REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi - Bordj Bou Arreridj

Faculté *des Sciences et de la technologie*

***Département de* génie de l'environnement**

Mémoire

Présenté pour obtenir

LE DIPLOME DE MASTER

FILIERE : GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Génie des procédés de l'environnement

Par

- **BENNIA Lina**
- **ZENZANE Fatima**

Intitulé

Extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus

Soutenu le : 30/06/2025

Devant le Jury composé de :

Nom & Prénom	*Grade*	*Qualité*	*Etablissement*
Mme BANOU Meriem	*MCB*	*Président*	*Univ-BBA*
Mme ABDOUNE Yamina	*MCB*	*Encadreur*	*Univ-BBA*
Mr BAHAH Salah	*MCB*	*Examinateur*	*Univ-BBA*

Année Universitaire 2024/2025

Remerciement

Nous remercions Dieu, du fond du cœur et avec des âmes reconnaissantes, pour toutes les bénédictions qu'Il nous a accordées. Il nous a inspirés divinement à chaque instant de lutte, et nous a donné la force de transformer chaque défi en une énergie intérieure renouvelée. Merci pour Ton soutien constant et Ta bienveillance, qui ont été notre appui en tout temps.

À nos chères familles,

Aucun mot ne saurait exprimer pleinement notre gratitude. Merci pour votre soutien affectueux, pour votre foi profonde en nous, et pour votre amour indéfectible. Votre présence a été une source constante de motivation pour atteindre nos objectifs.

À notre encadreur Mme. ABDOUNE Yamina,

Modèle vivant de la célèbre citation : « Ne me donne pas un poisson, mais apprends-moi à pêcher. »

Vous nous avez appris à dépasser les limites que nous pensions infranchissables, et vous nous avez donné la confiance nécessaire pour affronter les difficultés avec courage. Vous avez été la force qui nous a poussés à surmonter les barrières que nous nous étions imposées, nous guidant jusqu'au seuil du miracle dont vous parliez dans les moments de découragement provoqués parfois par vos critiques. À chaque fois que vos mots nous heurtaient, nous découvrions en nous des choses insoupçonnées. Merci d'avoir transformé ces émotions difficiles et ces moments d'abattement en une force motrice, et de nous avoir fait croire que ce que nous avons accompli est véritablement un miracle, même si tout le monde n'en perçoit pas la valeur de la même manière.

À notre jury,

Nous vous remercions sincèrement pour vos orientations, pour le partage de vos savoirs, et pour vos remarques précieuses. Nous sommes profondément reconnaissants pour vos efforts.

Enfin,

Merci à tous ceux qui nous ont offert leur temps et leurs efforts avec amour, et qui nous ont soutenus dans nos moments difficiles.

Dédicace

Au terme de ce long parcours, où chaque instant fut une pierre posée sur le chemin de la connaissance, je souhaite avant tout rendre hommage à ceux qui ont éclairé ma route, qui ont porté mes doutes, nourri mes espoirs, et soutenu mes efforts avec un amour sans faille.

Ce travail, humble fruit de mes recherches, est dédié à ces âmes précieuses, sans lesquelles rien de tout cela n'aurait été possible.

À toute ma famille,

Vous avez été le socle solide et la source inépuisable de mon inspiration.

À ma mère bien-aimée,

Ton amour silencieux, ta patience infinie et tes prières discrètes ont été les racines profondes de mon courage. Tu as veillé dans l'ombre quand mes pas tremblaient. Que ce travail te rende hommage, tendrement et sincèrement.

À mon père,

Tu as toujours été mon pilier et mon refuge. Tu m'as appris la valeur du travail acharné et de la persévérance. Merci pour chaque instant passé à mes côtés, pour ta main tendue lors de la collecte des plantes étudiées dans ce mémoire, et pour ton soutien infaillible qui a été le véritable moteur de cette réussite. Ce travail est aussi le fruit de notre effort commun, que je t'offre avec fierté et gratitude.

À mon oncle,

Fidèle compagnon des longues journées de terrain, ton dévouement humble et généreux a insufflé une âme à cette recherche. Ta présence constante restera gravée dans ma mémoire.

À mes frères et sœurs,

Vous avez été mon refuge et ma force. Chaque parole de soutien fut une lumière sur mon chemin.

À mes professeurs,

Merci pour votre savoir, votre patience et votre guidance précieuse qui ont éclairé ma route académique.

À mes amis,

Votre présence lumineuse, vos encouragements constants et votre solidarité ont été les respirations nécessaires dans l'intensité du travail.

Ce mémoire est le fruit d'un chemin parcouru ensemble. À chacun de vous, je le dédie avec une reconnaissance profonde et un cœur rempli d'affection.

Résumé

Les huiles essentielles de l'eucalyptus globulus sont largement intégrée dans les industries cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires. Dans cette étude le rendement d'extraction des huies essentielles des feuilles de l'eucalyptus globulus par hydrodistillation a été modélisé et optimisé par la méthode des plans d'experiences. Nous avons choisi le plan de Box- Behnken à trois facteurs pour modéliser le rendement en fonction du temps, de la taille des feuilles et du rapport de la masse d'eau sur la masse des feuilles. Le traitement statistique des données à l'aide du logiciel MINITAB version 19 a permis la présentation de résultats précis. Le modèle obtenu est significatif avec $R^2 > 90\%$. Les effets des facteurs les plus significatif sur le rendement sont : le temps, l'interaction entre le temps et la taille et entre le temps et le rapport. L'activité antioxydante évaluée par le test DPPH a révélé un pouvoir antioxydant avec un IC_{50} de 0.432 mg/ml.

Mots clés : Extraction, Huile essentielle, Eucalyptus globulus, plan de Box- Behnken Activités antioxydantes.

Abstract

Eucalyptus globulus essential oils are widely used in the cosmetic, pharmaceutical, and food industries. In this study, the extraction yield of essential oils from Eucalyptus globulus leaves by hydrodistillation was modeled and optimized using the experimental design method. We selected the three-factor Box-Behnken design to model yield as a function of time, leaf size, and the ratio of water mass to leaf mass. Statistical data processing using MINITAB version 19 software enabled the presentation of accurate results. The obtained model is significant with $R^2 > 90\%$. The most significant effects of the factors on yield are: time, the interaction between time and size, and between time and ratio. Antioxidant activity assessed by the DPPH test revealed antioxidant power with an IC_{50} of 0,432 mg/ml.

Keywords: Extraction, Essential oil, Eucalyptus globulus, Box-Behnken plan Antioxidant activities.

ملخص

تُستخدم زيوت الأوكالبتوس غلوبولوس العطرية على نطاق واسع في صناعات التجميل والأدوية والأغذية. في هذه الدراسة، تم نمذجة وتحسين إنتاجية استخلاص الزيوت العطرية من أوراق الأوكالبتوس غلوبولوس بالتقطير المائي باستخدام أسلوب التصميم التجريبي. وقد اخترنا تصميم بوكس-بهينكن ثلاثي العوامل لنمذجة الإنتاج كدالة للزمن، وحجم الورقة، ونسبة كتلة الماء إلى كتلة الورقة. وقد أتاحت معالجة البيانات الإحصائية باستخدام برنامج MINITAB الإصدار 19 عرض نتائج دقيقة. وكان النموذج الناتج ذا دلالة إحصائية عند $R2 > 90\%$. وتمثلت أهم تأثيرات العوامل على الإنتاج في: الزمن، والتفاعل بين الزمن والحجم، وبين الزمن والنسبة. وقد كشف النشاط المضاد للأكسدة، الذي تم تقييمه باستخدام اختبار DPPH، عن فعالية مضادة للأكسدة بتركيز IC_{50} قدره 0,432 ملغ/مل.

الكلمات المفتاحية: الاستخلاص، الزيت العطري، الأوكالبتوس غلوبولوس، تصميم بوكس-بهينكن، الأنشطة المضادة للأكسدة.

Table des matières

Liste des symboles et abréviations ……..……...…I

Liste des figures…….……..…...…III

Liste des tableaux…….……...…….....…IV

Introduction générale…….……...…1

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Huiles essentielles 3

I.1.1 Définition des huiles essentielles 3

I.1.2 Rôle des huiles essentielles 3

I.1.3 Localisation dans les plantes 4

I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles 5

I.1.5 Applications des huiles essentielles 6

I.1.6 Toxicité des huiles essentielles 8

I.1.7 Techniques d'analyses des huiles essentielles 8

I.2 Eucalyptus globulus 9

I.2.1 Historique sur la plante eucalyptus 9

I.2.2 Description botanique de l'eucalyptus globulus 10

I.2.3 Noms vernaculaires 11

I.2.4 Etymologie de l'espèce 11

I.2.5 Classification botanique d'Eucalyptus globulus 12

I.2.6 Origine de la plante 12

I.2.7 Localisation géographique de la plante en Algérie 12

I.2.8 Composition chimique de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus 13

I.2.9 Utilisation des huiles essentielles d'eucalyptus globulus 13

I.2.10 Production mondiale et échanges commerciaux des huiles essentielles d'eucalyptus globulus 14

I.2.11 Toxicité des huiles essentielles d'eucalyptus 14

I.3 Méthodes d'extractions des huiles essentielles 14

I.3.1 Extraction par distillation à la vapeur d'eau 15

I.3.2 Extraction par hydro distillation 16

I.3.3 Extraction par les solvants organiques 17

I.3.4 Extraction par micro-ondes 17
I.3.5 Extraction au dioxyde de carbone supercritique 18
I.3.6 Extraction ultrasons 19

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Matérière végétale 21
II.1.1 Récolte et séchage des feuilles de l'eucalyptus globulus 21
II.1.2 Broyage des feuilles 21
II.2 Protocole d'extraction par hydrodistillation 22
II.2.1 Appareillages et verreries 22
II.2.2 Description du montage 22
II.3 Rendement en huile essentielle : 24
II.4 Plan d'expérience 24
II.4.1 Définition 24
II.4.2 Rôle 24
II.4.3 Principe 24
II.4.4 Applications industrielles et scientifiques 25
II.4.5 Plan de Box-Behnken 25
II.4.6 Choix des facteurs 26
II.5 Activités antioxydantes d'eucalyptus globulus 27
II.5.1 Appareillages et verreries 27
II.5.2 Réactifs et Solvants 27
II.5.3 Test de piégeage du radical DPPH 27
a. Préparation de la solution mère de l'huile essentielle 28
b. Préparation de la solution DPPH 28
c. Préparation des dilutions et lecture des résultats d'activité antioxydant 29

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Application du plan d'expériences 31
III.1.1 Modélisation 31
III.1.2 Évaluation de l'adéquation du modèle statistique 32
III.1.3 Diagramme de Pareto 34
III.1.4 Diagramme des effets principaux 34
III.1.5 Diagramme des effets d'interactions 35
III.1.6 Graphiques des contours 36
III.1.7 Optimisation des paramètres qui maximise la réponse 38
III.2 Test de piégeage du radical DPPH 39

Conclusion générale……41

Références bibliographiques 43

Liste des symboles et abréviations

av.J:C : Avant Jésus-Christ

CO_2-SC : Dioxyde de carbone supercritique

CPG/MS : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse

°C : Degré Celsius

A_b : Absorbance blanc du test

A_c : Absorbance du contrôle

AFNOR : Association Française de Normalisation

A_t : Absorbance du test

CH_3OH : Méthanole

CO_2 : Dioxyde de carbone

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

CPL: Chromatographie en Phase Liquide

D : Taille des partécule

DL_{50}: Dose létale 50%

DPPH : 2.2-diphényle-1-picrylhydrazyle

EG: Eucalyptus globulus

FID: Détecteur à ionisation de flamme.

