

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
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 Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante
médicinale «*Eucalyptus globulus*».

Présenté par : Djendli sabiha

Le 29/06/2022

Bouali leila

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme. Teniou S (M-A-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme. klibet F (M-C-B- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr. Mokrani E.H (M-C-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciement

*Avant toute chose on remercie Dieu
tout puissant pour m'avoir donné la force et la patience de continuité,
et nous a donné la volonté pour réaliser ce travail de recherche.
On voudrais dans un premier temps adresser nos profonds remerciements à, notre
encadreur de mémoire
Mme TENIOU SOUMIA
pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à
alimenter nos réflexions.
Merci de nous a laissé libre dans nos choix.
Merci pour votre soutien, et la confiance que nous a accordée.
On tient a remercier le responsable de la spécialité biochimie appliquée
Le Pr. BENSEGUENI
Qui nous a donnée l'occasion de revenir a nos études qu'on avait délaissé de puis une
vingtaine d'année
On remercions d'une façon toute particulière
Mr DEHIMET LAID
et Mr MERAIHYA DJAMEL,
avec qui nous avons étudié depuis vingt temps, merci pour votre soutien dans notre
parcours universitaire.
On adresse également nos reconnaissances à tous les membres de jury
, qui on a fait l'honneur de juger ce travail et de participer au jury de ce mémoire.
On adresse nos sincères remerciements à tous les professeurs,
Intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles,
leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé
nos réflexions
et on accepté de nos rencontrer et de répondre à nos questions durant les recherches
merci Dr AIT MOUSSA .S
merci Mr SAADI
On veut aussi remercier tous mes enseignants
Durant les deux années qui ont constitué un apport considérable
Pour qu'en atteigne ce jour.
Avec tous les estime et profonds respects.
Au terme de ce mémoire, je remercie
Les personnel de laboratoire de l'hôpital Hafid Boudjemaa de Constantine
Surtout le médecin chef
Mme SAHLI FAHIMA
et la chef service Mme KHARBACH ASMA.
Pour nous avoir donné l'occasion extraordinaire de réaliser notre travail de terrain.*

Dédicace

A mon très cher père

Mr. ABDELKADER

J'ai vécu dans l'admiration de ta grande personnalité et de ta bonté.

*Puisse Dieu, le tout puissant, te protéger et t'accorder meilleure santé et
longue vie afin que je puisse*

Te rendre un minimum de ce que je te dois.

A ma très chère mère

Mme. OUARDA

*Je ne trouve pas les mots pour traduire tout ce que je ressens envers une mère
exceptionnelle dont*

J'ai la fierté d'être La fille.

*Et que Dieu tout puissant, préserve ton sourire et t'assure une bonne
santé et une longue vie afin que je puisse te combler à mon amour.*

A Mr. AMAR OUADI,

un grand Merci chaleureux pour tout le bonheur que tu m'apportes.

*Merci cher mari pour ta patience et ton soutien pendant cette année qui n'ont pas
été de tout repos.*

A la mémoire de mes grand-père et grands-mères

Puissent vos âmes reposent en paix.

*Que Dieu, le tout puissant, vous couvre de Sa Sainte miséricorde et
vous accueille dans son éternel paradis.*

A mes frères et ma sœur

A toutes la famille,

Pour votre présence, votre soutien et votre affection depuis tout ce parcours.

*Vous avez rendu possible la réalisation de ces deux années d'études en biochimie
appliquée et de ce mémoire.*

A mes amis(es) et collègues,

A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs !

Je vous souhaite à tous longue vie pleine de bonheur et de prospérité.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma reconnaissance et de mon respect.

Merci pour tous les moments formidables qu'on a partagés.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

Sabiha

Dédicace

Je voudrais dédier et remercier mon mari Ahmed, mes fils, anis, et yahia , et ma fille Lydia qui ont survécu aux aléas d'une femme et d'une mère préoccupée surtout en phase finale. L'achèvement de cette étude n'aurait pas été possible sans leur amour inconditionnel, leur soutien et

Leur patience.

Je tiens à exprimer ma gratitude envers mes parent qui m'ont toujours encouragé, ainsi qu'a mes frère Mohamed et Amir, mes sœurs ; Abla, Fouzia, Samia, rania.

Que Dieu vous garde pour moi

Leila

Liste des abréviations

µm :Micromètre.

AFNOR : l' Association Française de Normalisation.

A: Absorbance.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CPG : Chromatographie phase gazeuse

DMSO : Diméthylesulfoxyde.

GC-MS : Chromatographie phase gazeuse couplée avec spectrométrie de masse.

HE : Huile essentielle.

MH :Mueller Hinton

MS : Spectromètre de masse.

MHE: Masse de l'huile essentielle en g.

MmV: Masse initiale de matière végétale en g.

R% : Rendement en pourcentage %.

Liste des figures

Figure 1 : photographie des feuilles de <i>l'eucalyptus globulus</i>	7
Figure 2 : les fleurs de <i>l'eucalyptus globulus</i>	8
Figure 3 : Les fruits de <i>l'eucalyptus globulus</i>	8
Figure 4 : Structure chimique de quelques constituants d'Eucalyptus a) 1,8 cinéole (Eucalyptol) ; b) Globulol.....	10
Figure 5 : Structure d'une molécule d'isoprène est aussi appelée 2-méthylbuta-1,3-diène....	18
Figure 6 : structure de quelques composés aromatiques (anéthol, vanilline).....	19
Figure 7 : structure du composé aromatique eugénol	19
Figure 8 : Principe de distillation à la vapeur. (Aromathérapieetbieneterbio.over-blog.com 22 mars2017).....	22
Figure 9 : Montage d'extraction par la technique d'hydro distillation.....	23
Figure 10 : Réserve biologique de djebal el ouahche.....	29
Figure 11 : Séchage du matériel végétal.....	29
Figure 12 : Photographie du dispositif utilisé pour l'extraction des HEs par hydro distillation. (Cleavenger).....	29
Figure 13 : Photographie montrant la séparation des HEs décantation.....	30
Figure 14 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne	33
Figure 15 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (PIBIRI, 2005).....	34
Figure 16(A) : Préparation d'inoculum - Prélèvement des colonies.....	35
Figure 16 (B) : Préparation d'inoculum - Déchargement dans l'eau physiologique.....	35
Figure 16 (c) : Préparation d'inoculum - L'enrichissement.....	35
Figure 17 : Ensemencement des souches.....	36
Figure 18 : Réalisation de la gamme de dilution d'HE.....	36
Figure 19 : boîte de pétri	38
Figure 20 : Huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	38
Figure 21 : Photographie montrant l'action d'EH d' <i>E.globulus</i> sur les souches bactériennes : (a) <i>P. aeruginosa</i> , (b) <i>E. coli</i> , (c) <i>K. pneumonia</i> ,(d) <i>S.aureus</i>	41
Figure 22 : Photographie montrant la CMI à partir d'une gamme de concentrations d'huile essentielle.....	43

Liste des tableaux

Tableau(1): Distribution géographique <i>d'Eucalyptus globulus</i> en Algérie (Foudil-Cherif, 1991)	5
Tableau 2: caractéristiques des différents micro-organismes	32
Tableau 3 : caractéristique organoleptique de l'huile essentielle <i>d'eucalyptus globulus</i>	40
Tableau 4 : Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition d'HE de <i>d'Eucalyptus globulus</i> vis-à-vis des quatre bactéries	41
Tableau5: Transcription des diamètres d'inhibition des dilutions huile essentielle de plante Eucalyptus.....	42
Tableau 6 : CMI de l'EH <i>d'Eucalyptus globulus</i> sur les souches bactériennes testées.	43

SOMMERE

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE :

CHAPITRE I: Présentation Générale Des eucalyptus

1. Introduction.....	4
2. Historique et systématique des eucalyptus	4
3. Les eucalyptus globulus	5
4. Répartition géographique de la plante en Algérie	5
5. Nomenclature et taxonomie	5
6. Description botanique.....	6
7. La classification botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	6
8. Composant chimique	9

CHAPITRE II : Les huiles Essentielles.

1. Généralité sur les huiles essentielles	11
2. Définition.....	11
3. Variabilité des huiles essentielles	12
4. Méthodes d'analyses et contrôles de qualité des huiles essentielle	12
5. Critères de qualité des huiles essentielles	15
6. Relation composition chimique – activité biologique	17
7. Localisation et rôle physiologique	17
8. Composition chimique	18
9. Propriétés reconnues des huiles essentielles	20
10. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	21
11. Méthode d'analyses chimique.....	26

LA PARTIE 2 :EXPERIMENTALE

CHAPITRE III : Matériel et méthode

1. Matériel végétal	28
2. Extraction de l'huile essentielle	29
3. Détermination du rendement en huile essentielle	30

4. Evaluation de l'activité biologique.....	30
5. Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des huilés essentielles :.....	33
6. Protocoles d'étude de l'activité antimicrobienne.....	34
7. Détermination de CMI (Concentration minimal Inhibitrice)	37
8. Détermination de la composition chimique	37

CHAPITRE IV : Résultat et discussion

1. Rendement d'extraction d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	40
2. Caractères Organoleptiques d'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	40
3. Etude de l'activité antibactérienne.....	40

CONCLUSION

RESUME

REFERENCES

Introduction Générale

Introduction générale :

Parmi les métabolites secondaires des végétaux, les huiles essentielles sont les plus étudiées et ont suscité, ces dernières années, un intérêt croissant dans de nombreux domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique, notamment par leurs propriétés antioxydants et antimicrobienne (Bakkali et *al*, 2008). La dynamique de marché des huiles essentielles est soutenue par une demande sans cesse croissante en ingrédients naturels, ce qui a poussé les industriels des secteurs agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique davantage à les intégrer dans leurs formulations. La substitution d'un produit de synthèse par une huile essentielle permet d'accroître la valeur ajoutée (Kerdudo et *al*, 2014).

