



REBUPLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

جامعة سعد دحلب البليدة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Filière de Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des plantes

THEME

**Activité antioxydante des extraits des feuilles de l'*Eucalyptus*
« *Eucalyptus globulus L.* »**

Présenté par :

Date de soutenance : 15. 09. 21

MENMADALA Chaimaa

MERAH Soumia

Devant le jury :

BENDALI A	MAA	USDB	Président
GHANAI R	MCB	USDB	Promotrice
KADRI F	MCA	USDB	Examinatrice

Année universitaire : 2020 /2021

Remerciement

Avant tout nous remercions le bon dieu « Allah », le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour réaliser ce travail.

On voudra commencer par remercier très chaleureusement notre promotrice Mme **GHANAI R**, MCB au département de Biotechnologie de la faculté SNV de l'université Blida 1, pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordée durant notre épreuve, et de nous avoir accepté de diriger ce travail avec compétence, pour sa disponibilité, son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils.

Nous remercions les membres de jury, le Président Mr **BENDALI A**, et l'Examinatrice Mme **Kadri F**, qui ont bien voulu nous honorer par leur évaluation de ce mémoire.

On aimerait aussi remercier Mme **BOUCHAREB D**, pour nous avoir permis d'accéder à son laboratoire ainsi que pour sa contribution aux extractions des huiles essentielles.

Un très grand Merci à Mr **GHRIBI Y** pour sa disponibilité, ses conseils et son aide dans la réalisation de ce travail.

Nos remerciements s'étendent également à nos enseignants durant les années d'étude.

En terminant, on souhaite démontrer plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A l'aide du dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie

Je dédie humblement ce travail avec une grande fierté et comme geste de gratitude

Aux deux être les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance qui m'ont soutenu nuit et jours durant tout mon parcours.

A la mémoire de mon très cher papa **Nour Eddine** :

Vous resterez toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous aime tellement mon cher papa ; que dieu, le miséricordieux vous accueille dans son éternel paradis.

Ma très chère mère **Djahida** :

A la femme la plus merveilleuse au monde vous avez pris soin de moi, vous m'avez comblé d'amour et de tendresse, depuis naissance et c'est grâce à vous que j'ai pu devenir ce que je suis, je vous remercie, je vous aime Maman ; Puisse Dieu le tout puissant, vous accorde santé, bonheur, quiétude et vous protège de tous mal et vous garde pour moi.

A ma sœur unique **Chahrazed** et mes chers frères **Ahmed** et **Hamza** :

Je vous remercie pour votre amour, confiance, soutien, encouragement et pour votre disponibilité quand j'ai été besoin de vous, tous cela m'ont toujours été d'un grand secours, Je vous aime beaucoup ; En espérant que nous resterons toujours unis ; Que Dieu vous protège et vous garde à moi.

A toute ma famille

A mes amis : **Maroua** et **Chaima**

A mon binôme **Soumia**

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

CHAIMAA

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme ; mon précieux offre du dieu qui doit ma vie, ma réussite et tout on respect ; mon cher père

Mahfoud

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère

Fatiha.

A **Walid** et ma chère et unique sœur **Leila**, chez qui j'ai toujours trouvé la force d'aller de l'avant surtout pendant les moments les plus difficiles de ma vie, qu'elle trouve ici l'expression de ma gratitude et ma reconnaissance.

A mes chers frères **Yacine, Redha** et son épouse **Hamida** pour leur soutien et leur compréhension.

A toute ma famille pour leur encouragement.

A mes chers amies : **Samia** et **Soumia**.

A mon binôme **Chaimaa**, merci pour votre compréhension et votre patience d'avoir coopéré avec moi pour terminer ce travail.

SOUMIA

Résumé

Eucalyptus globulus est une plante très connue pour ses vertus thérapeutiques et assainissantes. Dans le but de mettre en valeur l'huile essentielle et l'hydrolat de ses feuilles, nous avons étudié ces propriétés physicochimiques puis l'évaluation de l'activité antioxydante. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger, les feuilles ont donnés un rendement de 1.1 %. Les résultats, d'analyses physicochimiques de l'huile essentielle sont différents par rapport à la norme AFNOR notamment l'indice de réfraction et la densité. L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, les résultats montrent que l'huile essentielle de l'*E.globulus* a le plus fort potentiel antioxydant avec une IC50 de 99.51 ug/ml. Tous ces résultats mettent en valeur les différentes applications thérapeutiques de cette plante dans la médecine traditionnelle et encourage la recherche de nouvelles molécules naturelles à caractère antioxydant dont le but de les investir dans les différentes industries : pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires,... etc.

Mots Clés : *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante, DPPH.

Abstract

Eucalyptus globulus is very famous for its therapeutics effects, so, in order to develop the use of essential oil and hydrosol of its leaves, we have studied their physicochemical properties and the evaluation of the antioxidant activity. The extraction of essential oils was realized by hydrodistillation with a Clevenger type apparatus, from the results obtained on the finding that the yield of essential oil is 1.1 %. The results of physicochemical analyzes of essential oil are different from the AFNOR standard, in particular the refractive index and density. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH free radical scavenging method, the results show that *E.globulus* essential oil has the strongest antioxidant potential with an IC50 of 99.51 ug / ml. All these results highlight the different therapeutic applications of this plant in traditional medicine and encourage the search for new natural molecules with antioxidant characteristic whose purpose is to invest in different industries: pharmaceuticals, cosmetics, food, etc.

Key Word: *Eucalyptus globulus*, essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity, DPPH.

ملخص

تعرف نبتة الكاليتوس بفوائدها الصحية و التطهيرية.يهدف ابراز الخصائص الفيزيوكيميائية و تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت الاساسي و المحلول العطري لنبات الكاليتوس. تم اجراء استخلاص الزيوت الاساسية بواسطة التقطير المائي، و قد توصلنا الى مردود يقدر ب 1.1 % . تختلف نتائج التحليلات الفيزيوكيميائية مقارنة معيار AFNOR لاسيما معامل الانكسار و الكثافة .تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة من خلال طريقة DPPH و اظهرت النتائج ان الزيت الاساسي للكاليتوس لديه امكانات مضادات الاكسدة قوية جدا حيث ان قيمة IC50 تقدر ب 99.51ug/ml. كل هذه النتائج تسلط الضوء على التطبيقات العلاجية المختلفة لهذه النبتة في الطب التقليدي و تشجع البحث في جزيئات طبيعية جديدة ذات طابع مضاد للأكسدة، و الهدف منها هو استثمارها في الصناعات المختلفة كالأدوية، مستحضرات التجميل، الغذاء و غيرها.

الكلمات المفتاحية : الكاليتوس، زيت اساسي، التقطير المائي، نشاط مضاد الاكسدة, DPPH

Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de Normalisation.
BHA	Hydroxyanisol butylé
BHT	Hydroxytoluène butylé
CAT	Catalase
DPPH	2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl
EOR/ROS	Espèces réactives de l'oxygène
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HE(s)	Huile(s) essentielle(s)
HO	Hydroxyle
HOCl	Acide hypochloreux
IC₅₀	Concentration inhibitrice de 50%
IR	Indice de réfraction
NO	Oxyde nitrique
O₂	Dioxygène
O₂⁻	Anions superoxyde
ONOO-	Peroxynitrite
PG	Gallate propylée
ROO	Peroxyde
SOD	Superoxyde dismutase
TBHQ	Tétrabutylhydroquinone

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Aspect morphologique de l' <i>Eucalyptus globulus</i> .	6
2	Biogenèse des terpènes.	10
3	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile.	12
4	Balance radicaux libres /antioxydants.	16
5	Forme libre et réduite du DPPH.	18
6	Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	19
7	Situation géographique de la Wilaya de Blida.	20
8	Structure chimique du DPPH* et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.	24
9	Teneur en eau de l' <i>E.globulus</i> .	26
10	Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE, hydrolat et la Vit C.	29
11	Histogramme des valeurs d'IC50 de l'HE, hydrolat et la Vit C.	29
12	Dispositif d'extraction par hydrodistillation.	Annexe I
13	Spectrophotomètre.	Annexe I
14	Réfractomètre.	Annexe I

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Classification phylogénétique APG III.	4
2	Caractéristiques de l'HE de l' <i>E. globulus</i> selon la norme AFNOR NFT 7.	27
3	Tableau récapitulatif des analyses physico-chimiques de l' <i>E. globulus</i> .	28
4	Les résultats de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE, hydrolat et la Vit C.	Annexe II
5	Les valeurs d'IC50 de l'HE, hydrolat et la Vit C.	Annexe II
6	Rendement en huile essentielle dans la matière sèche et fraîche.	Annexe III

Table des matières

Introduction	1
--------------------	---

Partie I : Etude Bibliographique

Chapitre 1 : *Eucalyptus globulus*

1.1. La famille des <i>Myrtaceae</i>	3
1.2. <i>Eucalyptus globulus</i>	3
1.2.1. Origine et habitat	3
1.2.2. Etymologie et Position systématique	4
1.2.3. Description botanique de la plante	4
1.2.4. Exigences pédoclimatiques	7
1.2.5. Composition chimique de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	7
1.2.6. Propriétés thérapeutiques d' <i>Eucalyptus globulus</i>	7

Chapitre 2 : Huiles essentielles et hydrolats

2.1. Huiles essentielles	8
2.1.1. Définitions	8
2.1.2. Répartition des huiles essentielles dans la plante	8
2.1.3. Rôle des huiles essentielles	8
2.1.4. Composition chimique	9
2.1.4.1. Composés terpéniques	9
2.1.4.2. Composés aromatiques dérivés du phenylpropane	10
2.1.5. Propriétés physicochimiques	11
2.1.6. Méthodes d'extraction	11
• Hydrodistillation	11
2.1.7. Conservation	12
2.1.8. Toxicité	13
2.1.9. Domaines d'utilisations des huiles essentielles	13
2.1.10. Activités biologiques des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	13
2.1.10.1. Activité antioxydante	13
2.1.10.2. Activité antibactérienne et antifongique	14
2.1.10.3. Activité insecticide	14
2.2. Les hydrolats	14
2.2.1. Définition	14
2.2.2. Composition chimique	14

Chapitre 3 : Activité antioxydante

3. Activité antioxydante	15
3.1. Généralités	15

3.2. Stress antioxydant	15
3.3. Les radicaux libres	16
3.4. Les antioxydants	16
3.4.1. Les antioxydants d'origine naturels	16
3.4.2. Les antioxydants enzymatiques	17
3.4.3. Les antioxydants non enzymatiques	17
3.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante	17

Partie II : Etude Expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

1.1. Matériels	19
1.1.1. Matériel végétal	19
1.1.1.1. Présentation de la localité de récolte	20
1.1.1.2. Récolte des échantillons	20
1.1.2. Matériel non biologique	20
1.2. Méthodes d'étude	20
1.2.1. Détermination de la teneur en eau	20
1.2.2. Extraction des huiles essentielles	21
1.2.3. Détermination du rendement en huile essentielle	22
1.2.4. Propriétés physicochimiques	22
1.2.4.1. Indice de réfraction	22
1.2.4.2. Densité relative à 20°C	23
1.2.5. Etude de pouvoir antioxydant de l'huile essentielle et l'hydrolat	23
1.2.5.1. Principe	23
1.2.5.2. Mode opératoire	24
1.2.5.3. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50	24

Chapitre 2 : Résultats et discussions

2.1. Teneur en eau	26
2.2. Rendement en huiles essentielles	26
2.3. Détermination des indices physicochimiques	27
2.3.1. Indice de réfraction	27
2.3.2. Densité	28
2.4. Activité antioxydante	28
2.4.1. Détermination d'IC50	28
Conclusion	31
Références	32

Annexes

INRODUCTION

Depuis des milliers d'années les ressources végétales constituent une source d'intérêt primordial pour l'homme et ses besoins. Elles continuent d'être un moyen thérapeutique utilisé dans le monde entier (Cardoso *et al*, 2019) car elles représentent une ressource de composés actifs. En effet les métabolites secondaires restent l'objet de nombreuses recherches *in vivo* et *in vitro*, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels (Hazzit, 2015).