FTIR : Détecteur infrarouge à transformée de Fourier

g : gramme

h : heurs

HE : Huile essentielle

HEEG: Huile essentielle d'eucalyptus globulus

IC_{50} : Concentration inhibitrice à 50 %

K Hz : kilohertz

L : Litre

m_{HE} : masse de l'huile essentielle

m_{MV} : masse de matière végétale

mg/ml : milligramme par millilitre

ml : millilitre

mm : millimètre

mM : millimolaire

MS: Spectromètre de masse

nm : nanomètre

PC : pression critiques

PE : Plan d'expérience

r : rapport de masse

Re : Rendement

t: temps

TC : température critiques

UV : Ultraviolet

UV-Vis : Ultraviolet-Visible

α : alpha

β : bêta

γ : gamma

mg/ml : Miligramme par millilitre

Liste des figures

Figure I.1 : Les quatre types de trichomes sécréteurs observés chez Lavandula angustifolia Mill. 4
Figure I.2 : Poches sécrétrices. A : Schizogène, B : Schizolysigène 5
Figure I.3 : Feuilles d'eucalyptus. globulus sur des rameaux âgés. 10
Figure I.4 : Boutons floraux (A) et Fleurs (B) d'eucalyptus. globulus 11
Figure I.5 : Capsules d'eucalyptus. globulus 11
Figure I.6 : Extraction par distillation à la vapeur d'eau 16
Figure I.7 : Schéma de l'hydrodistillation 16
Figure I.8 : Montage d'extraction par micro-ondes 18
Figure I.9 : Schéma de la technique d'extraction de dioxyde de carbone (CO_2) supercritique 19
Figure I.10 : Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore. 20

Figure II.1 : Broyeur 21
Figure II.2 : les billes de fer de broyeurr 21
Figure II.3 : Tamisage de la plante broyé 22
Figure II.4 : Ballon 23
Figure II.5 : Montage expérimentale d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles à l'aide du dispositif de Clevenger 23
Figure II.6 : Illustration du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs 25
Figure II.7 : Solution mère de l'HE 28
Figure II.8 : Solution de DPPH 28
Figure II.9 : Les solutions de test; du blanc et de contrôle 29

Figure III.1 : Effets des facteurs et leurs combinaisons sur le rendement 32
Figure III.2 : Représentation graphique des réponses théoriques en fonction des réponses mesurées. 33
Figure III.3 : Diagramme de dispersion des résidus 33
Figure III.4 : Diagramme de Pareto des effets normalisés. 34
Figure III.5 : Diagramme des effets principaux sur le rendement d'extraction de l'HE 35
Figure III.6 : Diagramme des effets d'interaction sur le rendement d'extraction de l'HE (a): Interaction taille et temps, (b): Interaction rapport et temps, (c): Interaction rapport et taille. 36
Figure III.7 : Diagramme de contours pour le rendement d'extraction de l'HE. (a): Interaction taille et temps, (b): Interaction rapport et temps, (c): Interaction rapport et taille. 37
Figure III.8 : Diagramme de surface pour le rendement correspond à un temps 39
Figure III.9 : Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'HE 40

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Classification botanique d'eucalyptus globulus ……..12

Tableau II.1 : Facteurs choisis pour le plan d'expérience.....26
Tableau II.2 : Préparation des solutions diluées de l'HEEG 29

Tableau III.1 : Plan de Box-Behnken avec les réponses expérimentales 31
Tableau III.2 : Les valeurs des paramètres d'extraction après l'optimisation 39
Tableau III.3 : Le porcentage d'inhibition d'HE d'eucalyptus globulus en fonction de leur cooncentrations.....40

Introduction générale

Introduction générale

Les huiles essentielles (HE) représentent un patrimoine thérapeutique ancestral dont l'importance transcende les époques et les cultures. Les premières traces de leur utilisation remontent à environ 3000 av. J.-C. en Égypte ancienne. Au fil des millénaires, ces connaissances se sont enrichies grâce aux apports successifs des civilisations grecque, romaine et arabo-musulmane, notamment avec les travaux d'Avicenne sur les techniques de distillation vers l'an 1000 [1].

Parmi les espèces végétales les plus remarquables « Eucalyptus globulus » (EG) se distingue par ses particularités botaniques et chimiques. Découvert lors des expéditions du capitaine Cook (1768-1771), cet arbre australien fut officiellement décrit en 1788 par le botaniste L'Héritier, qui lui donna le nom Eucalyptus en référence à son opercule floral caractéristique. Avec plus de 700 espèces identifiées à ce jour, ce genre constitue une source majeure de composés bioactifs [2].

L'extraction par hydrodistillation, en utilisant un appareil de type Clevenger, est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour isoler les huiles essentielles.

Le présent travail a pour but d'étudier l'influence de certains paramètres sur l'extraction des HE par hydrodistillation ainsi que la détermination des paramètres optimums de l'extraction. Pour cela la méthode des plans d'expérience dite box Behnken à trois facteurs a été utilisée. Les paramètres d'extraction étudiée sont : le temps d'extraction, la taille des feuilles de l'EG broyé et le rapport de la masse d'eau sur la masse végétale.

Ce mémoire adopte une organisation en trois chapitres fondamentaux :

Chapitre I : Recherche bibliographique : Ce chapitre présente une synthèse bibliographique qui rassemble des données essentielles sur les huiles essentielles, les méthodes d'extraction des HE. Ce chapitre présente aussi un aperçu général sur d'eucalyptus globulus.

Chapitre II : Matériels et méthodes : Cette section décrit de manière systématique les équipements, protocoles expérimentaux et méthodes analytiques employés dans cette étude.

Chapitre III : Résultats et discussion : Ce chapitre présente et interprète de manière critique les données obtenues, articulant les résultats expérimentaux avec les connaissances actuelles pour en dégager les implications scientifiques et pratiques.

Chapitre I

Recherche bibliographique

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.1 Huiles essentielles

I.1.1 Définition des huiles essentielles

Selon AFNOR : (norme NF T 75-006) : « L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation «sèche».

Une huile essentielle est un assemblage volatil de composés organiques extrait de diverses parties des plantes, notamment les fleurs, bourgeons, graines, feuilles, tiges, écorces, herbes, bois, fruits et racines. Son obtention repose sur des procédés physiques, parmi lesquels la distillation à la vapeur demeure la technique la plus couramment employée pour la production industrielle [3]**.**

I.1.2 Rôle des huiles essentielles

Dans la physiologie végétale Selon plusieurs auteurs, les HE jouent un rôle attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs, facilitant ainsi le processus de pollinisation, tout en exerçant un effet répulsif sur certains organismes nuisibles.

De plus, elles interviennent dans la régulation hormonale et métabolique des végétaux en agissant comme modulateurs et catalyseurs de diverses réactions biochimiques, contribuant ainsi à l'adaptation des plantes à leur environnement.

Belaiche (1979) souligne l'importance des huiles essentielles dans l'écophysiologie des plantes désertiques, en favorisant la rétention de l'humidité essentielle à leur survie. En effet, les émanations aromatiques saturent l'air environnant, limitant ainsi les variations thermiques extrêmes : elles atténuent la hausse des températures diurnes et freinent le refroidissement nocturne, assurant ainsi un microclimat plus stable pour le développement végétal.

Par ailleurs, ces composés volatils joueraient un rôle clé dans la communication allélopathique entre les plantes, leur diversité structurale permettant la transmission de signaux biologiques spécifiques et sélectifs.

En autre, les HE possèdent des propriétés antimicrobiennes, antivirales, antifongiques et herbicides, tout en influençant le comportement alimentaire des herbivores en réduisant leur appétence pour les plantes qui en sont riches.

Enfin, Guignard et al. (1985) suggèrent que ces composés pourraient également constituer une source d'énergie pour la plante, en étant stockés durant la journée puis dégradés la nuit en acétyl-coenzyme A, un intermédiaire clé du métabolisme énergétique [4]**.**

I.1.3 Localisation dans les plantes

Les HE sont stockés au sein du cytoplasme de cellules végétales sécrétrices, présentes dans un ou plusieurs organes de la plante. Parmi ces structures, on distingue notamment les poils sécréteurs, également appelés trichomes. Ces derniers se déclinent en quatre formes principales (Figure I .1) : Des structures multicellulaires en plateau soutenues par un pédicelle court, ainsi que des poils peltés, capités à pied court ou long, ou encore à surface bosselée. Selon l'espèce végétale, ces poils sécréteurs peuvent être externes ou internes, comme c'est le cas chez certaines variétés d'eucalyptus.

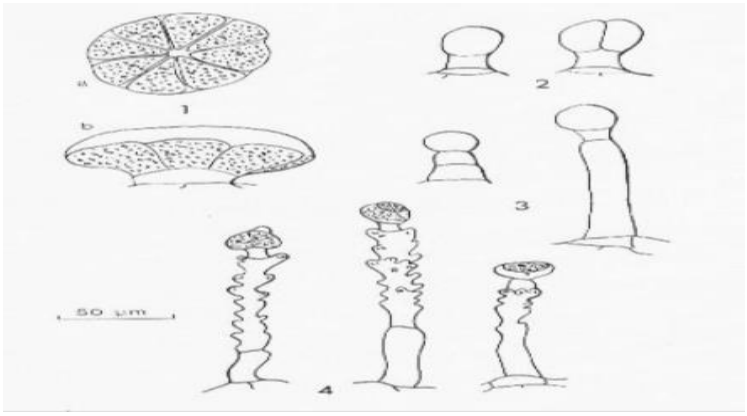

Figure I.1: *Les quatre types de trichomes sécréteurs observés chez Lavandula angustifolia Mill. (1) Poil pelté, (a) vue de dessus, (b) vue de profil ; (2) Poil capitécourt ; (3) Poil capité long ; (4) Poil sécréteur bosselé, différents stades de la sécrétion [1]*

Les cellules épidermiques spécialisées, plus petites et perméables en raison de l'absence de cutine, se retrouvent principalement dans les pétales.

Les cellules sécrétrices internes, plus grandes et épaisses, sont présentes dans divers tissus comme le parenchyme, le phloème et le xylème.

Les poches sécrétrices (Figure I.2) se forment par division cellulaire et évoluent selon deux processus : schizogène, avec une seule rangée cellulaire entourant la cavité, ou schizolysigène, où des rangées successives se forment avec lyse des cellules internes. Ces structures sont essentielles à l'accumulation et à la libération des HE.

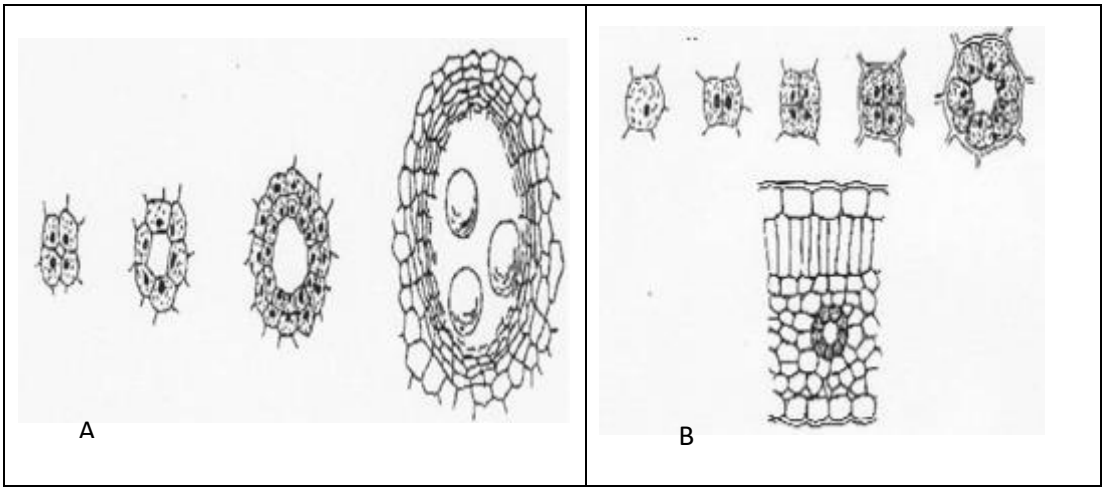

Figure I.2 : *Poches sécrétrices. A : Schizogène, B : Schizolysigène [1].*

I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles

Les HE se composent principalement d'hydrocarbures terpéniques, comprenant les monoterpènes et les sesquiterpènes, ainsi que de composés oxygénés. Ces derniers, appartenant à la famille des substances aromatiques, sont classés parmi les phénylpropanoïdes.

En plus des hydrocarbures terpéniques et des composés oxygénés, des acides gras, des lactones, des alcaloïdes de faible poids moléculaire et des dérivés de l'hydrolyse des hétérosides. Leur synthèse repose sur le métabolisme des glucides, via deux principales voies : l'acide mévalonique pour les composés terpéniques et l'acide shikimique pour les phénylpropanoïdes.

Elles distinguent par la présence de « deux à trois composés majoritaires » pouvant atteindre des concentrations élevées, jusqu'à 80 %, tandis que les autres constituants ne sont présents qu'en quantités traces.

I.1.5 Applications des huiles essentielles

I.1.5.1 Médecine

L'usage thérapeutique des plantes, pratiqué depuis des siècles, a progressivement conduit, grâce aux avancées scientifiques et techniques, à l'extraction et à l'identification de leurs principes actifs. Il convient de différencier deux approches complémentaires :

- **La phytothérapie :** Il repose sur l'utilisation des plantes dans leur totalité ou en partie, sous diverses formes telles que les teintures mères, extraits fluides ou secs, poudres, infusions et décoctions.
- **L'aromathérapie :** Il exploite uniquement les principes actifs extraits d'une partie spécifique de la plante sous forme hautement concentrée**.**

Ces deux disciplines sont synergiques : l'aromathérapie est principalement indiquée dans la prise en charge des affections aiguës, tandis que la phytothérapie est plus adaptée aux pathologies chroniques.

I.1.5.2 Cosmétologie

Les HE sont largement exploités pour leurs qualités olfactives dans divers secteurs industriels. Elles jouent un rôle essentiel en cosmétique, notamment dans la formulation des parfums, ainsi que dans les compositions parfumantes des détergents et des produits de parfumerie fonctionnelle.

I.1.5.3 Industrie agroalimentaire

Dans l'industrie alimentaire, elles sont utilisées pour intensifier et sublimer les arômes, en particulier dans les plats préparés. En parfumerie fonctionnelle, leur sélection vise principalement à accentuer la sensation de fraîcheur et de propreté [5]**.**

I.1.5.4 Agriculture

Dans un contexte où la réduction de l'usage des pesticides de synthèse est devenue une priorité, notamment en France sous l'impulsion des politiques publiques, les HE se présentent comme une alternative prometteuse pour la protection des cultures.

