10	0,87	1,24
15	0,95	1,40
20	1,02	1,50
30	1,11	1,56
45	1,14	1,57
60	1,17	1,58

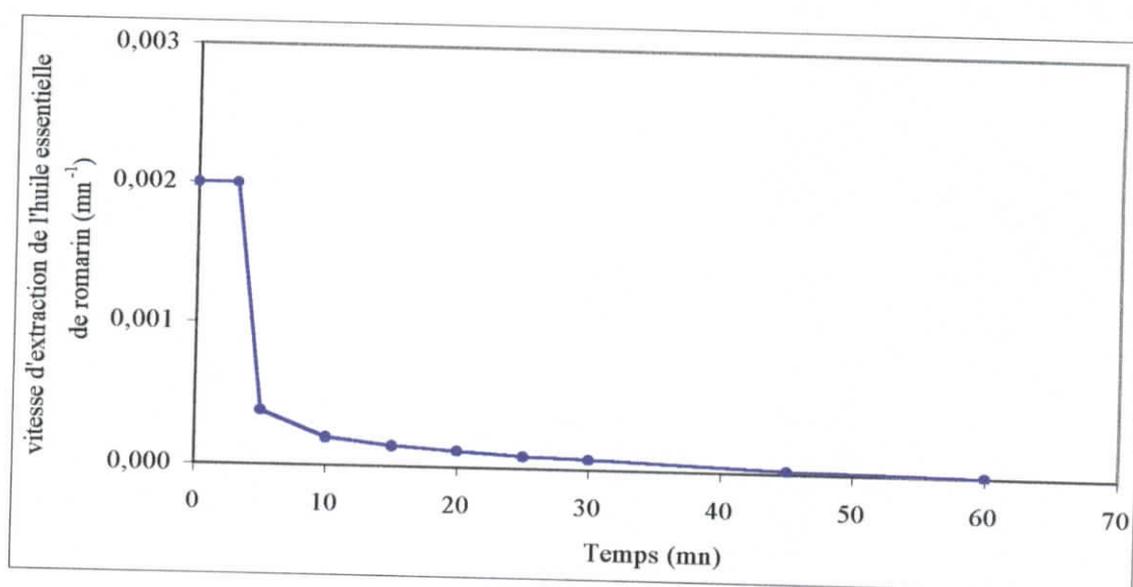
La figure 12 représente l'évolution au cours du temps du rendement en huile essentielle de romarin et de thym.



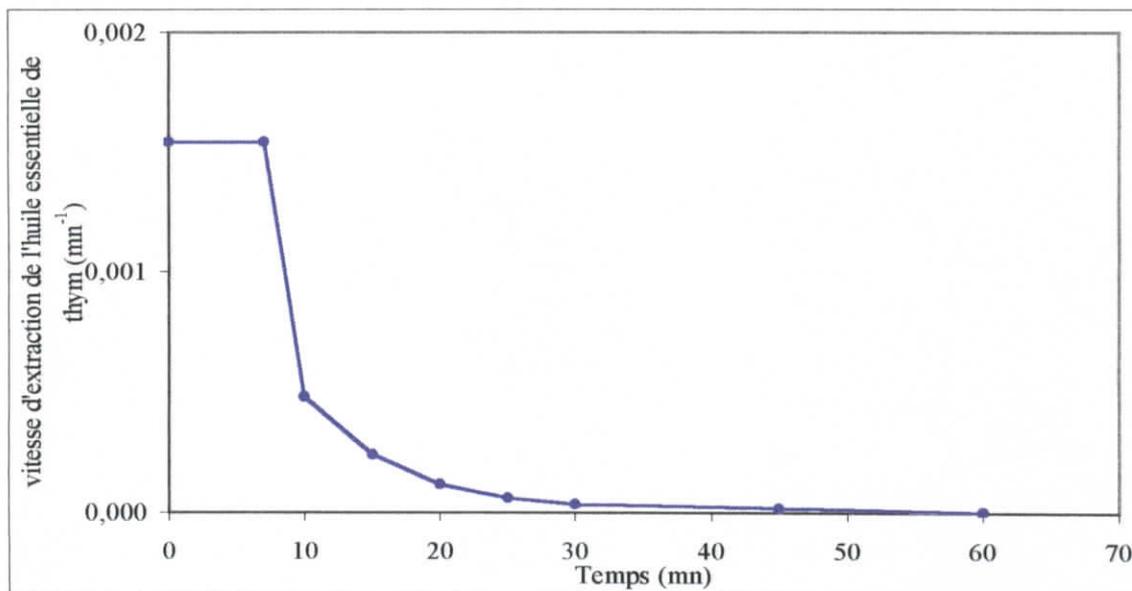
**Figure 12 :** Evolution au cours du temps du rendement en huile essentielle

On remarque que ces deux courbes ont la même allure. En effet, on observe une rapide évolution du rendement en début d'extraction, elle est plus lente par la suite. L'augmentation du rendement au début du processus serait probablement due à l'extraction de l'huile essentielle superficielle. La récupération de l'huile emmagasinée dans des sites internes serait la cause du ralentissement du processus d'extraction par la suite. De telles observations ont été signalées pour le romarin dans des travaux antérieurs [39]

Par ailleurs, nous avons tracé les courbes donnant les variations de la vitesse d'extraction en fonction du temps. (Figures 13 et 14)



**Figure 13 :** Evolution de la vitesse d'extraction par entraînement à la vapeur de l'huile essentielle de romarin au cours du temps.



**Figure 14 :** Evolution de la vitesse d'extraction par entraînement à la vapeur de l'huile essentielle de thym au cours du temps.

On remarque que ces courbes peuvent être divisées en deux périodes :

- Une première période où la vitesse d'extraction est maximale et constante. Cette étape correspondrait à l'extraction de l'huile superficielle, la récupération de l'huile se faisant par simple évaporation. Cette période dure 3 minutes pour le romarin et 7 minutes pour le thym
- Une deuxième période où la vitesse diminue graduellement. Dans ce cas, l'extraction de l'huile serait due à des phénomènes de diffusion.

#### IV. CONCLUSION

Les résultats obtenus montrent donc que l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle de romarin et celle du thym se passent de la même façon cinétiquement parlant (même cinétique).

Il semblerait donc que la localisation des sites d'huile essentielle du thym soit la même que celle du romarin. Cependant, des observations des coupes de feuilles de thym doivent être envisagées pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

# CHAPITRE V

## PROPRIETES PHYSIQUES ET COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

# V PROPRIETES PHYSIQUES ET COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

## I. PROPRIETES PHYSIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

Une étude bibliographique nous a permis de résumer les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de romarin et de thym. Elles sont données dans le tableau VII.

Nous avons procédé à la détermination de la densité et l'indice de réfraction des huiles essentielles de romarin et de thym selon les méthodes normalisées.[45]

**Tableau VIII :** Quelques propriétés physiques mesurées des huiles essentielles.

Propriétés	Romarin	Thym
Aspect	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Liquide mobile,</li> <li>➤ Couleur jaune pâle .</li> <li>➤ Odeur caractéristique fraîche camphrée.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Liquide mobile</li> <li>➤ Couleur orangée.</li> <li>➤ Odeur caractéristique aromatique, avec un fond légèrement épicé.</li> </ul>
Densité	0,8952	0,9266
Indice de réfraction	1,476	1,501

Ces valeurs sont en accord avec celles citées dans la littérature (tableau VII)

**Tableau VII :** Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de Romarin et de Thym [71]

Nature de l'Huile Essentielle	Nom botanique (famille végétale)	Organe végétal traité	Mode de traitement et rendement	Aspect	Principaux constituants chimiques
Huile Essentielle de Romarin	Romarinus Officinalis L. (Lamiaceae) Autres variétés et formes: genuina, rigidus, angustifolius, etc.	Rameau (tige et feuille) partiellement haché.	Entraînement à la vapeur d'eau dans des alambics chauffés à feu nu ou dans des installations industrielles Durée : 3 à 4h Rendement variable selon le lieu de production, la saison et l'état de fraîcheur du végétal. En Espagne, le rendement est de 0,75% en été et de 0,435% en hiver. En Dalmatie, le rendement est de 1,5%. Au Maroc et en Tunisie, il est de 0,3 à 0,5%.	Liquide mobile, limpide, presque incolore à jaune pâle Odeur caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine de la plante.  L'huile essentielle espagnole possède une couleur qui va du jaune pâle au vert jaunâtre.	Hydrocarbures monoterpéniques : $\alpha$ -thuyène, $\alpha$ -pinène, camphène, $\beta$ -pinène, sabinène, terpinolène ; 1,8-cinéole (17 à 32%) ; $\alpha$ et $\beta$ -thuyones (<0,5 %) ; camphre ; linalol et acétate de linalyle ; $\beta$ -caryophyllène ; terpin-1-èn-4-ol, $\alpha$ -terpinéol, bornéol ; verbénone, camphrol (17%), acétate de bornyle (2 à 7%)
Huile Essentielle de Thym	Thymus vulgaris L. Chémotype thymol et thymus zygis L. (Lamiaceae)	Tige fleurie de thymus vulgaris et de thymus zygis	Entraînement à la vapeur d'eau (Hydrodistillation) dans des alambics chauffés à feu nu ou dans des installations industrielles Durée : 5 à 8h Rendement : 0,5 à 1,7% Moyenne : 1,1% Maximum : jusqu'à 2%	Liquide mobile. Couleur traditionnellement allant du brun au brun rouge. Odeur caractéristique aromatique, phénolique (thymol) avec un fond légèrement épicé.	Thymol (20 à 50%) ; carvacrol, $\alpha$ -thuyène ; $\alpha$ et $\beta$ -pinène ; myrcène ; $\alpha$ et $\beta$ -terpène ; cymène ; linalol ; trans-thuyan-4-ol ; $\alpha$ -terpinéol ; terpin-1-èn-4-ol ; $\beta$ -caryophyllène ; éther méthylique du carvacrol.