L'Algérie, grâce à sa situation géographique, son relief, sa grande variété de climats et sols, possède une flore riche et diversifiée dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts plateaux, le steppe et oasis sahariennes, renfermant plus de 3000 espèces végétales (Saad *et al*, 2005). Elle est considérée comme un pays riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques, organoleptiques et odorantes (Quézel & Santa, 1963). Ces plantes aromatiques sont à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines...) qui se présentent presque souvent comme des mélanges complexes dont il convient d'analyser la composition avant leur éventuelle valorisation (Bouhaddouda, 2016).

Dans le but de valoriser les extraits des plantes médicinales nationales, nous nous sommes intéressés à évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat d'une plante aromatique de la région de Blida très utilisée en médecine traditionnelle :

Eucalyptus globulus est une espèce appartenant à la famille des Myrtacées, elle est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre la grippe, la toux, la sinusite, la bronchite et la rhinopharyngite et notamment comme anti-inflammatoire. Des études récentes soulignent des propriétés antioxydantes de ces huiles essentielles (Bouras , 2018).

Les huiles essentielles représentent une source de molécules bioactives et font l'objet de nombreuses études pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (Laib & Barkat, 2011). Le recours à ces huiles s'avère être un choix pertinent comme agents de conservation à la place des conservateurs synthétiques. Ceci nous a amené à étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'*Eucalyptus*

globulus. Le rôle de ces essences comme antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires et cardiovasculaires ; elles sont également utilisées comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique (Houbairi et al, 2015).

Cette étude s'intéresse à l'évaluation du pouvoir réducteur du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) des huiles essentielles issues de l'*Eucalyptus globulus*.

Dans la partie recherche bibliographique de ce manuscrit, nous avons commencé par la description de la plante et de ses propriétés biologiques tout en rappelant les travaux antérieurs réalisés sur le *E. globulus*. Ensuite, nous avons procédé à donner des informations sur les huiles essentielles, leur extraction, leur composition, ainsi que leur propriétés. En dernier lieu, nous avons évoqué quelques généralités sur l'activité antioxydante.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres distincts:

- Le premier chapitre illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction, la détermination des propriétés physico-chimiques et l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*E. globulus* (huile essentielle et l'hydrolat).
 - Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de leur interprétation.
- Enfin, nous avons terminé par une conclusion générale avec quelques perspectives.

Partie I
Etude
Bibliographique

CHAPITRE 1

EUCALYPTUS GLOBULUS

1.1. La famille des *Myrtaceae*

La famille de *Myrtaceae* – Myrtacées est une famille de plantes dicotylédones. Les Myrtacées sont réparties en environ 130 genres pour environ 3000 espèces. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles de Pacifique. Dans cette famille, on peut citer les genres : *Eucalyptus*, *Psidium* dont fait partie le goyavier, *Myrtus* dont fait partie le myrte (arbuste du maquis méditerranéen), *Eugenia* dont le giroflier (*Eugenia caryophyllata*) qui donne le clou de girofle. On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres *Feijoa*, *Eugenia*, *Campomanesia*). (Bruneton, 1999).

1.2. *Eucalyptus globulus*

1.2.1. Origine et habitat

Les eucalyptus sont de grands arbres originaires de Tasmanie et de Nouvelle-Guinée en Australie et des Îles de la sonde où ils constituent presque la totalité de la couverture forestière (Vilmorin, 2003).

L'*Eucalyptus globulus*, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert en 1792 par le botaniste français Jacques-Julien Houtou de La Billardière.

Ferdinand von Mueller (1825-1896), directeur du jardin botanique de Melbourne, en Australie, a été le premier à le décrire. Il a été introduit en France en 1804 à la commune de Malmaison (région de Picardie) (Lardry & Haberkorn, 2007).

L'eucalyptus fut rapidement planté dans les régions subtropicales d'Afrique et d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) (Wichtl & Anton, 2003). Elle est acclimatée également dans le bassin méditerranéen, en France méridionale, en Espagne, au Portugal, en Italie et en Amérique (Boukhatem et al, 2017; Leicach et al, 2012; Brooker & Kleinig, 2004).

Son introduction en Algérie a été en 1856 par Ramel qui l'importe d'Australie dans le but d'assainir les régions marécageuses, cet arbre aimant les régions humides. Depuis, on le trouve sur tout le littoral algérien et marocain (Delille, 2007).

1.2.2. Etymologie et Position systématique

Le nom *Eucalyptus* a pour origine les mots grecs : EU « bien » et Kalyptos « je recouvre », allusion au couvercle du bouton floral qui a pour fonction de recouvrir les étamines (Ait Youssef, 2006). Selon Grunwald & Janicke (2006), le nom *globulus* est dû à la forme de l'opercule du fruit et il est également appelé « Gommier » en raison de la gomme résineuse rouge exsudée lors de sa blessure, quant à son nom « Arbre à fièvre », il témoigne de ses puissantes propriétés médicinales.

Selon plusieurs auteurs l'*Eucalyptus* présente plusieurs noms vernaculaires : en français : eucalyptus officinal ; gommier bleu ; arbre à la fièvre, arbre au koala (Ait Youssef, 2006) ; en arabe : Kafor, Calibtous, Calitous (Delille, 2007) ; et en anglais : Tasmanian blue gum et Australien fever tree (Franz et al, 2005).

Selon l'APG III la classification botanique de l'espèce *Eucalyptus* est la suivante :

Tableau 1 : Classification phylogénétique APG III.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Super division	<i>Spermatophyta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida-Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtaceae</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill

1.2.3. Description botanique de la plante

Les *Eucalyptus* (Fig.1a) sont de grands arbres dont certains peuvent dépasser 100 m de hauteur, mais la moyenne des espèces les plus courantes est de 40 à 50 m, d'autres ont des dimensions plus faibles (Traore, et al., 2013).

Le tronc comprend une écorce à la base foncée et rugueuse (Fig.1e).

L'*Eucalyptus globulus* porte des feuilles persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux : les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges, courtes, avec un vrai limbe nervuré. Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques,

falciformes, longues de 12 à 30 cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement (Fig.1b) (Goetz & Ghedira, 2012).

Les fleurs naissent à l'aisselle des feuilles et sont de couleur blanc crème (Fig.1b.1c).

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) (Fig.1d) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Fig. 1f) (Goetz & Ghedira, 2012).

L'*Eucalyptus* est connu pour leur capacité à coloniser des terrains nus ou dévastés à cause de leurs graines très nombreuses.

Toutes parties vertes de la plante renferment de petites poches qui sécrètent une huile aromatique d'une odeur balsamique, camphrée, forte et très agréable. Sa saveur chaude, un peu amère, est suivie d'une sensation de fraîcheur (Delille, 2007).

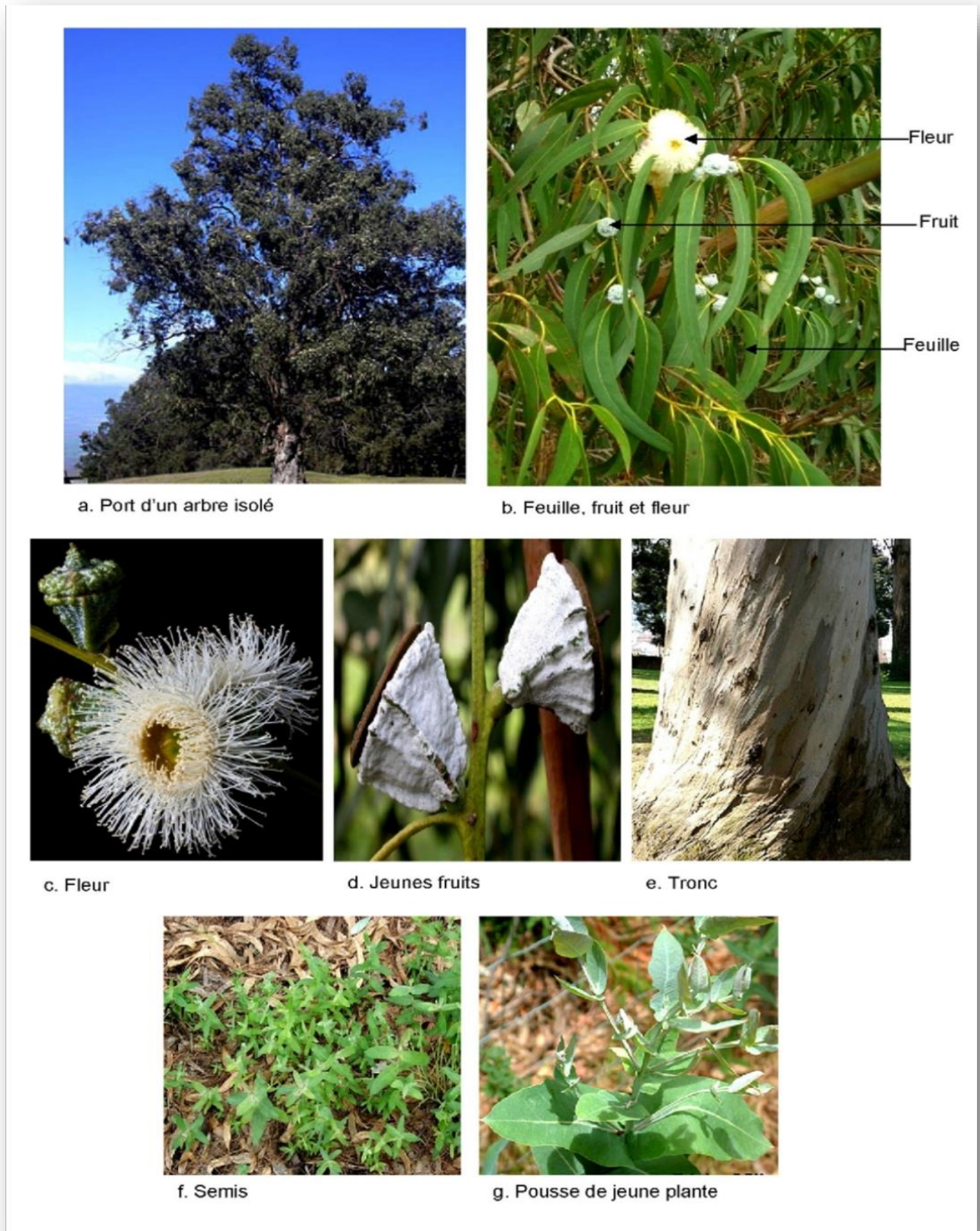


Figure 1 : Aspect morphologique de l'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem et al, 2017).

1.2.4. Exigences pédoclimatiques

E. globulus est une espèce peu exigeante vis-à-vis du milieu, c'est un arbre qui pousse mieux sur de sols profonds, sablo-argileux et doit être planté de préférence dans les sols humides avec un pH de 5 – 7, il faut cependant éviter les sols asphyxiants très calcaires ou alcalins (Vaughan, 2008).

