



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb Blida 1

Faculté des sciences

Mémoire de fin d'études

En vue l'obtention du diplôme de master en chimie

Option : Chimie des produits naturels

Thème

**Valorisation et tentative de formulation de
l'huile essentielle extraite d'une plante locale.**

Réalisé par :

MALKI Ibtissem

Devant le jury :

| | | | |
|--------------------------------|------------|------------------------------|------------------|
| Mr. MEZRAG. A | MCB | Université de Blida 1 | Président |
| Mr. CHINI Z.L | MAA | Université de Blida 1 | Examineur |
| Mr. ABDALLAH El Hadj. A | Pr | Université de Blida 1 | Promoteur |

Promotion 2023/2024

Je dédie ce modeste travail à :

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

A ce et celle que j'aime beaucoup et qui m'ont soutenue tout au long de mon parcours, à vous mon frère et ma sœur.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude.

Tout d'abord, nous remercions Allah qui m'a donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Je tiens à remercier profondément mon promoteur, Mr Abdallah EL Hadj Abdallah, professeur au département de chimie pour sa gentillesse, sa présence et la qualité de son encadrement et de m'avoir dirigé et orienté avec ses précieux conseils, merci encore une fois pour votre vigueur et votre optimisme.

Mes vifs remerciements et mon profond respect vont également à Mr Mezrag Abderrahmane, maître de conférences B au département de chimie à l'université de Blida-1 pour l'honneur qu'il me fait de présider le jury de ce mémoire.

Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements Mr Chini Zine El abidine, maître assistant au département de chimie à l'université de Blida-1 d'avoir accepté de juger ce travail et de l'enrichir davantage par ses remarques et critiques.

Mes remerciements s'adressent à ma tante professeur Nora Chahbar-Adidou vice doyenne chargée de la post- graduation, de la recherche scientifique et des relations extérieures. Faculté des sciences, l'université M'hamed Bougara Boumerdès, pour son aide, ses conseils et sa disponibilité.

Mes remerciements les plus particuliers vont à M^{lle} Toudji Kamila, ingénieur de laboratoire de la faculté biologie à l'université M'hamed Bougara Boumerdès, pour sa disponibilité, son aide et sa modestie.

Je remercie chaleureusement tous les professeurs du département de chimie ainsi que toutes les équipes de laboratoire du département.

Je remercie mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Je suis redevable d'une éducation dont je suis fier ».

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude et adresser mes vifs remerciements à ceux et à celles qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, mes sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

| | |
|---|----|
| REMERCIEMENT | |
| RESUM E | |
| LISTE DES ABREVIATIONS | |
| LISTE DES FIGURES | |
| LISTE DES TABLEAUX | |
| INTRODUCTION | 1 |
| | |
| CHAPITRE I : GENERALITE DES HUILES ESSENTIELLE | |
| I.L'huile essentielle | 2 |
| I.1. Définition | 2 |
| I.2. Localisation les huiles essentielles dans la plante | 2 |
| I.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante | 2 |
| I.4. Composition chimiques des huiles essentielles | 3 |
| I.4.1. Terpènes | 3 |
| I.4.1.1. Monoterpènes : $C_{10}H_{16}$ | 3 |
| I.4.1.2. Sesquiterpènes : $C_{15}H_{24}$ | 3 |
| I.4.2. Les composés aromatiques | 4 |
| I.4.3. Composés d'origine diverses | 4 |
| I.5. Les facteurs qui influencent sur la composition des huiles essentielles | 4 |
| I.6. Procédés d'extraction des huiles essentielle | 5 |
| I.6.1. Les techniques conventionnelles | 5 |
| I.6.1.1. Hydrodistillation | 5 |
| I.6.1.2. Entrainement à la vapeur d'eau | 7 |
| I.6.1.3. Hydro-diffusion | 8 |
| I.6.1.4. L'enfleurage | 8 |
| I.6.1.5. Expression à froid | 9 |
| I.6.1.6.L'extraction par solvants volatils | 9 |
| I.6.2. Les techniques innovantes | 10 |
| I.6.2.1. Extraction assistée par micro-ondes | 10 |
| I.6.2.2. L'extraction au CO_2 supercritique | 11 |
| I.6.2.3. L'extraction par ultrasons | 11 |
| I.6.3. Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction | 12 |
| I.7.Les activités des huiles essentielles | 13 |
| I.7.1.Activité antioxydante | 13 |
| I.7.1.1.Stress oxydant | 13 |
| I.7.1.2.Pathologie liée au stress oxydatif | 14 |
| I.7. 1.3.Radicaux libres | 14 |
| I.7.1.3.1.Les classifications de radicaux libres | 15 |
| I.7.1.3.2.Les sources des radicaux libres | 15 |
| I.7.1.4.Les antioxydants | 15 |
| I.7.1.4.1. Classification des antioxydants | 15 |
| I.7.1.4.1.1. Antioxydants enzymatique | 16 |
| I.7.1.4.1.2.Antioxydants non enzymatique | 17 |
| I.7.1.5. Les méthodes d'évaluation l'activité antioxydante | 18 |
| I.7.1.5.1. Méthodes basées sur le transfert d'hydrogène HAT | 18 |
| I.7.1.5.2.Méthodes basées sur le transfert d'élection SET | 19 |
| I.7.2. Activité antibactérienne | 21 |
| I.7.2.1.Les méthodes d'évaluation l'activité antibactérienne | 22 |
| I.7.2.1.1.Méthode de diffusion | 22 |

| | |
|---|----|
| I.7.2.1.2.Méthode de dilution | 23 |
| CHAPITRE II : PRESENTATION DES ESPEES ETUDIES. | |
| II.Les plantes locales | 24 |
| II.1.Les plantes endémiques | 24 |
| II.2.Myrtaceae | 24 |
| II.2.1.Principaux genres | 24 |
| II.2.1.1. Eucalyptus | 25 |
| II.2.1.1.1.Eucalyptus Globulus | 25 |
| II.2.1.1.2.Eucalyptus Radiata | 27 |
| II.2.1.1.3. Utilisation d'Eucalyptus | 29 |
| CHAPITRE III. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DES EUCALYPTUS GLOBULUS ET RADIATA. | |
| III.1. Introduction | 31 |
| III.2.La zone étudiée | 31 |
| III.2.1.Situation géographique des matérielles végétales récoltes | 32 |
| III.2.2.Climat | 32 |
| III.3.L'extraction par hydrodistillation | 33 |
| III.3.1.Récolte, identification, séchage, broyage et conservation | 33 |
| III.3.1.1. Mode opératoire | 33 |
| III.3.1.2.Le rendement | 34 |
| III. 4. Caractérisation les huiles essentielles | 34 |
| III.4.1. Caractéristiques organoleptiques | 34 |
| III.4.2. Caractéristiques physiques | 34 |
| III.4.2.1.Densité relative ou taux d'humidité | 34 |
| III.4.2.2.Potentiel hydrogène pH | 35 |
| III.4.2.3.Indice de réfraction | 35 |
| III.4.3. Les indices chimiques | 35 |
| III.4.3.1.L'indice d'acide I_nA | 35 |
| III.4.3.2.L'indice d'ester I_nE | 36 |
| III.4.3.3.L'indice de saponification I_nS | 36 |
| III.4.3.4.L'indice de peroxyde I_nP | 37 |
| III.5.Screening phytochimique | 38 |
| III.5.1.Les tanins | 38 |
| III.5.2. Les alcaloïdes | 38 |
| III.5.3.Quinones libres | 39 |
| III.5.4.Flavonoïdes | 39 |
| III.5.5.Mucilages | 39 |
| III.5.6.Anthocyanes | 39 |
| III.5.7.Polyphénol totaux | 39 |
| III.5.8.Saponine | 39 |
| III.5.9.Les composés réducteurs | 40 |
| III.6. L'activité antioxydante | 40 |
| III.6.1.Test de piégeage du radical libre DPPH | 40 |
| III.6.1.1. Préparation de la solution DPPH | 41 |
| III.6.1.2.Préparation de la solution mère | 41 |
| III.6.1.3.Mesure l'absorbance | 41 |
| III.6.1.4.Détermination d'IC 50 | 42 |
| III.7. L'activité antimicrobienne | 42 |
| III.7.1.Milieu de culture | 42 |

| | |
|--|----|
| III.7.2. Les souches microbiennes utilisées | 42 |
| III.7.3. Préparation des suspensions | 42 |
| III.7.3.1. Pour les bactéries | 42 |
| III.7.3.2. Pour les champignons | 42 |
| III.7.4. Préparation des disques | 43 |
| III.7.5. Les antibiotiques | 43 |
| III.8. Les analyses | 44 |
| III.9. Formulation des crèmes | 44 |
| III.9.1. Crème | 44 |
| III.9.1.1. Définition | 44 |
| III.9.1.2. Les principaux types de crème cosmétiques | 44 |
| III.9.1.2.1. Crèmes hydratantes | 45 |
| III.9.1.2.2. Crèmes anti-âges | 45 |
| III.9.1.2.3. Crèmes spécifiques | 45 |
| III.9.1.2.4. Crèmes solaires | 45 |
| III.9.1.2.5. Crèmes spécialisées | 45 |
| III.9.1.3. Emulsion | 45 |
| III.9.1.3.1. Les types d'émulsion | 46 |
| III.9.1.3.1.1. Une émulsion « l'huile dans eau H/E » | 46 |
| III.9.1.3.1.2. Une émulsion « eau dans l'huile » | 46 |
| III.9.1.4. Préparation de crème | 46 |
| III.9.1.4.1. Les ingrédients | 46 |
| III.9.1.4.1.1. La composition de la phase huileuse | 46 |
| III.9.1.4.1.2. La composition de la phase aqueuse | 46 |
| III.9.1.5. Contrôle réalisé sur la crème | 47 |
| III.9.1.5.1. Contrôle organoleptique | 47 |
| III.9.1.5.1.2. Contrôle de pH | 47 |
| III.9.1.5.1.3. Homogénéité | 47 |
| CHAPITRE IV. RESULTATS ET DISCUSSION | |
| IV. 1. Le rendement | 48 |
| IV.2. Caractérisations des huiles essentielles | 48 |
| IV.2.1. Caractéristiques organoleptiques | 48 |
| IV.2.2. Les caractéristiques physico-chimiques | 49 |
| IV.3. Screening phytochimique | 50 |
| IV.4. Activité antioxydante | 54 |
| IV.4.1. Calcul de pourcentage d'inhibition I% | 54 |
| IV.4.1.1. <i>Eucalyptus Globulus</i> | 54 |
| IV.4.1.2. <i>Eucalyptus Radiata</i> | 54 |
| IV.4.1.3. Acide ascorbique | 55 |
| IV.5. Activité antimicrobienne | 56 |
| IV.6. Préparation et caractérisation de crème hydratante à base de l'huile essentielle | 60 |
| IV.6.1. Les caractérisations organoleptiques | 61 |
| IV.6.2. Le pH | 61 |
| IV.6.3. Homogénéité | 61 |
| CONCLUSION | 62 |
| REFERENCES | |

الهدف من هذا العمل هو تقييم الأنشطة البيولوجية وكذلك التوصيف الكيميائي للزيوت الأساسية المستخرجة من نوعين من شجرة الكينا *Eucalyptus Globulus* و *Eucalyptus Radiata* التي تم جمعها من منطقة الجزائر العاصمة، ومن ناحية أخرى الفحص الكيميائي النباتي ومحاولة تحديد تركيبة تعتمد على الزيوت العطرية. يتم استخلاص الزيوت العطرية من خلال عملية التقطير المائي بإنتاجية تبلغ 0.38% و 0.42% لنوعي الأوكالبتوس الكروي والأوكالبتوس رادياتا على التوالي.

يتم تحديد تقييم نشاط مضادات الأكسدة بواسطة طريقة DPPH. أظهرت الزيوت العطرية المستخرجة من نوعين قوة مضادة للأكسدة مقبولة حيث تبلغ نسبة IC50% التي تم الحصول عليها من *Eucalyptus Globulus* 0.812 ملجم/مل ومن *Eucalyptus Radiata* 0.756 ملجم/مل. بالمقارنة مع النشاط المضاد للأكسدة لحمض الأسكوربيك فيتامين س (IC50) = 0.0015 ملجم/م

تم اختبار النشاط المضاد للميكروبات بطريقة Antibiogram. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن الزيوت العطرية التي تمت دراستها أظهرت نشاطاً قوياً على *Bacillus Subtilis* و *Candida Albicans* والمكورات العنقودية الذهبية، وهذا الأخير يدل على فرط الحساسية لنشاط اثنين من الزيوت التي يتراوح قطرها بين 25 ملم - 27 ملم. المساهمة الثانية في هذا العمل هي صياغة كريم حيث أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية نتائج مقبولة من حيث الجوانب

الكلمات الرئيسية: البيولوجية الأنشطة، DPPH، الاستخراج، الزيوت العطرية.

L'objectif de ce travail est l'évaluation des activités biologiques et la caractérisation chimique des huiles essentielles récupérées de deux espèces d'eucalyptus (*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata*) récoltés de zone d'Alger ainsi que le screening phytochimique et une tentative de formulation à base d'huile essentielle.

L'extraction des huiles essentielle est effectuée par le procédé d'hydrodistillation avec un rendement est 0,38% et 0,42% pour les deux espèces d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* respectivement.

L'évaluation de l'activité antioxydante est déterminée par la méthode de DPPH. Les huiles essentielles récupérées de deux espèces ont montré un pouvoir antioxydant acceptable avec IC50% obtenues d'*Eucalyptus Globulus* est égale à 0,812 mg/mL et d'*Eucalyptus Radiata* est 0,756 mg/mL en comparaison avec l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) (IC50= 0,0015mg/mL)

L'activité antimicrobienne est testée par la méthode d'Antibiogramme. Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles étudiées montrent une forte activité sur *Bacillus Subtilis*, *Candida Albicans* et *Staphylococcus Aureus*. Cette dernière marque une hypersensibilité à l'activité de deux huiles avec un diamètre varient entre 25mm-27mm.

La deuxième contribution de ce travail est la formulation de crème où les analyses physico-chimiques ont montré des résultats acceptables en termes d'aspect et stabilité.

Mots clés : Activités biologiques, DPPH, Extraction, Huile essentielle, Crème.

The main subject of this work is the evaluation of biological activities as well as the chemical characterization of essential oils recovered from two species of eucalyptus (*Eucalyptus Globulus* and *Eucalyptus Radiata*) collected from the Algiers area, on one hand and on the other hand the phytochemical screening and formulation attempt based on essential oil are carried out.

The extraction of essential oils is carried out by the hydrodistillation process with a yield of 0.38% and 0.42% for the two species of *Eucalyptus Globulus* and *Eucalyptus Radiata* respectively.

The evaluation of the antioxidant activity is determined by the DPPH method. The essential oils recovered from two species showed an acceptable antioxidant power with IC₅₀ obtained equal to 0.812 mg/mL and 0.756 mg/mL from *Eucalyptus Globulus* and *Eucalyptus Radiata* respectively. In comparison with the antioxidant activity of ascorbic acid (vitamin C) (IC₅₀= 0.0015 mg/mL)

The antimicrobial activity is tested by the AntibioGram method. The results obtained show that the essential oils studied show strong activity on *Bacillus Subtilis*, *Candida Albicans* and *Staphylococcus Aureus*. The latter marks a hypersensitivity to the activity of two oils with diameter varying between 25mm-27mm.

The second contribution of this work is the formulation of cream where the physicochemical analyzes showed acceptable results in terms of aspects and stability.

Keywords: Biological activities, DPPH, Extraction, Essential oil, Cream.

CHAPITRE I : GENERALITE DES HUILES ESSENTIELLES

| | | |
|--------------|--|----|
| Figure I.1 | : Structure de quelques monoterpènes | 3 |
| Figure I.2 | : Structure de quelques sesquiterpènes | 4 |
| Figure I.3 | : Structure de composés aromatiques | 4 |
| Figure I.4 | : Schéma d'un montage d'hydrodistillation | 6 |
| Figure I.5 | : Dispositif d'extraction Type Clevenger | 7 |
| Figure I.6 | : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau | 7 |
| Figure I.7 | : Extraction hydro-diffusion | 8 |
| Figure I.8 | : L'enfleurage | 8 |
| Figure I.9 | : Extraction par froid | 9 |
| Figure I.10 | : Extraction par solvant | 10 |
| Figure I.11 | : Extraction microonde | 10 |
| Figure I.12 | : Schéma de la technique d'extraction par le CO ₂ supercritique | 11 |
| Figure I.13 | : Extraction aux ultrasons | 12 |
| Figure I.14 | : Stress oxydant | 14 |
| Figure I.15 | : Neutralisation de radicale libre par un antioxydant | 14 |
| Figure I.16 | : La classification des antioxydants | 16 |
| Figure I. 17 | : Réaction d'ABTS | 19 |
| Figure I.18. | : Réaction de la méthode de FRAP | 20 |
| Figure I.19. | : Réduction du DPPH par un antioxydant | 21 |
| Figure I.20 | : Antibiogramme | 22 |
| Figure I.21 | : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide | 23 |

CHAPITRE II : PRESENTATION DES ESPEES ETUDIES.

| | | |
|-------------|---|----|
| Figure II.1 | : Photographe d' <i>Eucalyptus Globulus</i> | 27 |
| Figure II.2 | : Photographe d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 28 |

CHAPITRE III. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DES EUCALYPTUS GLOBULUS ET RADIATA.

| | | |
|--------------|---|----|
| Figure III.1 | : Organigramme présente le Protocol d'étude expérimentale. | 31 |
| Figure III.2 | : Le cadre régional et cadre local (image satellitaire Google Earth 2021) | 32 |
| Figure III.3 | : Le montage d'hydrodistillation des deux espèces d' <i>Eucalyptus</i> (<i>Globulus et Radiata</i>) | 34 |
| Figure III.4 | : Réduction du radical libre DPPH | 40 |
| Figure III.5 | : L'agitation de la solution méthanolique DPPH | 41 |
| Figure III.6 | : Les disques | 43 |

CHAPITRE IV. RESULTATS ET DISCUSSION

| | | |
|-------------|--|----|
| Figure IV.1 | : Représentation graphique du rendement de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 48 |
| Figure IV.2 | : Pourcentage d'activité antioxydante (A%) d' <i>Eucalyptus Globulus</i> en fonction de la concentration | 54 |
| Figure IV.3 | : Pourcentage d'activité antioxydante (A%) d' <i>Eucalyptus Radiata</i> en fonction de la concentration | 55 |

LA LISTRE DES FIGURES

| | | |
|--------------|---|----|
| Figure IV.4. | : La variation du pourcentage d'activité antioxydante (A%) d'Acide ascorbiques en fonction de la concentration | 56 |
| Figure IV.5 | : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche <i>Escherichia coli</i> , vis-à-vis des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycine | 57 |
| Figure IV.6 | : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche <i>Bacillus subtilis</i> vis-à-vis des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycin | 57 |
| Figure IV.7 | : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche <i>Staphylococcus Aureus</i> vis-à-vis des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycine | 58 |
| Figure IV.8 | : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche <i>Candida albicans</i> vis-à-vis des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycine | 58 |
| Figure IV.9 | : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode antibiogramme (Témoin positif) | 59 |
| Figure IV.10 | : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque. (Témoin négatif) | 59 |
| Figure IV.11 | : Représentation graphique de l'activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque | 60 |

CHAPITRE I : GENERALITE DES HUILES ESSENTIELLE

| | | |
|-------------|--|----|
| Tableau I.1 | : Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction | 12 |
| Tableau I.2 | : Pathologie liée au stress oxydatif | 14 |

CHAPITRE II : PRESENTATION DES ESPEES ETUDIES.

| | | |
|--------------|--|----|
| Tableau II.1 | : La position systématique (APG II) | 26 |
| Tableau II.2 | : Description botanique de l'espèce <i>Eucalyptus Globulus</i> | 26 |
| Tableau II.3 | : Composition chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus Globulus</i> | 27 |
| Tableau II.4 | : La position systématique (APG II) | 28 |
| Tableau II.5 | : La description botanique de l'espèce d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 28 |
| Tableau II.6 | : Composition chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 29 |

CHAPITRE III. EVALUATION DES ACTIVITES BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES DES EUCALYPTUS GLOBULUS ET RADIATA.

| | | |
|---------------|--|----|
| Tableau III.1 | : Les coordonnées géographiques de la zone | 32 |
|---------------|--|----|

CHAPITRE IV. RESULTATS ET DISCUSSIONS

| | | |
|--------------|---|----|
| Tableau IV.1 | : Les résultats de caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 49 |
| Tableau IV.2 | : Paramètres physico-chimiques d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et <i>Eucalyptus Radiata</i> . | 49 |
| Tableau IV.3 | : Résultats du screening chimique d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et d' <i>Eucalyptus Radiata</i> | 51 |
| Tableau IV.4 | : Les valeurs de taux d'inhibition de l'huile essentielle <i>Eucalyptus Globulus</i> en fonction de la concentration | 53 |
| Tableau IV.5 | : Les valeurs de taux d'inhibition de l'huile essentielle <i>Eucalyptus Radiata</i> en fonction de la concentration | 54 |
| Tableau IV.6 | : Les valeurs de taux d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque solution fille d'Acide ascorbique | 55 |
| Tableau IV.7 | : Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus Globulus</i> et <i>Eucalyptus Radiata</i> pur et les antibiotiques | 57 |

| | |
|-------------------------------|---|
| AAPH | 2,2'- azobis (2-amidino propane dihydrochloride) |
| Abs | Absorbance |
| ABTS | 2,2-azinobis 3 ethylbenz othyzoline 6-sulphonate. |
| AFNOR | Association Française de Normalisation |
| ATCC | American Type Culture Collection |
| CAT | Catalase |
| CMB | Concentration Minimale Bactéricide. |
| CMI | Concentration Minimale Inhibitrice. |
| DO | Densité Optique |
| DPPH | 2,2-DiPhényl-1-Picryl Hydrazyle. |
| E | Eucalyptus |
| EG | Eucalyptus Globulus |
| ER | Eucalyptus Radiata |
| ERO | Espèces réactives de l'oxygène |
| FRAP | Ferric reducing antioxydant power |
| FRAP | Ferric Reducing Antioxydant Power) |
| G | Globulus |
| GPx | Glutathion peroxydases |
| GSH | Glutathion |
| GSS | Disulfure de glutathion |
| H ₂ O ₂ | Peroxyde d'hydrogène |
| HAT | Hydrogene atom transfert |
| HEs | Huiles essentielles |
| HORAC | Assay Hydroxyl radiacal antioxydant co-capacity |
| I | Inhibition |
| KAN | Kanamycine |
| KOH | Hydroxyde de potassium |
| LEV | Lévofloxacin |
| meq d'O ₂ /Kg | Milliéquivalents d'oxygène peroxydique lie par Kilogramme. |
| Min | Minutes |
| MI | Millilitre |
| N | Normalité |
| Nm | Nanomètre |
| OH [·] | Radical hydroxyle |
| ORAC | Oxygen radiacal absorbance |
| pH | Potentiel Hydrogène. |
| R | Radiata |
| RHE | Rendement d'huile essentielle |
| RO | Radiata alcoyle |
| ROO | Radiata peroxyde |
| ROS | Espèces réactifs de l'oxygène |
| SET | Single electron |
| SOD | Superoxyde dismutase |
| T | Temps |
| TEAC | Trolox équivalent antioxydant capacity |
| TrX | Thioridoxine peroxydes |
| µg | Microgrammes |

INTRODUCTION GENERALE

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé divers plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composé potentiel attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. **(Bassaid, 2019)**.