**Tableau VII :** Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de Romarin et de Thym.  
(Suite)

Nature de l'Huile Essentielle	Lieux de production statistiques	Toxicité DL50	Emplois	Densité	Indice de réfraction	Pouvoir rotatoire	Solubilité dans l'éthanol dilué
Huile Essentielle de Romarin	Pourtour méditerranéen (Maroc, Dalmatie, Tunisie, Espagne, sud de la France, Portugal) Production mondiale en 1984 :250t Espagne :130t Maroc : 60t Tunisie : 50t	Orale chez le rat : 5ml/kg Dermique chez le lapin : >10ml/kg	Parfumage des savons, des détergents, des poudres à laver. Emplois dans les arômes alimentaires (viandes, sauces, potages) et les préparations pharmaceutiques comme ingrédients dans les linéaments rubéfiants (médicaments).	Huile française			
				0,895 à 0,916	1,4670 à 1,4740	-1° à +16°	10volumes d'éthanol à 80%
				Huile de Tunisie et du Maroc			
				0,908 à 0,920	1,4670 à 1,4740	-1° à +6°	1volume d'éthanol à 80%
				Huile du Portugal			
				0,860 à 0,880	1,4660 à 1,4750	+4° à +25°	<20volumes d'éthanol à 80%
				Huile d'Espagne			
				Huiles toutes origines			
				0,894 à 0,912	1,4640 à 1,4760	-5° à +10°	1volume d'éthanol à 90% turbidité à la dilution
Huile Essentielle de Thym	Espagne (provinces de Murcie, d'Almeira, de Grenade); Maroc, Israël ex-Yougoslavie; Portugal; sud de la France production en 1984 : 25t dont 90% pour l'Espagne.	Orale chez le rat : 4,7g/kg Dermique chez le lapin : > 5g/kg.	Pouvoir germicide utilisé comme désinfectant et antiseptique dans les préparations pharmaceutiques Aromatisation des aliments : viandes, sauces, conserves, condiments...; Parfumage des savons.	0,915 à 0,935	1,4960 à 1,5050	Le plus souvent impossible à mesurer, légèrement lévogyre.	2 volumes d'éthanol à 90%
				0,910 à 0,935	1,4950 à 1,5050		10 volumes d'éthanol à 80% avec légère opalescence ou turbidité.

## II. COMPOSITION CHIMIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

L'identification des constituants des huiles essentielles de romarin et de thym s'est faite par chromatographie en phase gazeuse.

### II.1 Définition de la chromatographie en phase gazeuse [72]

La chromatographie en phase gazeuse est une technique répandue, dont les premières applications qui remontent au début des années 40, ont concernés le contrôle des fractions légères de pétrole, son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, permise par les nombreuses phases stationnaires commerciales et à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et les possibilités d'automatisation.

La séparation sur la colonne se faisant sur des composés qui doivent être à l'état gazeux, l'analyse des composés liquides ou solides impose de pouvoir les porter à l'état vapeur par chauffage. C'est sans doute la principale contrainte qu'il faut savoir apprécier avant de choisir cette technique.

Un appareil de CPG correspond schématiquement à la réunion de différents modules spécialisés : l'injecteur, la colonne et le détecteur, réunis dans un bâti unique. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz appelé gaz vecteur. Les débits, contrôlés avec précision, permettent une grande répétabilité des temps de rétention.

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon, sous forme liquide ou gaz, dans l'injecteur, qui a la double fonction de la porter à l'état vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne.

Celle-ci se présente comme un tube de faible section enroulé sur lui-même, de 1 à 100m de longueur suivant les cas et renfermant la phase stationnaire. La colonne est placée dans l'enceinte à température réglable. La phase gazeuse en sortie de colonne passe dans un détecteur avant de sortir à l'air libre.

### II.2 Conditions opératoires

Les huiles essentielles de romarin et de thym ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse (CPG) à l'aide d'un chromatographe de marque *Chromopack* (CP 9002), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme et relié à un intégrateur – enregistreur de marque *Spectrophysics*. La vitesse du déroulement de papier de l'intégrateur est de 0,5cm/mn.

Les conditions opératoires d'analyse par chromatographie en phase gazeuse sont les suivantes :

- Colonne
  - Phase stationnaire: PEG20M (polyéthylène glycol 20000)
  - Longueur : 30m
  - Diamètre intérieur : 0,32mm
  - Epaisseur du film : 1µm
- Température
  - Colonne : 60°C à 220°C à raison de 3°C/mn et une isotherme à 220°C de 5 mn.
  - Injecteur : 250°C
  - Détecteur : 280°C
- Gaz vecteur
  - Nature : Azote
  - Débit : 1ml/mn
- Volume injecté : 0,2µl

### **II.3 Identification des constituants de l'huile essentielle de romarin et de thym**

L'identification des constituants de notre huile essentielle de romarin s'est faite par comparaison des temps de rétention. Nous avons, pour cela, utilisé une autre huile essentielle romarin déjà connue (qualitativement et quantitativement).

En effet, en 1998, Boutekdjiret, dans son étude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences de romarin, procéda à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) d'une huile essentielle de romarin obtenue par entraînement à la vapeur d'eau [39].

Nous avons, procédé dans les conditions énumérées précédemment à l'analyse de cette même huile essentielle de romarin, qui fut conservée depuis 1998 dans de bonnes conditions.

La figure 15 représente le chromatogramme de l'huile essentielle (1998) dans les nouvelles conditions opératoires.

Les figures 16 et 17 représentent les chromatogrammes de l'huile de essentielle de romarin et de thym respectivement.

La figure 18 représente les formules de quelques constituants d'huile essentielle de romarin et de thym.

En admettant que la teneur relative des différents constituants n'a pas changé pendant la période de conservation, on a pu relever les nouveaux temps de rétention.

En comparant ces valeurs aux temps de rétention obtenus par l'analyse (toujours dans les mêmes conditions) des huiles essentielles de romarin et de thym que nous avons extraites, nous avons identifier quelques composés.

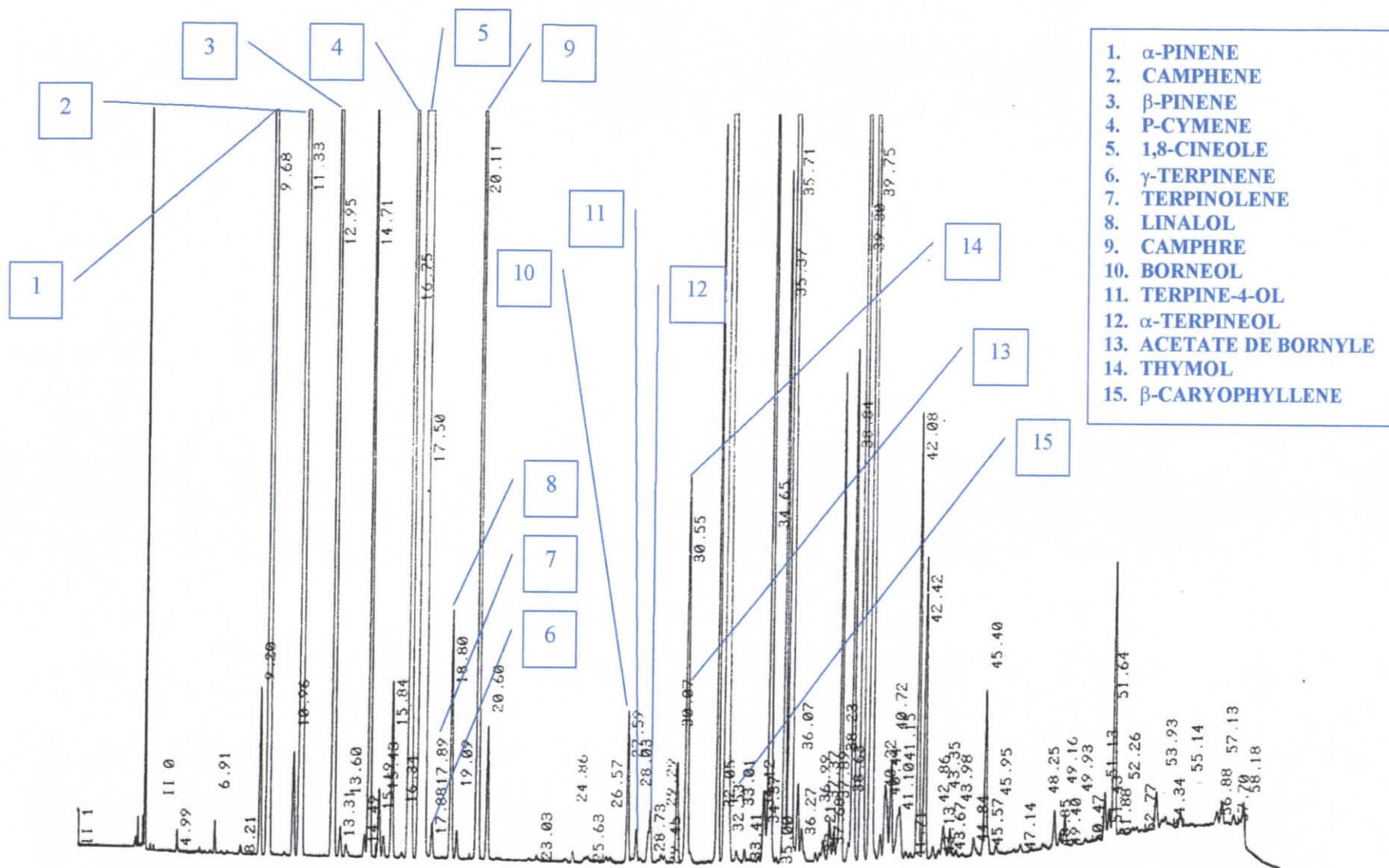


Figure 15 : Chromatogramme de l'huile essentielle de romarin conservée depuis 1998

