

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université De Blida -1-
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département De Biotechnonologie



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

Spécialité : systèmes de production agro-écologiques

THEME :

ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES
ESSENTIELLES DE « EUCALYPTUS
GLOBULUS ».ETUDE PHYTOCHIMIQUE

Présenté par :

MESSOUS NAZIHA

CHOURAR RAHMA

Devant les jurys :

Présidente : M^{me} BENREBIHA

Professeur à l'USDB

Examinatrice : M^m MOUAS

Maître de conférences B à l'USDB

Directrice : M^{me} KEBOUR

Maître de conférences A à l'USDB

2018 - 2019

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 **M^{me} KEBOUR Djamila**, maitre de conférence classe A ; en département de biotechnologie de la faculté SNV à l'université Blida 1, pour le privilège et la confiance qu'elle nous a accordé 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. Madame, que sincèrement vous exprimer notre respect et ma gratitude.

Nous remercions les membres de jury, chacun a son nom, D'avoir accepté d'examiner notre travail.

Présidente: **Pr. BENREBIHA**

Examinatrice : **Dr MOUAS**

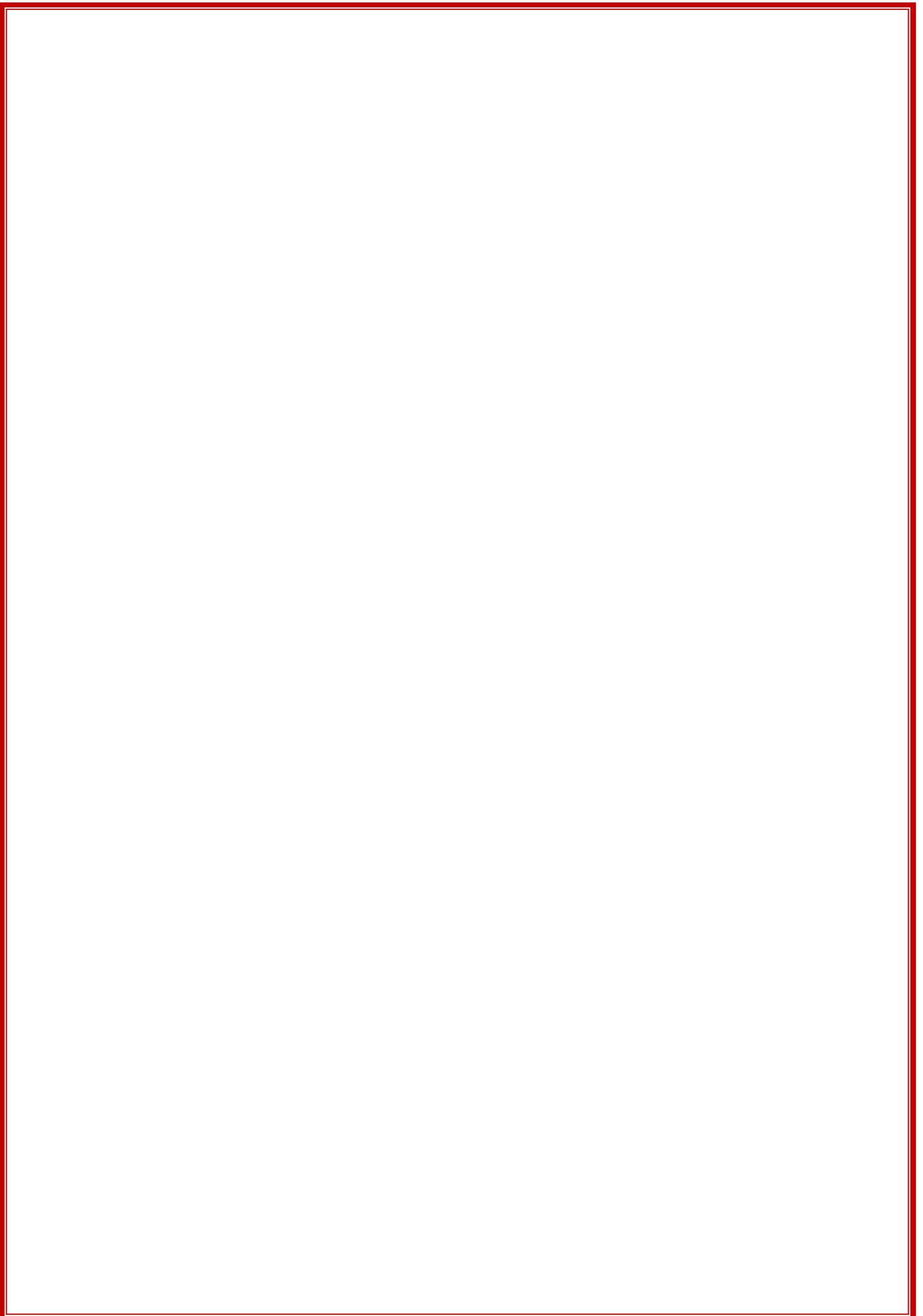
Nos sentiments de reconnaissance et remerciement vont aussi aux membres du centre de recherche et de développement SAIDAL (Gué de Constantine – Alger), La responsable de laboratoire de microbiologie **M^{me} OUAREK** et notre co-promotrice **M^{me} OURAGUI** ET tous les membres de l'équipe de laboratoires pour leur accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives.

Un très grand merci à **M^r GHRIBI Youcef** pour sa disponibilité, ses conseils et son aide dans la réalisation de ce travail.

Nous remercions également **M^{me} HIYADHINE Lila** qui a fait son mieux pour nous a fourni les milieux de culture pour réaliser nos tests microbiologiques.

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

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



DEDICACE

A mes chers parents : ZEROUK Et FATMA

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer le profondeur des sentiments d'affection, d'estime et de respect que je vous porte, pour l'amour que vous m'avez toujours comblé, l'éducation et le bien être que vous m'assurez, pour votre soutien, vos sacrifices et vos prières. Que dieu vous garde en bonne santé.

A ma jolie sœur SANAË et mes adorables frères : MOHAMED Et ABDO :

Pour leurs soutiens infinis, leurs aides incessantes, et leur support dans les moments difficile, que cette dédicace soit le meilleur cadeau que je puisse vous offrir.

A mon fiancé HOUSSEM :

Pour ta compréhension, ta confiance, ta patience et ta tendresse ,tu m'as toujours soutenu et réconforté, tu es et tu reste toujours ma source d'encouragement. Tu as supporté mon humeur pendant plusieurs périodes de ce parcours, sincère gratitude.

A tout membre de ma grande famille

Sans citer des noms, afin de n'oublier personne.

A mes très chères amies :

Fella , Souha, Selma, Racha, Imen , à qui je souhaite plus de succès.

A RAHMA

Mon binôme et au même temps ma meilleure amie,

Pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension, tout au long de ce travail.

Je vous adore

NAZIHA

DEDICACE

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.

J'espère qu'avec ce modeste travail, je vous rends un peu de ce sentiment de fierté que j'éprouve d'être votre fille.

A la mémoire de mon très cher papa Abd el-Kader :

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le respect que j'ai toujours eus pour vous.

Vous étiez toujours ma source d'inspiration et de courage. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie.

Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter.

Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain, en faisant toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais te décevoir.

Vous resterez toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous aime tellement mon cher papa ; le plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant ! Que dieu, le miséricordieux vous accueille dans son éternel paradis.

Ma très chère mère Houria :

Affable, honorable, aimable : vous êtes le symbole de la bonté par excellence l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Vos sacrifices, votre soutien, votre profond attachement m'ont permis de réussir mes études, son écoute permanente sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie

Puisse Dieu le tout puissant, vous accorde santé, bonheur, quiétude et vous protège de tous mal.

A Ma très chère sœur Amina

Votre encouragement et votre soutien était la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude, et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés par votre présence, pour votre amour dévoué et votre tendresse, pour donner le gout et du sens à notre vie de famille. En témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande affection, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement, je prie dieu le tout puissant pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mes chers frères : Sid Ahmed, Abderrahmane, Ayoub

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous

Je vous remercie infiniment pour votre amour, pour votre confiance, pour votre soutien pour votre soutien, pour votre encouragement et pour votre disponibilité quand j'ai été besoin de vous, tous cela m'ont toujours été d'un grand secours

J'ai de la chance d'avoir des frères comme vous, je vous aime beaucoup mes meilleurs

En espérant que nous resterons toujours unis

Que Dieu vous protège et vous garde à moi.

A ma chère sœur Selma et son mari Said

Pour l'amitié et le soutien dans nos différentes aventures. Que ce travail soit un témoignage de mon affection sincère. Je vous dédie pour tous les moments de joie et de taquineries qu'on a passé ensemble. Je prie le Dieu, le tout puissant de vous accorder santé, bonheur et succès. Adorable Sœur !

A mon neveu Nassim

Ta venue au monde m'avait immensément comblée de bonheur et de joie, mon chéri

J'espère que tu auras la chance de lire ce travail et que tu seras fier de ta tante

Que Dieu te protège et t'accorde logue vie et bonne santé

Je remercie Dieu sans cesse de t'avoir car je tiens énormément à toi mon chéri

Je t'aime encore, tu sais, je t'aime !

A mes chères cousines :Zahia, Sabrina, Siham, Samah

A tout membre de ma grande famille : Sans citer des noms, afin de n'oublier personne.

A mes très chères amies précieuses :Hadjer, Sara, Hafsa, Meriem, Chaima, Ikram, Nousaiba, Ghada;
pour leur sympathie, leur humour, leur solidarité, leur amitié sincère, et tous ces merveilleux souvenirs à
leur cotés. Veuillez trouver de ma tendre affection et mes sentiments les plus respectueux avec mes vœux
de succès, de bonheur et de bonne santé.

A mes amis (e) : Houssam, Aziz, Abdessalem, Fatah, Badro, Aymen, Imad, Ali, Younes, Wail. Racha,
Bahia, Yasmine, Selma, Fella .

A mes chères collègues :Z'hor, Mounira, Fatima, Kaouthar, Karima, Fahima , Rahma, Rachida, Lynda,
Amina, Ahlem, Hafida, Khaloudja, yasmina, Nassima, Fatima

A ma chère amie précieuse et mon binome « Naziha » et sa famille.

A tous les êtres chers à mes yeux que je n'ai pas évoqués et à tous ceux qui ont manifesté un intérêt pour
mon travail et qui m'ont encouragé à rassembler les informations qui constituent aujourd'hui ce mémoire

RAHMA

Sommaire

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction	01
--------------------	----

Chapitre 1 : Eucalyptus globulus

1. 1. Origine et répartition géographique	03
1. 2. Description botanique de la plante.....	03
1. 3. Etymologie et noms vernaculaires.....	04
1. 4. Classification d'eucalyptus globules.....	05
1.5. Production et commerce international.....	05
1.6. Usage thérapeutique traditionnel.....	06
1. 7. Composition chimique d'huile essentielle d'eucalyptus globulus.....	06
1. 8. Activité biologique d'huiles essentielle d'eucalyptus globulus.....	08
1.9. Propriétés pharmacologiques.....	09
1.10. Quelques microorganismes sensibles à l'huile essentielle d'E.globulus	10

Chapitre 2 : les huiles essentielles

2. 1. Définition	13
2. 2. Historique	13
2. 3. Répartition des huiles essentielles dans la plante.....	13
2. 4. Classification des huiles essentielles.....	14
2. 5. Méthodes d'extraction des HEs.....	14

2. 6. La conservation des HEs.....	22
2. 7. La composition chimique des huiles essentielles.....	22
2. 8. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	24
2. 9. Le rôle des HEs au sein d'une plante.....	25
2. 10. L'activité biologique des huiles essentielles.....	25
2. 11. Domaines d'application des huiles essentielles.....	28
2. 12. Les voies et modes d'administration.....	30
2. 13. Toxicité des huiles essentielles	31

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

3.1. Site d'expérimentation.....	32
3.2. Matériel végétal	32
3.2.1. Récolte et identification de la plante	32
3.2.3. Mode d'échantillonnage	33
3.2.4. Extraction de l'huile essentielle	33
3.2.4.1. Dispositif d'extraction	33
3.2.4.2. Paramètres étudiés dans l'extraction de l'huile essentielle d'Eucalyptus ..	34
3.2.4.3. Calcul de rendement.....	35
3.2.5. Dilution de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.....	35
3.2.5.1. Protocole expérimentale de dilution d'HE dans l'eau.....	35
3.2.5.2. Préparation de la solution mère de tween à 1%.....	36
3.2.5.3. Préparation des doses de dilution d'HE.....	36
3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	36
3.3.1. Objectif.....	36
3.3.2. Principe.....	36

3.3.3. Matériel biologique	37
3.3.4. Protocole expérimentale	37
3.3.4.1. Préparation de l'inoculum des levures et de bactéries.....	37
3.3.4.2. Ensemencement.....	38
3.3.4.3. Dépôt des disques	39
3.3.4.4. Lecture des résultats	39

Chapitre 4 : résultats et discussions

4.1. Rendement en huile essentielle.....	41
4.2.1. Activités antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et du fruits....	42
4.2.1. Activité antimicrobienne des feuilles.....	42
4.2.2. Activité antimicrobienne du fruit.....	45
4.2.3. Comparaison de l'activités antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et du fruit	47
Conclusion générale.....	49

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

L'objectif de notre étude est d'utiliser les huiles essentielles des feuilles et de fruits d'*Eucalyptus globulus* comme un antibiotique naturel vis-à-vis des souches bactériennes, fongiques isolées et bien identifiées. La méthode d'extraction par hydrodistillation nous a permis d'obtenir un rendement faible, dont celui des feuilles d'*Eucalyptus globulus* (0.09%) et des fruits (0,07%), puisque ses échantillons ont été récoltés d'un même arbre pour éviter la toxicité dans l'activité antimicrobienne. L'efficacité de chaque huile essentielle pour différentes concentrations (pure, 0,25% et 0,5%), est estimée par la détermination des zones d'inhibition de la croissance des microorganismes testés (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*). En effet, l'huile essentielle des fruits d'*Eucalyptus globulus* manifeste un bon effet antimicrobien par rapport à celle des feuilles.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antimicrobienne, souche microbienne.

المخلص

الهدف من دراستنا هو استخدام الزيوت العطرية للكالبتوس كمضاد حيوي طبيعي ضد السلالات البكتيرية والفطرية المعزولة والمعروفة جيدًا. أتاحت لنا طريقة الاستخلاص بالتقطير الحصول على مردود منخفض، قدر ب(0.09 %) وهذا بالنسبة لمستخلص الأوراق بينما مستخلص الثمار كان بنسبة (0.07 %) ، حيث تم جمع عيناتها من نفس الشجرة. لتجنب السمية في نشاط مضادات الميكروبات. يتم تقدير فعالية كل زيت أساسي لتركيزات مختلفة (نقية، 0.25 % و 0.5 %)، من خلال تحديد فعالية تثبيط نمو الكائنات الحية الدقيقة التي تم اختبارها. (الإشريكية القولونية، المكورات العنقودية الذهبية، العصوية الرقيقة، المبيضات البيضاء). في الواقع، فإن الزيت العطري لثمرة الأوكالبتوس له تأثير مضاد جيد للميكروبات مقارنة بأوراق هذه الشجرة.

الكلمات المفتاحية:

السلالات البكتيرية والفطرية , نشاط مضادات الميكروبات , التقطير, الزيوت العطرية, الكالبتوس

Abstract

The objective of our study is to use *Eucalyptus globulus* leaf and fruit essential oils as a natural antibiotic against isolated and well identified bacterial, fungal strains. The hydrodistillation extraction method allowed us to obtain a low yield, including that of *Eucalyptus globulus* leaves (0.09%) and fruits (0.07%), since his samples were harvested from the same tree to avoid toxicity in the antimicrobial activity. The effectiveness of each essential oil for different concentrations (pure, 0.25% and 0.5%) is estimated by determining zones of growth inhibition of the microorganisms tested (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*).

Indeed, the essential oil of *Eucalyptus globulus* fruit has a good antimicrobial effect compared to that of the leaves.

Key words : *Eucalyptus globulus* , essential oils, hydrodistillation, antimicrobial activity, microbial strain.

Liste des figures

Figure 1	Schéma du dispositif d'hydrodistillation en montage cleverger.....	05
Figure 2	schéma du montage d'extraction par distillation à vapeur saturée.....	06
Figure 3	Schéma du procédé d'hydrodiffusion.....	07
Figure 4	Schéma du procédé d'extraction par solvant.....	08
Figure 5	photographie d'Extraction par micro- ondes.....	09
Figure 6	photographie et schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-onde.....	10
Figure 7	Schéma du procédé d'extraction par CO ₂ supercritique.....	11
Figure 8	Structure du linalol.....	13
Figure 9	Structure du 1,8-cinéole.....	13
Figure 10	Structure de l'eugénol.....	13
Figure 11	Structure du cinnamaldéhyde.....	13
Figure 12	Aspect morphologique de l'Eucalyptus globulus.....	23
Figure 13	Récolte des feuilles et des fruits d'eucalyptus globulus	32
Figure 14	Schéma du montage proposé pour l'extraction des huiles essentielles..	33
Figure 15	Photographie d'homogénéisation de la solution en HE à l'aide d'un agitateur magnétique.....	36
Figure 16	Photographie montrant le dépôt des disques.....	39
Figure 17	Photographie montrant la mesure des zones d'inhibition.....	40
Figure 18	Rendement (%) en huiles essentielle des fruits et des feuilles d'E.g.....	41
Figure 19	Les zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par l'HE des feuilles d'E. globulus en différentes concentrations.....	43
Figure20	Photographie montrant l'action de l'HE des feuilles sur les souches testées.....	44
Figure 21	Les zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par l'HE du fruit d'E. globulus en différentes concentrations.....	45
Figure 22	Photographie montrant l'action de l'HE du fruit sur les souches testées.....	47
Figure 23	La comparaison entre les zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par les HEs des fruits et feuilles d'E. globulus.....	48

Liste des tableaux :

Tableau I :	La classification botanique de l'espèce Eucalyptus globulus.....	24
Tableau II :	La composition chimique de l'essence d'eucalyptus globulus provenant de plusieurs pays.....	26
Tableau III :	Les essais de répétition d'extraction d'HE des fruits d'Eucalyptus globulus.....	28
Tableau IV :	Les essais de répétition d'extraction d'HE des feuilles d'Eucalyptus globulus.....	34
Tableau V :	Les souches microbiennes utilisées.....	37
Tableau VI :	Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés	40
Tableau VII :	Rendement d'extractions des HEs.....	41
Tableau VII :	Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.	38
Tableau VIII :	Transcription des diamètres d'inhibition de différentes concentrations (pure, diluée) d'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus globbulus.....	38
Tableau IX :	Transcription des diamètres d'inhibition de différentes concentrations (pure, diluée) d'huile essentielle du fruit d'Eucalyptus globbulus.....	41

Introduction

Historiquement, l'homme a utilisé son environnement et en particulier les plantes médicinales pour traiter différentes maladies [15]. Les antibiotiques ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la santé humaine. Leur utilisation a permis de diminuer le taux de mortalité et de morbidité mondiale depuis longtemps. Cependant, le mauvais usage de ces agents antimicrobiens et leur utilisation accrue ont eu pour conséquence de faire apparaître certaines formes de résistances des souches microbiennes contrebalançant les effets des antibiotiques [37].

