

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale .

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم : بيولوجيا الحيوان

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude Phytochimique et Activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

Présenté par : SAHRAOUI Marwa

Le 28/06/2022

LAHIOUEL Zina

MERZOUKI Besma

Jury d'évaluation :

Encadreur : Dr ATMANI-MERABET Ghania (MCA - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Examineur 1 : Pr BELMAHI Habib (Prof - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Examineur 2 : Pr DALICHAOUCH Souhaila (Prof - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Année universitaire
2021 - 2022

Remerciements

Nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage pour accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sentiments les plus vifs et les plus sincères pour remercier notre encadreur Dr Atmani- Merabet Ghania pour sa gentillesse, sa disponibilité, son soutien et ces conseils tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos sincères remerciements pour Pr Belmahi d'avoir accepté de juger ce travail et de faire partie du jury.

Nos vifs remerciements pour Pr Dalichaouch d'avoir accepté de faire partie du jury.

Notre respect et notre reconnaissance pour nos enseignants de la filière de toxicologie.

Nos remerciements les plus sincères pour Mr Zaid Nasser responsable du laboratoire de prévention de la wilaya de Skikda ainsi que Mme Kaboya Samira, pour leurs conseils et leur précieuse aide.

A tous nos collègues du master de la promotion 2021-2022.

A tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincères mots que je

Dédie ce travail

À mes grands-parents, qui m'ont toujours encouragé à réussir dans mes études.

Un grand merci à mes parents pour tous leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études.

*À mon père **Sahraoui Hacene**, à qui rien au monde ne se compare à l'effort qu'il a fourni jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être.
Que Dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

*À ma mère **Louhem M'Sabah Chainez** pour son amour inestimable, sa confiance, son soutien, ces sacrifices et toutes les valeurs qu'elle m'a inculqué.*

Que Dieu vous bénisse avec une bonne santé et une longue vie.

*À ma petite sœur **Maya** pour son encouragement permanent, et son soutien moral.*

J'implore Allah de t'accorder un avenir meilleur.

À mes chers amis qui me rendent la vie plus belle, sans exception.

À mon binôme : Zina et Besma

À tous ceux qui m'ont soutenu, de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Marwa

Dédicace

Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu'au bout du parcours de mes études.

Je dédie du plus fond de mon cœur ce modeste travail : À mes chers parents qui m'ont quitté tôt ils étaient et sont toujours la source de ma force et le secret de ma fierté même si malheureusement ils me regardent de là – haut je ne les oublierai jamais.

À ma joie Céline qui a trop souffert avec moi durant les années de Master je t'aime ma fille.

À mon mari qui m'a apporté un soutien moral pour progresser de plus en plus, Je le remercie pour ces encouragements et son soutien.

À ma belle sœur Nouha que j'aime trop je la remercie pour son aide et à mon beau père que Dieu le garde et lui accorde une longue vie.

*À mes frères: Saleh et Zino
À mes sœurs Meriem et Marwa
À mes oncles Ahmed et Mohamed
À mes nièces Rania, Maya et Aya*

À mon binôme : Marwa et Besma et leurs familles

À mes amies Khadidja, Assia et Zahra

À mes collègues au travail au laboratoire d'analyse médicale Abane Ramdane surtout Leila sans oublier le médecin chef Dr Faghmous

Mes dédicaces vont également à tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin et à toute personne qui un jour consultera ce document.

ZINA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir

*Réussir mon père **Abderazak**.*

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur maman **Alima**.*

Reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

*À mon frère **Ammar**.*

À mes chères sœurs, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant mes études.

À mes chères amies merci pour votre amour, votre soutien et avec qui j'ai passé les plus beaux et les plus vrais souvenirs et partagé avec eux les sentiments les plus profonds ainsi que beaucoup de café :

***Chaima, Wissam, Assala , Ahlem , Sabrina ,** et mon ami*

***Kacem** mon soutient de toujours.*

À toute ma famille et à tous ceux que j'aime.

À mon binome : Marwa et Zina

Besma

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
(1)	Utilisation d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en Algérie et dans différentes régions du monde.	26
(2)	Origine et nom commun de l'espèce étudiée.	27
(3)	Description des souches bactériennes utilisées.	28
(4)	Rendement de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	41
(5)	Rendement d' <i>E.camaldulensis</i> dans différentes régions d'Algérie.	41
(6)	Rendement d' <i>E.camaldulensis</i> dans différentes régions du monde.	43
(7)	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>E.camaldulensis</i> .	44
(8)	Densité de l'huile essentielle d' <i>E.camaldulensis</i> .	45
(9)	Résultats du screening chimique de l'extrait méthanolique.	45
(10)	Résultats du screening chimique de l'extrait aqueux.	47
(11)	Diamètres des zones d'inhibition des HEs d' <i>E.camaldulensis</i> .	50
(12)	Activité antibactérienne d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> en Algérie et dans le Monde.	52
(13)	Comparaison de la sensibilité des quatre souches bactériennes testées dans différentes régions d'Algérie.	55

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Cellules sécrétrices de quelques huiles essentielles.	12
Figure 2	Montage d'extraction par Hydrodistillation.	14
Figure 3	Montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau saturée	15
Figure 4	Structure chimique d'Isoprène (C ₅ H ₈) _n .	15
Figure 5	Répartition d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> dans le monde.	21
Figure 6	Arbre d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	22
Figure 7	Tronc d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	22
Figure 8	Ecorce d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	23
Figure 9	Feuilles d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	23
Figure 10	Fleurs d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	24
Figure 11	Fruits d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> .	24
Figure 12	Forêt de Chettaba (commune d'Ain Smara Constantine).	27
Figure 13	Partie aérienne d' <i>E. camaldulensis</i> séchée, broyées et coupées.	28
Figure 14	Dispositif de la distillation par entrainement à la vapeur d'eau.	29
Figure 15	Extrait méthanoïque d' <i>E. camaldulensis</i> .	30
Figure 16	Extrait aqueux d' <i>E. camaldulensis</i> .	31
Figure 17	Préparation des disques.	36
Figure 18	La gélose Mueller Hinton stérile est coulée dans des boites de pétri.	37
Figure 19	Préparation des dilutions.	37
Figure 20	Préparation d'inoculum	38

Figure 21	Ensemencement sur milieu solide.	39
Figure 22	Le rendement d' <i>E. camaldulensis</i> dans différentes régions d'Algérie.	42
Figure 23	L'huile essentielle d' <i>E. camaldulensis</i> .	44
Figure 24	Activité anti bactérienne de différentes concentrations de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus camaldulensis</i> sur les quatre souches bactériennes testées.	51
Figure 25	Activité antibactérienne de l'HE d' <i>E. camaldulensis</i> de la région de Constantine.	52

LISTE DES ABREVIATION

AFNOR : Association Française De Normalisation

CPG/SM : Chromatogramme en phase gazeuse couplé à une Spectrométrie de masse

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

E : Eucalyptus

HE : Huile essentielle

HEs : Huiles essentielles

Masse (HE) : Masse de l'huile essentielle

Masse (MVS) : Masse du matériel végétal sec

MH : Muller Hinton

mm : Millimètres

mg : Milligrammes

OMS : Organisation Mondiale de la santé.

PMA : Plante Médicinale et Aromatique.

R% : Rendement en Huile Essentielle.

ISO : International Standard Organisation

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine.

µl : Microlitres

UV : ultraviolet

Table des matières	
Remerciements.....	I
Dédicaces.....	II
Liste des tableaux.....	V
Liste des figures.....	VI
Liste des abréviations.....	VIII
Table des matières.....	IX
Introduction.....	1
Chapitre I : Synthèse Bibliographique	
I-1 Les plantes médicinales.....	3
I-1-1 Historique.....	3
I-1-2 Plante médicinale.....	3
I-1-3 Plante sauvage.....	3
I-1-4 Médecine traditionnelle.....	4
I-1-4-1 En Afrique.....	4
I-1-4-2 Au Maghreb.....	4
I-1-4-3 En Algérie.....	4
I-1-5 Principes actifs des plantes médicinales.....	4
I-1-5-1 Définition.....	4
I-1-5-2 Principes actifs.....	5
I-1-5-3 Principaux groupes.....	5
I-1-6 Cueillette et séchage.....	8
I-1-7 Conservation et stockage.....	9
I-1-8 Utilisation des plantes médicinales.....	9
I-1-9 Avantage et inconvénient.....	10
I-2 Généralités sur les huiles essentielles.....	11
I-2-1 Historique.....	11
I-2-2 Définition des huiles essentielles.....	11
I-2-3 Localisation ou répartition des huiles essentielles.....	12
I-2-4 Facteurs influençant la composition des huiles essentielles.....	12

I-2-5 Procédés d'obtention des huiles essentielles.....	13
I-2-6 Composition chimique des huiles essentielles.....	15
I-2-7 Notion de Chémotype.....	16
I-2-8 Propriétés des huiles essentielles.....	16
I-2-9 Principales utilisations des huiles essentielles.....	17
I-3 <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.....	20
I-3-1 Généralités.....	20
I-3-2 <i>Eucalyptus camaldulensis</i> Dehnh.....	20
I-3-3 Description botanique.....	22
I-3-4 Composition chimique.....	25
I-3-5 Utilisation médicinales et traditionnelle	25
I-3-6 Aspect économique	26
Chapitre II : Matériel est méthodes	
II-1 Matériel.....	27
II-1-1 Matériel végétal.....	27
II-1-2 Matériel biologique	28
II-2 Préparation de la plante	28
II-3 Extraction de l'huile essentielle.....	29
II-4 Détermination du rendement en huile essentielle	29
II-5 Mesure de la densité relative (Norme NFT75. 111-2000).....	30
II-6 Préparation des extraits	30
II-6-1 Extrait méthanolique	30
II-6-2 Extrait aqueux	31
II-7 Tests préliminaires du Screening phytochimique	31
II-8 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	35
II-8-1 Méthode de diffusion sur milieu gélose (Aromatogramme).....	35

II-8-2 Préparation des disques.....	36
II-8-3 Préparation des boîtes de pétri	36
II-8-4 Préparation des différentes concentrations de l'huile essentielle <i>d'E.camaldulensis</i>	37
II-8-5 Préparation d'inoculum	38
II-8-6 Ensemencement et dépôt des disques	38
II-8-7 Expression des résultats	40
Chapitre III Résultats et discussion	
III-1 Détermination du rendement et de la densité de l'huile essentielle <i>d'E.camaldulensis</i>	41
III-1-1 Rendement.....	41
III-1-2 Propriétés organoleptiques.....	43
III-1-3 Densité.....	44
III-2 Résultat du screening phytochimique.....	45
III-3 Résultat de l'activité antibactérienne.....	49
Conclusion	57
Références bibliographiques	58-69

Introduction

Introduction

Depuis la création de l'Homme ce dernier n'a pas cessé de s'inspirer de la nature pour subvenir à ces besoins de survies dont son utilisation des fruits et des légumes pour se nourrir, du bois pour se réchauffer, et des plantes pour se soigner. C'est dans ce but qu'est née et continue à se développer la médecine par les plantes ou ce qu'on appelle la phytothérapie, qui désigne la médecine fondée sur les extraits de plante et les principes actifs naturels.

Aujourd'hui, le secteur des plantes médicinales et aromatiques concerne majoritairement des marchés tel que : la parfumerie, les cosmétiques, l'agroalimentaire et l'aromathérapie, branche de la phytothérapie qui met à profit les propriétés médicales d'aromes, d'essences ou d'huiles essentielles. Elle fait patrie des médecines naturelles **(Oullai et Chamek, 2018)**. Les huiles essentielles suscitent de plus en plus d'intérêt en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimique de synthèse **(Farnworth, 1986)**

L'Eucalyptus est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des feuilles de cette plante sont largement employés, dans la médecine traditionnelle depuis des siècles contre la grippe et notamment comme anti-inflammatoire. Par ailleurs, beaucoup d'études soulignent les propriétés anti oxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti infectieuses, antispasmodiques, insecticides et acaricides de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* **(Ait M'barek et al., 2007; Atmani-Merabet, 2018; Atmani-Merabet et al., 2020; Inouye et Abe 2007; Steflitsch 2008)**.

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques mais qui restent très peu explorées sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique **(William, 2003)**. La connaissance des constituants chimiques des plantes facilite l'étude de leur activité biologique et un meilleur contrôle de qualité en vue d'une préparation pharmaceutique.

C'est dans ce cadre que notre travail a porté sur l'étude phytochimique et biologique d'une plante Algérienne *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Ce choix est justifié par le fait que

Introduction

cette plante est riche en principes actifs (huiles essentielles) et possède des activités biologiques diverses et importantes (**Bouzabata et al., 2014, Daroui-Mokadem, 2011 ; Derwich et al., 2009 ; Kabsi, 2011 ; Koziol, 2015, Salemkour et Rahaoui, 2019**).

Le présent travail est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique sur les plantes médicinales, les huiles essentielles et l'espèce *Eucalyptus camaldulensis*.
- Le second chapitre est consacré à la présentation du matériel et des méthodes utilisés dans cette recherche.
- Dans le troisième chapitre sont exposés les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

Notre étude se termine par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I-1 les plantes médicinales

I-1-1 Historique

L'Homme a toujours utilisé les plantes à des fins thérapeutiques. L'emploi de ces plantes est très valorisé dans toutes les traditions médicales, il y a deux cents ans encore les moyens thérapeutiques naturels étaient les seuls remèdes dont disposait l'humanité. Leur utilisation et leurs effets ont donc été minutieusement étudiés, documentés et développés (**Grunwald et Janick, 2006**).

Les plantes médicinales comme les autres thérapeutiques ont toujours été intégrées à la culture d'une époque, ou d'une civilisation donnée (**Grunwald et Janick, 2006**). Elles constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés (**Sofowora, 1993**). Ce sont des plantes qui offrent un effet thérapeutique pour guérir certaines maladies (**Adoumou 2012**) et elles représentent une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires pour la synthèse des médicaments (**Ameenah, 2006**).

I-1-2 Plante médicinale

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs bénéfiques à la santé humaine. Une plante médicinale peut être utilisée sous formes fraîche ou desséchée.

L'efficacité des plantes médicinales est due à leurs composés très nombreux et très variés en fonction des espèces, et qui présentent des effets thérapeutiques différents. Exemples : l'Eucalyptus (Toux) ; le pavot (Douleurs) (**Oullali et Chamek, 2018**).

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 20000 plantes utilisées dans le monde pour leurs propriétés médicinales, seulement 2000 à 3000 plantes ont été étudiées scientifiquement (**Oullali et Chamek, 2018**).

I-1-3 Plante sauvage

Les plantes sauvages font partie du patrimoine culturel et génétique de différentes régions du monde, elles sont utilisées en médecine traditionnelle dans l'alimentation et pour se soigner. En période de famine et de pénurie, ces sources de nutriments et de composés favorables à la santé ont reçu une grande importance (**Pinela et al., 2017**).

I-1-4 Médecine traditionnelle

I-1-4-1 En Afrique

En Afrique ; les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des population rurales, ou plus de 80% de cette dernière s'en sert pour assurer leurs soins de santé(**Jiofack et al.,2010 ; Mpondo et al.,2012**).

I-1-4-2 Au Maghreb

La médecine traditionnelle au grand Maghreb est née bien avant l'arrivée des Arabes ; les Berbères utilisaient des thérapeutiques qui se pratiquent encore de nos jours.Aujourd'hui les plantes jouent encore un rôle très important dans les traditions médicales et la vie des habitants de cette région du monde (**Oullali et Chamek, 2018**).

I-1-4-3 En Algérie

En Algérie, les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de santé. Des publications anciennes et récentes révèlent qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour le traitement curatif et préventif de nombreuses maladies. Ces dernières années, la phytothérapie traditionnelle s'est répandue dans le pays. Des chiffres recueillis auprès du Centre national du registre de commerce, montrent qu'à la fin 2009, l'Algérie comptait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente d'herbes médicinales, dont 1393 sédentaires et 533 ambulants. La capitale en abritait, à elle seule, le plus grand nombre avec 199 magasins, suivie de la wilaya de Sétif (107), Bechar (100) et El Oued avec 60 magasins (**Boumediou et Addoun, 2017**).Ce qui confirme qu'en Algérie les plantes médicinales n'ont jamais été totalement abandonnés et les gens n'ont jamais cessé de faire appel à la médecine traditionnelle ; ce qui conduit à maintenir une tradition thérapeutique vivante malgré le développement spectaculaire de la médecine moderne (**Hamza,2011**).

I-1-5 Principes actifs des plantes médicinales

I-1-5-1 Définition

Les principes actifs sont des molécules contenues dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale, utilisée pour la fabrication des médicaments ; ils présentent une activité thérapeutique curative ou préventive pour l'Homme ou l'animale. Ces

composés sont souvent en quantité extrêmement faible dans la plante, mais se sont eux qui en sont l'élément essentiel. Il est donc parfois important de réaliser une extraction qui va isoler la seule fraction intéressante de la plante(Oullali et Chamek, 2018).