1.2.5. Composition chimique de l'*Eucalyptus globulus*

D'après certains auteurs (Valnet, 1984; Vilela et al, 2009), les feuilles d'*Eucalyptus globulus* renferment des flavonoïdes, des composés phénoliques, et terpéniques (2 à 4 % de triterpène), des tanins et une résine amère. Selon provenance, les feuilles contiennent en moyenne 1 à 3 % d'huile volatile dont le principal constituant est l'eucalyptol (1,8 cinéol) avec une teneur qui varie de 70 à 80 % (Brand, 1993).

1.2.6. Propriétés thérapeutiques d'*Eucalyptus globulus*

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont la principale source d'HE d'eucalyptus dans le monde. Utilisée pour ses vertus médicinales, notamment antitussives et expectorantes, elle n'en a pas moins des propriétés fébrifuges, toniques, astringentes, antiseptiques, hémostatiques et vermifuges (Martinetti, 2013).

Cette plante déjà utilisée par les Aborigènes d'Australie pour traiter la fièvre et les infections (Hans W, 2007).

CHAPITRE 2

HUILES

ESSENTIELLES

ET

HYDROLATS

1.1. Huiles essentielles

1.1.1. Définitions

Une huile essentielle, ou parfois essence végétale (latin : *essentia*, «nature d'une chose») est un liquide concentré en substances et molécules issues du métabolisme végétal (terpénoïdes et molécules aromatiques) (Soualeh & Soulimani, 2016).

Les huiles essentielles sont des liquides, volatils, limpides et colorés, elles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques qui ont une densité inférieure à l'eau (Bouyahya et al, 2017).

Selon la norme AFNOR NF T 75-006, l'huile essentielle est défini comme suit : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de *citrus*, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000).

1.1.2. Répartition des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées (Farhat, 2010).

Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiécées, Composées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent situées à la périphérie des organes extérieurs de la plante (Bruneton, 1999).

Divers organes sont utilisés en vue de l'obtention d'huiles essentielles : fleurs (oranger, lavande, rose, origan...), feuilles (eucalyptus, ...), écorce (cannelier), bois (bios de rose), rhizomes (acore), fruits (badiane), ou grain (carvi) (Kaloustian & Hadji-Minaglou, 2012).

1.1.3. Rôle des huiles essentielles

Les plantes aromatiques produisent des huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante reste inconnu (Rai et al, 2003 ; Maidi, 2013).

Les huiles essentielles jouent un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs. Elles jouent un rôle attractif ou répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes, micro-organismes) (Capon et al, 1990; Guignard, 2000; Brahimi, 2018).

Certains auteurs (Belaiche, 1979 ; Brahim, 2018), considèrent les huiles essentielles comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques.

1.1.4. Composition chimique

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe. On y trouve généralement de nombreux constituants. Ceux-ci appartiennent principalement à deux grands groupes chimiques : les composés terpéniques, les composés aromatiques dérivés du phenylpropane.

Les huiles essentielles peuvent également renfermer divers produits issus de dégradation de composés non aromatiques (Hurabielle & Paris, 1981; Bruneton, 1999; Boukhalfoun, 2012).

1.1.4.1. Composés terpéniques :

Ils sont formés d'unités isopréniques (en C5) et comprennent : les mono terpènes (C10), les sesquiterpènes (C15), les di terpènes (C20) et les triterpènes (C30).

La biosynthèse des terpenoides implique l'addition de l'unité isoprène avec son isomère pour former le geranyl di phosphate (C10), précurseur des monoterpènes ; condensé avec une autre unité isopentenyl pyrophosphate forment le di phosphate de farnesyle (C15) à l'origine des sesquiterpènes (Figure 2).

Les précurseurs parentaux compte tenu de la modification structurale par l'oxydation, la réduction, l'isomérisation, et/ou d'autres transformations donnent une variété de terpenoides (Hurabielle & Paris, 1981; Dubey et al, 2003; Boukhalfoun, 2012).

Les mono et sesquiterpènes sont les composants principaux des huiles essentielles, ils peuvent être acycliques (myrcènes), monocycliques (limonène), bicycliques (pinène, camphène), tricyclique, ect (Guignard, 2000).

A côté des hydrocarbures, on rencontre des dérivés oxygénés divers : alcools, aldéhydes, époxy, cétones, acides (Hurabielle & Paris, 1981; Guignard, 2000).

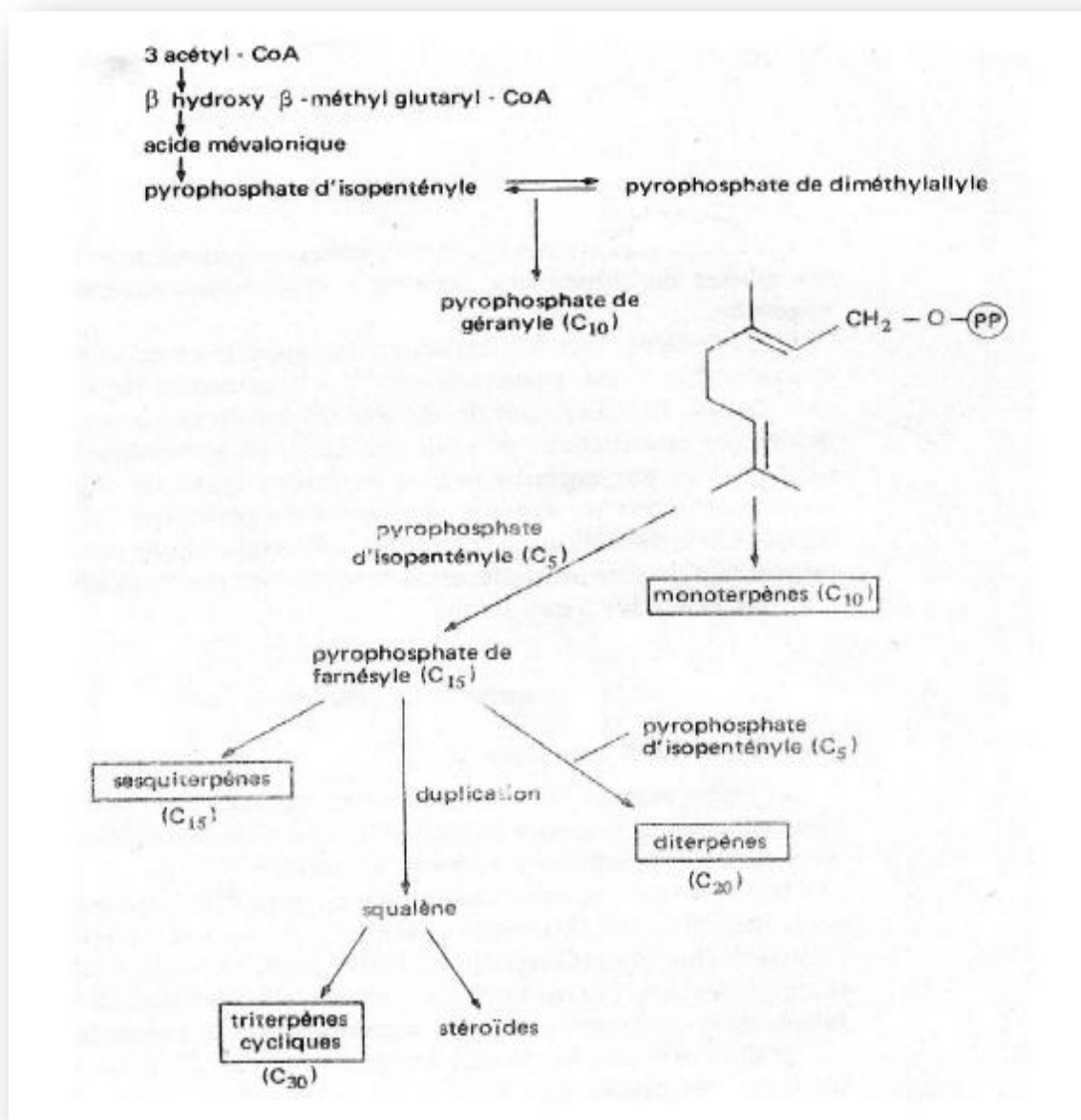


Figure 2 : Biogenèse des terpènes (Hurabielle & Paris, 1981).

1.1.4.2. Composés aromatiques dérivés du phenylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés « phenyl propanoïdes ». Leur biogenèse conduit à l'acide prephenique précurseur de phénylalanine, de la tyrosine et d'autres composés naturels ; certains possèdent, dans leur chaîne latérale, une liaison éthylénique : exemple dérivés de l'acide et de l'aldéhyde cinnamiques ; d'autres sont porteurs de groupements OH ou OCH₃ sur le cycle aromatique, d'autres à structure en C₆-C₁. (Hurabielle & Paris, 1981; Guignard, 2000).

1.1.5. Propriétés physico-chimiques

Toutes les huiles essentielles sont volatiles (leur volatilité permet la diffusion atmosphérique et les inhalations sèches ou humides), odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Elles sont insolubles dans l'eau, solubles dans l'alcool donc se mélangent facilement à un gel hydro-alcoolique ou à une solution alcoolique (parfums), et leur solubilité dans les corps gras permet de les utiliser pour préparer des huiles de massage, des laits corporels et des crèmes (Millet, 2013). Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (Jacques & Paltz, 1997; Touami, 2016).

1.1.6. Méthodes d'extraction

Depuis les temps les plus reculés, les hommes se sont ingénies à trouver des techniques d'extraction des essences des plantes afin de pouvoir les utiliser pour en faire des médicaments, des cosmétiques, des parfums (Padrini & Lucheroni, 1996; Bekhechi & Abdelouahid, 2014). Parmi les nombreux procédés et techniques d'extractions des huiles essentielles, nous citons :

- **Hydrodistillation**

Cette méthode consiste à immerger la plante aromatique dans un volume d'eau. On porte le mélange à ébullition (à une température inférieure à 100°C), puis les vapeurs qu'il dégage sont condensées (Figure 3). L'huile essentielle est récupérée à la surface de l'eau aromatique (ou phase aqueuse) ainsi obtenue. Les phénomènes d'hydrolyse sont nombreux (Millet, 2013).