La prise de conscience environnementale s'est notamment traduite par des initiatives telles que le grenelle de l'environnement, qui rassemble des acteurs politiques et issus de la société civile afin d'élaborer des stratégies en faveur du développement durable.

Parmi les mesures mises en place, certaines législations visent à réduire de moitié l'utilisation des produits phytosanitaires sur une période de dix ans, avec une échéance initialement fixée à 2018.

Dans ce cadre, les pesticides d'origine naturelle, en particulier ceux formulés à partir d'huiles essentielles, apparaissent comme une alternative efficace non seulement contre les insectes ravageurs, mais également contre les adventices et les agents phytopathogènes.

Les HE possèdent plusieurs atouts qui en font des candidates de choix dans la lutte contre les nuisibles :

- Un coût relativement faible et une disponibilité assurée grâce à une production mondiale significative pour de nombreuses variétés.
- Une diversité de modes et de sites d'action sur les insectes, limitant ainsi le risque de développement de résistances.
- Une toxicité généralement faible pour les mammifères, à quelques exceptions près.
- Une dégradation rapide dans l'environnement en raison de leur volatilité, avec une demi-vie inférieure à 24 heures sur les surfaces, dans les sols ou dans l'eau.

Ainsi, l'intégration des huiles essentielles dans les stratégies de protection des cultures constitue une piste de recherche et d'innovation particulièrement intéressante dans le cadre d'une agriculture plus respectueuse de l'environnement [6]**.**

I.1.6 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances naturelles concentrées, reconnues pour leurs nombreuses propriétés biologiques. Toutefois, leur usage inapproprié, prolongé ou à fortes doses peut entraîner des effets indésirables, voire toxiques, pour l'organisme.

Certaines molécules présentes dans ces huiles peuvent provoquer des réactions cutanées (irritations, allergies), des atteintes des muqueuses respiratoires ou digestives, et, dans certains cas, des troubles du système nerveux central comme des convulsions ou des crises épileptiformes. Ces effets sont principalement liés à la présence de composés comme les cétones (ex. : dans l'armoise), le camphre ou l'eucalyptol.

Les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées ou présentant des pathologies chroniques constituent des populations particulièrement sensibles aux effets toxiques de certaines huiles. L'ingestion accidentelle ou l'application cutanée non diluée peut engendrer des complications sérieuses.

Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence une hépatotoxicité ou une néphrotoxicité associée à une exposition prolongée ou à un surdosage de certaines huiles essentielles. C'est pourquoi la connaissance précise de leur composition chimique et le respect des posologies recommandées sont essentiels pour un usage sûr.

En somme, malgré leurs vertus thérapeutiques reconnues, les huiles essentielles doivent être utilisées avec précaution. Leur emploi exige une bonne maîtrise des doses, une attention particulière au mode d'administration, et une sensibilisation des utilisateurs aux risques potentiels, notamment dans les domaines de la médecine traditionnelle et des soins cosmétiques [7]**.**

I.1.7 Techniques d'analyses des huiles essentielles

I.1.7.1 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie est une technique d'analyse essentielle permettant de séparer, identifier et quantifier les différentes espèces chimiques présentes dans un mélange complexe. Son principe repose sur la répartition différentielle des analyses entre deux phases : une phase

stationnaire, qui peut être un solide ou un liquide fixé sur un support solide, et une phase mobile, qui peut être un gaz (Chromatographie en Phase Gazeuse, CPG) ou un liquide (Chromatographie en Phase Liquide, CPL).

La CPG constitue la méthode de référence pour l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles.

En particulier, la chromatographie en phase gazeuse capillaire à haute résolution, grâce à ses phases stationnaires spécifiques, représente un outil performant pour la séparation des composés volatils. Cette technique permet également un couplage avec divers spectromètres, améliorant ainsi la quantité et la qualité des informations obtenues. Les détecteurs les plus couramment utilisés incluent le spectromètre de masse (MS), le détecteur à ionisation de flamme (FID) et le détecteur infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).

I.1.7.2 Chromatographie en phase gazeuse (CPG/SM)

Dans le domaine des huiles essentielles et des arômes, la CPG couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) constitue une méthode d'analyse avancée permettant de séparer, identifier et quantifier des composés présents en très faibles concentrations. L'identification des substances repose sur la comparaison de leur spectre de masse avec ceux référencés dans des bases de données informatisées. Cette identification est validée lorsque le degré de similitude entre le spectre de l'échantillon et celui de la bibliothèque est suffisant et que les indices de rétention correspondent dans des conditions analytiques comparables [8]**.**

I.2 Eucalyptus globulus

I.2.1 Historique sur la plante eucalyptus

Le naturaliste britannique Sir Joseph Banks (1743–1820) fut le premier à mentionner les eucalyptus. C'est au cours du premier voyage du capitaine James Cook (1728–1779), entre 1768 et 1771, que Banks découvrit en Australie ces arbres majestueux, capables, selon les espèces, d'atteindre des hauteurs dépassant les 100 mètres.

Il fallut cependant attendre plusieurs années avant que le genre botanique ne soit officiellement reconnu. En 1788, le botaniste français Charles-Louis L'Héritier de Brutelle

(1746–1800) décrivit et nomma pour la première fois le genre Eucalyptus, en se basant sur des spécimens rapportés en Angleterre par Banks. Le nom dérive du grec ancien : « eu » signifiant « bien », et « kalyptos » signifiant « couvert », en référence au périanthe qui dissimule les étamines sous un opercule (ou capuchon) qui se détache au moment de l'anthèse, phénomène floral caractéristique du genre.

Dès 1809, à la faveur de nombreuses expéditions botaniques, plus d'une trentaine d'espèces d'eucalyptus étaient déjà identifiées. À ce jour, la taxonomie moderne recense plus de 700 espèces appartenant à ce genre.

I.2.2 Description botanique de l'eucalyptus globulus

L'eucalyptus globulus (EG) est un arbre majestueux (Figure I.3), atteignant 30 à 60 mètres de hauteur, avec un tronc lisse et grisâtre pouvant mesurer jusqu'à 1,5 mètre de diamètre. Son écorce, qui se détache en longues bandes, varie du blanc au bleu-gris. Les feuilles, persistantes et simples, présentent un dimorphisme foliaire selon l'âge : celles des jeunes rameaux sont opposées, ovales et recouvertes d'une pruine bleu-gris, tandis que celles des rameaux âgés sont alternes, falciformes, et plus riches en principes actifs.

Figure I.3 : *Feuilles d'eucalyptus. globulus sur des rameaux âgés [2].*

Ces fleurs (Figure I.4) sont également mellifères, produisant un miel aromatique. Le fruit, une capsule loculicide (Figure I.5), est sphérique et s'ouvre par des fentes en étoile pour libérer les graines.

Figure I.4 : *Boutons floraux (A) et Fleurs (B) d'eucalyptus. globulus.* [2]

Figure I.5 : *Capsules d'eucalyptus. globulus [2]*

I.2.3 Noms vernaculaires

L'EG est désigné sous divers noms dans différentes langues, bien que nous nous limiterons ici aux dénominations en français, anglais et allemand, en présentant deux à trois appellations par langue. En français, le terme le plus fréquemment rencontré est *« eucalyptus globuleux »*. Parmi les synonymes, on retrouve *« gommier bleu »*, un nom attribué par M. de La Billardière en raison de la pruine bleu-gris qui recouvre la face inférieure des feuilles et de la capacité de l'arbre à produire une gomme lorsqu'on incise le tronc , ainsi que *« arbre à fièvre »*, en référence à l'usage de cet arbre dans des zones marécageuses insalubres pour assécher les sols et éliminer les moustiques vecteurs de maladies, notamment le paludisme . En allemand, l'EG est couramment désigné sous les noms de *« Fieberheilbaum »* et *« Blauer Eukalyptusbaum»*. Enfin, en anglais, on rencontre les appellations *« Australian fevertree »* et *« Blue gum »*.

I.2.4 Etymologie de l'espèce

Le terme *« globulus »* fait référence à la forme arrondie et compacte de l'opercule du fruit, qui rappelle une petite sphère. Ce nom a été attribué à l'espèce en raison de la caractéristique de son fruit, où l'opercule présente une forme globulaire distincte. Cette spécificité

morphologique est l'une des raisons pour lesquelles l'Eucalyptus globulus a été ainsi désigné [2].

I.2.5 Classification botanique d'Eucalyptus globulus

Tableau I.1 : *Classification botanique d'eucalyptus globulus [9]*

Règne	**Plante**
Sous règne	Tracheobionta
Super division	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	Eucalyptus globulus

I.2.6 Origine de la plante

Appartenant à la famille des Myrtacées, les eucalyptus sont des espèces originaires d'Australie qui se sont progressivement acclimatées dans de nombreuses régions du globe, notamment dans les pays du bassin méditerranéen (tels que l'Espagne, la France et l'Italie), ainsi qu'en Amérique du Nord (États-Unis, Mexique) et du Sud (Brésil, Chili) [10].

I.2.7 Localisation géographique de la plante en Algérie

Actuellement, des plantations d'Eucalyptus sont établies le long du littoral, en particulier dans les régions d'El-Kala et d'Azzefoun.

L'espèce est également largement répartie dans les zones de la Mitidja et de Hadjout, témoignant de sa capacité d'adaptation à divers écosystèmes du nord de l'Algérie.

La répartition géographique de l'EG en Algérie présente une implantation variable selon les régions. Dans la wilaya de Blida, l'espèce est localement connue sous le nom de Kafour et occupe une superficie de 41 ares. À Boumerdès, également désignée sous le nom de Kafour,

elle couvre environ 93 hectares et 70 ares. Dans la wilaya de Relizane, bien que le nom local est Calatous, la surface occupée n'est pas spécifiée. À Skikda, bien que le nom local ne soit pas précisé, avec une superficie d'environ 2 250 hectares. À Sidi Bel Abbès, elle est connue sous le nom d'Ouerg el Kafour et couvre 342 hectares. Dans la wilaya de Sétif, également désignée sous le nom de Calatous, mais une superficie de 10 ares. Et, dans la wilaya d'El Tarf, aucune appellation locale n'est indiquée l'eucalyptus est présent sur environ 1 000 hectares [11]**.**

I.2.8 Composition chimique de l'huile essentielle d'eucalyptus globulus

L'HE d'eucalyptus globulus est constituée d'un mélange complexe de monoterpènes, sesquiterpènes et divers composés aromatiques, incluant des phénols, oxydes, éthers, alcools, esters, aldéhydes et cétones. Parmi ses principaux constituants figurent le 1,8-cinéole (eucalyptol), le citronellal, le citronellol, l'acétate de citronellyle, le p-cymène, l'eucamalol, le limonène, le linalool, l'α-pinène, le γ-terpinène, l'α-terpinéol et l'aromadendrène. Cette composition chimique confère à l'HE ses propriétés biologiques et ses applications thérapeutiques variées [12]**.**

I.2.9 Utilisation des huiles essentielles d'eucalyptus globulus

I.2.9.1 Usage traditionnel médicinal en Algérie

Diverses espèces du genre « Eucalyptus », appartenant à la famille des Myrtaceae, sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle algérienne pour traiter un large éventail de pathologies. En particulier, les extraits aqueux chauds des feuilles séchées d'EG sont employés de manière empirique pour leurs propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques, notamment dans la gestion des symptômes liés aux infections des voies respiratoires telles que le rhume, la grippe et la congestion des sinus.

I.2.9.2 Propriétés thérapeutiques et applications contemporaines

Outre son usage traditionnel, l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus (HEEG) est largement intégrée dans les industries cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires. Elle est reconnue pour ses effets bénéfiques sur les voies respiratoires, notamment grâce à certains composés

volatils de type monoterpénoïdes à fonction alcool, disponibles dans le commerce et utilisés pour soulager les symptômes du rhume et d'autres affections respiratoires.

I.2.10 Production mondiale et échanges commerciaux des huiles essentielles d'eucalyptus globulus

Sur le plan économique, entre 4 000 et 5 000 tonnes d'huile essentielle d'eucalyptus sont échangées chaque année sur le marché international. Environ 66% de cette production provient de l'Australie, qui demeure le principal producteur mondial [13]**.**

I.2.11 Toxicité des huiles essentielles d'eucalyptus

Les huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, Eucalyptus radiata et Corymbia citriodora présentent une toxicité variable, avec une DL50 située entre 2 et 5 g/kg chez le rat, selon l'espèce. L'EG est contre-indiqué chez les enfants de moins de 7 ans et les femmes enceintes, tandis que les deux autres espèces peuvent être utilisées avec précaution à partir de 2 ans et du 4^{e} mois de grossesse, respectivement. Leur usage doit rester encadré, en raison de leur effet expectorant asséchant, particulièrement chez les sujets asthmatiques.