I-1-5-2 Principes actifs

Parmi les originalités majeures des végétaux leurs capacités à reproduire des substances naturelles très diversifiées (Boudjema,2019).Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme en effet, à côté des métabolites primaires classiques : les glucides, protides, lipides elles accumulent fréquemment des métabolites secondaires(Boudjema2019).

I-1-5-3 Principaux groupes

Les métabolites secondaires sont classés en plusieurs groupes : composés phénoliques, terpènes, alcaloïdes...chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Mansour, 2009).

A- Composés phénoliques

Les poly phénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui se trouvent dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polys hydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à six carbones. Ils se subdivisent en sous classe principalement ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins...(Chakou,2013).

A-1 Acide phénolique

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées, et liées à des sucres sous forme d'hétéroside, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires ; antiseptiques et analgésiques(médicament d'aspirine dérivé de l'acide salicyliques) (Iserin et al.,2001).

A-2 Flavonoïdes

Flavonoïde est un terme latin (flavus = jaune), ils sont très répandus au royaume des plantes et sont des pigments poly phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits. Ils ont un important champ d'action et sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation et le contrôle de processus de croissance. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires, anti oxydantes, antivirales, antifongiques, spasmolytiques et des effets protecteurs sur le foie comme le chardon-marie **(Oullali et Chamek, 2018)**.

A-3 Tanins

Le terme tanin provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux **(Hopkins, 2003)**. Beaucoup de plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé, ceux-ci donnent un goût amer à la plante. Les tanins sont des composés polys phénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant en créant ainsi une couche protectrice. Les plantes riches en tanins sont beaucoup utilisées pour les affections digestives ; en cas de diarrhée, ulcère et pour soulager les hémorroïdes comme pour le bouillon blanc **(Oullali et Chamek, 2018)**.

A-4 Lignines

Ce sont des composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissu sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de la sève brute qui permet la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe **(Wichtl et Anton, 2009)**.

A-5 Anthocyanes

Ce sont de puissants anti oxydants qui donnent aux fruits et aux fleurs cette couleur bleue, rouge ou pourpre, Ils nettoient l'organisme des radicaux libres. Ces pigments sont des dérivés du cation 2- phényl benzopyrylium plus communément appelé cation flavylium. Les anthocyanes jouent un rôle important dans la physiologie végétale comme attracteurs des insectes et dans la dispersion des graines **(Kerio et al., 2012)**. Ils sont censés protéger les cellules végétales contre les rayons ultraviolets (UV), l'intensité lumineuse élevée, le froid, le stress hydrique, les blessures et pour se défendre contre les microbes et les phytopathogènes **(Pervaiz et al., 2017)**.

A-6 Coumarines

Les coumarines sont des esters internes des acides composés, ce sont des lactones phénoliques qu'on trouve dans de nombreuses espèces végétales. Les coumarines du marronnier d'inde par exemple ont un effet anti hémorroïdaire, les chromons d'Angelica archangelica ont une action apéritive (**Oullali et Chamek, 2018**).

B- Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles de plantes. La plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (**Wichtl et Anton, 2009**). Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) et anticancéreux (**Iserin et al., 2001**).

C- Terpènes

Les terpénoides sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles. Leur grande diversité est due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$, selon la variation du nombre n, on a les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, ... (**Wichtl et Anton, 2009**). Ces molécules se présentent sous forme d'huiles essentielles ; parfums et goût des plantes, pigments (carotène), hormones (acide abscissique) et stéroïls (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

E- Saponosides

Ce sont les principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, elles sont fortement moussantes et constituent d'excellents émulsifiants. Leur principale propriété c'est de pouvoir transformer des matières fermes en matières fluides. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoides. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines, alors que les saponines triterpénoides, ont une activité hormonale moindre mais elles sont souvent expectorantes et favorisent la digestion, comme pour la glycyrrhizine de la réglisse (**Oullali et Chamek, 2018**).

I- Huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et à caractère volatil, elles offrent à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs. Elles jouent un rôle de protection des plantes contre l'excès de lumière et attirent les insectes pollinisateurs (**Boudjema, 2019**).

Les huiles essentielles sont utilisées pour soigner les maladies inflammatoires telle que les allergies et eczéma, elles favorisent l'expulsion des gazes intestinaux comme les fleurs fraîches au séchées de la camomille (**Isarin et al., 2001**).

K- Substances amères

Les renseignements sur les formules chimiques des amers sont encore incomplètes. Elles forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût, cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion, et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, donc le corps est mieux nourri et entretenu. De nombreuses plantes ont des constituants amers, notamment l'absinthe, la sauge, la gentiane et l'artichaut (**Oullali et Chamek, 2018**).

L- Mucilages végétaux

Ce sont de grosses molécules liées à des gommages qui sont d'énormes concrétions de sucres. Ils sont déposés spontanément sur les tissus et agissent comme des protecteurs (**Sebai et Boudali, 2012**).

M- Vitamines, minéraux, fibres et autres

Les plantes médicinales sont également sources de fibres, de vitamines, et de minéraux. Elles sont riches en graisses, huiles et cires, ainsi qu'en acides insaturés tels les acides linoléiques. Par exemple le citron (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C, le pissenlit (*Taraxacum officinale*) est un puissant diurétique cet effet est dû à sa concentration en potassium (**Oullali et Chamek, 2018**).

I-1-6 Cueillette et séchage

Les propriétés des plantes dépendent essentiellement de la région de production, de la période et des techniques de cueillette. La cueillette est liée à la variation climatique et

saisonnaire et pour déterminer les propriétés d'une plante il est nécessaire de prendre en considération la partie utilisée, la morphologie, la couleur, la nature et la saveur (**Chemare, 2012**). Le séchage au soleil est la méthode la plus simple et économique, utilisée surtout pour les racines, tiges, graines et fruits. Le séchage à l'ombre est indiqué pour les feuilles et fleurs, car les feuilles vertes séchées au soleil jaunissent, les pétales de fleurs perdent leurs couleurs vives, ce qui peut altérer les propriétés médicinales de ces produits. Les plantes aromatiques ne doivent pas rester trop longtemps au soleil pour ne pas perdre leur parfum (**Djeddi, 2012**). Le maximum de température admis pour une bonne dessiccation des plantes aromatiques ou des plantes contenant des huiles essentielles est de 30°C ; pour les autres cas, la température de dessiccation peut varier de 15°C à 17°C (**Delille, 2013**).

I-1-7 Conservation et stockage

Les PAM (plantes aromatiques et médicinales) sont conservées à l'abri de la lumière, de l'air et au sec dans des récipients en porcelaine, faïence ou verre teinté, boîtes sèches en fer blanches, sacs en papier ou des caisses. Cette technique est nécessaire pour les plantes qui subissent des transformations chimiques sous l'influence des ultraviolets. Les plantes riches en produits volatils et qui s'oxydent rapidement sont conservées dans un milieu étanche (**Delille, 2013 ; Djeddi, 2012**).

I-1-8 Utilisation des plantes médicinales

On distingue différentes formes d'utilisation des plantes médicinales :

I-8-1 En usage interne

A - Fumigation

C'est l'utilisation de vapeurs chargées des principes actifs de la plante, on peut ainsi faire bouillir des feuilles d'Eucalyptus dans une pièce qu'on veut désinfecter (**Sebai et Boudali, 2012**).

I-8-2 En usage externe

On peut utiliser les plantes médicinales au niveau de la peau sous forme de : compresse, cataplasme, lotion ou dans le bain. Au niveau des muqueuses en gargarisme, en bain de bouche et en bain des yeux (**Sebai et Boudali, 2012**).

I-1-9 Avantages et Inconvénients

I-9-1 Avantages

La phytothérapie offre de multiples avantages dans les besoins sanitaires de l'Homme et ceci malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne. L'adjonction d'un traitement phytothérapeutique renforce alors l'efficacité du remède chimique, ou diminue des effets secondaires. Elle permet même de remplacer les molécules de synthèse lorsque celles-ci ne sont plus tolérées ou acceptées par le patient, citons par exemple le cas des anti-inflammatoires, antidépresseurs, ou encore les anxiolytiques (**Chabrier, 2013**).

I-9-2 Inconvénients

La phytothérapie est une thérapie généralement peu toxique, mais qui incite à prendre un certain nombre de précaution à savoir :

- ❖ Une bonne connaissance des plantes qu'on utilise car certaines d'entre elles peuvent être toxiques et génèrent des réactions allergiques pour certains patients.
- ❖ Une connaissance du devenir des principes actifs de la plante utilisée dans l'organisme.
- ❖ Certaines plantes ne peuvent pas être utilisées en même temps que d'autres médicaments ou présentent une certaine toxicité si le dosage de traitement est prolongé (**Roux, 2005**).
- ❖ L'utilisation au hasard des plantes présente un vrai danger pour la santé : intoxication (très fréquent), vertiges, vomissement, insuffisance rénale et même des fois mortelles, et tout ça cause de :
 - La dose dépassée (posologie)
 - L'interaction avec d'autres médicaments
 - La toxicité de la plante
 - Des plantes qui ont une action grave à cause de leur principe actif (hypoglycémiant, hyper/hypotenseur...) (**Sebai et Boudali, 2012**).

I-2 Généralités sur les huiles essentielles

I-2-1 Historique

Depuis la plus haute antiquité les parfums et les arômes forment parmi les premiers signes de connaissance qui marquent la vie des Hommes. Ils furent étroitement associés à la vie spirituelle de l'Homme (Egypte- Inde), ainsi qu'à l'histoire de la médecine (Grec, Empire Romains et Empire arabe). Au début de XVI siècle, Parascelsus Von Hohenheim, médecin Suisse considéré comme le père de la pharmaco- chimie étudia l'extraction de « L'âme » des végétaux sous forme de quintessence ou cinquième essence dont laquelle on donnera le nom « d'esprit » et puis « d'essences » et finalement « huile essentielle » (**Bernard et al., 1988**). Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Essawi et Srour, 2000**).

I-2-2 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants (**Smallfield, 2001**). Pour la 8^{ème} édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « *des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation.* » (**Bruneton, 1993**).

La Pharmacopée française (édition de 1965) donne une définition officielle des huiles essentielles: « *Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essences ou de certains de leurs organes, et celui par expression* ».

Depuis la neuvième édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme « *d'huile essentielle* ». En octobre 1987, l'AFNOR (Association Française de la Normalisation) propose une autre définition : « *Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.* ».

I-2-3 Localisation ou répartition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont très répandues dans le règne végétal, on les rencontre surtout dans les phanérogames, mais quelques cryptogames en renferment également. Dans la plupart des cas, les essences se trouvent toutes formées dans les différents organes, elles sont alors localisées soit dans les glandes des poils sécréteurs, soit dans des réservoirs intracellulaires ayant la forme des canaux (**Danielle Huard, 1999**). Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae (**Bruneton, 1993**). Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle (Figure 1).

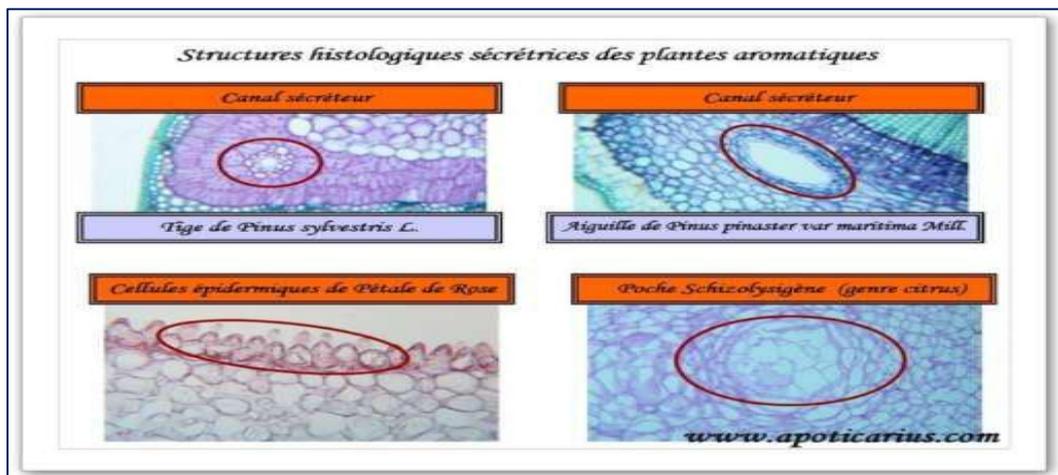


Figure 1: Cellules sécrétrices de quelques huiles essentielles

I-2-4 Facteurs influençant la composition des huiles essentielles

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition dans laquelle, intervient un grand nombre de paramètres, qu'ils soient :

a- D'ordre naturel

➤ Intrinsèque

Une huile essentielle doit être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toute dénomination trompeuse du matériel (**Bruneton, 1999**). L'influence du stade végétatif, l'organe de la plante, les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie et le polymorphisme chimique sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles (**Aprotosoie et al., 2010 ; Belyagoubi, 2006 ; Bruneton, 1999 ; Garnéro1991**).

Extrinsèque

- Facteurs géographiques (altitude, latitude)
- Nature du sol
- Climat (ensoleillement, température, pluviométrie)

b- De l'ordre considéré

Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles des plantes produisent trois huiles essentielles différentes.

c- De l'ordre technologique

Lié au mode d'exploitation du matériel végétale, une huile essentielle peut subir de profondes modifications lors de son exploitation. Lors de l'hydrodistillation, plusieurs perturbations peuvent apparaître en particulier sous l'effet de la température et de la durée d'extraction. La chaleur provoque des phénomènes d'hydrolyses sur les essences fragiles telles que la Rose et le Jasmin. Le temps de distillation reste cependant le facteur déterminant dans la mesure où la cinétique d'extraction de chacun des composants varie selon sa structure et ses propriétés physico-chimiques (**Bernard et al., 1988**).

I-2-5 Procédés d'obtention des huiles essentielles

Divers procédés sont actuellement utilisés pour l'extraction des produits aromatiques des végétaux. Selon la technique utilisée, l'extraction des produits permet d'obtenir des huiles essentielles, des pommades, des concrètes, des absolues, des résinoïdes ou des infusions. Les principales propriétés physiques mises en œuvre dans les opérations fondamentales d'extraction des matières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité
- La solubilité
- Les dimensions et les formes des particules (**Benanelkader, 2001**).

➤ La distillation

Il est communément admis que la vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles. Dans l'industrie des huiles essentielles une terminologie distingue trois types de distillation : distillation à l'eau ou hydrodistillation, distillation mixte et distillation à la vapeur (Mehani, 2015).

a- Hydrodistillation

Elle consiste à émerger directement la matière végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur la première surface et les huiles essentielles sont séparées par différences de densité (Bruneton, 1987) (Figure 2).

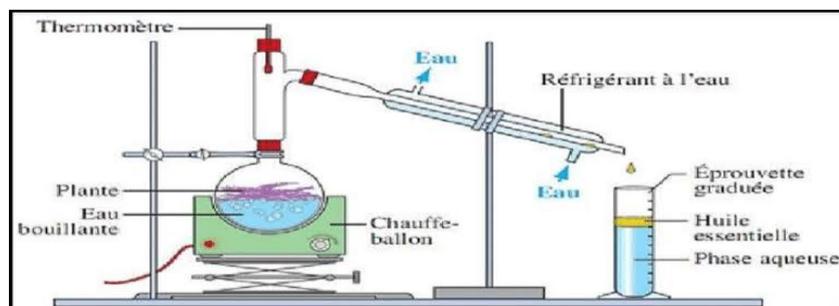


Figure 2 : Montage d'extraction par hydrodistillation (Mehani, 2015)

b- Distillation mixte

La distillation mixte est un processus couplant l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale baignant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. Les divers phénomènes d'extraction se trouvent combinés. Il semble que ce procédé a pour principal avantage de diminuer les réactions secondaires subies par l'HE sous l'action de l'eau acide (Vonrochemberg, 1910).

c- Distillation à la vapeur d'eau saturée

Le végétal est supporté dans l'alambic par une plaque perforée située à une certaine distance au dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau bouillante. Cette méthode est surtout réservée à l'obtention d'huiles essentielles à partir des épices, des plantes aromatiques et médicinales (Layadi et Souadki, 1999) (Figure 3).

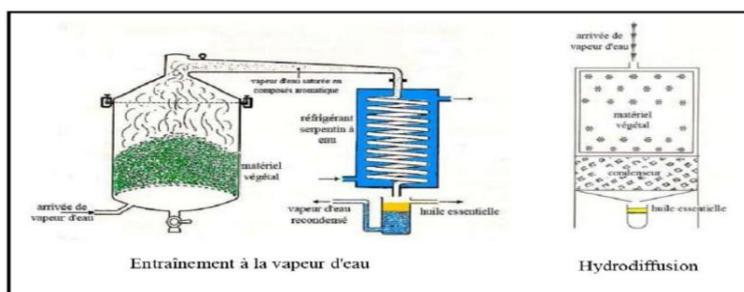


Figure 3 : Montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau saturée
(Mehani, 2015)

I-2-6 Composition chimique des huiles essentielles

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles révèle, qu'il s'agit de mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, ce sont : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phenyl propane (Gildo, 2006).