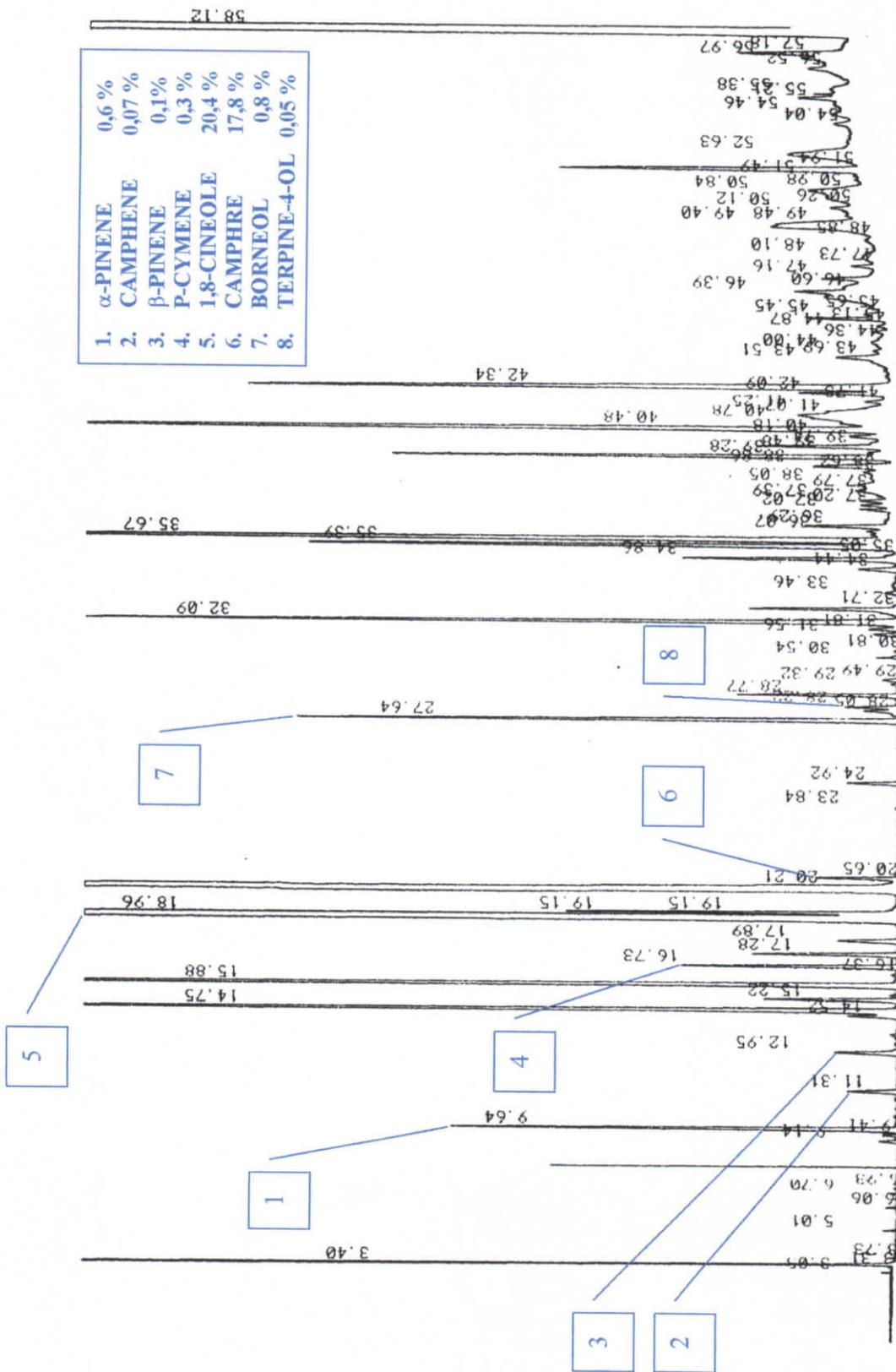


Figure 16 : Chromatogramme de l'huile essentielle de romarin obtenue par entraînement à la vapeur d'eau

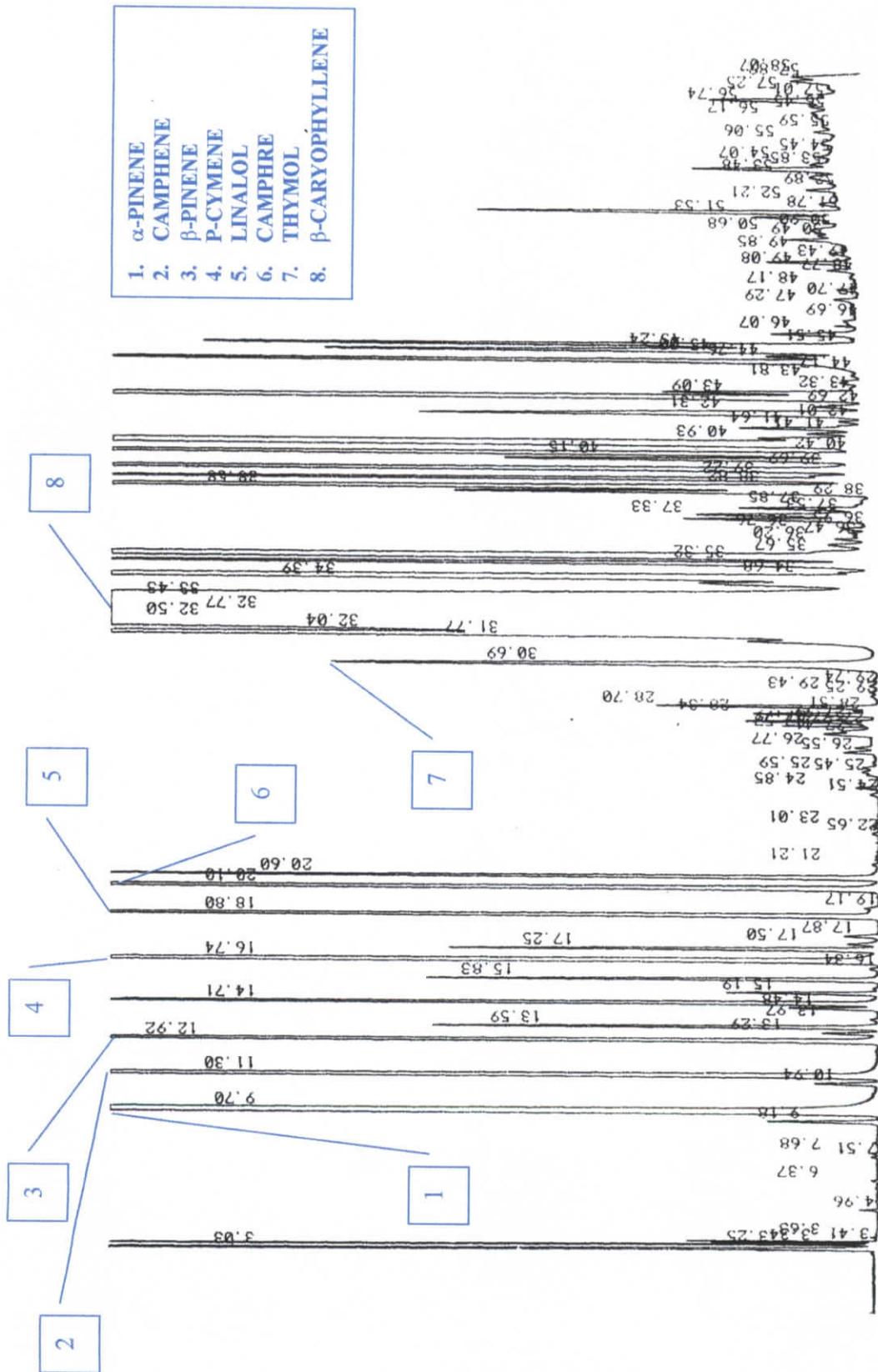
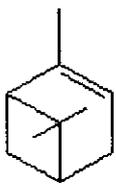
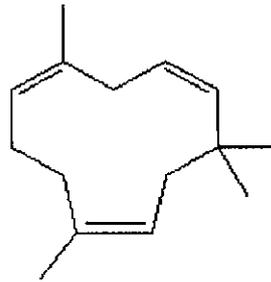


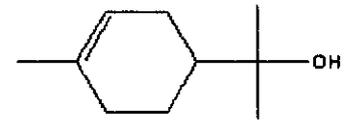
Figure 17: Chromatogramme de l'huile essentielle de thym obtenue par entraînement à la vapeur d'eau



$\alpha$ -pinène



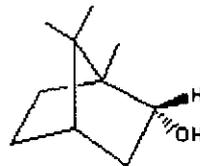
$\alpha$ -humulène



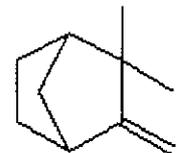
$\alpha$ -terpinéol



$\beta$ -pinène



bornéol



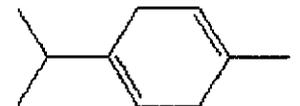
camphène



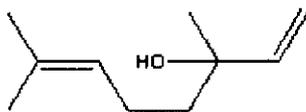
camphre



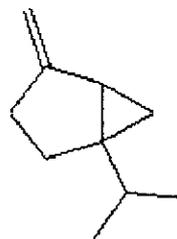
cymène



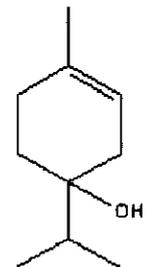
$\gamma$ -terpinène



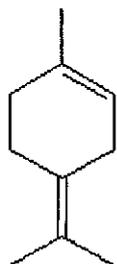
linalol



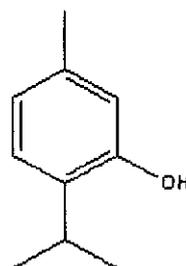
sabinène



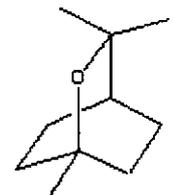
terpinène-4-ol



terpinolène



thymol



1,8-cinéole

**Figure 18 :** Formules de quelques composés des huiles essentielles

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau IX.