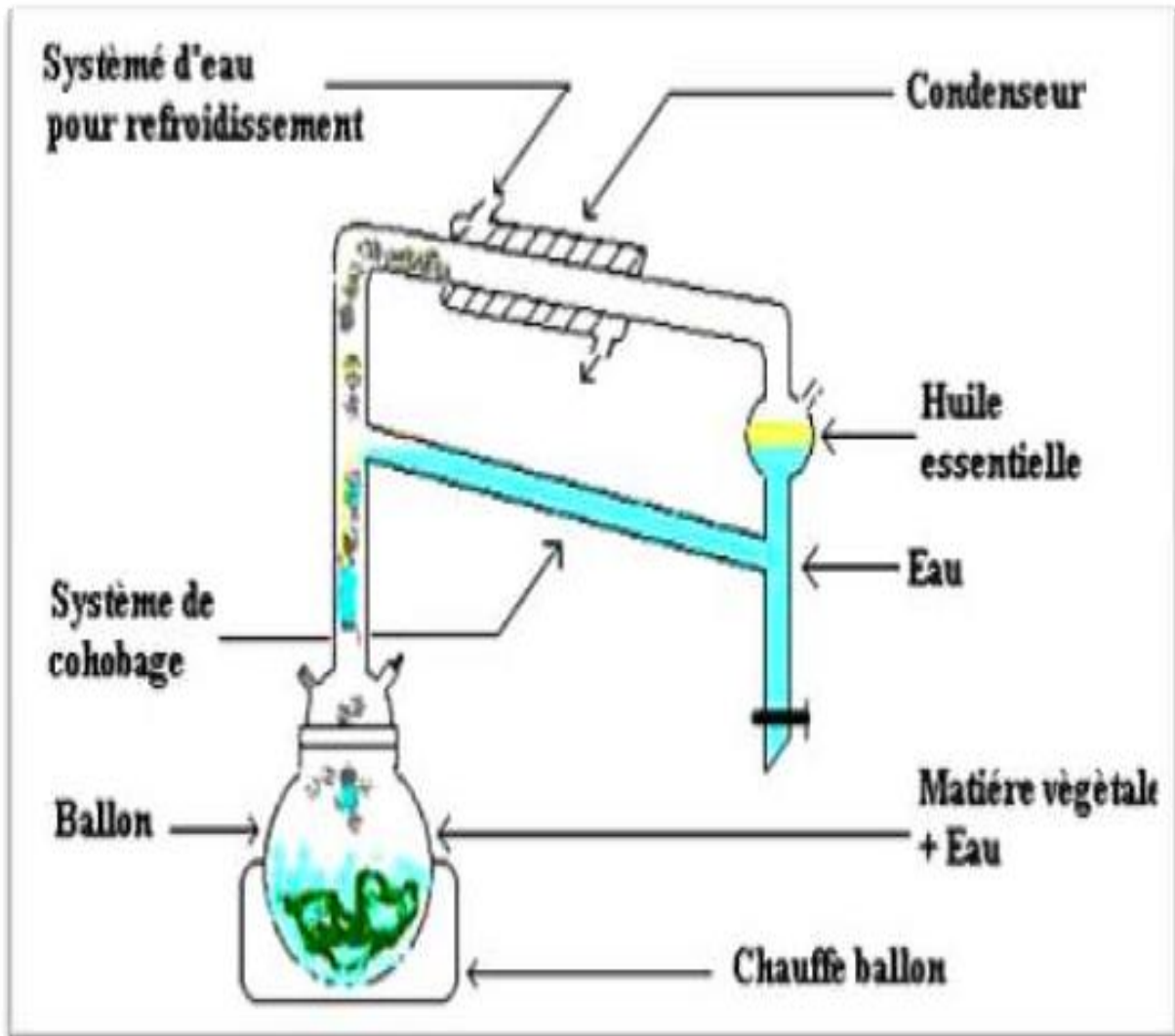


Figure 3 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Clevenger, 1928; Nait Slimane & Zaddi, 2011).

1.1.7. Conservation

Les huiles essentielles sont des substances très délicates, et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples : photoisomérisation, photocyclisation, coupure oxydative de propénylphénols, peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène) (Bruneton, 1999).

Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (Bruneton, 1999; Valnet, 2000; Bekhechi & Abdelouahid, 2014).

1.1.8. Toxicité

Plusieurs huiles essentielles sont connus pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à cis-anéthol qui provoque des convulsions à forte dose ; on connaît aussi la neurotoxicité des huiles essentielles à thyones ou à pinocamphone (ces huiles induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, etc.) (Bruneton, 1999).

Certaines essences, à un dosage élevé sont considérées comme légèrement toxiques pour des sujets sensibles : Camphre, thym, eucalyptus, romarin, ... (Padrini & Lucheroni, 1996).

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité (Lambert et al, 2001).

1.1.9. Domaines d'utilisations des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées en parfumerie et cosmétologie (dans les crèmes et les gels), comme antimicrobiens et antioxydants, tout en leur assurant leur odeur agréable (Maruzzella & Tirpak, 1962; Vargas et al, 1999). Aussi, en industrie alimentaire, comme conservateur (contre la prolifération des micro-organismes) et exhausteur d'arôme naturel (Lis-Balchin et al, 1998; Lachowicz et al, 1998). En effet, les huiles essentielles ont un champ d'action très large, elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des levures et des moisissures l'effet biologique a souvent été trouvé supérieur à celui de plusieurs fongicides du commerce (Singh, Dikshit & Dixit, 1983; Bekhechi & Abdelouahid, 2014). Les essences d'eucalyptus qui, à cause de leur volatilité, favorisent l'expectoration et sont de ce fait, indiquées dans les bronchites chroniques (Duquenois, 1968; Bekhechi & Abdelouahid, 2014).

1.1.10. Activités biologiques des huiles essentielles d'*E. globulus*

1.1.10.1. Activité antioxydante

Les huiles essentielles sont considérées comme des ressources potentielles de molécules bioactives naturelles, qui ont été étudiées pour leurs propriétés anti oxydantes. Les composés phénoliques, comme le thymol, la carvacrol et l'eugénol font partie des molécules des HE présentant les plus fortes activités anti oxydantes ainsi que d'autres composés qui contribuent à cette activité tels que les monoterpènes alcools, cétones, aldéhydes, hydrocarbures et éthers

(Gabriel et al, 2013). Selon Noumi et al (2011) l'*E.globulus* a une forte activité antioxydante de par sa composition riche en 1,8-cinéole.

1.1.10.2. Activité antibactérienne et antifongique

Djenane et al (2011) ont démontré l'efficacité des huiles essentielles d'*E. globulus* comme agent naturel de la conservation des aliments grâce à son effet antibactérien sur de nombreux micro-organismes, telles que les salmonelles avec des essais réussis de conservation des œufs entiers liquides. L'huile essentielle de *E. globulus* (100%) est également efficace contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Raho, Benali, & Benali, 2009).

En outre, une très forte sensibilité des levures aux huiles essentielles des feuilles d'*E. globulus* a été notée avec une concentration minimale inhibitrice de 1,13 à 2,25 mg/ml sur la flore bactérienne (Tyagi & Malik, 2011).

1.1.10.3. Activité insecticide

La présence de 1,8-cinéole confère aussi des propriétés répulsives, insecticides et parasitocides, notamment contre les poux, à l'HE d'*Eucalyptus globulus* (Yang et al, 2004; Toloza et al, 2010). Elle peut être employée en diffusion pour éloigner les moustiques en été, bien que l'HE d'*Eucalyptus citriodora* soit beaucoup plus efficace dans cette indication (Batish et al, 2008).

1.2. Les hydrolats

1.2.1. Définition

La distillation à la vapeur d'eau des plantes aromatiques permet l'obtention des HE et un sous-produit est composé de vapeur chargée de molécules aromatiques beaucoup plus solubles que celles d'huile essentielle, ce produit est l'hydrolat ou eaux florales. Ces dernières correspondent à la vapeur d'eau condensée (Millet, 2013).

1.2.2. Composition chimique

Les hydrolats contiennent en petite quantité des composés volatiles semblables à ceux présents dans l'huile essentielle ainsi que des composés solubles dans l'eau non retrouvés dans l'huile. La composition des hydrolats s'éloigne donc de celle des huiles : les molécules oxygénées hydrophiles s'y trouvent en grandes quantités alors que les composés lipophiles comme les hydrocarbures terpéniques sont la plupart du temps quasi absents (Price & Price, 2004).

CHAPITRE 3
ACTIVITE
ANTIOXYDANTE

2. Activité antioxydante

3.1. Généralités

Les domaines de l'industrie alimentaire et cosmétique connaissent de vrais problèmes à cause de l'utilisation des produits qui protègent contre l'oxydation. Ceci implique l'ajout des antioxydants synthétiques dans la formulation des produits alimentaires qui peut prévenir ou ralentir le processus d'oxydation. Les antioxydants synthétiques tels que hydroxyanisol butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT), sont assez volatils et se décomposent rapidement à des températures élevées en plus de sérieux problèmes dus à leur toxicité (Lindenschmidt et al, 1986; Brahim, 2018). La combustion de nutriments dans nos cellules corporelles est également un processus de décomposition de ces substances, nécessitant pour cela de l'oxygène et produisant de l'énergie (chaleur). Il s'agit ici d'une oxydation souhaitée.

Par contre, l'oxygène est responsable d'un nombre de processus d'oxydation suivi de mauvaises conséquences comme le stress oxydatif, la détérioration des molécules de la qualité des aliments ainsi que le désordre de la santé humaine qui est relié à l'oxydation des molécules biologiques et à l'apparition des « radicaux libres » (Garcia-Plazaola & Becerril, 1999; Brahim, 2018). Il est alors recommandé de trouver des antioxydants naturels qui minimisent ces dégâts.

3.2. Stress antioxydant

Le stress oxydatif réfère à un déséquilibre entre la génération de radicaux libres et la capacité de corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd et al, 2003; Loukhaoukha, 2019). Il correspond aussi à une perturbation dans la balance métabolique du statut oxydatif intracellulaire (Morel & Barouki, 1999). Dans les systèmes vivants, une production physiologique de radicaux libres se fait de manière continue. Dans des conditions pathologiques ou provoquées par des facteurs exogènes, une surproduction de ces réactifs est possible (Figure 4). Ce sont les antioxydants qui peuvent empêcher les dégâts cellulaires causées par les radicaux libres de l'oxygène (Valko et al, 2007).

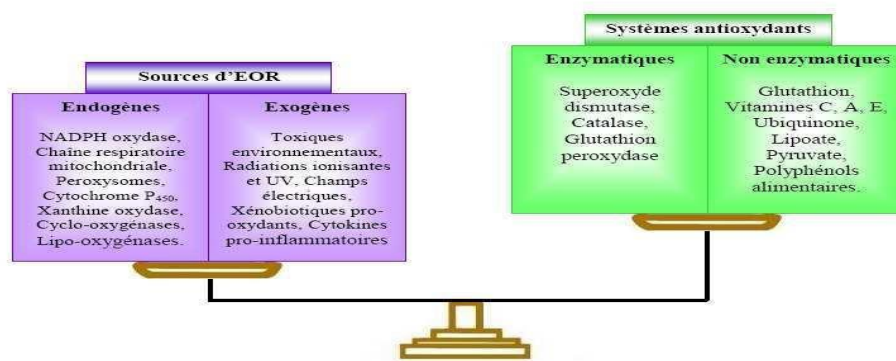


Figure 4 : Balance radicaux libres /antioxydants (Shimizu, 2004).

3.3. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des composés très réactifs comportant un électron célibataire et nécessaire à des mécanismes vitaux. Ils favorisent habituellement le bon fonctionnement de l'organisme (Bartosz, 2003; Brahim, 2018), mais, ils deviennent nocifs quand ils sont en excès et induisent certains dommages au niveau de la structure des protéines, des lipides et des acides nucléiques (Pourrut, 2008). En entraînant un stress oxydant qui contribue aux processus de vieillissement cellulaire accéléré et au développement de pathologies humaines telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, l'artériosclérose, ils auront un effet visible sur le vieillissement de la peau. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs libres est souvent appelé « espèces réactives de l'oxygène » (EOR). Cette appellation inclut les radicaux libres et certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le peroxy-nitrite (ONOO⁻) (Favier, 2003; Negre-Salvayre, 2005).

3.4. Les antioxydants

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, à faibles concentrations en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels (Pourrut, 2008).