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. La formule brute des terpènes est $[(C_5H_8)_n]$, n peut prendre les valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes ou il peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La formule de base est l'isoprène C_5H_8 (Figure : 4). Le terme terpénoïdes désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques [alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone...].

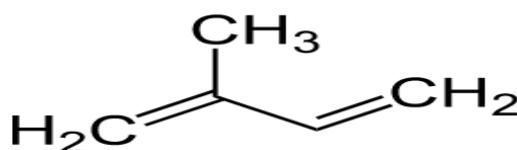


Figure 4 : Structure chimique d'isoprène $(C_5H_8)_n$

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires [avec les flavonoïdes et les alcaloïdes]. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène, on aura ainsi : Hemiterpènes C_5 , Monoterpènes C_{10} , Sesquiterpènes C_{15} , Diterpènes C_{20} , Sesterpènes C_{25} , Triterpènes C_{30} et Tétraterpènes et polyterpènes C_{40} .

Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane sont moins fréquents, mais néanmoins très importants on citera comme exemple : l'eugénol, l'anéthol, la vaniline.

Les composés d'origines diverses sont des produits résultants de la transformation de molécules non volatiles, ces composés contribuent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles, lorsqu'elles sont entraînaables par la vapeur d'eau (**Bruneton, 1999**).

I-2-7 Notion de chémotype

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce, ces variétés chimiques sont communément appelées : **Chémotype**. Le mot chémotype est dérivé de chimiotype ou chimiovariété. Cette variation peut se présenter d'un peuplement à l'autre ou d'un individu à l'autre ; elle peut être due à des facteurs exogènes comme : l'ensoleillement, la nature des composants du sol, la température et l'altitude, et au facteur endogène : la composition génétique des individus. Par exemple le basilic cultivé en pleine lumière à Madagascar a un taux de chavicol de 57 %, alors que la même plante cultivée à l'abri de la lumière en contient 74 % (**Franchomme et Penoel, 1990**). Cette variabilité peut être influencée également par la situation géographique, l'*Eucalyptus camaldulensis* récolté à Constantine possède un taux de cinéole de 38,6 % (**Benayache et al., 2001**), alors que la même plante récoltée à Ain Timouchent a un taux de 42,3 % (**Salemkour et Rahaoui, 2019**).

I-2-8 Propriétés des huiles essentielles

A) Propriétés organoleptiques

Les huiles essentielles généralement sont incolores mais on trouve quelques unes colorées en jaune, en rouge (essence de cannelle), en bleu (huile volatile de camomille) et en vert (huile volatile d'absinthe). Les huiles volatiles donnent leur coloration à une substance particulière qui est l'azulène $C_{15}H_{18}$ de couleur bleu, elles sont divisées en quatre classes (**Bruneton, 1993**) :

- Huile incolore : sans azulène ni résine ;
- Huile jaune : avec résine seulement ;
- Huile bleu : avec azulène ;
- Huile verte brune ou jaune verte : contenant de l'azulène en proportion variable.

B) Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (**Smallfield, 2001**). Elles ont des propriétés antiseptiques pour les poumons (Eucalyptus), dépuratives ou cicatrisantes (Lavande) (**Caillard, 2003**), activité analgésique (Origan, Thym) (**Schwammle et al., 2001**).

Les terpènes ou terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977 il a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinées jusqu'à 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide betulinique est un des plusieurs triterpénoïdes qui ont montré une action inhibitrice envers HIV. (Cowan, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être : anti-infectieuses, anti-inflammatoires, antispasmodiques, antimicrobiennes, anti-oxydantes, cytotoxiques et anticancéreuses (**Ait M'barek et al., 2007 ; Bardeau, 2009 ; Inouye et Abe 2007 ; ; Le Hir et al., 2016 ; Steflitsch 2009**). Ce sont des agents antimicrobiens à large spectre (**Randhawa et al., 2001**) et sont utilisées comme pesticide dans la lutte biologique contre les ravageurs et les acariens (**Atman-Merabet et al., 2018 ; Atmani-Merabet et al., 2020**).

I-2-9 Principales utilisations des huiles essentielles

A- En pharmacie

Il y a sept huiles essentielles inscrites dans la pharmacopée européenne ce sont : les huiles essentielles : d'anis, d'eucalyptus, de clou de girofle, de fleur d'oranger amer, de lavande, de menthe poivrée et de thym. Les propriétés pharmacologiques des huiles essentielles leurs confèrent une utilisation médicale qui se reflète dans :

➤ Pouvoir antiseptique

Contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures. Citons les huiles essentielles de thym, girofle, lavande, eucalyptus. Le thymol, constituant principal de l'huile essentielle de thym, est 20 fois plus antiseptique que le phénol (**Bruneton, 1993**).

➤ **Propriétés spasmolytiques et sédatives**

Certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée (**Bruneton, 1993**).

➤ **Propriétés irritantes**

De nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires. En effet, par voie externe certaines huiles essentielles (ex: oléorésine dans la térébenthine) augmentent la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale (**Bruneton, 1993**). Ces huiles essentielles constituent également le support de l'aromathérapie, traitement des maladies par des essences de plantes.

B- En parfumerie et cosmétologie

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, des savons et des cosmétiques (**Chagra, 2019**).

L'utilisation des HES dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques grâce à leur activité antiseptique et anti-oxydante, tout en leur assurant leur odeur agréable (**Ait Salem, 2016**).

Les huiles essentielles, matières premières par excellence des parfumeurs, sont classées en fonction de leurs odeurs. Ainsi les huiles essentielles de citron, de bergamote ou encore de lavande constitueront la note la plus éphémère, dite note de tête. Des essences fleuries comme celles de rose ou de néroli participeront à l'élaboration de la note de cœur. Enfin, la note de fond, la plus durable des trois, comportera plutôt des essences boisées ou épicées comme le santal ou la cannelle (**Deschepper, 2017**).

C- En industries agro-alimentaires

Certaines drogues sont utilisées en nature (épices et aromates), d'autres sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes dispersés, encapsulés ou complexés. Si la réfrigération et d'autres moyens de conservation se sont substitués aux épices pour assurer la conservation

des aliments, le développement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, surgelés), le goût pour l'exotisme et les qualités gustatives, conduisent à une rapide augmentation de la consommation de ce type de produits. On note leur intégration dans : les boissons non alcooliques, les confiseries, les produits laitiers ou carnés, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries, ainsi que la nutrition animale (**Bruneton, 1993**).

I-3 *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh.

I-3-1 Généralités

La famille des Myrtacées est composée d'environ 75 genres et de près de 3000 espèces principalement arbres et arbustes persistants tropicaux. Les principaux centres de distribution sont les tropiques américains, asiatique et l'Australie (Weiss, 1997).

Le genre *Eucalyptus* de la famille des Myrtacées dont les espèces sont riches en huiles essentielles, compte plusieurs espèces botaniques (Benazzedine, 2010 ; INRF 1996). C'est l'un des principaux genres forestiers plantés dans le monde et il compte environs 600 à 700 espèces et variétés (Warot, 2006).

Le terme *Eucalyptus* a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « Bien » et « calyptos » qui signifie « couvert » en référence à l'opercule qui se trouve sur le fruit des *Eucalyptus*, les capsules, c'est d'ailleurs une caractéristique commune à tous les *Eucalyptus* (Koziol, 2015).

Les *Eucalyptus* ont été introduits par les français en Algérie en 1860, avec l'*E. camaldulensis* Dehn. comme espèce pionnière.

Herbier médicinal, l'*Eucalyptus* grâce à sa composition chimique et à son principe actif qui est le 1,8-cinéole possède des vertus considérables : astringents, hémostatiques, fébrifuges désinfectants, antiseptiques, c'est l'un des meilleurs remèdes contre l'inflammation chronique de la muqueuse gastrique et de la muqueuse intestinale (Atmani-Merabet, 2018).

Les huiles essentielles du genre *Eucalyptus* possèdent diverses activités biologiques, elles peuvent être antibactériennes, antifongiques, anti inflammatoires, anti oxydantes, antivirales, antiinfectieuses, insecticides et acaricides (Atmani-Merabet et al., 2020 ; Barbosa et al., 2016 ; Belfeki et al., 2016 ; Koziol, 2015 ; Salemkour et Rahaoui, 2019).

I-3-2 *Eucalyptus camaldulensis* Dehn.

Eucalyptus camaldulensis est une espèce d'arbre du genre *Eucalyptus* que l'on trouve dans de nombreuses parties du monde mais qui est originaire d'Australie ou il est largement répandu au bord des rivières de l'intérieur du pays (Figure 5). Il est aussi surnommé le gommier rouge en référence à son bois d'un rouge brillant, qui peut aller d'un rose pâle à un

rouge très foncé. Le nom d'*Eucalyptus camaldulensis* est : Eucalyptus à bec, Eucalyptus des Camaldules ou gommier rouge (Kebir, 2018).

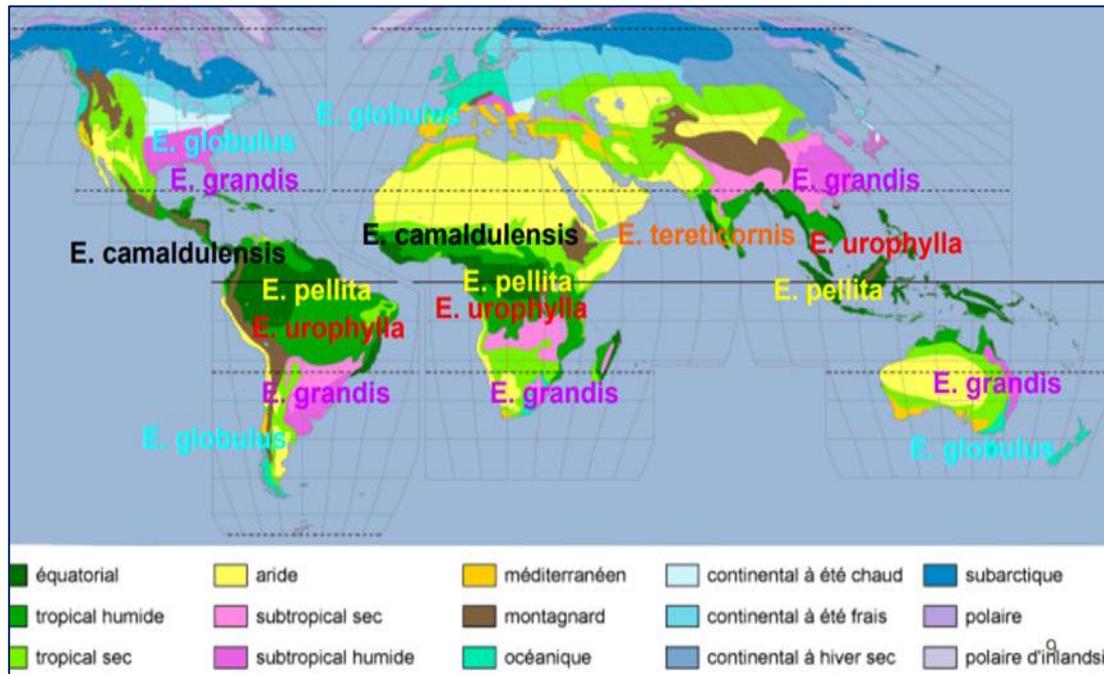


Figure 5: Répartition d'*Eucalyptus camaldulensis* dans le monde (Bouvet, J.M, 2003)

Eucalyptus camaldulensis est l'une des espèces les plus cultivée dans le monde et dans le bassin méditerranéen, elle a été introduite en Algérie en 1857 pour assainir les terrains marécageux et a été plantée sur 30000 ha (Oyen et Lemmens, 2002).

La classification systématique de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* est la suivante (Arar et Houari, 2008).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtacées
Genre	Eucalyptus
Espèce	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>

I-3-3 Description botanique

- **Arbre**

L'*Eucalyptus camaldulensis* est un arbre forestier à houppier très développé de forme conique. Jusqu'à 15 à 20 ans, elle est érigée plus tard. C'est un arbre de hauteur qui varie de 25 à 35 mètres et un diamètre qui varie de 0,9 à 2,50 mètres (Meziane, 1996) (Figure 6).



Figure 6: Arbres d'*Eucalyptus camaldulensis*
[Forêt de Chettaba, Ain smara, Constantine, photo personnelle]

- **Tronc et écorce**

Le tronc d'*Eucalyptus camaldulensis* est le plus souvent droit et élancé, parfois tortueux, exsudant fréquemment une gomme résineuse rouge, et blanche grisâtre en haut (Figure 7).



Figure 7: Tronc d'*Eucalyptus camaldulensis*
[Forêt de Chettaba, Ain smara, Constantine, photo personnelle]

L'écorce est couleur et de texture variable selon les espèces. Souvent elle présente plusieurs couleurs, comme un platane et se détache en lambeaux qui tombent au Sol, mais l'écorce peut être aussi dure , fibreuse , floconneuse et lisse (Mekellech, 2015) (Figure 8).



Figure 8: Ecorce d'*Eucalyptus camaldulensis*
[Forêt de Chettaba, Ain smara, Constantine, photo personnelle]

- **Feuilles**

Les jeunes feuilles sont opposées sur trois ou quatre, avec d'autres alternées. Elles ont un pétiole, sont lancéolées et mesurent de 2 à 4 cm. Légèrement glauques, les feuilles adultes sont pétiolées et alternées, la couleur verte est identique pour les deux faces. Elles sont Lancéolées, étroites et falciformes), et sont longues de 8 à 30 cm, et larges de 0,7 à 4,2 cm de couleur verte ou gris-vert (Arnold et Luo , 2018) (Figure 9).



Figure 9: Feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*
[Forêt de Chettaba, Ain smara, Constantine, photo personnelle]

- **Fleur**

Les fleurs ont l'allure de petites boules, qui ont de très nombreuses étamines blanchâtres et donnent naissance à des capsules hémisphériques. Inflorescence en ombelle simple, avec des fleurs régulières par 4 à 7, en ombelles axillaires (**Rameau et al, 2008**) (Figure 10).



Figure 10 : Fleurs d'*Eucalyptus camaldulensis*
(wo.m.wikipedia.org)

- **Fruits**

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité. Elle est dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (**Goets et Ghedira , 2012**) (Figure 11).

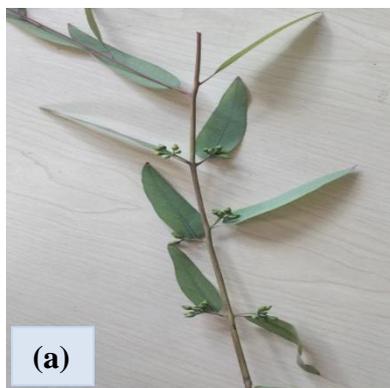


Figure 11: Fruits d'*Eucalyptus camaldulensis*
(a) Jeune arbre (b) arbre adulte
[Forêt de Chettaba, Ain smara, Constantine, photo personnelle]

I-3-4 Composition chimique

➤ Les tanins

Ce sont des composés de nature phénolique; ils sont présents dans les écorces et le bois d'*Eucalyptus camaldulensis*. Les travaux de **Nisi in Thiombiano, 1984**, montrent que les tanins constitués de monomères paraoantho-cyanidines sont responsables de la couleur rouge du bois d'*Eucalyptus camaldulensis*.

➤ Les phénols

Environ une dizaine de phénols ont été isolés et identifiés, Parmi ces phénols se trouvent les acides caféiques, chlorogéniques, paracoumariques, feruliques et galliques. Des poly phénols ont aussi été isolés des feuilles d'*E.camaldulensis* (**Thiombiano, 1984**).

➤ Les huiles essentielles

Les huiles essentielles de l'espèce *E. camaldulensis* sont caractérisées par la présence d'une trentaine de produits avec, comme constituant majoritaire, le 1,8-cinéole sa teneur varie de 17,6% - 42,3 % D'autres composés minoritaires sont présents tel que : p-cymène, α -pinène, γ -terpinène et spathulenol (**Benayache et al., 2001 ; Foudil-Cherif, 2000 ; Koreichi & Benletreche, 2019 ; Mehani, 2015 ; Nait Achour, 2012 ; Salemkour et Rahaoui, 2019**).

I-3-5 Utilisation médicinale et traditionnelle

Espèce aromatique et médicinale, les feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*, sont parfumées, riches en huile essentielle, antibactériennes, antifongiques, expectorantes, fébrifuges et légèrement sédatives. Les feuilles sont recommandées en cas de rhumes, de sinusites, de maux de gorge, d'angines, de toux, de bronchites, d'infections urinaires ou de fièvres (**Kebir, 2018 in Koreichi & Benletreche, 2019**).