Face à ce problème, beaucoup d'études ont été réalisées pour développer des molécules alternatives efficaces contre ces maladies infectieuses. En effet, depuis l'Antiquité, les plantes et leurs dérivés, tels que les huiles essentielles, ont été utilisés dans la médecine populaire [36]. Parmi les huiles essentielles utilisées en médecine, en parfumerie et aussi en industrie alimentaire, on retrouve celle des feuilles et fruits d'*eucalyptus globulus* (Tyagi et al., 2011). Elles ont des propriétés antiseptique, anti-inflammatoire (Hasegawa et al., 2008), antipyrétique, antalgique des céphalées, antispasmodique, et béchique (Tyagi et al., 2011). Ces huiles sont présentes sous forme de mélanges variables constitués principalement par des terpénoïdes, en particulier les monoterpènes (C10) et sesquiterpènes (C15), et également les diterpènes (C20) [39]. Elles contiennent une large série de métabolites secondaires qui peuvent inhiber ou ralentir la croissance des microorganismes [40]. Les composants bioactifs des HE ont des actions antimicrobiennes spécifiques. Ils agissent en particulier au niveau de la membrane et du cytoplasme, et dans certains cas, modifient complètement la morphologie des cellules [36].

En Algérie les eucalyptus occupaient une surface de 5855 hectares dont plus de la moitié dans la région oranaise. Actuellement, des plantations longent de littoral d'El-Kala et d'Azzefoune, on retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout.

Dans ce travail, nous avons essayé de mettre en évidence l'activité antimicrobienne de deux huiles essentielles d'*E.globulus* l'une des feuilles et l'autre des fruits sur la croissance des microorganismes, comme antibiotiques naturels alternatifs utilisés dans le traitement.

Notre travail comporte sur deux parties :

Introduction

La première partie est consacrée pour la synthèse bibliographique qui est composée de deux chapitres principaux :

- Le premier chapitre consiste une simple synthèse bibliographique sur les huiles essentielles.
- Le deuxième chapitre portera sur des généralités d'*Eucalyptusglobulus*.

Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisés dans cette étude ainsi que les résultats obtenus.

Le travail expérimental se déroule selon deux axes :

Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles des feuilles et de fruits d'*Eucalyptusglobulus*.

Dans le deuxième axe, nous nous sommes intéressés à évaluer le pouvoir antibactérien, antifongique des huiles essentielles vis-à-vis de trois souches bactériennes et un champignon (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*) responsables de maladies infectieuses.

En fin, nous avons énuméré les résultats obtenus à travers l'étude antimicrobienne de ces deux huiles essentielles ainsi que les perspectives que ce travail laisse à envisager.

1. 1. Origine et répartition géographique

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) [99].

L'arbre pousse surtout dans les régions chaudes [21]. Il est cultivé de nos jours dans quelques régions subtropicales d'Afrique et d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) [73]; Elle est acclimatée également dans le bassin méditerranéen, en France méridionale, en Espagne, au Portugal, en Italie et en Amérique [21, 26, 28].

1. 2. Description botanique de la plante :

L'*Eucalyptus globulus* (Fig. 1a) pousse surtout dans les régions chaudes. Il a néanmoins besoin d'une grande quantité d'eau pour croître. L'*eucalyptus* commun ou gommier bleu est un arbre sempervirent qui peut croître jusqu'à 30– 55 m de haut. Les feuilles d'*Eucalyptus globulus*, persistantes, ont la particularité d'être totalement différentes selon l'âge du rameau qui les porte. Les feuilles des arbres matures sont alternes, étroites et d'un vert foncé luisant (Fig. 1b). Ces feuilles matures renferment de nombreuses poches sécrétrices. Elles sont riches en HE responsable des propriétés thérapeutiques. Les feuilles poussent sur des tiges cylindriques et mesurent de 15 à 35 cm de long. Les boutons floraux, en forme de toupie, sont côtelés et recouverts d'un opercule aplati portant un bouton central. Les fleurs, de couleur crème (Fig. 1c), sont solitaires à l'aisselle des feuilles. Les fruits (Fig. 1d) ligneux mesurent 1,5 à 2,5 cm de diamètre et ont une capsule très dure, c'est en tombant au sol qu'ils laissent échapper les graines fécondées par des grains de pollen apportés principalement par les insectes [24, 27, 29, 32].

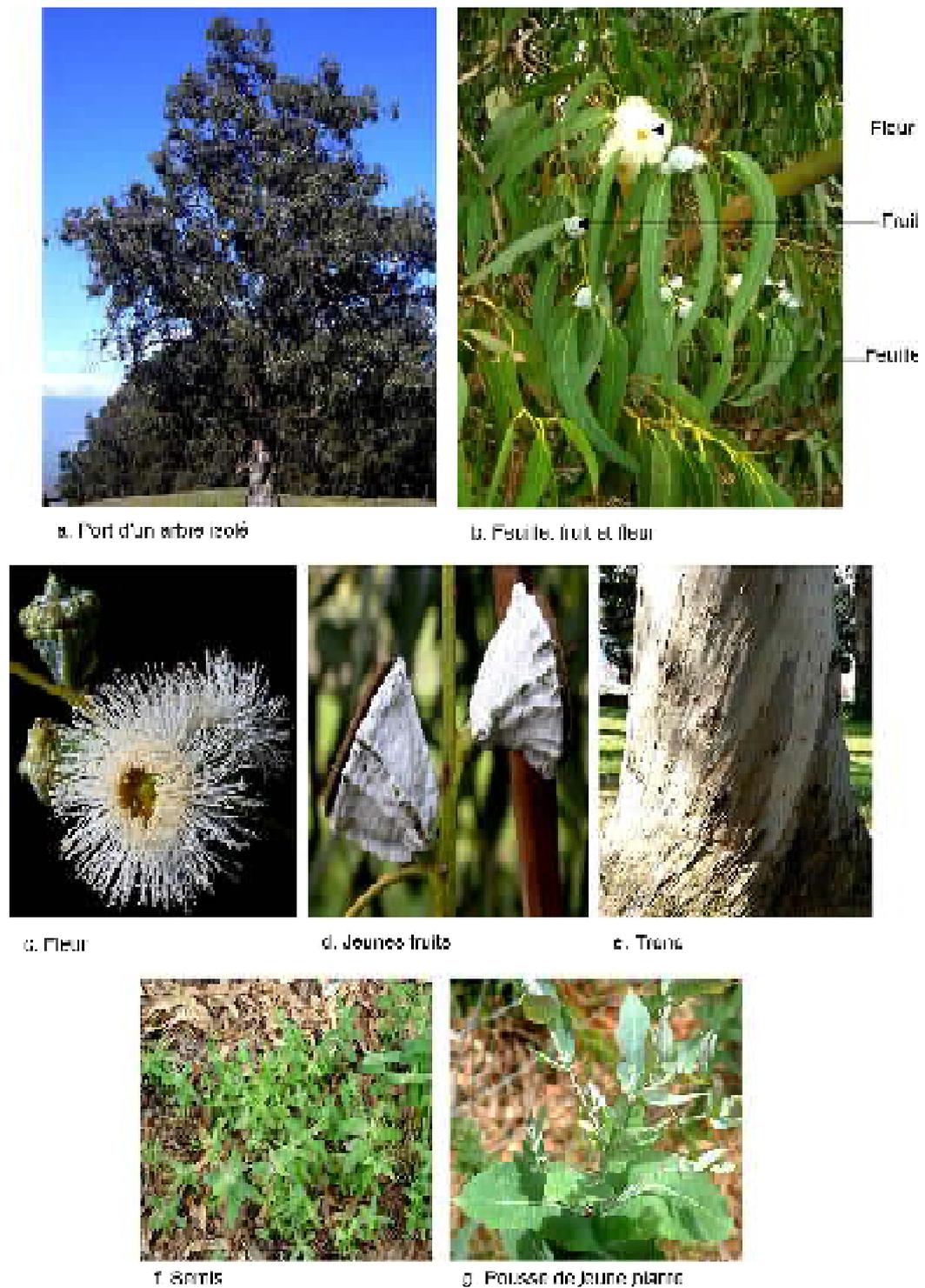


Figure 12 : Aspect morphologique de l'Eucalyptus globulus [21, 24]

1. 3.Etymologie et noms vernaculaires

Le nom « eucalyptus » vient du grec eu qui signifie « bon » ou « bien » et de kalypto qui signifie « couvrir », car les pétales et sépales sont soudés. Le nom commun de « gommier » fait allusion à la gomme résineuse rouge qu'ils exsudent quand ils sont

Chapitre1: EUCALYPTUS GLOBULUS

blessés [24,25]. Diverses appellations ont été attribuées à l'Eucalyptus globulus. Nous en citerons quelques-unes :

–En français : eucalyptus officinal ; gommier bleu ; arbre à la fièvre ; arbre au koala [30] ;

–En Arabe : kalibtous, kritus, Kalitûs,;Kalatus.

–En Targui ou Berbère : calitous;

–En Anglais: Australian fever tree; blue gum tree; Tasmanian blue gum[27, 21].

- En Allemand : Eukalyptusblätter[35].

1. 4. Classification d'eucalyptus globules :

La classification botanique de l'espèce Eucalyptus globulus est la suivante :

Tableau I :La classification botanique de l'espèce Eucalyptus globulus[27].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	Eucalyptus globulus(Labill.)

1.5. Production et commerce international :

La production commerciale d'huile essentielle (HE) d'*eucalyptus* a débuté en 1860, dans la région de Victoria en Australie. Actuellement, l'Australie, le Maroc, **l'Espagne** et certains pays de l'Europe de l'Est sont parmi les principaux producteurs [23,24]. Au XIXe siècle, on utilisait l'HE pour aseptiser les cathéters urinaux dans les hôpitaux anglais. De nos jours, elle entre dans la fabrication de rince-bouche (Listerine®, par exemple) et de dentifrices, de nombreuses préparations pharmaceutiques destinées aux

diverses affections des voies respiratoires et de solvants endodontiques utilisés en dentisterie. On s'en sert aussi comme dégraissant industriel[21,25,27].

1.6. Usage thérapeutique traditionnel :

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont la principale source d'huile 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 [23]. Et elle peut jouer également un rôle majeur dans l'assainissement des pays infestés par le paludisme.

En médecine traditionnelle africaine, l'infusion ou la décoction de feuilles se prend ou s'emploie en usage externe dans le bain, en lotion ou en lavement, contre l'asthme, la bronchite, l'amygdalite, les rhumes, les troubles urinaires et les hémorragies. On inhale la vapeur des feuilles séchées et bouillies en cas d'asthme, de toux, de grippe et de diphtérie, ou bien on inhale la poudre fine des feuilles.

Au Kenya, la décoction de feuilles est utilisée dans l'eau du bain pour traiter la varicelle chez les enfants, et aussi, on se sert des feuilles, fraîches ou séchées, pour lutter contre les escargots

En Éthiopie, on fait des gargarismes à base d'extrait de feuilles en cas de méningite.

En Afrique australe, on utilise les feuilles contre les maux d'estomac, La résine gommeuse de la plante s'utilise contre la diarrhée, et diverses préparations à base de feuilles sont utilisées comme insectifuge [24,31].

1.7. Composition chimique d'huile essentielle d'eucalyptus globulus :

L'essence d'eucalyptus est extraite par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles sèches (adultes plus riches en huile) ou encore des tiges terminales fraîches. Le rendement de l'opération d'extraction de l'HE varie de 1 à 3 %.

Il existe plusieurs variétés d'eucalyptus, et toutes ne possèdent pas les mêmes composants. Cependant, il y a certains composants qui sont présents dans la majorité des cas, et ceux-ci sont bien souvent ceux qui sont à l'origine des bienfaits thérapeutiques que l'on attribue à l'*eucalyptus* [4]. Parmi ces composés, le 1,8-cinéole ou eucalyptol (70 à 80

Chapitre 1: EUCALYPTUS GLOBULUS

(%) (Fig. 3) est sans doute le plus connu, car il est un expectorant, peut soulager la toux et lutter contre les problèmes des voies respiratoires.

Les autres constituants de cette HE sont très divers, nombreux et minoritaires. Pinène, limonène, et au moins 250 autres composés, dont citronellal, cryptone, pipéritone, viendront étoffer la liste des nombreux composés aux vertus médicinales de l'eucalyptus [22, 26].

Le tableau suivant illustre une étude menée par Coppen [31] sur la composition chimique de l'essence d'*eucalyptus globulus* provenant de plusieurs pays.

Tableau II : la composition chimique de l'essence d'*Eucalyptus globulus* provenant de plusieurs pays [31]

Auteurs (année)	Abondance relative (%)							
	Mulyaningsih et al. (2010) [13]	Goldbeck et al. (2014) [14]	Vilela et al. (2009) [15]	Elaissi et al. (2012) [16]	Manika et al. (2013) [17]	Kumar et al. (2012) [18]	Tyagi et Malik (2011) [19]	Boukhatem et al. (2014) [20]
Pays	Allemagne	Brésil	Brésil	Tunisie	Inde	Inde	Inde	Algérie
Composés								
α -pinène	1,53	8,30	–	12,0	1,2	–	4,2	24,6
β -myrcène	–	–	0,49	–	0,1	1,88	1,5	–
α -phellandrène	2,61	–	–	–	–	0,93	1,3	–
Limonène	–	–	–	2,3	–	10,09	17,8	–
<i>p</i> -cymène	0,49	1,79	–	1,0	–	–	9,5	–
1,8-cinéole	14,55	71,05	89,95	53,7	63,7	33,62	45,4	51,08
γ -terpinène	0,18	–	0,25	–	0,8	2,92	8,8	–
Linalool	0,12	–	–	–	0,3	2,34	0,5	–
Pinocarvone	–	0,75	0,30	1,7	–	–	0,4	9,98
Boméol	0,41	–	–	–	–	–	0,1	0,34
Terpinène-4-ol	1,87	–	0,72	–	1,4	2,42	1,4	0,17
α -terpinéol	0,85	0,79	0,62	3,3	0,9	4,72	3,6	0,4
Géraniol	Trace	–	–	–	0,3	0,24	0,1	–
Aromadendrène	31,17	–	–	3,7	13,5	–	–	–
Viridiflorol	0,24	–	–	1,7	–	–	–	–
Globulol	10,69	3,51	–	7,0	3,4	–	–	2,81

– : non détecté. Les composés en gras ont été retrouvés comme majoritaires dans l'huile essentielle

Ce tableau représente une revue de la littérature scientifique fait apparaître que les facteurs pédoclimatiques exercent une grande influence sur la variabilité dans le profil chromatographique des extraits aromatiques des plantes aromatiques et médicinales (PAM). Cette variabilité dépend des périodes de la récolte (estivale ou hivernale) des plantes à parfum, des caractéristiques du climat et particulièrement de la température, de

la durée d'ensoleillement, de la pluviométrie, de l'altitude et de la nature de sol. En outre, la composition chimique d'une HE est tributaire de plusieurs facteurs, biotique et abiotique. Plusieurs études ont été faites dans ce sens dans le but de justifier les fluctuations qui ont été observées dans le tracé chromatographique de cet arbre à parfum[32, 33, 34].

1.8. Activité biologique d'huiles essentielle d'eucalyptus globulus :

1. 8. 1. Antibactérienne

Des tests in vitro mettent en évidence l'activitéantibactérienne de l'huile essentielle, du terpinen-4-ol et d'autres constituants a l'encontre de diverses souches bactériennes telles que Staphylococcus aureus, y compris les souches résistantesa la methicilline[72] ainsi que les germes associes a la formation de la plaque dentaire [62].

L'effet antiseptique bactéricide de l'huile essentielle est supérieurea celui du 1,8 cinéole utilisé seul. La CMI variant de 0,25 % (*Listeria monocytogenes*) a 2 % (*Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*).

L'huile essentielle désinfecte la région ORL, l'arbre respiratoire, les voiesurinaires et les affections cutanées et vaginales. Une partie de l'huile essentielle est éliminée par le rein et la voie urinaire. Elle agit sur les *Escherichiae*,*Proteus*, *Saphtylococcus aureus*, etc[61,70].

1. 8. 2. Antivirale

L'HE d'Eucalyptus globulus possède une activité antivirale, notamment importante contre Herpes SimplexVirus (HSV) [62], et sur HIV[68, 69].

L'HE peut être utilisée pour traiter un bouton defièvre, appliquée soit pure, soit en en versant une gouttedans une pommade d'aciclovir. L'activité antivirale évaluée in vitro vis-à-vis du virus de la grippe A a été attribuéea la quercitrine et a l'hyperoside[60] .

1. 8. 3. Antifongique

En plus de ses propriétés antibactériennes et anti virales, l'HE d'*Eucalyptus globulus*présente des propriétés antifongiques. De ce fait, son usage en diffusion est recommandé [93].

1. 8. 4. 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* [95, 96]. 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 [97].

1. 8. 5. antioxydante

Selon l'étude menée par Mishra et al. (2010), l'huile essentielle de *E. globulus* montre une activité antioxydante avec un pourcentage de piégeage du radical DPPH de $79 \pm 0,82\%$ à une concentration de 80% (V/V). Cette huile à une forte activité antioxydante grâce à sa composition riche en cinéole (95,61%) [2].

1.8. 6. antiparasitaire

De nombreuses études sur l'activité antiparasitaire des huiles essentielles d'*E. globulus* ont été réalisées, exemple celle de Khodadad Pirali-Kheirabadi, (2009) contre *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* où une concentration de 5% de cette huile a pu inhiber 25% de la reproduction chez ces parasites [3].

1.9. Propriétés pharmacologiques :

1.9.1. Antidiabétique :

Les feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète (12). L'effet antidiabétique, probablement dû à un tanin, est effectif lors de l'utilisation d'un extrait sans huile essentielle. Cet effet a été contrôlé chez l'animal, où l'hyperglycémie est abaissée chez des souris traitées à la streptozotocine recevant 62,5 g/kg d'eucalyptus dans le régime alimentaire dilué dans 2,5 g/L [60].

1.9.2. Cicatrisante :

Grâce à la présence de 1,8-cinéole, l'HE d'*Eucalyptus globulus* est douée de propriétés cicatrisantes. Employée pour désinfecter les plaies et raccourcir le temps de cicatrisation, elle est particulièrement efficace dans le traitement des ampoules, des brûlures, des coupures, des blessures et des plaies [93,94].

1.9.3. Activité anti-inflammatoire et analgésique :

Des études attestent que l'HE d'*Eucalyptus globulus* possède des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques grâce à la présence de 1,8-cinéole.

L'effet anti-inflammatoire, par inhibition de la biosynthèse des prostaglandines, a été comparé à celui de l'indométacine. Il est lié à une partie de son huile essentielle, à ses acides-phénols et flavonoïdes[63].

Le cinéole inhibe partiellement la production des médiateurs de l'inflammation issus du métabolisme de l'acide arachidonique[62].

L'HE inhibe la formation des prostaglandines et de cytokines par les monocytes. Elle peut être employée dans les douleurs musculaires et rhumatismales, en massage, diluée à 10 % dans de l'huile végétale (HV), de Millepertuis par exemple[93].

1.10. Quelques microorganismes sensibles à l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* :

1.10.1. *Candida albicans* :

Candida albicans est une levure commensale de la voie orale, vaginale, gastro-intestinale, cutanée et des surfaces muqueuses. Elle est considérée comme pathogène fongique opportuniste le plus commun chez l'humain.

En réponse à des changements dans l'équilibre nutritif ; la température et le pH ; des transitions morphologiques entre la forme levure et la forme hyphes peuvent être subites.

Exceptionnellement et sous certaines conditions ; *candida albicans* peut former des chlamydospores[111].

Cette levure possède des mécanismes d'adaptation complexes ; lui permettant de survivre dans diverses conditions environnementales et de causer une grande variété d'infection : superficielles (candidoses muco-cutanées) ou profondes (candidoses systémiques, souvent mortelles). La transition saprophyte-pathogène s'opère à la suite d'une baisse des défenses immunitaires de l'hôte (locales ou générales), permettant la multiplication des levures [112,113].

1.10. 2. *Escherichia coli* :

Escherichia coli est un bacille à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* [103]. C'est une bactérie aéro-anaérobie facultative commensale de l'intestin de l'Homme et des autres mammifères [104].

Cette espèce est opportuniste, parfois strictement pathogène, généralement sensible aux antibiotiques mais également multi résistante voire toto résistante aux antibactériens[103].