L'Algérie, de par sa situation géographique, et ses différentes zones bioclimatiques (humide, subhumide, semi-aride, aride ou désertique) offre une gamme très diversifiée de plante (plus de 3000 espèces et 1000 genres) d'aromatiques volontaires, cultivées et médicinales nombre de plantes utilisées. **(Reguieg, 2011 ; Bouabdelli et al, 2012)**.

Les plantes aromatique, telles que celles de la famille des Myrtacées sont connues pour leurs utilisations très répandues dans la médecine traditionnelle et la sécurité des aliments.

La valorisation des HEs dans les industries passe par une étape préliminaire de détermination de leur composition chimique pour les caractériser et mettre en évidence leur éventuelle spécificité, ainsi que par l'étude de leurs propriétés biologiques afin de les utiliser pour les propriétés thérapeutiques et cosmétiques **(Yahiaoui et Zouaoui, 2019)**.

L'objectif de notre travail est d'évalué les activités biologiques (antioxydante et antibactérienne) des huiles essentielles récupérées de la plante locale. Il s'agit des Eucalyptus de la famille des myrtacées. Les échantillons de ces espèces sont récoltés de région d'Alger.

Ce mémoire va s'articuler en quatre principaux chapitres :

- Le premier chapitre consiste en une recherche bibliographique portant sur les huiles essentielles, leurs compositions, leur procédé d'extraction ainsi que leurs activités biologiques.
- Une description des espèces *Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* ont fait l'objet du second chapitre de synthèse bibliographique.
- L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation et détermination leur compositions et leurs caractérisations, l'évaluation des activités biologiques et préparation de crème à base des huiles essentielles sont développés au chapitre trois.
- Les résultats et leurs interprétations ont été traités dans quatrième chapitre.

Enfin, notre travail de recherche s'achève par une conclusion générale et des perspectives soulignant les axes à développer au futur.

CHAPITRE I :
GENERALITE DES
HUILES ESSENTIELLE

L'utilisation des Plantes Aromatiques et Médicinales (PAM) dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire) est due principalement à leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (**Paolini, 2005**). Ainsi, ces plantes renferment un nombre très élevé de composés chimiques (huiles essentielles, flavonoïdes, quinones, vitamines, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc.) de propriétés physico-chimiques très variées et qui ont des activités biologiques différentes (antimicrobienne, antioxydante, antivirale ...etc.) (**Michel, 2011**).

I.L'huile essentielle

I.1. Définition

Selon la pharmacopée Européenne 2017 : « huiles essentielles définissent comme produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage ».

Plus précisément, selon (**Durvelle, 1930**) les essences ou huiles essentielles sous le nom d'huiles volatiles, de parfumes...etc., sont des substances odorants huileuses volatiles, c'est-à-dire s'évaporent rapidement, très concentrés, peu soluble dans l'eau, plus ou moins soluble dans l'alcool et dans l'éther, incolore ou jaunâtre, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquide à température ambiante ordinaire, leur odeur plus moins forte, suave, piquante ou désagréable.

I.2. Localisation les huiles essentielles dans la plante

La synthèse des huiles essentielles revient aux appareils sécréteurs contenus dans les organes végétaux (feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, fruits et graines).

Les appareils sont souvent situés sur ou à proximité de la surface du végétal et c'est l'espèce à laquelle appartient l'arbre ou la plante qui va déterminer lequel va entrer en action poils sécréteurs externes dans le cas des labiées et des géraniacées, cellules sécrétrices dans le cas des Lauracées (Cannelle, Laurier), Magnoliacées et des Pipéracées, poches sécrétrices dans le cas des Myrtacées (Eucalyptus, Girofle, Myrtus), des Rosacées et Rutacées et canaux sécréteurs pour les ombellifères et les conifères (**Bruneton, 1999**).

I.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles sont des messages chimiques utilisés par les plantes aromatiques pour interagir avec leur environnement. Elles permettent d'éloigner les maladies, les parasites, mais aussi de protéger contre les rayonnements du soleil. Elles jouent également un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes.

I.4. Composition chimiques des huiles essentielles

I.4.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène, de formule brute $(C_5H_8)_n$, selon le nombre d'unités associées (Dale Poulter et al, 1997).

I.4.1.1. Monoterpènes : $C_{10}H_{16}$

La figure suivante présente quelques structures monoterpènes.

| | | | | |
|------------------------|--|---|---|---|
| Monoterpenes | | | | |
| | β-myrcene Acyclic hydrocarbure | Limonene Cyclic hydrocarbure | α-phelladrene Cyclic hydrocarbure | α-terpinene Cyclic hydrocarbure |
| | | | | |
| | α-pinene Bicyclic hydrocarbure | β-pinene Bicyclic hydrocarbure | Camphene Bicyclic hydrocarbure | β-pinene Bicyclic hydrocarbure |
| | | | | |
| | Linalool Acyclic Alcohol | Nerol Acyclic Alcohol | Citronellol Acyclic Alcohol | Carvacrol Phenol |
| | | | | |
| Tymol Phenol | Citronellal Acyclic Aldehyde | Carvone ketone | α-thujone ketone | |

Figure I.1 : Structure de quelques monoterpènes

I.4.1.2. Sesquiterpènes : $C_{15}H_{24}$

La figure suivante présente un tableau qui contient des structures de quelques sesquiterpènes

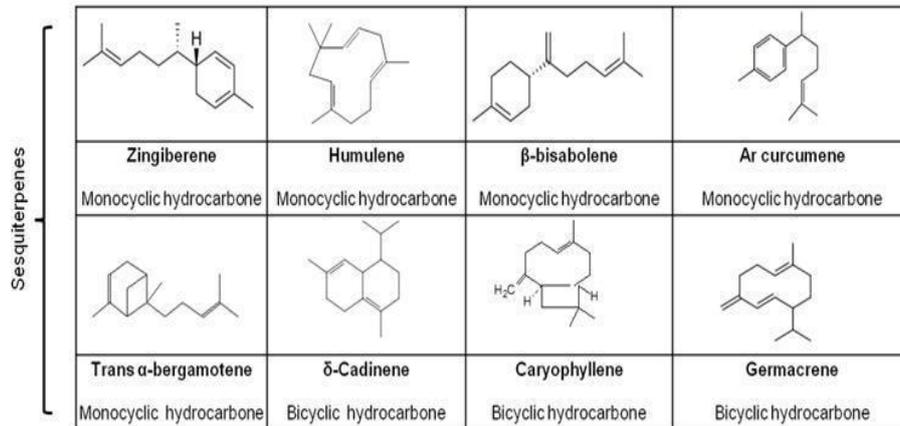


Figure I.2: Structure de quelques sesquiterpènes

I.4.2. Les composés aromatiques

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substance qu'il est difficile de définir simplement, l'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzénique, liée au moins avec un groupe hydroxyde libre ou engagé dans une autres fonction : éther, ester et hétéroside (Bruneton et al, 2009). La figure suivante un tableau qui contient des structures de composés aromatiques.

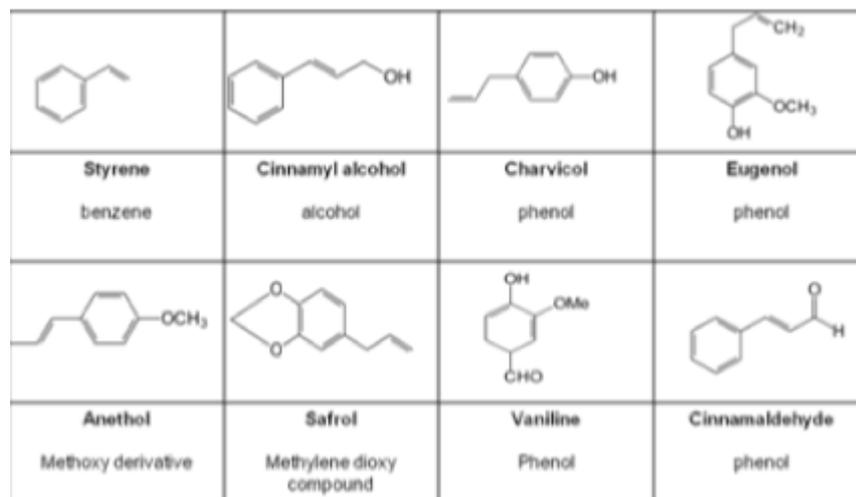


Figure I.3 : Structure de composés aromatiques.

I.4.3. Composés d'origine diverses

- ✓ Aldéhyde (R- COH) : Citral
- ✓ Les acides (R-COOH) : acide cinnamique
- ✓ Les esters (R₁-COOR₂) : acétate de linalyle.
- ✓ Alcool : R-OH : Géraniol
- ✓ Cétone : R1-CO-R2 : menthone.

I.5. Les facteurs influençant sur la composition des huiles essentielles

(Jouault, 2012) a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles essentielles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit

1. La sélection de la plante qui tributaire du genre de l'espèce botanique.
2. Le chémotype :(chémotype) ne présentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de la nature de sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode.
3. La partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile, en effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE.
4. La période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs le plus intéressants produits pour les plantes sont à leur concentration maximale.
5. La conservation des huiles essentielle : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants.

I.6. Procédés d'extraction des huiles essentielle

L'extraction est l'action de retirer une substance d'une autre, souvent au moyen d'un solvant.

Elle est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés du milieu initial.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles et le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter et des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, la méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaire et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, d'oxydation de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés. (Rezzoug et al, 2007).

I.6.1. Les techniques conventionnelles

I.6.1.1. Hydrodistillation

✓ Définition et principe

Hydrodistillation est la méthode d'extraction des huiles essentielles la plus ancienne et la plus simple.

Le principe est consisté à l'immerger la matière végétale dans un bain d'eau, ensuite l'ensemble est porté à l'ébullition sous pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules

végétales. (Farhat, 2010). Durant l'hydrodistillation, l'eau bouillante pénètre dans les cellules végétales et solubilise une partie de l'huile essentielle contenue dans les cellules de la plante, la solution aqueuse chargée de composés volatils, diffuse ensuite à travers le tissu de l'organe végétale vers la surface extérieure où l'huile essentielle sera évaporée, ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique, à la température d'ébullition, les pressions de vapeurs combinées sont égales à la pression d'évaporation, ainsi, les huiles essentielles dont les points d'ébullition varient normalement de 200 à 300°C, s'évaporent à une température proche de celle de l'eau. (Baser et Buchbauer, 2010).

Le mélange est ensuite refroidi, l'eau et les HEs, une fois condensées, se séparent en deux phases (Baser et Buchbauer, 2010). La figure suivante montre le schéma d'un montage d'hydrodistillation.

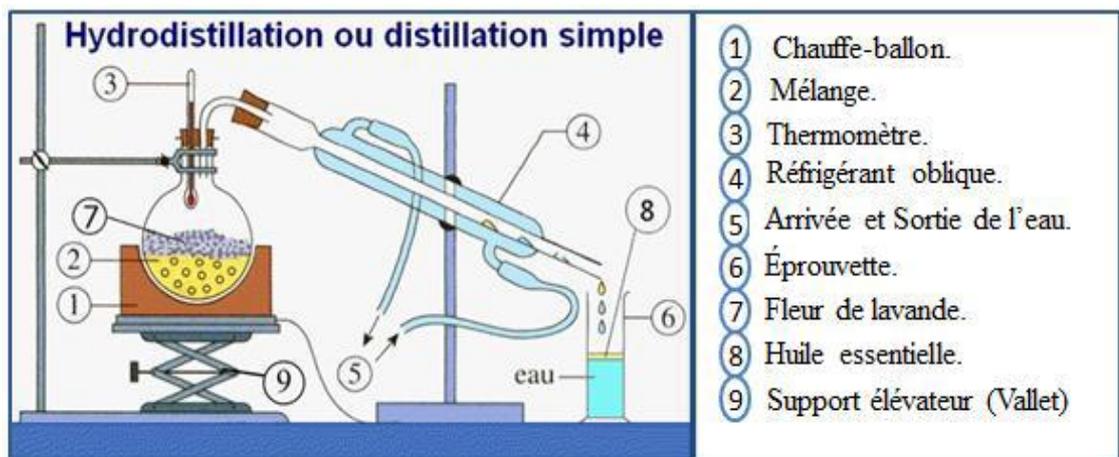


Figure I.4: Schéma d'un montage d'hydrodistillation

Clevenger

✓ Définition et principe

Le montage Clevenger est désigné par le nom de son inventeur Joseph Franklin Clevenger qui l'a publié en 1928.

Cet appareil permet l'extraction des huiles essentielles à partir d'échantillons de plantes. 2 éléments de la composant : un ballon et une pièce de verrerie modifiée (tube vertical combiné avec réfrigérant+ burette à robinet en verre). Un tube de retour pour la partie aqueuse de la distillation relie l'extrémité inférieure de la burette au tube vertical.

Le ballon contient de l'eau que l'on fait bouillir et la plante à extraire, la vapeur monte dans le montage jusqu'à réfrigérant, et le condensat retombe dans la burette. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale. La figure suivante présente la Dispositif d'extraction Type Clevenger.

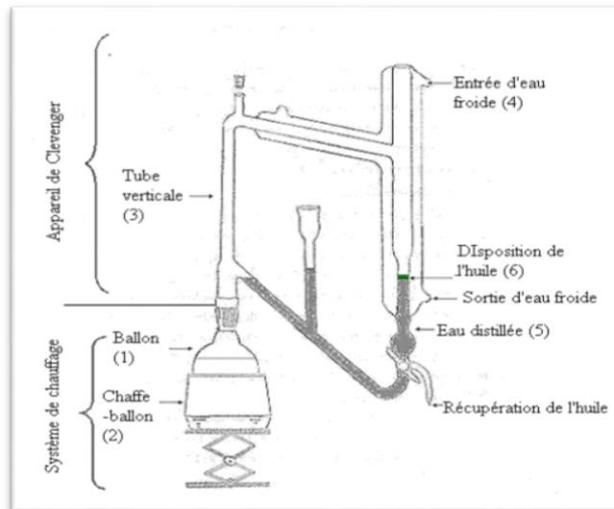


Figure I.5 : Dispositif d'extraction Type Clevenger

I.6.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

✓ Définition et principe

L'entraînement à la vapeur d'eau « Vapo-Hydrodistillation » est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles à la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille durant le passage de la vapeur à travers de matériel. Les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau+ l'huile essentielle ». La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée (**Belaiche, 1979**). La figure suivante présente Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.

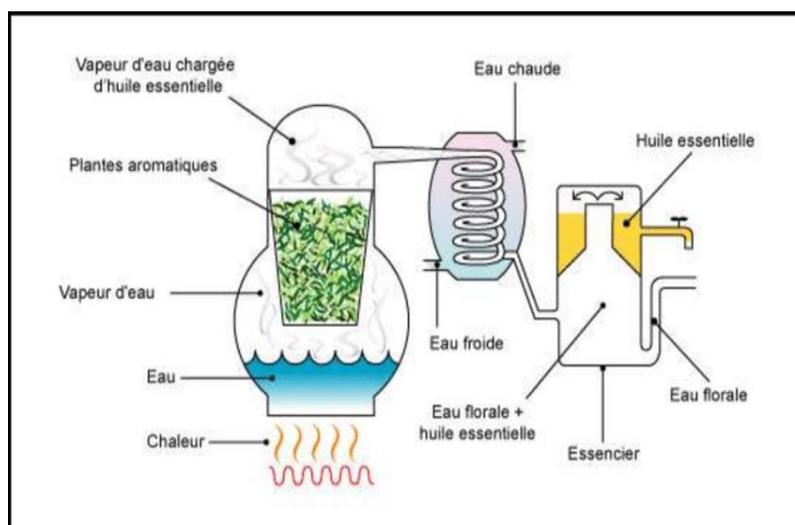


Figure I.6: Montage d'entraînement à la vapeur d'eau

I.6.1.3. Hydro-diffusion

✓ Définition et principe

L'hydro-diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur, il consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas à travers le végétal disposé sur une grille à l'intérieur d'un parallélépipède métallique, ce qui permet une meilleure répartition de la charge, l'huile essentielle s'écoule vers un collecteur permettant un équilibrage de pression (**Bazizi, 2017**). La figure suivante présente extraction hydro-diffusion.

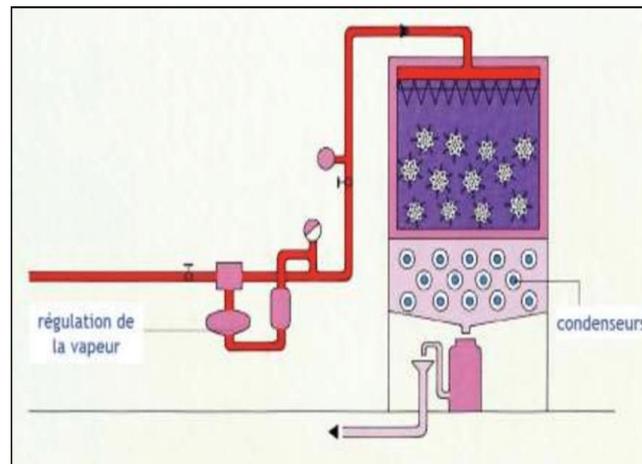


Figure I.7 : Extraction hydro-diffusion

I.6.1.4. L'enfleurage

✓ Définition et principe

L'enfleurage est une technique assez difficile, elle date de l'antiquité égyptienne et est basée sur la forte affinité des molécules odorantes pour les graisses. Elle est réservée principalement aux organes fragiles que sont les fleurs.

Le principe consiste à placer les fleurs odorantes dans les graisse, afin de laisser les arômes y pénétrer, une fois saturées, celles-ci sont ensuite lavées à l'alcool (**Besombes, 2008 ; Lucchesi, 2005**). La figure suivante présente extraction par l'enfleurage.



Figure I.8: L'enfleurage

I.6.1.5. Expression à froid

✓ Définition et principe

L'expression ou « pression à froid » ou « grattage » est un procédé d'extraction très simple. Il est principalement utilisé pour les écorces d'agrumes (citrons, pamplemousse, bergamote, orange douce, orange amer, mandarine) qui renferment une quantité importante d'huile essentielle (Alessandra Moro, 2008).

Cette technique sans chauffage est réservée à l'extraction des zestes des agrumes. Le principe est mécanique. Il est fondé sur la rupture des péricarpes, réservoirs d'essences olfactives, en passant les agrumes sur des récipients dont les parois sont recouvertes de pics en métal.

L'essence est libérée par un courant d'eau, puis décanté. La présence de l'eau peut entraîner des phénomènes d'hydrolyse de contamination par des pesticides résiduels ou des micro-organismes (Pierron Charles, 2014). La figure suivante présente extraction par froid.

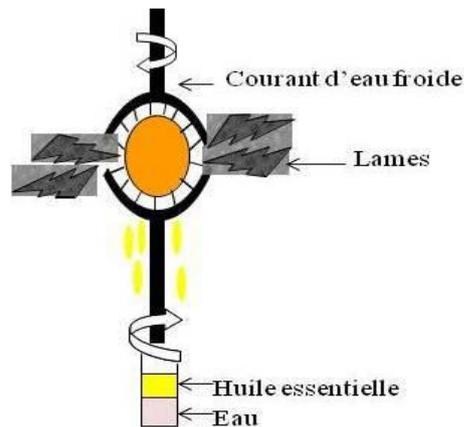


Figure I.9 : Extraction par froid

I.6.1.6.L'extraction par solvants volatils

✓ Définition et principe

La technique d'extraction par solvant volatils consiste à placer dans un extracteur la lumière végétale à traiter et un solvant volatil, grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en huiles essentielles, avant d'être envoyé au concentrateur pour être distillé sous pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés à l'huile actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, méthanol, dichlorométhane et l'acétone (Hubert, 1992). La figure suivante présente extraction par solvant.

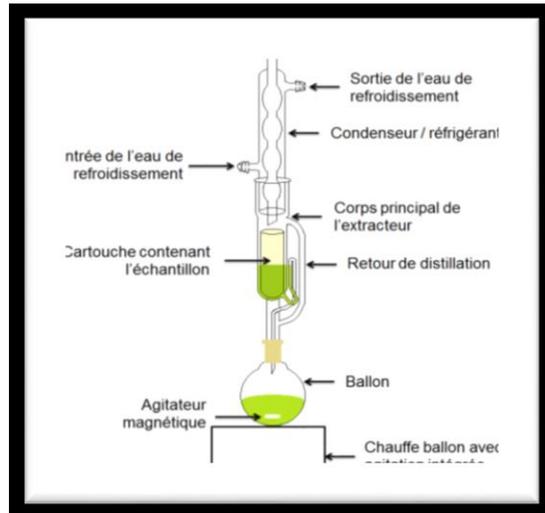


Figure I.10 : Extraction par solvant

I.6.2. Les techniques innovantes

I.6.2.1. Extraction assistée par micro-onde

✓ Définition et principe

C'est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles.

Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-onde à l'intérieur d'une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle.

Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, de refroidissement et décantation. (Hemwimon et al, 2007). La figure suivante présente extraction micro-onde.

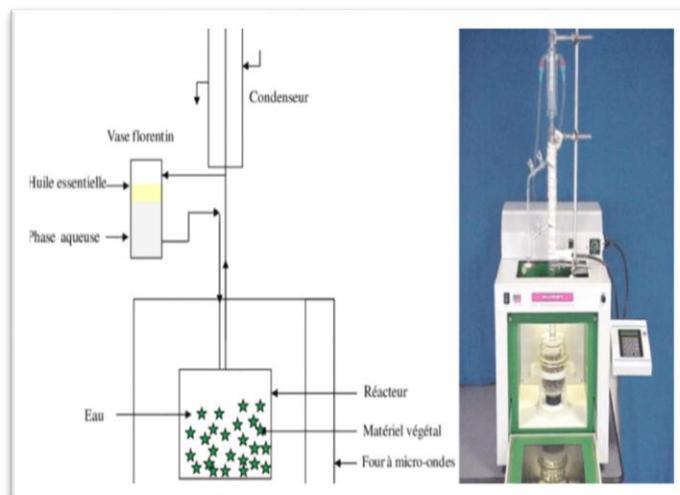


Figure I.11 : Extraction micro-onde

I.6.2.2. L'extraction au CO₂ supercritique

✓ Définition et principe

Le terme supercritique signifie que le CO₂ sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux, lorsqu'il est dans cet état, il est capable de dissoudre les huiles essentielles.

La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré, le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle qui est proche du naturel et sans trace de solvant.

De plus le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures. (Keville et Green, 1995 ; Baysal et Starmants, 1999). Le Schéma du système d'extraction par CO₂ supercritique présente dans la figure (I.12).

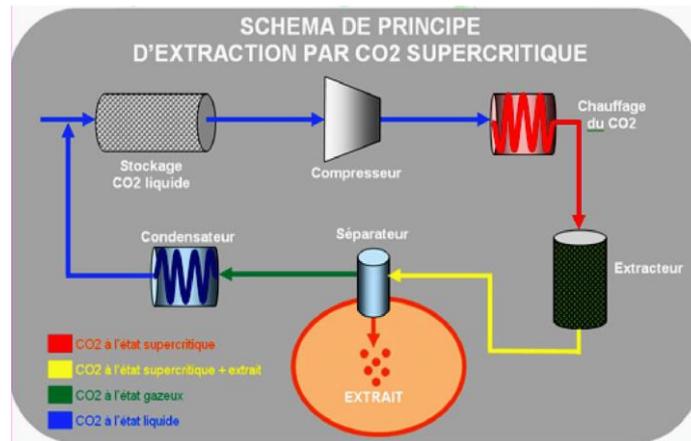


Figure I.12 : Schéma de la technique d'extraction par le CO₂ supercritique

I.6.2.3. L'extraction par ultrasons

✓ Principe et définition

L'extraction par ultrasons est une technique d'extraction innovante, qui permet d'extraire les principes actifs des végétaux et plantes médicinales notamment et de créer des phyto-extraits de qualité, en exploitant l'action exclusivement mécanique exercée par l'effet de cavitation produit par les ondes sonores.