En médecine traditionnelle, L'infusion d'*E. camaldulensis* est utilisée pour le soulagement des courbatures, des douleurs, des maux de tête sévères et les morsures de serpent (**Kelly, 1996 in Koreichi & Benletreche, 2019**). La plante est également soupçonnée d'être efficace dans la gestion de l'hypertension artérielle. Elle a également été rapportée pour avoir des propriétés antibactériennes et antifongiques (**Bamayi et al., 2004**).

La gomme de cette plante bouillie avec de l'eau et du sucre, devenue une boisson liquide, est utilisée pour traiter les affections pulmonaires, comme une anesthésie générale et

pour les maux de dents. Une infusion de l'écorce, est utilisée pour le lavage pour certains yeux, l'ophtalmie, et est efficace dans le traitement de la diarrhée (**Boily et Vapuyvelde, 1986**).

Finalement, les Aborigènes employaient L'Eucalyptus et l'espèce *E.camaldulensis* contre les infections et les fièvres, il est désormais utilisé dans le monde entier pour traiter ces infections (**Iserin et al ., 2001**) (Tableau 1).

Tableau 1 : Utilisation d'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie et dans différentes régions du monde

Pays	Utilisation	Références
Australie	-Les symptômes gastro-intestinaux (diarrhée, dysenterie) -Les maladies respiratoires (rhume, asthme) -Arrêter les saignements -Douleurs musculaires, douleurs articulaires	Duke et Wain, 1981
Afrique Soudan, Zimbabwe, Nigéria	-Les maux de gorge, diarrhée -La grippe, la fièvre, - Prévenir la carie dentaire - Bâtonnets de nettoyage des dents	Doran et Wongkaev, 2008 Bukar et al., 2004
Algérie El-Kala, Annaba, Skikda , Mostaganem	-produits ligneux et papetiers	INRF, 1996

I-3-6 Aspect économique

L'*Eucalyptus camaldulensis*, présente un grand intérêt économique à cause de sa large gamme d'utilisation et la longue liste des sous-produits qu'il offre. De plus, il est caractérisé par une grande plasticité et une croissance très rapide (**Kebir, 2018**). Le bois de cette essence est rougeâtre, de bonne qualité et utilisé en ébénisterie, il donne un bon charbon, présente des caractéristiques technologiques intéressantes pour la production de pâte à papier et il sert de bois de construction (**Kebir, 2018**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

Objectif du travail

Le présent travail a pour objectif la valorisation de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. qui a été récoltée dans la forêt de Chettaba de Constantine. Le travail d'extraction et les tests du screening phytochimique de l'HE ont été réalisés à l'Unité de Recherche Valorisation des ressources naturelles, Molécules bioactives et Analyses Physico-chimiques et Biologiques de l'Université Constantine1. L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée au laboratoire d'hygiène de la wilaya de Skikda.

II-1 Matériel

II-1-1 Matériel végétal

L'espèce étudiée *E. camaldulensis* a été récoltée en novembre 2021 dans la forêt de Chettaba gérée par la conservation des forêts de Constantine (Figure 12).



**Figure 12 : Forêt de Chettaba
(commune d'Ain Smara Constantine)
(dknews-dz.com)**

L'espèce et son origine est donnée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Origine et nom commun de l'espèce étudiée

Nom latin	Auteur	Nom commun	Famille	Parties prélevées
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	Dehnh (1832)	Gommier de Camaldoli Gommier des rivières Gommier rouge	Myrtacées	Feuilles

II-1-2 Matériels biologiques

Microorganismes étudiés

Pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* nous avons utilisé souches bactériennes pathogènes (trois à Gram négatifs et une à Gram positif) : *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* sur une gélose Muller Hinton (MH). Elles proviennent du laboratoire d'hygiène de l'hôpital de la wilaya de Souk-Ahras et du laboratoire privé (الفيسل) de Skikda. Leurs caractéristiques sont données dans le tableau 3.

Tableau 3 : Description des souches bactériennes utilisées

Nom de la souche	Famille	Forme	Gram	Lieu de récupération
<i>Staphylococcus aureus</i>	Stahylococcaceae	Coque	Positif	Laboratoire d'hôpital de la wilaya de Souk-Ahras.
<i>Escherichia coli</i>	Enterobacteriaceae	Bacille	Négatif	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Enterobacteriaceae	Bacille	Négatif	
<i>Pseudomonas Aeruginose</i>	Pseudomonadaceae	Bacille	Négatif	Laboratoire privé الفيصل Skikda.

II-2 Préparation de la plante

La matière végétale, cueillie, a été nettoyée, séchée à l'air libre et à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température ambiante (a). Une partie de la plante est broyée à l'aide d'un broyeur électrique pour les tests phytochimiques (b), et l'autre partie est découpée en morceaux pour la distillation (c) (Figure 13).



(a)



(b)



(c)

Figure 13 : Parties aériennes d'*E.camaldulensis* séchées, broyées et coupées (Photos personnelles, 2022)

II-3 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'HE par entraînement à la vapeur d'eau a été réalisée antérieurement par Dr Atmani-Merabet au niveau de l'unité de recherche : Valorisation des ressources naturelles, Molécules bioactives et Analyses Physico-chimiques et Biologiques à l'université Constantine1 (Figure 14).



Figure 14 : Dispositif de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau
(Photo Dr Atmani-Merabet, février 2022)

Mode opératoire

On a introduit 1035 g de matériel végétal dans un ballon situé à une certaine distance au dessus du ballon du fond qui est rempli d'eau. La plante est en contact avec la vapeur d'eau et l'huile est entraînée par celle-ci et est récupérée à la fin (Figure 14). Le volume et la masse de l'huile essentielle obtenue ont été mesurés. L'huile est transvasée dans un flacon en verre stérile couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière et conservée dans un réfrigérateur.

II- 4 Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter (sèche). Le rendement est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$\mathbf{R (\%) = \text{Masse de l'HE} / \text{Masse (MVS)} \times 100}$$

R (%) : Rendement en huile essentielle **Masse (HE)** : masse de l'huile essentielle

Masse (MVS) : masse du matériel végétal sec (AFNOR, 1986).

II- 5 Mesure de la densité relative (Norme NF T 75 -111. 2000)

La densité relative de l'HE est définie comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C et la masse de volume d'eau distillée à 20°C. Cette grandeur est sans dimension et son symbole est d_{20} .

On a mesuré la densité à l'aide de la formule suivante : $\rho = m/v$ (Kebisi, 2011).

ρ : masse volumique de l'huile (g/ml)

m : masse du volume (v) de l'huile (g).

v : volume de l'huile (ml).

On effectue la correction à 20°C par la formule :

$$d_{20} = d_{\text{exp}} + 0,00073 (T_{\text{exp}} - 20)$$

d_{20} : Densité à 20°

d_{exp} : Densité mesurée par la relation : $d_{\text{exp}} = \rho(\text{HE}) / \rho(\text{eau})$ [$\rho(\text{eau}) = 1 \text{ g/l}$]

T_{exp} : Température ambiante (21°C).

II-6 Préparation des extraits

L'extraction est la séparation des parties actives de plantes en utilisant des solvants sélectifs au moyen de procédures standard. Deux extraits ont été préparés pour le screening phytochimique d'*E.camaldulensis*, l'extrait méthanolique et l'extrait aqueux.

II-6-1 Extrait méthanolique

Consiste à introduire 1g de matériel végétal dans 20 ml de méthanol puis on le laisse macérer pendant 24h (Figure 15).



Figure 15 : Extrait méthanolique d'*E.camaldulensis*
(Photo personnelle)

II-6-2 Extrait aqueux

Consiste à introduire 1g de poudre végétale dans 20 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 20 ml de filtrat (Figure 16).



Figure 16 : Extrait aqueux d'*E.camaldulensis*

(Photo personnelle)

II-7 Tests préliminaires du screening phytochimiques

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée. Les tests de caractérisation sont basés en partie sur l'analyse qualitative, soit sur la formation de complexes insolubles en utilisant les réactions de précipitation, soit sur la formation de complexes colorés, en utilisant des réactions de coloration (**Badiaga, 2011**).

A/ Stérols

Ce sont des dérivés des phytostérols qui sont des composés naturellement présents dans la fraction lipidique des plantes. Ils ne sont pas synthétisés par l'Homme et l'animal et ne peuvent être apportés que par l'alimentation. Plusieurs études ont démontré que les phytostérols réduisent l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle (**Goad, 1991**).

Test utilisé pour détecter la présence des stérols

Test de Salkowski

Quelques mg de l'extrait sont mis dans 2 ml de chloroforme ensuite on rajoute 2ml d'H₂SO₄ concentré dans le tube à essai. On le secoue et on le laisse quelques minutes. L'apparition de la couleur rouge dans la couche chloroforme indique la présence des stéroïls (**William, 2003**).

B/ Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont définis aujourd'hui comme des composés azotés plus ou moins basique (**Bruneton, 1993**). Selon leur structure chimique, ils ont été classés en plusieurs catégories les indoles, les pyrrolidines, les pyridines et les quinoléines.

Test utilisé pour détecter la présence des alcaloïdes

Quelques mg de l'extrait est mis dans 5 ml de 1,5% d'HCl ensuite on filtre. Le filtrat est utilisé pour la détection des alcaloïdes.

Réactif de Wagner

1,7 g d'iode et 2 g d'iodure de potassium KI sont dissout dans 5 ml d'eau et complété avec l'eau jusqu'à obtenir 100 ml de solution. Ce réactif est ajouté au filtrat du test, s'il y a l'apparition d'un précipité brun cela indique la présence d'alcaloïdes (**Bruneton, 2009**).

C/ Saponosides

Le saponoside est un hétéroside généralement d'origine végétale formé d'une génine de type triterpène ou stéroïde appelée sapogénine et possédant un ou des groupements osidiques. Les saponosides sont un vaste groupe de glycosides largement distribués chez les plantes supérieures, leurs propriétés tensioactives les distinguent des autres glycosides. Ils se dissolvent dans l'eau pour former des solutions moussantes colloïdales par agitation.

Test utilisé pour détecter la présence des saponosides

Test de la mousse

Quelques mg de l'extrait sont mis dans le tube à essai ensuite on rajoute une quantité de bicarbonate de sodium et de l'eau, si la mousse prend l'aspect d'alvéoles de miel stable, ceci indique la présence des saponosides (**Robert, 2002**).

D/ Tanins

Les tanins sont des substances poly phénoliques de structure complexe, ils ont des propriétés tannantes, astringentes, cytostatiques et bactéricides. Ils interfèrent également avec les protéines du protoplasme et sont donc utilisés dans les préparations à usage local (cas de blessures, brûlures) (Wallace, 2004).

Tests utilisés pour détecter la présence des tanins

Une peu de chaque extrait est mis dans de l'eau chauffée ensuite on filtre.

Test au chlorure de fer 5%

Une solution de chlorure de fer à 5% est diluée dans l'éthanol à 90%. On place quelques gouttes de cette solution au-dessus du filtrat, l'apparition de la couleur verte ou bleu profond indique la présence des tanins.

Test à l'acétate de plomb (10%)

Une solution d'acide de plomb basique à 10% dans l'eau distillée est ajoutée au filtrat, si un précipité apparaît cela indique la présence des tanins.

E/ Flavonoïdes

Ils sont très répandus au royaume des plantes et sont des pigments poly phénoliques qui contribuent entre autres à colorer les fleurs et les fruits. Ils ont un important champ d'action et sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation et le contrôle de processus de croissance (Oullali et Chemek, 2018).

Test utilisé pour détecter la présence des flavonoïdes

Test de Shinoda

Une petite quantité de l'extrait est dissoute dans 5ml d'éthanol à 95% (v/v) puis traitée avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique HCl concentré et 0,5g de copeaux de magnésium. L'apparition d'une couleur rose ou magenta en 1 ou 2 minutes indique la présence des flavonoïdes (Harborne et al., 1999).

F/ Composés réducteurs (les sucres)

Le terme sucres désigne tous les glucides ayant un pouvoir sucrant, essentiellement le fructose, saccharose, glucose, maltose et lactose. Les glucides sont des constituant universels des organismes vivants, parfois appelés hydrates de carbonate. Ce sont en approximation des composés organiques carbonylés (aldéhydriques ou cétoniques) poly hydroxylés.

Test utilisé pour détecter la présence des sucres

Test de Fehling

Dans un tube à essai on met 1ml de la liqueur de Fehling puis on lui rajoute 1 ml de l'extrait. L'ensemble est incubé pendant 8 min dans un bain marie bouillant, l'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs (**Bruneton, 2009**).

G/ Anthraquinones

L'anthraquinone appartient à la famille chimique des hydrocarbures aromatiques polycycliques, c'est un dérivé de l'anthracène. Présent à l'état naturel chez un certain nombre d'animaux et de plantes, il est aussi une substance active de produit phytosanitaire (ou produit phytopharmaceutique, ou pesticide).

Test utilisé pour détecter la présence des anthraquinones

Quelques mg de l'extrait sont diluées dans le mélange chloroforme/éther de pétrole (1:1, v/v) ensuite on rajoute la soude (NaOH 10%). La présence d'une couleur rouge indique la présence d'anthraquinones (**Rizk, 1982**).

H/ Terpènes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles. Leur grande diversité est due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule $(C_5H_8)_n$, selon la variation du nombre n , on a les composés monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes....(**Wichtl et Anton, 2009**). Ces molécules se présentent sous forme d'huiles essentielles ; parfums et goût des plantes, pigments (carotène), hormones (acide abscissique) et stérols (cholestérol) (**Hopkins, 2003**).

Test utilisé pour détecter la présence des terpènes

On ajoute à l'extrait 0,5 ml d'anhydride acétique puis 0,5 ml de chloroforme, après dissolution, la solution est transformée dans un tube à essai auquel est ajouté 1ml d'acide sulfurique concentré. La réaction est effectuée à froid, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet avec coloration de la couche surnageante de vert ou de violet indique la présence des terpènes (Crete ; 1965 ; Hegnauer, 1964).

I- Protéines

Les protéines sont des macromolécules biologiques présentes dans toutes les cellules vivantes. Elles sont formées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques. Chacune de ces chaînes est constituée de l'enchaînement de résidus d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.

Test utilisé pour détecter la présence des protéines

Test de Biuret

Quelques mg de l'extrait sont mis dans de l'eau à laquelle on ajoute 1 ml de sulfate de cuivre (CuSO₄) à 4%. L'apparition de la couleur violet claire à rose indique la présence de protéines (Test de Biuret: sites.ensfea.fr).

II-8 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

II-8-1 Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

L'aromatogramme est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des HEs. Cet examen est l'équivalent d'un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des HEs. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre des espèces bactériennes (Mehani, 2015). Cette méthode nous a permis de déterminer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*E. camaldulensis* en présence des bactéries testées.

Des disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité d'huiles sont placés sur une gélose inoculée avec les souches bactériennes. La diffusion de l'huile dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des bactéries, ce qui va créer une zone claire appelée zone d'inhibition autour du disque.

II-8-2 Préparation des disques

Le papier Whatman n°1 est utilisé pour la préparation de nos disques de 6 mm de diamètre (Figure 17). Une fois préparés les disques sont placés dans un flacon en verre et auto-clavé à une température de 120°C pendant 20 min pour éviter tous types de contamination (Le Minor et Veron, 1989).



Figure 17 : Préparations des disques

(Photos personnelles, 2022)

II-8-3 Préparation des boîtes de pétri

On a procédé à la liquéfaction de la gélose Mueller-Hilton à l'aide d'un bain marie à 120°C pendant 15-20 min, nous avons coulé aseptiquement une couche de 4 mm d'épaisseur dans les boîtes de pétri qui ont été séchées durant 30 min à température ambiante (Figure 18). L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum (Ericsson et Sherris, 1971).



Figure 18 : La gélose de Mueller Hinton stérile est coulée dans des boîtes de pétri (Photos personnelles, 2022)

II-8-4 Préparation des différentes concentrations de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis*

Les concentrations de l'HE utilisées sont :

Dilution	Concentration	Quantité
1ère dilution	5%	50 µl HE+ 950 µl DMSO
2ème dilution	10%	100 µL HE +900 µl DMSO
3ème dilution	50%	500 µl HE+500 µl DMSO
4ème dilution (HE pure)	100%	1000 µl HE+ 0 µl DMSO



Figure 19 : Préparation des dilutions (photos personnelles, 2022)

II-8-5 Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune (18 à 24 h) et pure sur milieu d'isolement nous avons raclés à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelques colonies (cinq colonies) bien isoler et parfaitement identiques (Figure 20 a). Ensuite nous avons déchargé la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique 0.9% (Figure 20 b). Enfin, nous avons bien homogénéisé cette dernière afin d'avoir une solution équivalente à 0.5 Mc Farland.