Les *E. coli* sont responsables d'infections variées allant de diarrhée aqueuse à la colite hémorragique pouvant évoluer vers un syndrome hémolytique et urémique chez l'enfant, ou une micro-angiopathie thrombotique chez l'adulte [105], comme elles peuvent provoquer des infections urinaires, des bactériémies et des méningites néonatales[106].

1.10. 3. *Bacillus subtilis*

Le genre *Bacillus* correspond à des bactéries en forme de bâtonnets (1,2 à 10 µm de long), chimio-hétérotrophes, généralement mobiles (présence de flagelles péritriches), habituellement présentes dans le sol. Ce sont des bactéries aérobies strictes ou facultatives[115, 116]

La bactérie *Bacillus subtilis* est « l'espèce type » du genre et la bactérie Gram-positive la plus étudiée. Son génome a ainsi été l'un des premiers à être complètement séquencé [117]. En réponse à des conditions défavorables, ces bactéries ont donc la capacité de former par enkystement des endospores métaboliquement inactives et qui peuvent survivre sous cette forme plusieurs millions d'années.

Elle est une bactérie résistante, présente dans les sols. Elle contamine les aliments et une fois ingéré, *Bacillus subtilis* peut être à l'origine d'une intoxication alimentaire [118].

1.10.4. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à coloration de Gram positive, appartenant à la famille des Micrococcaceae, est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Les fosses nasales antérieures constituent, avec les zones humides de la peau (aisselle, poignets, périnée), le site réservoir essentiel de *S. aureus*[108].

S. aureus est caractérisé par de nombreux facteurs de virulence[107], et elle est responsable de plusieurs manifestations pathologiques, suppuratives et nécrotiques : suppurations localisées, septicémies et endocardites, ainsi que des toxi-infections alimentaires[109].

2. 1. Définition :

Le mot huile est attribué à son caractère hydrophobe et à ses propriétés de solubilisation dans les graisses, alors que le mot essentiel reflète l'odeur distinctive dégagée par la plante productrice [36,38].

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). Elle est obtenue par un procédé d'extraction mécanique, par entraînement à la vapeur d'eau ou par distillation à sec. [51]

Les HE 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 [36].

Ces liquides sont fabriqués à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré. L'huile essentielle est un extrait pur et naturel de la partie odoriférante des plantes aromatiques [99,100].

2. 2.Historique :

L'utilisation des arômes pour soigner n'est pas une technique récente. Dans toutes les civilisations de l'antiquité, la mention des arômes est présente, pour des usages religieux, cosmétiques, mais aussi thérapeutiques.

D'abord on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions [101]. Ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante [11]. En cela l'Inde, la Chine et l'Égypte semblent avoir été à l'origine de la recherche [99].

2. 3. Répartition des huiles essentielles dans la plante :

De point de vue physiologique, les plantes aromatiques synthétisent les HE dans des structures végétales très spécifiques. Ces structures sont de nature différente en fonction de la plante aromatique. En général, on trouve les trichomes glandulaires, les

cavités sécrétrices et les canaux sécréteurs [43]. Ces trois structures peuvent être présentes chez certaines espèces dans tous les organes végétaux (fleurs, feuilles et écorces) [36].

2. 4. Classification des huiles essentielles :

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont classées en groupe :

- Les huiles majeures.
- Les huiles médiums.
- Les huiles terrains. [79,85].

2. 5. Méthodes d'extraction des HEs :

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de l méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction quel que soit le type d'extraction utilisé [75].

2. 5. 1. Entraînement à la vapeur d'eau :

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraîna bles par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe.

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation [87].

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux :

Au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent.

Au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau[79].

Chapitre1: EUCALYPTUS GLOBULUS

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydro distillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

➤ **l'hydro distillation (La méthode de Moritz) :**

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

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (figure 1). Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon [4].

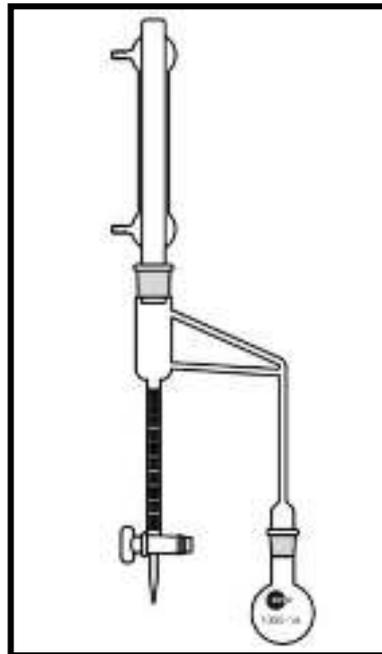


Figure 1 : Schéma du dispositif d'hydrodistillation en montage Clevenger [4]

➤ Distillation à vapeur saturée (La méthode de Parnas-Wagner) :

La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales

Dans cette méthode, la matière végétale est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic et n'est pas en contact avec l'eau (**figure 2**). Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation.

En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées. [4,5,6,79].

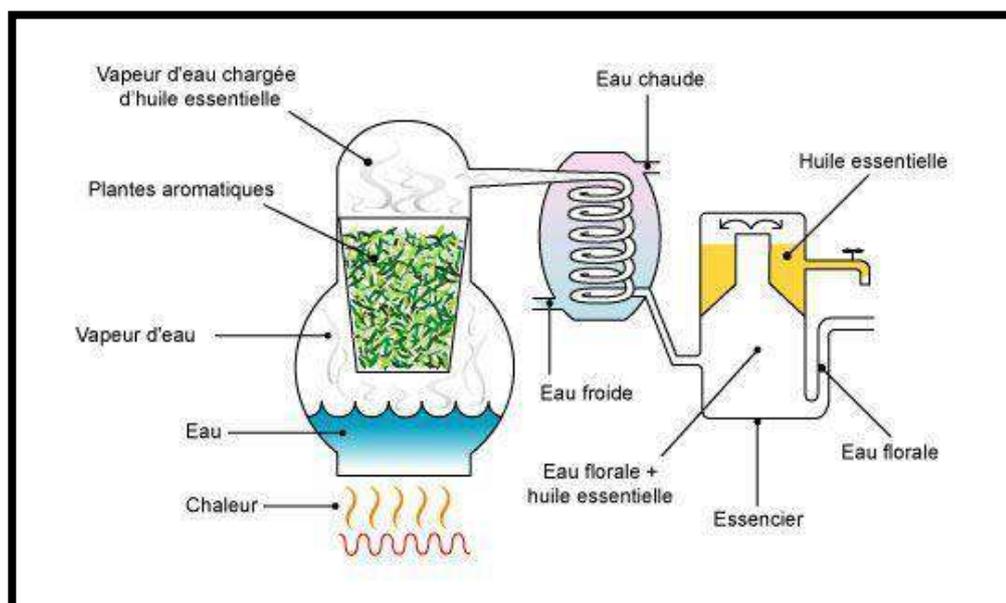


Figure 2 : schéma du montage d'extraction par distillation à vapeur saturée (Fabrocini, 2007)

➤ Hydrodiffusion

D'après (Acquaronne et al., 1998) le terme hydrodiffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composants aromatiques dépendants d'avantage de leur solubilité dans l'eau que de leur point d'ébullition. Si l'hydrodiffusion constituait

l'étape limitant de l'hydrodistillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leurs polarités et non par volatilités[17].

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (**figure 3**). Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, de haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

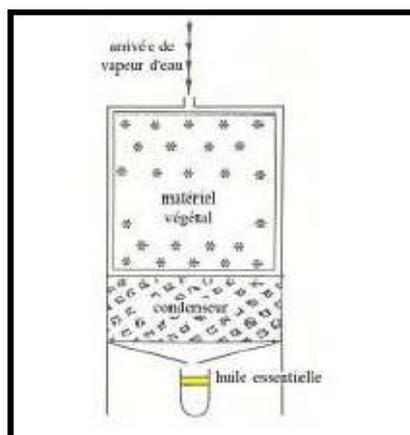


Figure 3 : Schéma du procédé d'hydrodiffusion(Bouaine A., 2017)

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [4].

2. 5. 2. L'expression à froid :

C'est une technique d'extraction utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes, comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. où les fruits sont pressés à froid. Ensuite, par centrifugation, on sépare l'huile essentielle du jus de fruit.

Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation.

D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

Cette technique permet d'extraire à faible coût des essences de bonne qualité [74,75,76,79].

2. 5. 3. Extraction par les corps gras :

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras [79,89].

2. 5. 4. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont : l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (**Kim et al., 2002**). Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de **Soxhlet** ou un appareil de **Lickens-Nickerson (figure 6)**. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (**Hubert, 1992**). [4]

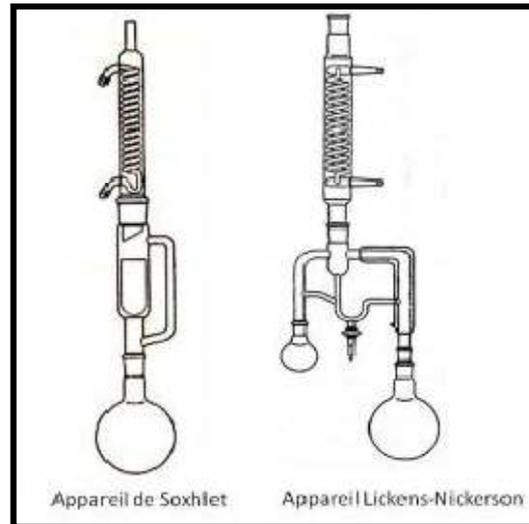


Figure 4 : Schéma du procédé d'extraction par solvant(Bouaine A., 2017)

2. 5. 5. Extraction par micro- ondes :

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum MicrowaveHydrodistillation) (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel [4,89,90].



Figure 5 : photographie d'extraction par micro- ondes(Bouaine A., 2017)

2. 5. 6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques (Wang et al., 2006). Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale. Le montage obtenu se rapproche sensiblement d'un montage d'hydrodistillation classique (figure 5). Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Les graines sont en permanence humides, ce qui ne laisse aucune chance à la réalisation d'éventuelles réactions secondaires, néfastes à la qualité du produit obtenu (Lucchesi, 2006) [4].

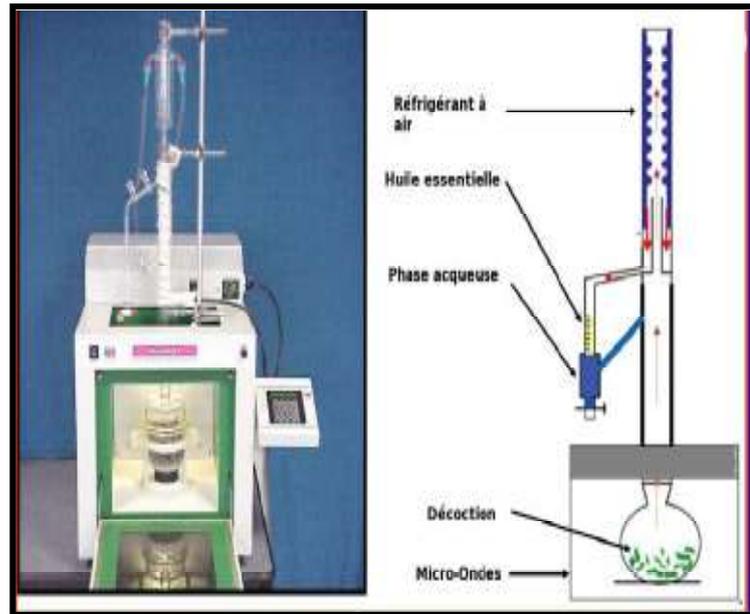


Figure 6 : photographie et schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-onde(Bouaine A., 2017)

2. 5. 7. Extraction au CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essence, et entraîne les H.E qui seront, ensuite, récupérées (Scimeca, 2007).

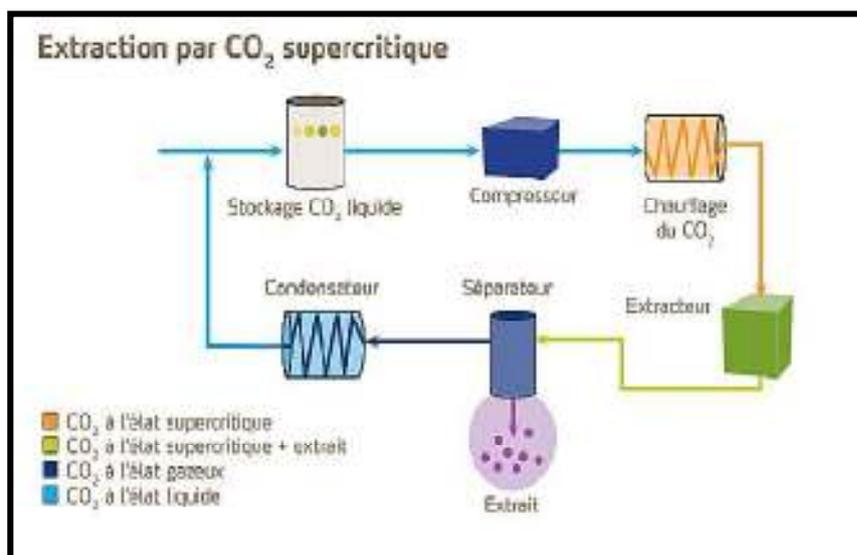


Figure 4 :Schéma du procédé d'extraction par CO₂ supercritique(Bouaine A., 2017)

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles (**Martini et al., 1999**). Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables [4].

2. 5. 8. Extraction par Enfleurage

Cette méthode n'est presque plus utilisée car elle est très couteuse. Cette technique permettrait de traiter des fleurs fragiles (comme le jasmin) qui conservaient leur odeur après la cueillette mais qui ne supportaient pas la chaleur. Après avoir été soigneusement triées, les fleurs étaient repiquées délicatement dans la graisse. Après un certain temps, l'huile essentielle passe des fleurs à la graisse et devient plus facile à récupérer, en lui ajoutant l'alcool, qui sert de vecteur à l'huile essentielle. Finalement, par simple évaporation de l'alcool, on récupère l'huile essentielle seule [74,75,76].

2. 5. 9. Extraction par Macération (enfleurage à chaud)

À l'inverse de l'enfleurage ou l'extraction s'effectuait à température ambiante, la macération utilise les mêmes graisses mais à chaud ; ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant. L'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisse chaude (50-70 °C) jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse [74,78].

2. 6. La conservation des HE

Si elles sont entreposées correctement, les HE distillées de bonne qualité peuvent être conservées au moins cinq ans, voire plus, et celles provenant d'agrumes exprimés, au moins trois ans [92]. Les HE ne rancissent pas, contrairement aux huiles végétales, mais elles peuvent s'oxyder et donc former des résidus résineux.

Idéalement, il est conseillé de conserver les HE dans leur conditionnement d'origine, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Il est important de bien visser le bouchon, car elles sont très volatiles et risquent de s'évaporer rapidement [91].

2. 7. La composition chimique des huiles essentielles :

La teneur et la composition d'une HE peuvent varier entre la même espèce provenant de deux origines différentes et parfois même au sein de la même plante entre deux organes différents

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane [98].

2. 7. 1. Composés terpéniques :

Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq atomes de carbone, l'isopenténylpyrophosphate [45]. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C5) qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, proviennent de la condensation de plusieurs isoprènes et forment ainsi les monoterpénoïdes (deux unités isopréniques C10) et les sesquiterpénoïdes (trois unités isopréniques C15) [46,36].

Seuls les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15 peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C20 et triterpènes en C30) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés selon :

- leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ;
- leur structure : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) [98].

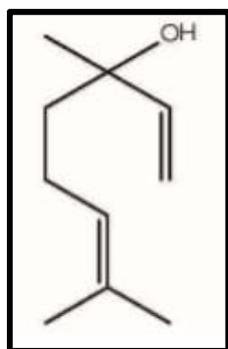


Figure 8 : Structure de linalol

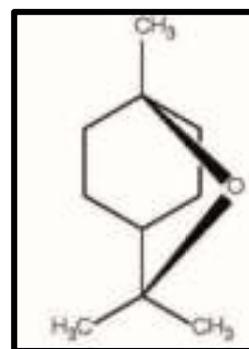


Figure 9 : Structure de 1,8-cinéol

2. 7. 2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Les composés phénoliques (phénylpropanoïdes) sont biométabolisés à partir de deux précurseurs essentiels (acides aminés aromatiques) [45]. Ces composés phénoliques sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle [47,36]

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE decannelle), l'eugénole (HE de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrôle (HE de saffras). Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont, pour la plupart, entraînaibles par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines huiles essentielles (ex. HE de céleri) [98].

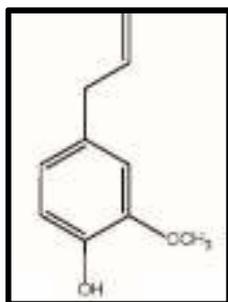


Figure 10 : Structure de l'eugénole

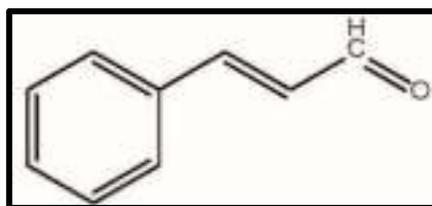


Figure 11 : Structure de cinnamaldéhyde

2. 8. Propriétés physico-chimiques :

D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont : Les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Plusieurs autres se sont intéressés aux caractérisés physico -chimique de l'huile essentielle se présentent comme suit :

- Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon...) Elles contiennent des substances volatiles dans le végétal ce qui les différencie des huiles « fixes ».

➤ Toutes les huiles volatiles sont acres, très inflammables, et très odorantes. Elles ne sont très rarement colorées, (sauf quelques exceptions) mais prennent peu à peu une coloration bleu clair (camomille, patchouli) est due à la présence de chamazulène (carbure sesquiterpénique qui est l'azulène).

Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques usuels, les huiles grasses, et dans les alcools à titre élevé et l'éther. La plupart des huiles sont plus légères, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

➤ Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles elle est d'ordre de 0,1% à 1%, ceci explique le coût élevé de l'HE, à l'exception de quelques-unes comme par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence. L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarisée, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont contenues dans des molécules asymétriques.

➤ Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

➤ Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leur propriété, lorsqu'elles sont exposées au soleil, ou lumière, ou à leur chaleur, elles absorbent de grande quantité d'oxygène à l'air en se résinifiant, en même temps leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue. Elles doivent être conservées dans des flacons en verre coloré bien fermés, à l'abri de l'air, de la lumière pour une meilleure protection [97,80,82,84].

2. 8. Le rôle des HEs au sein d'une plante :

Les études réalisées suggèrent que ces essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs (micro-organismes, champignons, insectes, herbivores) en modulant les comportements de ceux-ci vis-à-vis des plantes [56].

Les études ont montré que les terpènes contenus dans les huiles essentielles, jouent des rôles très importants dans divers processus biologiques et chimiques : défense contre les facteurs biotiques et abiotiques ; médiateurs chimiques de communication de la plante avec son environnement ; marqueurs chémotaxonomiques pour l'identification [51,52]

Les huiles essentielles peuvent être aussi comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaires protégeant ainsi la plante contre les agents atmosphériques. Les

plantes aromatiques utilisent ces huiles également pour inhiber la germination et le développement d'autres espèces végétales dans leur voisinage (effet allélopathique) [41]. C'est le cas par exemple de *Salvia leucophylla* qui libère dans l'atmosphère des substances telles que le camphre et le 1,8-cinéole afin d'inhiber la germination et le développement d'autres espèces en concurrence.

D'autres effets sont liés à l'attraction des insectes pollinisateurs, à la dispersion des graines et à la répulsion des herbivores [42,36].