Le principe d'extraction assistée par ultrasons implique la formation des cavitations acoustiques dont l'effondrement conduit aux différents phénomènes incluant tels que la fragmentation, l'érosion localisée la formation de pores, la force de cisaillement, l'augmentation de l'absorption et de l'indice de gonflement dans la matrice cellulaire de la plante, la collision intermoléculaire entraîne une fragmentation des particules permettant une meilleure solubilisation des composés due à la diminution de leur taille particule, la sonoporation est également une autre phénomène résultant de l'effondrement des cavitations à

la surface des cellules conduisant à l'augmentation du taux de transfert avec le solvant d'extraction (Kumar et al ,2021 ; Pico,2013). La figure suivante présente l'extraction par ultrason.

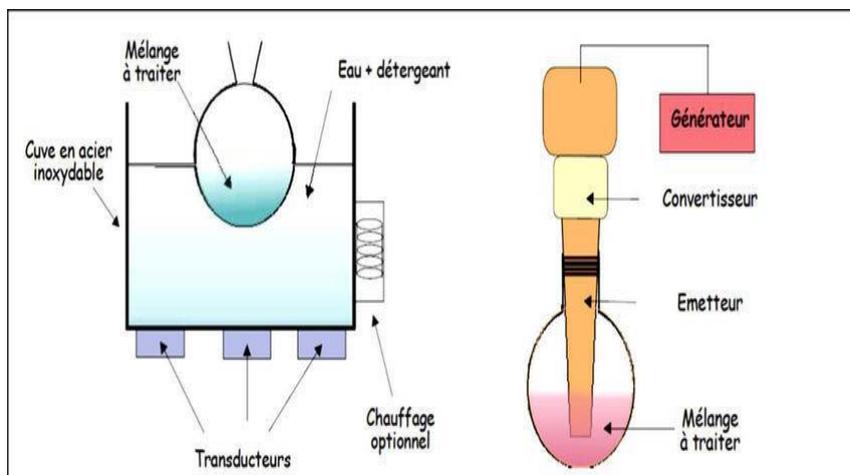


Figure I.13 : Extraction aux ultrasons.

I.6.3. Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction

A partir de la recherche bibliographique sur les méthodes d'extractions des huiles essentielles et les extraits aromatiques, nous présentons dans le (Tableau I.1) quelques avantages et inconvénients concernant les méthodes d'extractions.

Tableau I.1 : Les avantages et les inconvénients des différentes méthodes d'extraction.

| Les méthodes d'extraction | Avantages | Inconvénients |
|----------------------------------|--|---|
| L'extraction par micro-onde | Plus efficaces que les composés oxygénés. Temps d'extraction est très court. Rendement d'extraction élevé. | Équipement coûteux Risque de dégradation thermique Risque de réaction chimique indésirable |
| L'entraînement à la vapeur d'eau | Production d'huiles pures Utilisation d'équipements relativement simples Respectueux de l'environnement | Consommation énergétique Temps de traitement long Nécessaire beaucoup d'eau |
| L'hydrodistillation | Préservation des composés thermolabiles Coût initial relativement faible Extraction d'un large spectre de composés aromatiques | Temps de traitement long. Consommation d'eau élevée Dégradation thermique des composés sensibles. |
| CO ₂ supercritique | Produit un meilleur rendement, un coefficient de diffusion plus élevé et plus faible viscosité. Très moderne. | L'huile supercritique s'est très avéré pour être de qualité supérieure. |
| Clevenger | Coût abordable Simplicité et efficacité Application large | Temps de traitement Rendement faible Volume limité |
| Expression à froid | Préservation de la qualité des composés Respect de l'environnement | Durée plus lent du processus Contamination possible Moins efficace pour |

| | Processus simple | certaines composés |
|------------|---|--|
| Enfleurage | Produit de haute qualité Méthode douce qui réduit le risque de dégradation des composés volatils. Adaptation aux fleurs rares | Procédé long et laborieux Quantité limitée Efficacité variable |

I.7. Les activités des huiles essentielles

I.7.1. Activité antioxydante

Des études ont montré que certaines huiles essentielles ont des capacités antioxydantes remarquables contenant parfois une source naturelle de molécules bioactives. **(Djeridane et al, 2010 ; Benhammadou, 2011).**

Les HEs de cannelle, muscade, chou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. L'activité antioxydante des HEs est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le tinalcool, le 1,8-cinéole, le géraniol/ néral, le citronellal, l'iso menthone, la menthone et quelques monoterpènes α – terpinène, γ -terpinène et l'aterpinolène. **(Pionchon, 2008).**

I.7.1.1. Stress oxydant

Le stress oxydant est communément défini comme un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages cellulaires oxydatifs. **(Sy et al, 2018).**

Le stress oxydatif est un fonctionnement de l'organisme qui est normal tant qu'il ne dépasse pas certaines limites. En effet, tous les organismes vivants qui consomment de l'oxygène produisent des radicaux libres qui sont de petites substances chimiques très oxydées par le contact avec l'oxygène. Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments enzymes) suffisantes pour les éliminer **(Benbrinis, 2012)**. La figure suivante présente le stress oxydant.



Figure I.14 : Stress oxydant

I.7.1.2. Pathologie liée au stress oxydatif

Le tableau suivant présente les pathologies qui liées au stress oxydatif

Tableau I.2. : Pathologie liée au stress oxydatif

| Maladies où le stress oxydatif est la cause primordiale. | Maladies où le stress oxydatif est le facteur déclencheur. | Maladies entraînant un stress oxydatif secondaire. |
|--|--|--|
| Cancers, Auto-immunité. Cataracte | Maladie d'Alzheimer Stérilité masculine Rhumatismes. | Diabète Insuffisance rénale. Maladie de parkinson. |

I.7. 1.3. Radicaux libres

Ils sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couches externe, cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique. (Koechlin, 2006). La figure suivante présente neutralisation de radicale libre par un antioxydant.

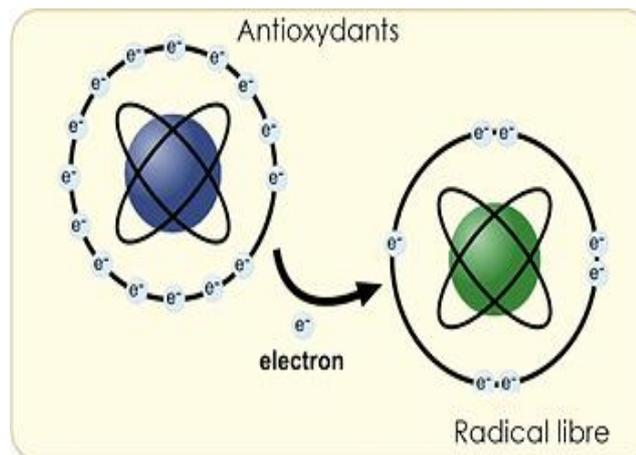


Figure I.15 : Neutralisation de radicale libre par un antioxydant.

Leur principal danger vient des dommages qu'ils réagissent avec des composants cellulaire importants telque l'ADN ou les membranes cellulaires, avec risque de multiplication anormale des cellulaires, entraînant un dysfonctionnement ou une morte cellulaire, un cancer. (Zibouche et Grimes, 2016).

I.7.1.3.1. Les classifications de radicaux libres

Parmi les différentes classes de radicaux libres, les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont les radicaux les plus abondants. Cette classe de radicaux libres regroupe des radicaux qui dérivent de l'oxygène par des réductions à un électron, comme l'anion super-oxyde (O_2^-), le radical hydroxyle ($OH\cdot$), le radical peroxy ($RO_2\cdot$), le radical alkoyle ($RO\cdot$) et le radical perhydroxyle ($HO_2\cdot$). L'oxyde d'azote ($NO\cdot$) et le dioxyde d'azote ($NO_2\cdot$) appartiennent à une autre classe de radicaux libres, les espèces réactives de l'azote (RNS). Les ROS et RNS peuvent être converties en espèces réactives qui ne sont pas des radicaux libres telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypobromeux ($HOBr$) et le nitro peroxyde ($ONOOH$). Il est à noter que ces molécules sont aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres dérivés de l'oxygène et leurs précurseurs sont appelés ROS. Parmi ces ROS, les radicaux O_2^- et $OH\cdot$ sont considérés les plus réactifs. (Fang et al, 2002; Favier, 2006).

I.7.1.3.2. Les sources des radicaux libres

La formation cellulaire d'EROS peut se produire de façon exogène ou endogène, les irradiations et les polluants constituent la source exogène. Tandis que la principale source exogène d'EROS est la mitochondrie, via la chaîne de transport d'électron. L'action de la NAD(P)H oxydase, la cytochrome C oxydase et xanthine oxydase sont également des sources endogènes d'EROS. (Trachootham et al, 2008).

I.7.1.4. Les antioxydants

Les antioxydants sont l'ensemble des molécules susceptibles d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène. Ils peuvent agir en réduisant ou en discutant ces espèces, en les piégeant pour former un composé stable, en séquestrant le fer libre ou en générant du glutathion. (Favier, 2003).

I.7.1.4.1. Classification des antioxydants

La classification des antioxydants est présente dans la figure suivante.

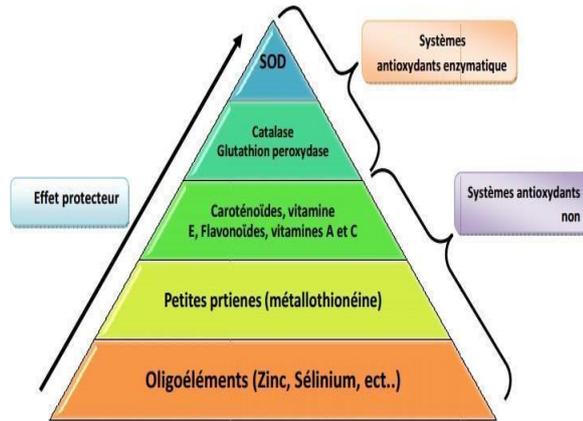
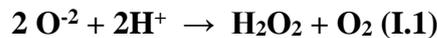


Figure I.16 : La classification des antioxydants

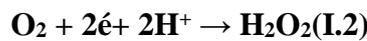
I.7.1.4.1.1. Antioxydants enzymatiques

Ce sont des antioxydants endogènes représentent la première barrière de défense contre les RL qui englobe les enzymes suivantes :

✓ **Super peroxyde : Dismutase SOD**

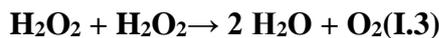


Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ainsi formé est une molécule ayant tous ses électrons périphériques appariés (espèce non radicalaire), sa production peut également résulter de la réduction bi- électronique de l'oxygène (réaction).



✓ **Catalase : CAT**

Les peroxysomes sont connus pour produire H_2O_2 . Toute fois ces organites contiennent également les catalases (CAT), qui peuvent décomposer le peroxyde d'hydrogène en accélérant sa dismutation en oxygène et en eau (réaction) (Valko et al, 2024)



❖ **La glutathion peroxydase (GPX)**

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases à cofacteur fer et les glutathion peroxydases à cofacteur sélénium (Favier, 2003).



❖ **Thiorédoxine (Trx)**

Le système Thiorédoxine (Trx) est l'un des systèmes antioxydants centraux des cellules de mammifères, maintenant un environnement réducteur en catalysant le flux d'électrons du nicotinamide adénine di-nucléotide phosphate (NADP), la Thiorédoxine (Trx) est une enzyme oxydoréductase de 12KD contenant un site actif di-thiol- disulfure.

La cascade redox du système Trx est initiée par NADPH⁺, H⁺ est généré par la voie des pentoses phosphates. Le NADPH. H⁺ réduit la TRX réductase oxydée (Trx R), qui régénère le pool de Trx réduit.

La Trx réduite aide à maintenir un environnement réducteur pour un certain nombre de protéines différentes (Eddaikra et Eddaikra, 2020).



I.7.1.4.1.2. Antioxydants non enzymatique

a) Les vitamines

➤ Vitamine C : (Acide ascorbique)

C'est une vitamine hydrosoluble présente dans tous les compartiments cellulaires, ainsi que dans la matrice extracellulaires.

Elle réagit d'une façon directe sur les RL, elle participe à l'élimination de l'H₂O. Présent sous forme d'un acide déhydro-L-ascorbique (DHA) (Bensakhria, 2018).

➤ Vitamine E : (Tocophérols)

C'est une vitamine liposoluble, elle se trouve le plus souvent dans l'organisme. Elle est présente dans les membranes cellulaires et circule dans le sang liée aux lipoprotéines. Elle est chargée de neutraliser les radicaux libres en excès, et agit de deux différentes manières soit par piégeage directement les ERO, soit par régulation à la hausse les enzymes antioxydantes.

b) Les caroténoïdes

Pigments liposolubles présentant une activité antioxydante, ces composés colorés jouent une multitude de fonction dans le métabolisme des plantes y compris dans la tolérance au stress oxydant, mais aussi dans la coloration des fleurs et des fruits. (Sieferman Harms, 1987).

c) Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganate (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant toutes les enzymes antioxydants requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc. La catalase de fer et la GPX de sélénium. Cependant, certains oligoéléments notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss).(Blandine, 2006).

d) Les polyphénols

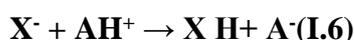
Les polyphénols en particulier les flavoïdes sont connus pour leur propriétés antioxydantes in vitro, les flavonoïdes réagissent avec les radicaux libres les plus peroxydant particulièrement impliqués dans la peroxydation lipidique.

De plus, ils ont une activité créatrice des métaux (Curtay et Robin, 2000 ; Nkhili, 2009).

I.7.1.5. Les méthodes d'évaluation l'activité antioxydantes

I.7.1.5.1. Méthodes basées sur le transfert d'hydrogène HAT

Méthode HAT basée sur la capacité classique d'un antioxydant pour éteindre les radicaux libres par donneur d'hydrogène.



❖ ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacity)

Ce test a été développé en 1994 et mesure le taux d'inhibition du radical libre peroxyde d'hydrogène. Il est basé sur la décroissance de la fluorescence en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical peroxy libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluorescéine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant, c'est la seule qui combine à la fois le pourcentage d'inhibition de la réaction d'oxydation et la longueur dans le temps de cette inhibition en une seule mesure. (Agrobio, 2009).

➤ Les avantages

- ✓ Facile à mettre en œuvre
- ✓ Couteux (nécessite d'un fluorimètre).

➤ Les inconvénients

- ✓ Mécanismes de génération des ROO° non physiologique.
- ✓ Interférences possibles des protéines (Ou et al, 2001 ; Lopez et al, 2003).

❖ TRAP (Total Radical-Trapping Antioxydant Parameter)

Cette méthode surveille la capacité de composés antioxydants pour interférer avec la réaction entre radicaux peroxydes générés par AAPH ou ABAP (2,2' azobis (2-amidinopropane) dichloruride).

➤ Les avantages

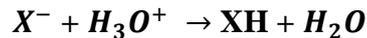
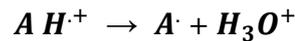
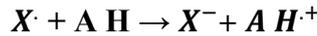
- ✓ La méthode de TRAP est le plus souvent utilisée pour des mesures de la capacité antioxydante in vivo dans le sérum ou dans le plasma. (Howard, 1964)

➤ **Les inconvénients**

- ✓ Méthode relativement complexe et sa mise en œuvre prend énormément de temps et exige une grande expertise et de l'expérience. (Moumouni Koala, 2015).

I.7.1.5.2. Méthodes basées sur le transfert d'électron SET

Les méthodes basées sur SET détectent la capacité d'un antioxydant potentiel transférer un électron pour réduire n'importe quel composé métaux, carbonényles et radiaux.



❖ **TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity)**

Il est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical $ABTS^{\cdot+}$ de coloration bleu-vert en le transformant en $ABTS^+$, incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant, la décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre.

La capacité antioxydante, exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond à la concentration de Trolox ayant le même activité que la substance à tester une concentration (Agrobio, 2009). La figure suivante présente la réaction d'ABTS.

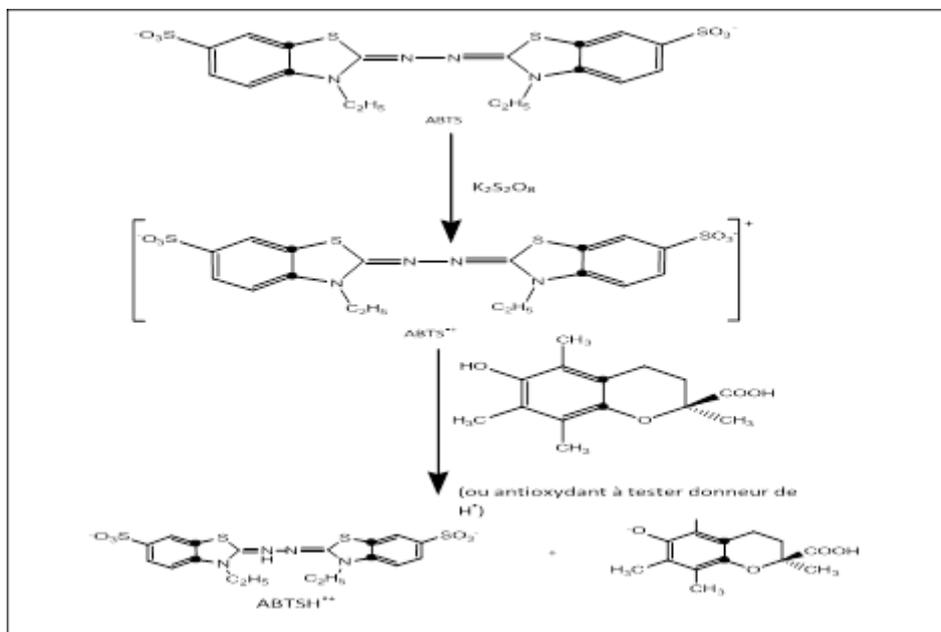


Figure I. 17 : Réaction d'ABTS

➤ **Les avantages**

- ✓ Très facile à mettre en œuvre
- ✓ Cinétique de la réaction très rapide

- ✓ Peu couteuse

➤ **Les inconvénients**

- ✓ Produit de dégradation
- ✓ Radical inexistant (Awika et al, 2003 ; Arteset et al, 2004 ; Osman et al, 2006).

❖ **FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Power)**

La méthode de FRAP est une technique colorimétrique basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à réduire un complexe ferrique Fe(III) et le chlorure de 2,3,5 – triphényl-1,3,4 triaza-2-azoniacyclopenta-1,4 diène en forme ferreux (Fe(II)) à faible pH, en mesurant les changements d'adsorption à l'aide d'un spectrophotomètre à barrettes de diodes (Sifi Ibrahim, 2016). La figure suivante présente réaction de la méthode de FRAP.

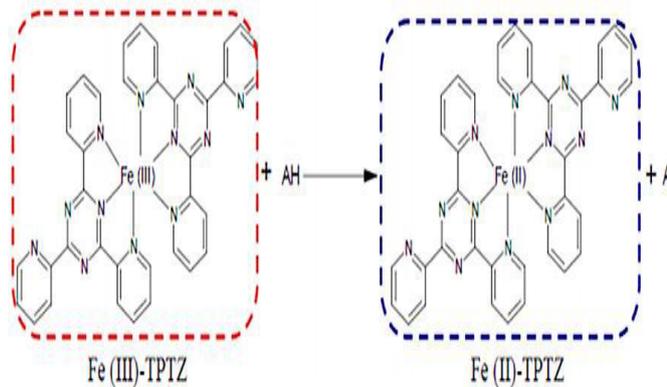


Figure I.18 : Réaction de la méthode de FRAP

➤ **Les avantages**

- ✓ Simple
- ✓ Rapide
- ✓ Peu couteuse

✓ **Les inconvénients**

Elle n'est pas capable de détecter les protéines ou les composés contenant le groupe sulfhydryle SH, incluant les thiols, qui peuvent transférer l'hydrogène (Prion et al, 2005).

❖ **DPPH**

Le test DPPH ° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composé phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH (2,2- diphényl-1 picrylhydrazyl par transfert d'un hydrogène.(Aidoud et Boureneb ,2019). La figure suivante présente réduction du DPPH par un antioxydant.

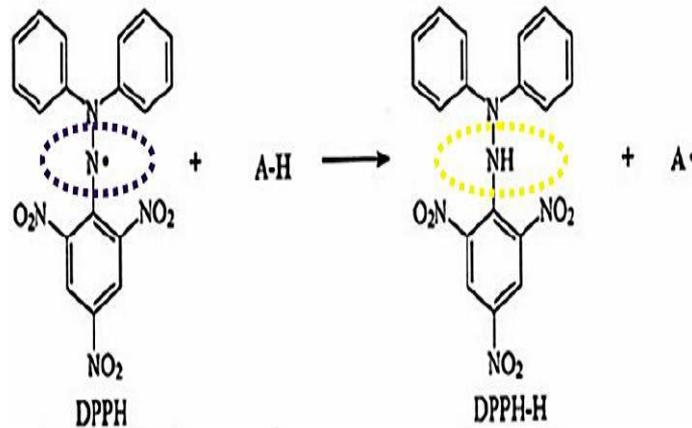


Figure I.19 : Réduction du DPPH par un antioxydant.

➤ **Les avantages**

- ✓ Procédure simple, rapide et facile.
- ✓ Méthode de mesure de la capacité antioxydante la plus utilisée et la plus acceptée parmi la communauté scientifique.

➤ **Les inconvénients**

- ✓ Les antioxydants peuvent rester inertes face au DPPH relativement stable.
- ✓ Certaines réactions avec le DPPH sont réversibles et peuvent mener à une sous-estimation du potentiel des produits testés.
- ✓ Beaucoup d'antioxydants peuvent réagir plus lentement avec le DPPH.
- ✓ L'interprétation est compliquée quand d'autres composés ont des absorbances qui se chevauchent avec celles de DPPH à 515nm (**Huang et al, 2015**).

I.7.2. Activité antibactérienne

Les HEs et autres extraits de plantes aromatiques et médicinales sont connues de manière empirique pour leurs propriétés antimicrobiennes depuis l'antiquité, qui n'ont pas été scientifiquement prouvées avant le début de XXe siècle, nous croyons que de la croix en 1881 fait la première personne à effectuer une analyse antimicrobienne des vapeurs d'HE. Depuis de nombreuses autres recherches sur la composition chimique et les activités antimicrobiennes des HEs ont été largement rapportées. (**Cowan, 1999 ; Brunt, 2004 ; Saad et al, 2013**).

Selon (**Consentino et al, 1999**) les huiles essentielles avec des teneurs élevées en hydrocarbures monoterpéniques sont rapportées être très actives vis-à-vis les microorganismes plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les huiles essentielles sont efficaces.

Les huiles essentielles exercent une activité antibactérienne à l'encontre des bactéries pathogènes variées y compris des souches habituellement anti-bio-résistantes tel que : le staphylocoque, le bacille de Koch ou le bacille typhique. Les HEs ont une double action contre des microbes : effet bactéricide et effet bactériostatique (Bruneton, 2009).