Les plantes aromatiques et médicinales représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, hétérosides, saponosides, quinones, vitamines,...et huiles essentielles (Lafon,J,P et *al*,1991)

La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier. en effet, les huiles essentielles , principes actifs issus du métabolisme secondaire des plantes médicinales, ont été utilisées depuis l'antiquité et sont largement employées de nos jours, pour leur propriétés biologique (antimicrobienne, antioxydant, analgésique, anti inflammatoire, anti-cancérigène, antiparasitaire, anti-insecticide), (Bakkali, F et *al*, 2008) et leurs applications dans de multiples et diverses industries :alimentation ,cosmétique, parfumerie et pharmacie (El Abed, D et *al*,2003).

Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques, de leurs huiles essentielles et de leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés, ils sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, dans les cosmétiques, les parfumeries, et dans les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires (Yahyaoui, 2005).

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne et à travers une étude approfondie, on s'est intéressé à l'espèce *Eucalyptus globulus*. Ce choix est justifié par le fait que cette plante est riche en principes actifs tels que les huiles essentielles, et possède des activités biologiques diverses et importantes (Atmani-Merabet, 2018).

Le présent travail est divisé en trois chapitres

Introduction Générale

- Le premier chapitre est relatif à l'étude bibliographique des plantes et des huiles essentielles.
 - Le deuxième représente les différentes techniques utilisées dans ce travail :
 - Extraction des huiles essentielles des feuilles d'Eucalyptus globulus par l'hydro distillation.
 - Evaluation de l'activité antibactérienne, de ces huiles essentielles.
 - les résultats d'extraction et d'activité antibactérienne, suivi par une extraction ont été représenté dans le troisième chapitre sont interprétés à la lumière de la littérature.
- Le travail est clôturé par une conclusion et des perspectives.

LA PARTIE - 1

REVUE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE : I

CHAPITRE :II

1. Introduction :

Depuis toujours, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement des maladies de l'homme est très ancienne et avec l'histoire de l'humanité.

L'Eucalyptus est une plante que l'on retrouve dans de nombreux produits de notre quotidien. En pratique officinale, les plantes du genre Eucalyptus sont présentes sous de nombreuses formes comme par exemple d'huiles essentielles (d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata, d'Eucalyptus citriodora...) ou encore de sirops contre la toux et l'encombrement bronchique, de pastilles contre les maux de gorges, de sprays pour le nez décongestionnants, d'inhalation pour améliorer le confort respiratoire, d'huile de massage pour la récupération sportive, de produits d'hygiène buccale... On peut donc se demander pour quelles raisons ce genre botanique est autant représenté dans nos pharmacies.

(Cerasoli, S. *et al* , 2016).

2. Historique et systématique des eucalyptus :

Sir Joseph Banks (1743 - 1820) évoque en premier les eucalyptus. En effet, lors du premier voyage du capitaine Cook (1728 - 1779) qui eut lieu de 1768 à 1771, Sir Joseph Banks observa pour la première fois, en Australie, ces géants du monde végétal, qui selon les espèces, peuvent parfois atteindre plus de 100 mètres de haut (Allain YM. 2004. 224 p). Après ces observations, il faudra attendre encore quelques années avant que le genre Eucalyptus n'apparaisse. C'est ainsi qu'en 1788, le botaniste français Charles-Louis L'Héritier de Brutelle (1746 - 1800) baptisa le genre alors que les hommes ne connaissaient que les échantillons rapportés par Sir Joseph Banks en Angleterre (Brosse J. 2000) .

Il inventa le nom « Eucalyptus » à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calypto » qui signifie « couvert, couvrir » (Bertrand B. 2007). Ce nom fait allusion au périanthe 1 de l'Eucalyptus qui cache la beauté des nombreuses étamines grâce à un capuchon qui s'enlève lors de l'anthèse³. Ce capuchon est une caractéristique commune à tous les eucalyptus (Botineau M. 2010).

Un grand nombre d'espèces d'Eucalyptus ont été introduites en Algérie, notamment par M. Cordier de 1864 à 1876 (Trabut,1914). Les Eucalyptus sont de grands arbres dont certaines espèces peuvent atteindre 100 mètres de hauteur, Originaire d'Australie, l'Eucalyptus fut

Chapitre I : Présentation générale d'eucalyptus globulus

rapidement planté dans les régions subtropicales de l'Asie et du bassin méditerranéen. De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicinaux des feuilles de ce genre dans leur pharmacopée : Chine, Inde, Sri Lanka, Afrique du Sud, Île de la Réunion, Europe, etc.

3. Les eucalyptus globulus :

L'Eucalyptus globulus, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert en 1792 par le botaniste français La Billardière. C'est un arbre originaire de Tasmanie (Australie). Le docteur Muller (1825-1896), directeur du jardin botanique de Melbourne, a été le premier à le décrire dans son ouvrage *Fragmenta phytographiæ australiæ*. Aujourd'hui, l'Eucalyptus globulus est cultivé dans le bassin méditerranéen et en Chine où il est utilisé pour fabriquer de la pâte à papier. Les Eucalyptus sont des arbres qui poussent très rapidement. L'Eucalyptus globulus mesure 30 à 60 mètres de haut et il peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris. Son écorce se détache facilement en longues bandes. Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles. Mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles peuvent atteindre 25 centimètres de long. Elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. Les feuilles ont une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille. (Koziol, N. 2015).

4. Répartition géographique de la plante en Algérie :

Les Eucalyptus occupaient une surface de 5855 hectares dont plus de la moitié dans la région Oranaise (Boudy, 1955). Actuellement des plantations longent le littoral d'El -Kala et d'Azzefoun. On retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout. La répartition géographique de l'espèce *E.globulus* est reportée dans le tableau(1) (Foudil -Cherif, 1991).

Tableau(1):Distribution géographique d'Eucalyptus globulus en Algérie (Foudil-Cherif, 1991)

Wilaya	BLIDA	BOUMERDES	RELIZANE	SIKIDA	S.BELABAS	SETIF	EL TAREF
Nom local	Kafour	Kafour	Calatous	—	Ouerg el Kafour	Calatous	—
Superficie	41Ares	93HA 70Ares	—	2250 HA	342 HA	10 A	1000

5. Nomenclature et taxonomie :

Nomenclature: en français, il est appelé par plusieurs noms qui sont : eucalyptus, arbre de la fièvre, gommier bleu, en anglais: blue gumtree et en arabe: Kalitus, Kalatus (Goetz et Ghadira, 2012). On mention spécialement les noms vernaculaires dans notre pays l'Algérie : Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (Daroui - Mokaddem, H. 2012).

- Etymologie: globulus fait référence à la forme de l'opercule du fruit (Pauline, 2019).

6. La classification botanique d'Eucalyptus globulus :

Selon (Ghedira et al, 2008), est la suivante : Synonymes : Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Arbre à fièvre, Eucalyptus officinal

Règne : Plante

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida-Dicotylédones

Sous-classe : Rosidae

Famille : Myrtaceae

Genre : Eucalyptus

Nom botanique : Eucalyptus globulus, Labill.

Nom vernaculaire : localement cette plante est connue sous le nom de Kalafulu. (Ghedira et al, 2008).

7. Description botanique

L'eucalyptus est un très bel arbre au tronc droit, lisse, grisâtre, qui porte des rameaux dressés. Sa croissance rapide, son odeur aromatique qui éloigne les insectes et son pouvoir absorbant de l'humidité l'ont fait introduire dans la région méditerranéenne pour assainir certaines étendues marécageuses.

Cet arbre (Eucalyptus globulus), de la famille des Myrtacées, s'appelle également «gommier bleu », « arbre au koala » et « arbre à la fièvre ». Elle peut atteindre 30 à 40 mètres de hauteur. L'écorce de son tronc et de ses branches, de couleur gris-brun, a tendance à se détacher naturellement par plaques. Ses feuilles, agréablement odorantes, sont persistantes et coriaces, opposées et ovales lorsqu'elles sont jeunes, puis allongées en prenant de l'âge. Ses fleurs disposent de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur

Chapitre I : Présentation générale d'*eucalyptus globulus*

blanche, crème, jaune, rose ou rouge. Ses fruits se présentent sous forme de capsules ovoïdes et ligneuses d'environ 1 centimètre, renfermant de nombreuses graines minuscules

Le mot « eucalyptus » vient du grec « eu » (c'est-à-dire « bon ») et le mot « kalyptol » signifie « couvrir », car les pétales et les sépales de cette espèce sont soudés. Cet arbre vient d'Australie, de Tasmanie et de Malaisie. Il a été introduit en France en 1828. On le trouve dans les régions méditerranéennes, en particulier en Corse, mais aussi dans d'autres lieux plus septentrionaux.

L'eucalyptus prospère en sol acide et humide. Il supporte le froid jusqu'à -12°C, mais le gel prolongé de 1985 en a quand même détruit un certain nombre dans le Midi.