L'administration orale, bien que possible, expose à des risques d'irritation rénale, gastrique et neurologique en cas de surdosage, notamment en raison des monoterpènes (α- et β-pinène, limonène) et du 1,8-cinéole. Plusieurs cas d'intoxications, parfois sévères, ont été rapportés, incluant nausées, vomissements, troubles de la conscience, et même coma. Certaines intoxications sont liées à une confusion entre espèces d'eucalyptus, un manque de rigueur aux conséquences potentiellement graves [14]**.**

I.3 Méthodes d'extractions des huiles essentielles

L'exploitation du potentiel chimique des plantes à parfum repose sur une étape essentielle d'extraction des composés spécifiques à des espèces botaniques sélectionnées. Toutefois, ces molécules aromatiques, bien que présentant une haute valeur ajoutée, se trouvent généralement en faibles concentrations au sein de ces espèces. C'est notamment le cas des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques et médicinales.

Le principe fondamental d'extraction des essences aromatiques consiste à faire circuler de la vapeur d'eau à travers la biomasse végétale. Néanmoins, ce procédé connaît de nombreuses variantes, chacune pouvant influencer de manière significative le rendement ainsi que la qualité du distillat obtenu.

Avec l'avènement de l'ère industrielle, l'approche empirique de la distillation a progressivement laissé place à des technologies plus avancées. Ces innovations permettent aujourd'hui d'optimiser l'extraction des composés volatils, garantissant une meilleure qualité des extraits tout en réduisant les délais de production [15]**.**

I.3.1 Extraction par distillation à la vapeur d'eau

Le matériau végétal a été soigneusement introduit dans l'alambic et réparti en couches successives, afin d'assurer une diffusion homogène de la vapeur d'eau à travers l'ensemble de la masse végétale. Le procédé de distillation à la vapeur (Figure I.6) repose sur le passage de vapeur d'eau à basse pression au sein d'une cuve remplie de plantes aromatiques. Sous l'effet de la chaleur, la vapeur entraîne les molécules volatiles contenues dans les tissus végétaux.

Ces composés volatils sont ensuite acheminés à travers un serpentin de refroidissement alimenté en eau froide, où ils subissent un processus de condensation, se transformant en un liquide. Le distillat obtenu est constitué d'un mélange d'eau et d'HE. Cette émulsion est recueillie dans un récipient de condensation, puis séparée à l'aide d'une ampoule à décantation permettant l'extraction simultanée de l'huile essentielle pure et de l'hydrolat [13]**.**

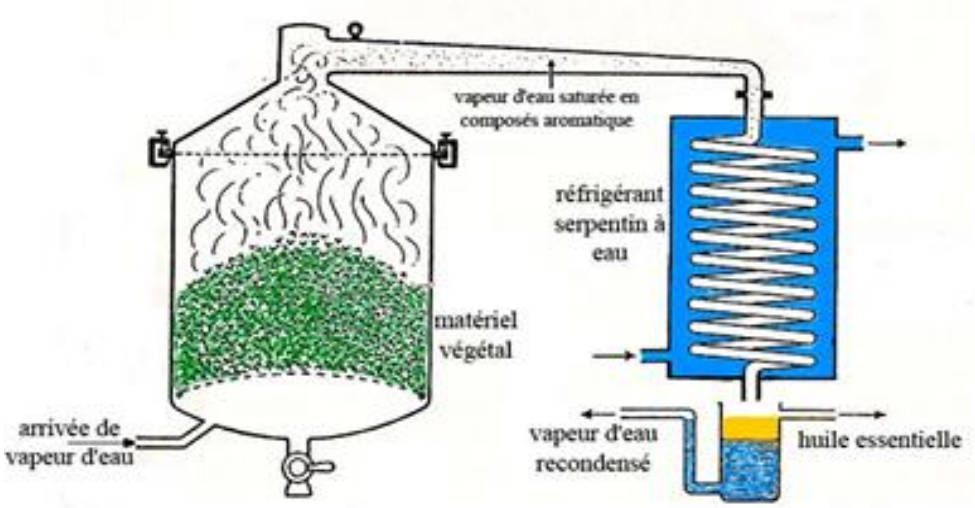

Figure I.6 : *Extraction par distillation à la vapeur d'eau [16]*

I.3.2 Extraction par hydro distillation

Le matériel végétal est immergé dans de l'eau en ébullition au sein d'un ballon à deux cols, connecté à un réfrigérant. La vapeur générée entraîne les composés volatils, qui, après condensation dans le réfrigérant, sont collectés dans un récipient de réception. L'HE est ensuite isolée du distillat par une extraction liquide-liquide à l'aide de l'éther diéthylique [17]**.**

Elle est généralement réalisée à pression atmosphérique. La distillation (Figure I.7) peut être effectuée avec ou sans réintroduction des eaux aromatiques issues de la décantation.

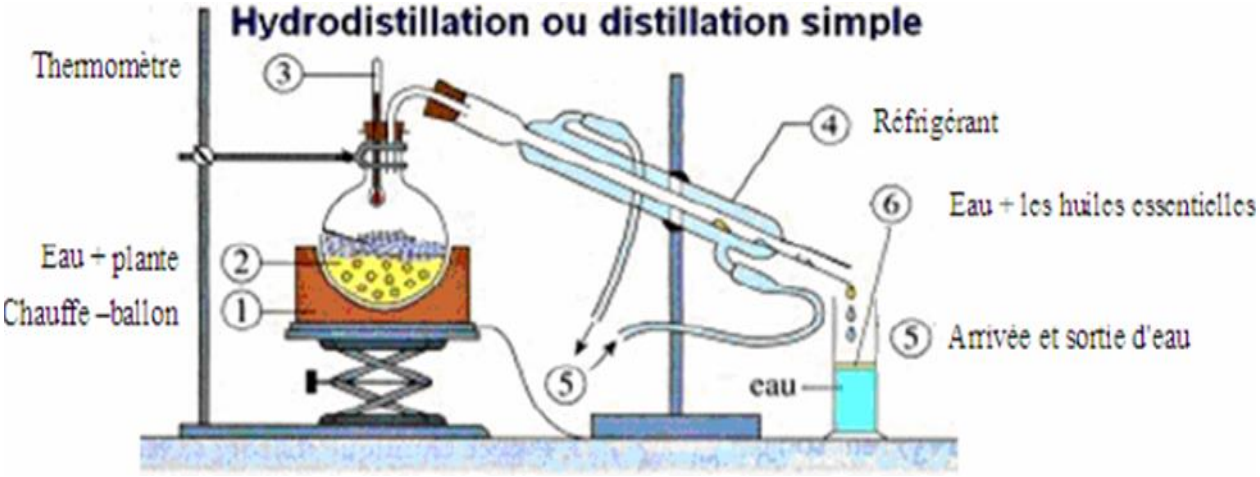

Figure I.7 : *Schéma de l'hydrodistillation [18]*

I.3.3 Extraction par les solvants organiques

Cette technique consiste à immerger la matière végétale dans un solvant organique à température ambiante, favorisant ainsi la diffusion des composés odorants vers le milieu solvanté.

L'extraction est le plus souvent réalisée à l'aide d'un extracteur de Soxhlet. Parmi les solvants couramment utilisés figurent l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, tandis que le dichlorométhane et l'acétone sont employés de façon plus ponctuelle.

Le choix du solvant repose sur plusieurs critères essentiels : il doit être autorisé pour l'usage prévu, stable face à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène, et présenter une température d'ébullition relativement basse afin de faciliter son élimination après extraction. Il est également crucial que le solvant soit chimiquement neutre vis-à-vis des composés extraits. Comparativement à l'eau, les solvants organiques offrent une efficacité d'extraction supérieure, permettant d'obtenir des extraits enrichis en composés volatils ainsi qu'en substances non volatiles telles que les cires, les pigments, les acides gras et divers autres constituants [19]**.**

I.3.4 Extraction par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes (Figure I.8) constitue une méthode innovante utilisant l'énergie électromagnétique des micro-ondes en association avec des solvants non absorbant à ces ondes pour isoler de manière rapide et sélective des composés chimiques à partir de matrices diverses.

Cette technique repose sur l'immersion du matériel végétal dans un solvant non absorbant permettant à la biomasse seule d'absorber l'énergie micro-ondes et de s'échauffer. L'augmentation de température qui en résulte induit l'évaporation de l'eau contenue dans les structures glandulaires et vasculaires de la plante, favorisant ainsi la libération des composés volatils, lesquels sont ensuite extraits dans la phase liquide du solvant. L'obtention de l'extrait final s'effectue par filtration.

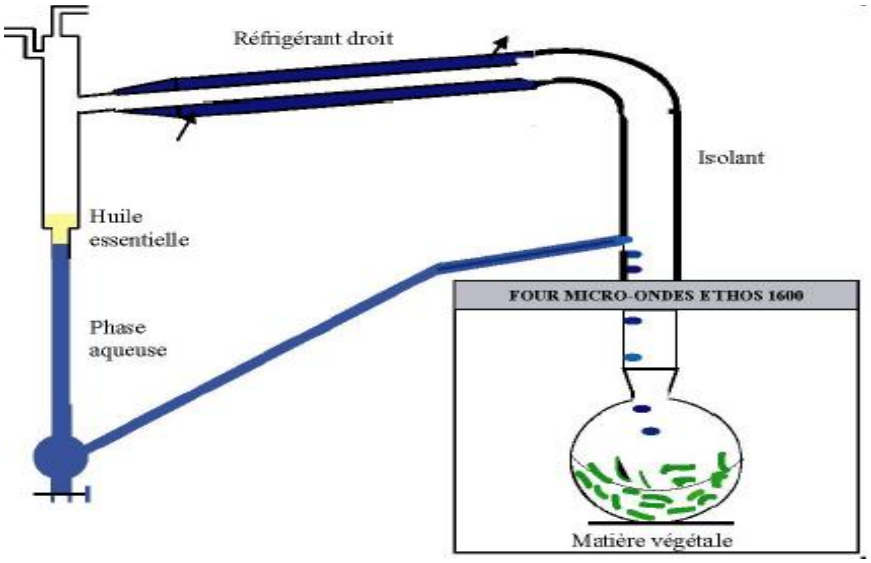

Figure I.8 : *Montage d'extraction par micro-ondes [16]*

Cette méthode se distingue par un temps d'extraction significativement réduit, pouvant atteindre seulement quelques secondes.

De plus, grâce à sa rapidité et à sa faible consommation énergétique, elle permet souvent d'obtenir des extraits de meilleure qualité comparativement à ceux obtenus par hydrodistillation traditionnelle [20]**.**

I.3.5 Extraction au dioxyde de carbone supercritique

L'extraction au dioxyde de carbone supercritique (CO_2-SC) représente une approche technologique avancée, utilisant des fluides supercritiques comme alternative performante pour l'obtention d'huiles essentielles (Figure I.9). Le CO_2 est le fluide privilégié pour cette application, en raison de ses propriétés physico-chimiques remarquables. Ce procédé repose sur la capacité du CO_2, à l'état supercritique (PC = 73,82 bar ; TC = 31,06 °C).Le matériel nécessaire à cette extraction est particulièrement coûteux, car il doit résister à des pressions élevées pouvant atteindre 300 bar, tout en garantissant un haut niveau de sécurité opérationnelle. Ce système permet de désagréger les matrices végétales contenant les huiles essentielles, favorisant ainsi leur libération et leur extraction. L'extraction au CO_2 supercritique est reconnue pour sa simplicité d'exécution, sa rapidité, son rendement élevé, ainsi que pour l'absence quasi complète d'utilisation de solvants organiques ou de traitements préalables.

Lors du procédé, le CO_2 supercritique est injecté dans un extracteur en présence de la matière végétale finement broyée, favorisant ainsi l'extraction des substances aromatiques. Le mélange obtenu est ensuite dirigé vers un séparateur, où une dépressurisation provoque la transition du CO_2 vers son état gazeux, entraînant ainsi la séparation naturelle des extraits.

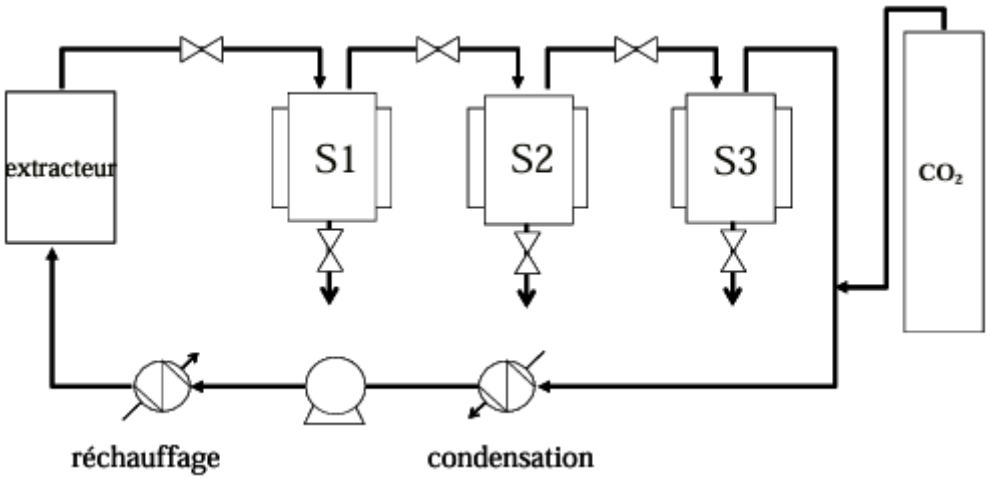

Figure I.9 : *Schéma de la technique d'extraction de dioxyde de carbone (CO_2) supercritique [21].*

Le CO_2 peut être soit recyclé pour de nouveaux cycles, soit évacué, tandis que les composés extraits sont récupérés après condensation. Cette méthode présente l'avantage majeur d'éliminer la nécessité d'une étape de purification supplémentaire, contrairement aux techniques utilisant des solvants organiques.