**Tableau IX :** Composition chimique de l'huile de romarin et de thym

Constituant	Teneur relative (%)		
	Romarin (1998)	Romarin	Thym
$\alpha$ -pinène	5,2	0,6	14,3
camphène	3,0	0,07	2,3
$\beta$ -pinène	5,7	0,1	1,2
myrcène	1,7	-	-
$\beta$ -phéllandrène	tr<0,05	-	-
p-cymène	2,2	0,3	2,9
1,8-cinéole	52,4	20,4	-
$\gamma$ -terpinène	0,5	-	-
hydrate de sabinène	0,3	-	-
terpinolène	0,2	-	-
linalol	1,1	-	1,1
camphre	12,6	17,8	1,5
bornéol	3,4	0,8	-
terpinène-4-ol	0,7	0,05	-
$\alpha$ -terpinéol	2,1	-	-
acétate de bornyle	1,1	-	-
thymol	tr	-	0,6
carvacrol	tr	-	-
eugénol	tr	-	-
$\alpha$ -copaène	0,2	-	-
$\beta$ -caryophyllène	4,2	-	10,2
$\alpha$ -humulène	0,4	-	-
germacrène-D	0,3	-	-
$\alpha$ -murolène	0,2	-	-
$\alpha$ -farnesène	0,4	-	-
$\gamma$ -cadinène	tr	-	-
calamenène	0,3	-	-
$\delta$ -cadinène	0,2	-	-
calacorène	tr	-	-
$\alpha$ -cadinène	0,1	-	-
oxyde de caryophyllène I	0,1	-	-
oxyde de caryophyllène II	tr	-	-
humuladiénol	tr	-	-
oxyde d'humulène	0,1	-	-

L'examen de ce tableau montre que les constituants majoritaires de l'huile essentielle de romarin provenant de l'Institut National d'Agronomie sont le 1,8-cinéole avec 20,4 % et le camphre avec 17,8 %, alors que pour le thym c'est le  $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -caryophyllène avec 14,4 % et 10,2 % respectivement qui sont les constituants majoritaires. Toute cette identification doit être confirmée par d'autres méthodes analytiques.

# CHAPITRE VI

## **EVALUATION DE LA TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES**

# **VI** **EVALUATION DE LA TOXICITE DES HUILES ESSENTIELLES**

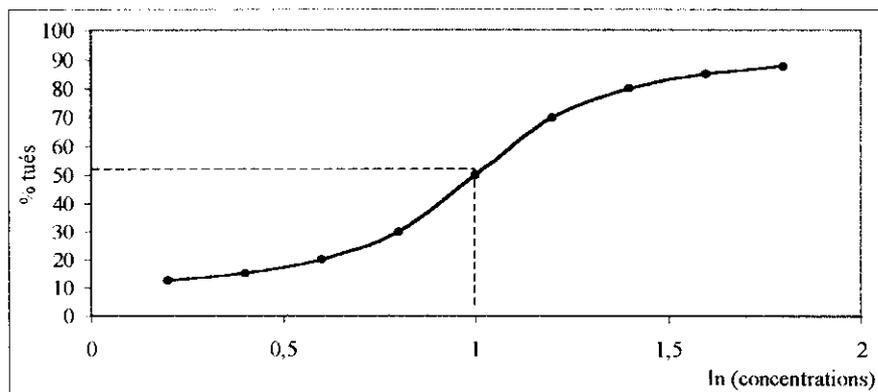
## **I. INTRODUCTION**

La régulation du flux des insectes dans le but de protéger la santé des hommes, les cultures et les denrées stockées, est une pratique universelle et très ancienne. Le développement considérable des insecticides chimiques il y a soixante ans, ne s'est cependant pas révélé sans danger pour les mammifères et sans incidence sur l'environnement. En outre, de nombreux cas de résistance se sont développés au sein des insectes. Aussi le recours à des molécules naturelles aux propriétés insecticides ou insectifuges, de moindre toxicité pour l'homme, se révèle une démarche alternative d'intérêt écologique et économique certain.

Il a été observé qu'une tradition existait dans de nombreuses régions, qui consiste à mettre dans les greniers et dans les sacs de légumineuses récoltés des plantes odorantes. Parmi les végétaux dont l'efficacité a été évaluée, les plantes aromatiques de la famille des Labiées se sont révélées les plus actives comme insecticides directs mais aussi comme inhibiteurs de la ponte et du développement larvaire.

Ces plantes sont réputées pour leur usage alimentaire (épices) mais aussi pour leurs huiles essentielles qui présentent des propriétés thérapeutiques (antiseptiques, antispasmodiques, etc...) et des usages en parfumerie, en cosmétologie ou en industrie chimique (essences, produit intermédiaires de synthèse).

Aussi avons-nous voulu vérifier, dans ce travail, si les huiles essentielles extraites de deux plantes de la famille des Labiées présentaient un effet insecticide.



Ces courbes rendent compte que les pourcentages nul (0) ou total (100) ne sont atteints que ne se produit jamais dans la réalité.

### III.4 Correction de la mortalité

Le nombre d'individus démontrés morts dans une population traitée par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe, en fait, dans toute population une mortalité naturelle qui vient s'ajouter à la mortalité provoquée par ce toxique. Les pourcentages de mortalités doivent être corrigés.

La formule de Shneider-Orelli permet de corriger la mortalité, cela équivaut à un changement de variable :

$$\%_M = \frac{M - M_1}{100 - M_1} \cdot 100$$

$\%_M$  : le pourcentage de mortalité corrigée (nouvelle variable).

M : le pourcentage de morts dans la population traitée.

$M_1$  : le pourcentage de morts dans la population témoin.

### III.5 Calcul de l'efficacité

Après avoir corrigé la mortalité, on détermine l'efficacité du produit utilisé. Celle-ci peut être évaluée de deux manières :

- La première consiste à déterminer la mortalité  $y$  après un temps constant en fonction des doses croissantes du toxique  $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ . Ce qui conduit à établir une courbe expérimentale représentative de la fonction  $y=f(x)$  à partir de laquelle on calculera la *DL50*, définie comme étant la dose létale qui donne une 50% de mortalité.

- La seconde consiste à déterminer les mortalités consécutives à l'application d'une dose constante en fonction de temps croissants  $t_1, t_2, t_3, \dots, t_n$ . Ce qui conduit à établir, cette fois-ci, une courbe expérimentale représentative de la fonction  $y=f(t)$  à partir de laquelle on calculera le *TL50*, qui est le temps léthal qui donne 50% de mortalité.

Pour une distribution quelconque de seuil de tolérance, la *DL50* satisfait à

$$\int_0^z f(z)dz = 0.5$$

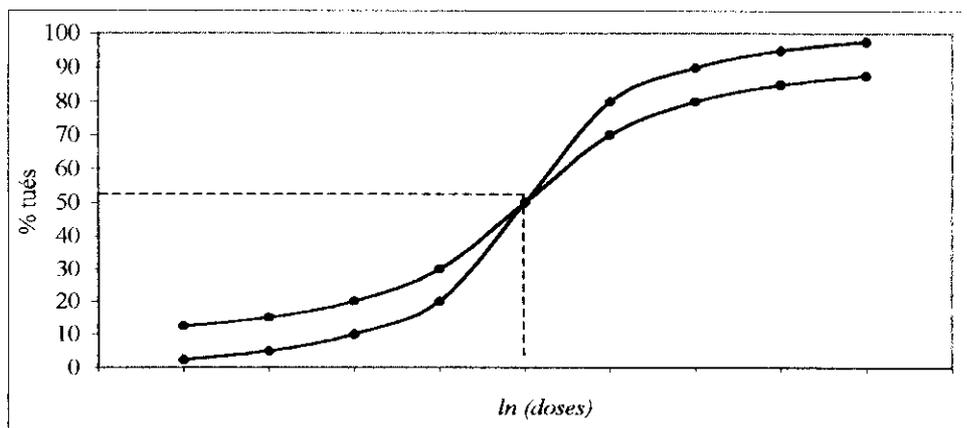
Après transformation logarithmique des doses, la distribution devenue normale du seuil de tolérance  $x$  s'exprime par :

$$dP = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx$$

$\mu$  est le centre de distribution, c'est à dire la valeur de la dose pour le seuil moyen de tolérance, ou seuil moyen d'efficacité.

Donc  $\mu$  est  $\ln(DL50)$  et  $\sigma^2$  est la variance de  $\mu$ . ( $\sigma$  est son écart-type)

La *DL 50* à elle seule ne décrit pas pleinement l'efficacité d'un poison. Deux produits peuvent présenter la même *DL50*, avec autour une dispersion différente.



C'est la variance qui rend compte de cette dispersion : plus la variance est faible, plus grand est l'effet d'un changement de dose sur la mortalité.

population. C'est la *DE50* : c'est à dire la dose qui produit une réponse dans la moitié de la population.

La *DE50* est équivalente à la *DL50* (cette dernière est la plus utilisée), qui est la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié d'une population.

On peut aussi se servir de la *DL90* qui est la dose nécessaire et suffisante pour tuer 90% de la population. La *DL90* est utile pour caractériser les pesticides dont la vocation est de se débarrasser au mieux des déprédateurs.

Afin de déterminer cette *DL50*, il nous faut tracer les droites de régressions. Les valeurs des pourcentages de mortalité sont transformées en Probits, et on trace ces nouvelles valeurs en fonction du logarithme népérien des doses. 50% de la mortalité correspond à la valeur 5 en Probits, de la on en tire la *DL50*.

#### **IV. MATERIEL ET METHODE**

##### **IV.1. Matériel biologique**

###### **1) Matériel entomologique**

*Rhizopertha dominica* provient d'un élevage de masse réalisé au laboratoire dans une étuve réglée à 33°C et une humidité relative de 70 à 80%. Les insectes sont élevés sur du blé tendre variété HD 1220, les adultes utilisés pour nos expériences sont âgés de 0 à 1 semaine.

###### **2) Huiles essentielles**

Les huiles essentielles ont été extraites par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles de romarin et de thym. Des solutions d'huile essentielle de différentes concentrations dans un solvant sont utilisées pour les différents tests de toxicité. Le solvant utilisé est l'acétone.

##### **IV.2 Protocole opératoire**

Le but de cette étude est donc l'évaluation de la toxicité des huiles essentielles de romarin et de thym sur le *Rhizopertha Dominica* : un insecte ravageur des céréales. La toxicité est évaluée par trois modes :

- Contact
- Ingestion - Contact
- Inhalation

## V. RESULTATS ET DISCUSSION

### V.1 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par contact

Des papiers filtres de 9cm de diamètre sont imprégnés avec 0.6 ml d'une solution d'huile essentielle d'une concentration donnée. Pour le témoin, on utilise du solvant pur.