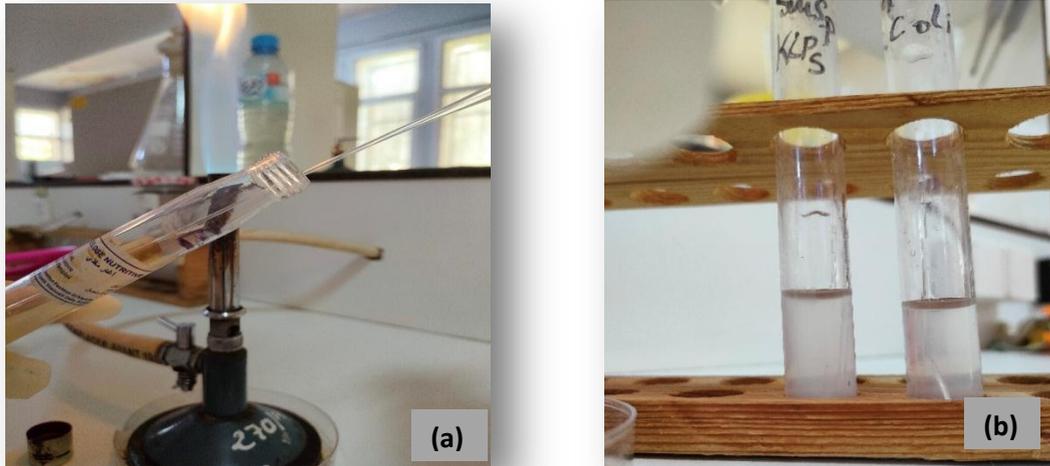


Figure 20 : Préparation de l'inoculum
(photos personnelles, 2022)

II-8-6 Ensemencement et dépôt des disques

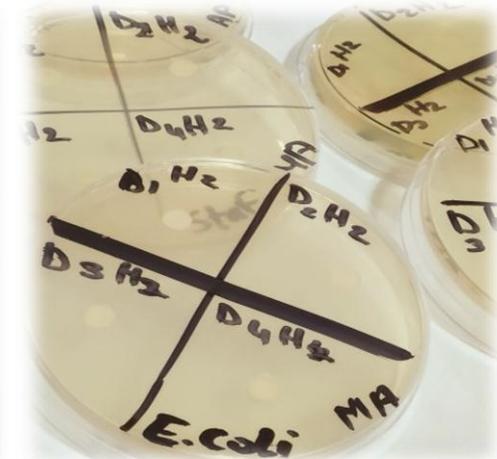
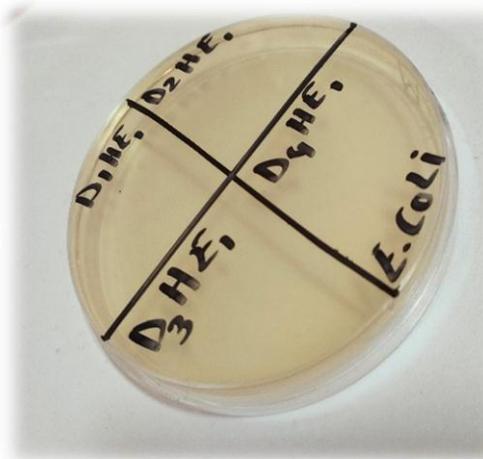
Après solidification des milieux de culture et préparation des suspensions, on a réalisé un ensemencement par stries serrés à l'aide d'un écouvillon ou d'une pipette pasteur trempée dans la suspension. L'opération doit se faire 3 fois en tournant la boîte de pétri d'un angle de 60° à chaque fois (Figure 21 a).

On a numérote la base de chaque boîte de pétri avec des numérotations convenant au nombre de dilution (Figure 21 b). Pour chaque souche testée on a déposé des disques de papier Whatman de 6 mm de diamètre sur la surface des boîtes de pétri à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen (Figure 21 c), puis à l'aide d'une micropipette on a prélevé 10 µl de chaque dilution d'HE qu'on a mis sur les disques de papier Whatman.

Enfin, Les boîtes de pétri sont mises dans l'étuve à température 37°C pendant 24 heures (Figure 21 d).



(a) Préparation des matériels nécessaires (b) Faire l'ensemencement à l'aide d'une pipette pasteur



(c) Numérotation des boîtes de pétri (d) Placement des disques dans les boîtes



(e) Placement des boîtes dans l'étuve pendant 24h à 37 °C

Figure 21 : Ensemencement sur milieu solide
(photos personnelles, 2022)

II-8-7 Expression des résultats

La lecture se fait par la mesure précise du diamètre (D) de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle qui permet de classer l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans l'une des catégories ci-dessous :

- ❖ Extrêmement sensible (+++) : plus de 20 mm
- ❖ Très sensibles (++) : de 15 mm à 19 mm
- ❖ Sensibles (+) : 8 mm à 14 mm
- ❖ Non sensibles (-) : moins de 8 mm. **(Poncé et al., 2003).**

Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible

Chapitre III

Résultats et discussion

III-1 Détermination du rendement et de la densité de l'HE d'*E.camaldulensis*

III-1-1 Rendement

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage de la matière végétale sèche. Il est variable selon différents facteurs comme le séchage de la matière végétale, le broyage et la durée d'extraction. Le rendement de l'huile essentielle de notre espèce est indiqué dans le tableau 4.

Tableau 4 : Rendement de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis*

Espèce	Masse de la matière végétale sèche (g)	Masse de l'huile essentielle (g)	Rendements (%)
<i>E. camaldulensis</i>	1035	15,2982	1,47

Le rendement enregistré pour l'huile essentielle de l'espèce *E.camaldulensis* dans différentes régions d'Algérie est donné dans le tableau 5.

Tableau 5 : Rendement d'*E.camaldulensis* dans différentes régions d'Algérie

Rendements (%)	Origines	Références
1,47	Algérie (Constantine)	Notre travail
0,99	Algérie (Ouargla)	Mehani, 2015
0,68 - 0,21	Algérie (Mitidja, Alger)	Bouferkas et al., 1996
0,42	Algérie (Tizi Ouzou)	Nait Achour, 2012
0,6	Algérie (Ain Timouchent)	Salemkour et Rahaoui, 2019
0,7	Algérie (constantine)	Benayache et al., 2001
0,33	Algérie (Bainem, Alger)	Foudil-Cherif, 1991
0,84	Algérie (sidi Bel Abas)	Ghalem et Benali, 2014
0,98	Algérie (Tébessa)	Djebbari et Barki, 2021
1,92	Algérie (Ain Timouchent)	Belbachir, 2019
0,2-2.6	Algérie (Guelma)	Hadjadji et Chemlel, 2018

Les rendements rapportés dans la littérature dans différentes régions d'Algérie de l'HE d'*E.camaldulensis* varient entre 0,2% et 2,6%, les deux valeurs caractérisent l'espèce de Guelma (Tableau 5). Une étude de Bouferkas en 1996 a rapporté un taux de (0,68% - 0,21%)

en HE extraite des plantes cultivées dans la plaine de Mitidja. Ce taux est très en dessous du rendement obtenu au cours de notre extraction (Constantine) ceci peut être lié aux influences pédologiques (texture, composition, porosité et pH du sol). Toutefois, notre rendement est proche de celui enregistré par l'espèce d'Ain Timouchent qui est de 1,92% selon Belbachir, 2019.

La figure 22 montre la variation du rendement de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* dans différentes régions d'Algérie.

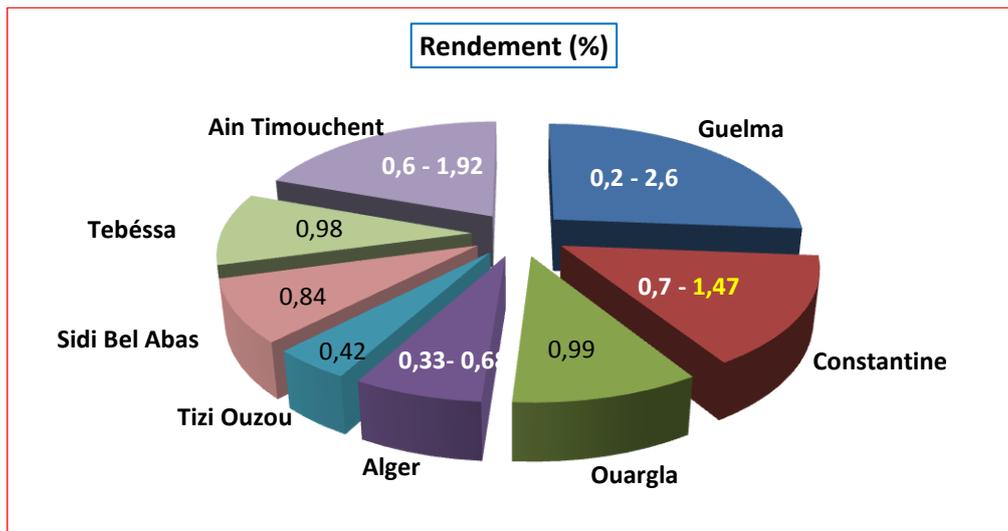


Figure 22 : Le rendement d'*E.camaldulensis* dans différentes régions d'Algérie
(Photo personnelle)

Par ailleurs, certains auteurs Oyedeji et al., en 1999 au Nigéria et Zrira et Benjilali en 1991 au Maroc ont obtenu un rendement de 0,26% et 3,8% respectivement. Le premier est faible par rapport au rendement donné par notre espèce et le second supérieur. Singh et al., en 1989, Parakash et al., en 1972, Nakashima en 1985 et Zrira et al, en 1992 ont obtenu un rendement légèrement supérieur au notre qui est respectivement de : 2,51, 2,83, 3,8 et 2,12%. Ceci peut éventuellement, être attribué à un déficit en amendements minéraux, ces derniers contribuent à l'augmentation de la masse végétale et à la quantité d'HE extraite. En revanche notre résultat reste relativement proche de celui trouvé par Jemaa et al en 2013 (1,42%) en Tunisie et celui de Hmiri et al en 2011(1,40%) au Maroc.

En résumé, plusieurs études ont confirmé que les fluctuations observées dans le rendement en HE peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à l'imbrication d'une multitude de facteurs (biotique et abiotique). Parmi ces facteurs, nous pouvons citer la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation,

le régime des vents, l'apport des engrais organiques et/ou minéraux) et aux méthodes d'extraction. Ce dernier exerce une influence directe chez les espèces végétales. Le tableau 6 regroupe les rendements enregistrés chez l'espèce *E.camaldulensis* dans différentes régions du monde.

Tableau 6 : Rendements de l'HE d'*E.camaldulensis* dans différentes régions du monde (Koreichi et Benlatreche, 2019)

Rendements (%)	Origines	Références
0,76- 1,42	Tunisie	Jemaa et al .,2012 Jemaa et al .,2013
0,84	Maroc	Addellah et al., 2002
2,12– 3,8	Maroc	Zrira et Benjlali, 1991
1,40	Maroc	Hmiri et al., 2011
0,38	Argentine	Lucia et al .,2008 Toloza et al .,2008
0,63	Brésil	Batista-Pereira et al .,2006 Batista-Pereira et al .,2008
3,00	Brésil	Filomeno et al., 2008
0,3	RD Congo	Cimanga et al.,2002
1,97	Inde	Debbarma et al., 2013
2,51	Inde	Singh et al., 1989
0,26	Nigéria	Oyedeji et al.,1999
1,90	Pakistan	Ghaffar et al.,2015
0,71	Espagne	Verdeguer et al .,2009
3,48	Taiwan	Su et al.,2006
0,57	Taiwan	Cheng et al., 2009

III-1-2 Propriétés organoleptiques

Les propriétés organoleptiques (aspect, couleur et odeur) constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les propriétés organoleptiques de notre espèce sont indiquées dans le tableau 7 et sur la figure 23.

Tableau 7 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*E. camaldulensis*

Aspect	Couleur	Odeur	Références
Liquide, mobile, limpide.	Presque incolore à jaune pâle	Fraîche, plus ou moins Eucalyptolée selon l'origine.	AFNOR, 2000
Liquide, mobile	Jaune	Fraiche, puissante, épicée et agréable.	Notre résultat, 2022
Liquide, mobile.	Jaune foncé	Fraîche Eucalyptolée	Djebbari et al., 2021
Liquide, limpide.	Jaune claire.	Fraiche et épicée.	Bouderbala et al., 2020
Liquide, limpide.	Jaune claire.	Fraîche Eucalyptolée.	Grid et Methanni, 2016
Liquide, limpide.	Jaune claire.	Fraîche Eucalyptolée	Mehani, 2015

**Figure 23** : l'huile essentielle d'*E.camaldulensis*
(Photo personnelle, 2022)

III-1-3 Densité

Chaque HE est caractérisée par différentes constantes physiques permettant de l'identifier et de contrôler son origine géographique ainsi que son absence de falsification ou sa pureté. Ces critères sont déterminés selon la pharmacopée Européenne, les normes ISO et AFNOR.

La densité est une caractéristique physique de l'huile essentielle selon la norme (Norme NFT 75 -111. 2000). Elle sert à convertir les masses en volumes et inversement. La densité qui caractérise l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* étudiée et l'HE de la même espèce en Algérie et dans différentes régions du monde est indiquée dans le tableau 8.

Tableau 8 : Densité de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis*

Densité à 20°C	Régions	Références
0,9060 - 0,9250		AFNOR
1,069	Constantine (Algérie)	Notre travail, 2022
0,9035	Algérie	Mehani, 2015
0,9642	Inde	Singh et al., 1989
0,9245	Algérie	Bouferkas et al., 1996

On remarque que la densité enregistrée par notre espèce est un peu supérieure aux normes, ceci est dû à différents facteurs on citera: l'origine de la plante, la méthode d'extraction, l'état du matériel végétal et son stockage avant la distillation (**Bruneton, 1999 ; Benini, 2007**).

III – 2 Résultat du screening phytochimique

Le screening phytochimique des deux extraits méthanolique et aqueux a permis, qualitativement, la mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires de l'espèce *E.camaldulensis* dont les résultats sont rassemblés dans les tableaux 9 et 10.

Tableau 9: Résultats du screening chimique de l'extrait méthanolique

Métabolites secondaires	Observations		Résultats
	Avant	Après	
Flavonoïdes <i>Test de Shinoda</i>			+
Anthraquinones			+
Terpènes			+

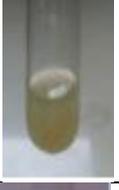
Tableau 9: Résultats du screening chimique de l'extrait méthanolique (suite)			
Protéines <i>Test de Biuret</i>			-
Stérols <i>Test de Salkowski</i>			+
Alcaloïdes			+
Tanins Test au chlorure de fer			+
Test à l'acétate de plomb			+
Saponosides <i>Test de la mousse</i>			+
Composés réducteurs (sucres) <i>Test de Fehling</i>			++

Tableau 10: Résultats du screening chimique de l'extrait aqueux

Métabolites secondaires	Observations		Résultats
	Avant	Après	
Flavonoïdes <i>Test de Shinoda</i>			+
Anthraquinones			+
Terpènes			+
Protéines <i>Test de Biuret</i>			-
Stérols <i>Test de Salkowski</i>			+
Alcaloïdes			+
Saponosides <i>Test de la mousse</i>			+

Tableau 10: Résultats du screening chimique de l'extrait aqueux (suite)

Tanins			+
Test au chlorure de fer			
Composés réducteurs			+
Test à l'acétate de plomb			
Sucres			+
<i>Test de Fehling</i>			

L'analyse des résultats du test phytochimique des extraits méthanolique et aqueux d'*E.camaldulensis* indique la présence de tous les métabolites secondaires testés dans les deux extraits sauf les protéines.

Les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes les terpènes et les composés réducteurs sont présents dans les deux extraits en quantités variables. Ce résultat est en accord avec le travail de **(Belbachir, 2019)** pour l'espèce d'Ain Timouchent en Algérie qui a noté la présence de ces métabolites. Par contre les saponosides présents dans notre espèce sont absents chez l'espèce de **(Belbachir, 2019)**.

La présence des saponosides et l'absence des protéines dans notre espèce est en accord avec les travaux de **(Shubhreet et al., 2019)** pour l'Eucalyptus de l'inde qui ont trouvé les mêmes résultats. En plus cette espèce contient les flavonoides et les tanins qu'on a identifiés dans notre plante.

Enfin, les stérols et les anthraquinones sont présents en quantités variables dans les deux extraits d'*E.camaldulensis*.

Cette étude phytochimique réalisée sur l'espèce *E.camaldulensis* a montré des résultats qui sont confirmés avec d'autres travaux, à savoir la présence de certaines familles chimiques. Par contre, on constate qu'il y absence d'autres familles chimiques. Cette variabilité dans les résultats peut être expliqué par une différence au niveau de plusieurs

paramètres soient biologiques, géographiques ou physicochimiques tels que : l'influence du stade végétatif, l'organe de la plante étudié la différence du site de récolte y compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, les conditions édaphiques, la période de récolte, le patrimoine génétique et la procédure d'extraction utilisée (**Benini, 2007 ; Bruneton, 1999**).

III – 3 Résultat de l'activité antibactérienne

Une huile possédant une activité antibactérienne, prévient ou combat les bactéries, et l'infection bactérienne. Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire procaryote. Certaines sont bénéfiques, voire indispensable à la vie, quand d'autres sont dangereuses, voire mortelles, en causant des maladies. Les bactéries sont les organismes les plus abondants de notre planète en nombre. Il existe principalement deux grands types de bactéries : les bactéries à Gram positif (paroi épaisse de peptidoglycane mais sans membrane externe) et celles à Gram négatif (à paroi cellulaire mince mais avec membrane externe).