2. 10. L'activité biologique des huiles essentielles :

2. 10. 1. Activité antibactérienne :

Les HE et leurs composants majoritaires se sont révélés efficaces dans le contrôle de la propagation de certains agents bactériens [48]. Les propriétés antibactériennes des HE sont connues depuis longtemps et aujourd'hui, un bon nombre de publications importantes ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes même parfois à de très faibles concentrations [38].

Plusieurs molécules présentes dans les HE sont douées de propriétés antibactériennes, en particulier les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde) [36].

Des composés tels que le thymol, le carvacrol, le linalol, l'alpha-pinène, le 1-8 cinéol et l'alpha-terpinéol sont par exemple connus pour leur effet bactériostatique à faible concentration et bactéricides à plus forte concentration [53,51].

Les effets antibactériens sont influencés par différents facteurs tels que la composition chimique de l'HE testée, la méthode expérimentale utilisée et la souche bactérienne testée. Leur action antibactérienne dépend à la fois des composés majoritaires, des effets synergiques et/ou additifs et des composés mineurs qui y sont présents [49,36].

2.10. 2. L'activité antifongique :

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques [16].

Une étude marocaine sur les huiles essentielles de trois plantes aromatiques (*Thymus vulgaris*, *Menthaspicata* et *Citrus limonum*) a montré qu'elles présentent des activités inhibitrices significatives sur trois souches de dermatophytes responsables de la surinfection de l'eczéma de contact. Cette activité antifongique est liée à l'inhibition de la croissance mycélienne notamment avec de fortes concentrations en huiles essentielles[15].

Les éléments fongicides des huiles essentielles sont le citral (géranial, néral), le carvacrol, le thymol, l'eugénol et le 1,8-cinéole. Selon Larrondo et Calvo [20], l'effet fongicide d'une huile essentielle réside dans les inhibitions du métabolisme et de la croissance des souches fongiques, souvent en relation avec la destruction de membranes lipidiques. Cela entraîne une plus grande perméabilité et une rupture des structures du champignon[19].

2.10. 3. L'activité antivirale :

Une autre propriété très intéressante des essences, c'est le pouvoir antiviral. Une étude en 2007 sur *Cinnamomum cassia* met en évidence une activité sur plusieurs formes de virus de la grippe chez la souris, dont le H1N1. Des administrations intra- nasales chez des souris infectées ont même permis d'obtenir des taux de survie de 100 % contre 20 % chez des groupes témoins.

En 2009, un autre travail met en avant, une fois de plus, les propriétés du tea tree contre les virus de l'herpès, les poliovirus 1, l'échovirus 9, les adénovirus, le coxsackie B1 et le virus H1N1.

Des études récentes ont porté sur les effets d'un mélange breveté, Pur essentiel assainissant, spray aux 41 huiles essentielles. le mélange a été mis en suspension avec une suspension d'un poliovirus de type 1 et un adénovirus de type 5. Dès cinq minutes, la quantité de virus est réduite de 10 000 fois[50].

Le β -pinène et le limonène sont par exemple des composés organiques volatils naturels ayant montré des propriétés antivirales, notamment contre le virus Herpes simplex de type 1 [51,54].

2. 10. 4. L'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) [4].

2. 10. 5. L'activité anti-inflammatoire :

L'activité multiple d'huile essentielle est un bénéfice substantiel car de nombreux médiateurs participent à l'inflammation. Ce qui fait contraste avec la pharmacologie des substances qui n'ont qu'une seule cible biologique.

Les expérimentations animales utilisant le géranium et d'autres huiles essentielles indiquaient qu'elles étaient en mesure d'inhiber l'accumulation des cellules de l'inflammation induite par l'injection de curdlane [57].

L'huile essentielle de géranium supprime aussi l'œdème et l'arthrite ce qui suggère un intérêt thérapeutique possible dans les affections inflammatoires aiguës et chroniques [58].

Les huiles essentielles telles que celle de l'aurone du cèdre himalayen, de l'arbre à thé ainsi que l'eugénol pris en l'état suppriment les réactions d'hypersensibilité immédiates comme la pollinose et l'allergie retardée [57].

D'autre part, l'huile essentielle de Gaulthérie couchée est composée à plus de 99% de salicylate de méthyle, d'où son utilisation très répandue dans les douleurs musculo-articulaires pour les effets antalgiques anciennement démontrés et connus des salicylates [31,55].

2. 10. 5. L'activité immunostimulante :

Parmi les objectifs de l'aromathérapie anti-infectieuse, il est indispensable de renforcer la défense de l'organisme contre le pathogènes et aussi d'augmenter le pouvoir de la guérison naturelle.

Les substances odoriférantes auraient un potentiel en tant qu'agent immunostimulant qui viendrait de leur action sur le système nerveux autonome et sur les glandes endocrines par l'intermédiaire de l'hypothalamus.

De ce fait, il est probable que les huiles essentielles excitant le système nerveux sympathique par l'intermédiaire de la voie bêta-adrénergique, telles que les huiles de pamplemousse, de fenouil et d'estragon activeraient les granulocytes alors que celles de la rose, de la lavande et de la valériane qui affectent l'innervation parasympathique à travers la voie cholinergique, activeraient les lymphocytes.

Ceci est confirmé par le fait que l'huile essentielle de lavande fait augmenter le taux des lymphocytes sériques et des IgAs salivaires.

La fonction immunologique est corrélée à celle de la fonction endocrinienne par l'intermédiaire de facteurs de modulation neuroendocrinien [57].

2. 11. Domaines d'application des huiles essentielles

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plants aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie ; l'aromathérapie....

2.11.1. L'utilisation des huiles essentielles dans l'industrie agroalimentaire :

Les vertus antiseptiques et en même en temps les propriétés aromatisant des essences'utilisent quotidiennement dans les préparations culinaires avec le thym, ail, laurier...

Les essences aromatiques donnent aux condiments (poivre, gingembre,) et aux aromates(menthe, anis,...) leur saveurs .Les arômes sont à base d'huiles essentielles (citron, anis vanille, ...) ainsi les essences d'anis et de badiane sont les principales sources d'éthanolnaturel, composé utilisé en liquoristerie (fabrication des boissons anisées), et en confiserie(bonbons, chocolats,...). De même la vanille sert à aromatiser les biscuits, les chocolats, lesglaces.

Par ailleurs, le pouvoir anti-oxydant de certaines essences permet la conservation des aliments en évitant les moisissures. C'est ainsi que le thym et le romarin sert à conserve lasemence. Les menthes sont d'excellents condiments crus hachées dans les salades ou

dans divers plats ou bien sous formes de sauce à la menthe pour aromatiser les crèmes et les flans.

Actuellement, l'industrie agroalimentaire utilise des essences dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien).

2.11.2.L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bais « calmant » ou « relaxant »), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. [81,86]

2. 11. 3. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie :

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière : L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive.

Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules, pommade ...etc [79].

2. 12. Les voies et modes d'administration

Chapitre1: EUCALYPTUS GLOBULUS

➤ Les HE peuvent s'administrer par voie orale, mais jamais pures sans avis médical ou pharmaceutique afin d'éviter toute brûlure digestive ou de la langue.

L'idéal est de prendre les HE diluées dans une cuillère à café d'huile végétale alimentaire, de miel ou de sirop d'agave.

➤ Les HE peuvent s'appliquer en massage sur la peau. L'épiderme agit en effet comme un filtre et l'action des principes actifs en est prolongée.

➤ Les HE s'administrent aussi par voie rectale, sous la forme de suppositoires. Mais il faut rester prudent et respecter strictement les posologies car elles peuvent être irritantes pour la muqueuse.

➤ La voie inhalée est utilisée pour contrer les affections ORL.

➤ Certaines HE sont adaptées à une diffusion atmosphérique, de préférence grâce à un diffuseur pour :

✓ Une désinfection ORL (sapins et pins, Ravintsara, Niaouli, Eucalyptus radié, Romarin à cinéole, Marjolaine sylvestre ou à coquilles...);

✓ Assainissement de l'air (Bois de rose, Géranium, Citron et autres agrumes, Lemongrass, Verveine exotique);

✓ Utilisation pour la détente (Lavande vraie, Orange douce, Mandarine, Verveine exotique ou citronnée, Géranium, Ylang-ylang, Camomille noble...).

➤ Dans un bain aromatique, les HE doivent être diluées, par exemple dans un gel douche, ou une tasse de lait liquide [91].

2. 13. Toxicité des huiles essentielles

Plusieurs HE sont connus pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à anéthol à action convulsivante à forte dose ; il en est de même des essences à thuyone (thuya). Notons que les essences absorbées seules comme médicaments, en usage interne (aromathérapie), peuvent présenter une certaine toxicité (**Binet et Brunel, 1968**).

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

Chapitre1: EUCALYPTUS GLOBULUS

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 (**Scimeca, 2007 ; Lambert, Skandamis et al., 2001**) [4].

2. 1. Définition :

Le mot huile est attribué à son caractère hydrophobe et à ses propriétés de solubilisation dans les graisses, alors que le mot essentiel reflète l'odeur distinctive dégagée par la plante productrice [36,38].

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). Elle est obtenue par un procédé d'extraction mécanique, par entraînement à la vapeur d'eau ou par distillation à sec. [51]

Les HE 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 [36].

Ces liquides sont fabriqués à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré. L'huile essentielle est un extrait pur et naturel de la partie odoriférante des plantes aromatiques [99,100].

2. 2. Historique :

L'utilisation des arômes pour soigner n'est pas une technique récente. Dans toutes les civilisations de l'antiquité, la mention des arômes est présente, pour des usages religieux, cosmétiques, mais aussi thérapeutiques.

D'abord on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions [101]. Ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante [11]. En cela l'Inde, la Chine et l'Égypte semblent avoir été à l'origine de la recherche [99].

2. 3. Répartition des huiles essentielles dans la plante :

De point de vue physiologique, les plantes aromatiques synthétisent les HE dans des structures végétales très spécifiques. Ces structures sont de nature différente en fonction de la plante aromatique. En général, on trouve les trichomes glandulaires, les cavités sécrétrices et les canaux sécréteurs [43]. Ces trois structures peuvent être présentes chez certaines espèces dans tous les organes végétaux (fleurs, feuilles et écorces) [36].

2. 4. Classification des huiles essentielles :

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens, et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont classées en groupe :

- Les huiles majeures.
- Les huiles médiums.
- Les huiles terrains. [79,85].

2. 5. Méthodes d'extraction des HEs :

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction quel que soit le type d'extraction utilisé [75].

2. 5. 1. Entraînement à la vapeur d'eau :

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînés par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe.

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation [87].

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux :

Au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent.

Au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau [79].

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydro distillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

➤ **l'hydro distillation (La méthode de Moritz) :**

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

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (figure 1). Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon [4].

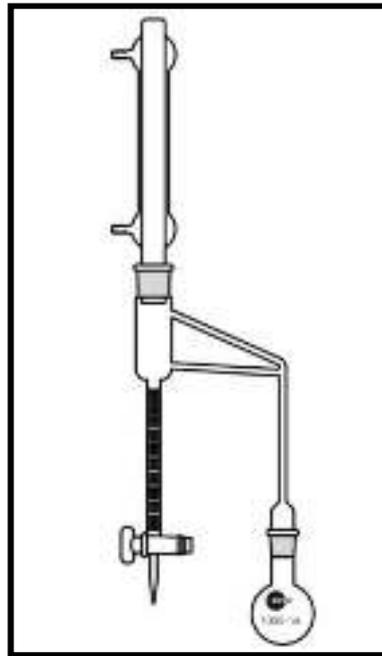


Figure 1 : Schéma du dispositif d'hydrodistillation en montage Clevenger [4]

➤ **Distillation à vapeur saturée (La méthode de Parnas-Wagner) :**

La distillation à vapeur saturée est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle dans l'industrie pour l'obtention des huiles essentielles à partir de plantes aromatiques ou médicinales

Chapitre 2 : les huiles essentielles

Dans cette méthode, la matière végétale est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic et n'est pas en contact avec l'eau (**figure 2**). Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation.

En général, elle est pratiquée à la pression atmosphérique ou à son voisinage et à 100°C, température d'ébullition d'eau. Son avantage est que les altérations de l'huile essentielle recueillie sont minimisées.[4,5,6,79].

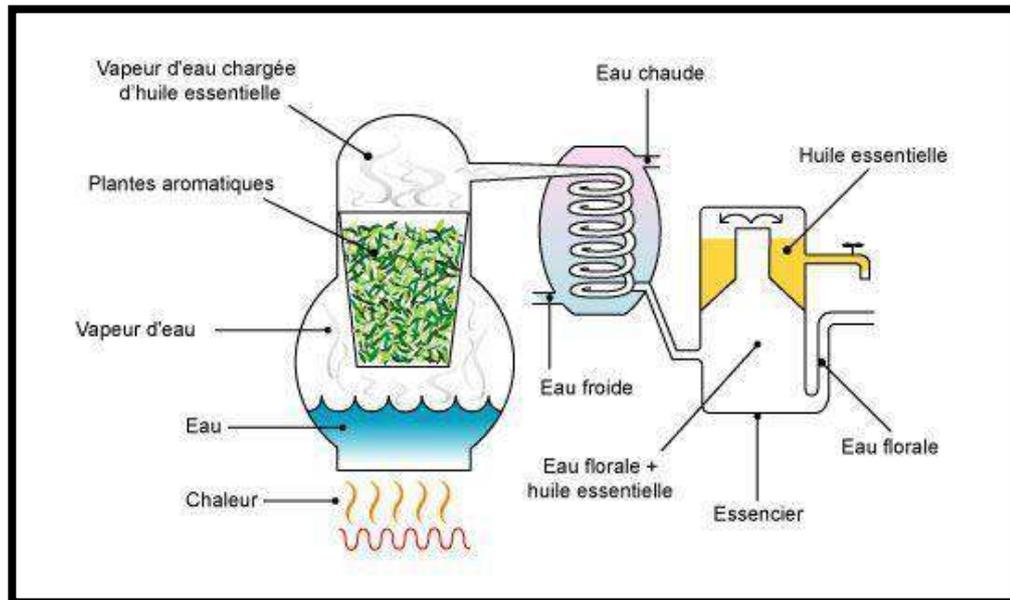


Figure 2 :schéma du montage d'extraction par distillation à vapeur saturée(Fabrocini, 2007)

➤ Hydrodiffusion

D'après (Acquaronne et al., 1998) le terme hydrodiffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composants aromatique dépendants d'avantage de leur solubilités dans l'eau que de leur point d'ébullition. Si l'hydrodiffusion constituait l'étape limitant de l'hydrodistillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leurs polarités et non par volatilités[17].

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur (**figure 3**). Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, de haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

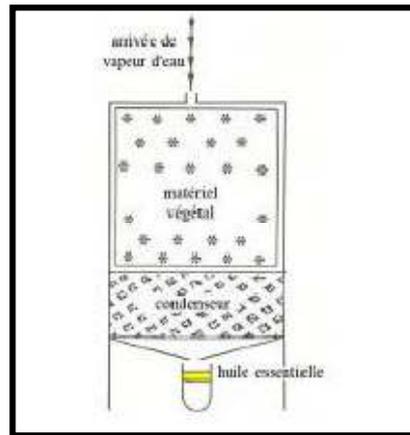


Figure 3 : Schéma du procédé d'hydrodiffusion (Bouaine A., 2017)

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [4].

2. 5. 2. L'expression à froid :

C'est une technique d'extraction utilisée pour obtenir des essences d'agrumes contenues dans les zestes, comme le citron, l'orange, la mandarine, etc. Les fruits sont pressés à froid. Ensuite, par centrifugation, on sépare l'huile essentielle du jus de fruit.

Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation.

D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau.

Cette technique permet d'extraire à faible coût des essences de bonne qualité [74,75,76,79].

2. 5. 3. Extraction par les corps gras :

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un

solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras [79,89].

2. 5. 4. Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont : l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (Kim et al., 2002). Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson (figure 6). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Hubert, 1992). [4]

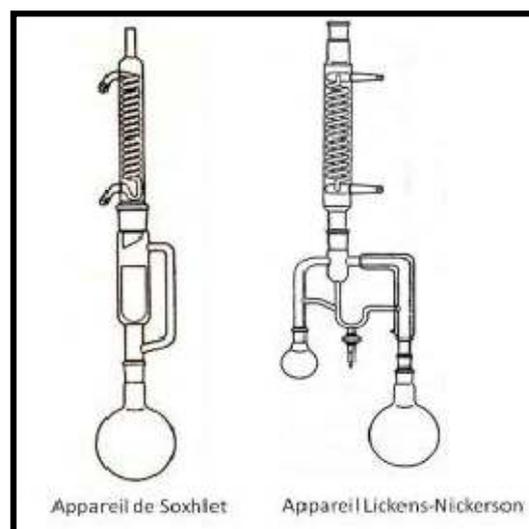


Figure 4 : Schéma du procédé d'extraction par solvant(Bouaine A., 2017)

2. 5. 5. Extraction par micro- ondes :

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum MicrowaveHydrodistillation) (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîcheentre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel [4,89,90].

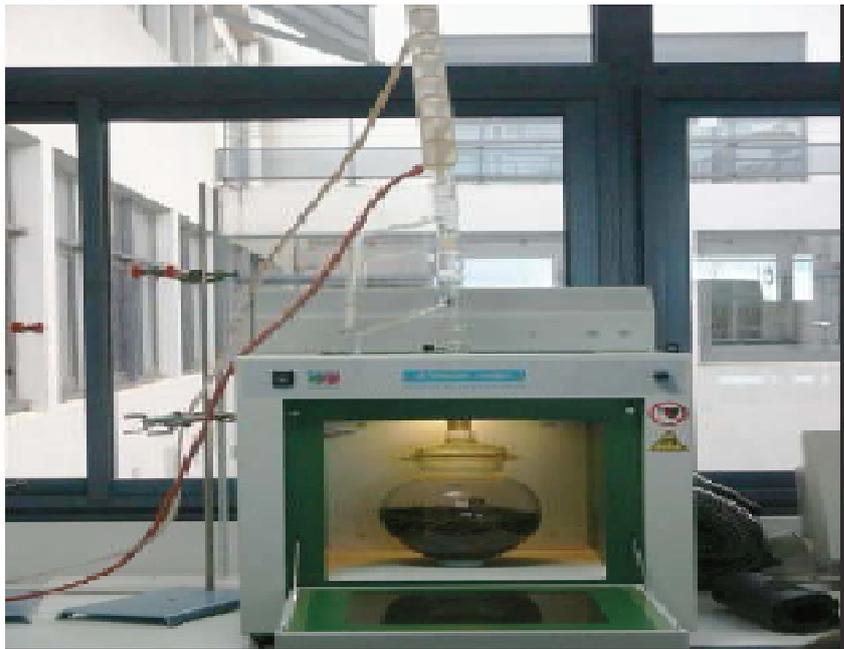


Figure 5 : photographie d'extraction par micro- ondes (Bouaine A., 2017)

2. 5. 6. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques (Wang et al., 2006). Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale. Le montage obtenu se rapproche sensiblement d'un montage

d'hydrodistillation classique (figure 5). Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Les graines sont en permanence humides, ce qui ne laisse aucune chance à la réalisation d'éventuelles réactions secondaires, néfastes à la qualité du produit obtenu (Lucchesi, 2006) [4].