<https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-eucalyptus-8065/>

7.1. les feuilles :

Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauque, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant. (Bruneton, J, 199)

Les feuilles juvéniles sont très différentes du feuillage adulte : elles sont ovales, larges, sessiles, opposées et couvertes d'une pruine (couche cireuse, légèrement poudreuse, permettant à la plante de se protéger de la chaleur et des agressions extérieures). Les feuilles adultes sont alternes, pétiolées, très allongées, falciforme et de couleur vert luisant (Pauline, 2019)



Figure 1 : photographie des feuilles de *l'eucalyptus globulus*

<https://www.achat-vente-palmiers.com/fr/eucalyptus/2979-eucalyptus-globulus.html>

Chapitre I : Présentation générale d'*eucalyptus globulus*

7.2. les fleurs :

Les fleurs sont très variées. Elles ont de très nombreuses étamines qui peuvent être de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge. (Bruneton. J, 1999)

Visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines. Les fleurs couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée. (Adouani, L., et al, 2021).



Figure 2 : les fleurs de l'*eucalyptus globulus*

<https://www.aujardin.info/plantes/eucalyptus-globulus.php>

7.3. les fruits :

Le fruit est la capsule anguleuse du calice, il renferme deux types de graines. Les fruits à maturité ont la forme d'un cône, ils sont secs, et de couleur brune. Ils ont également des valves qui se soulèvent pour laisser échapper les graines lors de leur chute sur le sol. Graines : très grosses ressemblant à celle du poireau (Adouani, L., et al, 2021).



Figure 3 : Les fruits de l'*eucalyptus globulus*

<https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/>

7.4. L'écorce :

Lisse, blanc bleuâtre, la vieille écorce se détache en grandes lanières qui pendent le long du tronc et des branches principales ce qui donne un aspect particulier à l'espèce. Son écorce se détache facilement en longues bandes (Adouani, L., et *al*, 2021.).

7.5. les racines :

Les racines de l'Eucalyptus globulus s'étendent assez horizontalement dans le sol et sont plutôt traçantes que pivotantes, leur caractère particulier est d'avoir peu de consistance quand elles sont jeunes, aussi toute espèce de labour devient-il peu judiciable à une plantation. Mais, au bout de la deuxième année, les individus acquièrent assez de force pour que les herbes qui les entourent ne puissent plus leur nuire.

Par les propriétés absorbantes si énergiques des racines, l'Eucalyptus globulus est regardé comme essentiellement propre à l'assainissement des lieux rendus insalobres par un sous-sol marécageux.

(Adouani, L., et *al*, 2021.).

8. Composant chimique :

La constitution chimique de l'Eucalyptus globulus, est formée de :

8.1. l'huile essentielle :

Dont les composants majoritaires de celle-ci sont (oxydes terpéniques: 1,8-cinéole

(Eucalyptol) ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène
sesquiterpènes : aromadendrène ; sesquiterpénols : globulol, lédol),

<https://wikimemoires.net/2021/01/plantes-medicinales-eucalyptus-et-eucalyptusglobulus/>

8.2. Flavonoïdes :

(des hétérosides de flavones avec aglycones suivant : quercétine, myricétine, etc.)

– Tanins.

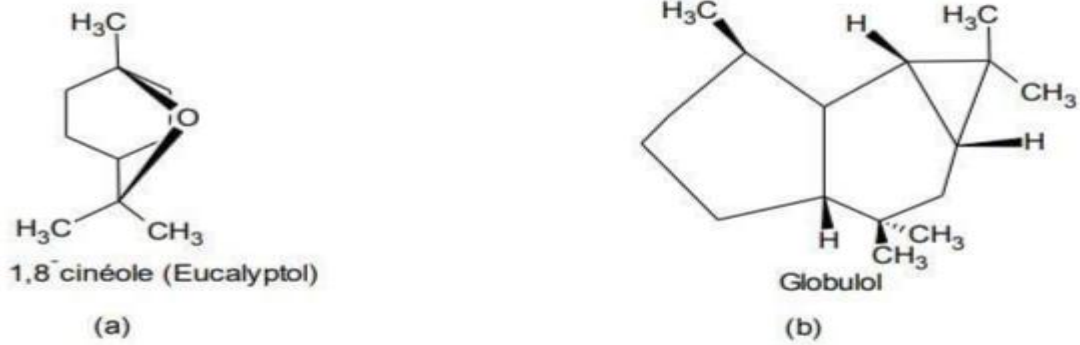


Figure 4 : Structure chimique de quelques constituants d'Eucalyptus a) 1,8 cinéole (Eucalyptol) ; b) Globulol

<https://wikimemoires.net/2021/01/plantes-medicinales-eucalyptus-et-eucalyptus-globulus/>

1. Généralité sur les huiles essentielles :

Parmi les métabolites secondaires, les huiles essentielles sont les plus étudiées et présentent une grande importance commerciale. Il s'agit de mélanges naturels généralement dominés par des composés mono- ou sesquiterpéniques, plus rarement diterpéniques, et parfois par des phénylpropanoïdes. Le nom huile essentielle a été inventé au 16^{ème} siècle par le réformateur suisse de la médecine, Paracelsus von Hohenheim qui a appelé le composant efficace *essentia* de Quinta de droga (Guenther, 1948).

Selon Afnor NF (2000), une huile essentielle est définie comme un « produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés l'huile essentielle est donc définie comme l'essence volatile extraite de plantes aromatiques par la distillation sèche, par entraînement à la vapeur ou par un procédé mécanique sans chauffage. Cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais, de ce fait, elle écarte les produits obtenus, toujours à partir de matière première végétale, mais en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enfleurage (Besombes, 2008).

Kalemba et Kunicka (2003) ont défini les huiles essentielles comme étant des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres (Burt, 2004).

2. Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique (Kalemba, 2003). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres. elles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes (Burt, 2004). De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (Santoyo et al., 2005) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Kimbaris et al., 2006).

3. Variabilité des huiles essentielles :

Une HE est très fluctuante dans sa composition, sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres, d'origine intrinsèque (facteurs génétiques, localisation, degré de maturité), d'origine extrinsèque (sol, climat, altitude) ou d'ordre technologique c'est-à-dire lié aux techniques d'exploitation de matériel végétal. En effet, de profondes modifications s'opèrent lors du séchage, du stockage, de l'extraction et du conditionnement (Evans, 1996).

4. Méthodes d'analyses et contrôles de qualité des huiles essentielles :

Selon la pharmacopée Française et Européenne, le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais. Ce contrôle a pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle ; ces caractéristiques propres à chaque huile seront ensuite utilisées pour décrire l'huile essentielle et servir de critère de qualité. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans le recueil de normes publié par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1996), qui sont identiques aux normes internationales de l'Organisation Internationale de Standardisation (ISO, 1977). D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont :

4.1. Rendement :

Le rendement est la quantité maximale d'huile essentielle que donne une masse donnée de végétal pendant une période donnée. C'est le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue sur la masse du matériel végétal utilisé (Kebisi A, 2011). On a calculé le rendement en utilisant la relation suivante:

$$R(\%) = \frac{\text{Masse(HE)}}{\text{Masse (M V)}} \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle.

Masse (HE) : masse de l'huile essentielle.

Masse (MV) : masse du matériel végétal sec ou frais.

4.2. Propriétés organoleptiques :

Trois aspects peuvent être contrôlés :

4.2.1. La couleur : chaque HE présente une couleur qui lui est propre permettant de confirmer son identification ou sa qualité. Elle varie en fonction du vieillissement et de l'oxydation, allant souvent dans le sens d'un brunissement.

4.2.2. L'odeur : elle est caractéristique à chaque HE mais nécessite une bonne habitude olfactive.

4.2.3. La saveur : généralement les HE de mauvaises qualités ou falsifiées ont un goût désagréable qui s'amplifie avec le vieillissement (Baudoux et *al*, 2006).

4.3 .Propriétés physiques :

Les essences et les huiles essentielles ont des propriétés physiques communes, qui peuvent cependant varier en fonction de leur composition chimique.

À température ambiante, les huiles essentielles sont liquides. Il existe cependant des exceptions. Par exemple, l'huile essentielle est visqueuse chez la myrrhe (*Commiphora myrrha* (T. Nees) Engl.), pâteuse pour le bois de gaïac (*Bulnesia sarmienti* Lorentz ex. Griseb.), solide pour le cèdre de Virginie (*Juniperus virginiana* L.) ou parfois la rose (*Rosa x damascena* Mill.) ou encore un mélange solide-liquide lorsqu'elle est extraite de la badiane (*Illicium verum* Hook. F.) .

Les huiles essentielles sont volatiles. C'est ce qui les rend entraînable à la vapeur et particulièrement odorantes. Ce caractère les différencie aussi des huiles végétales grasses ou « fixes ». Si ces dernières laissent des taches indélébiles, la trace laissée par une huile essentielle tendra à disparaître plus ou moins rapidement. La volatilité étant très liée à la composition chimique, les monoterpènes sont par exemple beaucoup plus volatiles que les sesquiterpènes .

Les essences sont lipophiles et donc très peu solubles dans l'eau en général. Certains composants le sont cependant, comme par exemple la verbénone du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) ou le lavandulol que l'on retrouve dans l'huile essentielle de lavande vraie (*Lavandula angustifolia* Mill.). Certains composants sont même très hydrosolubles et vont favoriser l'apparition d'émulsion dans le produit de distillation lors de l'extraction. C'est, entre autre, le cas de l'huile essentielle d'écorce de cannelle de Ceylan (*Cinnamomum verum* J.Presl).

Leur solubilité est totale dans les huiles grasses qui représentent leurs meilleurs solvants, elle est très grande dans les alcools à titres élevés et dans les solvants organiques .