I.7.2.1. Les méthodes d'évaluation l'activité antibactérienne

Il existe plusieurs tests pour la détermination de l'activité antibactérienne d'une HE. Cependant il n'existe pas de tests standards pour pouvoir comparer entre les différentes études.

Le choix de la méthode a une grande influence sur les résultats. L'insolubilité des HEs dans l'eau et leur volatilité sont les principales difficultés rencontrées, les tests se basent principalement sur la diffusion et dilution. Ils permettent soit d'évaluer le pouvoir antimicrobien, soit de la quantifier en termes de concentration minimales inhibitrices ou bactéricide. (Mnayer, 2014).

I.7.2.1.1. Méthode de diffusion

✓ Antibiogramme

L'antibiogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques.

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont disposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier, chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration, cette méthode utilisée par certains autres (Dorman, 2000 ; Zaika, 1988 ; Lis-Balchin et Hart, 2000). La figure suivante présente l'antibiogramme.

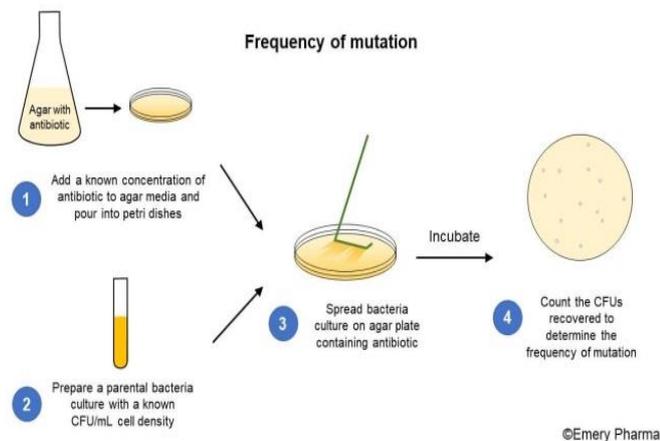


Figure I.20 : Antibiogramme

I.7.2.1.2.Méthode de dilution

Les techniques de dilution sont utilisées en milieu solide ou liquide. Le principe de ces méthodes consiste à mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec des concentrations croissantes de la substance antibactérienne testée selon une progression bien définie afin de déterminer la CMI de cette dernière. **(Brunichon et Texier, 2003).**

❖ Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI

La concentration minimale d'inhibition CMI de la croissance bactérienne est la concentration minimale d'un antibactérien inhibant totalement de croissance bactérienne. En effet, l'observation de la gamme de concentration décroissante en échantillon permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance bactérienne **(Konan et al, 2014)**. La figure suivante montre Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide.

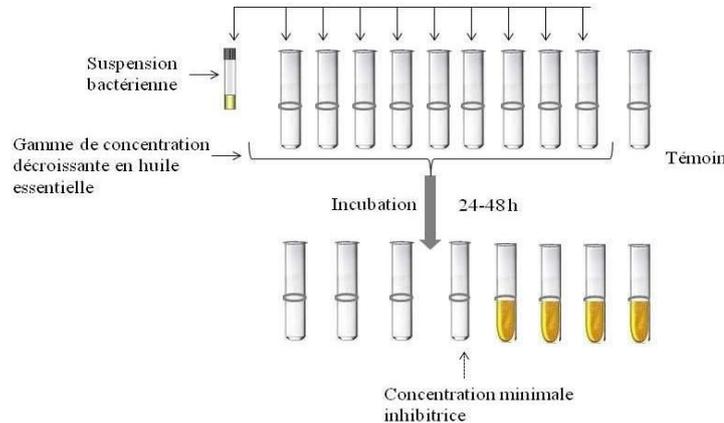


Figure I.21 : Méthode de détermination de la CMI en milieu liquide.

❖ Détermination de concentration minimale bactéricide CMB

La CMB correspond à la concentration en HE nécessaire à laquelle l'action bactéricide est totale, elle est rapportée comme étant la plus faible concentration ou aucune croissance n'est observée après repiquage en milieu solide.

Le test de la CMB succède directement au test de la CMI. En fait, la même gamme de concentration réalisée par la technique des micro-dilutions par la CMI est utilisée pour déterminer la CMB de l'huile essentielle à tester, la méthode consiste à faire un ensemencement des cultures n'ayant pas donné de développement bactérien sur la gélose (MH), puis l'incubées à la température optimale du germe pendant 24 à 48h, après l'incubation, la CMB est considérée comme étant la concentration minimale en HE pour laquelle aucun développement bactérien n'est observé. **(Mnayer, 2014).**

CHAPITRE II :
PRESENTATION DES
ESPECES ETUDIES.

Les plantes et les herbes aromatiques ont une grande importance dans plusieurs domaines de vie et depuis très longtemps.

Parmi ces plantes et herbes aromatiques l'Eucalyptus, c'est une plante bien connue et largement utilisée dans le monde et au plusieurs niveaux (plantes fraîche ou bien sec et ses huiles essentielles).

II. Les plantes locales

Par définition sont des plantes indigènes ou plantes natives, sont des espèces végétales qui ont évolué naturellement dans une région spécifique, sans intervention humaine directe ou indirect. Ces plantes sont adaptées aux conditions climatiques, au sol, à la faune et à d'autres facteurs environnementaux leur région d'origine.

Elles jouent un rôle crucial dans le maintien de l'écosystème local en fournissant de la nourriture et un habitat pour faune locale, en améliorant la qualité du sol et de l'eau, et en contribuant à la biodiversité.

II.1. Les plantes endémiques

Les plantes endémiques sont des espèces végétales qui sont confinées à une région géographique spécifique et n'existe naturellement nul par ailleurs sur la plante. Cette restriction géographique peut résulter de facteur telque des barrières naturelles (montagnes, océans), des conditions climatiques uniques, ou une évolution historique distincte. En raison de leur distribution limitée, les plantes endémiques sont souvent plus vulnérables aux perturbations environnementales et aux activités humaines. **(Bernard, 1993 ; Oenda, 1999).**

II.2. Myrtaceae

Le terme « Myrtaceae » vient du mot grec « Myrtus » qui signifie Myrte, plante généralement de type arbuste à feuilles persistantes aromatique **(Simpson, 2010).**

La famille des Myrtaceae Jussieu est la huitième plus grande famille de la plantes à fleurs pour son importante économique et écologique. **(Govaerts et al, 2008).**

Les Myrtacées constituent un modèle de choix pour l'étude de l'évolution chez les Angiospermes puisque les genres sont caractérisés par un nombre important en espèce **(Brooker ,2000).**

II.2.1. Principaux genres

Les principaux genres des Myrtacées sont les suivants : Eucalyptus (près de 700 espèces), Eugenia (environ 500 espèces), Syzygium (environ 300 espèces d'Australie et d'Asie), Myrica (près de 300 espèces surtout d'Amérique tropicale), Melaleuca (environ 200 espèces d'Australie et d'Indo-Malaisie), Psidium (une centaine d'espèces d'Amérique tropical), Calyptanthus.

II.2.1.1. Eucalyptus

Le terme Eucalyptus a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles- Louis L'Héritier de Brutelle. (**Ralph Jacob, 1979**). Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calypso » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des Eucalyptus, les capsules, c'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous les Eucalyptus. (**Lis-Balchin, 2006; Louppe, 2008**).

Le genre d'Eucalyptus qui définit sept sous genres (Corymbia, Blakella, Eudesmia, Gaubea, Idogenre, Monocalyptus et Symphyomyrtus) (**Johnson, 1976 ; Hillet Johnson, 1995**).

Les Eucalyptus ont connu du succès en tant qu'arbres exotiques grâce à leur capacité de croissance rapide et de leur tolérance aux environnements hostiles, impliquant de nombreuses adaptations efficaces : croissance indéterminée, recépage, sécheresse, feu, résistance aux insectes et tolérance à l'acidité du sol et à sa faible fertilité (**Rockwood et al, 2008**).

Certains Eucalyptus s'hybrident facilement entre elles étant donné la facilité avec laquelle les graines de pollen se transfèrent d'une espèce à une autre, ce qui complique, contre plus leur identification (**Cherif, 1991**).

➤ **Les principales espèces**

Eucalyptus globulus : ou Eucalyptus globuleux.

Eucalyptus Radiata : ou Eucalyptus radié.

Eucalyptus Citronné : Eucalyptus citriodora.

Eucalyptus Camaldulensis : Le gommier rouge.

Eucalyptus Smilhi : Eucalyptus de Smith.

➤ **Répartition géographique**

Eucalyptus occupe une surface de 5855 hectares (**Boudy, 1955 ; Haddouche et Kirad, 2018**). Il se trouve dans la région Oranaise, actuellement, des plantations d'Eucalyptus longent le littoral d'El- kala et d'Azzefoun, nous pouvons également trouver cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout (**Foudil- Cherif, 1991**). D'autres régions en Algérie ont également planté des Eucalyptus, notamment à Blida (41 Ares), Boumerdès (93 hectares), Skikda (2250 hectares), S, Belabas (342 hectares), Sétif (10 Ares) et El Taref (1000 hectares). (**Boukhrouf, 2018 ; Benameur, 2014**).

II.2.1.1.1. *Eucalyptus Globulus*

➤ **Etymologie**

✓ **Nom scientifique** : *Eucalyptus Globulus* labill (**Erau, 2019**)

- ✓ **Nom vernaculaires :** Eucalyptus Globuleux , Gommier blue, Arbre à fièvre. (**Darroui-Mokaddem, 2012 ; Koziol, 2015**).

- **Position systématique :** (APG II)

Le tableau suivant présente la position systématique (APG II)

Tableau II.1 : La position systématique (APG II)

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Trachéophytes-plantes vasculaires. |
| Sous embranchement | Spermatophytes- plantes à graines. |
| Division | Magnoliophyta-plante à fleurs. |
| Classe | Magnoliopsida ,Dicotylédones. |
| Sous classe | Rosidées. |
| Ordre | Myrtales |
| Famille | Myrtacées |
| Genre | Eucalyptus |
| Espèce | <i>Eucalyptus Globulus.</i> |

- **Description botanique**

L'*Eucalyptus Globulus* est un arbre qui peut atteindre une taille de 25 à 30m de hauteur quelque fois plus.

Le tableau ci-dessous présent la description botanique (la forme et la couleur) de partie de l'espèce *Eucalyptus Globulus*.

Tableau II.2 : Description botanique de l'espèce *Eucalyptus Globulus*

| Partie de la plante | Forme et couleur |
|---------------------|--|
| Feuilles | Nombreuses persistantes sous forme falciforme. Les feuilles jeunes : opposées, sessiles, ovale. Les feuilles adultes : larges, ovales, alternées et pétiolées, très allongées. |
| Fleurs | Sessile axillaire constitué de nombreuses étamines blanches. Avant la floraison : les étamines sont fermées par un chapeau constitué de pétales et de sépales. Après la floraison : les étamines s'ouvrent et la couverture tombe et s'étend clairement. |
| Fruit | C'est une capsule bleue en forme cône, très aromatique, sec à maturité, il devient de couleur brune. Il présente des bougons surélevés qui permettent aux petites graines de tomber. |
| L'écorce | Solide, fibreux, lisse blanc, bleuâtre. |

La figure suivante présente photographie d'*Eucalyptus Globulus*

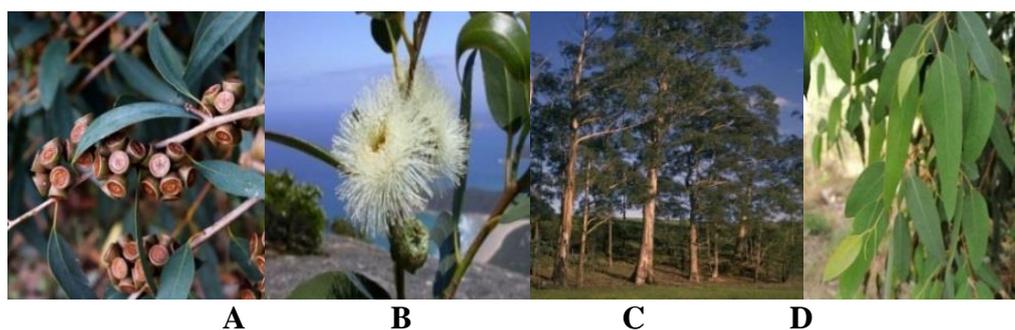


Figure II.1 : Photographe d'*Eucalyptus Globulus*
A : Fruit ; B : Fleur ; C : Arbre ; D : Feuilles

➤ **Composition chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus***

Le tableau suivant présente la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus*.

Tableau II.3 : Composition chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus*

| Classe de constituants | Exemples de constituants |
|---|---|
| Huile essentielle : 1 à 3,5% du poids de la feuille | 1,8 cinéole (Eucalyptol) : 70 à 85 % de l'huile essentielle. Monoterpènes : alpha-pinène, beta-pinène, delta-limonène, para-cymène, camphène, alpha-phellandrène, alpha-fenchène, gamma-terpinène. |
| Acides phénols | Acides galliques, caféique, férulique, ellagique, gentisique, protocatéchique. |
| Glucosides de monoterpènes | Globulines, cypellocarpine, euglobuline. |
| Flavonoïdes | Flavones méthylées, rutine, quercétine, quercitrine. |
| Tanins | Tanins galliques, pronanthocyanidols et tanins condensés |
| Dérivés du phloroglucionl | Euglobals, macrocarpals A-E, macrocarpals H-J, eucalyptone |
| Divers | Résines, cire |

II.2.1.1.2. *Eucalyptus Radiata*

➤ **Etymologie**

✓ **Nom scientifique :** *Eucalyptus Radiata* Sieb. ex DC. 1828.

✓ **Nom vernaculaires :** Eucalyptus Radié, Eucalyptus à menthe poivrée.

➤ **Position systématique :** (APG II)

Le tableau suivant présente description botanique de l'espèce *Eucalyptus Radiata*.

Tableau II. 4 : Description botanique de l'espèce *Eucalyptus Radiata*.

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Règne | Plantae |
| Embranchement | Trachéophytes-plantes vasculaires. |
| Sous embranchement | Spermatophytes- plantes à graines. |
| Division | Magnoliophyta-plante à fleurs. |
| Classe | Magnoliopsida -Dicotylédones. |
| Sous classe | Rosidées. |
| Ordre | Myrtales |
| Famille | Myrtacées |
| Genre | Eucalyptus |
| Espèce | <i>Eucalyptus Radiata</i> . |

➤ **Description botanique**

Le tableau suivant présente la description des parties de l'*Eucalyptus Radiata*.

Tableau II.5 : La description des parties de l'*Eucalyptus Radiata*

| Partie de la plante | Forme et couleur |
|---------------------|--|
| Feuilles | Sont incolores, étroites et lancéolées. Les feuilles jeunes sont fines, opposées et sessiles avec des bases lobées de couleur verte les feuilles adultes : sont alternes, étroites, incolores, verte à bleu-vert. |
| Fleur | Avant la floraison, les boutons floraux formés par les pétales soudés forment un capuchon qui masque les étamines, lorsque les étamines grandissent, elles soulèvent l'opercule qui tombe laissant jaillir une multitude des étamines blanc crème à jaune crème. |
| Ecorce | Est fibreuse, grise brun se détachant. Les petites branches sont de couleur verte. |
| Fruit | Sont des capsules de déhiscence porcidé, globuleux, hémisphériques ou piriformes. |

La figure suivante présente photographie d'*Eucalyptus Radiata*

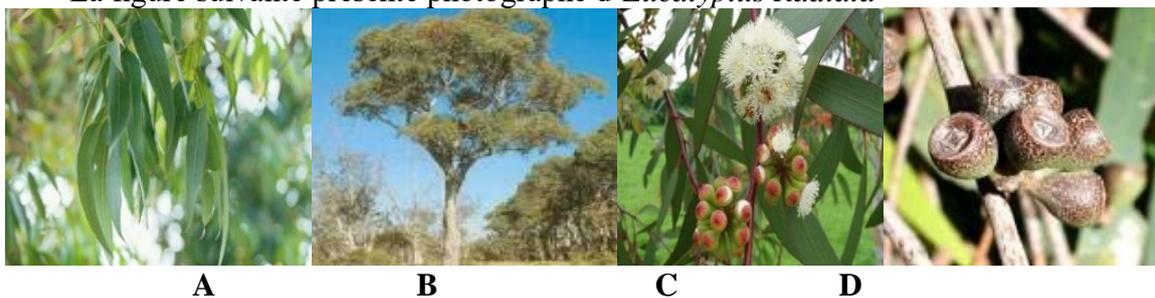


Figure II.2 : Photographie d'*Eucalyptus Radiata*
A : Feuilles ; B: Arbre ; C : Fleur ; D : Fruit

➤ **Compositions chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Radiata***

Tableau II.6 : Composition chimiques de l'huile essentielle d '*Eucalyptus Radiata* (Werner et Braunschweig, 2008)

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

II.2.1.1.3. Utilisation d'*Eucalyptus*

Selon (Schnitzler ,2001), l'huile essentielle d'*Eucalyptus* spécifique des voies respiratoires basses est utile pour le système broncho-pulmonaire et est largement utilisée contre les affections comme la bronchite.

L'huile essentielle est utilisée comme produit répulsif et agent pesticide, l'huile essentielle d'*eucalyptus* est un insecticide efficace, et elle a été utilisée pour éliminer les mythes et certains recommandent qu'elle soit utilisée pour repousser les moustiques. (Shayaaet al , 1997 ; Kim et al, 2000 ; Isman et Machial,2006).

Nous utilisons les feuilles en infusion, fumigation et sous forme de cigarettes (Sijelmassi, 1991), Sédatif hypoglycémiant, antirhumatismal, stimulant et vermifuge.

Nous utilisons donc pour soigner les maladies de refroidissement, le diabète, les douleurs rhumatismales, certaines affections des voies urinaires, les migraines, les sinusites et les vers intestinaux. (Perroti et al, 1999).

Le bois d'*Eucalyptus* présente des caractéristiques technologiques intéressantes pour la production de pâte à papier (fibres courtes) qui constitue la débouché principal de la majorité de reboisements industriels dans le monde (Campinhos, 1999 ; PPI, 2011).

Cette synthèse bibliographique, nous a aidés de choisir les feuilles d'Eucalyptus comme matière première d'extraction et pour l'évaluation de leur activité biologique.

**CHAPITRE III. EVALUATION
DES ACTIVITES BIOLOGIQUES
DES HUILES ESSENTIELLES
EXTRAITES DES EUCALYPTUS
GLOBULUS ET RADIATA.**

III.1. Introduction

Nous avons mis en relief dans cette partie, l'extraction de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* par hydrodistillation. Ensuite, nous avons utilisé différent techniques pour déterminer les compositions chimiques et propriétés physicochimiques en étudiant l'activité antibactériennes et antioxydante de l'HEs récupérées.

Le plan général adopté pour mener, le travail est résumé dans l'organisme suivant :

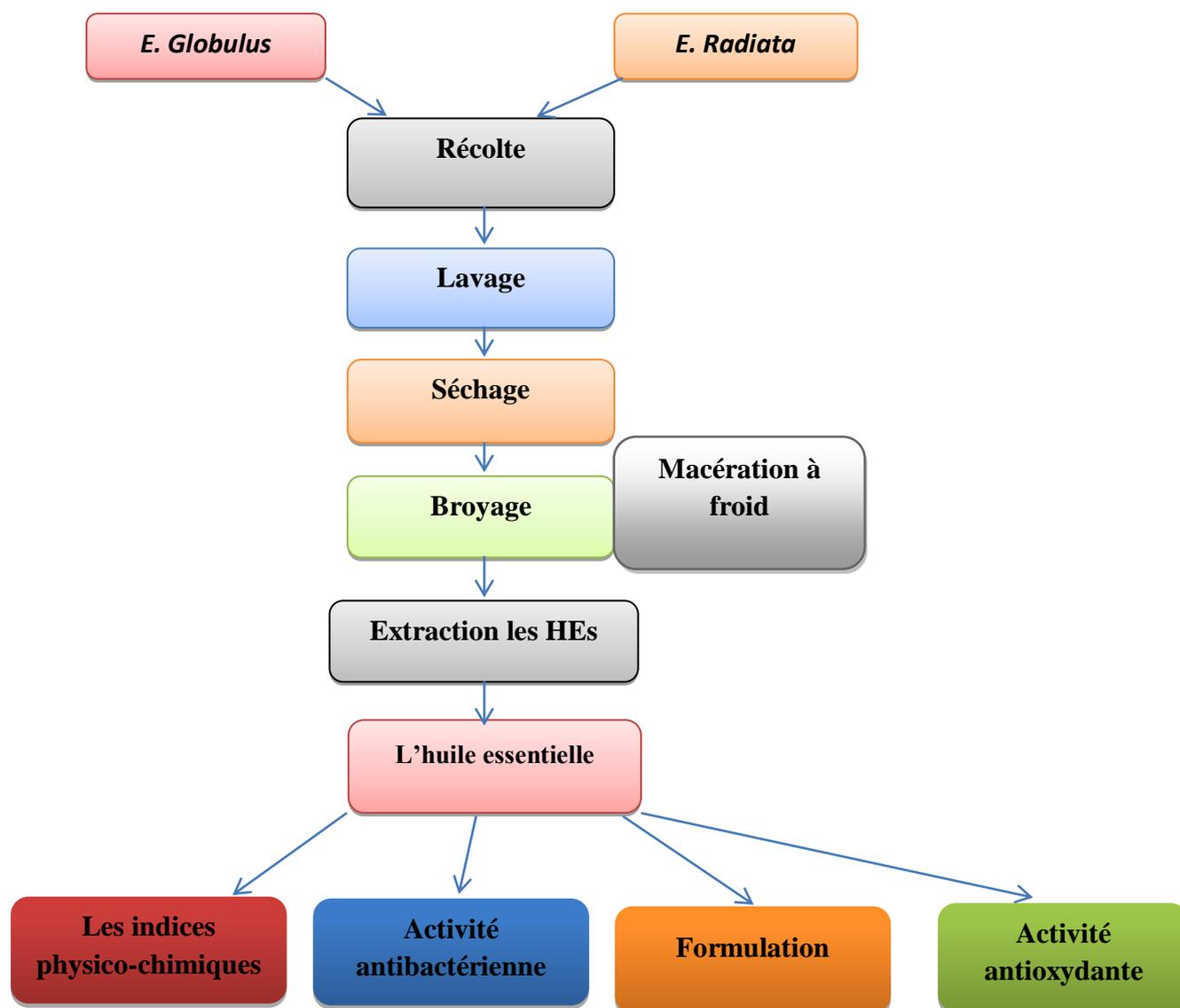


Figure III.1 : Organigramme présente le Protocol d'étude expérimentale.

III.2. La zone étudiée

Notre zone d'étude est l'Eucalyptus qui situé dans la région algéroise.

III.2.1. Situation géographique des matérielles végétales récoltes

Le tableau suivant présent les coordonnés géographiques de la zone étudiée.

Tableau III.1 : Les coordonnés géographiques de la zone

| Station | Latitude | Longitude | Altitude |
|------------|-------------------|------------------|---|
| Eucalyptus | 36°39'49,95" Nord | 3°08'42,03" Est. | Altitude moyenne : 25 m Altitude minimum : 2 m Altitude maximum : 42 m |

Figure suivante présente di-Eucalyptus le cadre régional et cadre local (image satellitaire Google Earth 2021).