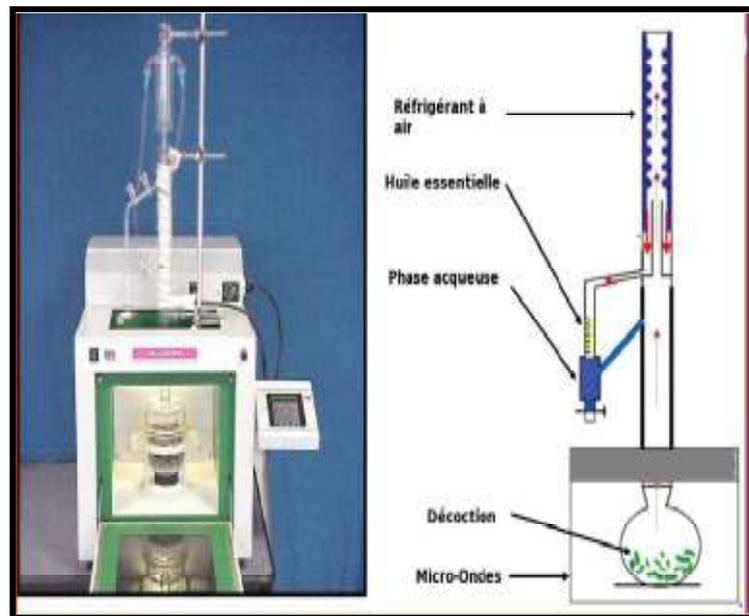


Figure 6 : photographie et schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-onde(Bouaine A., 2017)

2. 5. 7. Extraction au CO₂ supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essence, et entraîne les H.E qui seront, ensuite, récupérées (Scimeca, 2007).

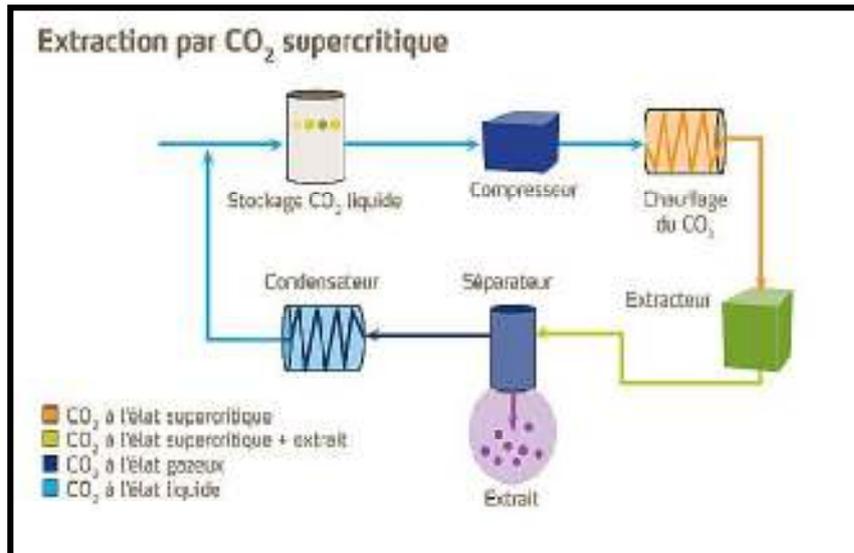


Figure 4 :Schéma du procédé d'extraction par CO₂ supercritique(Bouaine A., 2017)

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles (**Martini et al., 1999**). Cette technique est utilisable pour les essences difficilement distillables [4].

2. 5. 8. Extraction par Enfleurage

Cette méthode n'est presque plus utilisée car elle est très couteuse. Cette technique permettait de traiter des fleurs fragiles (comme le jasmin) qui conservaient leur odeur après la cueillette mais qui ne supportaient pas la chaleur. Après avoir été soigneusement triées, les fleurs étaient piquées délicatement dans la graisse. Après un certain temps, l'huile essentielle passe des fleurs à la graisse et devient plus facile à récupérer, en lui ajoutant l'alcool, qui sert de vecteur à l'huile essentielle. Finalement, par simple évaporation de l'alcool, on récupère l'huile essentielle seule [74,75,76].

2. 5. 9. Extraction par Macération (enfleurage à chaud)

A l'inverse de l'enfleurage ou l'extraction s'effectuait à température ambiante, la macération utilise les mêmes graisses mais à chaud ; ce qui a pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant. L'extraction est réalisée par immersion des fleurs fraîchement cueillies et constamment renouvelées dans un bac de graisse chaude (50-70 °C) jusqu'à atteindre la saturation. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement appliqué sur cette graisse [74,78].

2. 6. La conservation des HE

Si elles sont entreposées correctement, les HE distillées de bonne qualité peuvent être conservées au moins cinq ans, voire plus, et celles provenant d'agrumes exprimés, au moins trois ans [92]. Les HE ne rancissent pas, contrairement aux huiles végétales, mais elles peuvent s'oxyder et donc former des résidus résineux.

Idéalement, il est conseillé de conserver les HE dans leur conditionnement d'origine, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Il est important de bien visser le bouchon, car elles sont très volatiles et risquent de s'évaporer rapidement [91].

2. 7. La composition chimique des huiles essentielles :

La teneur et la composition d'une HE peuvent varier entre la même espèce provenant de deux origines différentes et parfois même au sein de la même plante entre deux organes différents

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques, et des dérivés aromatiques dérivés du phénylpropane [98].

2. 7. 1. Composés terpéniques :

Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq atomes du carbone, l'isopenténylpyrophosphate [45]. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C5) qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, proviennent de la condensation de plusieurs isoprènes et forment ainsi les monoterpénoïdes (deux unités isopréniques C10) et les sesquiterpénoïdes (trois unités isopréniques C15) [46,36].

Seuls les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15 peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C20 et triterpènes en C30) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés selon :

- leurs fonctions : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole) ;

Chapitre 2 : les huiles essentielles

• leur structure : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingiberène), bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) [98].

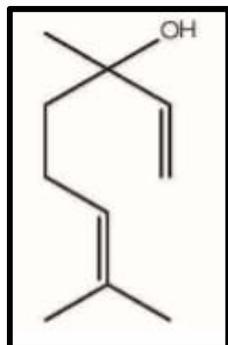


Figure 8 : Structure de linalol

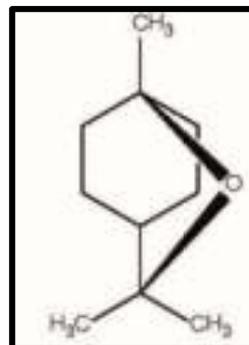


Figure 9 : Structure de 1,8-cinéol

2. 7. 2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Les composés phénoliques (phénylpropanoïdes) sont biométabolisés à partir de deux précurseurs essentiels (acides aminés aromatiques) [45]. Ces composés phénoliques sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle [47,36]

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (HE decannelle), l'eugénol (HE de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis, de fenouil), ainsi que le safrole (HE de sassafras). Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont, pour la plupart, entraînaibles par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines huiles essentielles (ex. HE de céleri) [98].

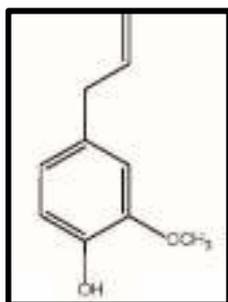


Figure 10 : Structure de l'eugénole

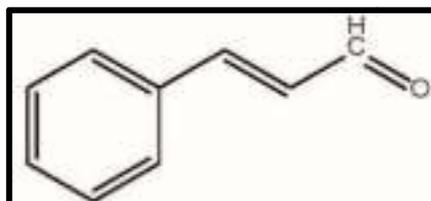


Figure 11 : Structure de cinnamaldéhyde

2. 8. Propriétés physico-chimiques :

D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont : Les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Plusieurs autres se sont intéressés aux caractérisés physico -chimique de l'huile essentielle se présentent comme suit :

- Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon...) Elles contiennent des substances volatiles dans le végétal ce qui les différencie des huiles « fixes ».

- Toutes les huiles volatiles sont acres, très inflammables, et très odorantes. Elles ne sont très rarement colorées, (sauf quelques exceptions) mais prennent peu à peu une coloration bleu clair (camomille, patchouli) est due à la présence de chamazulène (carbures sesquiterpéniques qui est l'azulène).

Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques apolaires usuels, les huiles grasses, et dans les alcools à titre élevé et éther. La plupart des huiles sont plus légères, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

- Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles elle est d'ordre de 0,1% à 1%, ceci explique le coût élevé de l'HE, à l'exception de quelques-uns comme par exemple le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence. L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés, et la plupart devient à la lumière polarisée, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont contenues dans des molécules asymétriques.

- Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

- Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leur propriété, lorsqu'elles sont exposées au soleil, ou lumière, ou à leur chaleur, elles absorbent de grande quantité d'oxygène à l'air en se résinifiant, en même temps leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue.

Elles doivent être conservées dans des flacons en verre coloré bien fermés, à l'abri de

L'air, de la lumière pour une meilleure protection[97,80,82,84].

2. 8. Le rôle des HEs au sein d'une plante :

Les études réalisées suggèrent que ces essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs (micro-organismes, champignons, insectes, herbivores) en modulant les comportements de ceux-ci vis-à-vis des plantes [56].

Les études ont montré que les terpènes contenus dans les huiles essentielles, jouent des rôles très importants dans divers processus biologiques et chimiques : défense contre les facteurs biotiques et abiotiques ; médiateurs chimiques de communication de la plante avec son environnement ; marqueurs chémo-taxonomiques pour l'identification [51,52]

Les huiles essentielles peuvent être aussi comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaires protégeant ainsi la plante contre les agents atmosphériques. Les plantes aromatiques utilisent ces huiles également pour inhiber la germination et le développement d'autres espèces végétales dans leur voisinage (effet allélopathique) [41]. C'est le cas par exemple de *Salvia leucophylla* qui libère dans l'atmosphère des substances telles que le camphre et le 1,8-cinéole afin d'inhiber la germination et le développement d'autres espèces en concurrence.

D'autres effets sont liés à l'attraction des insectes pollinisateurs, à la dispersion des graines et à la répulsion des herbivores [42,36].

2. 10. L'activité biologique des huiles essentielles :

2. 10. 1. Activité antibactérienne :

Les HE et leurs composants majoritaires se sont révélés efficaces dans le contrôle de la propagation de certains agents bactériens [48]. Les propriétés antibactériennes des HE sont connues depuis longtemps et aujourd'hui, un bon nombre de publications importantes ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide contre des souches bactériennes pathogènes même parfois à de très faibles concentrations [38].

Plusieurs molécules présentes dans les HE sont douées de propriétés antibactériennes, en particulier les phénols (tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol), les alcools (tels que le linalool) et les aldéhydes (tels que le cinnamaldéhyde) [36].

Chapitre 2 : les huiles essentielles

Des composés tels que le thymol, le carvacrol, le linalol, l'alpha-pinène, le 1-8 cinéol et l'alpha-terpinéol sont par exemple connus pour leur effet bactériostatique à faible concentration et bactéricides à plus forte concentration [53,51].

Les effets antibactériens sont influencés par différents facteurs tels que la composition chimique de l'HE testée, la méthode expérimentale utilisée et la souche bactérienne testée. Leur action antibactérienne dépend à la fois des composés majoritaires, des effets synergiques et/ou additifs et des composés mineurs qui y sont présents [49,36].

2.10. 2. L'activité antifongique :

Les propriétés médicales des plantes médicinales dépendent de la présence d'agents bioactifs variés et appartenant à différentes classes chimiques. Ces propriétés, dues souvent à la fraction d'huile essentielle, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques [16].

Une étude marocaine sur les huiles essentielles de trois plantes aromatiques (*Thymus vulgaris*, *Menthaspicata* et *Citrus limonum*) a montré qu'elles présentent des activités inhibitrices significatives sur trois souches de dermatophytes responsables de la surinfection de l'eczéma de contact. Cette activité antifongique est liée à l'inhibition de la croissance mycélienne notamment avec de fortes concentrations en huiles essentielles [15].

Les éléments fongicides des huiles essentielles sont le citral (géraniol, néral), le carvacrol, le thymol, l'eugénol et le 1,8-cinéole. Selon Larrondo et Calvo [20], l'effet fongicide d'une huile essentielle réside dans les inhibitions du métabolisme et de la croissance des souches fongiques, souvent en relation avec la destruction de membranes lipidiques. Cela entraîne une plus grande perméabilité et une rupture des structures du champignon [19].

2.10. 3. L'activité antivirale :

Une autre propriété très intéressante des essences, c'est le pouvoir antiviral. Une étude en 2007 sur *Cinnamomum cassia* met en évidence une activité sur plusieurs formes de virus de la grippe chez la souris, dont le H1N1. Des administrations intra- nasales chez des souris

infectées ont même permis d'obtenir des taux de survie de 100 % contre 20 % chez des groupes témoins.

En 2009, un autre travail met en avant, une fois de plus, les propriétés du teatree contre les virus de l'herpès, les poliovirus 1, l'échovirus 9, les adénovirus, le coxsackieB1 et le virus H1N1.

Des études récentes ont porté sur les effets d'un mélange breveté, Pur essentiel assainissant, spray aux 41 huiles essentielles. le mélange a été mis en suspension avec une suspension d'un poliovirus de type 1 et un adénovirus de type 5. Dès cinq minutes, la quantité de virus est réduite de 10 000 fois[50].

Le β -pinene et le limonene sont par exemple des composés organiques volatils naturels ayant montré des propriétés antivirales, notamment contre le virus Herpes simplex de type 1 [51,54].

2. 10. 4. L'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) [4].

2. 10. 5. L'activité anti-inflammatoire :

L'activité multiple d'huile essentielle est un bénéfice substantiel car de nombreux médiateurs participent à l'inflammation. Ce qui fait contraste avec la pharmacologie des substances qui n'ont qu'une seule cible biologique.

Les expérimentations animales utilisant le géranium et d'autres huiles essentielles indiquaient qu'elles étaient en mesure d'inhiber l'accumulation des cellules de l'inflammation induite par l'injection de curdlane [57].

L'huile essentielle de géranium supprime aussi l'œdème et l'arthrite ce qui suggère un intérêt thérapeutique possible dans les affections inflammatoires aiguës et chroniques [58].

Les huiles essentielles telles que celle de l'aurone du cèdre himalayen, de l'arbre à thé ainsi que l'eugénol pris en l'état suppriment les réactions d'hypersensibilité immédiates comme la pollinose et l'allergie retardée [57].

D'autre part, l'huile essentielle de Gaulthérie couchée est composée à plus de 99% de salicylate de méthyle, d'où son utilisation très répandue dans les douleurs musculo-articulaires pour les effets antalgiques anciennement démontrés et connus des salicylates [31,55].

2. 10. 5. L'activité immunostimulante :

Parmi les objectifs de l'aromathérapie anti-infectieuse, il est indispensable de renforcer la défense de l'organisme contre le pathogènes et aussi d'augmenter le pouvoir de la guérison naturelle.

Les substances odoriférantes auraient un potentiel en tant qu'agent immunostimulant qui viendrait de leur action sur le système nerveux autonome et sur les glandes endocrines par l'intermédiaire de l'hypothalamus.

De ce fait, il est probable que les huiles essentielles excitant le système nerveux sympathique par l'intermédiaire de la voie bêta-adrénergique, telles que les huiles de pamplemousse, de fenouil et d'estragon activeraient les granulocytes alors que celles de la rose, de la lavande et de la valériane qui affectent l'innervation parasympathique à travers la voie cholinergique, activeraient les lymphocytes.

Ceci est confirmé par le fait que l'huile essentielle de lavande fait augmenter le taux des lymphocytes sériques et des IgAs salivaires.

La fonction immunologique est corrélée à celle de la fonction endocrinienne par l'intermédiaire de facteurs de modulation neuroendocrinien [57].

2. 11. Domaines d'application des huiles essentielles

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plants aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie ; l'aromathérapie....

2.11.1. L'utilisation des huiles essentielles dans l'industrie agroalimentaire :

Les vertus antiseptiques et en même temps les propriétés aromatisant des essences s'utilisent quotidiennement dans les préparations culinaires avec le thym, ail, laurier...

Les essences aromatiques donnent aux condiments (poivre, gingembre, ...) et aux aromates (menthe, anis, ...) leur saveurs. Les arômes sont à base d'huiles essentielles (citron, anis vanille, ...) ainsi les essences d'anis et de badiane sont les principales sources d'éthanol naturel, composé utilisé en liquoristerie (fabrication des boissons anisées), et en confiserie (bonbons, chocolats, ...). De même la vanille sert à aromatiser les biscuits, les chocolats, les glaces.

Par ailleurs, le pouvoir anti-oxydant de certaines essences permet la conservation des aliments en évitant les moisissures. C'est ainsi que le thym et le romarin servent à conserver la semence. Les menthes sont d'excellents condiments crus hachées dans les salades ou dans divers plats ou bien sous formes de sauce à la menthe pour aromatiser les crèmes et les flans.

Actuellement, l'industrie agroalimentaire utilise des essences dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien).

2.11.2. L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bais « calmant » ou « relaxant »), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques. [81,86]

2. 11. 3. L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie :

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière :

L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme

Chapitre 2 : les huiles essentielles

de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive.

Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules, pommade ...etc [79].

2. 12. Les voies et modes d'administration

➤ Les HE peuvent s'administrer par voie orale, mais jamais pures sans avis médical ou pharmaceutique afin d'éviter toute brûlure digestive ou de la langue.

L'idéal est de prendre les HE diluées dans une cuillère à café d'huile végétale alimentaire, de miel ou de sirop d'agave.

➤ Les HE peuvent s'appliquer en massage sur la peau. L'épiderme agit en effet comme un filtre et l'action des principes actifs en est prolongée.

➤ Les HE s'administrent aussi par voie rectale, sous la forme de suppositoires. Mais il faut rester prudent et respecter strictement les posologies car elles peuvent être irritantes pour la muqueuse.

➤ La voie inhalée est utilisée pour contrer les affections ORL.

➤ Certaines HE sont adaptées à une diffusion atmosphérique, de préférence grâce à un diffuseur pour :

✓ Une désinfection ORL (sapins et pins, Ravintsara, Niaouli, Eucalyptus radié, Romarin à cinéole, Marjolaine sylvestre ou à coquilles...);

✓ Assainissement de l'air (Bois de rose, Géranium, Citron et autres agrumes, Lemongrass, Verveine exotique);

Chapitre 2 : les huiles essentielles

- ✓ Utilisation pour la détente (Lavande vraie, Orange douce, Mandarine, Verveine exotique ou citronnée, Géranium, Ylang-ylang, Camomille noble...).

- Dans un bain aromatique, les HE doivent être diluées, par exemple dans un gel douche, ou une tasse de lait liquide [91].

2. 13. Toxicité des huiles essentielles

Plusieurs HE sont connus pour leur toxicité : c'est le cas, par exemple, des essences à anéthol à action convulsivante à forte dose ; il en est de même des essences à thuyone (thuya). Notons que les essences absorbées seules comme médicaments, en usage interne (aromathérapie), peuvent présenter une certaine toxicité (**Binet et Brunel, 1968**).

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 (**Scimeca, 2007 ; Lambert, Skandamis et al., 2001**) [4].

3.1. Site d'expérimentation :

Notre travail a été effectué au sein de deux laboratoires, laboratoire des plantes aromatiques et médicinales de l'université Blida 1, faculté science de la nature et de la vie, département biotechnologie qui s'occupe de l'extraction des huiles essentielles et extraits végétaux des plantes aromatique. La détermination de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a été réalisée au niveau laboratoire de microbiologie du centre de recherche et de développement SAIDAL (Gué de Constantine, Alger)

3 .2. Matériel végétal :

3 .2.1.Récolte et identification de la plante :

L'identification du genre et espèce d'*Eucalyptus globulus* a été faite par le D^r M^{me} Maria Stella. Ce travail est appliqué sur des feuilles et fruits de cet arbre,récoltés au niveau de l'université BLIDA 1, faculté des sciences vétérinaires, la période de Mars à Avril 2019.



Figure 13 : Récolte des feuilles et des fruits d'eucalyptus globulus

3.2.3. Mode d'échantillonnage :

Des échantillons constitués par des feuilles et fruits triés seines (feuilles jeunes et adultes, fruits verts) d'un même arbre, sont lavés puis séchés à l'ombre, à l'aire libre dans un endroit sec et aéré et à l'abri de la chaleur et de la lumière pendant 5 jours (M^{me} Kebour).