3.4.1. Les antioxydants d'origine naturels

Ils peuvent se comporter comme des piègeurs des radicaux libres. Du fait de leur petite taille, ils peuvent en effet pénétrer facilement au cœur des cellules et se localiser à proximité des cibles biologiques. Ce type d'antioxydants regroupe un grand nombre de

substances hydrophiles ou lipophiles et ils sont en partie produits par l'organisme au cours de processus biosynthétiques. Les antioxydants naturels les plus connus et les plus importants comprennent majoritairement l'acide ascorbique (vitamine C) et la vitamine E (Tocophérols), les caroténoïdes et des composés phénoliques (McCall & Frei, 1999; Leopoldini et al, 2011).

3.4.2. Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques s'agissent principalement de trois enzymes, la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du O₂⁻ et du H₂O₂, conduisant finalement à la formation de l'eau et de l'oxygène moléculaire (Lehucher-Michel et al, 2001; Touami, 2016).

3.4.3. Les antioxydants non enzymatiques

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart de ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie d'antioxydant nous retrouvons les oligoéléments, la glutathion réduit (GSH), les vitamines E et C et les polyphénols. Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tétrabutylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisée parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels (Lisu et al, 2003; Touami, 2016).

3.5. Méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Plusieurs méthodes sont disponibles pour mesurer l'activité antioxydante des aliments et les systèmes biologiques (Ali et al, 2008; Scherer & Godoy, 2009). Elles peuvent être classées en deux groupes selon deux mécanismes : soit par le transfert d'atome d'hydrogène, soit par le transfert d'un simple électron (Sanchez-Moreno, 2002; Huang et al, 2005). Les techniques du premier groupe sont employées pour évaluer la peroxydation lipidique en utilisant un substrat lipidique ou lipoprotéique. La quantification de cette propriété est exprimée par la mesure du degré d'inhibition de l'oxydation (Sanchez-Moreno & Larrauri, 1998). Alors que, les méthodes du deuxième groupe sont celles qui interviennent dans la mesure de l'habilité du piégeage des radicaux libres. Elles comportent le balayage du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂),

de l'acide hypochloreux (HOCl), de l'hydroxyle (HO), des anions superoxyde (O_2^-), du peroxyde (ROO) et de l'oxyde nitrique (NO) (Sanchez-Moreno, 2002). Parmi ces techniques, nous citons : La méthode du radical DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle) (Brand-Williams et al, 1995; Brahimi, 2018). Le DPPH est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517 nm. En présence d'un antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration du DPPH du violet (forme radicalaire DPPH \cdot) au jaune (forme réduite DPPH-H) (Figures 5). Cette décoloration représente donc la capacité de l'échantillon à piéger ce radical.

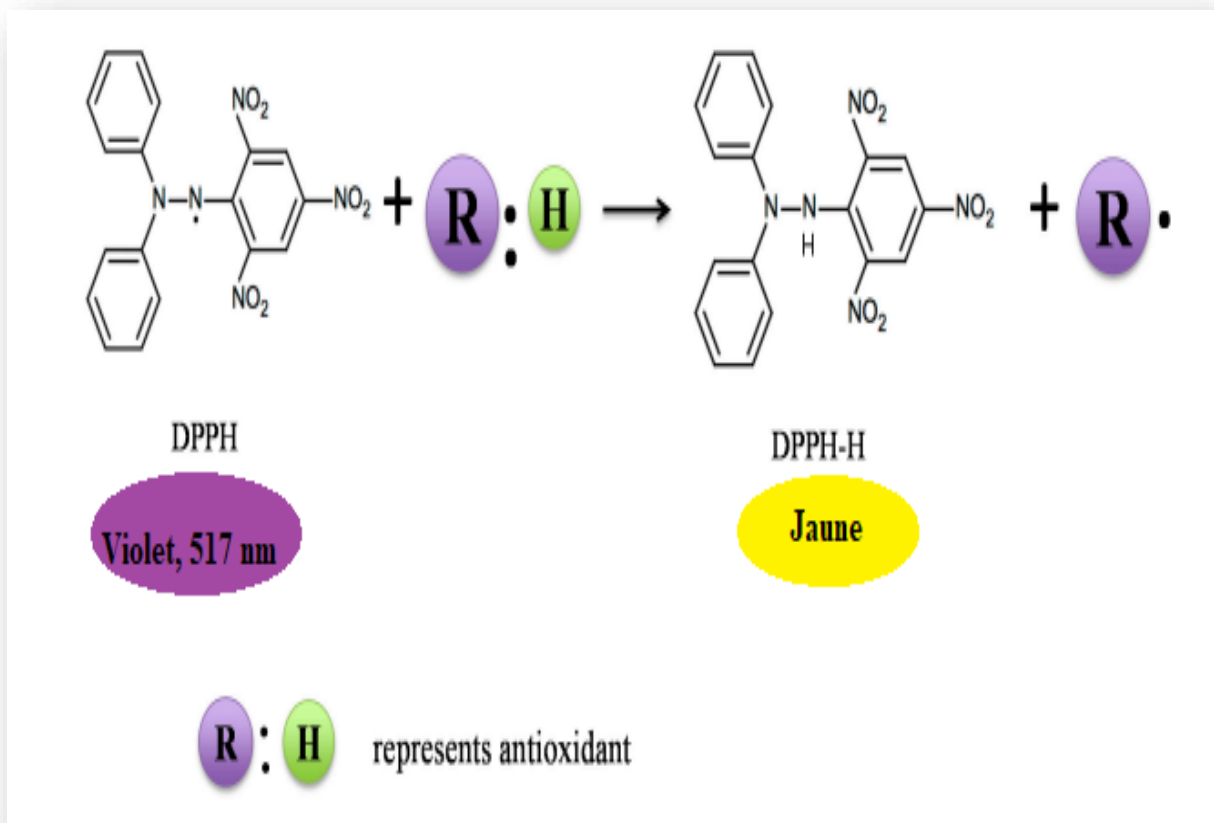


Figure 5 : Forme libre et réduite du DPPH (Liang & Kitts, 2014).

Partie II

Etude

Expérimentale

CHAPITRE 1
MATERIELS
ET
METHODES

Notre travail consiste à l'étude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles d'*Eucalyptus globulus* provenant de la région de Blida.

L'étude expérimentale a duré 3 mois. Elle a été effectuée au sein de deux laboratoires :

Laboratoire « BIO-LERA » de Ouled Yaich de Blida pour l'extraction de l'huile essentielle des feuilles de l'*Eucalyptus globulus*.

L'évaluation de l'activité antioxydante et les analyses physico-chimiques de l'huile essentielle d'*E.globulus* ont été réalisés au niveau de laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de l'université Blida 1, faculté science de la nature et de la vie, département de biotechnologie.

1.1. Matériels

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de l''*E.globulus* L, récolté au niveau de la région de Blida, notre échantillonnage a été fait au niveau de l'université Saad Dahleb de Blida (Figure 6). L'identification d'*Eucalyptus globulus* a été faite conformément aux critères botaniques cités par la flore de (Quézel & Santa, 1963).



Figure 6 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* (Original ; 2021).

1.1.1.1. Présentation de la localité de récolte

Blida est situé dans la partie Nord du pays à 50 km au sud-ouest d'Alger, dans la zone géographique du Tell central à 260 m d'altitude. Elle est caractérisée par un climat humide (Deluz-La Bruyère, 1983).



Figure 7 : Situation géographique de l'Université Blida 1 (Unipage, 2021).

1.1.1.2. Récolte des échantillons

Les échantillons de plantes ont été récoltés au mois d'Avril (stade préfloraison).

La récolte a été réalisée le 8 Avril 2021 la matinée en une journée non pluvieuse avec une température de 20°C à peu près.

1.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé au cours de nos expérimentations est mentionné dans l'Annexe I.

1.2. Méthodes d'étude

1.2.1. Détermination de la teneur en eau

Un échantillon de 20 g de feuilles fraîches d'*E.globulus* a été prélevé et la pesée. L'échantillon est enroulé dans un papier aluminium et placé par la suite dans une étuve réglé à 60 C°, au bout de 48h l'échantillon est retiré et pesé.

Le taux de la matière sèche est calculé selon la formule suivante :

$$M_S\% = (P_S / P_F) \cdot 100$$

$M_S\%$ = Pourcentage de la matière sèche.

P_S = Poids sec de l'échantillon.

P_F = Poids frais de l'échantillon.

La teneur en eau est exprimée par la formule suivante :

$$100 - M_S = \text{la teneur en eau}$$

1.2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est faite par hydrodistillation de type Clevenger (Annexe I). Les échantillons récoltés sont séchés à l'ombre dans une chambre aérée pendant 1 mois. Les feuilles séchées sont découpées en petits morceaux et pesés à l'aide d'une balance.

• Principe

L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

• Mode opératoire

Une quantité de 100 g de feuilles séchées et découpées est déposée dans un ballon de 1000 ml relié à un réfrigérant et rempli de 500 ml d'eau distillée. Le mélange eau distillée/plante est porté à ébullition par un chauffe ballon pour générer une vapeur d'eau saturée en composés volatils. L'extraction se poursuit pendant 3 h. l'HE est récupéré en ouvrant progressivement le robinet inférieur. Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans un flacon opaque bien scellé à l'abri de la lumière, au réfrigérateur à température de + 4 à +6 °C, jusqu'à leur utilisation pour le test d'activité antioxydante. Nous avons réalisé trois extractions au minimum.

1.2.3. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse de la matière végétale utilisé. Le calcul se fait selon la formule suivant :

$$R (HE) = (M_{HE} / M_{MV}).100$$

R (HE) : Le rendement en huile essentielle (%).

M_{HE} : la masse d'huile essentielle en gramme.

M_{MV} : la masse de la matière végétale en gramme.

1.2.4. Propriétés physico-chimiques

L'observation à l'œil nu permet de définir les propriétés physico-chimiques de notre HE telle que la : Couleur, l'odeur, l'aspect, et l'état.

1.2.4.1. Indice de réfraction

Selon la norme (Pharmacopée Européenne, 2008) :

• Principe :

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. L'indice de réfraction d'une matière est mesuré par un réfractomètre (Annexe I).

• Mode opératoire

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée
- Placer 2 à 3 gouttes de l'huile essentielle testée sur l'appareil.
- Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation.
- Lire la valeur de l'indice de réfractomètre sur le cercle gradué

L'indice de réfraction est mesuré à la température ambiante (24.6) puis ramenés à 20°C par la formule suivante :

$$n_{20} = n_T + 0,00045 (T - 20^\circ\text{C})$$

Où : n_{20} : indice de réfraction à 20°C.

n_T : indice de réfraction de labo

T : température exprimée en °C.

1.2.4.2. Densité relative à 20°C

La densité relative d'une huile ou hydrolat est le rapport de la masse d'un certain volume d'HE ou hydrolat à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

La densité relative est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un eppendorf.

Après nettoyage et séchage de l'eppendorf, il a été pesé et rempli d'eau distillée.

L'eppendorf a été retiré, essuyé extérieurement et pesé.

La même procédure est suivie pour l'huile et l'hydrolat en remplissant l'eppendorf par le même volume d'huile et hydrolat. Ensuite, l'eppendorf est essuyé et pesé.

La densité relative se détermine :

$$D_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : masse d'eppendorf vide.

m_1 : masse d'eppendorf rempli d'eau distillée.

m_2 : masse d'eppendorf rempli d'huile essentielle.

1.2.5. Etude de pouvoir antioxydant de l'huile essentielle et l'Hydrolat

1.2.5.1. Principe

Le DPPH est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517 nm.