Après séchage du papier filtre (de 30 mn à 1 heure), 25 insectes sont déposés sur le papier filtre dans une boîte de pétrie de 9 cm de diamètre et de 1,5cm de hauteur. Huit répétitions sont réalisées pour les différentes concentrations d'huile essentielle et pour le témoin.

Après 48 h d'exposition, les insectes sont transférés dans des boîtes contenant 100 g de blé et placés dans une étuve. La mortalité des insectes est évaluée 7 jours après traitement.

**Tableau X :** Résultats des tests de toxicité par contact avec l'huile essentielle de Romarin

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								Somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	0	0	0	2	1	0	0	3	6	8	0,750	3,00
3,125	1	3	<u>12</u>	4	1	3	4	4	20	7	2,857	11,43
6.250	<u>15</u>	7	<u>13</u>	5	8	9	6	<u>11</u>	35	5	7,000	28,00
12,500	22	22	25	19	21	22	20	<u>8</u>	151	7	21,571	86,29
25,000	25	25	25	25	25	25	25	25	200	8	25,000	100,00

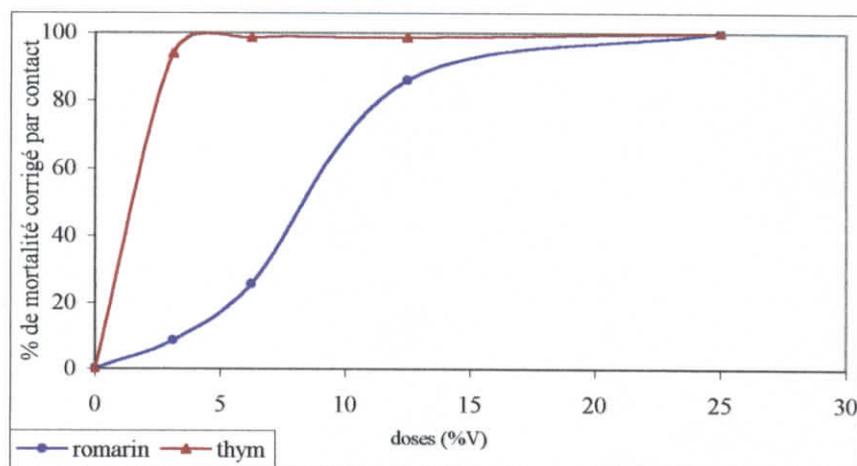
**Tableau XI :** Résultats des tests de toxicité par contact avec l'huile essentielle de Thym

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	0	0	0	2	1	0	0	3	6	8	0,750	3,00
3,125	22	23	23	24	22	24	25	25	188	8	23,500	94,00
6,250	24	25	24	25	25	24	25	25	197	8	24,625	98,50
12,500	25	24	25	24	25	25	24	25	197	8	24,625	98,50
25,000	25	25	25	25	25	25	25	25	200	8	25,000	100,00

*Remarque :* Les valeurs soulignées représentent les essais refusés.

**Tableau XII :** Pourcentage de mortalité corrigé pour les tests de toxicité par contact

Doses d'H.E. (%V)	%M Romarin	%M Thym
0,000	0,00	0,00
3,125	8,69	93,81
6,250	25,77	98,45
12,500	85,86	98,45
25,000	100,00	100,00

**Figure 19 :** Variation du pourcentage de mortalité corrigé des tests de toxicité par contact en fonction de la dose d'huile essentielle

Les courbes donnant les variations du pourcentages de mortalité corrigé en fonction de la dose d'huile essentielle pour les tests de toxicité par contact représentées par la figure 19, montrent une augmentation de ce pourcentage en fonction de la dose puis une stabilisation.

Si on compare les courbes obtenues pour les deux huiles, on remarque que la toxicité par contact de l'huile essentielle de thym est plus importante que celle du romarin. En effet, une dose de 3,125% d'huile de thym provoque plus de 93 % de mortalité, alors qu'une dose quatre fois plus concentrés d'huile de romarin ne provoque que 85.86 % de mortalité.

Notons que, pour les deux huiles essentielles, une dose de 25 % provoque une mortalité totale de tous les insectes testés.

### V.2 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par ingestion - contact

200 g de blé tendre sont arrosés de 7ml de solution d'huile essentielle. Après mélange et évaporation du solvant, le blé traité est réparti dans des boites de pétrie à raison de 20 g par boite. 25 insectes sont placés dans les boites contenant le blé traité. Pour le témoin 7ml de solvant pur sont utilisés.

Huit répétitions sont réalisées pour chaque concentration et pour le témoin. La mortalité est évaluée après 7 jours.

**Tableau XIII :** Résultats des tests de toxicité par ingestion - contact de l'huile essentielle de Romarin

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								Somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	1	0	0	1	1	0	0	1	4	8	0,500	2,00
3,125	2	4	1	3	0	3	<u>8</u>	<u>7</u>	13	6	2,167	8,67
6,250	9	<u>19</u>	<u>3</u>	10	<u>0</u>	9	8	10	46	5	9,200	36,80
12,500	24	24	<u>19</u>	25	23	24	23	24	167	7	23,857	95,43
25,000	25	25	25	25	25	25	25	25	200	8	25,000	100,00

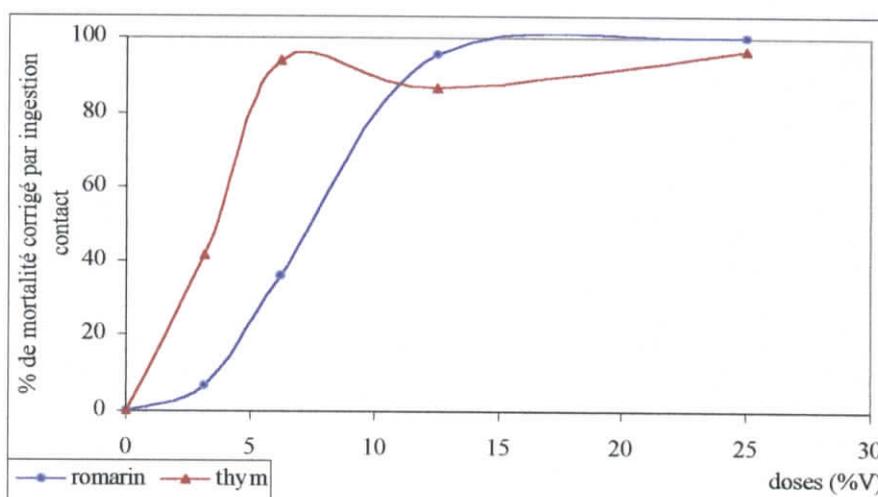
**Tableau XIV :** Résultats des tests de toxicité par ingestion - contact de l'huile essentielle de Thym

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								Somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	1	0	0	1	1	0	0	1	4	8	0,500	2,00
3,125	10	<u>15</u>	<u>19</u>	11	10	11	11	11	64	6	10,667	42,67
6,250	<u>16</u>	24	24	25	24	<u>15</u>	25	19	141	6	23,500	94,00
12,500	20	24	22	21	21	21	20	25	174	8	21,750	87,00
25,000	23	24	24	24	24	25	24	25	193	8	24,125	96,50

*Remarque :* Les valeurs soulignées représentent les essais refusés.

**Tableau XV :** Pourcentage de mortalité corrigé pour les tests d'ingestion - contact

Doses d'H.E. (%V)	%M Romarin	%M Thym
0,000	0,00	0,00
3,125	6,80	41,50
6,250	35,51	93,88
12,500	95,34	86,73
25,000	100,00	96,43

**Figure 20 :** Variation du pourcentage de mortalité corrigé des tests de toxicité par ingestion - contact en fonction de la dose d'huile essentielle

Les résultats donnant le pourcentage de mortalité corrigé en fonction de la dose d'huile essentielle pour les tests de toxicité par ingestion – contact représentés par la figure 20 montrent que le pourcentage de mortalité augmente en fonction de la dose d'huile essentielle utilisée jusqu'à une certaine valeur puis reste constant.

Nous remarquons par ailleurs que la toxicité par ingestion – contact de l'huile de thym est plus importante que celle de l'huile de romarin jusqu'à une dose d'huile voisine de 11%. Au delà de cette concentration, c'est l'huile de romarin qui est la plus toxique. Par ailleurs, une dose d'huile de 25 % provoque une mortalité de 100 % pour l'huile de romarin et de 96,43 % pour l'huile de thym.

### V.3 Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par inhalation

Des papiers filtre de 3cm de diamètre sont imprégnés de 0,04ml de solution d'huile essentielle et placés dans le couvercle d'un pot à vis.

Après évaporation du solvant (1mn) le couvercle est vissé hermétiquement sur le flacon qui contient 25 insectes. 8 répétitions sont réalisées pour chaque concentration d'huile essentielle et pour le solvant pur.

Après 24 h d'exposition, les insectes sont transférés dans des flacons non traités contenant 20g de blé. La mortalité est évaluée 24 et 48 heures après traitement. Une autre évaluation se fait après 7jours.