L'HE d'*Eucalyptus* a été évalué par rapport à plusieurs souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif par la méthode de diffusion sur disque. Cette méthode est la méthode de référence pour l'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles selon plusieurs auteurs (**Benjlali et al., 1986 ; Billerbeck et al., 2002 ; Mehani et Ladjel, 2014 ; Pibiri et al., 2005 ; Satrani et al., 2007**), car elle permet à l'HE d'entrer en contact direct avec les bactéries testées. Le DMSO (diméthyl sulfoxyde) solvant utilisé pour préparer les différentes dilutions de l'HE est sans effet sur la croissance des bactéries.

Les valeurs des zones d'inhibition sont exprimées en moyenne de trois essais \pm écart type et les diamètres obtenus lors de cette étude vont de 8mm à >30mm (Tableau 11). Pour estimer l'activité antimicrobienne de notre plante, on a suivi l'échelle de Poncé et al., 2003 qui ont classé les diamètres des zones d'inhibition (D) de la croissance bactérienne en 4 classes :

Extrêmement sensible (+++) : plus de 20 mm

Très sensibles (++) : de 15 mm à 19 mm

Sensibles (+) : 8 mm à 14 mm

Nom sensibles(-) : moins de 8 mm.

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Constantine sont présentés dans le tableau 11.

Tableau 11 : Diamètres des zones d'inhibitions des HEs d'*Eucalyptus camaldulensis*

Souches Bactériennes	Dilution N1 5µl	Dilution (N2) 10 µl	Dilution (N3) 50 µl	Dilution (N4) 100 µl	DMSO
	Diamètres (mm) Sensibilité				
<i>E.coli</i> G-	7 mm (-)	11 mm (+)	12 mm (+)	17,5 mm (++)	0 mm
<i>S. aureus</i> G+	8 mm (-)	13 mm (+)	20 mm (++)	> 30mm (+++)	0 mm
<i>K. pneumoniae</i> G-	6 mm (-)	11 mm (+)	13,5 mm (+)	15 mm (++)	0 mm
<i>P.aeruginosa</i> G-	8,5 mm (+)	10 mm (+)	14,5 mm (+)	20 mm (++)	0 mm

G+: Gram+, G- : Gram -, (++): Très sensibles, (+): Sensibles, (-) : Non sensibles

La dilution 5% : l'HE d'*E.camaldulensis* n'a enregistré aucun effet antibactérien sur les bactéries *E.coli* et *K. pneumoniae*. Par contre, les bactéries *S. aureus* et *P.aeruginosa* ont donné un effet antibactérien faible avec des diamètres d'inhibition de 8 mm et 8,5 mm respectivement.

La dilution 10% : l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* a montré un effet inhibiteur moyen sur toutes les souches bactériennes testées.

La dilution 50% : L'huile a enregistré un très bon effet antibactérien sur les souches bactériennes à Gram positif, avec des zones d'inhibitions de 20 mm pour *S. aureus*. Pour les souches bactériennes à Gram négatif notamment, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* un bon effet antibactérien a été noté avec des diamètres d'inhibitions variant entre 12 et 14,5 mm.

Dilution 100% : L'huile a montré une excellente activité sur les quatre souches bactériennes testées en effet, la bactérie à Gram positif *S. aureus* était extrêmement sensible à l'huile pure donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition > 30mm (Figures 24, 25).

Ces résultats nous permettent de conclure que l'accroissement du volume de l'huile essentielle induit l'amélioration de son pouvoir inhibiteur. Ceci peut être expliqué par l'augmentation du pourcentage des molécules bioactives responsables de son effet antibactérien (Kheyar *et al.*, 2014).

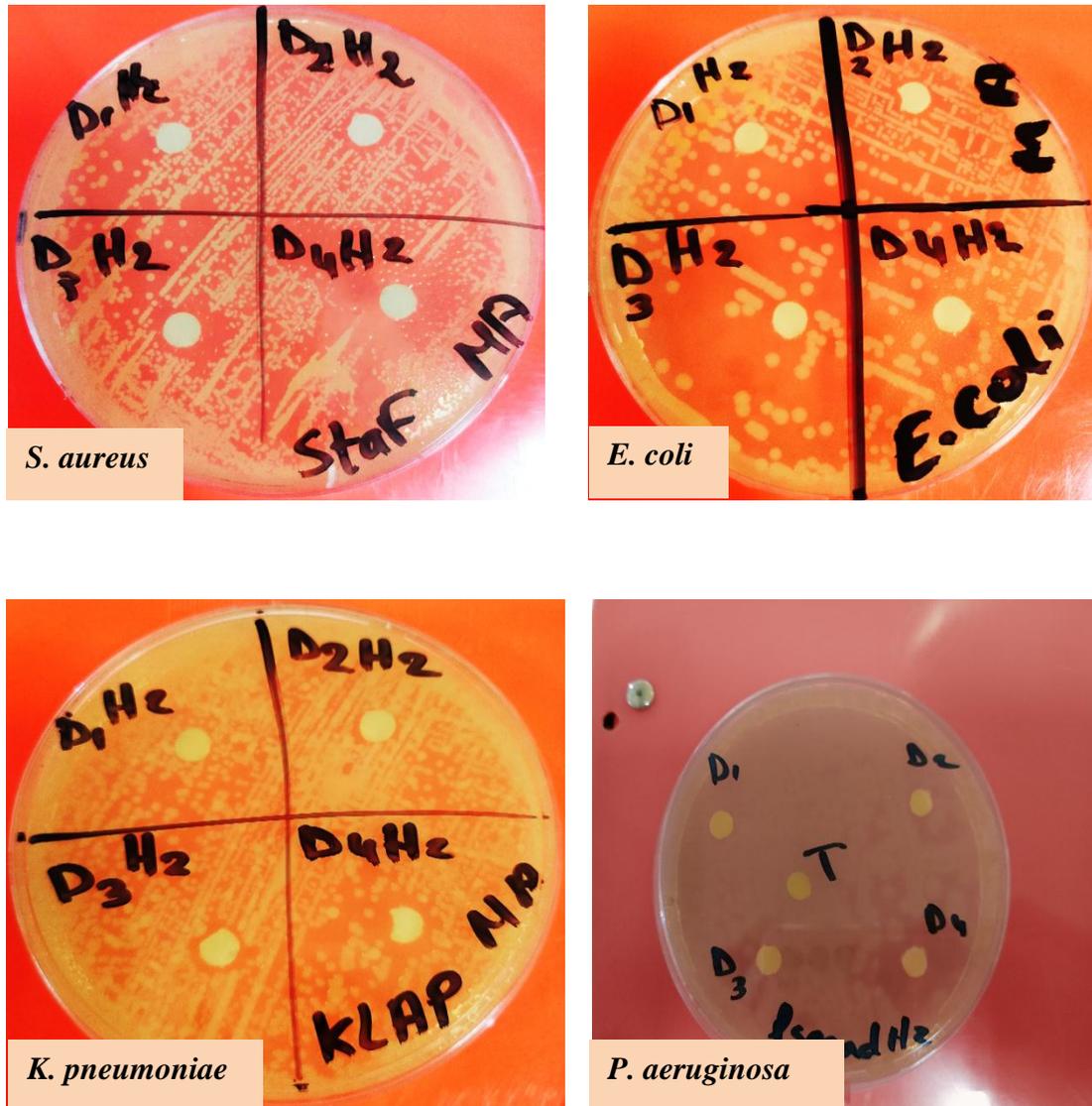


Figure 24: Activité antibactérienne de différentes concentrations de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* sur les quatre souches bactériennes testées.

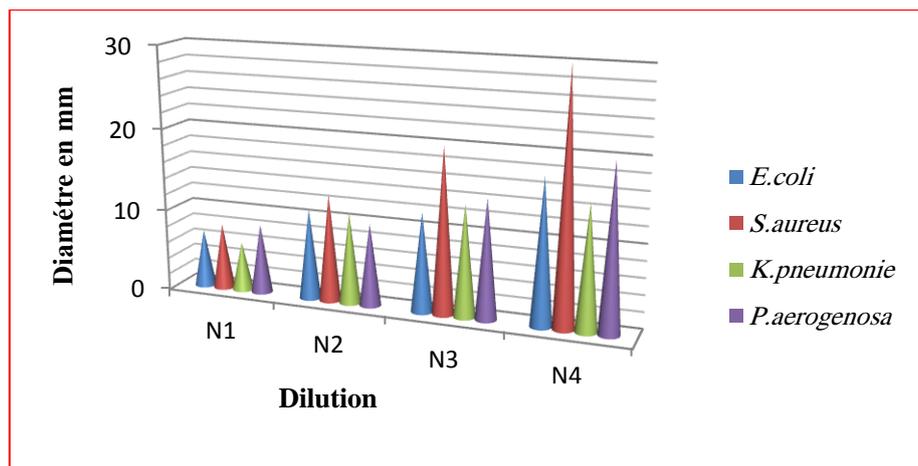


Figure 25 : Activité antibactérienne de l'HE d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Constantine (Photo personnelle)

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus camaldulensis* en Algérie et dans le monde ont été testées contre plusieurs souches bactériennes, et ont présenté une activité antibactérienne variable selon différentes études, cette activité est décrite dans le tableau 12.

Tableau 12 : Action d'*Eucalyptus camaldulensis* sur différentes bactéries en Algérie et dans le monde

Bactéries	Composition chimique	Origines	Références
<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	-----	Algérie Constantine	Notre travail, 2022
<i>Enterococcus faecalis</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (-) <i>Enterobacter cloaceai</i> (-) <i>Proteus microsiliis</i> (-)	Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl) (19,96%) Spathulenol (17,05%) Sabinene, Bicyclo [3,1,0] hexane (4.36%) 2-cyclohexen-1-one,4-(1methylethyl) (4.13%)	Algérie Ouargla	Mehani, 2015
<i>Enterococcus faecalis</i> (+) <i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (-)	-----	Algérie (Tébessa)	Djebbari et Barki, 2021
<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-)	-----	Algérie (Sidi Bel Abbas)	Ghalem et Benali, 2014

Tableau 12 : Activité antibactérienne d'<i>Eucalyptus camaldulensis</i> en Algérie et dans le monde (suite)			
<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	-----	Algérie (Ain Timouchent)	Salemkeur et Rahaoui, 2019
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Proteus</i> (-) Antibiotique (-)	-----	Nord Ouest de l'Algérie	Mehani et Segni, 2014
<i>Enterococcus faecalis</i> (+) <i>Bacillus licheniformis</i> (+) <i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-) <i>Serratia marcescens</i> (-) <i>Escherichia coli</i> (-)	spathulenol (32,88%) 1,8-cineole (16,31 %) 4-terpineol (4,22 %) allo-spathulenol (2,23%)	Tunisie	Limam et al., 2020
<i>Escherichia coli</i> (-) <i>Enterococcus faecalis</i> (+) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (-) <i>Proteus mirabilis</i> (-)	-----	Mali	Amadi et al., 2020
<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Acinetobacter baumannii</i> (-) <i>Proteus vulgaris</i> (-) <i>Shigella sonnei</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (-) <i>Salmonella typhi</i> (-)	1,8-cinéole (55.2%) Béta-selinene(6.88%) Allo-aromadendrène (4.62%) 3-carene-Sigma (4.04%) Gama-terpinène (3.94%)	Iran	Asiaei et al., 2018
<i>Staphylococcus aureus</i> (+) <i>Streptococcus pyogenes</i> (+) <i>Bacillus cereus</i> (+) <i>Listeria monocytogenes</i> (+) <i>Escherichia coli</i> (-) <i>Salmonella typhi</i> (-) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-) <i>Enterobacter aerogenes</i> (-)	1,8-cineole (23%) g-terpinene (18%) p-cymene (14%) a-terpinyl acetate (9%)	Thaïlande	Sapit et al., 2022

Des résultats similaires à notre étude ont été rapportés par Djebbari et Barki, 2021, qui ont montré que l'espèce de Tébessa a un pouvoir inhibiteur à l'égard des micro-organismes étudiés dont la plus grande sensibilité est pour l'espèce *S.aureus* et une sensibilité moyenne et égale pour les autres espèces étudiés. Par contre Mehani, 2015 a trouvé que l'HE d'*E camaldulensis* de la région de Ouargla a été active sur *E.coli*, *P.microsilis*, *E. feacalis* et *E.cloaceai* avec respectivement une surface d'inhibition de 14,5 ; 13 ; 14 et 15,5 mm, et moins active vis-à-vis de *K.pneumoni* et *P.aeruginosa* (8 et 5,5 mm) (Tableau 12). Enfin, Mehani et Segni, 2014 ont montré que l'espèce du Nord Ouest d'Algérie n'a pas d'effet sur la souche *P.aeruginosa* et un effet égale pour le reste des bactéries.

L'extrait éthanolique à différentes concentrations de l'huile de l'espèce de Ain Timouchent testé sur *P.aeruginosa*, *E. coli* et *S. aureus* a provoqué une inhibition significative pour *P.aeruginosa* et *S. aureus* avec une surface d'inhibition respective de 31mm et 24mm. Par contre aucun effet n'a été décelé contre *E.coli* qui a donné un diamètre de 7mm (Salemkour et Rahaoui, 2019) (Tableau 12).

L'HE de l'espèce de Sidi Bel Abbas, possède un effet antibactérien important contre les deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. La zone de l'inhibition des deux souches bactériennes testées variait entre 10 mm et 31 mm (Ghalem et Benali, 2014) (Tableau 12).

Selon Asiaei et al, 2018 l'huile d'*E. camaldulensis* d'Iran dont le produit majoritaire est le 1,8 cinéole (52,2%) exerce un effet bactéricide principalement sur les souches à gram positive. Par contre l'espèce de Thaïlande qui contient 23% de 1,8- cinéole agit beaucoup plus sur les souches à gram négative (Sapit et al., 2022). Enfin l'espèce du Mali et de la Tunisie ont un effet égal sur les deux types de bactéries (Amadi et al, 2020 ; Limam et al., 2020) (Tableau 12).

Par ailleurs, on a relevé que l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* d'Algérie montre un degré variable de sensibilité antibactérienne contre les quatre souches bactériennes qui ont été testées (Tableau 13).

Tableau 13: Comparaison de la sensibilité des quatre souches bactériennes testées dans différentes régions d'Algérie

Régions	Souches bactériennes			
	<i>P. aeruginosa</i> G-	<i>K. pneumoniae</i> G-	<i>S. aureus</i> G+	<i>E. coli</i> G-
Tébessa	NT	+	++	+
Constantine	-	++	++	+++
Ouargla	-	+	NT	+
Nord Ouest	-	NT	NT	+
Sidi Bel Abbas	NT	NT	+++	+++
Ain Timouchent	+++	NT	+++	-

G+: Gram+, G- : Gram -, (++) : Très sensibles, (+): Sensibles, (-) : Non sensibles NT : non testée

E. coli : La bactérie *E. coli* (Gram-) est **Extrêmement sensible** à l'huile d'*E. camaldulensis* de la région de Constantine et de Sidi Bel Abbas donnant le plus grand diamètre (30mm) pour une concentration de (100%), par contre elle est résistante à huile de la région de Ouargla, Tébéssa et le Nord Ouest d'Algérie.

S. aureus : La bactérie *staphylococcus aureus* (Gram+) est très sensible à l'huile, dans la région de Sidi Bel Abbas, Constantine et Tébéssa et d'Ain Timouchent.

K. pneumoniae : La bactérie *Klebsiella pneumoniae* (Gram-) est très sensible à l'huile de l'espèce de Constantine, contrairement à l'espèce des autres régions qui sont moins sensibles.

P. aeruginosa : L'huile d'*E.camaldulensis* est inactive envers cette bactérie à Gram négatif dans les différentes régions testées en Algérie.

Les HEs ont montré différents degrés d'efficacité contre les espèces évaluées. Parmi les souches bactériennes, le Gram positif pathogène *Staphylococcus aureus* était le plus sensible aux HEs provenant de plusieurs espèces d'*Eucalyptus*. Selon les données bibliographiques, *Pseudomonas aeruginosa* correspondait aux espèces bactériennes les plus résistantes (Barbosa et al., 2016).

Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirment que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux HEs que les bactéries Gram (-). Cette résistance est liée à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane (**Burt, 2004 ; Busatta et al., 2008 ; Poole, 2001**) qui présente une perméabilité sélective. Par ailleurs, **Moreira et al., 2005** ont montré que les bactéries Gram (-) peuvent être sensibles à l'action des HEs, en effet cette sensibilité dépend aussi des propriétés de l'HE dont l'action inhibitrice et bactéricide est due à leur richesse en molécules actives (**Satrani et al., 2001**).