3.2.4. Extraction de l'huile essentielle :

3.2.4.1. Dispositif d'extraction :

Il y a plusieurs méthodes d'extractions des HE citées dans la littérature (voir la partie bibliographique). Dans ce travail l'extraction a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation à l'aide d'un montage similaire à un dispositif de type Clevenger.

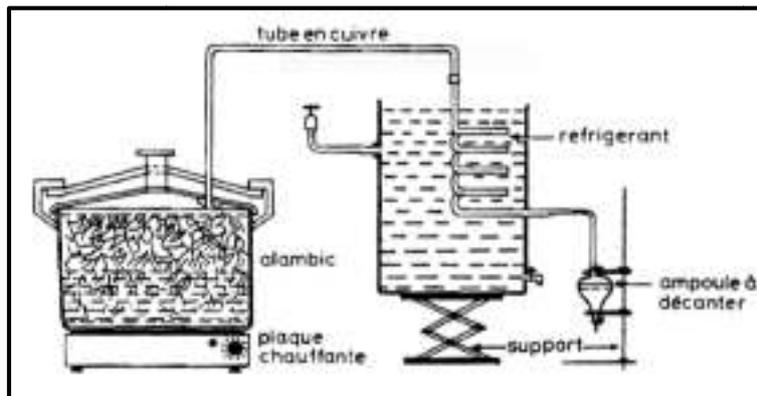


Figure14: Schéma du montage proposé pour l'extraction des huiles essentielles (Bouaine A., 2017)

Le montage d'extraction est constitué d'une cocotte en aluminium de 7 L de capacité, de 22cm de diamètre et de 20 cm de hauteur ; il est placé sur un chauffage à gaz naturel, et surmonté d'un tube en cuivre qui le relie au condenseur. Ce dernier est formé d'un serpentin de cuivre plongé dans un réfrigérant où circule de l'eau fraîche en permanence.

3.2.4.2. Paramètres étudiés dans l'extraction de l'huile essentielle d'Eucalyptus :

Pour obtenir une quantité suffisante d'HE, on a répété le procédé d'extraction d'HE entros essais pour les fruits et cinq fois pour les feuilles avec un changement des paramètres d'extraction à chaque répétition (Poids, volume d'eau et la durée d'extraction).

Tableau III: les essais de répétition d'extraction d'HE des fruits d'Eucalyptus globulus

	Les répétitions		
	Essai N°1	Essai N°2	EssaiN°3
Poids	500 g	700 g	700 g
Volume d'eau	5 L	6 L	7 L
Durée	1h 21 min	1h15 min	1h

Tableau IV: les essais de répétition d'extraction d'HE des feuilles d'Eucalyptus globulus

Feuilles (fraîches /sèches)	1200 g (fraîches)			1230 g (sèches)	
Les répétitions	Essai N°1	EssaiN°2	EssaiN°3	EssaiN°1	EssaiN°2
Poids	400 g	400 g	400 g	615 g	615 g
Volume d'eau	4 L				
Durée	1h20 min				

La matière végétale (fruits - feuilles) est introduite dans la cocotte avec d'eau. La mise en marche du chauffage se fait à gaz naturel. Le réfrigérant est mis en fonction en réglant le débit d'eau. La vapeur condensée obtenue conduit à une phase organique (huile essentielle). Après condensation et liquéfaction, l'huile surmontant l'eau (non miscible) est séparée de l'eau, puis récupérée à l'aide d'une seringue nettoyée avec l'éthanol pour enlever l'hydrolat. Après extraction, le volume d'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans des flacons opaques en verre bien fermés et conservée à l'obscurité à 4 ° C jusqu'à son usage pour les tests microbiologiques.

3.2.4.3. Calcul de rendement :

Le rendement en HE a été calculé par rapport au matériel végétal sec. C'est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{\text{Masse d'huile essentielle (g)}}{\text{Masse du matériel végétal utilisé (g)}} \times 100 \quad (\text{source, Afnor}).$$

3.2.5. Dilution de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

3.2.5.1. Protocole expérimentale de dilution d'HE dans l'eau :

L'objectif de ce travail est de solubiliser l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* dans l'eau pour préparer deux solutions diluées de 0.25g et 0.50g d'huile essentielle à partir d'une solution mère de Tween 80 à 1% .ce dernier est considéré comme un tensioactif non ionique est indispensable afin de participer à l'homogénéisation d'huile avec de l'eau, pour le but de savoir si l'activité antimicrobienne des HEs essentielles d'*E. globulus* augmente ou diminue après dilution et aussi pour comparer leurs activité par rapport aux huiles essentielles pures.

3.2.5.2. Préparation de la solution mère de tween à 1% :

Pour la préparation de cette solution il faut 5 g de tween 80 dissous dans un volume de 500 ml d'eau distillée.

- ✓ Mettre la balance en 0.00 et pesé 5 g de tween 80 dans le bécher
- ✓ Ajouté un peu de l'eau distillée puis les mettre dans la fiole jaugée de 500 ml
- ✓ Compléter à remplir la fiole jusqu'au l'indice 500 ml.

- ✓ A l'aide d'une baguette en verre mélange le tween avec l'eau
- ✓ Fermer la fiole et faire des mouvements circulaires et agiter délicatement à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à l'obtention d'une solution homogène de tween 80 à 1%

3.2.5.3. Préparation des doses de dilution d'HE :

Préparation de solution à 0.25 g et 0.50 g de chaque HE :

- ✓ Préparer deux volumes de 100 ml de solution mère et mélanger avec 0.25 g et 0.50g des HEs successivement dans deux fioles jaugées de 100 ml.
- ✓ Faire un mouvement circulaire, puis agiter délicatement à l'aide d'un agitateur magnétique jusqu'à la solution sera homogène.
- ✓ Faire la conservation de ces solutions dans deux flacons fumés et bien fermés.



Figure 15 :homogénéisation de la solution en HE à l'aide d'un agitateur magnétique(Photographie originale)

3.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

3.3.1. Objectif :

L'objectif de l'étude de l'activité antimicrobienne consiste en l'évaluation comparative des huiles essentielles des fruits et feuilles d'eucalyptus globulus.

3.3.2. Principe :

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et des fruits d'eucalyptus globulus consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-

organismes (bactéries et levures) soumis aux contacts de l'échantillon à tester et ceci par la méthode de diffusion sur gélose en utilisant des disques de 9 mm.

Le protocole d'évaluation de l'activité antimicrobienne a été inspiré de la pharmacopée européenne 2017.

3.3.3. Matériel biologique :

Les microorganismes étudiés ont été choisis pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité. Ils nous ont été fournis par le laboratoire de microbiologie du centre de recherche et de développement SAIDAL (Gué de Constantine, Alger). Ils ont été entretenus par repiquage sur un milieu gélosé muller-hinton pour les bactéries et lesabouraudpour les levures. Les microorganismes qui ont été testées sont cités dans le tableau suivant :

Tableau V:les souches microbiennes utilisées

	Bactéries			levure
Nom	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Gram	positif	Positif	négatif	
N° de référence (SAIDAL)	ATTC ®6538	ATTC ®6633	ATTC ®8739 ^{TM*}	ATTC ®10230 ^{TM*}

3.3.4. Protocole expérimentale :

3.3.4.1. Préparation de l'inoculum :

- **Pour les bactéries :**
 - A partir d'une culture jeune de 18h, réaliser des suspensions en prélevant 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 optique avec le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm et qui doit être comprise entre (0,2-0,3) pour *Escherichia coli* et

bacillus subtilis, et (0,3-0,4) pour staphylococcus aureus ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 germes/ml [119].

- **Pour les levures :**

- A partir d'une culture jeune de 48h réalise des suspensions en prélevant 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 optique avec le spectrophotomètre qui doit être comprise entre (2-3) pour candida albicans, ce qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 ufc/ml.

NB : si la valeur obtenue de la première lecture pour les bactéries et les levures n'est pas comprise entre dans les intervalles voulus, les concentrations doivent être ajustées en ajoutant soit de l'eau physiologique ou des colonies, et l'inoculum doit être utilisé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

3.3.4.2. Ensemencement :

Préparation de la première couche du milieu :

- Faire fondre le milieu gélosé muller-hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C.
- Verser aseptiquement une 1^{ère} couche dans les boites de pétri à raison de 15 ml par boites avec 2 répétitions par souches.
- Laisser refroidir et solidifier sur paillasse.

Préparation de la 2^{ème} couche du milieu :

- Faire fondre le milieu gélosé muller-hinton et le sabouraud dans un bain-marie à 95°C.
- Baisser la température jusqu'à 45°C.
- Remplir des flacons en verre stériles avec 50 ml de muller-hinton pour les bactéries, avec 50 ml de sabouraud pour les levures pour chacune des souches.
- Ensemencer les milieux de culture avec 200 µl de chaque suspension.
- Agiter manuellement le flacon.
- Transvaser rapidement de chaque milieu inoculé en 2^{ème} couche sur la surface des boites contenant déjà la 1^{ère} couche de gélose.
- Etaler rapidement en faisant pivoter la boite sur elle-même pour avoir une surface uniforme.

- Laisser solidifier sur paillasse.

3.3.4.3. Dépôt des disques :

- A l'aide d'une micropipette, prélever 50 μl de l'échantillon à tester (pure, D1, D2) et imbiber un disque stérile.
- A l'aide d'une pince stérile, déposer le disque sur la surface de la gélose.
- Laisser diffuser sur paillasse pendant 30 minutes.
- Incuber à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25°C pendant 48h pour les levures.



Figure 16 : le dépôt des disques.(Photographie originale)

3.3.4.4. Lecture des résultats :

La mesure des zones d'inhibition a été réalisée à l'aide d'un pied à coulisse :

- Présence d'une zone claire autour du disque : présence d'activité inhibitrice.
- Absence d'une zone claire autour du disque : absence d'activité inhibitrice.



Figure 17 : La mesure des zones d'inhibition(Photographie originale)

Les diamètres des zones d'inhibition(D) de la croissance microbienne sont classés en quatre Classes,selon (Meena Sethi ,1994) ; (Ella et al ,1996).

Tableau VI: Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés

Diamètres(D) de la zone d'inhibition (mm)	Transcription	Sensibilité du germe
$D \geq 28$ mm	+++	Extrêmement sensible
$28 \text{ mm} > D > 16$ mm	++	Très sensible
$16 \text{ mm} > D > 10$	+	Sensible
$D < 10$ mm	-	Résistant

4.1. Rendement en huile essentielle :

Les rendements en HEs des deux parties (feuilles et fruits) sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Rendement d'extractions des HEs

Echantillons	Rendement (ml)	Rendement (%)
Fruits	1.5 ml	0.07 %
Feuilles	2.5 ml	0.09 %

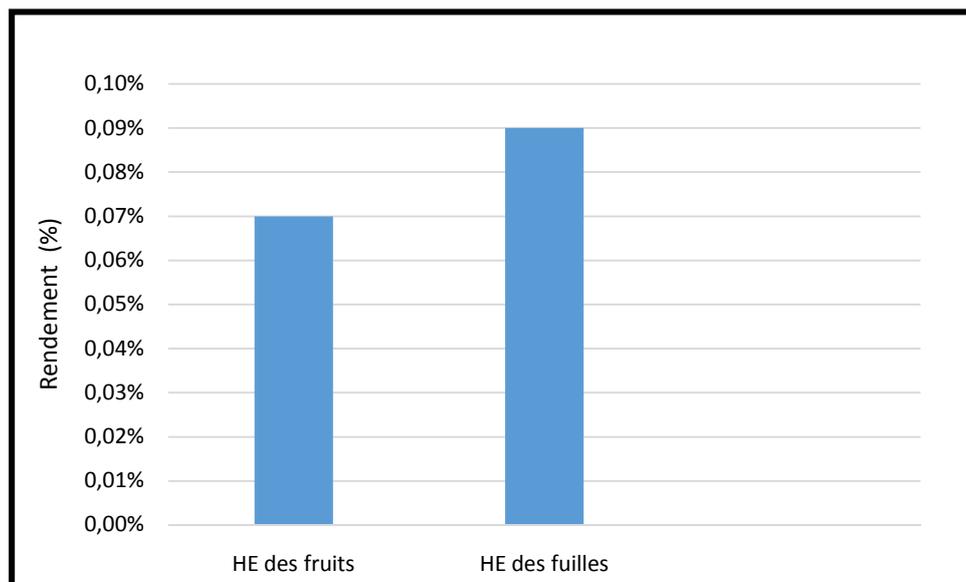


Figure18 : Rendement (%) en huiles essentielles des fruits et feuilles d'E.globulus

L'eucalyptus globulus présente un rendement en huile essentielle faible. Il a fallu plusieurs hydrodistillations pour obtenir une quantité à tester, en obligeant de prendre les échantillons des feuilles et celles des fruits d'un même arbre pour éviter la toxicité dans l'activité antimicrobienne. Ceci corrobore les résultats trouvés par Amhamdi et al. (2009) qui étaient de

l'ordre de 0,14%. Cette faible teneur serait probablement due à l'âge de la plante, au mode d'extraction, à la période et à l'endroit de récolte, à la partie de la plante utilisée sans négliger la nature même de cette plante aromatique.

4.2. Activités antimicrobienne des huiles essentielles des feuilles et du fruit :

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de nos huiles essentielles a été faite sur trois bactéries (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) et un champignon (*Candida albicans*), par la méthode des aromatogrammes. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm), en utilisant des disques de (9mm) .

4.2.1. Activité antimicrobienne des HEs des feuilles :

Les résultats du test de sensibilité des souches bactériennes et fongiques à l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* par la méthode de diffusion sur gélose en utilisant des disques de 9mm contenant des solutions de différentes concentrations (pure, diluée), sont représentés dans le tableau VIII et la figure 17 (voir annexe 1).

Tableau VIII: Transcription des diamètres d'inhibition de différentes concentrations (pure, diluée) d'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

souches	HE (Pure)	HE (0.25%)	HE (0.50%)
<i>Escherichia-coli</i>	+	+	+
<i>Staphylococcus Aureus</i>	++	-	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	++	-	+

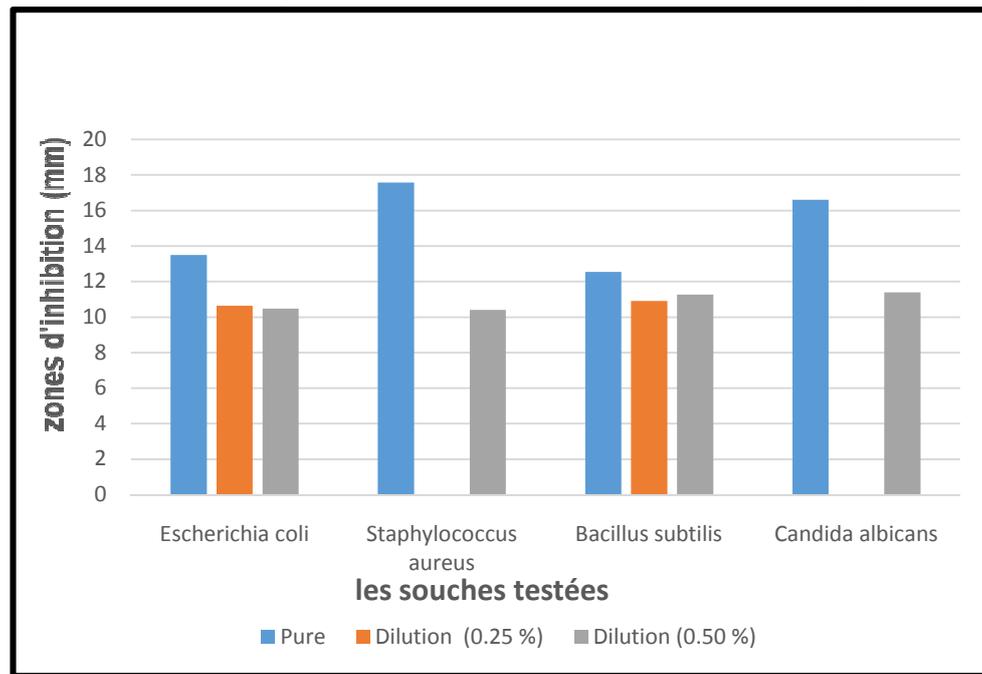


Figure 19: Les zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par l'HE des feuilles d'E. globulus en différentes concentrations.

D'après les résultats représentés dans (le tableau VIII et la figure 17) nous constatons que l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus globulus a une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées. On constate aussi que Staphylococcus aureus (Gram +) et Candida albicans sont les souches les plus sensibles parmi les souches testées ; alors que son action devient sensible pour la croissance de E. coli (Gram -) et Bacillus subtilis (Gram +).

D'après l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne des HE on dit que l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus globulus pure montre une action sensible de la croissance des germes par rapport aux différentes concentrations d'huiles essentielles diluées où on résulte la résistance de Staphylococcus aureus et Candida albicans.

Le classement de la sensibilité des souches vis-à-vis des HEs des fruits selon un ordre croissant est comme suit: S. aureus > C. albicans > E. coli > B. subtilis. D'après les valeurs des zones d'inhibitions (Figure) dans notre expérimentation, ces résultats, s'accordent avec ceux de Damjanovic –Vratnica et al. (2011) et Raho et Benali, (2008) sur la sensibilité de S. aureus suivi de E. coli et B. subtilis vis-à-vis des HEs des feuilles. Ceci pourrait être dû à une différence de composition de ces HEs, puisqu'elle est dépendante des facteurs environnementaux tels que le climat, la température, les nutriments (Akin et al., 2010), l'incidence de la lumière, la saison (Mendes Silva et al., 2011), le processus d'extraction (Recoquilly et al., 2009), mais aussi la différenciation héréditaire des espèces en formes

physiologiques distinctes (Zrira et al., 1994). La composition est dépendante aussi de l'état de fraîcheur des feuilles utilisées (Mendes silva et al., 2011) et probablement dû à la composition chimique.