**Tableau XVI :** Résultats des tests de toxicité par inhalation de l'huile essentielle de Romarin

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								Somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	1	0	1	0	1	0	0	0	3	8	0,375	1,50
3,125	18	17	19	19	16	11	12	15	127	8	15,875	63,50
6,250	17	16	14	<u>11</u>	19	20	14	13	113	7	16,143	64,57
12,500	19	20	17	<u>13</u>	16	19	<u>11</u>	15	106	6	17,667	70,67
25,000	24	22	21	24	23	21	20	21	176	8	22,000	88,00

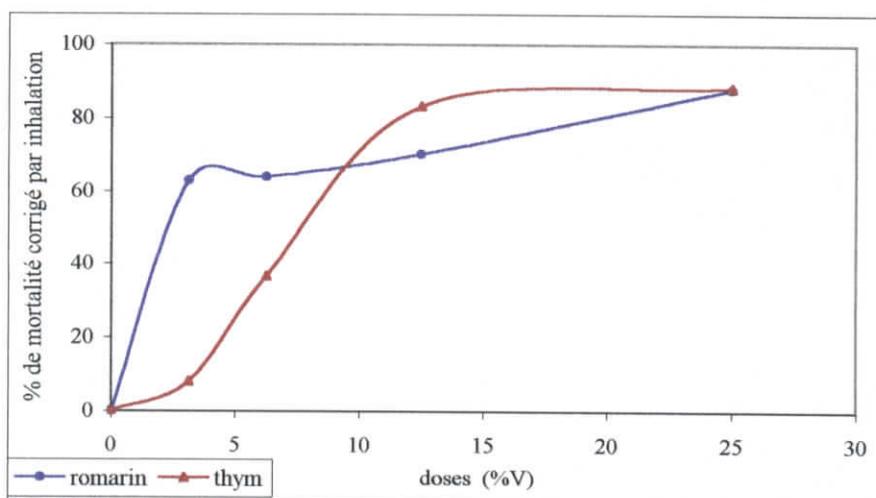
**Tableau XVII :** Résultats des tests de toxicité par inhalation de l'huile essentielle de Thym

Doses d'H.E. (%V)	Mortalité								Somme	Essais retenus	Moyenne	% de mortalité
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>				
0,000	1	0	1	0	1	0	0	0	3	8	0,375	1,50
3,125	1	2	<u>14</u>	3	6	1	<u>16</u>	1	14	6	2,333	9,33
6,250	8	7	<u>24</u>	8	14	12	<u>1</u>	7	56	6	9,333	37,33
12,500	20	<u>25</u>	22	20	17	19	22	22	142	7	20,286	81,14
25,000	19	22	25	23	22	23	21	22	177	8	22,125	88,50

*Remarque :* Les valeurs soulignées représentent les essais refusés.

**Tableau XVIII :** Pourcentage de mortalité corrigé pour les tests d'inhalation

Doses d'H.E. (%V)	%M Romarin	%M Thym
0,000	0,00	0,00
3,125	62,94	7,95
6,250	64,03	36,38
12,500	70,22	80,85
25,000	87,82	88,32

**Figure 21 :** Variation du pourcentage de mortalité corrigé des tests de toxicité par inhalation en fonction de la dose d'huile essentielle

La figure 21 illustre les variations du pourcentage de mortalité corrigé des tests de toxicité par inhalation. L'allure des courbes obtenues est similaire à celle obtenue pour les deux modes précédemment étudiés. En effet le pourcentage de mortalité corrigé augmente puis se stabilise.

En comparant la toxicité des deux huiles utilisées, nous remarquons que la toxicité de l'huile de romarin est plus importante que celle de l'huile de thym pour les doses d'huile allant jusqu'à 9,40 %. Au delà de cette concentration, c'est l'huile de thym qui est plus toxique.

Par ailleurs, nous remarquons que pour une dose de 25 % des deux huiles essentielles utilisées la mortalité avoisine les 88 %. Pour avoir une mortalité de 100 %, il faudrait donc des doses d'huile plus élevées.

## VI. APPRECIATION DE LA PRECISION DE LA METHODE ET DE LA REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS DES TESTS BIOLOGIQUES [74]

L'intervalle de confiance, intervalle dans lequel peut se situer le pourcentage de mortalité moyen en admettant un risque de se tromper de 0,05, est défini comme suit :

$$\bar{X} - t_{n-k}^{\alpha} \frac{S}{\sqrt{n}} < \bar{X} < \bar{X} + t_{n-k}^{\alpha} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$\bar{X}$  : La moyenne

S : L'écart type défini comme suit :

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

Et

n : le nombre d'essais répétitifs.

Et

$t_{n-k}^{\alpha}$  est le critère de Student qui tient compte du risque de se tromper ( $\alpha$ ) et des degrés de liberté (n - k), avec k nombre de relations entre les essais.

Dans notre cas, on n'a qu'une seule relation qui est la moyenne, donc k = 1.

Les valeurs qui suivent sont les valeurs du critère de Student pour  $\alpha = 0,05$  et différents degrés de liberté

$$t_4^{0,05} = 2,776$$

$$t_5^{0,05} = 2,571$$

$$t_6^{0,05} = 2,447$$

$$t_7^{0,05} = 2,365$$

Afin d'évaluer la reproductibilité des essais biologiques, nous avons procédé à une analyse statistique des résultats et déterminé l'intervalle de confiance pour lequel le risque d'erreur est de 5 %.

Les résultats des calculs sont regroupés dans le tableau XIX.

L'examen de ce tableau montre que l'intervalle de confiance est assez restreint et cela pour les différents modes de toxicité et pour les deux types d'huiles utilisées. L'intervalle de confiance moyen pour tous les tests ne dépasse pas 2,78 %.

**Tableau XIX :** Mortalités corrigées et intervalles de confiance

Tests biologiques			Mortalité et intervalle de confiance(%)
Huile essentielle	Mode	Dose (%V)	
Romarin	Contact	3,125	8,69 ± 0,78
		6,250	25,77 ± 2,39
		12,500	85,86 ± 2,49
		25,000	100,00 ± 0,00
	Ingestion – contact	3,125	6,80 ± 3,28
		6,250	35,51 ± 1,48
		12,500	95,34 ± 0,57
		25,000	100,00 ± 0,00
	Inhalation	3,125	63,50 ± 7,11
		6,250	64,57 ± 6,58
		12,500	70,22 ± 4,93
		25,000	87,82 ± 2,80
Thym	Contact	3,125	93,81 ± 0,09
		6,250	98,45 ± 1,86
		12,500	98,45 ± 1,86
		25,000	100,00 ± 0,00
	Ingestion – contact	3,125	41,50 ± 0,18
		6,250	93,88 ± 5,83
		12,500	86,73 ± 3,65
		25,000	96,43 ± 0,30
	Inhalation	3,125	7,95 ± 4,93
		6,250	36,38 ± 8,11
		12,500	80,85 ± 4,23
		25,000	88,32 ± 3,41

## VII. DETERMINATION DES *DL50*

L'efficacité d'un toxique se mesure par sa *DL50*, la dose létale qui donne un pourcentage de 50% de mortalité. Elle est déduite à partir du tracé des droites de régression. On transforme pour cela les pourcentages de mortalité corrigés en Probits et on trace ces dernières valeurs en fonction du logarithme népérien des doses. Théoriquement, nous devrions obtenir une droite. A partir de l'équation de celle-ci, on déterminera la dose qui correspond à un Probit de 5 (50% de mortalité) d'où la *DL50*.

Le tableau XX donne la transformation des pourcentages de mortalité en Probits.

**Tableau XX :** Transformation des pourcentages de mortalité en Probits .

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

Exemples de calcul :

A 10 % correspond un Probit de 3,72

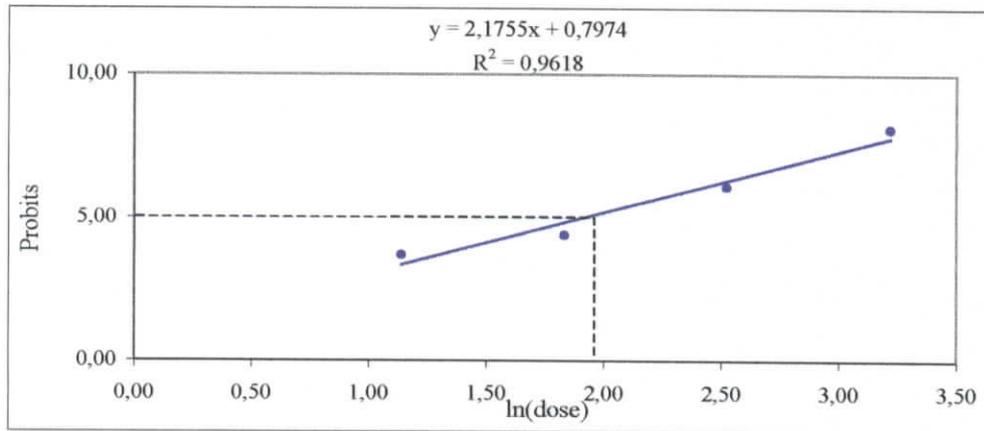
A 12 % correspond un Probit de 3,82

On procède par interpolation linéaire lorsque l'on doit déterminer des valeurs situées entre celles données dans la table.

Pour déterminer l'efficacité des huiles essentielles de romarin et de thym, nous avons donc déterminé les *DL50* pour les trois modes testés.

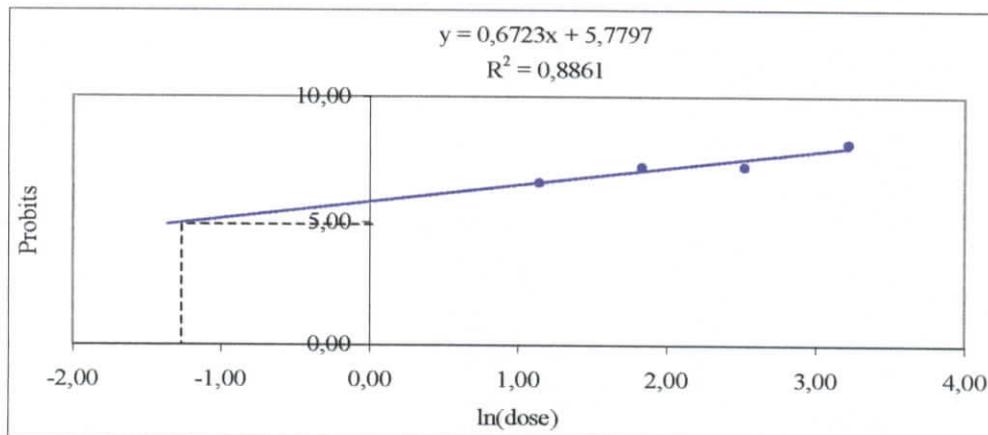
Les courbes obtenues sont représentées par les figures 22 à 27. Les différentes valeurs des *DL50* sont regroupées dans le tableau XXI.