La différence de composition chimique des huiles essentielles attribuée aux éléments précédemment mentionnés (géo climatiques, génétiques et épi génétiques), pourrait être la raison de cette différence dans diverses études, puisque les activités biologiques et thérapeutiques des huiles d'Eucalyptus dépendent de leur teneur en composition chimique. On peut dire alors que l'effet antibactérien d'une HE dépend de sa composition chimique et du type de bactéries testées (**Chahomchuen et al., 2020 ; Sabo et Knezevic , 2019**)

En résumé, l'activité biologique d'une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires ont un effet synergique entre leurs constituants (**Kalema et Kunicha, 2003 ; Oussou et al., 2008 ; Oussou et al., 2010 ; Saint T'aimer et al., 2003**).

Conclusion

Conclusion générale

Le travail que nous avons entrepris porte sur l'étude phytochimique et l'activité antibactérienne de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* d'Algérie. Une comparaison entre notre espèce et celle des autres régions d'Algérie et de différentes régions du monde en termes de rendement, densité, propriétés organoleptiques et de composition chimique a été réalisée.

L'Eucalyptus camaldulensis de Constantine possède un rendement de 1,47% comparable à celui trouvé chez la même espèce des autres régions d'Algérie qui varie entre 0,2% et 1,92%. Ces rendements sont différents de ceux enregistrés chez la même espèce dans différentes régions du monde allant de 0,3 % à 3,8 %.

Les propriétés organoleptiques et la densité sont en général conformes aux exigences de la norme AFNOR.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* a été testée par la méthode de diffusion vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*). L'huile a montré un effet inhibiteur variable sur toutes les bactéries aux différentes concentrations, la bactérie *S. aureus* était extrêmement sensible à l'huile pure donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (> 30 mm).

Le screening chimique réalisé sur cette plante a montré la richesse de cette espèce en métabolites secondaires notamment les flavonoïdes, tanins, alcaloïdes et terpènes avec des concentrations appréciables

Les résultats obtenus sont prometteurs dans l'élargissement de l'arsenal thérapeutique des plantes dotées de propriétés antibactériennes, ils montrent l'importance de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* dans les domaines de l'agriculture, de l'industrie alimentaire, chimique et pharmaceutique.

Il serait donc intéressant de faire des études plus approfondies de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* d'Algérie, et de détailler expérimentalement ses différentes propriétés chimiques et biologiques.

*Références
bibliographiques*

Abdellah, F. ; Fechtal, M. ; Chaouch, A. (2002) Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* cultivés au Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 6 (3), 163–169.

Adomou H. Yedomonhan, B. Djossa, S. I. Legba, M. Oumorou et Akoegninou, A. (2012). Etude Ethnobotanique des plantes médicinales vendues dans le marché d'Abomey-Calavi au Bénin. Université d'Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin.

AFNOR. (1987). Association Française de Normalisation, Détermination des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles.

AFNOR. (2000). « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». 661-663.

Ait M'barek L., Ait Mouse H., Tilaoui M., Jaâfari A., Aboufatima R., Chait A et al., (2007). Antitumor properties of black seed (*Nigella sativa* L.) extracts. Braz J of Med and Biol, 40(11): 839-847.

Ait Salem, L. (2016). Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Pinus sylvestris* et *Pelargonium asperum* en combinaison avec la nisine sur des bactéries pathogènes Mémoire de Master. Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.

Amadi Dembélé ; Aboudla Yeziékoné ; Dioumé Cissé ; Hamssatou A ; Touré Bakary Dembélé ; Cheik Abou Coulibaly et al., (2020) . Etude de la sensibilité de quatre souches bactériennes soumises à l'action d'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* au Mali Vol. 01 No 24.

Ameenah, G. (2006). Plantes médicinales : Traditions d'hier et drogues de demain. Molecular aspects of Medicine, 27 (1): 1-93.

Aprotosoiaie AC., Spac AD., Hancianu M., Miron A., Tanasescu VF., Dorneanu V et al., (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). Farmacia, 58 (1):46-54.

Arar, Z et Houari, S. (2008). Etude de comportement de quelque peuplement de boisement dans la région de Ouargla. Thèse d'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Biologie, Université de kasdi Merbah- Ouagla, Algérie.

Arnold, RJ et Luo, J. (2018). *Eucalyptus camaldulensis*. In Thomson L.; Doran and Clarke B.(eds) 2018. Trees for life in Oceania : conservation utilization of genetic diversity. ACIAR. Monograph No.201. Australian Centre for International Agricultural Research: Canberra. 94-99.

Asiaei, E.O.; Moghimipour, E.; Fakoor, M.H. (2018) Evaluation of antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil against the growth of drug-resistant bacteria. Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod., 13, e65050. biological activities.

Atmani-Merabet, G. (2018). Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie : composition et activité acaricide (*Varroa destructor*), Thèse de Doctorat, Université Constantine1, Algérie.

Atmani-Merabet G., Belkhiri A., Dems AM., Khalfaoui Z., Lalaouna A., Mosbah B. (2018). Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. *Current issues in pharmacy and medical sciences*, 31(2): 89-93.

Atmani-Merabet G., Fellah S., Belkhiri A. (2020). Comparative study of two *Eucalyptus* species from Algeria: chemical composition toxicity and acaricidal effect on *Varroa destructor*. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 33(3), 144-148.

Badiaga, M (2011). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia Smith* une plante médicinale Africaine récoltée au Mali Thèse de Doctorat.10p.

Bamayi H., Kolo L., Okogun I L., Ijah UJJ. (2004). The antimicrobial activities of methanol extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Journal of Nigerian society of experimental Biology*, 16 (2): 106– 111.

Barbosa LCA., Filomeno CL., Teixeira RR., (2016). Supplementary materials: Chemical variability and biological activities of eucalyptus spp. Ess oils. *Molecules*, 21, 1671.

Bardeau, F. (2009). Les huiles essentielles / découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. Editeur, Fernand Lanore.

Batista-Pereira, L.G.; Fernandes, J.B.; Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C.; Bueno, O.C.; Correêa, A.G. (2006) Electrophysiological responses of *Atta sexdens rubropilosa* workers to Eos of *Eucalyptus* and its chemical composition. *Z. Naturforsch* , 61, 749–755.

Batista-Pereira, L.G.; Fernandes,J.B.; Correa, A.G.; da Silva, M.F.G.F.; Vieira, P.C. (2008) Electrophysiological responses of *Eucalyptus* brown looper *Thyrinteina arnobia* to Eos of seven *Eucalyptus* species. *J. Braz. Chem. Soc*, 17, 555–561.

Belbachir,kh.A. (2019) Etude phytochimique et l'Activité Antioxydante de la plante *Eucalyptus camaldulensis*, Mémoire de Master, Université de Ain Temouchent.

Belfeki H., Hassouna M., Mejri M. (2016). Antioxidant and anti-lipases activities *in vitro* of *Mentha viridis* and *Eucalyptus globulus* extracts. *Industrial Crops and Products*, 89(30): 514-521.

Belyagoubi, L. (2006). Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid, Algérie.

Benanelkder, T. (2001). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de « DROFT » (*Artemisia campestris*) (huile essentielle et lactones sesquiterpéniques) Thèse de Magistère.

Benayache F., Benayache S., Benyahia S. (2001). Leaf oils of some Eucalyptus species growing in Algeria. J Essent Oil Res, 13(3) : 210-213.

Benazzeddine, S. (2010). Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus orizae* (Coleoptera, Tenebrionidae). Mémoire on line.

Benini C. (2007) Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingénieur. Université Gembloux.

Benjilali B., Tantaoui-elarki A., Ismaili-alaoui M., (1986). Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plant. Méd. Phytothér., 155-167.

Bernard T., Periau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A. (1988). Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information Chimie. Brewing. Microbiology, 3rd edition. Priest and Campbell, ISBN 0-306-47288-0.

Billerbeck V-G., Roques C., Vanière P., Marquier P., (2002). Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. Rev, hygiènes, Vol X - N°3, pp248.

Bouderbala, A., Sandli, R., et Grana, N., (2020). Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord- Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis* et *Citrus sinensis*). Mémoire de Master, université de Guelma, Algérie.

Boudjema, N. (2019). Étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskra. Mémoire de Master, université de Biskra, Algérie.

Bouferkas, F. ; Touabet, A. ; et Foudil, Y. (1996) Extraction et analyse des essences de trois espèces d'*Eucalyptus* Algérien et l'étude de comportement chromatographique de deux polymères.

Boily, Y and Vapuyvelde, L. (1986). Screening of medicinal plants of Rwanda for antimicrobial activity. Journal of ethnopharmacology, 6: 1–13.

Boumediou A. Addoun S. (2017). Etude Ethnobotanique sur l'Usage des Plantes Toxiques en Médecine Traditionnelle, dans la Ville de Tlemcen, Algérie.

Bouvet, J.M. (2003). L'*Eucalyptus* une essence majeure pour le reboisement à Madagascar. Conférence. Université d'Antananarivo, -Madagascar.

Bouzabataa A., Bighellia A., Abedb L., Casanova J and Tomia F. (2014). Composition and Chemical Variability of *Eucalyptus bosistoana* Essential Oil from Algerian Sahara. Natural Product Communications, 9(5), 701-702.

Bruneton, J. (1987). « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales » 1^{ère} éditions.

Bruneton, J. (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2^{ème} édition, Paris. 915p.

Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} éd, Tec & Doc. Lavoisier, Paris.

Bruneton, J. (2002) Pharmacognosie, Phytochimie plantes médicinales, Lavoisier, 4^{ème} Edition, 2009. [5] Robert, J. Medicinal natural products A biosynthetic approach. J. Med. Chem. DOI: 10, 1021/jm020128m, American Chemical Society, 45(10), 2120-2120.

Bruneton, J. (2009) Pharmacognosie, Phytochimie plantes médicinales, Lavoisier, 4^{ème} Edition.

Bukar A., Danfillo I.S., Adeleke O.A., Ogunbodede E.O. (2004). Traditional oral health practices among Kanuri women of Borno State, Nigeria. Odontostomatol. Trop. 27(107): 25-31.

Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.

Busatta C , Vidal RS , Popiolski Comme , Mossie AJ, Dariva C , Rodrigues ARM et al., (2008) . Application d '*Origanum majorana* L. huile essentielle comme un agent antimicrobien en saucisse . Microbiologie Alimentaire 25,207-211.

Caillard, J. (2003). Les plantes, des usines chimiques en miniature. Dossier de ressources documentaires. CRDP Midi-Pyrénées. 6p.

Chabrier J. Y., (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisations en phytothérapie. Pharmacie. Université Henri Poincaré-Nancy, France :p 183.

Chagra, K. (2019). Etude les propriétés physico-chimiques et biologique de clou du girofle (*Syzygium aromaticum* L.). Mémoire de Master, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie.

Chahomchuen, T., Insuan, O., Insuan, W., (2020). Chemical profile of leaf essential oils from four *Eucalyptus* species from Thailand and their biological activities. Microchem. J

Chakou, F et Medjoudo, K., (2013). Étude bibliographique sur la phytochimie de quelques espèces du genre Nitraria. Mémoire de Licence, université d' Ouargla, Algérie : p29.

Chemare, k.,(2012). Étude ethnobotanique de quelques médicinales spontanées de la région EL Outaya. Mémoire de Master, université de Biskra, Algérie : p8-11.

Cheng, S.S.; Huang, C.G.; Chen, Y.J.; Yu, J.J.; Chen, W.J.; Chang, S.T. (2009) Chemical compositions and larvicidal activities of leaf Eos from two eucalyptus species. Bioresour. Technol, 100, 452–456.

Cimanga, K.; Kambu, K.; Tona, L.; Apers, S.; de Bruyne, T.; Hermans, N et al. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of EOs of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of the Congo. *J. Ethnopharmacol*,79, 213–220.

Cowanm, M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4): 564–582.

Crete, P. (1965) Précis de botanique, Masson, 2^{ème} Edition, Paris, 429.

Danielle Huard, (1999). Les huiles essentielles, l'aromathérapie. Canada : Quebec : 195p.

Daroui-Mokaddem, H. (2012). Etude phytochimique et biologique des espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniium olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae). Thèse de Doctorat en Biochimie Appliquée, université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.

Debbarma, J.; Kishore, P.; Nayak, B.B.; Kannuchamy, N.; Gudipati, V. (2013) Antibacterial activity of ginger, *Eucalyptus* and sweet orange peel EOs on fish-borne bacteria. *J. Food Process. Preserv*, 37, 1022–1030.

Djebbari H et Barki D. (2021). Etude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis*). Mémoire de Fin d'étude, université Larbi Tébessi, Tébessa, Algérie.

Djeddi S., (2012). Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaire ». Manuel de formation destiné aux étudiants de Master. Edition Presse Académique Francophones, Grèce : pp64.

Delille, L., (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. Edition Berti, Alger, Algérie : pp 122.

Derwich E, Benziane Z, Boukir A. (2009). GC/MS analysis of volatile constituents and antibacterial activity of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* in Atlas Median from Morocco. *Ad Nat Appl Sci* ; 3: 305–13.

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Mémoire de Doctorat, Université d'Aix-Marseille, France.

Doran, J C et Wongkaev, W. (2008). *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. In: Louppe, D., Oteng Amoako , A.A., Brink , M.(Eds.), *Plant Resources of Tropical Africa* 7(1): Timbers 1. PROTA Foundation .Bachkuys Publisher , Wageningen , Netherlands Leiden Netherlands ; CTA, Wageningen , Netherlands.

Duke, J.A and Wain, KK. (1981) .The medicinal plants of the World, computer index with More than 85,000 Enteries , vol 3.

Ericsson, H. M., Sherris, J. C., (1971). Antimicrobial susceptibility testing-Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Sect .B .Suppl., 217 pp : 1-90.

Essawi T et Srour M. (2000). "Screening of some Palestinian medicinal plants for anti bacterial activity." Journal of Ethno pharmacology, 70: 343-349.

Farnworth N R., Akerele O., Bingel A S., Soejarto D D., Guo Z. (1986). Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé, 64(2), 159-175.

Filomeno, C.A. Barbosa, L.C.A. Pereira, J.L.; Pinheiro, A.L.; Fidencio, P.H.;Montanari, R.M. (2008) The chemical diversity of Eucalyptus spp. essential oils from plants grown in Brazil. Chem. Biodivers.

Foudil-Cherif,Y. (1991) Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus Labill* et *Camaldulensis*. Université Des Sciences et de La Technologie Houari Boumedienne, USTHB, ALGER.

Foudil-Cherif Y., Meklati BY., Verzera A., Mondello L & Dugo G. (2000). Chemical Examination of Essential Oils from the Leaves of Nine Eucalyptus Species Growing in Algeria, Journal of Essential Oil Research, 12(2): 186-191.

Franchomme et Penoel D. (1999) L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, Roger Jallois éditeur. Limoges.

Garnéro, J. (1991). Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France.

Ghaffar, A.; Yameen, M.; Kiran, S.; Kamal, S.; Jalal, F.; Munir, B et al. (2015) Chemical Composition and in-vitro evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential Oils extracted from seven *Eucalyptus* species. Molecules, 20, 20487–20498.

Ghalem, BR.; Benali, M. (2014). Antibacterial activity of essential oil of North West. *Eucalyptus*, Journal of Coastal Life Medicine, 2(10), 799-804.

Gildo P. (2006) Précis de phytothérapie, Larousse Encyclopédie, MEMO Edition Alpen.

Goad, J. (1991). Phytosterols in "Methods in plants biochemistry, 7, terpenoids", (B. V.Charlwood, B. ET D. V. Banthorpe, éd), Academie press, Londres, 369-434.

Goetz, P & Ghedira, K. (2012). Phytothérapie infectieuse, Springer Verlag, France, P 272

Grid, S., et Methanni, N., (2016). Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques et de l'activité antifongique des huiles essentielles de quelques plantes médicinales. Mémoire de Master, université de Jijel, Algérie.

Grunwald J et Janick C.(2006). Guide de la phytothérapie. 2ème édition. Italie : marabout.

Hadjadji, A.; Chemlel, M. (2018) Etude de l'activité antifongique de quelques huiles essentielles sur des champignons phytopathogènes, Thèse d'obtention du Diplôme de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma.

Hamza, N. (2011).Effet préventif et curatif de trois plantes médicinales utilisées dans la wilaya de Constantine pour le traitement du diabète de type 2 expérimental induit par le régime « high fat » chez les souris C57BL/6J.thèse de doctorat nutrition, université frères Mentouri Constantine1, Algerie.p125.

Harborne, J. B.; Baxter, H.; Wiley.Chichester. (1999). The handbook of natural flavonoids, phytochemical analysis, 1838.

Hegnauer, R. (1964) Chemoitaxonomie der pflanzen, Birkhauser, Basel,3.

Hmiri, Sh.; Rahouti, M.; Habib, Z.; Satrani, B.; Ghanmi, M.; El Ajjouri, M. (2011) Evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et d'*E. camaldulensis* dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 80, 824 – 836.

Hopkins W. G., (2003). Physiologie végétale. Edition Boeck et Lancier S.A, Paris :p 514.

Inouye S et Abe S. (2007). Nouvelle approche de l'aromathérapie anti-infectieuse. Phytotherapy, 5 : 2-4.