En outre, la possibilité de recycler le solvant rend cette technologie particulièrement adaptée à l'extraction de composés thermosensibles [19]**.**

I.3.6 Extraction ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons, fonctionnant généralement à des fréquences comprises entre 20 et 100 kHz, représente une technologie innovante permettant une réduction notable du temps de traitement. Cette approche consiste à immerger la biomasse dans un solvant aqueux ou organique tout en la soumettant à des ondes ultrasonores (Figure I.10).

Ces ondes facilitent l'infiltration du solvant dans les structures végétales, favorisant ainsi l'extraction des composés volatils. Cette technique se distingue par sa simplicité de mise en œuvre ainsi que par sa faible consommation d'énergie et de solvant. Des principaux avantages

de cette méthode résident dans sa capacité à accélérer l'extraction, à améliorer le rendement global, et à préserver l'intégrité des composés sensibles à la chaleur.

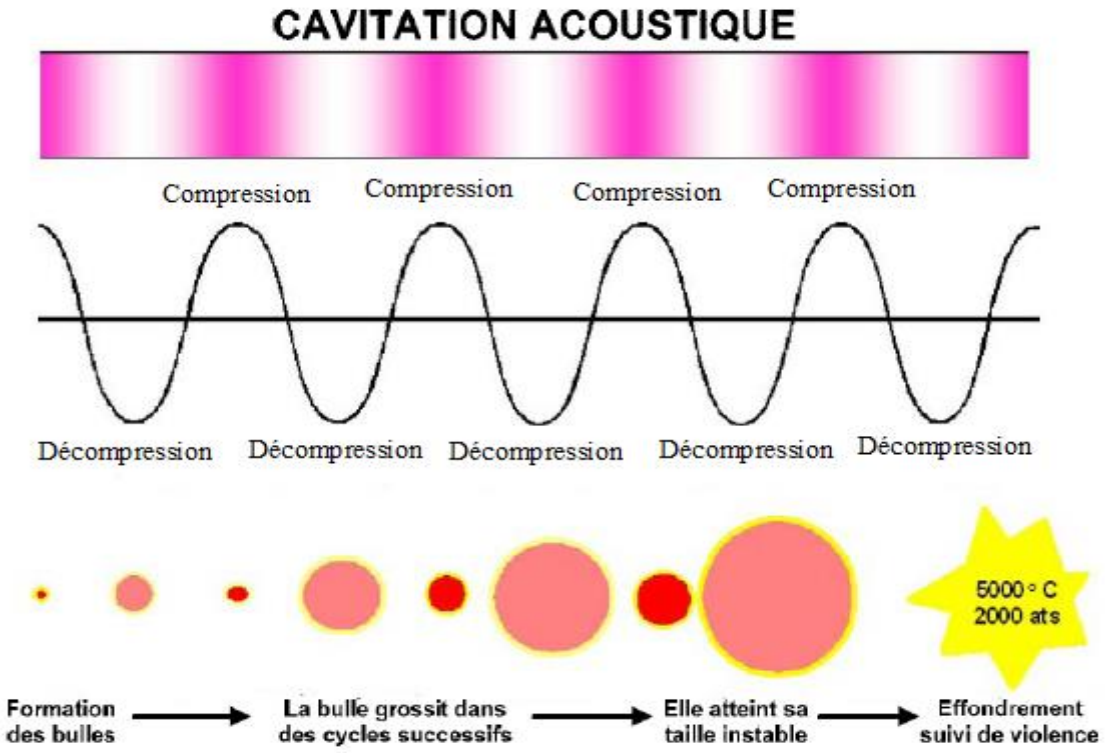

Figure I.10 : *Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore [22].*

Le mécanisme fondamental repose sur le phénomène de cavitation acoustique induit par les ondes ultrasonores, caractérisé par des cycles alternés de compression et de dilatation du milieu. Ce processus engendre la formation de microbulles dont l'implosion à proximité des surfaces solides génère des microjets de liquide à très haute vitesse.

Selon Vinatoro (2001), deux mécanismes physiques majeurs participent à l'extraction : la diffusion passive des molécules à travers la membrane cellulaire et la libération des constituants intracellulaires résultant de la rupture de la paroi cellulaire. L'application des ultrasons optimise simultanément ces deux mécanismes, conduisant à une augmentation du rendement d'extraction, une réduction de la quantité de solvant employée ainsi qu'à une diminution du temps nécessaire au procédé [22].

Chapitre II

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1 Matérière végétale

II.1.1 Récolte et séchage des feuilles de l'eucalyptus globulus

Les feuilles d'EG appartenant à la famille des Myrtaceae, ont été collectées dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, plus précisément dans la région de Ghilasa. Au cours du mois de février 2025, à partir d'un seul site de collecte. Les feuilles ont été séchées naturellement à l'ombre à la température ambiante et à l'abri de la lumière directe pendent 25 jours.

II.1.2 Broyage des feuilles

La matière végétale a été broyée au sein du laboratoire de génie civil de l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj, à l'aide d'un broyeur constitué d'un cylindre de grande capacité (Figure II.1). La matière végétale y a été introduite, accompagnée de billes de fer servant d'agents de broyage (Figure II.2). L'opération a été effectuée à une vitesse de rotation de 1500 tours par minute, durant une période de 1 heure et 30 minutes. À l'issue du broyage, la matière végétale a été récupérée en vue des étapes expérimentales ultérieures.

Figure II.11 : *Broyeur*

Figure II.12: *les billes de fer de broyeurr*

La matière végétale a été soumise à une opération de tamisage (Figure II.3) à l'aide de trois tamis de dimensions granulométriques différentes (1mm, 2mm, 3.15mm), afin de séparer les fractions selon leur taille particulaire. A la fin de tamisage on a obtenue trois gammes de taille qui sont : 0.5, 1.6 et 2.5 mm.

Figure II.13 : *Tamisage de la plante broyé*

II.2 Protocole d'extraction par hydrodistillation

II.2.1 Appareillages et verreries

- Ballon de distillation en verre (1L) Contient le mélange eau/matière végétale.
- Chauffe Ballon (régler à 100°C).
- Réfrigèrent.
- Appareil de Clevenger.
- Tubes pour récupérer les huiles essentielles.
- Papier aluminium pour couvrir l'endroit où l'huile se condense dans le Clevenger afin d'éviter l'effet de la lumière.
- Balance.

II.2.2 Description du montage

L'extraction de l'HE à partir des feuilles d'EG a été réalisée selon la méthode classique de l'hydrodistillation, à l'aide d'un dispositif de type Clevenger, couramment utilisé pour l'isolement des composés volatils présents dans les plantes aromatiques et médicinales.

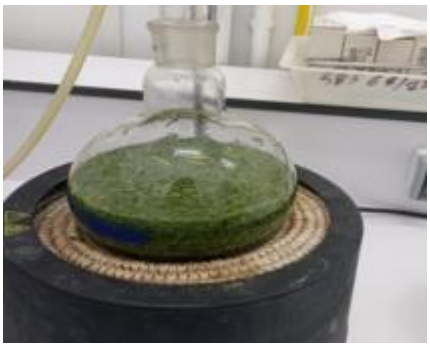

Figure II.14 : *Ballon*

Les feuilles broyées de l'EG ont été introduites dans un ballon (Figure II.4) contenant de l'eau distillée. Le montage d'hydrodistillation a été mis en place sans fuite gazeuse puis soumis à une source de chaleur contrôlée jusqu'à l'ébullition (Figure II.5). La vapeur d'eau produite entraîne les molécules volatiles contenues dans la plante. Ce mélange vapeur-eau est ensuite dirigé vers un réfrigérant où il subit une condensation.

Le distillat obtenu, composé d'un mélange d'eau et d'HE, est recueilli dans un tube de séparation intégré au dispositif. Grâce à la différence de densité et à l'immiscibilité des deux phases, l'huile essentielle se sépare naturellement de la phase aqueuse et remonte à la surface. À l'issue de la distillation, l'HE a été récupéré et stocké dans un tube hermétiquement fermé, et conservé à l'abri de la lumière, de la chaleur et de l'humidité dans un frigidaire à 4°C afin de préserver ses propriétés physico-chimiques et biologiques.

Figure II.15 : *Montage expérimentale d'hydrodistillation pour l'extraction des huiles essentielles à l'aide du dispositif de Clevenger*

II.3 Rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (m_{HE}) et la masse de la matière végétale sèche utilisée (m_{MV}). Il est calculé par la formule suivante :

$$Rendement\ (\%) = \frac{m_{HE}}{m_{MV}} 100 \qquad \text{(II.1)}$$

II.4 Plan d'expérience

II.4.1 Définition

Un plan d'expérience (PE) est une méthode systématique permettant d'étudier les relations entre des variables d'entrée (facteurs) et une réponse (variable de sortie) en minimisant le nombre d'essais tout en maximisant l'information obtenue.

II.4.2 Rôle

Le plan d'expérience sert à :

- Identifier les facteurs influençant significativement un procédé.
- Optimiser les conditions expérimentales.
- Modéliser les interactions entre les variables.

II.4.3 Principe

- Les facteurs sont variés de manière contrôlée (Niveaux : bas (−1) ; moyen(0) ; haut (+1)).
- La réponse est mesurée pour chaque combinaison de facteurs. Un modèle mathématique relie les facteurs à la réponse.

II.4.4 Applications industrielles et scientifiques

- Secteur manufacturier : Optimisation des paramètres de production (ex : température, pression) pour maximiser l'efficacité [23]**.**
- Recherche médicale : Utilisés dans les essais cliniques pour évaluer l'efficacité de traitements [24]**.**
- Agronomie : Analyse de l'effet des engrais ou des conditions environnementales sur les rendements agricoles [25]**.**

II.4.5 Plan de Box-Behnken

II.4.5.1 Définition

Un plan de Box-Behnken est un type de plan d'expérience de surface de réponse, particulièrement adapté pour étudier des systèmes à 3 facteurs avec des combinaisons de niveaux moyens et extrêmes.

II.4.5.2 Principe

Les points expérimentaux sont placés au milieu des arêtes d'un cube et au centre (Figure II.6). Exemple pour 3 facteurs : 15 essais (12 combinaisons + 3 répétitions au centre) [26]**.**

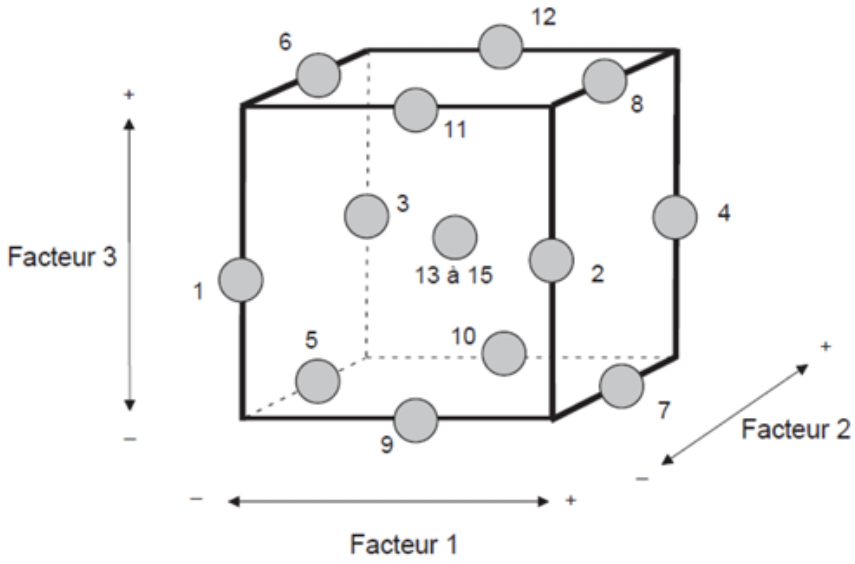

Figure II.16 : *Illustration du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs [26]*

II.4.5.3 Modèle Mathématique

Le modèle mathématique de plan de Box-Behnken à trois facteurs est donné par l'équation suivante :

$$y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{11} X_1^2 + a_{22} X_2^2 + a_{33} X_3^2 \quad \text{(II.2)}$$

Où :

y : La réponse mesurée

X_1, X_2 et X_3 : les niveaux (+1, 0 ou -1) des essais pour les facteurs 1, 2 et 3 respectivement.

a_0 : Constante (valeur moyenne au centre)

a_1, a_2, a_3: Coefficients linéaires des facteurs 1, 2 et 3 respectivement.

a_{12}, a_{13}, a_{23}: Coefficients d'interaction entre les facteurs 1, 2 et 3

a_{11}, a_{22}, a_{33} : Coefficients quadratiques des facteurs 1, 2 et 3

II.4.6 Choix des facteurs

Notre objectif sert à paramétrer l'extraction par hydrodystilation de l'huile essentielle de l'eucalyptus globulus. Afin d'optimiser les paramètres de notre étude, nous avons utilisé le modèle d'expérience Box –Behnken à trois facteurs avec trois facteurs à savoir le temps d'extraction (t), la taille des feuilles broyées (D) et le rapport de la masse d'eau sur la masse des feuilles (r). Les niveaux des facteurs sont groupés dans le tableau suivant :

Tableau II.1 : *Facteurs choisis pour le plan d'expérience*

	Facteurs	**Niveau (-1)**	**Niveau (0)**	**Niveau (+1)**
X_1	t [h]	1	2	3
X_2	D [mm]	0,5	1,6	2,6
X_3	r [g/g]	4	7	10

Pendant l'extraction on a gardé la puissance de chauffage constante ainsi que la masse de la matière végétale qui est de 60g.