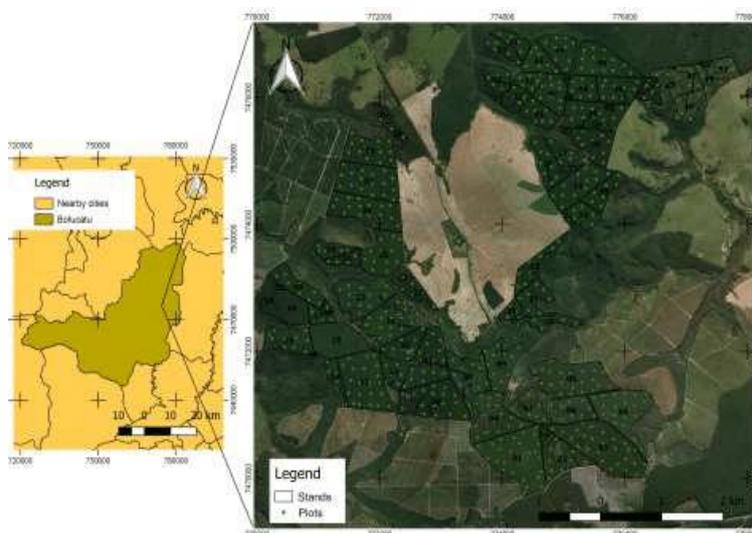


Figure III.2 : Le cadre régional et cadre local (image satellitaire Google Earth 2021).

III.2.2. Climat

La région Eucalyptus situé à Alger qui appartient à station de Dar Beida, elle jouit d'un climat tempéré méditerranéen. Il est marqué par le contraste de deux saisons : une hivernale fraîche et humide et l'autre estivale chaude et humide, des précipitations moyennes de 12.2mm font du mois d'août le mois le plus sec. En Novembre, les précipitations sont les plus importantes de l'année avec une moyenne de 90mm. Au mois d'août, la température moyenne est de 25.6°C. Août est de ce fait le mois le plus chaud de l'année. Janvier est le mois le plus froid de l'année. La température moyenne est de 10.6°C à cette période.

Eucalyptus possède un climat tempéré méditerranéen a été chaud et sec (Csa) selon la classification de Köppen-Geiger. Sur l'année, la température moyenne à Eucalyptus est de 17.5°C et les précipitations sont en moyenne de 645.2mm.

A titre de comparaison à Alger, la température moyenne annuelle est de 19.7°C et les précipitations sont en moyenne de 672.3mm.

Les matériels végétaux sont bien nettoyés à l'eau courante puis séchées à température ambiante dans un endroit aéré et à l'abri de la lumière pendant 15jours.

III.3.L'extraction par hydrodistillation

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus (Globulus et Radiata)* ont été obtenues par hydrodistillation au sein de laboratoire de faculté de chimie de l'université Dahleb Blida (USDB1).

III.3.1.Récolte, identification, séchage, broyage et conservation

L'identification d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* ont été effectuées au niveau de l'Ecole National supérieure d'agronomie (ENSA), département de botanique, les feuilles sont retirée des plantes et sont bien nettoyées à l'eau.

Elles sont séchées à une température ambiante dans un endroit aéré et l'abri de la lumière pendant 15jours.

Les feuilles séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, les poudres sont bien conservées à l'abri de l'air, de l'humidité.

III.3.1.1. Mode opératoire

La technique utilisée dans cette étude est l'hydrodistillation (échelle laboratoire) qui est le procédé le plus répandu. Ce mode d'extraction respecte bien les composants très fragiles des plantes à huile essentielle, en conservant leurs constituants volatils, d'où une huile de bonne qualité physicochimique (**Branger, 2004**)

Dans ce procédé, nous avons utilisé 100g de chaque espèces dans un ballon rempli d'eau distillée jusqu'au 2/3 de sa capacité pour éviter les débordements de l'ébullition. Nous avons placé le ballon dans le chauffe-ballon pour chauffer le mélange jusqu'à ébullition. Nous réglons le chauffage pour permettre la stabilité de l'extraction.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical (Colonne de distillation), puis dans la colonne de refroidissement où aura lieu la condensation, le distillat (huile + eau) descendre lentement sous forme de gouttelettes est récupéré dans une ampoule à décanter. La séparation entre la phase organique représentée par l'huile essentielle de densité plus faible et la phase aqueuse représentée par l'eau aromatique en général plus dense est réalisée en ajoutant le sel. La solution est agité doucement, puis laissée à "dégazer", puis agitée vigoureusement, et la solution est laissée à stabiliser puis la phase organique est séparée de la phase aqueuse dans un ballon et le produit est chauffé pour éliminer les traces d'eau.

L'huile essentielle ainsi obtenue est conservées dans des flacons en verre ambré hermétiquement fermés, à l'abri de la lumière, au frais de 4°C. Afin d'éviter le risque d'altération. La figure suivante présente le montage d'hydrodistillation des deux espèces d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata*.



Figure III.3 : Le montage d'hydrodistillation des deux espèces d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata*.

III.3.1.2. Le rendement

Le rendement de l'huile essentielle est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (AFNOR, 2000)

Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \left(\frac{M_{He E}}{M_{MVS}} \right) \times 100 \quad \text{III.1}$$

M He E : masse d'huile végétale extraite

M MV S : masse de matière végétale sèche

III. 4. Caractérisation les huiles essentielles

III.4.1. Caractéristiques organoleptiques

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques (caractéristiques d'une substance qui sont perceptibles par les organes des sens : saveur, odeur et aspect) communes comme le fait d'être liquides à température ambiante. Elles sont aussi très odorantes et incolore ou jaune pâle.

III.4.2. Caractéristiques physiques

III.4.2.1. Densité relative ou taux d'humidité

La densité est le rapport entre la masse d'un volume de l'huile essentielle et la masse du même volume d'eau distillée à T= 20°C. La densité relative est calculée par la relation suivante

$$d_{r20^{\circ}\text{C}} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \quad \text{III.2}$$

$d_{r20^{\circ}\text{C}}$: Densité relative

m_0 : Masse du pi-conomètre vide en g.

m_1 : Masse du pi-conomètre rempli d'eau distillée (g).

m_2 : Masse du pycnomètre rempli d'HE (g).

III.4.2.2. Potentiel hydrogène pH

pH est l'abréviation du potentiel d'hydrogène qui mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+). Le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

III.4.2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. Un réfractomètre permettant la lecture directe de l'indice de réfraction située entre 1,300 et 1,700. L'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20°C , une valeur de 1,333 pour l'eau distillée (Berghuel, 2018).

Nous effectuons la correction à 20°C exprimé :

$$n(t) = n(t) + 0,00045(t' - t) \quad \text{III.3}$$

$n(t)$: Valeur de lecture obtenue de l'indice de réfraction.

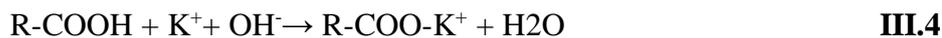
t' : Température en $^{\circ}\text{C}$ de l'échantillon.

0,00045 : valeur de lecture obtenue de l'indice réfraction.

III.4.3. Les indices chimiques

III.4.3.1. L'indice d'acide I_nA

L'indice d'acide est la quantité de potasse en (mg) nécessaire pour neutraliser son acidité libre, la teneur en acide libres des corps gras augmente avec le temps. L'indice d'acide permet donc juger de leur état de détérioration. Il a été déterminé par un dosage en retour, le corps gras a réagi avec un excès connu de potasse alcoolique. L'excès de potasse alors a été dosé par une solution d'acide chlorhydrique.



Cet indicateur chimique a été déterminé suivant la norme NFV 03-906 (AFNOR, 1984) ISO 660 : 1999 (F).

L'indice d'acide est donné par la relation suivant

$$I_n A = \frac{N_{OH^-} \cdot V \cdot 56,11}{m} \quad \text{III. 5}$$

N_{OH^-} : Normalité d'hydroxyde de potassium.

V : Volume de solution d'hydroxyde de potassium versé en mL.

m : Masse d'huile essentielle prélevée en (g)

56,1 : Masse molaire de KOH.

III.4.3.2.L'indice d'ester I_nE

L'indice d'ester d'huile essentielle est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libérés par hydrolyse des esters contenus dans 1g de corps gras (Kosi, 2019).

L'indice d'ester est donné par la relation suivante :

$$I_nE = \left(\frac{V-V_0}{m} \right) 28,05 \quad \text{III.6}$$

V : Volume en (mL) de HCl utilisé

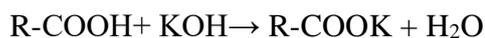
V_0 : Volume en (mL) de la solution du HCl utilisé à l'essai à blanc

m : Masse de la prise d'essai

$$I_nE = I_nS - I_nA \quad \text{III.7}$$

III.4.3.3.L'indice de saponification I_nS

L'indice de saponification, représente la quantité en milligrammes de KOH (potasse) nécessaire pour transformer en savon les acides gras libre et les glycérides contenues dans un gramme de corps gras, il est déterminé en mélangeant un volume d'huile avec de la potasse et le tirage se fait de l'acide chlorhydrique. Il s'agit d'un dosage retour. Nous réagissons à chaud l'acide d'une solution d'acide gras avec un excès de potasse KOH, cet excès est ensuite dosé par une solution d'acide chlorhydrique HCl.



La mode opératoire était le suivant :

2g l'huile essentielle a été introduire dans une fiole, ainsi que 25mL de potasse alcoolique de concentration 0,5mL mol/l, et mise au reflux pendant une heure, après l'ajout de 2à 3 gouttes de phénolphtaléine, la solution était tirée par l'acide chlorhydrique de concentration 0,5mol/l en agitant constamment jusqu'au visage à l'incolore de la phénolphtaléine. Le protocole a été décrit par la nomme NF 60-206 (AFNOR, 1984). ISO 36 57 : 2002.

L'indice de saponification est donné par la formulation suivante

$$I_nS = \left(\frac{V-V_0}{M} \right) C \times 56,1 \quad \text{III.9}$$

V : Volume en mL d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai blanc.

V_0 : Volume en (mL) d'acide chlorhydrique utilisé.

C : Concentration d'acide chlorhydrique mise de charge

m : Masse d'huile essentielle prélevée en g

V : Volume de solution d'hydroxyde de potassium versé en mL.

56,1 : Masse molaire de KOH.

III.4.3.4.L'indice de peroxyde I_nP

L'indice de peroxyde est une mesure permettant d'estimer la quantité de peroxyde de présente une matière grasse. Les peroxydes constituants caractéristiques de l'oxydation des acides gras insaturés ont été déterminés en se basant sur leur propriété de libérer l'iode de l'iodure de potassium dans les milieux acides. L'iode libéré mesuré par la réaction avec le thiosulfate 0,01N correspond à une quantité de 80mg d'oxygène fixé sur les acides gras.

La détermination de la quantité de peroxyde d'un corps gras montre son altération par oxydation.



✓ Le principe

Une prise d'essai a été mise en solution dans un mélange d'acide acétique et chloroforme qui serait traitée par la suite par une solution d'iodure de potassium.

L'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon (indicateur coloré) a été tiré. Le paramètre permet de renseigner sur le degré d'oxydation des huiles.

Il a été déterminé suivant le protocole décrit par la norme NFT 60-220 (AFNOR, 1984). Le mode opératoire est le suivant :

2g d'huile essentielle a été introduit dans un erlenmeyer plus 10ml du chloroforme, plus 15ml d'acide acétique puis 1mL de solution d'iodure de potassium, après 5minutes à l'abri de la lumière, 75mL d'eau distillé et 3 à 4 gouttes d'empois d'amidon ont été ajouté.

La solution a été tirée avec du thiosulfate de sodium en agitant vigoureusement.

L'indice de peroxyde donné par la formule suivante

$$I_nP(\text{ meq d'O}_2 / \text{Kg}) = \left[\frac{(V-V_0) \times N}{m} \right] \times 100 \quad \text{III. 11}$$

V : Volume de thiosulfate de sodium utilisé en mL

V_0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium requis pour tirer le balan en mL.

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium

m : La prise d'essai (g)

III.5.Screening phytochimiques

Le screening phytochimique est un ensemble de réactions chimiques simples permettant d'orienter rapidement vers l'étude détaillée de quelques types de constituants chimiques (**Girre, 1980**).

Le but ultime de la recherche sur les plantes est souvent d'isoler un ou plusieurs composants responsables d'un effet particulier d'une plante.

Les techniques générales de screening phytochimique peuvent être très utiles. Ces techniques permettent de détecter la présence dans la plante de produits appartenant à des classes de composés normalement physiologiquement actifs. Le nombre de ces classes est important et l'existence de chacune d'entre elles ne peut être vérifiée. Les classes doivent être sélectionnées et considérées comme les plus actives, mais aussi les plus faciles à identifier, compte tenu des ressources techniques disponibles. (**Van Puyvelde et Kayonga, 1977**).

✓ Préparation de l'extrait aqueuse

Consiste à introduire 5g de poudre végétale dans 100ml d'eau distillée bouillante qu'on laisse infuser pendant 20minutes.

III.5.1.Les tanins

La détection des tanins a été faite par l'ajout dans un tube à essai de 5 ml d'infusé à 5%, et 1 ml de la solution aqueuse de $FeCl_3$ dilué à 1%. En présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noirâtre.

La différenciation des tanins catéchiques et galliques est obtenue par la réaction de Stiasny; à 30 ml d'infusé à 5%, 15 ml du réactif de Stiasny est ajouté (10ml du formol à 30% + 5 ml HCl concentré). La solution est ensuite chauffée au bain-marie à 90°C. L'obtention d'un précipité montre la présence de tanins catéchiques. Pour la caractérisation des tanins galliques, on a filtré la solution précédente qu'on a saturée avec une solution d'acétate de sodium et à laquelle on a ajouté quelques gouttes d'une solution de $FeCl_3$ à 1%. Le développement d'une teinte bleu-noire indique la présence de tanins galliques non précipités par le réactif de Stiasny (**Awor et Samseny, 2003**).

III.5.2.Les alcaloïdes

✓ Dragendorff : Réactif d'iode bismuthate de potassium.

Réactif de Dragendorff en milieu acétique dont la composition est : Solution mère : mélanger 10 ml de solution A, 10 ml de solution B, 20 ml d'acide acétique glacial et 100 ml d'eau distillée.

Solution A : dissoudre 2 g de nitrate de bismuth dans 25 ml d'acide acétique glacial et ajouter 100 ml d'eau distillée.

Solution B : dissoudre 40 g d'iodure de potassium dans 100 ml d'eau distillée.

Introduire 10 g de poudre végétale sèche dans un erlenmeyer, à laquelle 50ml de H₂SO₄ dilué au 1/10 avec de l'eau distillée est ajouté. Ce mélange a été agité et macéré pendant 24 h. Ensuite, dans 1ml du filtrat, 5 gouttes de réactif de Dragendorff sont ajoutées.

L'apparition d'un précipité rouge-orangé révèle la présence d'alcaloïdes (**Sandrine, 2005**).

III.5.3. Quinones libres

Un gramme de matériel végétal sec broyé est placé dans un tube avec 15 à 30 mL d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24 h, les extraits sont filtrés et concentrés au rotavapeur. La présence de quinones libres est confirmée par l'ajout de quelques gouttes de NaOH 1/10, lorsque la phase aqueuse vire au jaune, rouge ou violet (**Dohou, 2015**).

III.5.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes ont été recherchés par la réaction à la cyanidine. Deux (2) ml de chaque extrait ont été évaporés et le résidu a été repris dans 5 ml d'alcool chlorhydrique dilué 2 fois. En ajoutant 2 à 3 copeaux de magnésium, il y a un dégagement de chaleur puis une coloration rose orangé ou violacée. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique a intensifié cette coloration qui a confirmé la présence de flavonoïdes. (**Azzi, R. 2012**).

III.5.5. Mucilages

Introduire 1 ml de décocté dans un tube à essai, puis 5 ml d'alcool absolu est ajouté. L'obtention d'un précipité floconneux après agitation indique la présence de mucilages (**Awor et Samseny, 2003**).

III.5.6. Anthocyanes

5ml d'infusé+ 5ml d'acide sulfurique H₂SO₄+ 5ml d'ammoniaque NH₄OH.
L'apparition de coloration blue- violacée.

III.5.7. Polyphénol totaux

2ml d'extrait+ une goutte de solution alcoolique de chlorures ferrique FeCl₃ à 2%.
L'obtention de la coloration blue noirâtre ou verte. Plus ou moins foncée.

III.5.8. Saponine

Une décoction a été préparée à partir d'un échantillon finement broyé de la plante (5g) dans 50ml d'eau distillée. Après une ébullition de 30 min, la solution est refroidie et filtrée et 5 mL de filtrat est prélevé et introduit dans un tube à essai qui a été bien agité verticalement

pendant 15 secondes et laisser reposer pendant 15 minutes. La formation de 1 à 2 cm de mousse indique la présence des saponines (**Hungund et Pathak, 1971**).

III.5.9. Les composés réducteurs

Introduire 2 ml de l'extrait aqueux dans un tube à essai, puis 2 ml de la liqueur de Fehling sont ajoutés. Ensuite, l'ensemble est porté au bain-marie bouillant durant 8 min.

L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Azzi, 2013**).

III.6. L'activité antioxydante

III.6.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

✓ Principe

Le composé chimique 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation entre la structure et l'activité antioxydante des composés phénoliques (**Takao et al, 1994 ; Licina et al, 2013**).

La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm due à la présence de composés phénoliques. Le radical synthétique DPPH, initialement violet, perd de sa couleur lorsque l'électron célibataire s'apparie à l'antioxydant.

La mesure de la décroissance de la coloration violette au fil du temps permet de déterminer l'IC50, qui représente le temps nécessaire pour que 50% de la coloration soit perdue. Ce paramètre est généralement interprété en fonction de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la quantité initiale de DPPH (IC50). Il convient de noter que le résultat obtenu dépend de la concentration initiale de DPPH. En ajoutant une référence connue, telle que l'équivalent Trolox ou la vitamine C, il est possible de standardiser la méthode. Cette approche est largement utilisée pour étudier les extraits végétaux et alimentaires afin de mesurer leur capacité antioxydante totale.

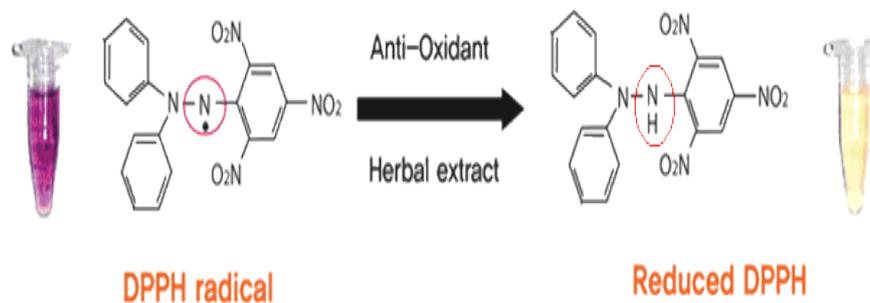


Figure III.4 : Réduction du radical libre DPPH (Liang et Kitts, 2014).

➤ **Mode opératoire**

- ✓ Solution DPPH
- ✓ Solution mère
- ✓ Les solutions filles

III.6.1.1. Préparation de la solution DPPH

Dissout 2,4g de DPPH dans méthanol absolue (96°)

Mélanger dans une fiole conique

Fait l'agitation pendant 30min, après l'enrobage par le papier aluminium, à température ambiante. La figure suivante agitation méthanolique DPPH.



Figure III.5 : L'agitation de la solution méthanolique DPPH.

III.6.1.2. Préparation de la solution mère

Dissout 50 μ L de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* et 50 μ L de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Radiata* dans 990 μ L méthanol.

A. Préparation solutions filles

A partir d'une solution mère probablement préparer, nous préparons six solutions filles de concentrations 10, 30, 40, 70, 150, 200 μ L.

Puis complète par méthanol jusqu'à 1000 μ L puis à chaque concentration un volume de 1ml de solution méthanolique de DPPH a été ajouté.

III.6.1.3. Mesure l'absorbance

Allume le spectrophotomètre

Règle la longueur d'onde à 517 nm

Mesure l'absorbance à 517nm, à cette valeur le DPPH absorbe la lumière, ce qui présente un pic d'absorption

Utiliser méthanol pur comme blanc pour étalonner le spectrophotomètre.

Préparer les cuvettes pour les mesures

Remplir chaque cuvette avec un volume de 2ml de solution DPPH préparée.

III.6.1.4.Détermination d'IC 50

La concentration inhibitrice 50% est la concentration de l'échantillon testée nécessaire pour réduire 50% de l'activité du DPPH.

La valeur de IC50% a été déterminée graphiquement par la régression linéaire ou l'abscisse (x) est représenté par la concentration de l'échantillon testé (mg/mL) et l'ordonnée (y) par le pourcentage d'inhibition (I%).

Le pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé par la formule suivante :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}}{\text{Abs contrôle}} \right) * 100 \quad \text{III.12}$$

III.7. L'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne in vitro a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélose (antibiogramme).

III.7.1.Milieu de culture

- Gélose Hinton (MH) pour les bactéries
- Gélose Sabourad dextrose (GSD) pour les champignons

III.7.2.Les souches microbiennes utilisées

- *Escherichia Coli* (ATCC 25922) : bactérie à gram négative
- *Bacillus Subtilis* (ATCC 10876) : bactérie à gram positive
- *Staphylococcus Aureus* (ATTC 25923) : bactérie à gram positive
- *Candidat Albicans* (ATCC 2035) : champignons

III.7.3.Préparation des suspensions

III.7.3.1.Pour les bactéries

A partir de colonies jeunes (âgées de 18 à 24 heures), une suspension bactérienne est préparée dans l'eau physiologique ajustée à une turbidité de 0,5 MC Farland.

Réaliser une lecture de densité optique avec la spectrophotométrie à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être comprise entre (0,2 à 0,3) pour *Escherichia* et *Bacillus subtilis*, et (0,3 à 0,4) pour *Staphylococcus Aureus* ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/mL (**Association Française de Normalisation, 1980**).

III.7.3.2.Pour les champignons

A partir d'une culture jeune de 48 heure réalise des suspensions en prélèvent 3 à 5 colonies bien isolées et identiques et les mettre dans 5mL d'eau physiologique stérile.

Agiter au vortex pendant quelques secondes

Réaliser une lecture de densité vers le spectrophotomètre qui doit être comprise entre (2 à 3) pour candidat albicans, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 μ FC/mL

III.7.4.Préparation les disques

Les disques de 6 mm de diamètre sont découpés à partir du papier **Whatman** n°=1, en contour régulier pour donner des zones d'inhibition facile à mesurer. Puis les disques introduits dans un flacon en verre et sont placés dans un autoclave pour stérilisation. La figure suivante présente les disques.



Figure III.6: Les disques

III.7.5.Les antibiotiques

- Kanamycine de la famille Aminocyclitol de concentration 30 μ g/mL
- Levofloxacin de la famille Fluoroquinolones de concentration 5 μ g/mL

❖ Mode opératoire

La gélose a été liquéfiée dans un bain marie, puis coulé aspectivement dans des boîtes pétries et laissé sur la paillasse jusqu'à solidifier.

Prolonger un écouvillon en coton stérile dans les suspensions bactériennes

Essorer fermement l'écouvillon en le pressant contre la paroi interne du tube tout en le tournant la boîte de 60° à chaque fois.

Les boîtes pétries sont ensuite laissées à sécher pendant quelques minutes pour mettre l'adhésion des suspensions au milieu.

Imprégner les disques stériles avec une quantité d'*Eucalyptus Radiata*.

A l'aide d'une pince stérile, pour chaque souche bactérienne, deux disques stériles de papier **Whatman** ont été déposés. Le premier disque est imbibé d'HE d'*Eucalyptus Globulus* et le seconde d'*Eucalyptus Radiata* représente le témoin négatif.