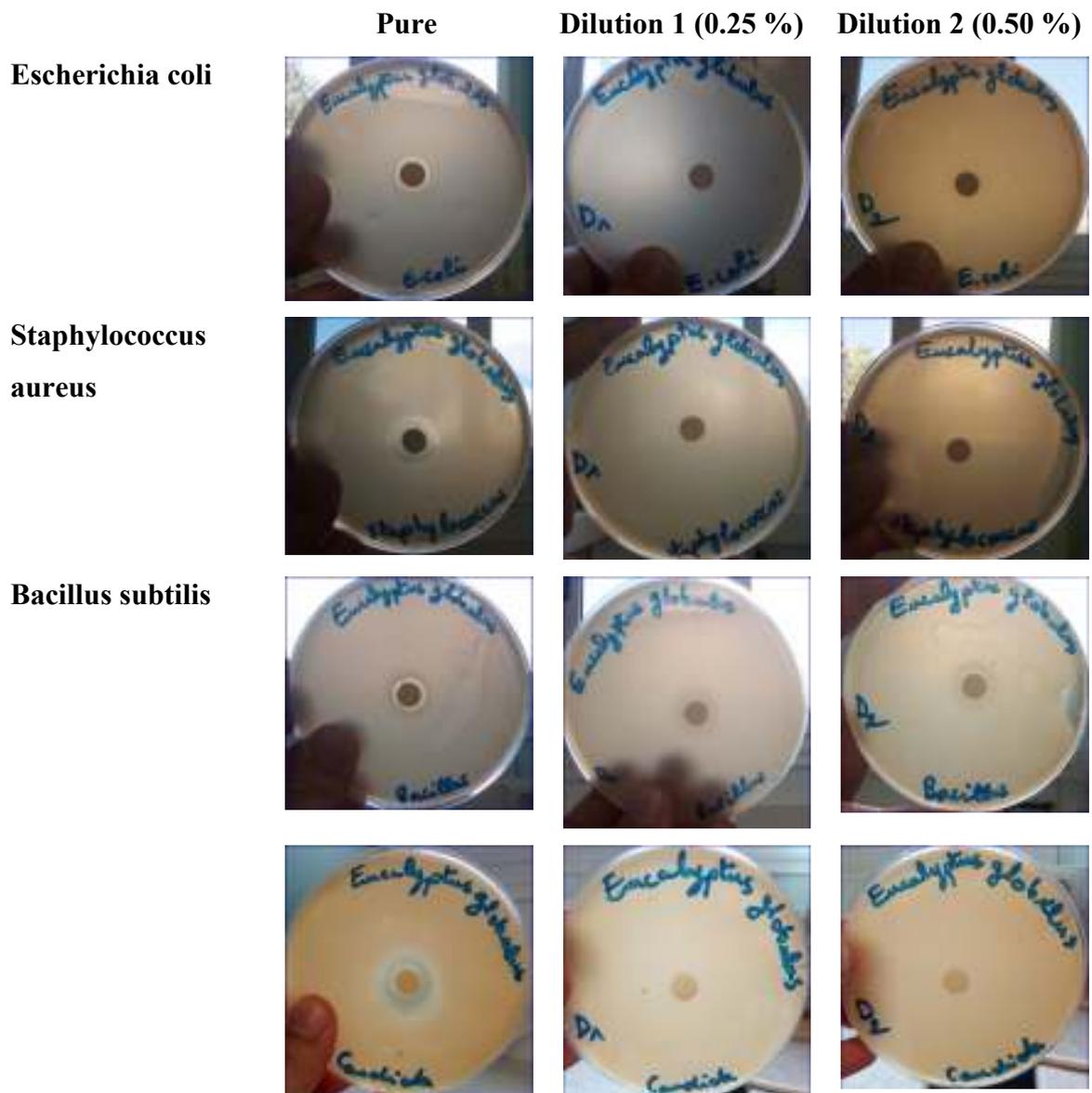


Figure20: Photographie originale montrant l'action de l'HE des feuilles sur les souches testées

4.2.2. Activité antimicrobienne de l'HE des fruits : Les résultats du test de sensibilité des souches bactériennes et fongiques à l'huile essentielle des fruits d'*Eucalyptus globulus* par la méthode de diffusion sur gélose. (tableau IX, figure 19).

Tableau IX : Transcription des diamètres d'inhibition de différentes concentrations (pure, diluée) d'huile essentielle du fruit d'*Eucalyptus globulus*.

Bactéries	HE (Pure)	HE (0.25%)	HE (0.50%)
<i>Escherichia-coli</i>	+	+	+
<i>Staphylococcus Aureus</i>	++	+	+
<i>Bascillus subtilis</i>	++	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	-	-

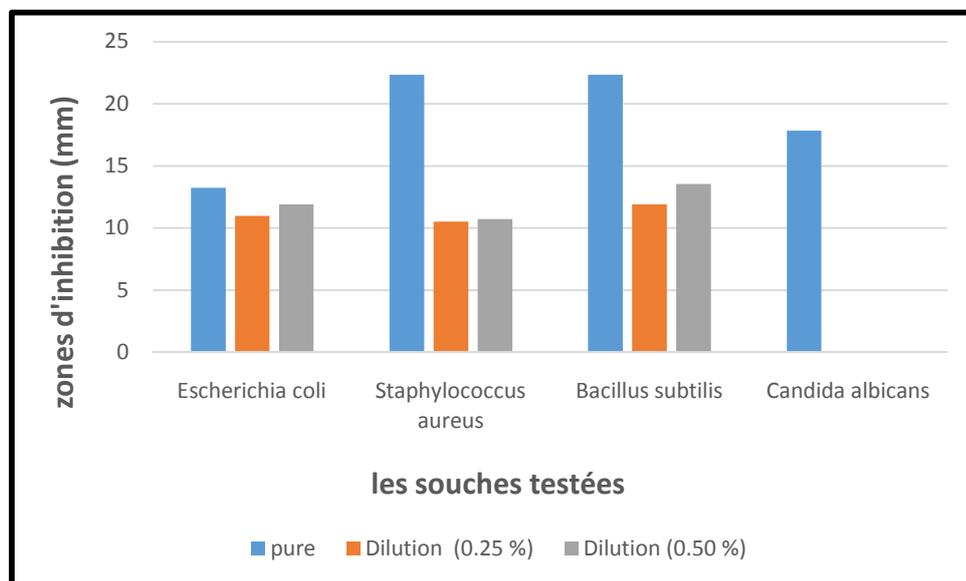


Figure 21: graphe des zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par l'HE du fruit d'*E. globulus* en différentes concentrations.

Chapitre 4 : Résultats et discussion

D'après les résultats représentés dans le tableau IX et figure 19, nous constatons que l'huile essentielle du fruit d'*Eucalyptus globulus* a une très bonne activité antibactérienne vis-à-vis ces souches testées. On constate aussi que les bactéries de (Gram +) *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* sont les souches les plus sensibles parmi les souches testées, alors que son action devient sensible pour la croissance de *E. coli* (Gram -) et *Candida albicans*.

D'après l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne des HE on dit que l'huile essentielle des fruits d'*Eucalyptus globulus* pure montre une action très sensible de la croissance des germes par rapport aux différentes concentrations d'huiles essentielles diluées où on résulte la résistance de *Candida albicans*.

Le classement de la sensibilité des souches vis-à-vis des HEs des fruits d'*Eucalyptus globulus* selon un ordre croissant est comme suit : *S. aureus* > *B. subtilis* > *C. albicans* > *E. coli*. D'après les valeurs des zones d'inhibitions (Figure) dans notre expérimentation, et selon l'ordre de classement établi par De Billerbeck, (2007), les souches testées ont montré une sensibilité aux HEs des fruits de *E. globulus*.

pure Dilution 1 (0.25 %) Dilution 2 (0.50 %)

Escherichia coli



Staphylococcus aureus



Bacillus subtilis



Candida albicans



Figure 22: Photographie originale montrant l'action de l'HE du fruit sur les souches testées

4.2.3. Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles et fruits :

La comparaison de la sensibilité des souches testées aux HEs étudiées révèle (Figure) :

- Une sensibilité similaire de *E. coli* pour les deux huiles essentielles.
- Des différences significatives de sensibilité des bactéries (*S. aureus* ; *B. subtilis*) de (Gram +) par rapport à la bactérie *E. coli* (Gram-) et le champignon (*C. albicans*) traités par l'HE du fruit d'*Eucalyptus globulus*.
- Une sensibilité similaire de toutes ces souches microbiennes traitées par l'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus*.

D'après les résultats, les deux HEs ont une activité antimicrobienne vis-à-vis de toutes les souches testées. Cependant, *B. subtilis* et *S. aureus* sont les plus sensibles ce qui est en accord avec les résultats des études antérieures menées sur *E. globulus* et celles menées par Traore et al. (2013) sur l'espèce *E. houseana* et sur *E. odorata* menées par Elaïssi et al. (2011).

Les résultats révèlent que les souches étudiées sont plus sensibles aux HEs des fruits que celles des feuilles, ceci pourrait être due à la présence de l'aromadendrene et du 1,8 cinéole, car Mulyaningsih et al. (2010). Cette étude a également révélé que l'aromadendrene possède une meilleure activité antimicrobienne que le cinéole et le globulol et que cette activité serait due à son caractère lipophile, ce qui lui permet de traverser la membrane cellulaire, de nature phospholipidique, en outre il possède un groupement méthylène réactif et un cycle cyclopropane qui peut alkyler les protéines et ainsi perturber leur conformation (Mulyaningsih et al., 2010).

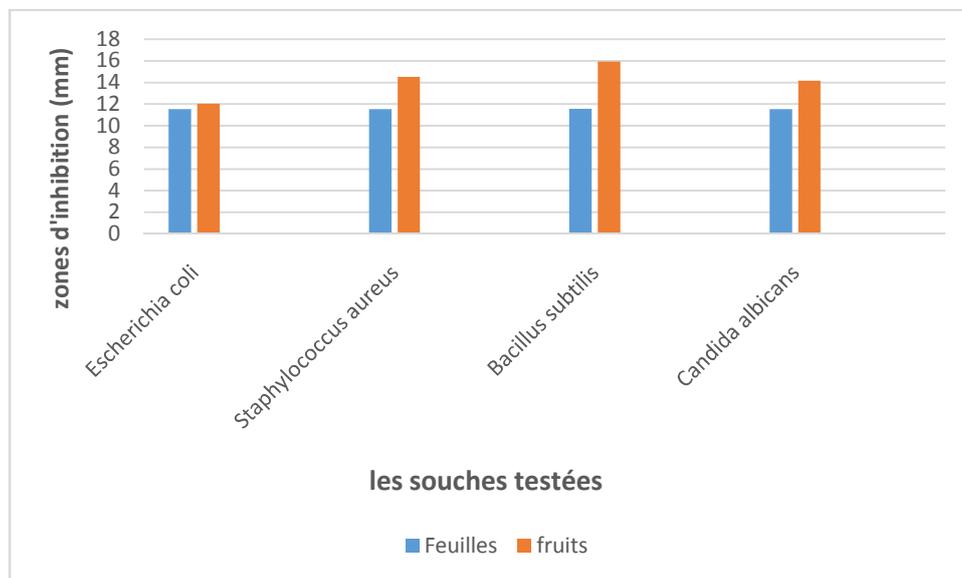


Figure 23: La comparaison entre les zones d'inhibition des souches microbiennes traitées par les HEs des fruits et feuilles d'*E. globulus*.

Conclusion générale

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

En effet, les huiles essentielles et ses principes actifs issus du métabolisme secondaire des plantes médicinales, ont été utilisées depuis l'antiquité et sont largement employées de nos jours, pour leurs propriétés biologiques et leurs applications dans de multiples et diverses industries : alimentation, cosmétique, parfumerie et pharmacie.

Au terme de notre étude qui a porté sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles obtenues des feuilles et fruits d'*Eucalyptus globulus*, poussant à l'état spontané ; récolté dans la région (Blida) de Mars à Avril 2019.

L'obtention d'huiles essentielles par hydrodistillation reste une méthode simple et efficace en utilisant le dispositif Clevenger modifié. Le rendement est de 2,5 ml (0.07%) pour les feuilles et de 1.5ml (0,09%) pour le fruit, pour la détermination du pouvoir antibactérien sur des souches pathogènes et multi résistantes : il s'agit d'une bactérie de Gram négatif (*Escherichia coli*), deux de Gram positif (*Staphylococcus Aureus*, *Bascillus subtilis*), et un champignon (*Candida albicans*).

Les résultats de l'activité antimicrobienne montrent que les deux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* ont exercé un effet synergique contre les souches ciblées à différentes concentrations bien précises. Ce qui nous amène à dire que nos huiles sont dotées d'une activité antibactérienne, antifongique importantes sur les germes testés, notamment avec l'huile essentielle de fruits qui a provoqué une inhibition microbienne supérieure à celle des feuilles.

Les performances antimicrobiennes mises en évidence méritent d'être étudié avec plus de détails afin d'envisager des perspectives d'application de ces essences comme antibiotiques naturels capables de réduire la croissance microbienne responsable de maladies infectieuses. Ces résultats restent partiels et d'autres travaux sur ces deux huiles essentielles s'imposent aux niveaux pharmacologiques et chimiques, il sera intéressant à l'avenir :

- D'étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti Inflammatoires, antivirales et autres.

Conclusion générale

- De tester les composés identifiés individuellement en faisant appel à des tests pharmacologiques in vivo et aussi de déterminer les principes actifs responsables de ces activités biologiques.
- De vérifier l'absence d'effets toxiques de ces composés.

Références bibliographiques

- [1] BeyOuld Si Said Z., 2014. Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*. mémoire de Magister en Alimentation et Technologie Alimentaire. béjaïa : Université Abderrahmane Mira, 64p.
- [2] Mishra A K., Sahu N., Mishra A., et al.2010. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of *Eucalyptus* leaf *Pharmacognosy Journal* .Vol. 2, n° 16, pp. 25-28.
- [3] Pirali-Kheirabadi K., Razzaghi-Abyaneh M., Halajian A.,2009. Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globules* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *annulatus* in vitro. *Veterinary Parasitology*, n° 162, pp. 346–349.
- [4] Bouaine A., 2017. étude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales : lentisque et myrte. Mémoire de master en science et techniques. Fès : université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 44p.
- [5] Fabrocini V&C., 2007. Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. Devecchi, pp. 4-17.
- [6] Moro - Buronzo A., 2008. Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien-Etre, HACHETTE pratique, pp.14.
- [7] Hubert R., 1992. Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.
- [8] Wang Z., Li L., Ding T., 2006. Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. and *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of chromatography*, vol. 1102, issue 1-2, pp. 11-17
- [9] Lucchesi M.E., 2006. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat, p. 16-59.
- [10] Scimeca D., 2007. Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, p.12-17.
- [11] Martini M. C., M. Seiller, 1999. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales Paris. Lavoisier, pp.563.
- [12] Gabriel I., Alleman F., Dufourcq V., 2013. Utilisation des huiles essentielles en alimentation des volailles, hypothèses sur les modes d'action impliqués dans les effets observés. *INRA Productions Animales*, vol. 26, n° 1, pp. 13-24.
- [13] Binet P., Brunel J. P., 1968. Physiologie végétale. Ed.Doin, Paris, pp .774-782.

Références bibliographiques

- [14] Lambert R. J. W., Skandamis P. N., et al., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J App Microbiol*, vol.91,n° 3, pp. 453-62.
- [15] Ismaili R., lamiri A., moustaid K., 2014. Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques Marocaines. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, vol. 12, pp. 499-505. ISSN 2351-8014.
- [16] Ouraïni D., Agoumi A., Ismaili-Alaoui M., 2005. Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, n° 4, pp. 147-157.
- [17] Ghenaiet I., Aouidet S., 2016. Etude de l'impacte des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus sur *Rhizoperthadominica* : Aspect toxicologique et biomarqueur. Mémoire de master en biologie appliquée. Tébessa : Université de Larbi Tébessi, 38p.
- [18]Acquaronne L., Corticchiato M., Ramzohi J., Raoul J L., 1998. Growing of monardafistulosta in france and getting of essential oils by hydrodiffusion.t*Rivista Italian app*, pp.761-765.
- [19]Goetz P., 2014. Phytothérapie des mycoses à candida. *Phytothérapie*, n° 12, pp. 242-244.
- [20] Larrondo J., Calvo M ., 1991. Effects of essential oils on *Candida albicans* : a scanning electron microscope study. *BiomedLett* , n° 46, pp. 269–72.
- [21]Boukhatem M.N., Ferhat ., kameli A. et.al.,2017. *Eucalyptus globulus* (Labill.) : un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*, pp.1-12.
- [22] Batish DR, Singh HP, Kohli RK et al ., 2008. *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, n° 256, pp. 2166–74.
- [23] MartinettiP .,2013. *Mon guide des huiles essentielles*. Éditions Fernand Lanore, Paris, France
- [24] Louppe D., 2008. *PROTA : Ressources végétales de l'Afrique tropicale*. Backhuys Publishers, Wageningen, Pays-Bas (site web: <http://www.prota4u.org/>)
- [25] Lis-Balchin M .,2006. *Aromatherapy science: a guide for health care professionals*. Pharmaceutical Press, Londres, Grande-Bretagne.

Références bibliographiques

- [26] Leicach SR., Guarnaschelli AB., Garau AM et al., 2012. Chemical defenses in Eucalyptus species : asustainable strategy based on antique knowledge to diminish agro chemical dependency. Intech Open Access Publisher, USA.
- [27] Goetz P, Ghedira K .,2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Springer-Verlag, Paris, France
- [28] Brooker MIH., Kleinig DA ., 2004. Field guide to eucalypts, Northern Australia. Bloomings Books, Melbourne, Australie
- [29] Boullard B .,2001. Plantes médicinales du monde : croyances et réalités. Éditions De Boeck Secundair, Paris, France
- [30] Ait Youssef M .,2006. Plantes médicinales de Kabylie. Éditions Ibispress, Paris, France
- [31] Coppen JJW ., 2002. Eucalyptus: the genus Eucalyptus. Medicinal and aromatic plants industrial profiles. Volume 22. Edition Taylor & Francis, Londres, Grande-Bretagne
- [32] Silvant C .,2015. L'aromathérapie : la nature au service de l'humanité. Éditions Publibook, Paris, France
- [33] Chalchat JC., Muhayimana A., Habimana JB., et al .,1997. Aromatic plants of Rwanda:chemical composition of essential oils of ten Eucalyptus speciesgrowing in Ruhande arboretum, Butare, Rwanda. J EssentOilRes, n° 9, pp. 159–65.
- [34] Bruneton J .,1999. Huiles essentielles. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Éditions Tec & Doc, 3e édition, Lavoisier, Paris, France
- [35] Ghedira A., Goetz P., le jeune R., 2008. Eucalyptus globulusLabill. phytothérapie, n° 6, pp. 197–200.
- [36]Bouyahya A., Bakri Y., Touys A.,2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. Phytothérapie, pp.1-11.
- [37] Goossens H., Ferech M., Vander Stichele R., et al.,2005. Out patient antibiotic use in Europe and association with resistance : a cross-national database study Lancet. Vol. 365, pp.579–87.
- [38] Talbaoui A., Jamaly N., Aneb M .,2012. Chemical composition and antibacterialactivity of essential oilsfrom six Moroccan plants. Journal of medicinal plant research, n° 6, pp. 4593–600.

Références bibliographiques

- [39] Turner M., 2011. German Escherichia coli out break caused by previously unknown strain. Nature. doi: 10.1038/news.2011.345
- [40] De Martino L., de Feo V., Nazzaro F., 2009. Chemical composition and in vitro antimicrobial and mutagenic activities of seven Lamiaceae essential oils. Molecules, n° 14, pp.4213–230.
- [41] De Feo, De Simone, Senatore F (2002) Potential allelochemicals from the essential oil of Rutagraveolens. Phytochemistry, n° 61, pp. 573–81.
- [42] Ciccarelli D, Garbari F, Pagni AM (2008) The flower of Myrtus communis (Myrtaceae): secretory structures, unicellular papillae, and their ecological role. Flora morphology, vol. 203, pp.85–93.
- [43] Zizovic I., Stamenic M., Orlovic A., et al., 2007. Supercritical carbon dioxide extraction of essential oils from plants with secretory ducts: mathematical modeling of micro-scale. Journal of Supercritical Fluids, vol. 39, pp. 338–46
- [45] Dubey VS., Bhalla R., Luthra R., 2003. An overview of the non mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. Journal of Bioscience, n° 28, pp. 637–46.
- [46] Bohlmann J., Keeling CI., 2008. Terpenoid biomaterials. Plants Journal, n° 54, pp. 656–69.
- [47] Kalemba D., Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, n° 10, pp. 813–29.
- [48] Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., et al., 2013. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals, n° 6, pp. 1451–74.
- [49] Mourey A., Canillac N., 2002. Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. Food Control, n° 13, pp. 289–92.
- [50] Carson CF., Hammer KA., Riley TV., 2006. Melaleuca alternifolia (teatree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, vol. 19, n°1, pp. 50–62.
- [51] Soualeh N., Soulimani R., 2016. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. Phytothérapie, vol. 14, pp. 44-57.