La couleur des huiles essentielles est très variable. Cela comprend l'ultra-violet (UV) du zeste de mandarine (*Citrus reticulata* Blanco), le bleu (lié à la présence de

Chapitre II : Les Huiles essentielles

chamazulène) des sommités de tanaïsie annuelle (*Tanacetum annuum* L.), le vert émeraude (azulène) de l'inule odorante ou de l'immortelle d'Italie (*Helichrysum italicum* (Roth) G.Don), le vert franc du nard de l'Himalaya (*Nardostachys jatamansi* (D.Don) DC.) ou encore le vert pâle du zeste de bergamote (*Citrus bergamia* Risso & Poitet). On retrouve également le rouge de certaines sarriettes (*Satureja* sp.) ou le jaune pâle de la sauge sclérée (*Salvia sclarea* L.). La plupart des huiles essentielles ont une couleur jaune presque imperceptible. Elles foncent au court de leur vieillissement (oxydation). Dans certains cas extrêmes, les huiles essentielles vieilles et oxydées présentent un risque toxique important.

La densité ou densité relative d'une huile essentielle est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique de l'eau distillée, à 20°C. Cette grandeur sans dimension est mesurée selon la norme NF T 75-111 à l'aide d'un pycnomètre. La densité des huiles essentielles est très souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique. La valeur de 0,92 peut être considérée comme une moyenne. Elle en est parfois très proche comme celle du zeste de mandarinier (*Citrus reticulata* Blanco: 0,9929), de santal blanc (*Santalum album* L.: 0,9741), ou d'écorce de cannellier (*Cinnamomum verum* J.Presl. : 1,0027). Quelques huiles essentielles ont même une densité très supérieure à l'eau, par exemple celle de gaulthérie couchée (*Gaultheria procumbens* L.: 1,1807) ou d'oignon (*Allium cepa* L.: 1,54 à 1,58).

L'indice de réfraction reflète le changement de direction subi par un rayon lumineux passant d'un milieu optique à un autre (par exemple de l'air à l'huile essentielle), à 20°C. Il s'agit d'une grandeur sans unité, qui se mesure avec un réfractomètre d'après la norme NF T 75-112. Dans le cas des huiles essentielles, l'indice de réfraction est généralement élevé. On peut donner comme exemple l'huile essentielle d'écorce de cannellier (*Cinnamomum verum* J.Presl.) dont l'indice de réfraction est compris entre 1,573 et 1,591 .

Le pouvoir rotatoire, caractéristique des molécules chirales, exprime la capacité qu'elles ont à dévier la lumière polarisée. Il s'agit de l'angle, exprimé en milliradians ou degrés d'angle, selon lequel tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse lorsqu'elle traverse une solution contenant des molécules chirales. La mesure, réalisée avec un polarimètre, se fait selon la norme NF T 75-113. Pour les valeurs positives, la substance étudiée sera dite dextrogyre et lévogyre pour les valeurs négatives. Les huiles essentielles sont actives sur la lumière polarisée de manière très variable en fonction de la nature et de la concentration des différentes molécules chirales qu'elles contiennent. On mesure ainsi des valeurs de +105°

chez l'oranger (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) et de $-17,75^\circ$ chez la menthe poivrée (*Mentha x piperita* L.)

(Deschepper, R.2017.).

5. Critères de qualité des huiles essentielles :

Critères de qualité des huiles essentielles. Si l'aromathérapie est rejetée comme une simple "tendance", il est facile d'oublier l'importance de prendre en compte la qualité des huiles essentielles qui sont des concentrés de substances actives. Cependant, des disparités importantes peuvent être constatées, à plusieurs niveaux : effets thérapeutiques observés, toxicité, prix. Il est indispensable que le pharmacien ait des connaissances approfondies pour pouvoir conseiller adéquatement le patient et délivrer une huile essentielle de la meilleure qualité possible.

L'aromathérapie, qui met en œuvre les huiles essentielles (HE), fait partie des thérapeutiques complémentaires vers lesquelles les patients se tournent de plus en plus en raison d'une méfiance grandissante à l'égard de certains médicaments allopathiques . Les émissions télévisées, la presse grand public et internet encouragent la population à s'intéresser aux alternatives dites "naturelles", présentées comme dénuées de danger. Les HE sont commercialisées en officine, mais également en dehors du circuit pharmaceutique (grandes surfaces, marchés, magasins "bio", Internet). Pour garantir la qualité d'une HE employée en thérapeutique, il faut respecter plusieurs critères : identité de la plante, culture, récolte, extraction de l'HE...

(Laurain-Mattar, D. 2018.).

- **Les autres opérations :**

- ◆ Une fois la distillation de la plante réalisée, plusieurs procédés peuvent être appliqués

sur l'HE obtenue.

- ◆ La rectification est une opération qui a pour but d'augmenter artificiellement la concentration d'un principe actif en particulier.

- ◆ La déterpénation consiste à ôter une partie des terpènes contenus dans l'HE pour en diminuer la toxicité (risques épiléptogène ou photosensibilisant).

Chapitre II : Les Huiles essentielles

◆ Le mélange d'HE est issu d'assemblages d'HE provenant de différentes sources afin d'obtenir une composition fixée. S'apparentant à une falsification, cette pratique est interdite dans le domaine pharmaceutique.

◆ Le conditionnement est capital puisque pour la commercialisation, les HE doivent être conservées dans des flacons qui les protègent des rayons ultraviolets (UV), en verre opaque, brun ou bleu, de préférence sans plastique ni caoutchouc, matériaux qui pourraient être dégradés.

A rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

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

(Laurain-Mattar, D. 2018.)

6. Relation composition chimique – activité biologique :

La composition chimique de nombreuses huiles essentielles a été décrite. Elle varie en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Burt, 2004.).

Au sein d'une même espèce, la composition chimique des huiles essentielles peut être différente: on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique : une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles.

6.1. Chémotype ou chimiotype :

La notion de chémotype (chimiotype ou encore race chimique) est une notion clé en aromathérapie. Terme utilisé pour la première fois en 1968 par le Dr R. Santesson et son fils, le chémotype est alors défini comme un « groupe chimiquement défini au sein d'une population d'individus morphologiquement indiscernables ». Le concept de chémotype permet de distinguer deux ou plusieurs huiles essentielles de composition chimique différente produites à partir de plantes de la même espèce, définie par sa dénomination scientifique et non à partir de sa dénomination commune. Ainsi, la différence entre le thym à thymol et le thym à linalol (tous deux issus de *Thymus vulgaris* L.) n'est pas la même que celle entre la lavande fine et la lavande aspic (*Lavandula angustifolia* Mill. et *Lavandula latifolia* Medik.). Cela signifie que des individus de la même espèce botanique, ayant donc le même génome et le même phénotype, peuvent présenter des différences significatives au niveau de leur composition chimique. Celle-ci est en effet sous l'influence de nombreux facteurs autres que la détermination génétique, comme la qualité du sol, le climat, l'altitude, l'hygrométrie, etc. Nous montrerons plus tard que les huiles essentielles sont particulièrement sujettes à ce phénomène.

(Deschepper, R. 2017).

7. Localisation et rôle physiologique :

Les huiles essentielles sont généralement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes : les fleurs, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines (Guignard, 2000).

Les huiles essentielles diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles (tous les rôles) soient encore mal connus. Il est cependant clair qu'elles interviennent dans les relations

qu'entretient la plante avec les organismes vivants qui l'entourent. Ils sont probablement des éléments essentiels de la coévolution des plantes avec les organismes vivants, tels que les prédateurs, mais aussi de la pollinisation et la dissémination (Bruneton, 1999).

Ainsi le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes responsables de la prolifération des infections ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (Razafindrakoto, 1988).

Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antivirale, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi les insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (Bakkali et al., 2008).

8. Composition chimique :

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phényl propane (Kurkin, 2003).

8.1. terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (Ouis, 2015). (Figure : 1). Les terpènes sont très répandus dans la nature. En effet, les plantes vasculaires produisent des terpènes volatils, notamment au niveau des organes foliaires. Ces molécules sont synthétisées à la suite du couplage d'au moins deux entités à 5 carbones dont la structure est celle de l'isoprène ou 2-méthyl buta-1,3-diène (Banthorpe et al, 1991)

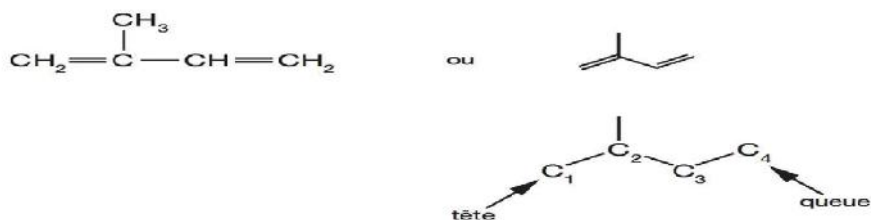


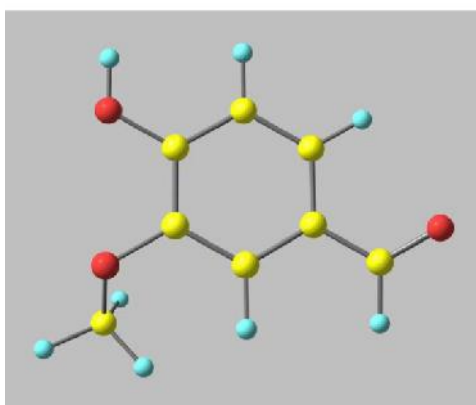
Figure 5 : Structure d'une molécule d'isoprène est aussi appelée 2-méthylbuta-1,3-diène.
<http://monde.ccdmd.qc.ca/ressource/?id=96420&demande=desc>

Chapitre II : Les Huiles essentielles

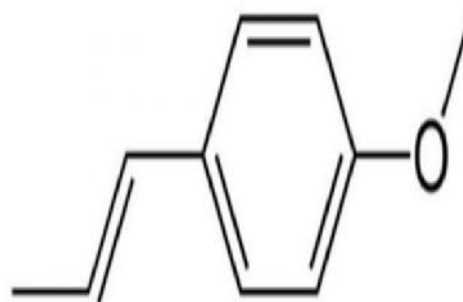
Selon le nombre de résidus isoprènes que groupent les composés terpéniques, on distingue : les Hemiterpènes ($n=1$), les Monoterpènes ($n=2$), les Sesquiterpènes ($n=3$), les Triterpènes ($n=6$), les Tétraterpènes ($n=8$) et les Polyterpènes. On trouve aussi les polyterpènes (n isoprènes) qui comprennent par exemple le caoutchouc et la gutta-percha (Benayad, 2008)

8.2. Composés aromatiques :

Les composés aromatiques dérivés du phenylpropane sont moins fréquents, mais néanmoins très importants: eugéno, anéthol, vanilline etc.