Placer les disques d'antibiotiques Levofloxacin et Kanamycin sur une autre boite, ce qui concerne le témoin positif.

Les boite de pétries sont ensuite fermées et laissées diffuser à température ambiante pendant 30 minutes et mise à l'incubation à température 37°C pendant 24 heures.

La lecture se fait par la mesure du diamètre en (mm) de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle après l'incubation.

Comparer les zones d'inhibition des huiles essentielles avec celles de témoins positifs.

III.8. Les analyse

Les résultats obtenus lors de l'analyse phytochimique des huiles essentielles et l'activité antioxydante des HE et l'acide ascorbique et l'antibactérienne. Tous les graphes et les histogrammes représentés dans les documents ont été réalisés en utilisant le logiciel Excel (Microsoft office 2010).

III.9. Formulation des crèmes

Est une opération industrielle consistant à fabriquer un produit homogène et stable, non toxique (pour une grande majorité d'applications). Possédant des propriétés finales spécifiques et répondant aux exigences d'un Cahier Des Charges Fonctionnel (CDCF), en mélangeant des substances divers (**Aubry-Jean et Gilbert, Schorsch.1999**).

Ce processus est essentiel dans divers industries

- ✓ cosmétique, galénique, pharmacie.
- ✓ Engrais, insecticides, produit phytosanitaire
- ✓ Peinture, encres, vernis, colles
- ✓ Détergence, produits d'entretien
- ✓ Polymères, plastiques, caoutchouc

III.9.1. Crème

III.9.1.1. Définition

Ce sont les préparations multi-phases composées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse (**Lüllmann et al, 1998**).

III.9.1.2. Les principaux types de crème cosmétiques

Les crèmes cosmétiques se divisent en plusieurs catégories. Chacune ayant des fonctions spécifiques adaptées aux besoins de la peau.

III.9.1.2.1. Crèmes hydratantes

✓ **Crème de du jour**

Formulée pour hydrater et protéger la peau de l'agression extérieure tout au long de la journée.

✓ **Crème de nuit**

Conçue pour nourrir et préparer la peau pendant le sommeil, souvent plus riche que les crèmes de jour

III.9.1.2.2. Crèmes anti-âges

✓ **Crèmes antirides**

Ciblent les rides et ridules pour lisser la peau et améliorer son élasticité.

✓ **Crème fermeté**

Renforcement la structure de la peau pour effet liftant.

III.9.1.2.3. Crèmes spécifiques

✓ **Crèmes contours des yeux**

Formulées pour les zones délicates au tour des yeux, elles aident à réduire les crèmes, les proches et les rides.

✓ **Crèmes anti-imperfections**

Visent à réduire les boutons et à prévenir les éruptions cutanées.

III.9.1.2.4. Crèmes solaire

✓ **Crèmes avec SPF**

Protègent la peau des rayons UV tout en offrant des bienfaits hydratants et anti-âges.

✓ **Crèmes après-soleil**

Apaisent et réparent la peau après une exposition au soleil.

III.9.1.2.5. Crème spécialisées

✓ **Crèmes apaisantes**

Destinées aux peaux sensibles, elles réduisent les rougeurs et les irritations.

✓ **Crèmes éclat**

Visent à illuminer le teint et à améliorer l'uniformité de la peau

III.9.1.3. Emulsion

Sont des systèmes dispersés de stabilité limitées ou thermodynamiquement instables formés de deux liquides non miscibles, l'un étant dispersé sous forme de globule de l'ordre du micron dans l'autre grâce à la présence de tension actif. (**Pharmacopée Française, 1987**).

III.9.1.3.1. Les types d'émulsion

III.9.1.3.1.1. Une émulsion « l'huile dans eau (H/E) »

Les gouttelettes d'huile sont en suspension dans l'eau qui forme une phase continue dans laquelle sont incorporées les gouttelettes d'huile, constituant la phase discontinue, puisque la phase continue est aqueuse, cette émulsion à un fort pouvoir nourrissant et hydratant, s'étale facilement et est absorbée rapidement (**Marie-Claude, 1992**).

III.9.1.3.1.2. Une émulsion « eau dans l'huile (E/H) »

Les gouttelettes d'eau sont enfermées dans l'huile, cette dernière formant la phase continue, un filme lipidique se crée sur la peau, une telle émulsion couvre les besoins de la phase en graisse et en l'eau. (**Marie-Claude, 1992**).

III.9.1.4. Préparation de crème

III.9.1.4.1. Les ingrédients

III.9.1.4.1.1. La composition de la phase huileuse

- ✓ Vaseline 1% (10g) : Agent occlusif et hydratant et stabilisant-protecteur cutané.
- ✓ Emulgine 0,4% (4g) : Stabilisation des émulsions amélioration de la texture.
- ✓ Lanette O 0,1% (1g) : Agent émulsifiant
- ✓ Huile d'amande douce 0,5%(5g) : Hydratant et nourrissant et adoucissent et apaisant. (**Galizra, 2013**).

III.9.1.4.1.2. La composition de la phase aqueuse

- ✓ H₂O déminéralisé 7,02 % (70,2g) : neutralisation le pH solvant par prévention des réactions indésirables.
- ✓ Réduction du risque de contamination microbienne.
- ✓ Glycérine 0,6% (0,6g) : Humectant et agent solubilisant et hydratant et protecteur cutané, apaisant.
- ✓ Carbopol : polymère 0,08% (0,8g) : régulateur de viscosité, agent apaisant, agent suspension, agent stabilisant, agent gélifiant.
- ✓ Allantoïne 0,05% (0,5g) : Hydratant exfoliant doux réparateur de la barrière cutanée.

➤ Les étapes de la préparation

Dans un bécher en verre, nous avons déposé les quantités des compositions de la phase huileuse.

Dans un autre bécher, nous avons déposé les quantités de compositions de la phase aqueuse.

Les deux béchers ont été déposés au bain marie à 70°C jusqu'à fusion complète des composés.

Lorsque la température de la phase huileuse est de 70°C et celle de la phase aqueuse est de 70°C +3 à 5°C, nous avons versé la phase aqueuse lentement avec agitation manuelle.

La phase huileuse a été versé dans la phase aqueuse par petites fractions en mélangeant jusqu'au refroidissement.

A température ambiante (25-30°C), l'HE d'*E Globulus* a été ajouté séparément avec un compte-goutte sous une homogénéisation continue.

III.9.1.5. Contrôle réalisé sur la crème

III.9.1.5.1. Contrôle organoleptique

Les propriétés organoleptiques de crème jouent un rôle primordial dans sa perception avant usage ou consommation et dans son appréciation lorsqu'il est consommé ou utilisé.

Les principaux éléments contribuant à la qualité organoleptique sont :

- ❖ L'aspect
- ❖ La couleur
- ❖ L'odeur

III.9.1.5.1.2. Contrôle de pH

Le pH est outil essentiel dans la formulation et le contrôle de qualité des crèmes. Cette mesure est effectuée à l'aide d'un pH mètre équipé d'une électrode.

III.9.1.5.1.3. Homogénéité

Nous avons vérifié l'homogénéité de la crème, en l'étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans les excipients a été notée.

III.9.1.5.1.3. Homogénéité

Nous avons vérifié l'homogénéité de la crème, en l'étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule. La répartition régulière ou non des extraits dans les excipients a été notée.

**CHAPITRE IV.
RESULTATS ET
DISCUSSION**

Ce chapitre est consacré à la présentation des résultats expérimentaux obtenus dans notre étude et leur discussion. Il portera essentiellement à l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* et ses caractérisations par diverses techniques, et l'évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Ainsi que formulation d'une crème à base de l'huile essentielle et leur caractéristique.

IV. 1. Le rendement

Les matières séchées d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* ont subi une hydrodistillation simple durant 3heures.

Les huiles essentielles sont récupérées et révèlent un rendement de 0,38% et 0,42% respectivement. Les résultats présentent dans la figure suivante.

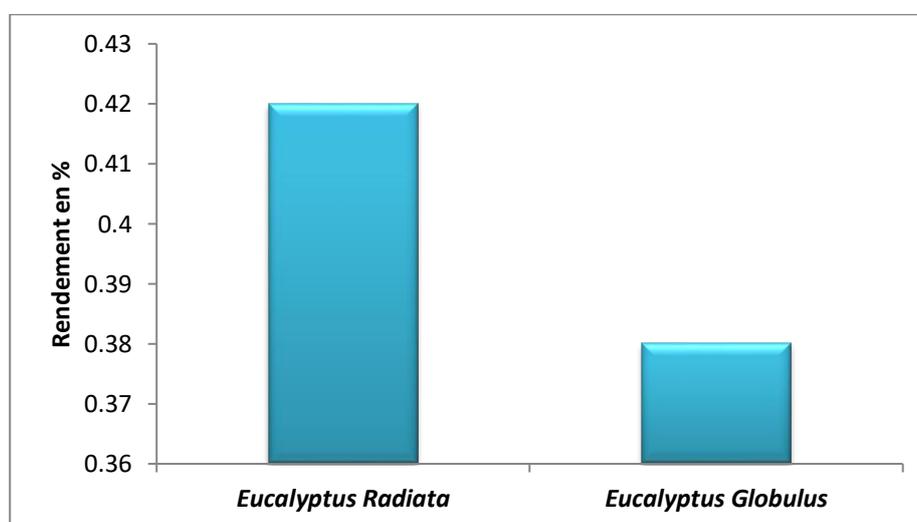


Figure IV.1. Représentation graphique du rendement de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata*.

Nos résultats sont variables comparés aux résultats obtenus dans des études ultérieures, les rendements obtenus dans notre étude sont inférieurs à ceux rapportés dans les études de (Silva et al, 2016 ; Joshi, (2012) et Selvakumar et al, (2012)) qui ont obtenus des rendements de 0,77% à 1,29%. De plus Melo et al, (2007) rapporte que l'huile essentielle d'*Eucalyptus* donne des rendements qui varient de 0,4-1,1% (Sharma et al, 2021) a trouvé que le rendement d'extraction d'huile d'*Eucalyptus Globulus* était d'environ 0,133%.

Le rendement en huile essentielle dépend de nombreux facteurs :

La qualité de la matière végétale (sèche ou fraîche), la période de séchage la plante, ainsi que la technique d'extraction et l'origine géographiques. (Kelen et al, 2008).

IV.2. Caractérisations les huiles essentielles

IV.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Les résultats de caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* sont exprimés dans le tableau suivant.

Tableau IV.1 : Les résultats de caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata*.

| Propriétés | Caractères | E. Globulus | E. Radiata |
|-----------------|------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| AFNOR | Aspect | Liquide limpide Fluide et mobile | Liquide limpide fluide et mobile |
| | Couleur | Jaune très pales à transparent | Jaune très pales à transparent |
| | Odeur | Fraiche et épicée | Fraiche et épicée |
| Huiles extraite | Aspect | Liquide limpide | Liquide limpide |
| | Couleur | Jaune | Jaune |
| | Odeur | Fraiche et épicée | Fraiche et épicée |

Les huiles essentielles issues de la méthode hydrodistillation sont liquides, de couleur jaunâtre et parfois incolore. Ils possèdent des notes olfactives proches des arômes originales des plantes fraîches utilisés avec des herbes aromatiques.

Les propriétés organoleptiques (aspect, couleur et odeur) de notre les huiles sont identiques à ceux donnés par la norme **AFNOR (2000)**.

IV.2.2. Les caractéristiques physico-chimiques

Tableau IV.2 : Paramètres physico-chimiques d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata*.

| Caractéristiques | Les tests | HE. Globulus | HE. Radiata |
|--------------------------------|-----------------------------|--------------|-------------|
| Les caractéristiques physiques | Densité relative à 20°C. | 0,906 | 0,915 |
| | Indice de réfraction à 20°C | 1,451 | 1,448 |
| | pH | 4,99 | 4,46 |
| Les caractéristiques chimiques | Indice d'acidité | 1,624 | 1,825 |
| | Indice d'ester | 48,15 | 490,18 |
| | Indice de saponification | 49,774 | 492,005 |
| | Indice de peroxyde | 13 | 10,2 |

✓ La densité relative

La densité d'une huile essentielle constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle, dans différents domaines de la vie (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, chimique...etc.). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi les tentatives de fraudes et d'adultération. (**Kahina et al, 2016**).

Les résultats de la densité relative pour les deux espèces sont conformes aux normes d'**AFNOR (0,905-0,925)**. (**AFNOR, 2000**)

➤ Indice de réfraction

L'indice de réfraction I indique la capacité de l'huile essentielle à réfléchir la lumière, cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des

chaines d'acide. Il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés, une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, plus l'indice de réfraction est faible, plus le composé est pur, donc plus qu'il est près de la valeur attendue, plus sa pureté est grande. (Coffi et al, 2012).

➤ **pH**

Le pH de nos huiles est inférieur à 7, ce qui signifie que le pH est acide. Cette acidité est due à la composition chimique des huiles essentielles, qui se considère comme donneur des (H^+).

➤ **L'indice acidité**

L'indice acidité I_nA permet de vérifier la qualité d'une huile essentielle, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage, il donne une idée sur le taux d'acides libres, un I_nA inférieure à 2 est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres). (Boukhatem et al, 2010).

D'après les résultats les résultats du tableau, nous pouvons constater que les valeurs d'indice d'acide d'huile essentielle sont bien conservées.

➤ **Indice d'ester**

L'indice d'ester I_nE est indicateur renvoyant directement à la qualité de l'huile essentielle étudiée. En effet, les huiles essentielles de très bonne qualité renferment une très grande quantité d'ester et proportionnellement, plus la qualité d'une huile est élevée, et plus elle contiendra d'ester.

D'après les résultats, nous constatons que l'huile essentielle d'*Eucalyptus Radiata* est supérieure que l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus*, il est donc considéré de meilleur qualité.

➤ **L'indice de peroxyde**

L'indice de peroxyde I_nP représente le degré d'oxydation des acides gras insaturés de la matière grasse, responsable des phénomènes de rancissement.

Plus l'indice de peroxyde est élevé, plus la matière est oxydée (M'Baye et al, 2011).

Selon les études faites, les valeurs de l'indice de peroxyde trouvées est 13meq d' O_2 /Kg pour l'*Eucalyptus Globulus* et 10,2meq d' O_2 /Kg pour l'*Eucalyptus Radiata*.

IV.3. Screening phytochimique

Les analyses phytochimiques d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* à savoir l'analyse qualitative par réaction de coloration ou précipitation ont révélé la présence de certains métabolites secondaire dont les résultats sont rassemblés dans le tableau suivant.

Tableau IV.3 : Résultats du screening chimique d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata*

| Métabolites secondaires | E. Radiata | E. Globulus |
|-------------------------|--|--|
| Flavonoïdes |  +++ |  ++ |
| Tanins catéchiques |  +++ |  +++ |
| Tanins galliques |  +++ |  +++ |
| Polyphénol totaux |  +++ |  +++ |
| Mucilages |  +++ |  + |
| Alcaloïdes |  ++ |  +++ |
| Saponosides |  ++ |  ++ |

| | | |
|--------------------|---|---|
| | | + |
| Anthocyanes |  - |  - |
| Quinones |  ++ |  ++ |
| Composé réducteurs |  ++ |  ++ |

+++ : Fortement positif ; ++ : Moyennement positif ; + : faiblement positif - : Négatif.

Les résultats illustrés dans le tableau (IV.3) montrent qu'il y a présence de flavonoïdes dans les deux espèces de mêmes nous avons enregistré une présence importante des tanins galliques et catéchiques pour les deux espèces d'*Eucalyptus*.

Les polyphénols sont fortement positifs dans les deux d'espèces.

Les alcaloïdes sont très présents à grande quantité au niveau d'*Eucalyptus Radiata* par rapport d'*Eucalyptus Globulus*.

Les anthocyanes sont absent dans les deux espèces étudiées.

Les composés réducteurs et les quinones existent moyennement dans les deux espèces, l'indice de mousse montre la présence des saponines dans les deux d'espèces d'*Eucalyptus*.

Les mucilages se trouvent avec une forte quantité dans l'*Eucalyptus Globulus* tandis qu'elles sont présentes en petites quantités dans l'*Eucalyptus Radiata*.

Les travaux antérieurs sur les tests phytochimiques d'*Eucalyptus Globulus* sont accord avec les résultats rapporté par plusieurs auteurs par exemple (Boukhatem et al ,2017).

Pour l'*Eucalyptus Radiata*, ses résultats des tests screening sont identiques à ceux d'l'*Eucalyptus Globulus*, car cette espèce n'a malheureusement pas fait l'objectif d'études comme l'*Eucalyptus Globulus*.

Plusieurs paramètres peuvent être dus probablement du fait de l'influence de plusieurs facteurs sur les compositions chimiques : la différence du site de récolte y compris

l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie, la saison, type de sols, période de récolte, le patrimoine génétique, la procédure d'extraction utilisé, la partie de plante étudiée ou leurs produits phytochimiques. (Farnaz et al, 2012 ; Sujana et al, 2013 ; Akhtar et al, 2015)

IV.4. Activité antioxydante

IV.4.1. Calcul de pourcentage d'inhibition I%

Le pourcentage d'inhibition I% du radical DPPH par l'huile essentielle est calculé comme suite :

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}}{\text{Abs contrôle}} \right) * 100 \quad \text{IV.1}$$

Abs_{blanc} : l'absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon.

Abs_{éch} : l'absorbance est l'échantillon teste après 30min d'incubation.

Dans notre travail, nous avons étudié l'activité antioxydante de nos huiles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata*.

IV.4.1.1. *Eucalyptus Globulus*

Le tableau suivant présente les valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution.

Tableau IV.4: Les valeurs de taux d'inhibition de l'huile essentielle *Eucalyptus Globulus* en fonction de la concentration

| V | C | I |
|-----|-------|-------|
| 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0,178 | 40,24 |
| 30 | 0,534 | 58,03 |
| 40 | 0,712 | 65,17 |
| 70 | 1,246 | 75,29 |
| 150 | 2,67 | 81,07 |
| 200 | 3,56 | 82,72 |

Après l'évaluation de l'activité antioxydante, les valeurs de taux d'inhibition obtenue ont permis de tracer la courbe ci-dessous.

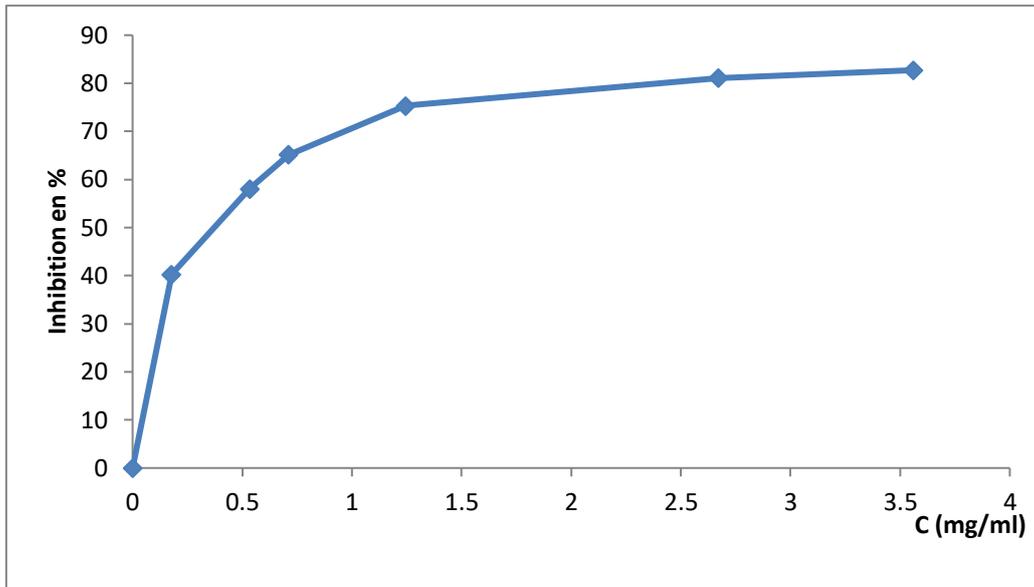


Figure IV.2 : Pourcentage d'inhibition d'*Eucalyptus Globulus* en fonction de la concentration.

La figure ci-dessus (IV.2) représente la variation du pourcentage d'inhibition de l'huile en fonction de la concentration d'*Eucalyptus Globulus*.

Le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle augmente de manière proportionnelle avec la concentration jusqu'à une valeur maximale égale à **82,72 % de I**.

Cette figure montre la concentration inhibition médiane **IC50** de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* qui correspond à la valeur de **0,812 (mg/mL)**.

IV.4.1.2. *Eucalyptus Radiata*

Le tableau suivant présente les valeurs de taux d'inhibition pour chaque solution.

Tableau IV.5: Les valeurs de taux d'inhibition de l'huile essentielle *Eucalyptus Radiata* en fonction de la concentration

| V | C | I |
|-----|------|-------|
| 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0,18 | 47,3 |
| 30 | 0,54 | 58,61 |
| 40 | 0,72 | 63,59 |
| 70 | 1,26 | 70,18 |
| 150 | 2,7 | 86,07 |
| 200 | 3,6 | 88,72 |

Après l'évaluation de l'activité antioxydante, les valeurs de taux d'inhibition obtenue ont permis de tracer la courbe ci-dessous.

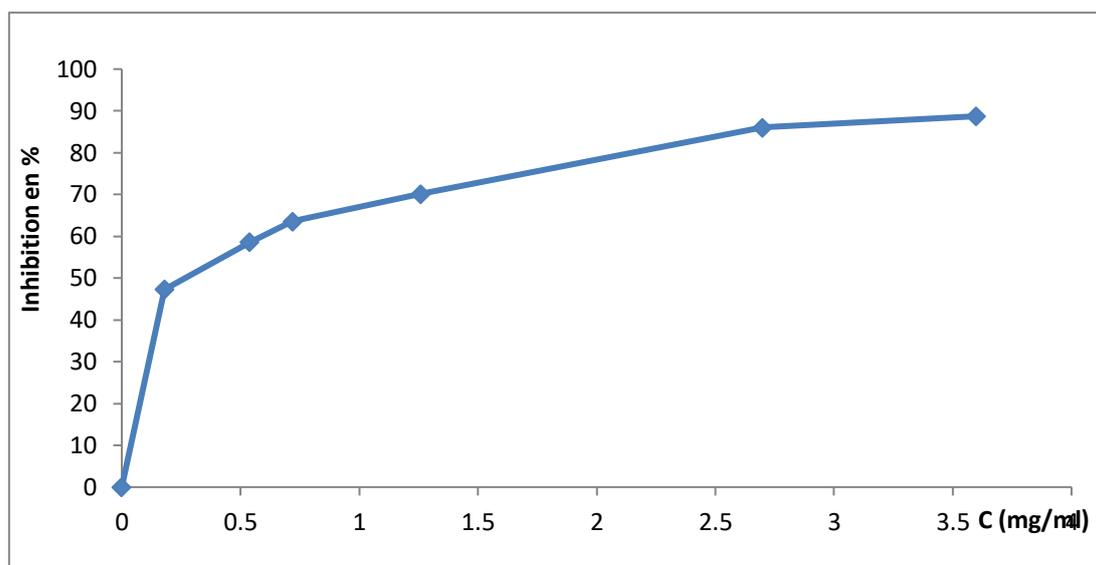


Figure IV.3 : Pourcentage d'inhibition d'*Eucalyptus Radiata* en fonction de la concentration.

La figure IV.3 représente la variation du pourcentage d'inhibition de l'huile en fonction de la concentration d'*Eucalyptus Radiata*.