### VII.1 Détermination des *DL50* pour les tests de toxicité par contact



**Figure 22 :** Détermination de la *DL50* de l'huile essentielle de romarin pour la toxicité par contact

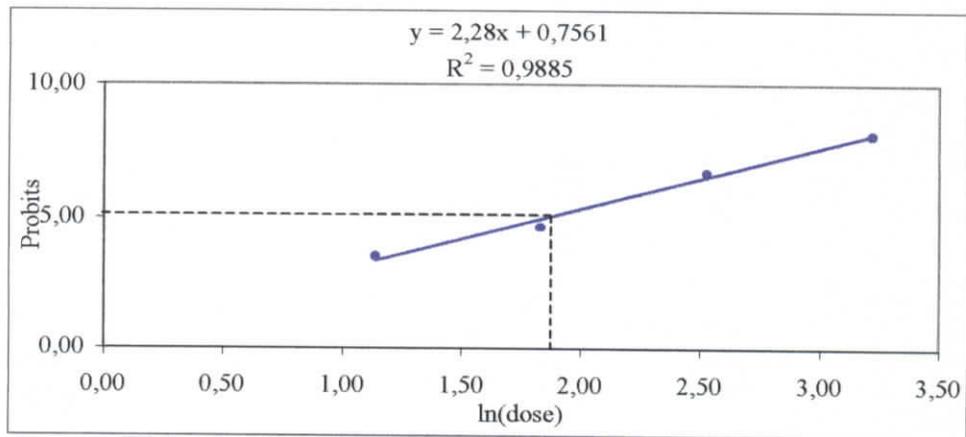
$$DL50 = 6,902 \%$$



**Figure 23 :** Détermination de la *DL50* de l'huile essentielle de thym pour la toxicité par contact

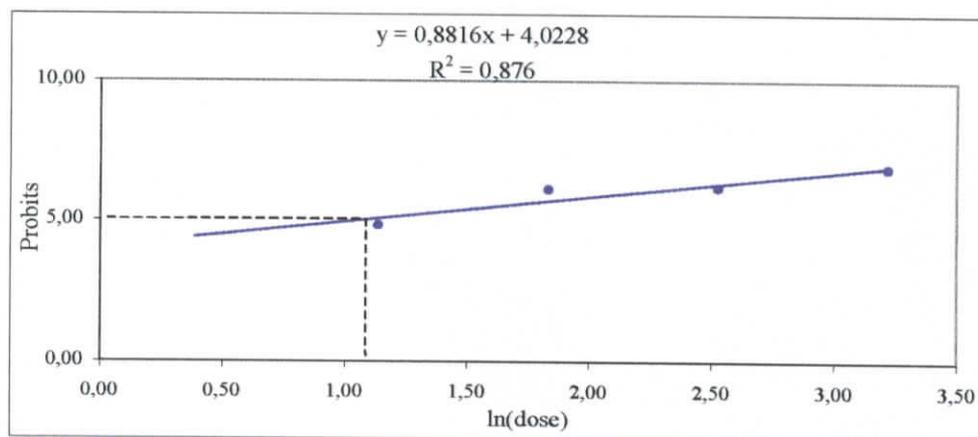
$$DL50 = 0,313 \%$$

## VII.2 Détermination des $DL50$ pour les tests de toxicité par ingestion - contact



**Figure 24 :** Détermination de la  $DL50$  de l'huile essentielle de romarin pour la toxicité par ingestion - contact

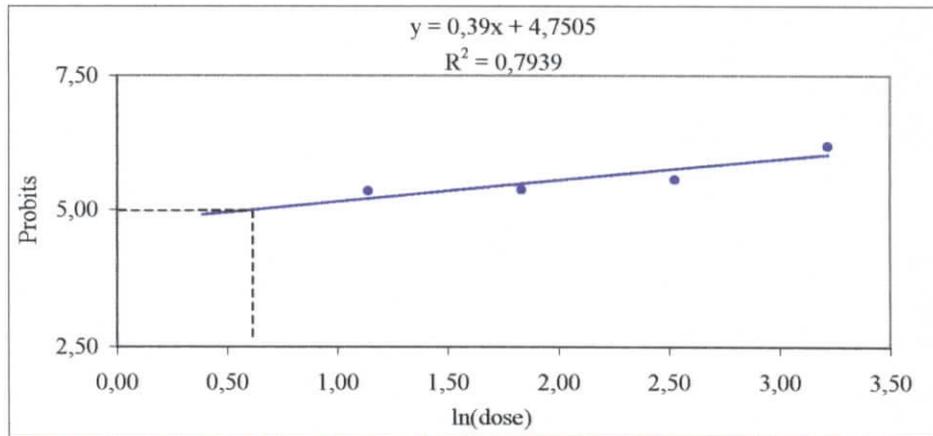
$$DL50 = 6,432 \%$$



**Figure 25 :** Détermination de la  $DL50$  de l'huile essentielle de thym pour la toxicité par ingestion - contact

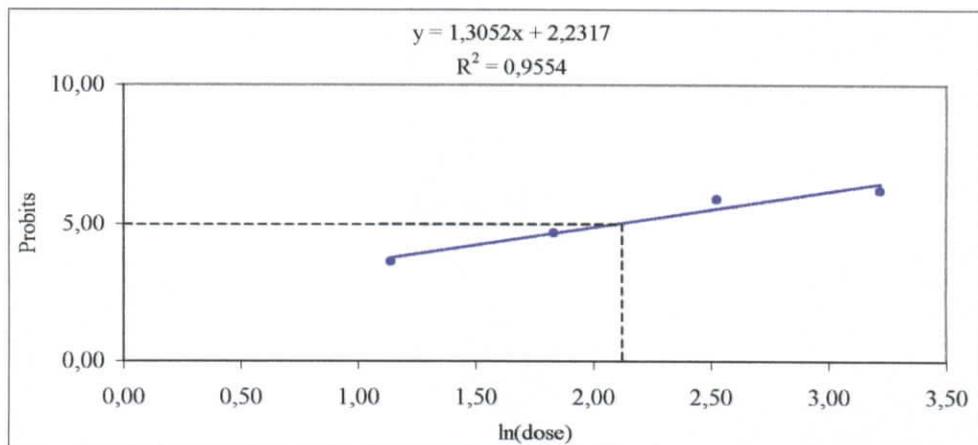
$$DL50 = 3,029\%$$

### VII.3 Détermination des *DL50* pour les tests de toxicité par inhalation



**Figure 26 :** Détermination de la *DL50* de l'huile essentielle de romarin pour la toxicité par inhalation

$$DL50 = 1,896 \%$$



**Figure 27 :** Détermination de la *DL50* de l'huile essentielle de thym pour la toxicité par inhalation

$$DL50 = 8,339 \%$$

**Tableau XXI :** *DL50* des huiles essentielles de romarin et de thym pour différents modes de toxicité

Mode	DL50 (%V)	
	Huile essentielle de romarin	Huile essentielle de thym
Contact	6,902	0,313
Ingestion – contact	6,432	3,029
Inhalation	1,896	8,339

L'examen de ce tableau permet de tirer les conclusions suivantes :

- Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus précédemment.
- L'huile essentielle de thym est plus toxique que l'huile essentielle de romarin que ce soit par contact ou par ingestion – contact.
- Pour le mode de toxicité par inhalation, c'est l'huile de romarin qui est la plus efficace.
- Dans tous les cas, les doses d'huile nécessaires pour avoir 50 % de mortalité des insectes sont faibles et particulièrement dans le cas de la toxicité par contact pour l'huile de thym et pour la toxicité par inhalation pour l'huile de romarin.

## VIII. CONCLUSION

A la lumière des résultats obtenus, il ressort que les huiles essentielles expérimentées présentent des effets insecticides sur *Rhizopertha dominica*. Cette propriété pourrait se révéler d'un intérêt certain dans la protection des cultures et de la préservation des denrées stockées des régions tempérées.

**CONCLUSION  
GENERALE**

# CONCLUSION

Au cours de cette étude deux aspects ont été abordés : le premier a été consacré à l'extraction des huiles essentielles de romarin et de thym, alors que le second a concerné l'évaluation de la toxicité de ces huiles sur *Rhizopertha dominica*, ravageur des céréales.

Dans un premier temps, nous avons donc procédé à l'extraction de l'huile de romarin provenant des plantations de l'institut National d'Agronomie et du thym provenant de la région de Médéa. Les rendements obtenus sont comparables à ceux cités dans la littérature.

L'étude de la cinétique d'extraction a montré un comportement similaire pour les deux plantes. En effet, l'extraction se fait en deux étapes : l'une à vitesse constante qui correspondrait à la récupération de l'huile superficielle et une seconde étape due à l'extraction de l'huile située dans des sites endogènes. Ces résultats ont été rapportés dans la littérature pour le romarin, mais devraient être confirmés pour le thym par des coupes histologiques de feuilles afin de localiser les sites d'huile essentielle.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier quelques constituants. Cependant ces résultats doivent être confirmés et complétés par d'autres techniques d'analyse.

Le dernier point abordé par cette étude est l'évaluation de la toxicité de ces huiles essentielles sur *Rhizopertha dominica*. Les résultats obtenus ont montré que ces huiles présentaient des effets insecticides sur ce ravageur et que la toxicité de l'huile de thym était plus importante que celle de l'huile de romarin par contact et ingestion – contact alors que l'inverse est observé dans le cas de la toxicité par inhalation. D'autres part, nous remarquons que la toxicité augmente avec la dose d'huile essentielle, et pour une concentration de 25% d'huile essentielle, nous avons 87 à 100% de mortalité quel que soit le mode de pénétration.

# **REFERENCES**

# **BIBLIOGRAPHIQUES**

■  
■

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] ENCYCLOPEDIE UNIVERSALIS (2000)
- [2] P. QUEZEL ; S. SANTA  
« Nouvelles flores d'Algérie et des régions désertiques méridionales », Tome 2, Ed. CNRS, Paris, (1963).
- [3] E. GUENTHER  
« The essential oils », vol III, ROBERT KRIEGER PUBLISHING Co. ; HUNTINGTON, N.Y., (1972).
- [4] H. RICHARD, B. BENJILALI, N. BANQUOUR et O. BARITAUX  
Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc.  
Lebensm-Wiss U.-Technol. (1985)
- [5] J. BELLAKHDAR  
« médecine traditionnelle et toxicologie ouest saharienne », Ed. Techniques nord-africaines, Rabat, (1978).
- [6] J. PASSET  
Thèse de doctorat d'Etat, Université de Montpellier - Pharmacie, (1971).
- [7] A. HERISSET, J. JOLIVET et P. REY  
« Différenciation de quelques huiles essentielles présentant une constitution voisine », Plantes médicinales et phytothérapie VII, (1973).
- [8] C. MATEO ; M.P MORERA. ; J. SANZ ; J. CALDERON ; A. HERNANDEZ  
« Estidio analítico de aceites esenciales precedentes de plantas espanolas », I° - Especies del genero thymus. Rivista italia EPPOS, (1978).
- [9] J. PASSET  
« La variabilité chimique chez le thym, ses manifestations, sa signification », Parfums, cosmétiques, arômes, (1979).
- [10] R. GRANGER et J. PASSET  
« Thymus vulgaris spontané de France : Races chimiques et chemotaxonomie. Phytochemistry », (1973).