Vanilline



anéthol

Figure 6 : structure de quelques composés aromatiques (anéthol, vanilline)

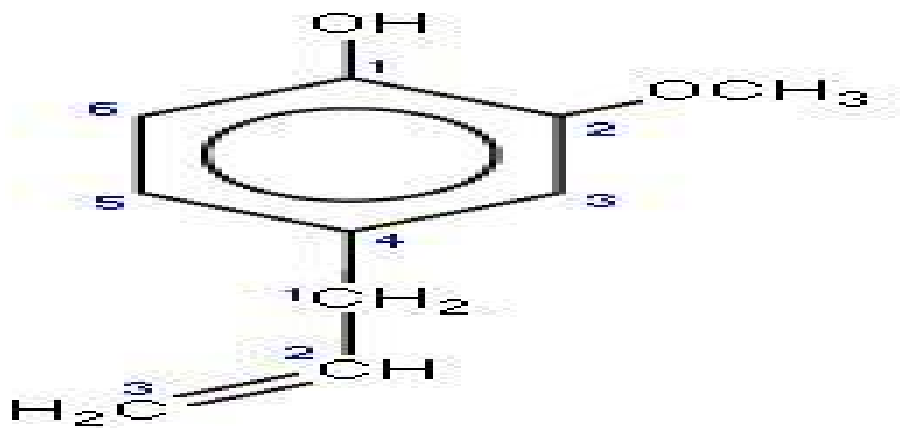


Figure 7 : structure du composé aromatique eugéno

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important, car ils sont généralement responsables des caractères olfactifs et organoleptiques des huiles essentielles : par exemple, l'eugéno est responsable de l'odeur du clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) (Hurtel, 2006).

9. Propriétés reconnues des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés. Parmi ces propriétés :

a) **Anti-infectieuses :**

Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle. –aussi que les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol etc.

b) **Anti-inflammatoires :**

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre.

c) **Régulatrices du système nerveux :**

Antispasmodiques : Les esters ou les éthers dans les huiles essentielles possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés.

Calmantes, anxiolytiques : Les aldéhydes type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil. Aussi comme agit comme des Analgésiques, antalgiques.

d) **Drainantes respiratoires :**

-*Expectorantes* : Les huiles essentielles riches en oxyde (1, 8 cinéole) comme l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus ou de Romarin agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique.

- *Fluidifiantes* : Les huiles essentielles possédant des cétones (comme la verbénone contenu dans l'huile essentielle de Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse.

e) **Digestives :**

Les huiles essentielles de cumin (avec la molécule de cuminal), d'anis étoilé ou par exemple d' Estragon ont une action digestive et apéritive. Elles permettent la stimulation de la sécrétion des sucs digestifs. L'huile essentielle de menthe poivrée atténue les nausées.

f) Cicatrisantes :

Les huiles essentielles cicatrisantes sont les huiles essentielles de Ciste (*Cistus ladaniferus*), de Lavande vraie (*Lavandula vera*), d'Immortelle (*Helichrysum italicum*), de Myrrhe (*Commiphora myrrha*). On utilise souvent un mélange de plusieurs huiles essentielles cicatrisantes avec une huile végétale comme l'huile d'amande douce.

(Mayer, F. 2012).

10. MÉTHODES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :

a) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE (Figure 1). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters. Les fractions dites « de tête », fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Le plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils.

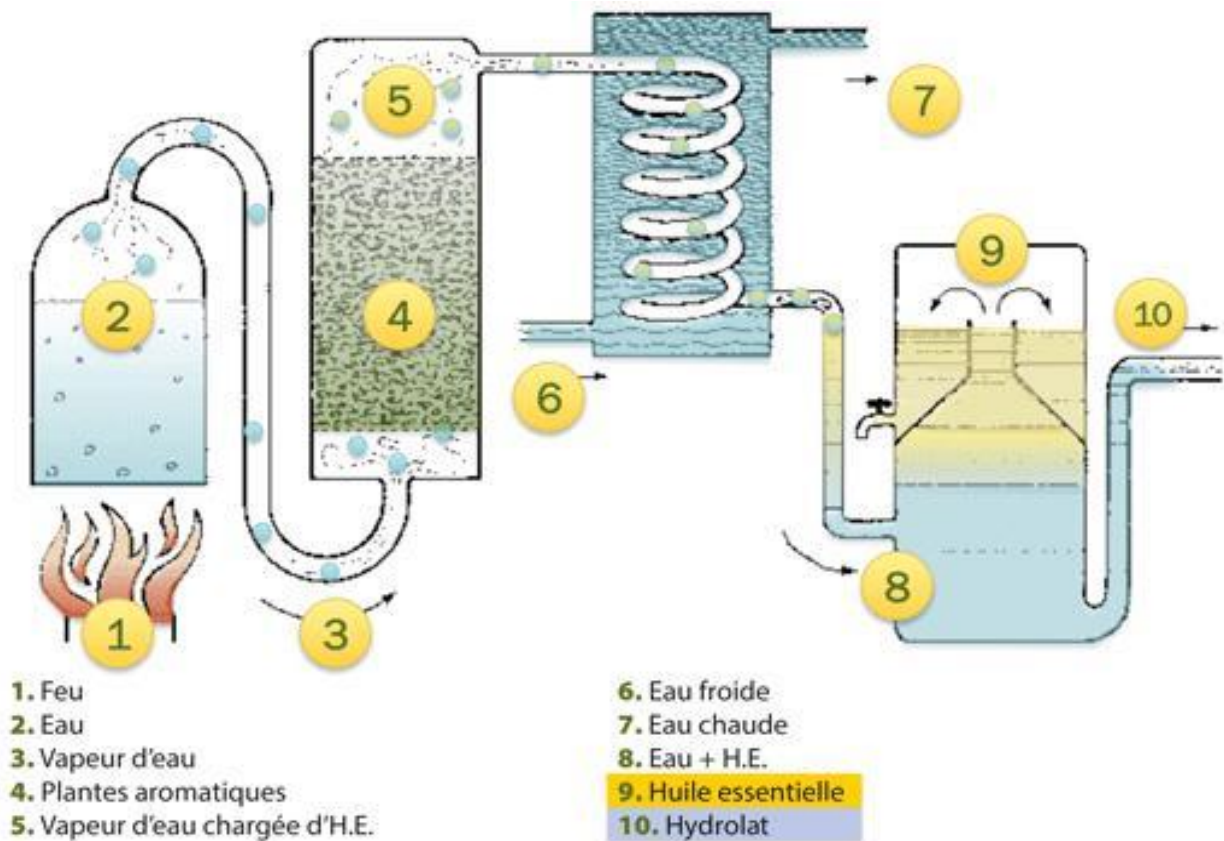


Figure 8 : Principe de distillation à la vapeur. (Aromathérapieetbieneterbio.over-blog.com 12 mars2017)

b) Extraction par Hydrodistillation :

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (Figure 2). Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation (HD).