En présence d'un antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration du DPPH du violet (forme radicalaire DPPH·) au jaune (forme réduite DPPH-H) (Figures 8). Cette décoloration représente donc la capacité de l'échantillon à piéger ce radical.

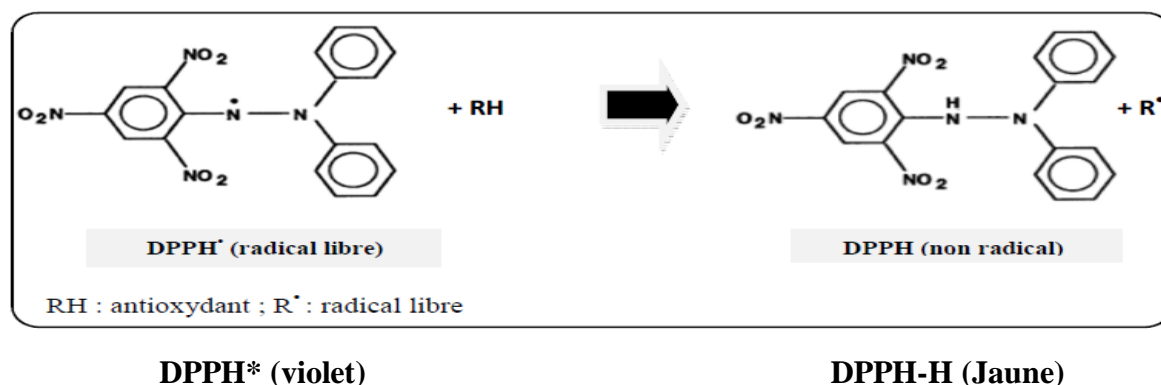


Figure 8 : Structure chimique du DPPH* et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.

1.2.5.2. Mode opératoire

L'activité antioxydante *in vitro* a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), selon la méthode décrite par (Burits & Bucar, 2000), où 50 µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, puis faire la lecture au spectrophotomètre l'absorbance est lue à 517 nm (Annexe I). L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison.

On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

1.2.5.3. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50

Selon Sharififar et al, 2009 l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

Avec :

A blanc : Absorbance du blanc (méthanol).

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle, hydrolat et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en HE, hydrolat et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50 %.

CHAPITRE 2
RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

2.1. Teneur en eau

Le résultat de la teneur en eau des feuilles d'*E.globulus* provenant de la région de Blida est représenté dans la figure 9.

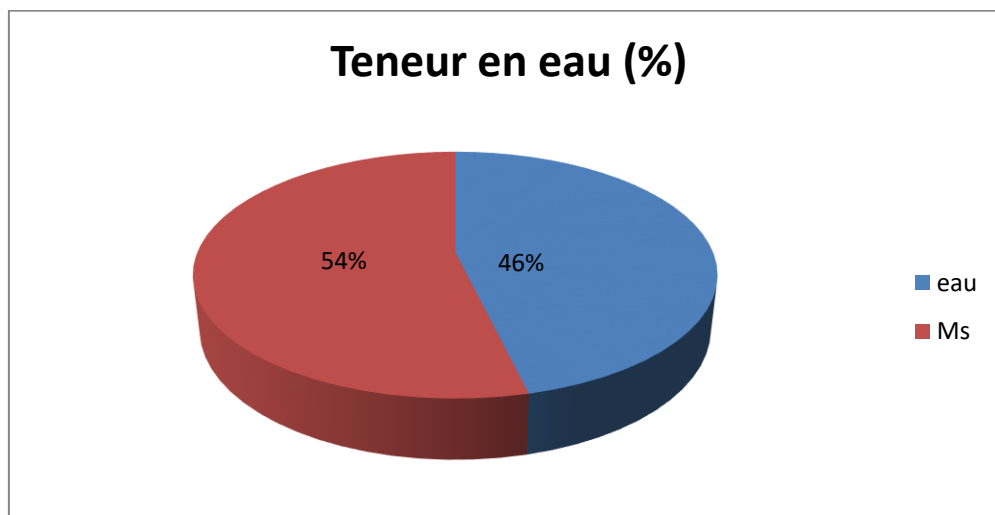


Figure 9 : Teneur en eau de l'*E.globulus*

Les analyses de notre échantillon ont révélé une teneur en eau de 46.25%. Cela signifie qu'approximativement la moitié du poids de la plante fraîche est constituée d'eau (Figure 9).

Les résultats de la teneur en eau nous permettront de calculer le rendement en HE obtenue dans la matière fraîche (Tableau 6, Annexe III).

2.2. Rendement en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle obtenue est exprimé en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche. L'*E.globulus* de notre région présente un rendement en huile essentielle de 1.1%, cette valeur est élevée comparativement aux valeurs mentionnées par les normes (AFNOR, 2000) qui signalent un taux variant entre 0.6% et 0.8%.

Les variations du rendement en HE d'*E.globulus* ont été déjà notées par plusieurs auteurs et dans divers régions.

En Algérie, **Rabiai** (2014) en travaillant sur les espèces de la région de M'sila a obtenu un rendement de 0.43 qui est un très faible rendement en comparant aux normes **AFNOR**

(2000) par ailleurs **Kara & Saidi** (2016), en analysant les huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* récolté dans la région de Kabylie (Tizi ouazou), ont obtenu un rendement de 5.03%, ce rapport est supérieur par rapport à celui obtenu dans notre travail.


Mpiana Kibwela (2020), a noté un rendement similaire pour l'espèce de Congo (1.2%). **Aihua et al** (2009) ont effectué une extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* de la Chine, ils ont obtenu un rendement (0,18 %). Ce résultat est inférieur par rapport à nos rendement, cela peut être dû à la différence du climat entre les deux pays (Algérie et Chine).

La variation du rendement en HE au sein d'une même espèce peut être liée à plusieurs facteurs : l'écologie de la plante, le cycle végétatif, les conditions édaphiques, les méthodes d'extraction (Gilly, 1997; Bruneton, 1999).

2.3. Détermination des indices physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques de notre huile essentielle (Aspect, Odeur, Couleur et l'état) sont indiquées dans le tableau 2 :

Tableau 2 : Caractéristiques de l'HE de l'*E. globulus* selon la norme AFNOR NFT 7.

	Aspect	Odeur	Couleur
Normes AFNOR	Liquide et mobile	Fraiche et épicé	Jaune à jaune pale
HE	Liquide et mobile	Très forte odeur (fraiche et épicé)	 Jaune

2.3.1. Indice de réfraction

La valeur de l'indice de réfraction est de 1.448 (Tableau 3).

Notre résultat montre que l'IR est un peu bas par rapport aux normes AFNOR (2000). Selon Koba & Sanda (2003), l'IR dépend essentiellement de la teneur en monoterpène et en

dérivé oxygéné, une forte teneur en monoterpène donnera un indice élevé en revanche une teneur élevée en dérivé oxygéné produira l'effet inverse.

2.3.2. Densité

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. La densité de notre huile est : $D_{20} = 0.950$ (Tableau 3). D'après la norme AFNOR (2000), la densité relative de l'huile essentielle de l'*E.globulus* est : 0,876, donc la densité de notre HE est un peu élevé à celle de la norme AFNOR.

Tableau 3 : Tableau récapitulatif des analyses physico-chimiques de l'*E.globulus*.

	Résultats obtenus	Norme AFNOR
IR à 20°C	1.448	1.459 _ 1.467
Densité	0.950	0.876

2.4. Activité antioxydante

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans le Tableau 4 (Annexe II) et la figure 10.

2.4.1. Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande, nos résultats sont présentés dans la figure 11.

Nous constatons que l'huile essentielle et l'hydrolat de l'*Eucalyptus globulus* pouvait ramener le radical libre stable 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec une valeur de IC50 de 99.51 µg/ml pour l'HE et de 257.34 µg/ml pour l'hydrolat, montrant une activité antioxydante très supérieure à celle de la vitamine C (512.97 µg/ml). Il semble d'après ces résultats que l'HE de l'*Eucalyptus globulus* est l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 de 99.51 µg/ml par rapport à l'hydrolat et la vitamine C.

Boukhalfoun (2012) a étudiée l'activité antioxydante par le test de DPPH et les résultats ont montré que l'extrait de feuilles d'*E globulus* piège à 85.2 % le radical libres, en comparant à nos résultats on distingue que nos extraits (l'HE et l'hydrolat) ont des activités plus importante avec un pourcentage de 97.8 pour HE et 93.8 pour l'hydrolat.

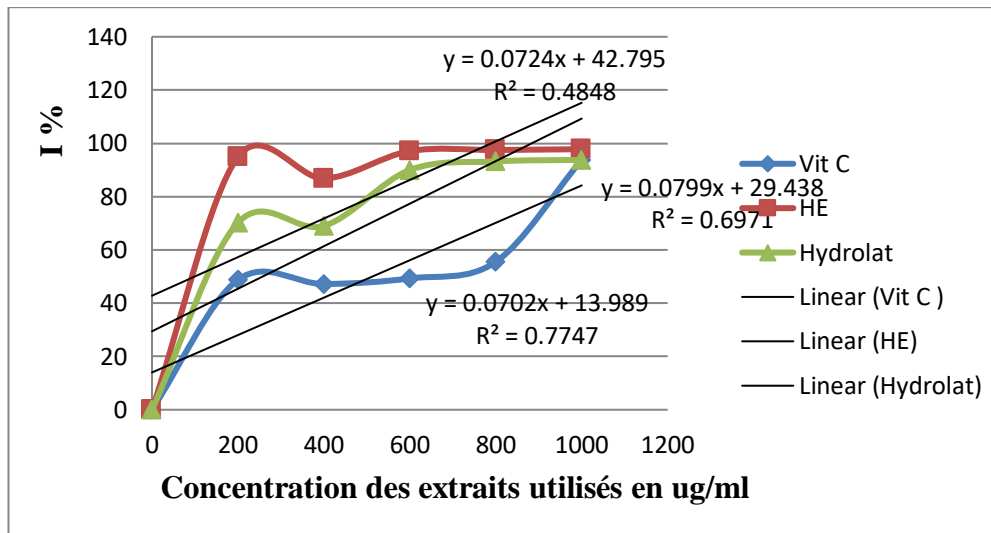


Figure 10: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE, hydrolat et la Vit C.

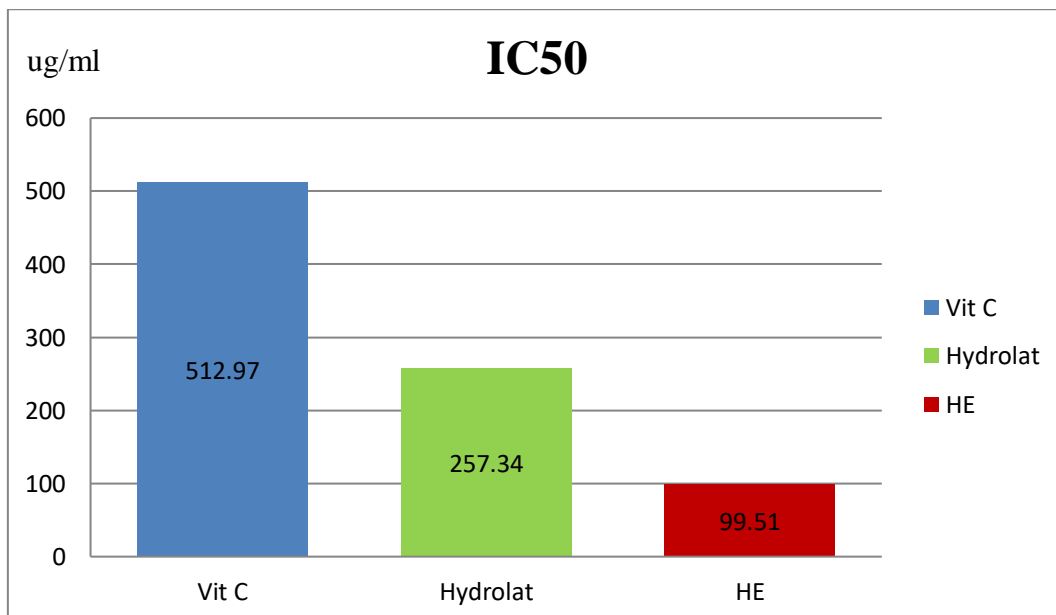


Figure 11 : Histogramme des valeurs d'IC₅₀ de l'HE, hydrolat et la Vit C.