INRF (1996). La forêt Algérienne, édité par l'Institute National de la Recherche Forestière, Bainem, Alger, Algérie.

Iserin, P. (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparations Soins . 2nd édition, Dorling Kindersiey Limited , Londre . 335 p.

Iserin P., Masson M., Restellini J.P., Ybret E., De laage de meus A., Moulard F et al., (2001). Larousse des plantes médicales : identification, préparation, soins. Edition Larousse p10-12.

Iwu, M.M. (1995). Handbook of African Medicinal Plants. CRC Press, Boca Raton, 236.

Jemaa, J.M.B.; Haouel, S.; Bouaziz, M.; Khouja, M.L. (2012) Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five *Eucalyptus* Eos against three moth pests of stored dates in Tunisia. J.Stored Prod.Res. 48, 61–67.

Jemaa, J.M.B.; Haouel, S.; Khouja, M.L. (2013) Efficacy of *Eucalyptus* Eos fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions. J. Stored Prod. Res. 53, 67–71.

- Jiofack T., Fokunang C., Guedje N.M., Kemeuze V., Fongnossie E., Nkongmeneck B.A et al., (2010).** Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of cameroon. *International journal of medecin and medical scinences* 2 (3) :p 60-79.
- Kalema D et Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Médicinal Chemistry*. 10: 810-829.
- Kebir, B. (2018).** Etude dendrométrique d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh dans trois stations de la Wilaya de Tlemcen. Mémoire de Master, Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Algérie.
- Kelly, S. (1996).** *Eucalyptus*, Thomas Nelson Australia, 11: 22–30.
- Kerio, L. C., Wachia, F.N., Wanyoko, J.K., et Rotich, M.K. (2012).** Caractérisation of anthocyanins in kenyan teas. Extraction and identification. *Food chemistry*,131 :31-38.
- Kebsi, A. (2011).** Etude des propriétés physico chimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles ' *Eucalyptus globulus* dans la région de Ouargla. Mémoire de fin d'étude. Université Kasdi Merbah , Ouargla, Algérie.
- Kheyar N ., Meridja D ., , Belhamel K. (2014).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products* 2:1(2014)18-26 18.
- Koreichi, N et Benlatreche, M S. (2019).** Synthèse des propriétés physicochimiques et biologiques de l'espèce *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Mémoire de Master, Université Constantine1, Algérie.
- Koziol, N. (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* , d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité , efficacité et toxicité. Thèse du Doctorat, Université de Lorraine, France.
- Layadi et Souadki. (1999).** Contribution à l'étude des huiles essentielles de deux plantes : *Ocimum basilicum* L. et *Santolina chamaecyparissus* L. Thèse d'ingénieur en agronomie Institut National Agronomique el hrarach, Alger, Algérie.
- Le Hir A., Chaumeil J-C., Brossard D. (2016).** Pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments Editeur : Elsevier Masson (10^{ème} édition).
- Le Minor, L., Veron, M., (1989).** Bactériologie médicale 2^{ème} édition. Ed. Flammarion. Paris.
- Limam, H.; Jemaa, M.B.; Tammar, S.; Ksibi, N.; Khammassi, S.; Jallouli, S et al., (2020)** Variation in chemical profile of leaves essential oils from thirteen Tunisian *Eucalyptus* species and evaluation of their antioxidant and antibacterial properties. *Ind.Crops Prod.*, 158, 112964.

Lucia, A.; Licastro, S.; Zerba, E.; Masuh, H. (2008) Yield, chemical composition, and bioactivity of Eos from 12 species of *Eucalyptus* on *Aedes aegypti* larvae. Entomol. Exp. Appl. 129, 107–114.

Mansouri, A. (2009). Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *Centaurea africana*. Mémoire de Magister, université de Constantine, Algérie : p 8.

Mehani M. (2015). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla. Thèse de Doctorat, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.

Mehani M., Ladjel S. (2014). Biological Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* on Some Fungi and Bacteria. Journal of Engineering Research and Applications., 4, 71-73.

Mehani M et Segni I. (2014). Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus camaldulensis* sur certaines bactéries pathogènes. Annales Sci et Technol, 6(1).

Mekkelleche, H. (2015). Contribution à l'étude morpho métrique d'*Eucalyptus globulus* Labill (myrtacées) dans la région de Tlemcen. Thèse d'obtention du diplôme de Master, Université Aboubaker Belkaid, Tlemcen.

Meziane, H. (1996). L'Eucalyptus en Algérie un arbre controversé en forêt algérienne N°1. Edité par I.N.R.F. Bainem, 5-10.

Moreira M.R., Ponce A.G., de Valle C.E. & Roura S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food borne pathogen. Lebensmittel-Wissenschaft und –TechnologieLWT, 38: 565-570.

Mpondo M. E., Dibong D. S., Priso R. J., Ngoye A., et Ladoh yemedo C. F. (2012). Etat actuel de la médecine traditionnelle dans le système de santé des population rurales et urbaines de Douala (Cameroun). Journal of applied biosciences 55 : p 4036-4045.

Nait Achour, K. (2012). Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'*Eucalyptus* poussant dans la région de Tizi Ouzou. Mémoire de Magister, Université A. Mira, Bejaia, Algérie.

Oullali. L et Chamek. C. (2018). Contribution à l'Etude Ethno pharmacognosique des Plantes Médicinales Utilisées pour le Traitement des Affections de l'Appareil Digestif en Kabylie. Mémoire de fin d'étude, Université Mouloud Mammeri, Faculté de Médecine, Tizi Ouzou, Algérie.

Oussou K.R., Youlou S., Kanko C., Guessennd K. N., Boti J. B., Ahibou C., Et Casanova J. (2008). Étude chimique et activités antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

Oussou K.R., Youlou S., Kanko C., Tue Bi B., Kanko C., Boti J. B et al., (2010). Étude chimique Bio-Guidée de huile essentielle de deux plantes aromatiques d' *Ocimum gratissimum*. Européen Journal of Scientific Research 1:50-59.

Oyedeji, A.O.; Ekundayo, O.; Olawore, O.N.; Adeniyi, B.A.; Koenig, W.A. (1999) Antimicrobial activity of the EOs of five *Eucalyptus* species growing in Nigeria. *Fitoterapia*, 70, 526–528.

Oyen, LPA and Lemmens, RHMJ. (2002). Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Programme PROTA Wageningen. Pays-Bas .207pp. ISBN 90-77114-033.

Pervaiz, T., Sangteo, J., Faghihi, F., Haider, M.S., et Franf, J. (2017). Naturally occurring anthocyanin structure, functions and biosynthetic pathway in fruits plants. *Jouranal of plants biochemistry & physiology*,05(02).

Pibiri M-C., (2005). Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse N °3311, Lausan Suisse.

Pinela, J., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). Wild edible plants: Nutritional and toxicological characteristics, retrieval strategies and importance for today's society. *Food and Chemical Toxicology*, 110, 165–188.

Ponce A.G., Fritz R., Delvalle C., Roura S.I., (2003). Anti microbial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel Wissenschaft and Technologic* 36:679-684.

Rameau J C., Mansion D., Dume G., Gaubervillec. (2008). Flore forestière française. Tome 3 Région méditerranéenne, Editeur : IDF (Institut pour le développement forestier).France,

Randhawa, MA and Al Ghamdi, MS. (2011). Anticancer activity of *Nigetta sativa* (Black seed)- Areview. *The American J of Chinese Med*, 39(36):1075-91.

Rizk, A.M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar, *Fitoterapia*, 52 (2), 35-42.

Robert Anton. (2002). Ttraditional medicinal plants, dietary supplements and/or medicines in des soitcesdu savoir aux médicaments du futur.

Roux D. (2005). Nouvelles plantes qui soignent. Edition Alpen, Paris : p 21.

Sabo, V.A.; Knezevic, P. (2019). Antimicrobial activity of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. plant extracts and essential oils: A review. *Ind.Crops Prod*, 132, 413–429.

Saint T'aimer D.J.Y, Frérot E, Herman A. (2003). Controlled release of perfumery alcohols n'y neigh boing-group participation. Comparaison of the rate constant for the Alkaline hydrolysis of 2-acyl-2,2-(hydroxymethyl) –ans carbamol benylbenzoates. *Helvetica Chimica Acta* 86 : 2871-2899.

Salemkour, B & Rahaoui, R. (2019). Etude De L'effet Antimicrobien des Extraits et de l'Huile Essentielle d'une Plante Médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*) de La Région d'Ain Timouchent. Mémoire de Master. Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent, Algérie.

Sapit Diloksumpun , Nalin Wongkattiya, Kittisak Buaban , Tharinee Saleepochn, Panawan Suttiarporn and Suwaporn Luangkamin. (2022). Variation in the Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils of Five New *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

Satrani B., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., et Talbi M. (2007). Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* . Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp : 85-96.

Schwammle B., Winkelhausen E., Kuzmanova S., et Steiner W. (2001). Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms. *Biotechnol*, 39 (4): 341-345.

Sebai, M., et Boudali, M. (2012). La phytothérapie entre la confiance et la méfiance. Mémoire professionnel. Institut de formation Paramédicale Chettia, Chlef, Algérie.

Shubhreet Kaur, Dr. Saurabh Gupta and Priyae Brath Gautam. (2019). Phytochemical analysis of *Eucalyptus* leaves extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* ; 8(1): 2442-2446.

Singh, A.K.; Nagui,A.A.; Bhattacharya, A.K. (1989) Chemical constituent of essential oils in different *Eucalyptus* grown in Kumaon hills (Ramikhet) INDIA. *Herba Hung*, 28(3), 55-58.

Smallfield,B. (2001). Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. Number 45,4p.

Sofowora, A (1993). Medicinal plants and traditional medicine in Africa, 2 - Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, 289.

Steflitsch, W and Steflitsch, M. (2008). Clinical aromatherapy. *Journal of Men's Health*, 5(1): 2-4.

Su, Y.C.; Ho, C.L.; Wang, E.I.; Chang, S.T. (2006) Antifungal activities and chemical compositions of Eos from leaves of four *Eucalyptus*. *Taiwan J. Sci*, 21, 49–61.

Thiombiano, L. (1984). Première approche de l'influence du reboisement en *Eucalyptus camaldulensis* sur des sols de gonse (haute-volta) Thèse de Doctorat en 3ème cycle en écologie 137p.

Toloza, A.; Lucia, A.; Zerba, E.; Masuh, H.; Picollo, M.I. (2008). Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of EOs against permethrin-resistant head lice from Argentina. *Bioresour. Technol*, 99, 7341–7347.

Verdeguer, M.; Blazquez, M.A.; Boira, H. (2009). Phytotoxic effects of *Lantana camara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriosephalus africanus* Eos in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochem. Syst. Ecol*, 37, 362–369.

Vonrochemberg, C. (1910). Theorie der gewinning and trennung der atherishen ol durch destillation. Selbot-verlag Von Shimmel : p 432.

Wallace, R.J. (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites, *Proceedings of Nutrition Society*, 63,621-629.

Warot, S. (2006). Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie. Préparatrice en pharmacie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie. p3

Weiss, E A. (1997). Essential Oil Crops. Ed Cab international. New York, NY. 613 p.

William, G. (2003). Physiologie végétale 2^{ème} Edition américaine par serge Rambour Révision scientifique de Charles Marie, Algérie.

Witchtl M., Anton R., (2003). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition Lavoisier, Paris : p38-41.

Zrira, S.; Benjilali, B.(1991). Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. *Journal of essential oil research*, 117-118.

- sites.ensfea.fr

- <https://www.ecoledesherbess.org/2015/03/14/les-%C3%A9ments-actifs-de-plantes/> le 29/03/2022 à 00.42.

Résumé

Notre travail repose sur l'étude phytochimique et l'activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Constantine. Nos investigations phytochimiques ont porté sur les deux extraits méthanolique et aqueux de cette plante. Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de quelques classes de métabolites secondaires telles que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les terpènes.

Le rendement enregistré par cette espèce est de 1,47%. Les propriétés organoleptiques et la densité sont en générale en accord avec les normes AFNOR, ce qui rend l'huile de cette espèce de bonne qualité.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* a été testée par la méthode de diffusion vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *K. pneumoniae*). L'huile a montré un effet inhibiteur variable sur toutes les bactéries aux différentes concentrations, la bactérie *S. aureus* était extrêmement sensible à l'huile pure donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (> 30 mm).

Enfin, l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* est typique pour produire les huiles essentielles médicinales, ce qui confirme son importance en agriculture, en industrie alimentaire et en pharmacie.

Mots clés : *Eucalyptus camaldulensis*, Screening phytochimique, Activité antibactérienne

Abstract

Our work is based on the phytochemical study and antibacterial activity of *Eucalyptus camaldulensis* from the Constantine region. Our phytochemical research focused on the two methanolic and aqueous extracts of this plant.

The phytochemical screening highlighted the presence of some classes of secondary metabolites such as flavonoids, tannins, alkaloids and terpenes. The yield recorded by this species is 1.47%.

The organoleptic properties and density are generally in accordance with AFNOR standards, which makes the oil of the species of good quality.

The antibacterial activity of the essential oil of *E.camaldulensis* was tested by the diffusion method against four bacterial strains (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* and *K. pneumoniae*). The oil showed a variable inhibitory effect on all bacteria at different concentrations, the *S. aureus* bacterium was extremely sensitive to pure oil giving the largest value of the diameter of the zone of inhibition (> 30mm).

Finally, the essential oil of *E.camaldulensis* is typical for producing medicinal essential oils, which confirms its importance in agriculture, food industry and pharmacy.

Key words: *Eucalyptus camaldulensis*, Phytochemical screening, Antibacterial activity.

المخلص

الهدف من عملنا هو تسليط الضوء على ثراء أنواع الأوكالبتوس كامالديليينسيس *E.camaldulensis* فيما يتعلق بالمواد الفعالة وهذا يتطلب دراسة شاملة للخصائص الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية حيث ركزت دراستنا الكيميائية النباتية على المستخلصات الميثانولية والمائية لهذا النبات. كشف الفحص الكيميائي النباتي عن وجود بعض فئات المستقلبات الثانوية مثل الفلافونويد والعفص والقلويدات والتربين.

تحتزم الخصائص الحسية، الفيزيائية الكيميائية والكثافة لهذا الزيت وتتوافق عموما مع معايير افنور AFNOR. مما يجعله ذو نوعية جيدة. اما المردود المسجل من قبل هذا النوع هو 1.47٪.

تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري *E. camaldulensis* بطريقة الانتشار فيما يتعلق بأربع سلالات بكتيرية (*E. coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus*, *K.pneumoniae*).

أظهر الزيت تأثيرا مثبتا متغيرا على جميع البكتيريا بتركيزات مختلفة، وكانت بكتيريا *S.aureus* حساسة للغاية للزيت النقي مما يعطي أكبر قيمة لقطر منطقة التثبيط (حوالي 30 مم).

أخيرا، يعتبر الزيت العطري *E. camaldulensis* نموذجا لإنتاج الزيوت العطرية الطبية، مما يؤكد أهميته في الزراعة وصناعة الأغذية والصيدلة.

الكلمات الدالة: شجرة الأوكالبتوس، الفحص الكيميائية النباتية، النشاط المضاد للبكتيريا.

Année universitaire : 2021-2022

**Présenté par : Sahraoui Marwa
Lahiouel Zina
Merzouki Besma**

Etude Phytochimique et Activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* Denhn.

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Toxicologie

Résumé

Notre travail repose sur l'étude phytochimique et l'activité antibactérienne d'*Eucalyptus camaldulensis* de la région de Constantine. Nos investigations phytochimiques ont porté sur les deux extraits méthanolique et aqueux de cette plante.

Le screening phytochimique a mis en évidence la présence de quelques classes de métabolites secondaires telles que les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes et les terpènes.

Le rendement enregistré par cette espèce est de 1,47%. Les propriétés organoleptiques et la densité sont en générale en accord avec les normes AFNOR, ce qui rend l'huile de cette espèce de bonne qualité.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* a été testée par la méthode de diffusion vis-à-vis de quatre souches bactériennes (*E.coli*, *P.aeruginosa*, *S.aureus* et *K. pneumoniae*). L'huile a montré un effet inhibiteur variable sur toutes les bactéries aux différentes concentrations, la bactérie *S. aureus* était extrêmement sensible à l'huile pure donnant la plus grande valeur du diamètre de la zone d'inhibition (> 30 mm).

Enfin, l'huile essentielle d'*E.camaldulensis* est typique pour produire les huiles essentielles médicinales, ce qui confirme son importance en agriculture, en industrie alimentaire et en pharmacie.

Mots-clefs : *Eucalyptus camaldulensis*, Screening phytochimique, Activité antibactérienne

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Faculté de Médecine (Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Encadreur : Dr ATMANI-MERABET .G (MCA - Université Salah Boubnider, Constantine 3).

Examineur 1 : Pr BELMAHI. H (Prof - Université Salah Boubnider, Constantine3).

Examineur 2 : Pr DALICHAOUCH.S (Prof - Université Salah Boubnider, Constantine 3).