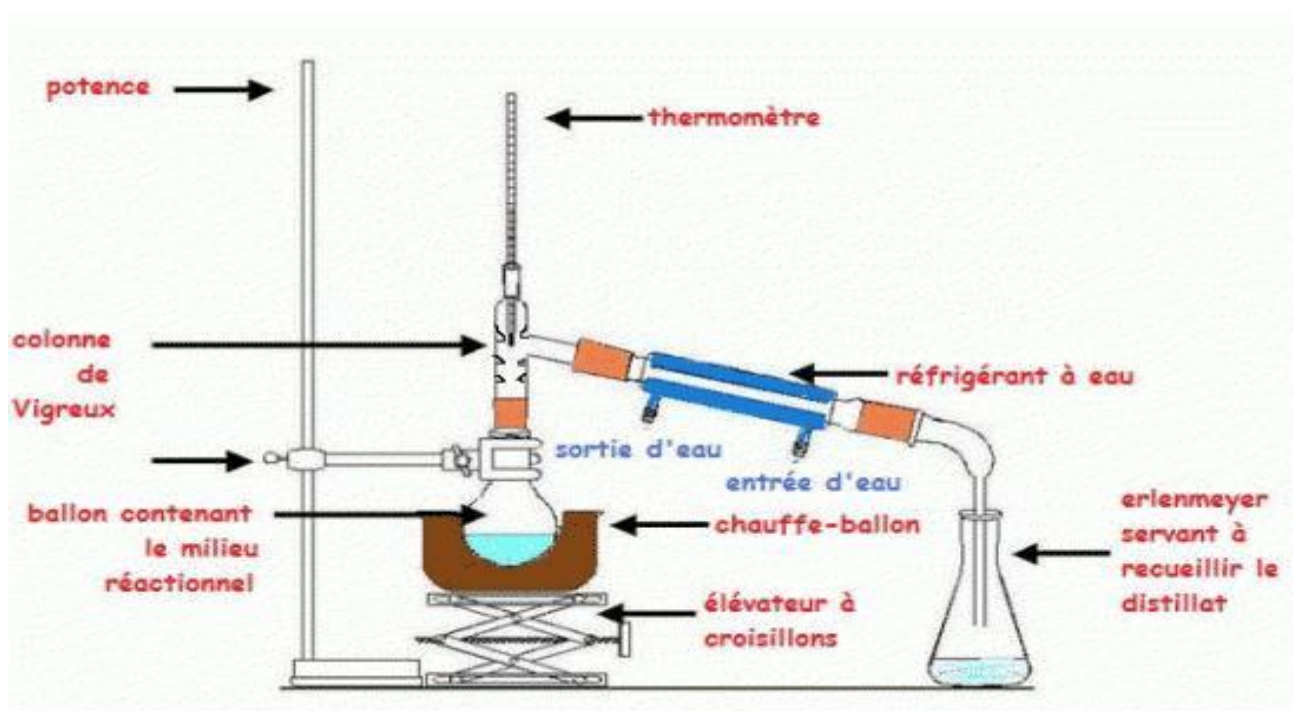


Figure 9 : Montage d'extraction par la technique d'hydrodistillation.

(<https://www.eucalyptustpe.e.moniste.com>)

c) Extraction par solvant organique :

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances. En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient des hydrolysats (eau comme solvant), des alcoolats (éthanol dilué), des teintures (éthanol/eau), des résinoïdes (extraits éthanoliques concentrés) et des concrètes (extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers). La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se

justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau. Face à cette situation, deux nouvelles techniques ont été mises au point, ces dernières années, pour la distillation des substances d'arômes à partir des plantes : l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par le CO₂ supercritique.

(BOUKHATEM, M. N., et *al*, 2019).

d) Extraction assistée par micro-ondes :

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (Caballero-Gallardo, K., et al ; 2015.). L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Exatrcion) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante (Wang, Z., et al, 2006). Comparée à l'hydrodistillation traditionnelle la SFME se caractérise par une diminution de la consommation énergétique et des rejets en CO₂ mais, surtout, par un temps d'extraction de l'ordre de 9 fois plus rapide. Les HE issues de ce procédé sont composées d'un taux plus important en composés oxygénés, de valeurs odorantes plus significatives, alors que les monoterpènes sont présents en moindre quantité (Ferhat, M. A., et *al* ,2006). Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) s'articule autour de trois points importants : - La quantité de matière végétale a été fixée de manière à obtenir une quantité d'HE suffisante pour une séparation par simple décantation. Le but de ce protocole étant d'éviter l'usage de solvant organique afin d'obtenir un produit le plus « propre » possible ; - La puissance micro-ondes appliquée (300- 450 Watts) lors de l'extraction SFME est obligatoirement fonction de la quantité de matière végétale à traiter. Cette grandeur représente la quantité de puissance appliquée en Watts par

kilogramme de matériel végétal traité ; - Le temps total de l'extraction est composé du temps de chauffage (première étape = 10 mn) et du temps d'extraction (seconde étape = 10 mn). La capacité de chauffage des micro-ondes étant nettement supérieure à un chauffage traditionnel. La durée de l'extraction sous micro-ondes sera considérablement réduite par rapport à une hydrodistillation classique (Farhat, A. 2010). Là encore, des expériences préliminaires ainsi que les données de la littérature (Filly, A., et *al* 2014). ont montré que sous micro-ondes, contrairement à une extraction classique de type « hydrodistillation », il n'était pas nécessaire de chauffer pendant de longues périodes pour obtenir des rendements intéressants. La micro-onde agit sur certaines molécules, telles que l'eau, qui absorbent l'onde, et convertissent son énergie en chaleur. Contrairement au chauffage classique par conduction ou convection, le dégagement de chaleur a lieu dans la masse. Ainsi dans une plante, les micro-ondes sont absorbées par les parties les plus riches en eau (les vacuoles, véritables réservoirs liquides des cellules), puis converties en chaleur. Il en résulte une soudaine augmentation de la température à l'intérieur du matériel, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires. La vapeur détruit la structure des cellules végétales, et les substances situées à l'intérieur des cellules peuvent alors s'écouler librement à l'extérieur du tissu biologique, et l'HE est alors entraîné par la vapeur d'eau. (Lucchesi, M. E. 2005). ont extrait des HE par SFME de trois herbes aromatiques: basilic, menthe et thym. Avec cette technique, ils ont isolé et concentré les composés volatiles en une seule étape, sans ajout de solvant ou d'eau. Les HE extraites sont plus riches en composés oxygénés, comparativement à la méthode conventionnelle. En fait, l'abondance des composés oxygénés dans l'HE est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes et à la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par réactions thermiques et hydrolytiques. Cette technique offre plusieurs avantages comme un temps d'extraction plus courts, une réduction de la quantité de solvant, une très bonne reproductibilité avec de bons rendements. Les HE obtenues par distillation ne représentent jamais exactement l'arôme et le parfum existants naturellement dans la plante. L'extraction assistée aux micro-ondes, une nouvelle technique innovante et écologique, peut permettre de résoudre certains problèmes de la distillation.

e) Extraction par fluide à l'état supercritique :

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des

conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait. La SFE est une technique dite « verte » utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation. (BOUKHATEM, M. N. 2019).

11.Méthode d'analyses chimique :

Parmi les méthodes d'analyses chimique, La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. Le couplage CPG-SM en mode impact électronique (IE), dit CPG-SM(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons, une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier, ainsi que celles élaborées de manière interne en laboratoire (Adams, 2001 ; Mc Lafferty et *al*, 1994).

LA PARTIE-2

EXPERIMENTALE

CHAPITRE : III

CHAPITRE :IV

Ce chapitre est consacré à la description du matériel biologique et l'ensemble des méthodes utilisés dans notre étude réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de biochimie à l'université Mentouri 1 Constantine et au sein du laboratoire de microbiologie à L'hôpital el Bir à Constantine pendant une durée d'un mois de l'année universitaire 2022. L'étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur quatre souches bactériennes.

1. Matériel :

1.1 Matériel végétal :

Ce travail est appliqué sur les feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltés de la réserve biologique de Djebel Ouahche à Constantine au mois de mars de l'année 2022.



Figure 10 : Réserve biologique de djebel ouahche.

Les échantillons sont séchés à l'ombre et à température ambiante pendant une semaine, puis soumis à distillation.

1.2 Préparation de l'échantillon (feuilles d'*Eucalyptus globulus*) :

Les feuilles matière végétale récoltée a été nettoyé, séché à l'ombre et à température ambiante pendant une semaine, après conservés dans un endroit jusqu'à son utilisation pour l'extraction des huiles essentielles.



Figure 11: Partie aérienne d'eucalyptus globulus après séchage et broyage

2 Extraction de l'huile essentielle :

Ñ Principe :

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utilisée (Mebarki,2010;Abdelli,2017).Le principe consiste à faire bouillir le mélange d'eau et de plantes pour lequel l'huile essentielle est souhaité extraire, les cellules végétales s'éclatent et libèrent des molécules odorantes, qui sont ensuite emportées par la vapeur d'eau générée ils passent dans un refroidisseur d'eau, où ils se condensent, qui sont ensuite collectés dans un récipient

Ñ Mode opératoire :

L'extraction des HEs d'*E. globulus* est réalisée par hydro-distillation pendant 3h et 30 min.

L'hydrodistillation a été accomplie à l'aide d'un dispositif de type Clevenger.

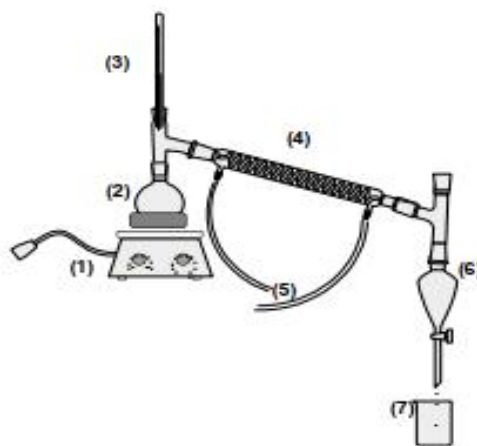


Figure 12 : Photographie du dispositif utilisé pour l'extraction des HEs par hydro distillation.(clevenger)

Dans un ballon de 2 L, une quantité du matériel végétal (100 g) est mise en contact direct avec 1000 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe

Chapitre III : Matériel et Méthodes

ballon. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité

L'huile essentielle est séparée de l'eau aromatique par décantation comme le montre la figure suivante :



Figure 13 : Photographie montrant la séparation des HEs par décantation.

L'HE ainsi obtenue est mise dans des flacons en verre sombre et conservés à 4°C jusqu'à son analyse.

Après extraction et la récupération, le volume de l'huile essentielle obtenu a été mesuré puis conservé dans un flacon en verre stérile. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière puis conservé dans un réfrigérateur à 4°C jusqu'à son usage pour l'activité antibactérienne.