Références bibliographiques

- [52] Nardin Tavares JP., 2012. Interaction between vegetation and the atmosphere in cloud and rain formation in the Amazon: A review. *Estudo savançados*, vol. 26, n° 74.
- [53] Aouni M., Pelen F., Soulimani R., 2013. Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie*, n° 4, pp. 225–36.
- [54] Astani A., Schnitzler P., 2014. Antiviral activity of monoterpenes beta-pinene and limonene against herpes simplex virus in vitro. *Iran J Microbiol*, vol.6, n° 3, pp. 149–55.
- [55] Babulka K., 2007. Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. *Phytothérapie* n°5, pp. 137–45.
- [56] Bharat B., Sharma SK., Singh T., et al., 2013. *Vetiveria zizanioides* (Linn.) Nash: a pharmacological overview. *Internat Res Pharm* DOI: 10.7897/2230-8407.04704
- [57] Inouye S., Abe S., 2007. Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. *Phytothérapie*, n° 1, pp.2-4.
- [58] Maruyama N., Ishibashi H., Hu W et al., 2006. Suppression of carrageenan and collagen II induced inflammation in mice by geranium oil. *Mediators Inflamm*, n° 3: 62537.
- [59] Maruyama N., Sekimoto Y., Ishibashi H., 2005. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J Inflamm* vol.2, n° 1.
- [60] Barnes J., Anderson LA., Phillipson JD., 2007. *Herbal medicines*, 3rd ed., Pharmaceutical Press, London, Chicago.
- [61] Benouda A., Hassar M., Benjilali B., 1988. Les propriétés antiseptiques des huiles essentielles in vitro, testées contre des germes pathogènes hospitaliers. *Fitoterapia*, vol.59, n° 2, pp.115-119.
- [62] Bruneton J., 2009. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales* (4e ed.) Tech & Doc/Lavoisier, Paris, p. 661-4
- [63] Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R., 2008. *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie*, n° 6, pp. 197-20.
- [64] Gobel H., Schmidt G., Soyka D., 1994. Effect of peppermint and eucalyptus oil preparations on neuro physiological and experimental algometric headache parameters. *Cephalalgia*, n° 14, pp. 228-34.

Références bibliographiques

- [65] Gobel H., Schmidt G., Dworschak M et al., 1995. Essential plant oils and headache mechanisms. *Phytomedicine*, n° 2, pp. 93-102.
- [66] Grover JK., Yadav S., Vats V., 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of Ethnopharmacology* , vol.81, n°1, pp. 81-100.
- [67] Misawa M., Kizawa M .,1990. Antitussive effects of several volatile oils especially of cedar leaf oil in guinea pigs. *Pharmacometrics* , n° 39, pp. 81-7.
- [68] Newell CA., Anderson LA., Phillipson JD ., 1996. Herbal medicines: a guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press, London
- [69] Nishizawa M., Emura M., Kan Y et al., 1992. Macrocarpals: HIV-RTaseinhibitors of Eucalyptus globules. *Tetrahedron Letters*, vol.33, n° 21, pp. 2983-6.
- [70] Ross SA., El-Keltawi NE., MegallaSE ., 1980. Antimicrobial activity of some Egyptian plants. *Fitoterapia*, n° 51, pp. 201-205.
- [71] Silva J., Abebe W., Sousa SM et al. (2003) Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 89, n° (2-3), pp. 277-283.
- [72] Tohidpour A., Sattari M., Omidbaigi R et al., 2010. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, vol.17, n° 2, pp. 142-145.
- [73] Wichtl M., Anton R ., 2003. *Plantes therapeutiques*.EMI/Tec & Doc, Paris, pp. 200-202.
- [74]Chibah S., Djouaher F., 2018. Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire de master en chimie pharmaceutique. Khemis Miliana : Université Djilali Bounaâma, 86p.
- [75] Jeanlue S.,1991. Les huiles essentielles: Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie. Edition Frison-Roche 18, Rue Dauphine 75006 Parise, pp. 9-45.
- [76] Bruneton J.,1999 . pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3eme édition. Ed. Technique et Documentation, pp. 485-505.
- [78] Balakeway J., Balerno., 1987. Pour la science. Institut des renseignements scientifiques et techniques. Paris.

Références bibliographiques

- [79] Kesbi A., 2011. Étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. mémoire de master en génie des procédés. Ouargla : Université Kasdi Marbah, 44p.
- [80] BRUNETON J, Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » médicinales 3 ème éd, Tec et Doc, Paris, 1999, pp. 484-540.
- [81] Bouamer A ., Bellaghit M .,Et Mollay A .,2004 Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla ; Mémoire DES . Ouargla : Université Kasdi Marbah, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22.
- [82] Benkada., 1990. Isolation des huiles essentielles de la menthe suaveolens, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire « la pulégone », Thèse de Magister. Université de Tlemcen, pp.42, 76.
- [83] Hammoudi E. et Boudarham A. L'effet antimicrobien de miel.DES Université de KasdiMerbah Ouargla, 2009, pp.20-25.
- [84] Charpentier. Guide de préparateur pharmacie, Ed, Masson, Paris France 1998 ; pp.1068-1071,1242.
- [85] Chacou M. Bassou k. Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata* Lisdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans*. Mémoire de DES microbiologie. Université de Kasdi Merbah Ouargla, 2007.pp.14-27.
- [86] BOUANANE N, BOUSSEHEL N, contribution agro écologique aux essais d'introduction de la menthe poivrée (*mentha piperata* L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation des ses huiles essentielles en thérapie ; mémoire d'ingénieur. Université de Ouargla, 2005, pp.22-23 ; 28.
- [87] BRUNETON J. Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2ième éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France.1993.
- [89] Brian M.L .The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem(USA), 1995, p.57-148

Références bibliographiques

- [90] Mompon B. Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction : CO₂, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4^{ème} rencontre internationale de Nyons, 1994, p. 149-166.
- [91] Couic-Marinier F., 2018. Les huiles essentielles en pratique, Administration et précautions d'emploi. Actualités pharmaceutiques, n°580, pp. 26-29.
- [92] Couic-Marinier F. Huiles essentielles : l'essentiel. Strasbourg: Autoédition; 2013.
- [93] Lobstein A., Couic-Marinier F., koziol N., 2017. Huile essentielle d'Eucalyptus globulus. Actualités pharmaceutiques. n°573, pp.59-61
- [94] Sugumar S., Ghosh V., Nirmala MJ et al., 2014. Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nano emulsion: Antibacterial activity against Staphylococcus aureus and woundhealing activity in Wistar rats. Ultrasonics Sonochemistry, vol.21, n° 3, pp.1044-9.
- [95] Yang YC., Choi HY., Choi WS et al., 2004. Ovicidal and adulticidal activity of Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against Pediculus humanus capitis (Anoplura:Pediculidae). J Agric Food Chem, vo. 52, n°9, pp. 2507-2511.
- [96] Toloza AC., Lucía A., Zerba E et al., 2010. Eucalyptus essential oil toxicity against permethrin-resistant Pediculus humanus capitis (Phthiraptera:Pediculidae). Parasitol Res, vol. 106, n° 2, pp.409-14.
- [97] Batish DR., Singh HP., Kohli RK et al., 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest Ecol Management, vol.256, n°12, pp. 2166-74.
- [98] Couic-Marinier F., Lobstein A., 2013. Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques. n° 525, pp.22-25.
- [99] Lardry J.M., Haberkorn V., 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinesither Rev. n°61, pp. 14-17.
- [100] Roulier G. Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Éditions Dangles, 1990.
- [101] Lardry JM, Haberkorn V. Les formes galéniques destinées à l'usage externe. Kinésithérapie, Les Annales, n° 16, avril 2003, 21-5.
- [102] Deschamp S. 60 huiles essentielles de plantes. Paris, Éditions Arys. La Vie Naturelle, HS 17 nationales. 1990.

Références bibliographiques

- [103] Guilloua M.L., 2016. Escherichia coli revisité, ami ou ennemi ? Revue francophone des laboratoires. n° 486, pp 27-33.
- [104] Massota M., picarda B., denamura E., 2016. Diversité des populations d'Escherichia coli et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. Revue francophone des laboratoires. n° 486, pp. 35-43.
- [105] Mariani-Kurkdjian P., bonacorsi S., Diagnostic des infections à Escherichia coli Entérohémorragique. Revue francophone des laboratoires. n° 486, pp.45-52.
- [106] Basmaci R., cohen R., 2018. Que doit savoir le pédiatre sur Escherichia coli producteur de bêta-lactamase à spectre étendu ? Perfectionnement en Pédiatrie, vol. 9, pp. 1-6.
- [107] Brière M., Boutoille D., caillon J., 2014. Infections à staphylocoques : aspects physiopathologiques, bactériologiques et cliniques. EMC - Maladies infectieuses, vol. 11, n°4, pp. 1-9.
- [108] Vincenota F., Saleha M., Prévosta G., 2008. Les facteurs de virulence de Staphylococcus aureus. Revue francophone des laboratoires, n° 407, pp.61-69.
- [109] Daurela C., leclercq., 2008. L'antibiogramme de Staphylococcus aureus. Revue Francophone Des Laboratoires, n°407, pp. 81-90.
- [110] Hamri A., Brinis A., 2018. Effets antimicrobiens des extraits de Thymus vulgaris chez Candida albicans responsable des infections uro-génitales. Mémoire de master en microbiologie fondamentale. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, 58 p.
- [111] Sudbery, P., Gow, N. et Berman, J., 2004. The distinct morphogenic states of Candida albicans. Trends in microbiology, Vol. 12, n°7, pp. 317-324.
- [112] Segal E., 2005. Candida, still number one-what do we know and where are we going from there? Mycoses 48 Suppl1,3-11.
- [113] Sarazin A., 2010. Les glycannes pariétaux de levures et leur implication dans l'induction et la régulation de la réponse immunitaire de l'hôte, thèse de doctorat, aspects moléculaires et cellulaires de la biologie, l'université Lille pp.2, 181
- [114] Loison L., 2013. Etude de la spore de Bacillus subtilis : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Thèse de doctorat en microbiologie. Université de Bourgogne, 151p.

Références bibliographiques

- [115] Cossart P., Pizarro-Cerdà J., et al., 2004. Microbial pathogens: an overview. In Cellular microbiology. P. Cossart, P. Boquet, S. Normark and R. Rappuoli. Washington, D.C., ASM Press, pp. 1-33.
- [116] Prescott, L. M., J. P. Harley, et al. 2010. Microbiologie 3ème édition. Bruxelles, De Boeck.
- [117] Kunst, F., N. Ogasawara, et al., 1997. The complete genome sequence of the gram positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, vol. 390, n° 6657, pp. 249-56.
- [118] Nicholson W. L., Munakata N., et al., 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol.64, n° 3, pp.548-572.
- [119] Association Française De Normalisation, tour Europe, cedex 7- 92080, paris, 1980.

Annexes

Annexe 1 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) d'HE des feuilles d'Eucalyptus globulus .

Modalité	pure		Dilution 0.25%		Dilution 0.50%	
	Répétition1	Répétition2	Répétition1	Répétition2	Répétition1	Répétition2
Escherichia coli	13.49 mm	12.45 mm	10.64 mm	9.70 mm	10.42 mm	10.48 mm
Staphylococcus aureus	17.58 mm	16.98 mm	-	-	10.40 mm	-
Bacillus subtilis	12.55 mm	11.90 mm	10.32 mm	10.90 mm	11.27 mm	11.21 mm
Candida albicans	16.60 mm	14.51 mm	-	-	11.40 mm	-

Annexe 2 : Diamètre des zones d'inhibition (mm) d'HE du fruits d'Eucalyptus globulus.

Modalité	pure		Dilution 0.25%		Dilution 0.50%	
	Répétition1	Répétition2	Répétition1	Répétition2	Répétition1	Répétition2
Escherichia coli	12.07 mm	13.24 mm	10.97 mm	9.88 mm	11.90 mm	11.12 mm
Staphylococcus aureus	21.28 mm	22.36 mm	10.51 mm	10.33 mm	10.72 mm	10.65 mm
Bacillus subtilis	22.35 mm	21.89 mm	11.99 mm	10.87 mm	13.55 mm	12.65 mm
Candida albicans	17.75 mm	17.85 mm	-	-	-	-

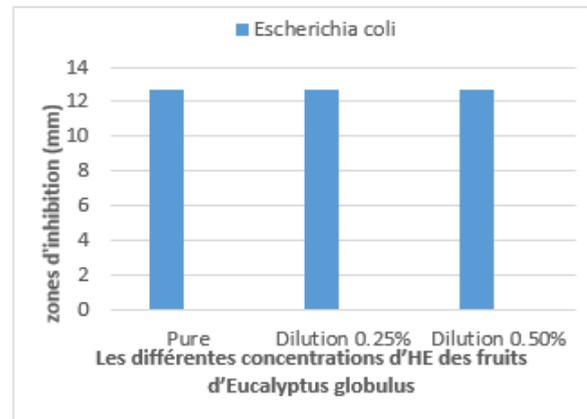
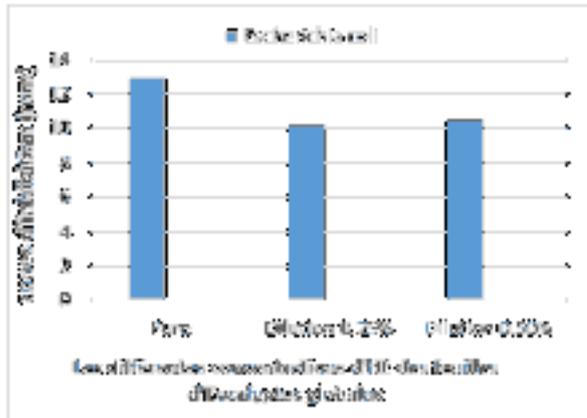
Annexe 3 :histogrammes montrant une comparaison de diamètres des zones d'inhibition entre l'HE des feuilles et celle de fruit.

modalité

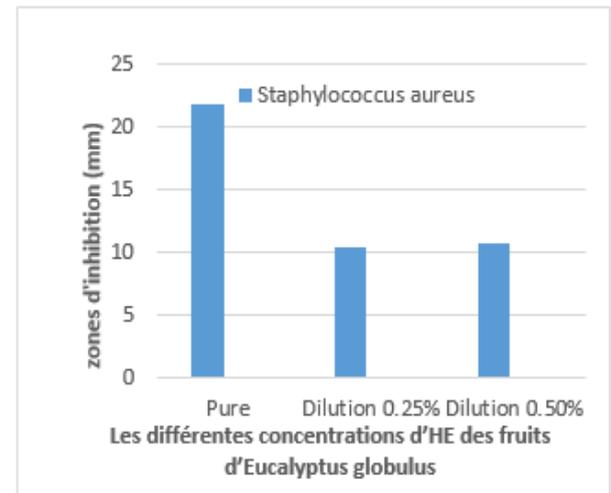
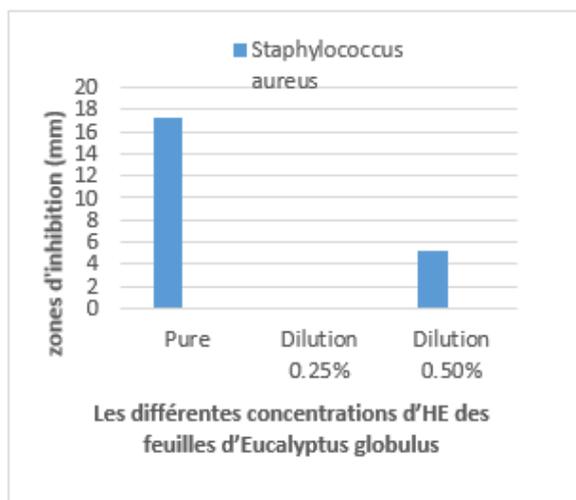
HE des feuilles d'Eucalyptus globulus

HE du fruits d'Eucalyptus globulus

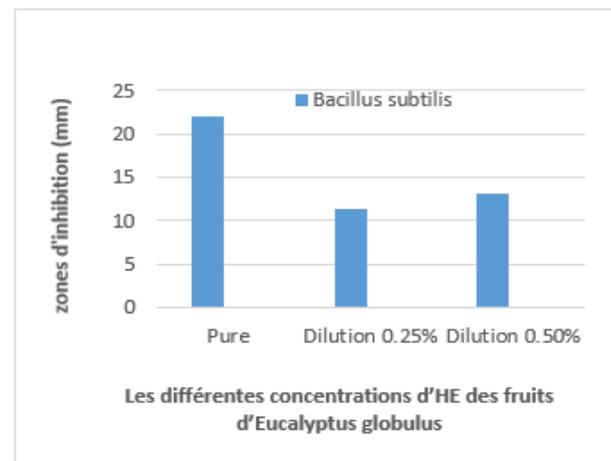
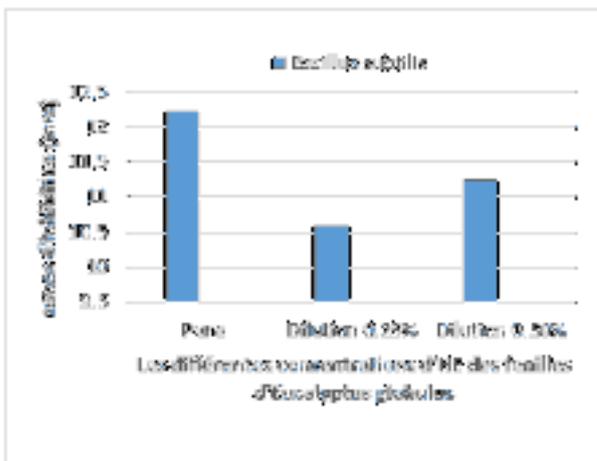
Escherichia coli



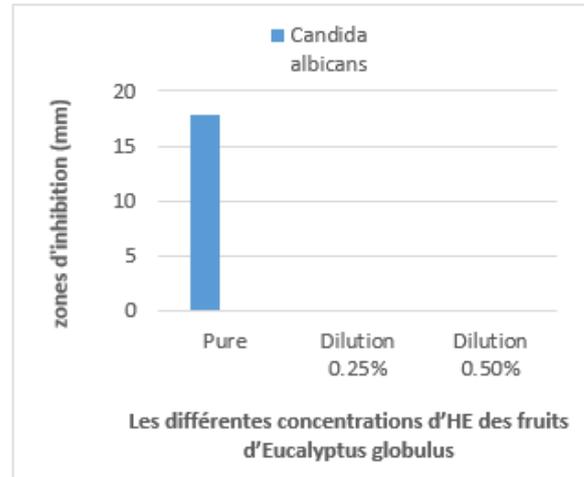
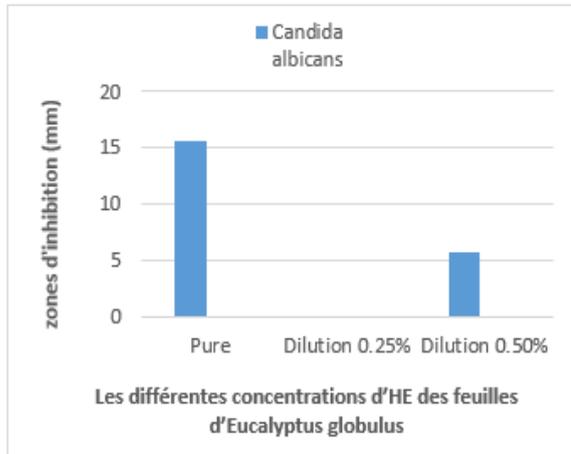
Staphylococcus aureus



Bacillus subtilis



Candida albicans



Annexe 4 : Matériel d'extraction

❖ Matériel de laboratoire :

- ✓ Fioles jaugées de 500 ml, 100 ml
- ✓ Bêchers 100 ml
- ✓ Baguette de verre
- ✓ Balance de précision 0.01g
- ✓ Agitateur magnétique

❖ Matériels chimique : eau distillée, Tween 80

❖ Matériels végétale : huile Essentielle des fruits et feuilles d'Eucalyptus globulus.

Annexes 5 : Matériel d'évaluation anti microbienne

Matériel de laboratoire :

- Boite de pétri
- Milieux de culture (muller-hinton pour les bactéries et les abouraud pour les levures).
- Disques vierges de papier whatman (9 mm).
- L'eau physiologique stérile
- Pincés

Appareillage : spectrophotomètre – vortex – popinelle – la chambre UV – étuve [25°C pour les levures, 35°C pour les bactéries] - bain marie à 95°C - micropipette - pied à coulisse.

Verrerie : flacons en verre- bécher- tubes à essai- pipette pasteur.