- [11] R. GRANGER et J. PASSET  
« Types chimiques de *Thymus herba-barona* », (1974).
- [12a] R. GRANGER, J. PASSET et R. VERDIER  
« le gamma-terpinène, précurseur du P-cymène dans *thymus vulgaris* » L. C.R. Acad. Sc. Paris, (1964).
- [12b] M.S. KARAWYA and M.S. HIFNAWY  
« Flavors and nonalcoholic beverages », Journal of the AOAC, (1974).
- [12c] L.F. DELITALA ; V. SOLINAS ; C. GESSA  
« Variazioni stagionali quantitative e qualitative di olio essenziale e dei suoi fenoli in *thymus capitatus* Hofmegg et LK. ed in *thymus herba-barona* Loisel. Fitoterapia, (1983).
- [13] A. DJERRARI et J. CROUZET  
« Influence du mode d'extraction sur la composition de l'huile essentielle de thym (*thymus vulgaris*) », 4<sup>ème</sup> journées scientifiques internationales, Digne-Les-Bains, (1985).
- [14] J.A. BATTANDIER, L. TRABUT.  
« Flore de l'Algérie : les dicotylédones », ed. Adolphe & Jourdan, Alger.
- [15] NT. W.S. BENISTON  
« Fleurs d'Algérie », Ed. entreprise nationale du livre, Alger, (1984).
- [16] E. GILDMEISTER, F. HOFFMAN  
Die aetherischen Oele VII, (1961).
- [17] A.S. GUBB  
« La flore algérienne naturelle et acquise », ed. A.Jourdan, Alger, (1913).
- [18] J. BRUNETON  
« Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales », 2eme édition, Tech. & Doc, Lavoisier, Paris, (1993).
- [19] M.H. BOELENIS  
PERF.FLAV., (1985).
- [20] H. POURRAT ; J. LEMEN  
Ann.Pharm.franc, (1985).

- [21] R. MAIRE  
Bull Soc.Hist .Nat.Afr .Nord, (1932).
- [22] J.L. ROSUA ; A. GARCIA-GRANADOS  
Plant. Médecin.Phytother., (1987).
- [23] A. ROLET  
« Les plantes à parfum et les plantes aromatiques », Ed. J.B. Baillière & fils, (1930).
- [24] E. PERROT  
« La culture des plantes médicinales », Ed. J.B. Baillière & fils, Paris, (1947).
- [25] R. ROL ; M. JACAMON  
« Flore des arbres, arbustes et arbrisseaux : Régions méditerranéennes », Tome 3, Ed. La maison rustique, Paris, (1968).
- [26] E. PERROT  
« Matières premières usuelles du règne végétale. Thérapeutique- Hygiène- Industrie », Tome II, Ed. Masson & Cie, (1943-1944).
- [27] Y.MAHMOUDI  
« Connaissance des plantes naturelles les plus utilisées en Algérie », Ed. Maison du livre ANES, Blida, (1994).
- [28] F. PERINEAU ; L. GANOU ; G. LEVY ; A. GASET  
J. Chem. Tech. Biotechnol., sous presse.
- [29] V. E. HARTMANN ; P. RACINE ; J. GARNERO ; YTOLLARD D'AUDIFFRET  
Parf. Cosm. Arôm., 36, 33-40, (1980).
- [30] G. FOURNIER ; J. HABIB ; A. REGUIGUI ; F. SAFTA ; S. GUETARI ; R. CHEMLI  
Plant. Médecin. Phytothér., 23,180-185, (1983).
- [31] G. FLAMINI ; P. L. CIONI  
Rivista Ital. EPPOS., Ottavo, 21-24, (1992).
- [32] K. P. SVOBODA ; S. G. DEANS  
Flav. Frag. J., 7, 81-87, (1992).
- [33] N. ARNOLD ; G. VALENTINI ; B. BELLOMARIA ; H. LAQUER. H  
J. Essent. Oil. Res., 9,167-175, (1997).
- [34] A. BENAZIEZ ; A. OUDHA  
Projet de Fin d'Etudes d'Ingénieur, Institut de Chimie Industrielle, U.S.T.H.B, Alger, (1995).

- [35] T. BOUKHALFA  
Thèse de Magister, Institut de Chimie, U.S.T. H. B, Alger, (1991).
- [36] A. CHAHBOUB  
Thèse de Magister, Département de Génie Chimique, E.N.P, Alger, (1996).
- [37] S. FEKHAR  
Projet de Fin d'Etudes d'Ingénieur, Département de Génie Chimique, E.N.P, Alger, (1995).
- [38] E. PERROT  
« Plantes médicinales de France », Tome 1, Ed. Saint-Aubain d'Ecrosville, Paris, (1928).
- [39] C. BOUTEKEDJIRET  
Thèse de Doctorat d'Etat, Département de Génie Chimique, E.N.P, Alger, (1999).
- [40] R. R. Paris, H. MOYSE  
Matière médicale, Masson, Paris, (1976).
- [41] P. L. LAYMAN  
Chem. Eng. News, (1987).
- [42] E.CHARABOT ; J. DUPONT ; L. PILLET  
« Les huiles essentielles et leurs principaux constituants », Ch. Béranger, Paris, (1899).
- [43] E. BOCCHIO,  
Parfums Cosmétiques Arômes, (1985). (63), 61,
- [44] Y.-R NAVES  
«Qu'est-ce une Huiles Essentielle ? », Industrie chimique belge, (1964), p 11 Parfums, cosmétiques, savons 9,200, (1966).
- [45] AFNOR (Association Française de Normalisation)  
Recueil des Normes Françaises, Huiles essentielles, 5<sup>e</sup> Edition 1996, T.2, p4.
- [46] T. BERNARD ; F. PERINEAU ; R. BRAVO ; A. GASET  
«Extraction des huiles essentielles » information chimie n°298, (1988).
- [47] H. TATU  
L'industrie moderne des parfums, Institut Industriel D'Algérie. p16.
- [48] <http://enerbio.ifrance.com/enerbio/huiles3.html>

- [49] J. GARNERO ; *Phytotherapy*, (1985).
- [50] J. GARNERO, *Phytochemistry* , (1985).
- [51] Y.R. NAVES  
*Technologie des Parfums Naturels*, Masson, Paris, (1974).
- [52] *Pharmacopée française*,  
tome1, V.4.5.8., Maisonneuve, Paris, (1985).
- [53] P. DUQUENOIS ; *Phytothérapie*, (1984).
- [54] M. PARIS ; M. AUBRIELLE  
« *Abrégée de matière médicale, pharmacognosie* », Masson, Paris,(1981).
- [55] P.A.P. LIDDLE ; P. DE SMEDT  
*Parfums Cosmétique Arômes*, (1981).
- [56] L.PEYRON  
*Labo. Pharma. Probl. Tech.*, (1984).
- [57] L.PEYRON  
*Parfums Cosmétiques Arômes* , (1984).
- [58] M. PERUT  
*Informations Chimies*, (1986).
- [59] P. PELLERIN  
*Parfums Cosmétiques Arômes*, (1986).
- [60] J. ARTOZOUL ; M. BERNARD  
*Parfums Cosmétiques Arômes*, (1987).
- [61] MICHEL VANHOVE AROMATHERAPIE.  
D'après des articles de HENRI VIAUD, distillateur - thérapeutiques naturelles .  
GNOMA (1993)  
[www.nature-helps.com/France/viaud2.htm](http://www.nature-helps.com/France/viaud2.htm)

- [62] Institut technique des céréales et des fourrages ; « Les insectes et les acariens des céréales stockées » ; Ed. Normes et techniques ; (1978).
- [63] S. GATINEAU  
Les huiles essentielles, thérapeutique naturelle. Rev. Française apicul., (1985).
- [64] K. V. RAMAN  
« Les teignes des pomme de terres », Bull. D'information tech., (1987).
- [65] R. MODGIL and R. SAMUELS  
« Efficacy of mint and eucalyptus leaves on physico-chemical characteristics of stored wheat against insect infestation ». Nahrung, (1998).
- [66] S. GAKURU and K. FOUABI  
compared effect of four plant essential oils against cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* F. and rice weevil *Sitophilus oryzae* L. Tropicultura, vol.13
- [67] D. OBENG OFORI ; Ch. REICHMUTH ; J. BEKELE and C.I.A. HASSANA  
Biological activity of 1,8-cinéole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. Journal of applied entomologie, (1997).
- [68] J. GWINNER R. HARMISCH and O. MÜCK  
manuel sur la manutention et la conservation des grains après la récolte. Ed GTZ Eshborn., (1996).
- [69] C. REGNAULT – ROGER and A. HAMRAOUI  
defense against phytophagous insects by aromatic plant allelochemicals. Ata Botanica Gallila, (1997).
- [70] M. PASCUAL – VILLALABOS, and A. Screening for anti-insect activity in mediterranean plants. Industrial crops and products. (1998)
- [71] Techniques de l'ingénieur les huiles essentielles : propriétés physico-chimiques, Garnero K345.
- [72] ROUESSAC, Analyse Chimique (Méthode et technique)  
Ed. Dunod-Paris (1998)
- [73] CAVELLIER, Cours de phytopharmacie générale.  
L'Institut National d'Agronomie - Alger (1975)
- [74] ELENKOVA N., Chimie analytique et méthode physique d'analyse  
Ed. Technika - Sofia (1983)