3. Détermination du rendement en huile essentielle:

Les rendements en HEs ont été calculés par rapport au matériel végétal sec. C'est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

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

4. Evaluation de l'activité biologique :

L'étude de l'activité biologique a été réalisée au niveau de l'établissement public hospitalier el bir à Constantine, sur les quatre souches bactériennes référentielles « *Escherichia coli* référentielle, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *pseudomonas aeruginosa* » .

4.1. Souches bactériennes utilisées :

4.1.1. Bactéries à Gram positif :

➤ *Staphylococcus aureus* :

Famille des *Micrococcaceae*, *Cocci* à Gram positif de 0.5 à 1.5 µm de diamètre ils s'organisent en groupes et en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive.).

Elle a été identifiée de l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur en 1820 [monteil.H.avril J(1992)], [ferron. A 1976]. Les bactéries de l'espèce *S. Aureus* sont des cocci à gram positif de 0.5 à 1.5 µm de diamètre, les toxi-infections alimentaires à *S. Aureus* sont Pathogène le plus fréquent (infections nosocomiales), car ubiquitaire et virulent (**Pibiri, 2005**) et dues à l'ingestion d'aliments, et responsable d'un très grand nombre d'infections chez l'homme et l'animale, le plus souvent impliqués dans les infections cutanées muqueuses et digestives [Bereche.P, et al 1989].

4.1.2. Bactéries à Gram négatif :

➤ *Escherichia coli* :

Elle a été isolée pour la première fois par Escherich en 1885. Elle est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes [monteil.H.avril J(1992)]. Elle est actuellement la seule espèce homologuée du genre *Escherichia* [ferron. A 1976]. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire [monteil.H.avril J(1992)] [Bereche.P, et al 1989].

➤ *Klebsiella pneumoniae* :

Appartient au groupe : *Klebsiella* – *Enterobacter* – *Serratia* (K.E.S) (monteil.H.avril J(1992) (ferron. A 1976), (Bereche.P, et al 1989). Ce groupe rassemble des espèces bactériennes longtemps considérées comme commensales et actuellement des incriminées dans un grand nombre de complications infectieuses en milieu hospitalier (ferron. A 1976). Elles sont souvent multi résistantes aux antibiotiques.

➤ *Pseudomonas aeruginosa* :

C'est une Bacille à gram négatif, mobile à ciliature polaire mono triche, caractérisé par la pigmentation bleu, vert, sporule à température optimale 30 à 43°C répandue dans la nature, il vit dans l'eau et sur le sol. Nous le trouvons aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides : siphon de lavabos, savons liquides, humidificateur, solutions d'antiseptiques (chlorhexidine chlorure de benzalkonium et cétrimide).

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Pseudomonas aeruginosa fait partie de la flore de transit de l'homme, nous le trouvons dans le tube digestif et plus rarement dans la saline (FAUCHERE et AVRIL, 2002). Elle peut provoquer des infections, parfois sévères chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (AUCIEL et VILDE, 2005). Responsable d'infections cutanées (impétigo, Furoncles...etc.), d'infection de la sphère ORL (sinusites, otites... etc.) et infection divers (DELARRAS, 2007).

Les quatre souches ont été résumées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 2 : Souches bactériennes

Souches testées	Gram	ATCC
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille G-	ATCC700603
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille G-	ATCC27853
<i>Escherichia coli</i>	Bacille G-	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci G+	<u>ATCC25923</u>

4.2. Mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries :

Jusqu'à présent Le mode d'action des HEs sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé et il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée précise sur cette activité qui est principalement liée au type et des caractéristiques des composants volatils complexe, cette complexité nous expliquer que ce mode d'action est assez difficile à cerner du point de vue moléculaire. (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004 ; Guinoiseau,2010).

L'activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire ; Les molécules lipophiles des HEs sont capables de pénétrer et accumuler dans la double couche phospholipidique. L'accumulation entraîne un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire et donc perturbant, ainsi le transport membranaire des substances nutritives. Les HEs peuvent provoquer une perturbation dans le gradient ionique de la membrane cytoplasmique, bloquant la production de l'énergie cellulaire et diminuant la stabilité membranaire.

Les groupements fonctionnels de certains composés des HEs réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique. Certain composés inhiber la décarboxylation des acides aminés et d'autre inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides.

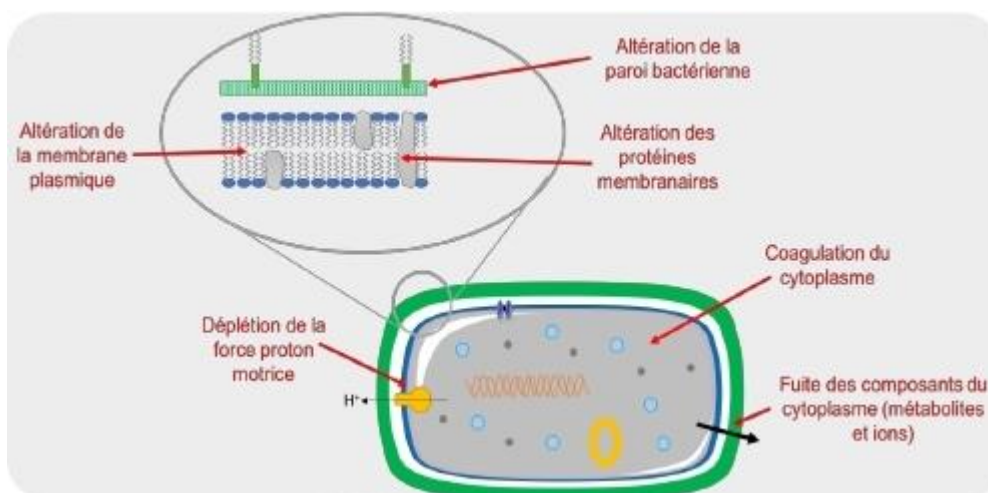


Figure 14 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (**Baser et Buchbauer, 2010**) .

5. Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des huilés essentielles :

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HES ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganismes ciblés et leur éventuelle adaptation aux HES (Maleky, 2010)

5. 1. L'effet de la matrice biologique :

Les propriétés antimicrobiennes des HES sont différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des HES. Ainsi les HES diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur les bactéries de la phase aqueuse (Bouguerra, 2012).

5. 2. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne :

Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des HES les plus couramment utilisées sont la 'méthode de diffusion dans l'Agar' et la 'méthode de dilution'. L'activité antimicrobienne des HES est différente selon la méthode suivie (Maleky, 2010).

5. 2.1. Méthode des aromatoigrammes :

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme. 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 consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antibactérienne de l'huile d'Eucalyptus globulus

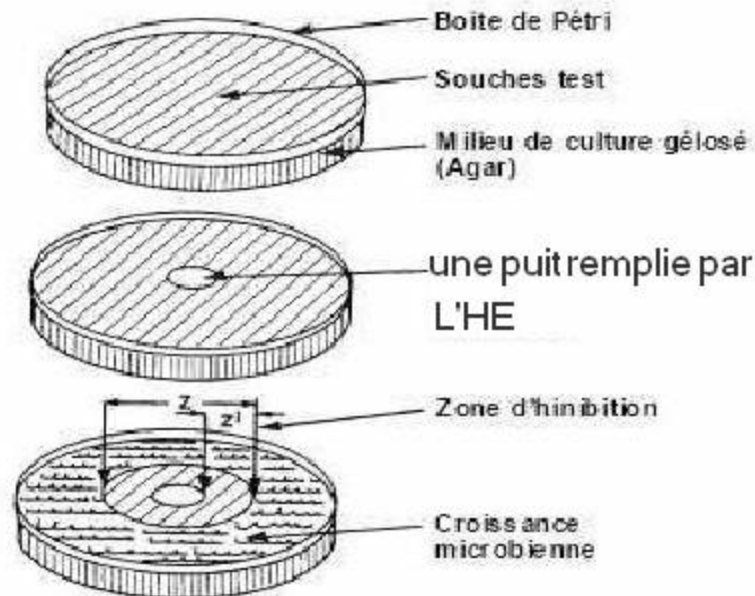


Figure 15: Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri (PIBIRI, 2005).

6. Protocoles d'étude de l'activité antimicrobienne :

6.2. Préparation de Milieu de culture :

Nous avons utilisé le milieu de Mueller Hinton (gélose riche en composés d'infusion de viande de bœuf, hydrolysate acide de caséine et amidon de maïs) pour les bactéries. La gélose Muller-Hinton (MH) est coulée en boîte de pétri sur épaisseur de 4 mm, sont pré-séchées avant l'emploi.

6.3. Préparation de l'inoculum et ajustement de la charge bactérienne :

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.

Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 5 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland qui correspond à 10⁸ UFC/ml (Tyagi et Malik, 2011) Pour les bactéries, l'inoculum est ajusté à 10⁸ cellules/ml (une DO de 0,08 à 0,1) par lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm.



Figure 16 A : Préparation d'inoculum - Prélèvement des colonies.



Figure 16 B : Préparation d'inoculum - Déchargement dans l'eau physiologique.



Figure 16 C : Préparation d'inoculum - L'enrichissement .



Figure 17 : Ensemencement des souches

6.4. Préparation des dilutions d'huile essentielle :

Pour pouvoir obtenir différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus, nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxyde), sachant que ce dernier n'a aucun pouvoir antibactérien puissant GACHKAR et al (2006).