Le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle augmente de manière proportionnelle avec la concentration jusqu'à une valeur maximale égale à **88,72 % de I**.

Cette figure montre la concentration inhibition médiane **IC50** de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Radiata* qui correspond à la valeur de **0,756 (mg/mL)**.

IV.4.1.3. Acide ascorbique

Afin d'établir une comparaison de référence des valeurs obtenues des paramètres calculés des huiles essentielles, le taux d'inhibition en fonction de concentration et le pourcentage d'activité antioxydante de vitamines C sont évalués.

Tableau IV.6 : Les valeurs de taux d'inhibition en fonction de la concentration pour chaque solution fille d'Acide ascorbique.

| V | C | I |
|-----|--------|----|
| 0 | 0 | 0 |
| 5 | 0,0005 | 16 |
| 10 | 0,001 | 34 |
| 40 | 0,004 | 93 |
| 50 | 0,005 | 94 |
| 60 | 0,006 | 95 |
| 80 | 0,008 | 95 |
| 100 | 0,01 | 95 |
| 200 | 0,02 | 95 |
| 300 | 0,03 | 95 |
| 400 | 0,04 | 95 |

Après l'évaluation de l'activité antioxydante, les valeurs de taux d'inhibition obtenue ont permis de tracer la courbe ci-dessous.

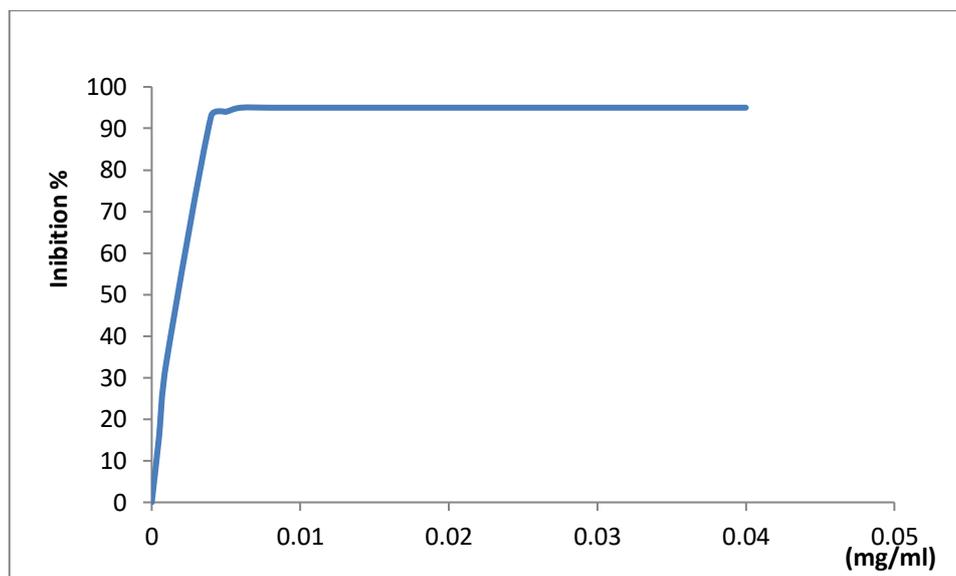


Figure IV.4 : Variation du pourcentage d'activité antioxydante (A%) d'Acide ascorbiques en fonction de la concentration.

La variation du pourcentage d'activité antioxydante d'acide ascorbique en fonction de la concentration est présente dans la figure (IV.4) où la valeur IC50 est égale à 0,0015mg/mL. L'acide ascorbique a une meilleure activité antioxydante. (Altunkaya et al, 2008), est un réducteur très puissant et possède ce fait un pouvoir antioxydant, qui est au centre de son activité biologique, sa structure est composée d'une fonction ène-diol en C₂, celle-ci est très sensible à l'hydrolyse. Elle est responsable de l'acidité de la molécule et de son pouvoir antioxydant.

Les huiles essentielles ont plusieurs composés, chacun d'entre eux contribue à leurs activités biologiques, une activité antioxydante modéré du terpène et ses dérivés, par contre le pinène et le cymène possèdent une activités relativement non signification par ailleurs, une forte activité antioxydante des huiles essentielles est attribuée à leurs groupements phénoliques comme le thymol, le carvacol et probablement aux 1,8 cinéole (Olaykin et al, 2012).

IV.5. Activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été faite sur 3 bactéries à savoir *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus Aureus* et une levure *Candidat Albicans* par la méthode des aromatogrammes. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des huiles essentielles d'*Eucalyptus*

Globulus et Eucalyptus Radiata pur, après 48 h d'incubation à 37C°, est présenté le tableau (IV.7).

Tableau IV.7 : Diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* pur et les antibiotiques

| | <i>Escherichia coli</i> | <i>Bacillus subtilis</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Candidat albicans</i> |
|----------------------------|-------------------------|--------------------------|------------------------------|--------------------------|
| <i>Eucalyptus Globulus</i> | 12 mm | 25 mm | 25 mm | 24 mm |
| <i>Eucalyptus Radiata</i> | 12 mm | 15mm | 27 mm | 18 mm |
| Levofloxacin | 32 mm | 15mm | 35 mm | 45 mm |
| Kanamycin | 15 mm | 32 mm | 33 mm | 28 mm |

Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* pur ainsi que les antibiotiques dans les figures suivantes.

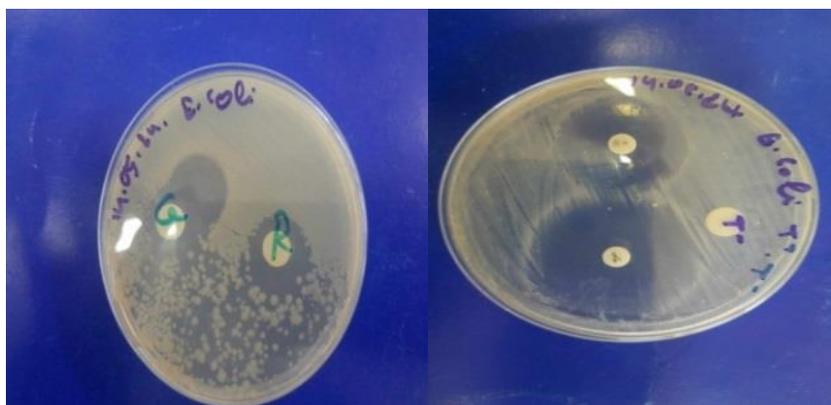


Figure IV.5 : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche *Escherichia coli*, vis-à-vis des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycin.

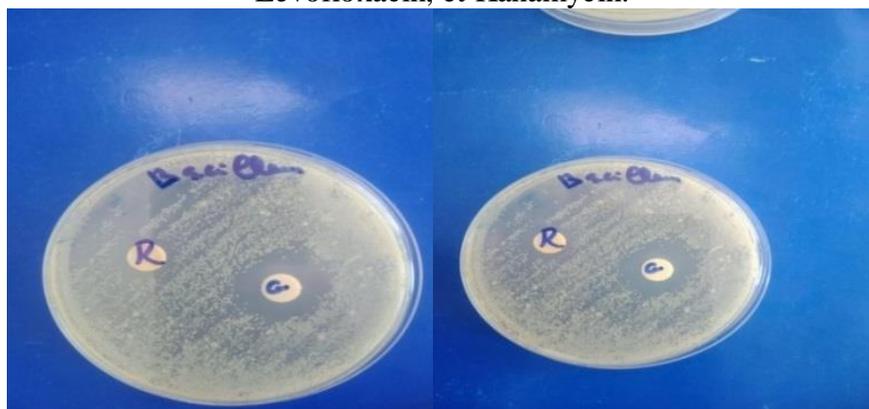


Figure IV.6 : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche *Bacillus subtilis* vis-à-vis des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycin.

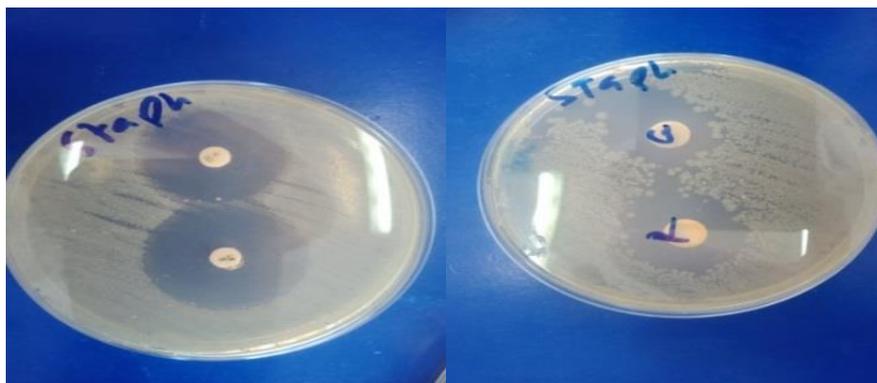


Figure IV.7 : Diamètres des zones d'inhibitions de la souche *Staphylococcus Aureus* vis-à-vis des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycin.

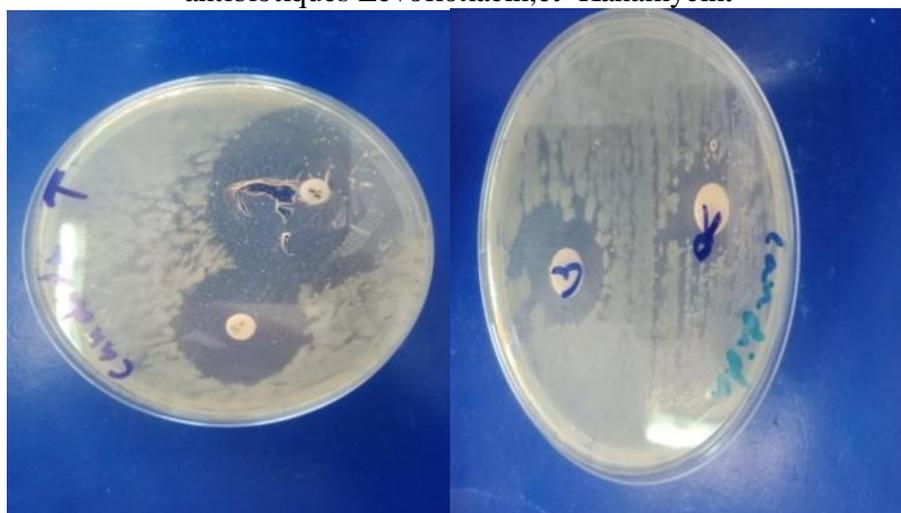


Figure IV.8: Diamètres des zones d'inhibitions de la souche *Candida albicans* vis-à-vis des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycin.

Représentation graphique de l'activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode antibiogramme (Témoin positif) présenté dans la figure suivante.

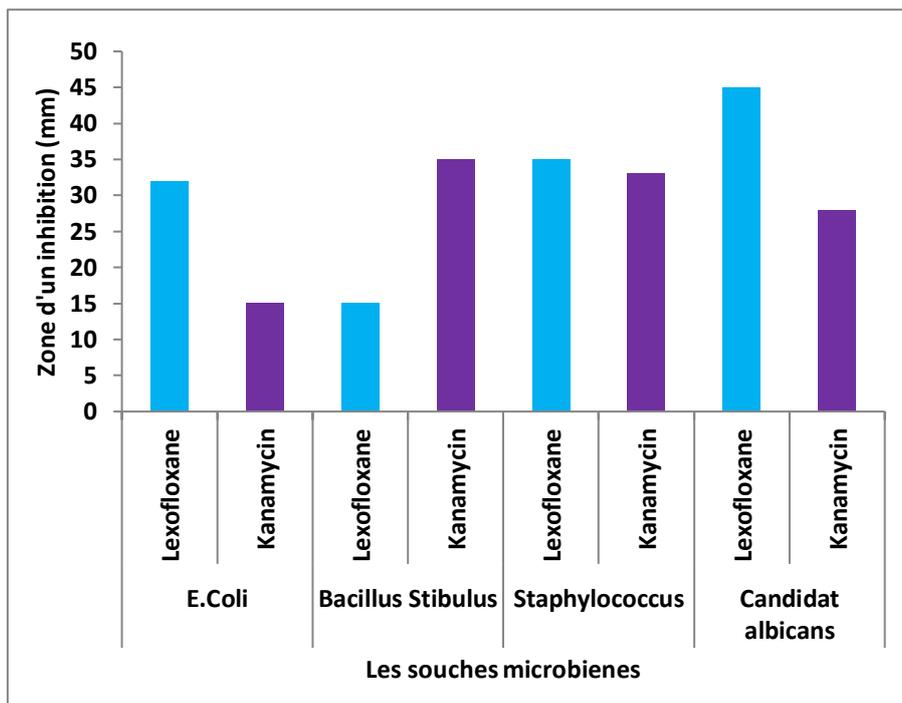


Figure IV.9 : Représentation graphique de l’activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode antibiogramme (Témoin positif).

Représentation graphique de l’activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque (Témoins négatif) présenté dans la figure IV.10.

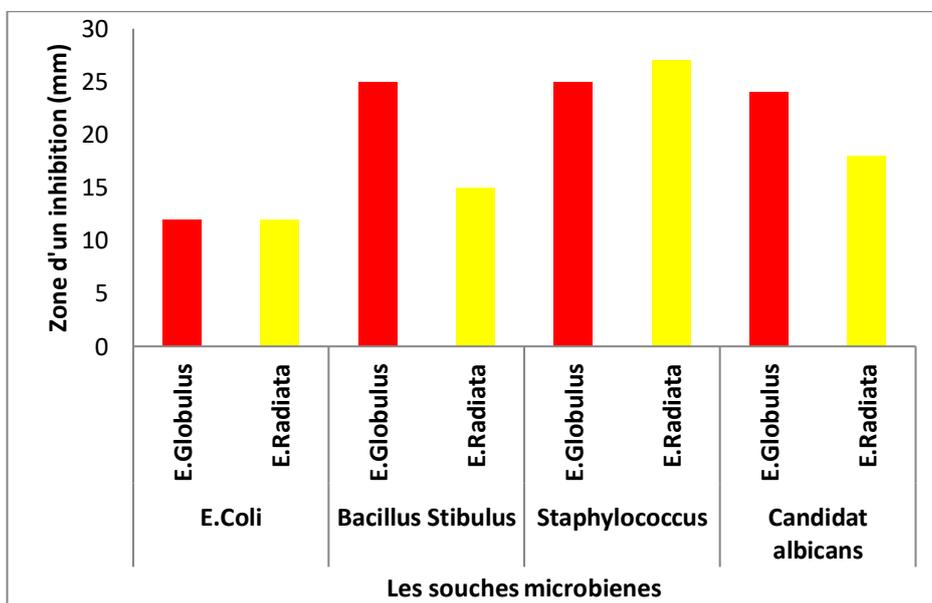


Figure IV.10 : Représentation graphique de l’activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque. (Témoin négatif).

La figure suivante montre la représentation graphique de l’activité antimicrobienne les huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque.

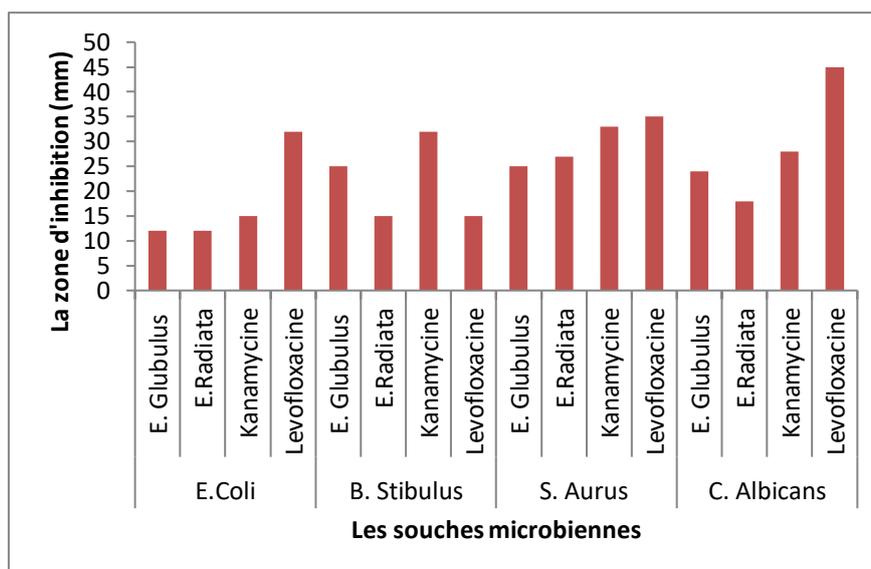


Figure IV.11: Représentation graphique de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles réalisées par la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et *Eucalyptus Radiata* ainsi que les antibiotiques Levofloxacin, et Kanamycine ont montré une forte activité antibactérienne vis-à-vis de 3 bactéries à savoir *Escherichia Coli*, *Bacillus Subtilis*, *Staphylococcus Aureus* et une levure *Candidat Albicans* avec des diamètres d'inhibition compris entre 12 et 45 mm (**Tableau IV.7**). Les valeurs des diamètres des zones d'inhibition révèlent que l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* montre une forte activité antibactérienne sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et une levure *Candidat albicans*.

En revanche, *E. Coli* manifeste presque le même degré de sensibilité avec un diamètre de l'ordre de 12 mm pour les deux huiles essentielles. *Staphylococcus Aureus* est la seule souche qui a marqué une hypersensibilité à l'activité des deux huiles essentielles pure avec un intervalle de diamètre qui varie de 25 mm à 27 mm.

Des études similaires ont été rapportées par (**Abdellah et al, 2013 ; Abdeli et Benghazi, 2023**) qui montrent que *S. Aureus* est la plus sensible vis-à-vis à l'huile essentielle d'*Eucalyptus Camaldulensis*.

La comparaison de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* avec l'effet de l'antibiotique Levofloxacin sur *Bacillus Subtilis* a montré qu'une activité antibactérienne plus importante de l'huile essentielle avec un diamètre d'inhibition de 25 mm. Des résultats similaires ont été obtenus par (**Merzougui et Ait yahia, 2023**).

IV.6. Préparation et caractérisation de crème hydratante à base de l'huile essentielle.

Dans cette étude, nous avons préparé une crème à base des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* et comme additifs les huiles végétales.

IV.6.1. Les caractérisations organoleptiques

Les résultats des analyses organoleptiques de notre crème sont

- **Couleur** : blanc
- **Odeur** : odeur spécifique
- **L'aspect** : crème visqueux

IV.6.2. Le pH

Le pH de notre crème est 5,9, il est varié en fonction de la formulation spécifique du produit.

- **Le pH idéal pour une crème hydratante**

pH idéal se situe généralement entre 4,5 et 6,5. Cette plage est proche du pH neutre de la peau (environ 5,5).

Si pH = 4,8 : le résultat est bon pour une crème hydratante, car il est proche du pH naturel de la peau et devrait être bien toléré.

Si pH = 6,2 : le résultat est également acceptable à utiliser et ne pas perturber l'équilibre de la peau.

Si pH = 7,5 : le pH est légèrement alcalin et pourrait perturber la barrière cutanée.

IV.6.3. Homogénéité

Après l'étalement d'une couche mince de notre crème sur une surface plane à l'aide d'une spatule. Nous vérifions à l'œil et nous voyons aucune présence de grumeaux ou de gouttes de l'huile ou d'eau, de ce fait notre crème est parfaitement homogène.

L'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* est utilisée en clinique depuis long, un produit à base de plantes d'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* est utilisée en clinique pour le traitement de bronchite aigue et chronique, de sinusite et d'autres infections respiratoires (Chandorkan et al, 2021).

CONCLUSION GENERALE

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs tels que les huiles essentielles.

Nous avons entamé cette étude en caractérisation des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* grâce à la détermination de son composition chimiques, ainsi que leur activités biologiques et formulation cosmétiques d'une crème hydratante.

L'extraction les huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* par la méthode d'hydrodistillation, une méthode simple et convenable et qui ne nécessite pas une utilisation des solvants organiques, le rendement est 0,38% pour d'*Eucalyptus Globulus* et 0,2% pour d'*Eucalyptus Radiata*.

D'après les propriétés organoleptiques caractéristiques (odeur, couleur et aspect), les huiles étudiées sont caractérisés par une odeur est très forte, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limites sur notre huile , il est nécessaire de faire appel à des autres techniques de caractérisations plus précises à savoir les caractéristiques physiques, l'indice de réfraction, l'indice de la densité, le pH, et les caractéristiques chimiques (indice d'acide, indice d'ester et saponification et peroxyde).

L'étude a montré certains renseignements sur la pureté de nos huiles essentielles : une partie des résultats sur les analyses physico-chimiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* sont conformes aux normes.

Les tests phytochimiques ont relevés présence de diverses substances bioactives de pour les deux espèces telles que des polyphénols, flavonoïdes, saponines, alcaloïdes, tanins.

Ces composés sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle, les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

L'évaluation des propriétés biologiques est une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver des nouvelles sources d'argents antioxydantes et antimicrobiens naturels.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* en comparaison avec l'antioxydante synthétique l'acide ascorbique.

Dans la présente étude, l'huile essentielle d'*Eucalyptus Globulus* a révélé un pourcentage d'inhibition de 0,812 mg/mL, tandis que l'huile essentielle d'*Eucalyptus Radiata* est inhibée avec 0,756 mg/mL et l'acide ascorbique est 0,0015mg/mL

Alors que nos huiles peuvent considérée comme agents antioxydants naturels capable d'empêche l'oxydation et l'altération de certains aliments.

Concernant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles étudiées montrent une forte activité antimicrobienne sur les souches bactériennes *B. Subtilis* et *S. Aureus* et levures *Candidat Albicans*.

Les résultats l'activité antimicrobienne de nos huiles avec les antibiotiques Levofloxacin et Kanamycine ont montré une forte activité avec des diamètres d'inhibition de 12 à 45mm.

Pour conclure ce travail, nous avons formulé une crème à base d'huile essentielle d'Eucalyptus et des autres additifs naturels, ce produit est ensuite été évalué pour leurs caractéristiques physiques et chimiques.