II.5 Activités antioxydantes d'eucalyptus globulus

II.5.1 Appareillages et verreries

- Spectrophotomètre UV-Vis
- Balance analytique
- Cuvettes en quartz/verre
- Eprouvettes graduées
- Micropipettes automatiques
- Ballons jaugés
- Béchers
- Plaques à microtitration
- Tubes à essai

II.5.2 Réactifs et Solvants

- DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)
- Méthanol (CH3OH)
- Eau distillée
- Huile essentielle d'eucalyptus globulus

II.5.3 Test de piégeage du radical DPPH

II.5.3.1 Principe

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) constitue un radical libre synthétique fréquemment employé dans les études d'activité antioxydante. Sa stabilité moléculaire et sa coloration violette caractéristique en font un outil privilégié pour évaluer le pouvoir antioxydant de diverses substances naturelles, dont les huiles essentielles [27].

Ce composé présente un pic d'absorption maximal à 517 nm lorsqu'il est dissous dans des solvants organiques comme l'éthanol ou le méthanol. Le mécanisme d'action repose sur la

capacité des molécules antioxydantes à neutraliser ce radical par transfert d'hydrogène, entraînant une diminution mesurable de l'absorbance [28].

II.5.3.2 Mode opératoire

a. Préparation de la solution mère de l'huile essentielle

Pour préparer une solution mère d'HE (Figure II.7) de concentration de 20 mg/ml, nous avons mélangé une masse de 0,4 g d'HEEG avec un volume de 20 ml de méthanol.

Figure II.17 : *Solution mère de l'HE*

b. Préparation de la solution DPPH

La solution de DPPH (Figure II.8) de concentration de 0.1 mM a été préparée par la solubilisation de 0,6 mg de DPPH dans 15 ml de méthanol. Cette solution doit être conservée à l'abri de la lumière.

Figure II .18 : *Solution de DPPH*

c. Préparation des dilutions et lecture des résultats d'activité antioxydant

Des solutions diluées de 10 ml ont été préparées à partir de la solution mère afin d'obtenir des concentrations ([HE]) faibles comprises entre 10 et 0.05 mg/ml comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau II.2 : *Préparation des solutions diluées de l'HEEG*

Numéro de tube	**1**	2	3	4	5
[HE] (mg/ml)	10	5	1	0.25	0.05

Un volume de 1,5 ml de chaque solution de l'HE a été mélangé avec 0.5 ml de la solution de DPPH. Les mélanges obtenues ont été bien mélangés et incubés dans l'obscurité pendant 30 minutes (Figure II.9). Les absorbance ont été mesuré à 517 nm par un spectrophotomètre UV-Visible. Pour chaque concentration, le test est réalisé en triple. Le blanc du test contient un volume de 1,5 ml d'extrait et 0,5 ml de méthanol mais le contrôle contient 1,5 ml de méthanol et 0,5 ml de DPPH,

Figure II.19 : *Les solutions de test; du blanc et de contrôle*

Les résultats de l'activité antioxydant sont exprimés en pourcentage d'inhibition exprimé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition de DPPH (\%)} = \frac{A_c - (A_t - A_b)}{A_c} * 100 \qquad \text{(II.3)}$$

Où : $\mathbf{A_c}$: Absorbance du contrôle.

$\mathbf{A_t}$: Absorbance du test

A_b : Absorbance du blanc du teste.

L'IC50, correspondant à la concentration de l'huile essentielle qui neutralise 50% de DPPH, il est déterminé à partir de la courbe représentant % inhibition de DPPH en fonction des différentes concentrations en huile essentielle

Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Application du plan d'expériences

III.1.1 Modélisation

Le plan d'expériences retenu pour cette étude est celui de Box-Behnken à trois facteurs. Comme présenté dans le chapitre précédent, ce modèle expérimental comprend un total de 15 essais, chacun correspondant à une combinaison spécifique des niveaux des facteurs étudiés. Le tableau ci-après présente l'ensemble des conditions expérimentales, incluant les modalités des facteurs et les réponses mesurées pour chaque essai.

Tableau III.1 : *Plan de Box-Behnken avec les réponses expérimentales*

Ordre D'essai	t	D	r	Re (%)
1	-1	-1	0	0,308
2	1	-1	0	0,522
3	-1	1	0	0,404
4	1	1	0	0,492
5	-1	0	-1	0,085
6	1	0	-1	0,573
7	-1	0	1	0,459
8	1	0	1	0,456
9	0	-1	-1	0,660
10	0	1	-1	0,111
11	0	-1	1	0,206
12	0	1	1	0,542
13	0	0	0	0,487
14	0	0	0	0,451
15	0	0	0	0,355

Dans le cadre de cette étude, les logiciels Excel et Minitab ont été utilisés pour l'estimation des coefficients du modèle ainsi que pour le calcul des paramètres statistiques associés.

L'équation de régression polynomiale pour le modèle appliquée est donnée par cette équation.

$$Re = 0{,}431 + 0{,}0984\,t - 0{,}0184\,D + 0{,}0293\,r - 0{,}0315\,t\,D - 0{,}1228\,t\,r + 0{,}2212\,D\,r + 0{,}007\,t^2 - 0{,}0065\,D^2 - 0{,}0448\,r^2 \quad \text{(III.1)}$$

Les valeurs des différents coefficients de modèle mathématique sont rapportées sur la figure suivante :

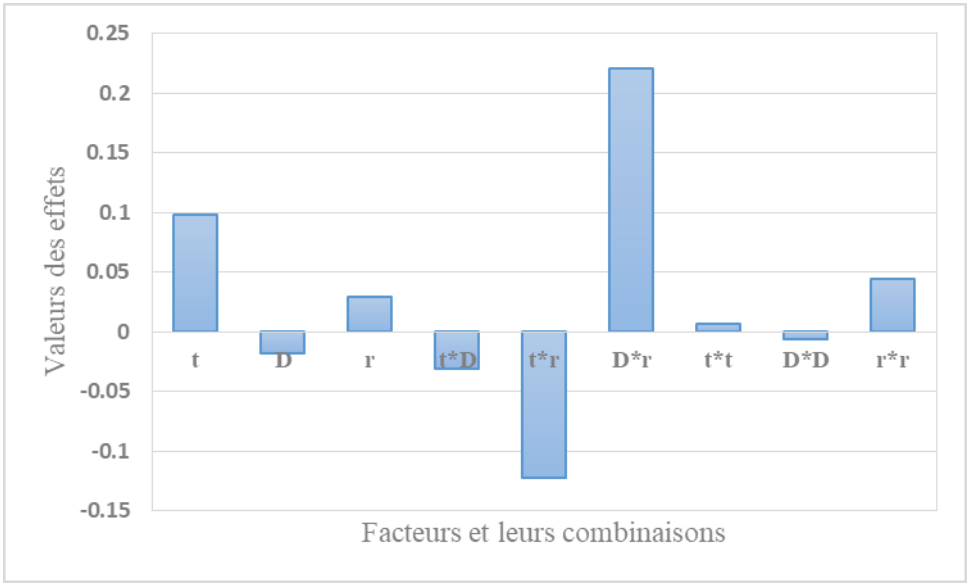

Figure III.20 : *Effets des facteurs et leurs combinaisons sur le rendement*

La figure III.1 permet d'évaluer l'effet des différents facteurs étudiés sur les réponses. Les résultats révèlent que les variables ayant une influence positive sur la réponse sont le temps, le rapport, l'effet d'interaction entre la taille et le rapport, l'effet quadratique du temps et l'effet quadratique du rapport. L'effet d'interaction entre la taille et le rapport a la plus grande influence suivi par le temps. Par contre, l'effet d'interaction entre le temps et le rapport a la plus grande influence négative sur la réponse.

III.1.2 Évaluation de l'adéquation du modèle statistique

L'examen de la courbe des réponses estimées en fonction des réponses mesurées (Figure III.2) montre un bon coefficient de détermination R^2 = 0,9149. Les points sont répartis autour de la droite de régression. Le modèle peut donc être jugé de qualité suffisante

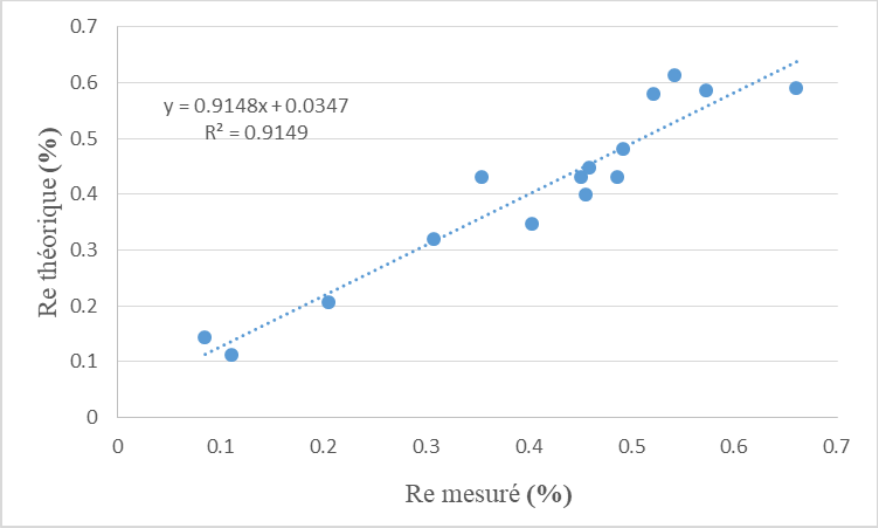

Figure III.21 : *Représentation graphique des réponses théoriques en fonction des réponses mesurées.*

Par ailleurs, le nuage de points des résidus (Figure III.3) révèle qu'une proportion significative des observations, notamment les essais 1, 4, 6, 7, 10, 11 et 14, se trouve à proximité immédiate de la ligne de résidu nul. Cette distribution suggère une concordance satisfaisante entre les valeurs expérimentales et celles estimées par le modèle. En revanche, les autres observations s'en éloignent de manière notable, traduisant des divergences importantes entre les données observées et les valeurs prédites. Ces écarts peuvent être interprétés comme des contributions substantielles aux erreurs d'ajustement du modèle.

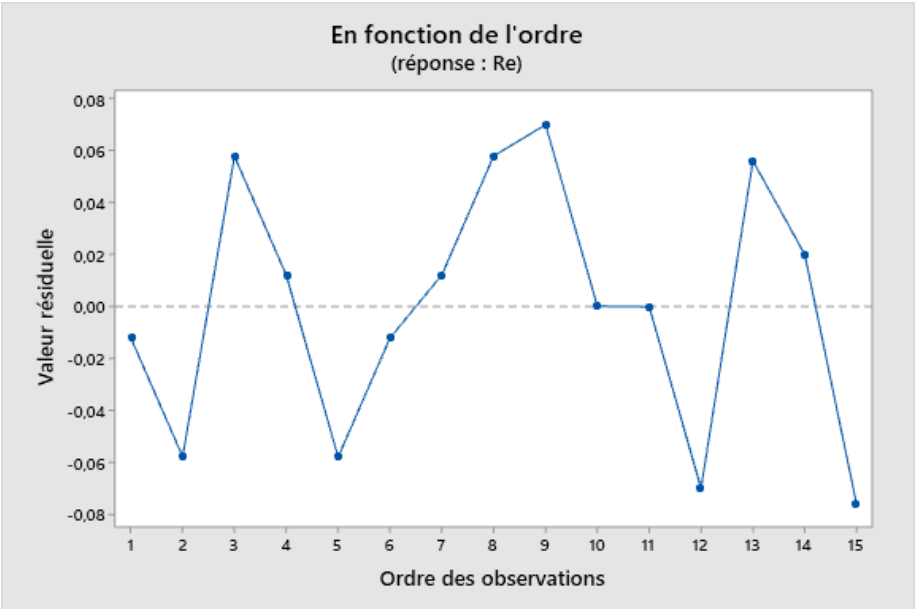

Figure III.22 : *Diagramme de dispersion des résidus*

III.1.3 Diagramme de Pareto

Ce diagramme (Figure III.4) permet d'extraire les effets les plus importants. Parmi tous les effets étudiés et au niveau de confiance choisi (α = 0,05), le temps (t), l'interaction taille et rapport (D r) et l'interaction temps et rapport (t r) apparaissent comme des effets significatifs. Les autres effets n'ont pas d'effets significatifs sur la réponse.