Belhadj et al (2019) ont étudiés le pouvoir antioxydant de l'*E.globulus* récolté dans 3 pays différents (Iraq, Algérie, Coré du sud). Ces études ont rapporté que les extraits de la plante ont une capacité d'inhibition de DPPH importante.

Qasim et al (2017) ont étudié l'activité antioxydante par le test de DPPH et les résultats ont montré qu'une teneur de 223.83 mg/L des tanins de nature phénoliques présentent dans l'extrait de feuilles d'*E globulus* piègent à 97,63% le radical libres.

Une autre étude réalisée en Algérie (Bey-Ould Si Said, et al., 2016) a prouvé l'existence d'un pouvoir antiradicalaire de 69,47% en raison de la richesse des feuilles d'*E globulus* en polyphénols avec un taux de 464.71 mg EGA/gCE.

Par ailleurs une autre étude coréenne a déterminé un pourcentage antiradicalaire de 76.2% ce dernier est du probablement à la présence de 48.2% de l'Eucalyptol autrement dit 1,8cinéole (Hariram Nile & Keum, 2018).

Gueddah & Soualat (2018), ont étudié l'évaluation de potentiel antiradicalaire de l'extrait par le test de DPPH, ils ont montrés que les composés phénoliques de la plante étudiée étaient doués d'une forte activité antioxydante.

CONCLUSION

Conclusion

Eucalyptus globulus est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. C'est une espèce largement utilisée en médecine traditionnelle à travers le monde.

Dans ce travail nous avons contribué à une évaluation des effets antioxydants des extraits des feuilles d'*E globulus* provenant de la région de Blida.

L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation de type Clevenger, à partir de feuilles a donné un rendement de 1.1 %.

Les indices physicochimiques de nos huiles essentielles sont différents par rapport aux normes internationales notamment l'indices de réfraction et la densité relative.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de DPPH, nous a permis de constater que les huiles essentielles et les hydrolats de l'*Eucalyotus globulus* possèdent des activités anti radicalaires plus au moins importantes.

L'ensemble de ces résultats analysés ouvre des perspectives d'utilisation de cette plante pour différents usages comme un antioxydant et ne constitue qu'un début dans le domaine de la recherche des substances naturelles biologiquement actives. Il sera intéressant à l'avenir :

- Des essais complémentaires seront nécessaires afin de pouvoir confirmer l'activité mise en évidence.
- Contribution dans cette espèce notamment l'activité antioxydante.
- D'étudier d'autres propriétés biologiques de cette plante, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, anticancéreuses, antispasmodiques.
- De vérifier l'absence d'effets toxiques des extrais étudiés.
- D'étudier la composition chimique de l'huile essentielle et l'hydrolat de cette plante.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- AFNOR. (2000). Recueil des normes françaises. *Les huiles essentielles*. 3eme ed, Paris.
- Aihua, S., Yanmei, L., & Ying, W. (2009). Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill. from China. *Asian Journal Trad Med*, 4(4), 134-140.
- Ait Youssef, M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie*. IBIS Press. Paris, France.
- Ali, S. S., Kasoju, N., Luthra, A., Singh, A., Sharanabasava, H., Sahu, A., et al. (2008). Indian medicinal herbs as sources of antioxidants. *Food Research International*, 41(1), 1-15.
- Bartosz, G. (2003). Generation of reactive oxygen species in Biological systems. *Comments on Toxicology*, 9(1).
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol Management*, 256(12), 2166-2174.
- Bekhechi, C., & Abdelouahid, D. (2014). Les huiles essentielles (éd. P/ n°5145). Algérie.
- Belaiche, P. (1979). Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1 : *l'Aromatogramme*. Maloine, Paris.
- Belhadj , S., Chettab , S., & Djaoui, N. (2019). Activité antioxydante et antibactérienne des extraits et des huiles essentielles de deux plantes médicinales: *Laurus nobilis* et *Eucalyptus globulus*. Université Mohammed-Seddik Ben yahia de Jijel. Algérie.
- Benjilali, B. (2004). Extraction des plantes aromatiques et médicinales: cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. institut agronomique et vétérinaire (I.A.V) Hassan II, Rabat, Maroc.
- Bey-Ould Si Said, Z., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., et al. (2016). Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Industrial Crops and Products*, 89, 167-175.
- Bouhaddouda, N. (2016). Activité antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de doctorat , Université Badji Mokhtar de Annaba. Algérie.
- Boukhaloun, L. (2012). Extraction des coposés actifs chez *Eucalyptus globulus*. Tèse de doctorat, Université Saad Dahleb de Blida. Algérie.
- Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., & Mekarnia, M. (2017). *Eucalyptus globulus* (Labill): un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*, 1-12.

Références Bibliographiques

- Bouras , M. (2018). Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. Algérie.
- Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., et al. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- Boyd, B., Ford, C., Koepke-Michael, C., Gray, K., Horn, E., McAnnalley, S., et al. (2003). Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant "d' Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé". *GlycoScience & Nutrion*.
- Brahimi, S. (2018). *Deverra reboudii* Coss. Et Durieu: biologie, composition chimique et activités biologiques des extraits et des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université Ziane Achour de Djelfa. Algérie.
- Brand, N. (1993). Eucalyptus: guide de la pratique pharmaceutique. *Springer*, 5, 115-130.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brooker, M. H., & Kleinig, D. A. (2004). *Field guide to eucalyptus*. Blooming books. Melbourne, Australie.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, *Phytochimie- Plantes médicinales*. Lavoisier Tec & Doc. Paris, France.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5), 323-328.
- Capon, M., Courilleau-Haverlant, V., & Valette, C. (1990). Chimie des couleurs et des odeurs. Cultures et Techniques. 255pages.
- Cardoso, J. C., Oliveira, M. B., & Cardoso, F. (2019). Advances and challenges on the in vitro production of secondary metabolites from medicinal plants. *Horticultura Brasileira*, 37(2), 124-132.
- Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. *American pharmaceutical sciences*, 17(4), 345-349.
- Delille, L. (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Ed. Berti, Alger, Algérie.
- Deluz-La Bruyère, J. (1983). Processus et formes d'urbanisation en Algérie. T 1: *le cas de Blida* . Université de Lyon.
- Djenane, D., Lefsih, K., Yanguela, J., & Roncalés, P. (2011). Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et

Références Bibliographiques

- efficacité sur les oeufs entiers liquides conservés à $7 \pm 1^\circ\text{C}$. *Phytothérapie*, 9, 343-353.
- Dubey, V. S., Bhalla, R., & Luthra, R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Biosci*, 28(5), 637-646.
- Duquenois, P. (1968). L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. *Parf.Cosm.Sav*, 414-418.
- Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de doctorat, Université d'Avignon. France.
- Favier, A. (2003). Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Mécanismes biochimiques*, 108-115.
- Franz, C., Bauer, R., Carle, R., Tedesco, D., Tubaro, A., & Zitterl-Eglseer, K. (2005). study on the assessment of plants/ herbs, plant/ herb extracts and their naturally or synthetically produced components as "additives" for use in animal production.
- Gabriel, I., Alleman, F., Dufourcq, V., Perrin, F., & Gabarrou, J. F. (2013). Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles.2. Hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. *INRA Productions Animales*, 26(1), 13-24.
- Garcia-Plazaola, J. I., & Becerril, J. M. (1999). A rapid HPLC method to measure lipophilic antioxidants in stressed plants: simultaneous determination of carotenoids and topocopherols. *Phytochemical Analysis*, 10, 307-313.
- Gilly, G. (1997). Les plantes à parfum et huiles essentielles à grasse. Harmattan. Paris.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Springer. France.
- Grunwald, J., & Janicke, C. (2006). Le guide de la phytothérapie. Marabout. France.
- Gueddah, A., & Soualat, K. (2018). Activité antioxidante et antibactérienne d'*Eucalyptus globulus*. Université Mohamed Boudiaf de M'Sila. Algérie.
- Guignard, J.-L. (2000). Biochimie végétale. Masson, Paris, France.
- Hans W, K. (2007). 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terres. France.
- Hariram Nile, S., & Keum, Y. S. (2018). Chemical composition, antioxidant, anti-inflammatory and antitumor activities of *Eucalyptus globulus* Labill. *Indian Journal of Experimental Biology*, 56, 734-742.
- Hazzit, M. B. (2015). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'extrait non volatil et des huiles. *Recherche Agronomique*, 27, 118-129.

Références Bibliographiques

- Houbairi , S., El-miziani, I., Lamiri, A., & Essahli , M. (2015). Comparison of the antioxidant activity of aromatic medicinal plants of moroccan origin. *European Journal of Medicinal Plants*, 10(4), 1-10.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Food Chemistry*, 53(6), 1841-1856.
- Hurabielle, M., & Paris, M. (1981). Abrégé de matière médicale, pharmacognosie: *plantes à glucides (holosides, hétérosides), à lipides, à huiles essentielles, à protides et à alcaloïdes*, Tome 1. Masson. Paris, France.
- Jacques, G., & Paltz, S. (1997). Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".
- Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012). La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie. *Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*. Springer.226p.
- Kara, K., & Saidi, S. (2016). Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* L entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de la forêt de Harouza. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Algérie.
- Koba, K., & Sanda, K. (2003). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L.(DC) Starpf., *C.nardus* L.Rendle et *E.globulus*. *Journal de Mycologie Médicale*, 13(4), 175-180.
- Lachowicz, K. J., Jones, G. P., Briggs, D. R., Bienvenu, F. E., Wan, J., Wilcock, A., et al. (1998). The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora. *Letters in Applied Microbiology*, 26(3), 209-214.
- Laib, I., & Barkat, M. (2011). Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*. Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires, Université de Constantine Mentouri. Algerie.
- Lambert, R. W., Skandamis, p. N., Coote, P. J., & Nychas, G.-J. E. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462.
- Lardry, J.-M., & Haberkorn, V. (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La revue*, 7(61), 14-17.
- Legast, E., & Peyron, L. (1983). IX congrès international des huiles essentielles. Singapour. p63.