En perspective, nous somme intéressant de :

- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies sur les composants biochimiques et leur structure, ainsi que détermination des différentes activités biologiques in vitro.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des produits cosmétiques et pharmaceutiques synthétiques dans le future.
- Etudier la toxicité des huiles essentielles et réaliser l'encapsulation des huiles essentielles récupérées.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abdellah, F., Satrani, B., Fechtal, M., Abdelaziz, C., & Talbi, M. (2013). Composition chimique et activités antibactérienne et antifongique des huiles essentielles extraites des feuilles d'Eucalyptus Camaldulensis et de son hybride naturel (clone 583).
2. Abdelli, A., Benghazi, A. (2023). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles d'Eucalyptus Camaldulensis. Master. Université d'Echahid Cheikh Larbi Tébessi –Tébessa. 46p.
3. AFNOR. (1984). Recueil des Normes Françaises: Corps Gras, Graines Oléagineuses et Produits Dérivés (3ème edn). Paris, 459p.
4. AFNOR. (2000). Huiles essentielles : Monographies relatives aux huiles essentielles, Ed 6, Tome 2, Paris.
5. Agrobio. (2009). Evaluer la capacité antioxydante par des tests in vitro.
6. Aidoud, R., Boureneb, I. (2019). Dosage par HPLC-DAD de l'épigallocatechine gallate dans le thé et évaluation de son activité antioxydante. Master. Université de 8 mai 45 Guelma. 70p.
7. Akhtar, N., Ihsan-ul-Haq., Bushra, M. (2015). Phytochemical analysis and comprehensive evaluation of antimicrobial and antioxidant properties of 61 medicinal plant species. Arabian Journal of Chemistry. <https://www.sciencedirect.com/science/article/.../S187853521500032>.
8. Alessandra Moro, B. (2008). Grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être, p : 22-36-65-74-75
9. Altunkaya, H., Ayoglu, H., Yapakci, O., Ugur, M. B., Uzun, L., Ozer, Y., ... & Ozkocak, I. (2008). Effectiveness of dexmedetomidine in reducing bleeding during septoplasty and tympanoplasty operations. Journal of clinical anesthesia, 20(6), 437- 441
10. Aubry-Jean, M., Gilbert, S. (1999). Techniques de l'ingénieur, Formulation -Présentation générale. <https://doi.org/10.51257/a-v1-j2110>.
11. Awor, R., Samseny, R. (2003). Contribution à l'étude phytochimique d'une plante traditionnellement utilisée comme poison d'épreuve au Gabon : le Strychnos Icaja Baillon (Mbundu), Loganiacée. Thèse. Université de Bamako Mali. 80p.
12. Azzi, R. (2013). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest Algérien : enquête ethno-pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar. Thèse. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen.
13. Azzi, R. (2012). Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucre dans l'ouest algérien : enquête ethno pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat WISTAR. Thèse de doctorat, P 75.
14. Baser, K. H. C., Buchbauer, G. (2010). Handbook of essential oils: science, technology, and applications. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.
15. Bassaid, Redouane. (2019). Extraction de l'huile essentielle de lepidiumsativum par plusieurs méthodes d'extraction (étude de l'effet de prétraitement sur le rendement et les caractéristiques physico-chimiques de l'huile. Master. Université Larbi Ben Mhiidi Oum Bouaghi. 58p.
16. Baysal, T., Starman, D.A.J. (1999). Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone and Limonene from Caraway Seeds. Journal of Supercritical Fluids 14; p: 225-234.
17. Bazizi, M. (2017). Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale salvia officinalis L. PAR Hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique. Université BADJI MOKHTAR-ANNAB. 70p.
18. Belaiche, P. (1979). Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome 1: l'Aromatogramme. Ed. Maloine S. A. Paris. 201p
19. Benameur, A. (2014). Etude physico-chimique et pollinique du miel d'Eucalyptus globulus de la région de Tlemcen. Master. Université de Tlemcen (Algérie).

20. Benaradj, A., Boucherit, H., Bouazza, M., & Hasnaoui, O. (2015). Ethnobotanique du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica*) auprès la population de Béchar (Algérie occidentale). *Journal of Advanced Research in Science and Technology* 2(1), 139-146.
21. Benbrinis, S. (2012). Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolinachamaecyparissus*. Thèse de magister. Université Ferhat Abbas-Sétif.
22. Benhammou, N. (2011). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat, Université Aboubakr Belkaid-Tlemcen, Algérie.
23. Bensakhria, A. (2018). Toxicologie générale. Livre. Le stress oxydatif. 9 : 79-82.
24. Berghuel, S. (2018). Etude de l'activité antimicrobienne et bioinsecticide de *rutachalepensis* L. *R. angustifolia* pers. et *Haplophyllum tuberculatum* (Forsk) A. Juss. Vis-à-vis de quelques bioagresseur de la culture de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem p64-97.
25. Besombe, C. (2008). Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle. 289p.
26. Blandine, G. (2006). Le stress oxydant induit par voie métabolique (régime alimentaires) ou par vois gazeuse (hyperoxie) et effet de la glisodine. France. Université Joseph Fourier – Grenoble 1, p. 23.
27. Bouabdelli, F., Djelloul, A., Kaid-Omar, Z., Semmoud, A., & Addoud, A. (2012). "Antimicrobial activity of 22 plants used in urolithiasis medicine in western Algeria." *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2: S530-S5.
28. Boudy, P. (1955). *Économie forestière nord-africaine*. Ed Masson et cie, Paris, Tome IV. p826.
29. Boukhatem, M.N., Hakim, Y., Hamaidi, M.N., & Saidi, F. (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Rev Nat et Technol*. 3p.
30. Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., & Mekarnia, M. (2017). *Eucalyptus globulus* (Labill): un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*, 1-12.
31. Boukhlof, W. (2018). La biodiversité des arthropodes (coléoptères) dans le vignoble et olivaire au Ziban, Thèse de Magister, Université Mohamed Khider-Biskra.
32. Brezáni, V., Šmejkal, K. (2013). Secondary metabolites isolated from the genus *Eucalyptus*. *Curr. Top. Med. Chem.* 7, 65–75.
33. Branger, J. (2004). Cahier de charge pour: maîtrise différents techniques d'extraction. Lavoisier, France, 354 p.
34. Brooker, M.I.H. (2000). A new classification of the genus *Eucalyptus* L'Her. (Myrtaceae). *Australian Systematic Botany* 13 (1), 79- 148.
35. Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 4ème édition. Tec & Doc/Lavoisier, Paris, p 1292.
36. Burnichon, N., Texier, A. (2003). L'antibiogramme : la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. *DES bactériologie*
37. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3):223-253.
38. Campinhos, E. (1999). Sustainable plantations of high-yield *Eucalyptus* trees for production of fiber : the Aracruz case. *New Forests*, 17, 129-143.
39. Chandorkar, N., Tambe, S., Amin, P., & Madankar, C. (2021). A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions,

- molecularmechnisms, and clinical implicationsof the genus Eucalyptus. *Phytomedicine Plus* 1:100089. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100089>.
- 40.Coffi, K., Soleymane, K., Harisol, R., Balo, T , Claude, C. , Pierre, C. , Gilles, F. & Antoine, A. (2012).Monoterpenehydrocarbons, major components of the driedleaves essential oils of five species of the genus Eucalyptus from Cote d'Ivoire. *Natural Science*, **4**, 106-111. doi: [10.4236/ns.2012.42015](https://doi.org/10.4236/ns.2012.42015).
- 41.Cosentino, S., Tuberoso C.I., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi,E.,& Palmas,F. (1999). In-vitro antimicrobialactivity and chemical composition of Sardinian Thymus essentialoils.Lett.Appl. Microbiol., Vol.29,N°2,pp: 130-135.
- 42.Cowan, M. M. (1999). Plant productsas antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**:564–582.
- 43.Curtay, J.P., Robin, J.M. (2000).Intérêt des complexes antioxydants. *Nutrithérapie INF*.1-4.
- 44.Darroui-Mokaddem, H. (2012). Etude phytochimique et biologique des especes Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrnumolusatrum (Apiaceae), Asteriscusmaritimus et Chrysanthemumtrifurcatum (Asterarceae). Thèse de Doctorat. Université d'Annaba (Algérie). 30-37p.
- 45.Djeridane, A., Yousfi, Y., Brunel, JM., &Stocker, P. (2010). Isolation and characterization of a new steroidderivative as a power ful antioxidantfrom Cleome arabica in screening the in vitro antioxidantcapacity of 18 Algerian medicinal plants. *Food ChemToxicol.*, **48**: 2599–2606.
- 46.Dohou, N. (2015). Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de thymeleaelythroïdes. Thèse de doctorat, 59 p.
- 47.Dorman, Damien .H.J.,Kosar, M., Kahlos ,K., Holm, Y.,&Hiltunen, R. (2003).AntioxidantpropertiesandComposition of aqueousExtractsfrom Mentha Species,Hybrids, Varieties and Cultivars. *Journal Agricultural Food Chemistry*.51,pp.4563-4569.
- 48.Durville, J.P. (1930).Fabrication des essences et des parfums. Ed. Desforges, Girardot et Cie, 807 p.
- 49.Eddaikra, A., Eddaikra, N. (2020).Endogenousenzymaticantioxidantdefense and pathologies. *Intechopen.*, DOI: [10.57772/intechopen.95504](https://doi.org/10.57772/intechopen.95504)
- 50.Erau, P. (2019). L'Eucalyptus : Botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine. Thèse de Doctorat. Faculté de Pharmacie de Marseille (France). 198p.
- 51.Fang, Y.Z., Yang, S.,&Wu, G. (2002).Free Radicals, Antioxidants, and Nutrition. *Nutrition*, **18**, 872-879. [http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4).
- 52.Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).
- 53.Farnaz,M., Shahzad, H., Alia, S., Ghazala,P., Amina, W., Shazia,S., Rafique, A. C., Rashid, M, H, R., Muhamma, I., & Fahadiya, Y. R. (2012). Phyto-chemicalanalysis,anti-allergic and anti inflammatoryactivity of Mentha arvensis in animals. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. **6**(9):613 619
- 54.Favier, M. (2003). Des questions autour du e-learning, dans Caron-Fasan M-L., Lesca N. (Eds), Présent et Futurs des systèmes d'information, Presses Universitaires de Grenoble, pp. 111- 151.
- 55.Favier,A. (2006). Oxidative stress in humandiseases. *Ann.Pharm.Fr.* **64**: 390-396.
- 56.Foudil-Cherif, Y., 1991. Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'Eucalyptus globulus labill. Et camaldulensis. Thèse magister. U.S.T.H.B., Alger, 159p.

57. Galizra Ibtisséme. Formulation d'une crème hydratant à base de chitosane et l'étude de stabilité. Master. (2013). Université SAAD DAHLEB de Blida. 52p.
58. Girre, L. (1980). Connaître et reconnaître les plantes médicinales. Edition Ouest. France. 332p.
59. Govaerts, R., Sobral, M., Ashton, P., Barrie, F. Holst, B.K., Landrum, L.R., Matsumoto, K., Mazine F.F., Nic Lughadha, E., Proença, C., Soares-Silva, L.H., Wilson, P.G., & Lucas, E.J. (2008). World Checklist of Myrtaceae. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.
60. Haddouche, A., Kirad, L. (2018). Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers ». Master. Université d'Ain Defla (Algérie), 67p.
70. Hameurlaine, S. (2009). Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa. Ouargla, mémoire. 70p.
71. Hemwimon, S., Pavasant, P., Shotiprux A. (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Separation and Purification Technology, 54, 44-50
72. Hill, K.D., Johnson, L.A.S. (1995). Systematic studies in the eucalypts. A revision of the bloodwoods, genus *Corymbia* (Myrtaceae). Telopea 6, 185-504.
73. Howard, J. J., Taylor, P. J. A., & Ingold, K. U. (1964). Inhibited autoxidation of styrene. IV. Solvent effects. Can. J. Chem., (42, 1044).
74. Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. J Agric Food Chem, 53, 1841-1856.
75. Hubert, R. (1992). Epices et aromates. Edition Tec & Doc, Lavoisier, France. Initiation à la cosmétologie : Marie-Claude POELMAN. 1992. Ouvrage de 142p.
76. ISO 660 : 1999 (F). Corps gras d'origine animale et végétale : Détermination de l'indice d'acide et de l'acidité ; ISO 3960:1998 (F). Corps gras d'origine animale et végétale : Détermination de l'indice de peroxyde ; ISO 3596 : 2000 ; ISO 3657 : 2002.
77. Isman, M.B., Machial, C.M. (2006). Pesticides Based on Plant Essential Oils: From Traditional Practice to Commercialization. In: Rai, M. and Carpinella, M.C., Eds., Naturally Occurring Bioactive Compounds, 3, 29-44. [https://doi.org/10.1016/S1572-557X\(06\)03002-9](https://doi.org/10.1016/S1572-557X(06)03002-9). ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print). <http://ajol.info/index.php/ijbcs>;
78. JEULIN. (2024). Appareil de Clevenger .
79. Johnson, L.A.S. (1976). Problems of species and genera in *Eucalyptus* (Myrtaceae). Plant Systematics and Evolution 125, 155-167.
80. Joshi, Punam., Priya, Bhanu., & Gahlot Manoj. (2012). Fatty acid composition and physico-chemical properties of the oil extracted from root bark of *Vallaris solanace* (roth) kuntze. international research journal of pharmacy. ISSN 2230-8407
81. Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. France. 137 p.
82. Kahina K., Saidi S., 2016. Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de la forêt de Harouza, Mémoire de Master, Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
83. Kelen M., Tepe B., (2008). Chemical composition antioxidant and antimicrobial properties of essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. Bioresource Technology, 99: 4096-4104.

84. Keville, K., Green, M. (1995). *Aromatherapy: A complete guide to healing art*, Ed 1: THE CROSSING PRESS; p: 120-140.
85. Koala, Moumouni. (2015). *Etude des antioxydants d'ipomoeabatatas (patate douce à chair orange) : structures et propriétés biologiques*. Thèse. Option : Sciences et Technologies Spécialité : Chimie Organique – Chimie des Substances Naturelles. L'université d'Ouagadougou. 114p.
86. Koechlin, Ramonaxo.C. (2006). *Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires*. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20(4), 165-177
87. Koffi, K., Kokouvi, D., Elolo, O., Kossi, H., & Koumaglo. (2019). *Etude de quelques paramètres physicochimiques et analyse des éléments minéraux, des pigments chlorophylliens et caroténoïdes de l'huile de graines de Griffoniasimplicifolia*.
88. Konan, FK., Guessennnd, N., Oussou, K.R., & Bahi, C. (2014). *Effet antibactérien des produits secondaires des traitements des déchets végétaux aqueux de l'écorce de TerminaliaglaucescensPlanch ex Benth (Combretaceae) sur la croissance in vitro des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE)*, / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(3) : 1192-1201.
89. Kosi, M., Novidzro, K., Wokpor1, B., Amoussou, F., & Koziol, N. (2015). *Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus Radiata et de Corymbiacitriodora: qualité, efficacité et toxicité*. *Sciences pharmaceutiques*. Hal-01733789.
90. Kumar, K., Srivastav, S., Sharanagat, V S. (2021). *Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325.
91. Liang, N., Kitts, D.D. (2014). *Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action*. *Molecules*. 19(11): 19180-19208.
92. Licina, B.Z., Stefanovic, O.D., Vasic, S.M., Radojevic, I.D., Dekic, M.S., & Comic, L.R. (2013). *Biological activities of the extracts from wild growing Origanum vulgare L.* *Food Control*. 33: 498-504.
93. Lis-Balchin, M. (2006). *Aromatherapy science: A guide for health care professionals*. Pharmaceutical Press, Londres, Grande-Bretagne.
94. Lis-Balchin, M., Hart, S. L. (2000). *Pharmacological and antimicrobial studies on different tea-tree oils, originating in Australia and New Zealand*. *Phytotherapy Research*, vol.14, pp. 623-629.
95. López, N., Chicco, C. F., & Godoy, S. (2003). *Nutritive value of bran and defatted corn germ meal in swine feeding*. *Zootecnia Trop.*, 21 (3)
96. Louppe, D. (Ed.). (2008). *PROTA: Ressources végétales de l'Afrique tropicale*. Backhuys Publishers, Wageningen, Pays-Bas.
97. Lucchesi, M.E. (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes: Conception et Application à l'extraction des Huiles Essentielles*. Thèse de Doctorat en Science. Université de la REUNION. p: 14-23.
98. Lüllmann, H., Mohr K., & Ziegler, R.A. (1998). *Atlas de poche de pharmacologie*. 2^{ème} édition française, Flammarion Médecine-Sciences. 387P: 16,17
99. Melo, S. Priscilla. Melo., Ana P. Tiveron., Keityane, B. Bergamaschi., Thais, M. F. S. Vieira., Marisa A. B. Regitano-d'Arce., & Severino, M. Alencar. (2012). *Antioxidant Activity of Brazilian Vegetables and Its Relation with Phenolic Composition*. *International Journal of Molecular Sciences* 13, no. 7: 8943-8957. <https://doi.org/10.3390/ijms13078943>.
100. Merzougui, N., Ait yahia .A. (2023). *Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus sur quelques souches bactéries pathogène*. Master. Université Echahid Cheikh Laarbi Tébéssi –Tébessa. 32p.

101. Michel T. (2011). Nouvelles Méthodologies d'Extraction, de Fractionnement et d'Identification: Application aux Molécules Bioactives de l'Argousier (Hippophaë ramiflora). Thèse de Doctorat. Université D'Orléans, France, 288p.
102. Mnayer, D. (2014). Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat, chimie. l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. 142p.
103. Nkhili, E. (2009). Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant. Chapitre I. Thèse de doctorat, l'université de Cadi ayyad. 1-158. Nutrition. Nutrition 18: 872-879.
104. Olayinka, Jubril. A., Akolade, Olutayo., Olawumi, O., Michael, Olalekan A., Sarah, Abimbola A., Doyinsola, Idiat .I., & Abayomi, Theophilus. O. (2012) Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of Eucalyptus globulus grown in north-central Nigeria J.Nat. Prod. Plant Resour.
105. Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 49, 4619 – 4626.
106. Ozenda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara. Centre national de la recherche scientifique, p : 662.
107. Paolini J. (2005). Caractérisation des Huiles Essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE et IC) et RMN du Carbone-13 de Cistus albidus et de Deux Asteraceae Endémiques de Corse: Eupatorium cannabinum subsp. corsicum et Doronicum corsicum. Thèse de Doctorat. Université de Corse Pascal Paoli, France, 342p.
108. Perroti, C., Carrafa, N., & Aili, S. (1999). Soigner par les plantes, BERTIE dition. pharmacologique, analyse pharmaco-toxicologique de figuier (Ficus carica) et de coloquinte (Citrullus colocynthis) chez le rat Wistar. Thèse de doctorat. 75 p.
109. Pharmacopée Française. (1986). Edition : Paris, L'ADRAPHARM. 1 Volumes
110. Pico, Y. (2013). Ultrasound-assisted extraction for food and environment samples. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 43, 84-99
111. Pierron, Charles. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie gériatrie et soins palliatifs. Thèse de Doctorat. Université de LORRAINE. p 27.
112. Piochon, M. (2008). Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Thèse de doctorat en ressources renouvelables. Université du Québec: P7, 11, 17.
113. PPI. (2011). Les statistiques de l'industrie papetière française. Rapport Développement Durable.
114. Ralph, Jacob. (1979). Publie en 1954 sous le titre Les eucalyptus dans les reboisements (Etudes des forêts et des produits forestiers, N°11) p : 12-32-57-102-103-104. ReserchGate, 70-86.
115. Reguieg, L. (2011). "Using medicinal plants in Algeria." Am J Food Nutr 1.3 p 126-p127.
116. Rezzoug, S., A, Maache-Rezzoug, Z., Sannier, F. & Allaf, K. (2007). A thermomechanical preprocessing for pectin extraction from orange peel. Optimisation by response surface methodology. Publication soumise à : "International Journal of Food Engineering"
117. Rockwood, Donald L., Rudie, W Alan., Ralph, Sally., Zhu, J Y., & Winandy, E. Jerrold. (2008) Energy Product Options for Eucalyptus Species Grown as Short Rotation Woody Crops. Int. J. Mol. Sci. 9: 1361-1378. DOI: [10.3390/ijms9081361](https://doi.org/10.3390/ijms9081361)
118. Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (Eds.). (2009). Handbook of Pharmaceutical Excipients (6th ed.). Pharmaceutical Press.

119. Saad, N. Y., Muller C. D., & Lobstein, A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28, 269–279.
120. Sandrine, F. M. (2005). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Maerua angolensis* DC. (Capparidaceae). Thèse. Faculté de Médecine, de Pharmacie Et d'Odonto-Stomatologie, Bamako-Mali.
121. Schnitzler, P., Schon, K., & Reichling, J. (2001). Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture. *Die Pharmazie*. Avril. Vol. 56, n° 4, pp. 343-347. PMID:11338678.
122. Selvakumar, G., Reetha, S., Thamizhiniyan, P. (2012). Response of biofertilizers on growth, yield attributes and associated protein profiling changes of black gram (*Vigna mungo* L. Hepper). *World App Sci J* 16: 1368–1374.
123. Sharma, A. D., Farmaha, M., Kaur, I., & Singh, N. (2021). Phytochemical analysis using GC-FID, FPLC fingerprinting, antioxidant, antimicrobial, anti-inflammatory activities analysis of traditionally used *Eucalyptus globulus* essential oil. *Drug Analytical Research*, 5(1), 26-38.
124. Shayaa, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., Sukrakan, C. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research* 33, 7-15.
125. Sifi, Ibrahim. (2016). Activité Biologique et Analyse Chimique des Huiles Essentielles des Galles du Pistachier de l'Atlas. Thèse. Université Kasdi Merbah Ouargla. 152p.
126. Sijelmassi, A. (1991). Les plantes médicinales du Maroc. 2^{ème} ED, le feunec. 125p.
127. Silva, S. B., D. Ferreira, M. Pintado, B. Sarmento. (2015). Chitosan-based nanoparticles for rosmarinic acid ocular delivery - in vitro tests, *International Journal of Biological Macromolecules*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.070>
128. Simpson, M. G. (2010). *Plant Systematics*, Second Edition, Academic Press is an imprint of Elsevier. 428-432.
129. Sujana, P., Sridhar, T. M., Josthna, P., & Naidu, C. V. (2013). Antibacterial activity and phytochemical analysis of *Mentha piperita* L. (Peppermint) – an important multipurpose medicinal plant. *Am. J. Plant Sci*; 4:77–83. https://www.researchgate.net/.../318712690_Antibacterial_Activities
130. Sy, A. N., Diorfall, A., Ndiaye, M., Ndiaye, K., Gueye, R. S., Bassene, E., Dieye, A. M., & Sy, G. Y. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante des feuilles de *Moringa oleifera* Lam. (Moringaceae) du Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(4), 1816-1823. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i4.23>
131. Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A., & Sakata K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosc, Biotech, Biochem*. 58(10): 1780-1783.
132. Tolba, H. (2017). Extraction des huiles essentielles des plantes de la flore algérienne, Etude des effets thérapeutiques en vue d'une application pharmaceutique [ressource textuelle, sauf manuscrits]. Thèse. Université des sciences et de la technologie Houari Boumediène. 106p.
133. Trachootham, D., Zhang, H., Zhang, W., Feng, L., Du, M., Zhou, Y., Chen, Z., Pelicano, H., Plunkett, W., Wierda, W. G., Keating, M. J., & Huang, P. (2008). Effective elimination of fludarabine resistant CLL cells by PEITC through a redox-mediated mechanism. *Blood*, 112, 1912-22.
134. Van, P. L., Kayonga, A. (1977). Préparation des médicaments traditionnels par le guérisseur. *Etudes Rwandaises*, UNR-Butare (Rwanda), 10, 9-10.
135. VONDERWEID. 30/5/2022. « Extraction par ultrasons : découvrons ce que c'est et comment ça marche ». En ligne. <https://aloevonderweid.com/fr/nouvelles/extraction-par-ultrasons-decouvrons-ce-que-cest-et-comment-ca-marche/?cn-reloaded=1>. 2024.

136. Werner, Monika ., Braunschweig, Ruth.von. (2008). L'aromathérapie principes, indications, utilisations. Paris : Vigot. ISBN : 978-2-7114-1839-8. 334p.
137. Yahiaoui, S., Zouaoui, K.(2019). Etude des effets anti microbiennes et anti oxydants de l'huile essentielle de l'eucalyptus globulus. Master. Université A. M. OULHADJ - Bouira. 43p.
138. Yang, C., Kim, K.M., Rueness, J., & Boo, S.M.(2004). Morphology and Molecular Phylogeny of *Psilothallia dentata* (Ceramiaceae, Rhodophyta).
139. Zaika, L.L. (1988). Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination in Journal Food Safety, N°9, pp.97–118.
140. Zibouche, M., Grimes, C. (2016). Contribution à l'étude des flavonoïdes et de l'activité antioxydant de l'orge : *Hordeum vulgare*. Constantine. University des Frères Mentouri Constantine. P. 54.