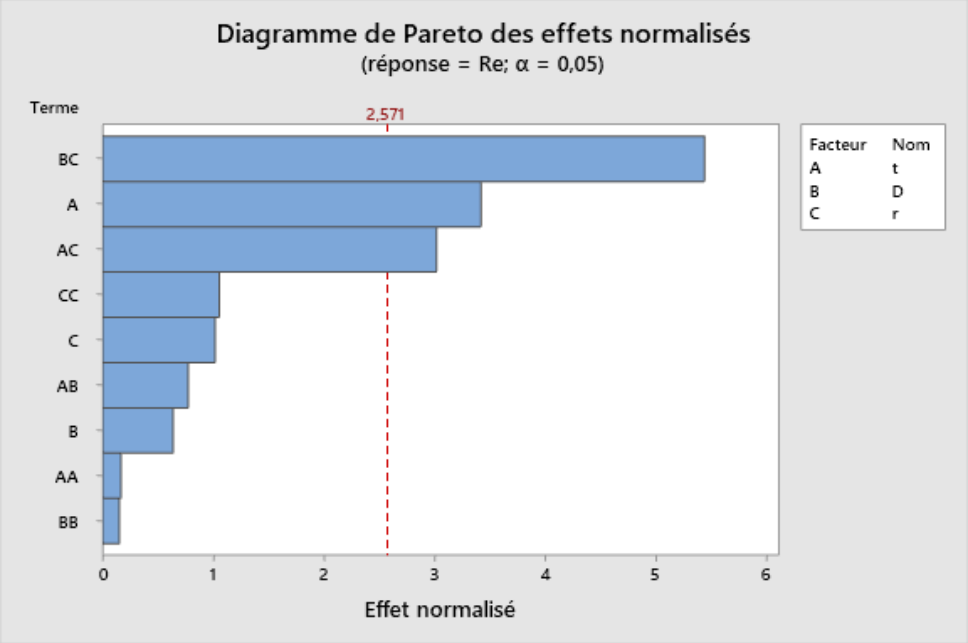

Figure III.23 : *Diagramme de Pareto des effets normalisés.*

III.1.4 Diagramme des effets principaux

Les diagrammes des effets principaux permettent de quantifier l'impact isolé de chaque facteur expérimental sur le processus d'extraction, en considérant l'influence moyenne des autres variables. Ces représentations sont utiles pour identifier les paramètres ayant un effet dominant sur la réponse étudiée.

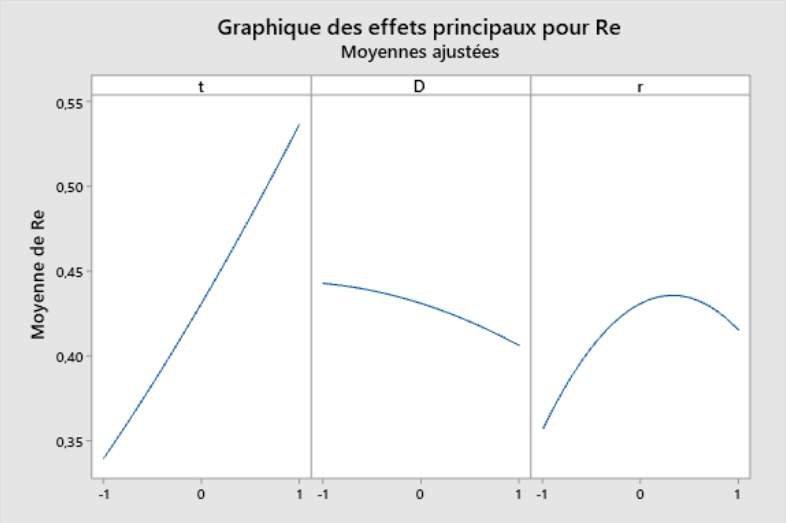

Figure III.24 : *Diagramme des effets principaux sur le rendement d'extraction de l'HE*

Selon les données présentées sur la figure III.5, les tendances suivantes ont été observées :

- **Durée d'extraction:** une augmentation progressive du temps conduit à une augmentation notable du rendement d'extraction.

- **Taille:** l'augmentation de la granulométrie engendre une diminution de la capacité d'extraction.

- **Rapport:** l'accroissement de ce rapport favorise initialement l'extraction, jusqu'à l'atteinte d'un seuil optimal. Au-delà de cette valeur, une diminution graduelle du rendement est constatée.

III.1.5 Diagramme des effets d'interactions

Les diagrammes d'interaction (Figure III.6) sont couramment utilisés dans le cadre de l'analyse de la variance (ANOVA) pour illustrer l'influence combinée de plusieurs facteurs sur une réponse. Ces représentations permettent de mettre en évidence les interactions entre les facteurs, c'est-à-dire les cas où l'effet d'un facteur dépend du niveau d'un autre. Il est généralement admis que plus l'écart de pente entre les courbes est important, plus le degré d'interaction est élevée. À l'inverse, des lignes parallèles indiquent l'absence d'interaction.

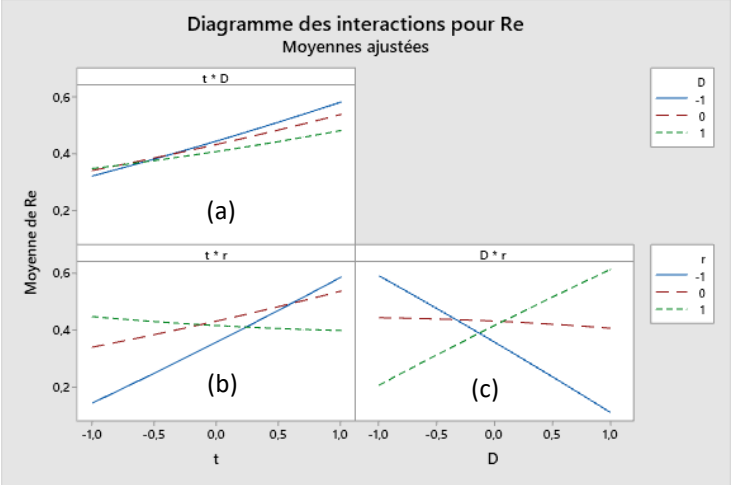

Figure III.25 : *Diagramme des effets d'interaction sur le rendement d'extraction de l'HE (a): Interaction taille et temps, (b): Interaction rapport et temps, (c): Interaction rapport et taille.*

L'analyse de la figure III.6 (a) met en évidence une interaction relativement moyen entre le temps et la taille, le rendement est faible pour des temps inférieure à environ de -0,6 qui présente un point d'intersection. Mais lorsque le temps dépasse cette valeur le rendement devient plus grande pour de faible taille. Les autres courbes illustrent une interaction forte entre les différents facteurs.

Pour la figure III.6 (b), un point d'intersection est observé aux alentours de - 0,2 pour le facteur temps. Avant cette valeur, le rendement est meilleur pour des rapports élevés. Mais à partir d'un temps de 0,65, la tendance s'inverse ou le rendement augmente avec diminution du rapport. Pour un temps intermédiaire entre les deux points le taux d'extraction est meilleur pour un rapport moyen.

Pour la figure III.6 (c), un point d'intersection apparaît autour de - 0,35 pour le facteur taille. Avant cette valeur, un rapport minimum fait augmenter le rendement. Pour des tailles supérieures à 0,1 la tendance s'inverse ou les taux d'extraction les plus élevés sont atteints lorsque le rapport est maximal.

III.1.6 Graphiques des contours

À partir du modèle mathématique validé et à l'aide du logiciel MINITAB 19, des graphes de contours bidimensionnels ont été générés afin d'identifier visuellement les conditions optimales avec une précision accrue. Ces représentations graphiques permettent une analyse approfondie des interactions entre les facteurs étudiés.

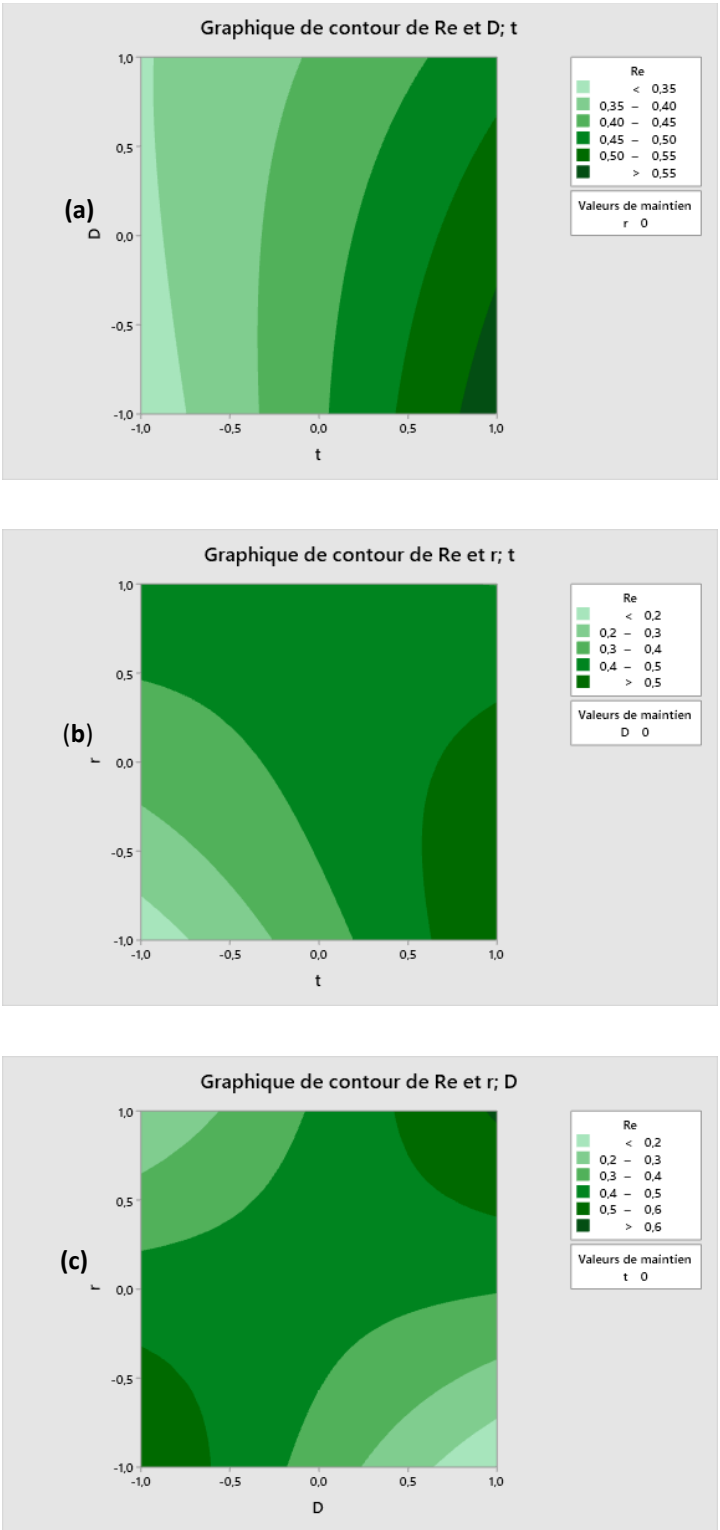

Figure III.26 : *Diagramme de contours pour le rendement d'extraction de l'HE. (a): Interaction taille et temps, (b): Interaction rapport et temps, (c): Interaction rapport et taille.*

Le rendement est présenté en fonction de deux facteurs et avec le maintien d'une valeur pour le troisième à la moyenne, le rendement est représenté par des zones colorées correspondant à différentes rendement de l'extraction.

La figure III.7 illustre les courbes de réponse de l'extraction en fonction des interactions binaires entre les trois variables étudiées expérimentalement. La figure III.26 (a), montre l'interaction entre la granulométrie (D) et la durée d'extraction (t), L'effet du facteur temps devient très significatif uniquement lorsque la granulométrie est à son niveau minimal : une augmentation du temps d'extraction induit alors une augmentation de rendement.

La figure III.7 (b) qui montre l'interaction entre le rapport et le temps d'extraction, révèle que les taux d'extraction les plus faibles sont obtenus pour un rapport bas combiné à une durée courte. Par contre, les meilleurs rendements supérieurs à 0,5 % sont observés pour un temps élevé associé à un rapport réduit.

La figure III.7 (c) met en lumière l'effet conjugué du rapport et de la taille. On observe une certaine symétrie dans le graphe. Le rendement est maximal aux points (-1, -1) et (1,1). On remarque aussi qu'à la valeur moyenne de rapport le rendement toujours est compris entre 0,5 et 0,6 %.

III.1.7 Optimisation des paramètres qui maximise la réponse

Afin de déterminer les valeurs optimales des trois facteurs étudiés par les plans d'expériences, le logiciel Minitab a été utilisé. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure III.8 et regroupés dans le tableau III.2.