Références Bibliographiques

- Lehucher-Michel, M. P., Lesgards, J. F., Delubac, O., Stocker, P., Durand, P., & Prost, M. (2001). Stress oxydant et pathologies humains. Bilan et perspectives préventives. *La Presse médicale*, 30(21), pp. 1076-1081.
- Leicach, S. R., Yaber Grass, M. A., Chludil, H. D., Garau, A. M., Guarnaschelli, A. B., & Fernandez, P. C. (2012). Chemical defenses in Eucalyptus species: a sustainable strategy based on antique knowledge to diminish agrochemical dependency. *IntechOpen*.
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.
- Lindenschmidt, R. C., Tryka, A. F., Goad, M. E., & Witschi, H. P. (1986). The effects of dietary butylated hydroxytoluene on liver and colon tumor development in mice. *Toxicology*, 38(2), 151-160.
- Lis-Balchin, M., Deans, S. G., & Eaglesham, E. (1998). Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. *Flavour and Fragrance*, 13(2), 98-104.
- Lisu, W., Jui-Hung, Y., Hsiao-Ling, L., & Ming-Jiuan, W. (2003). Antioxidant effect of methanol extracts from Lotus plumule and blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn). *Journal of food and drug analysis*, 11(1), 60-66.
- Loukhaoukha, R. (2019). Extraction, identification et caractérisation de quelques métabolites secondaires de *lavandula stoechas* L. et effets biologiques. Thèse de doctorat, Université Saad Dahleb de Blida. Algérie.
- Maidi, L. (2013). Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante de huiles essentielles et des extraits d'*Ocimum basilicum* L. (*Lamiaceae*) de la région d'El Assafia. Thèse de magister, Université Ziane Achour de Djelfa. Algérie.
- Martinetti, P. (2013). Mon guide des huiles essentielles. Éd. Lanore, Paris, France.
- Maruzzella, J. C., & Tirpak, J. A. (1962). Antibacterial activity of fern extracts. *Naturwissenschaften*, 49(24), 615.
- McCall, M. R., & Frei, B. (1999). Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radic Biol Med*, 26(7-8), 1034-1053.
- Millet, F. (2013). *Le grand guide des huiles essentielles*. Marabout. France.
- Morel, Y., & Barouki, R. (1999). Repression of gene expression by oxidative stress. *Biochemical journal*, 342(3), 481-496.

Références Bibliographiques

- Mpiana Kibwela, N. (2020). Optimisation du rendement d'extraction des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et caractérisation physico-chimique. Université de Lubumbashi, Congo.
- Nait Slimane, D., & Zaddi, S. (2011). Effet de l'association de deux huiles essentielles de *Thymus algeriensis* (Bois. Et Reut) et d'*Origanum glandulosum* (Desf) sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Tèse d'Ingénieur d'Etat en Sciences Alimentaires, Bejaia.
- Negre-Salvayre, A. (2005). Effet protecteur des acides gras contre le stress oxydatif: implication en physiopathologie vasculaire. *OCL*, 12(5_6), 433-438.
- Noumi, E., Snoussi, M., Hajlaouil, H., Trabelsi, N., Ksouri, R., Valentin, E., et al. (2011). Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *Medicinal Plants Research*, 5(17), 4147-4156.
- Padrini, F., & Lucheroni, M.-T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles. Vecchi.
- Pharmacopée Européenne. (2008). Version française.
- Pourrut, B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse. France.
- Price, L., & Price, S. (2004). Understanding Hydrolats: The specific hydrosols for aromatherapy. *A guide for health professionals*. Edinburgh, New York: Churchill Livingstone.
- Qasim, R. L., Surchi, B. I., & Khudhur, P. K. (2017). Anti-microbial and antioxidant effect of water extract of *Eucalyptus globulus* and *Quercus persica* plants on gram positives and gram negative bacteria. *Diyala Journal of Medicine*, 12, 65-73.
- Quézel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre National de la Recherche Scientifique. Paris.
- Rabiai, M. (2014). Etude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région M'Sila. Université de M'Sila. Algérie.
- Raho, B., Benali, G., & Benali, M. (2009). Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(10), 211-215.
- Rai, M. K., Acharya, D., & Wadegaonkar, P. A. (2003). Plant-derived antimycotics: Potential of asteraceous plants, In: *Plants-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects*. pp. 165-185.

Références Bibliographiques

- Sanchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137.
- Sanchez-Moreno, C., & Larrauri, J. A. (1998). Main methods used in lipid oxidation determination. *Food Sci Technol Int*, 4(6), 391-399.
- Scherer, R., & Godoy, H. T. (2009). Antioxidant activity index (AAI) by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112(3), 654-658.
- Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G., & Mirtajaldini, M. (2009). Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium Polium* L. *Food Chemistry*, 112(4), 885-888.
- Shimizu, H. (2004). Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study. *Stroke*, 35(9), 2072-2077.
- Singh, A. K., Dikshit, A., & Dixit, S. M. (1983). Fungitoxic properties of essential oil of *Mentha arvensis varpepiraxens*. *Perfumer and flavorist*, 55-58.
- Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, roles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57.
- Toloza, A., Picollo, M., Lucia, A., Masuh, H., & Zerba, E. (2010). Eucalyptus essential oil toxicity against permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Phthiraptera: Pediculidae). *Parasitol Res*, 106(2), 409-414.
- Touami, C. (2016). Examen phytochimique et pouvoir antimicrobien et anti-radicalaire des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzia) de la région d'Ain Sefra. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Algérie.
- Traore, N., Sidib, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., et al. (2013). Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W.Fitzg.ex Maiden. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 800-804.
- Tyagi, A. K., & Malik, A. (2011). Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms. *Food Chemistry*, 126(1), 228-235.
- Unipage. (2021). Université Saad Dahleb Blida . Récupéré sur UNIPAGE: https://www.unipage.net/en/22079/saad_dahlab_university_of_blida#section_admission
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1), 44-84.

Références Bibliographiques

- Valnet, J. (1984). *Aromathérapie: traitement des maladies par les essences des plantes* (éd. 10eme). Ed. Maloine, France.
- Valnet, J. (2000). *Aromathérapie*. S.A: Maloine.
- Vargas, I., Sanz, I., Moya, P., & Prima-Yufer, E. (1999). Antimicrobial and antioxidant compounds in the non volatile fraction of expressed orange essential oi. *Food Protection*, 62(8), 929-932.
- Vaughan, G. (2008). *Eucalyptus globulus*. Labill. (D. Louppe, A. A. Oteng-Amoako, & M. Brink, Éds.) *PROTA (Plant Ressources of Tropical Africa/ Ressources végétales de l'Afrique tropicale)*. Wageningen. Netherlands.
- Vilela, G. R., Regitano D'Arce, M. A., Almeida, G. S., Morages M, H. D., Brito , J. O., Silva M F, d. F., et al. (2009). Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cinéol, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Jornal of Stored Products Research*, 45(2), 108-111.
- Vilmorin, J.-B. (2003). *Histoires des arbres*. Jean- Paul Gisserot. France.
- Wichtl, M., & Anton , R. (2003). *Plantes thérapeutiques*. EMI/Tec & Doc, Paris, France.
- Yang, Y.-C., Choi, H.-Y., Choi, W.-S., Clark, J. M., & Ahn, Y.-J. (2004). Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculide). *Agric Food Chem*, 52(9), 2507-2511.

Annexes

Annexe I

Matériel non biologique

- Balance précis
- Chauffe ballon
- Ballon en verre (1000 ml)
- Tubes à essais
- Eprouvette graduée
- Pipette
- Micropipette (100ul/ 1000ul)
- Eppendrof

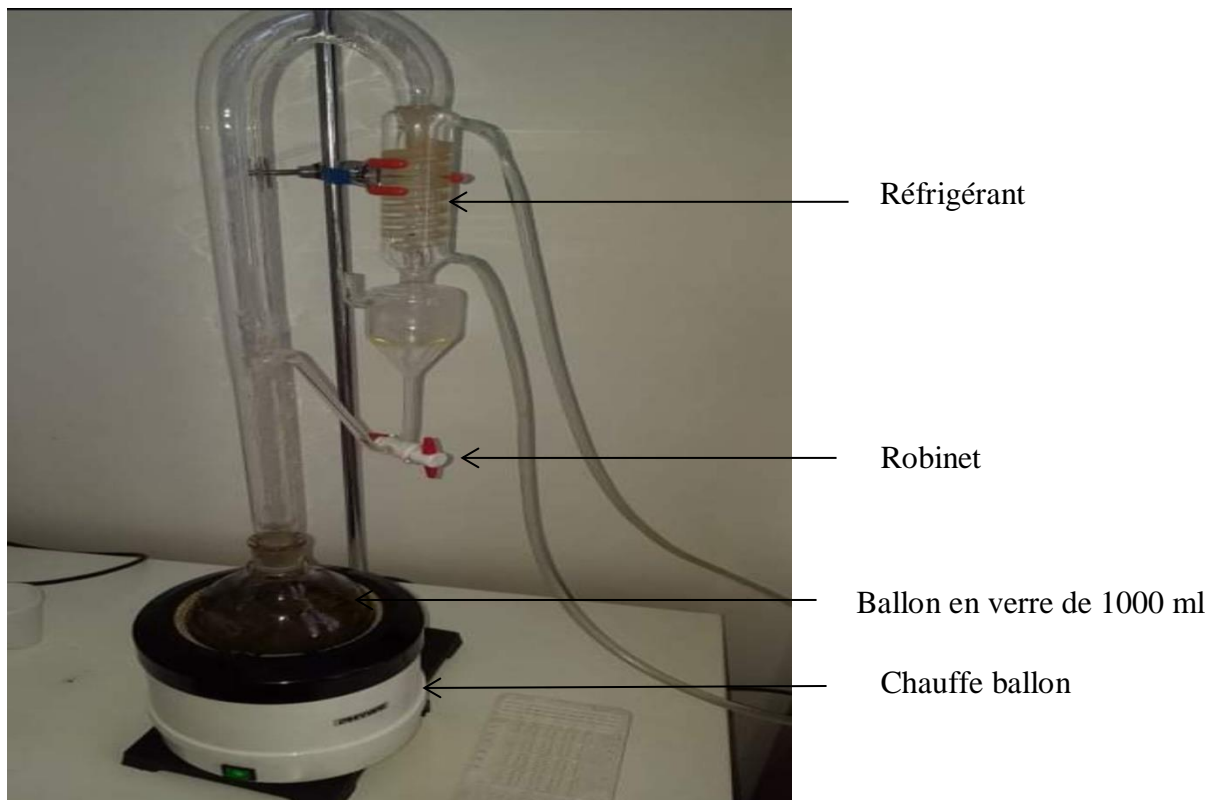


Figure 12 : Dispositif d'extraction par hydrodistillation (Original, 2021).

Annexe I



Figure 13 : Spectrophotomètre.



Figure 14 : réfractomètre.

Annexe II

Tableau 4 : les résultats de pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations de l'HE, hydrolat et la Vit C.

	200ug/ml		400ug/ml		600ug/ml		800ug/ml		1000ug/ml	
	Do	%I	Do	%I	Do	%I	Do	%I	Do	%I
HE	0.259	94.9 %	0.100	86.8%	0.057	97.1%	0.049	97.5%	0.043	97.8%
Hydrolat	0.589	70.2%	0.611	69%	0.197	90%	1.134	93.2%	0.122	93.8%
Vit C	1.017	48.75%	1.044	47.19%	1.002	49.31%	0.879	55.53%	0.12	93.82%

Tableau 5 : les valeurs d'IC50 de l'HE, hydrolat et la Vit C.

	IC50
HE	99.51
Hydrolat	257.34
Vit C	512.97

Annexe III

Tableau 6 : Rendement en HE dans la matière sèche et fraîche.

	Echantillon
(%) Rendement dans la matière sèche	1.1%
(%) Rendement dans la matière fraîche	0.59%