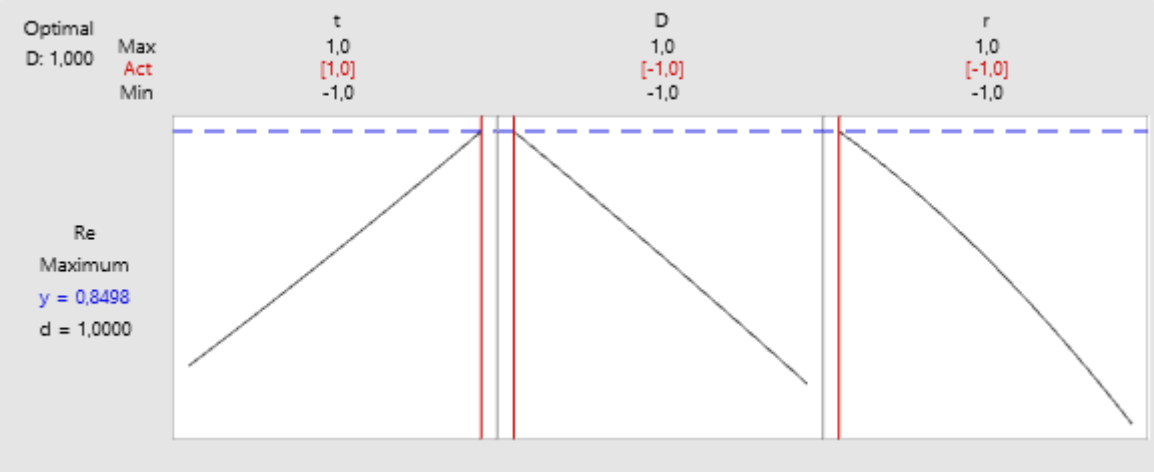

Figure III.27 : *Diagramme de surface pour le rendement correspond à un temps*

Les Diagrammes de surface montrent que le plus grand rendement correspond à un temps maximal, une taille et un rapport minimal.

Pour valider expérimentalement cette optimisation, une valeur théorique de l'extraction de 0.8498 % a été attendue. L'expérimentation a donné une valeur mesurée de 0,5% considérée comme non acceptable et cela peut être dû aux marges d'erreur expérimentales et la difficulté de maitriser la taille de la poudre des feuilles utilisées.

Tableau III.2 : *Les valeurs des paramètres d'extraction après l'optimisation*

Les facteurs	**t (h)**	**D (mm)**	**r (mm/mm)**
Les niveaux	1	-1	-1
Les valeurs mesurées	3	0,5	4

III.2 Test de piégeage du radical DPPH

La mesure des absorbances du radicale DPPH en présence de l'HE ont permet de déterminer le pourcentage d'inhibition de chaque dilution (Tableau III.3 et Figure III.9).

D'après ce tableau l'huile essentielle présente une activité antioxydant. On remarque que le pourcentage d'inhibition pour les concentrations 10 et 20 mg/ml est de 100 % qui correspondent à l'inhibition totale de DDPH et cela est traduit par le changement total de la couleur de DPPH de violet vers le jaune.

Tableau III.3 : *Le porcentage d'inhibition d'HE d'eucalyptus globulus en fonction de leur cooncentrations*

Concentrations (mg/ml)	**Absorbances**			
	Teste sans blanc (A_t)	**Blanc (A_b)**	**Contrôle (A_c)**	**Inhibition (%)**
0,05	0,183	0,071	0,191	41,36
0,25	0,172	0,077	0,191	50,26
1	0,156	0,078	0,191	59,16
5	0,088	0,080	0,191	95,81
10	0,082	0,082	0,191	100
20	0,083	0,083	0,191	100

L'IC_{50} exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration de radicale libre de 50%. Ce paramètre constitue un indicateur clé : plus sa valeur est faible, plus l'activité antioxydante est élevée. La concentration minimale d'inhibition de 50% de DPPH (IC_{50}) est calculée graphiquement à partir de la courbe de la figure III.28.

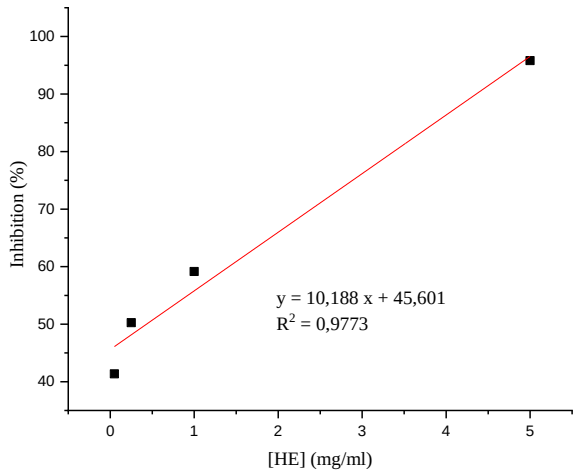

Figure III.28: *Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'HE*

L'huile essentielle d'Eucalyptus globulus exerce une activité inhibitrice du radical DPPH avec une IC_{50} de 0,432 mg/ml. Cette valeur est plus importante à celle obtenus par Harkat-Madouri et al. (IC_{50} = 33.33 mg/ml) qui est une huile algérienne [29] mais elle est moins importante à celle obtenus par Noumi et al. (IC_{50}=57 µg/ml) qui provient de la Tunisie [30].

Conclusion générale

Conclusion générale

L'intérêt croissant porté aux plantes aromatiques s'explique par la richesse et la diversité de leurs métabolites naturels, qui leur confèrent une valeur considérable dans les domaines scientifique, médical, pharmaceutique, mais également dans les industries agroalimentaire et cosmétique. La qualité des huiles essentielles issues de ces plantes est intrinsèquement liée à leurs caractéristiques physico-chimiques.

Ces huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils, dotés de structures chimiques variées, à l'origine de leurs propriétés biologiques, notamment antioxydantes. Elles peuvent être extraites de différentes parties de la plante (feuilles, fleurs, fruits, graines, etc.) au moyen de procédés d'extraction traditionnels ou modernes.

Le but essentiel de ce mémoire est d'étudier l'influence de quelques paramètres expérimentaux sur le rendement d'extraction de l'huile essentielle de l'EG par hydrodistillation. Pour cela nous avons appliqué les plans d'expériences qui a pour but de réaliser un minimum d'expériences pour avoir un maximum d'information

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de EG par hydrodistillation est ainsi modélisée en utilisant le plan de Box-Behnken avec trois facteurs à savoir le temps ; la taille des feuilles broyées et le rapport de la masse d'eau sur la masse des feuilles. Le traitement statistique des données nous permet de conclure que le modèle obtenu est statistiquement significatif un coefficient de détermination (R^2) de 0,9149 % donc il existe une corrélation satisfaisante entre les valeurs expérimentales et les valeurs théoriques.

L'analyse des diagrammes des effets montre que le temps (t), l'interaction taille et rapport (D r) et l'interaction temps et rapport (t r) apparaissent comme des effets significatifs sur la réponse.

La recherche des conditions optimales, effectuée par l'analyse des diagrammes de contours, a permis de déterminer la valeur optimale du rendement (Re) de 0.8498 %. Celle-ci correspond aux valeurs suivantes des facteurs : temps à 3 h, taille à 0,5 mm, et rapport de 4.

Les résultats de l'activité antioxydante de l'HE évaluée par le test d'inhibition de DPPH indiquent que l'huile présente une activité antioxydante avec une valeur d'IC_{50} de 0,432 mg/ml.

La modélisation et l'optimisation par le plan de Box-Behnken ont été effectuées à l'aide du logiciel MINITAB version 19. En perspectives, nous envisageons de compléter ce travail en faisant varier d'autres facteurs.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] C. BESOMBES, «Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées,» Thèse de doctorat de Université de La Rochelle, Université de La Rochelle, 2008.

[2] A. DAUVERGNE, «Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora: botanique, aromathérapie et enquête auprès des pharmaciens d'officine.,» 2020.

[3] A. Ait-Ouazzou, S. Lorán, . M. Bakka, A. Laglaoui, C. Rota, A. Herrera, R. Pagan et P. Conchello, « Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of Thymus algeriensis, Eucalyptus globulus and Rosmarinus officinalis from Morocco.,» vol. 91, n° 114, 2011.

[4] C. TEFIANI, «Les propriétés biologiques des huiles essentielles de curcuma longa, ammoides verticillata et thymus ciliatus sp. eu-ciliatus,» Thèse de Doctorat en sciences de l'universit de Mostaganem, universit de Mostaganem, 2015.

[5] A. D. SHARMA , M. FARMAHA, I. KAUR et N. Singh, «Phytochemical analysis using GC-FID, FPLC fingerprinting, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory activities analysis of traditionally used Eucalyptus globulus essential oil,» vol. 5, n° 11, 2021.

[6] Y. Fillatre , «Produits phytosanitaires: Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem,» Thése de doctorat de l' Université d'Angers, Université d'Angers, 2011.

[7] R. YOUNG et R. TISSERAND, Essential oil safety: a guide for health care professionals., liver de la Elsevier Health Sciences, 2013.

[8] K. BECHLAGHEM , «Etudes Chimiques Et Biologiques Des Extraits Préparés à partir de Quelques Espèces De Cistacées Poussant En Algérie,» Thèse de doctorat université ABOU-BEKR BELKAID , TLEMCEN, 2020.

[9] K. BOUALAM et F. KRAIFFI , « Extraction et caractérisation de quelques huiles essentielles des plantes Utilisés dans la thérapie grippale (Thymus lanceolatus, Eucalyptus globulus),» Mémoire fin d'étude Université Mohamed Khider, Biskra , 2021.

[10] P. MARTINETTI, Mon guide des huiles essentielles. Fernand Lanore, Fernand Lanore, 2013.

[11] Y. FOUDIL-CHERIF, «Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'eucalyptus globulus labill et camaldulensis,» Alger, 1991.

[12] I. ALMAS , E. INNOCENT , F. MACHUMI et W. KISINZA, «Chemical composition of essential oils from Eucalyptus globulus and Eucalyptus maculata grown in Tanzania,» vol. 12, 2021.

[13] M. N. BOUKHATEM, M. A. FERHAT , A. KAMELI, F. SAIDI, W. KERKADI et M. SADOK

BOUZIANE, «Quality assessment of the essential oil from Eucalyptus globulus Labill of Blida (Algeria) origin. International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy,» vol. 17, 2014.

[14] N. KOZIOL, «Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora: qualité, efficacité et toxicité,» 2015.

[15] M. N. BOUKHATEM , A. FERHAT et A. KAMELI, «Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature,» vol. 3, n° 14, 2019.

[16] M.-E. LUCCHESI, «Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles,» Thèse de doctorat de l'Université de la Reunion, Saint Denis, 2005.

[17] E. BENYOUSSEF, S. HASNI, R. BELABBES et J. Bessiere, «Modélisation du transfert de matiére lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre,» vol. 85, n° 11, 2002.

[18] S. SAIDANI et S. CHIBANE, « Extraction et caractérisation de quelques huiles essentielles (la menthe et le thym) dans la région de la Kabylie,» Mémoire fin étude de l'Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 2021.

[19] K. MOUSSA, « Extraction et Caractérisation des huiles essentielles et des extraits des trois plantes Curcuma, Absinthe, la corète potagère: Etude comparative de leurs éléments minéraux,» Université MUSTAPHA Stamboul, Mascara, 2024.

[20] N. BOUHADDOUDA, «Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: Origanum vulgare et Mentha pulegium,» Thése de Doctorat de la Université Badji Mokhtar, Annaba, 2016.

[21] P. I. PENCHEV, «Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions,» Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, Toulouse, 2010.

[22] R. ACHOUR, W. AOUN et F. KHIIEREDDIINE, «Méthodes d'extraction,d'identification et purification des huiles essentielles,» Thése de doctorat de la Université Larbi Tébessi, Tébessa, 2022.

[23] . D. C. MONTGOMERY, Design and analysis of experiments, John wiley & sons, 2017.

[24] G. E. P. BOX, J. S. HUNTER et W. G. HUNTER, Statistics for experimenters. In Wiley series in probability and statistics, Wiley Hoboken, NJ, 2005.

[25] R. A. FISHER, The design of experiments., New york: Hafner Press, 1935.

[26] A. ZOUAOUI, «Élimination du rouge de Congo par adsorption sur le charbon actif,» Mémoire fin d'étude Université Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, 2024.

[27] P. MOLYNEUX, «The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) forestimating antioxidant activity,» vol. 26, n° 12, 2004.

[28] W. BRAND-WILLIAMS, M.-E. CUVELIER et C. BERSET, «Use of a free radical method to

evaluate antioxidant activity,» vol. 28, n° 11, 1995.

[29] L. HARKAT-MADOURI, . A. BOUDRIA , . K. MADANI, S. ZAKIA BEY-OULD Si , R. PEGGY, D. GRENIER, . H. ALLALOU, H. REMINI, A. ADJAOUD et L. BOULEKBACHE-MAKHLOUF, «Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria,» vol. 78, 2015.

[30] E. NOUMI, M. SNOUSSI, H. HAJLAOUI, N. TRABELSI, R. KSOURI, V. EULOGIO et A. BAKHROUF, «Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of Melaleuca alternifolia (Tea Tree) and Eucalyptus globulus essential oils against oral Candida species,» vol. 5, n° 117, 2011.