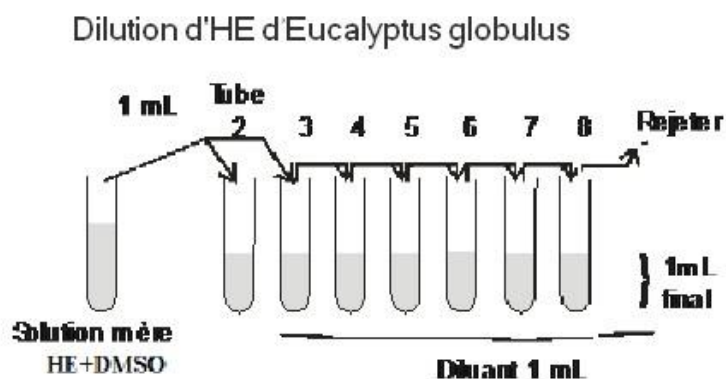


Figure 18 : Gamme de dilution d'HE.

6.5. Méthode de diffusion sur gélose (méthode de puits) :

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs.

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton agar (pour les bactéries) sont ensemencées aseptiquement par une suspension de 10^8 cellules/ml qui provient d'une culture jeune de bactéries respectivement. L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée à l'aide d'une pipette Pasteur. Les cavités

Chapitre III : Matériel et Méthodes

ainsi formées sont remplies de la solution aqueuse de l'extrait (environ 10 μ L par puits). Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (ELA et coll.,1996)

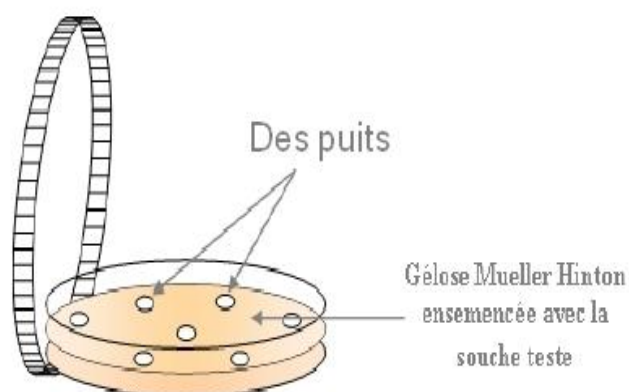


Figure 19 : méthode de puits

7.Détermination de CMI (Concentration minimal Inhibitrice) :

sur milieu solide Cette méthode permet la détermination de la CMI à partir d'une gamme de concentrations de la substance antimicrobienne en milieu solide. Les essais de détermination de la CMI sont effectués selon la méthode de dilution standard sur milieu Mueller Hinton agar gélosé. Des séries de dilutions des solutions aqueuses de L'HE d'*Eucalyptus globulus* (100, 50, 25,12 .50, 6.25) mg/ml sont réalisées. 2 ml de chaque dilution est ajouté à 18 ml des milieux gélosés maintenus en surfusion. Le mélange est immédiatement agité et versé dans la boîte Pétri et laissé à refroidir. Des spots de 2 μ L d'un inoculum standardisé à 10^8 cellules/ml sont déposés sur la surface des boîtes Pétri qui contiennent les différentes concentrations. Les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C. La CMI de l'extrait est définie à partir de la première boîte de la gamme dépourvue de croissance microbienne (NCCLS, 1999).

8.Détermination de la composition chimique :

L'analyse de la composition chimique d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse pour la détermination de leur composition chimique et l'identification de leur chimio type.

8.1. Principe de la Chromatographie phase gazeuse - Spectrométrie de masse :

En chromatographie en phase gazeuse (CPG), l'échantillon est vaporisé et injecté au sommet de la colonne, l'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile (LAVERDIERE et al., 1999).

Le principe de séparation repose sur une différence de répartition des composés d'un mélange entre deux phases, la phase stationnaire (imprégnée dans la colonne). Les composants du mélange injecté dans la colonne sont poussés dans celle-ci par le gaz vecteur interagissant différemment avec la phase stationnaire et de ce fait leur progression dans la colonne ne se fera pas à la même vitesse. Ce phénomène d'interaction provoque ainsi la séparation des constituants du mélange. Un système de détection adéquate en sortie de colonne permet de créer un signal qui est enregistré sous forme de pics chromatographiques .

En soumettant une HE à la GC/MS, nous déclenchons un processus à plusieurs étapes :

- Ionisation des molécules qui se volatilisent sous l'effet de la haute température ;
- Accélération des ions formés qui se dirigent vers le dispositif de séparation.
- Traitement du signal de sortie de l'appareil ce qui conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports m/z .

La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « banques de données » de référence permet son identification (DE MAACK et al., 1997).

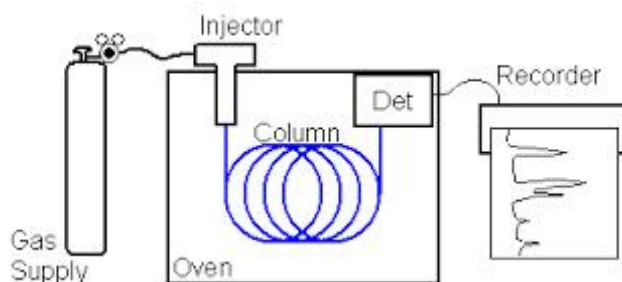


Figure 20 : Appareillage CPG

8.2. Elaboration des profils chromatographiques :

8.2.1. Préparation des échantillons pour essai :

Une quantité de $0.2\mu\text{l}$ d'HE est prélevée et injectée dans l'appareillage pour déclencher les procédures d'analyse.

8.2.2. Conditions opératoires de la GC/ MS :

Les analyses chromatographiques des HE ont été effectuées sur un CPG type HP (Agilent technologies) 6800 plus couplé avec un SM (Agilent technologies) MSD 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire hp-5 MS (30 m x 0,25 mm), épaisseur film 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C.min⁻¹. Le gaz vecteur est l'hélium pureté N6 dont le débit GV est fixé à 0,5 ml. min⁻¹. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse NIST 98 et piloté par un logiciel « HP Chem Station ». Ceci permettra l'identification des constituants aromatiques de l'HE.

1. Rendement d'extraction d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* :

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage de la matière végétale. Il est variable selon différents facteurs comme le séchage de la matière végétale, le broyage et la durée d'extraction. On peut calculer le rendement à l'aide de l'équation suivante :

$$R = \frac{0.870}{100} \times 100$$


Le rendement d'huile essentielle de 100g d'eucalyptus est : 0.87 %.

Sachant que 0.870g c'est le poids des HE extraire du notre plante, et 100g poids de la plante après séchage.

2. Caractères Organoleptiques d'HE d'*Eucalyptus globulus* :

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : caractéristique organoleptique de l'huile essentielle d'*eucalyptus globulus*

	Aspect	Couleur	Odeur
Notre huile 	liquide	Jaune foncé	fraiche et épicée

3. Etude de l'activité antibactérienne :

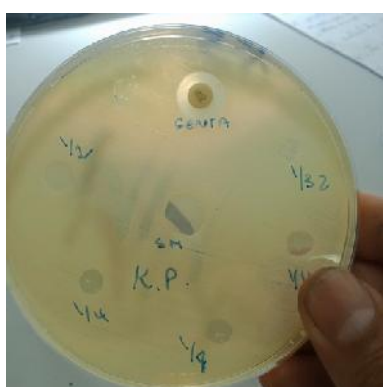
3.1 Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne :

L'évaluation qualitative de l'activité antimicrobienne de notre huile essentielle a été faite sur quatre bactéries, par la méthode des aromagrammes. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm). Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observée autour des puits l'huile essentielles (solution mère, et leurs dilutions après 24 h d'incubation à 37C° présenté par les figures (A ,B ,C,D), ainsi que leurs pourcentages d'inhibitions sont résumés dans les tableaux (4 et 5).

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Tableau 4: Valeur des diamètres moyens de la zone d'inhibition et le pourcentage d'inhibition d'HE de d'Eucalyptus globulus vis-à-vis des quatre bactéries

	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif gentamycine	HE (SM)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/8)	HE (1/16)	HE (1/32)
Escherichia-coli	-	30mm	25	20	20	12	8	7
Staphylococcus aureus	-	25mm	15	15	7	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	-	17	16	16	10	10	10	-
Pseudomonas aeruginosa	-	17	14	12	13	10	10	-



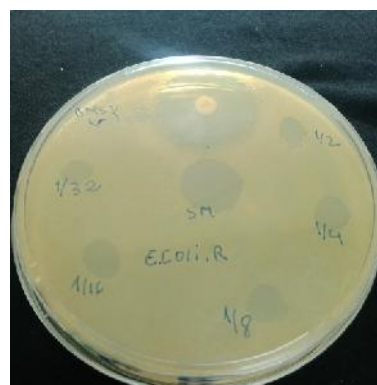
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 21 : Photographie montrant l'action d'EH d'E.globulus sur les souches bactériennes : (a) *P. aeruginosa*, (b) *E. coli*, (c) *K. pneumoniae*, (d) *S. aureus*.

Selon Ponce et al, (2003) L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et classé comme suit :

- Extrêmement sensible (+++) : plus de 20mm
- Très sensibles (++) : de 15mm à 19mm
- Sensibles (+) : 8 mm à 14mm
- Non sensibles (-) : moins de 8 mm

Pour chaque boîte la mesure de la zone d'inhibition indique la sensibilité de ces germes, nous avons deux actions proposées à se produire :

- Soit une action bactéricide où nous ne remarquons aucune croissance microbienne autour des puits.
- Soit une action bactériostatique, dont il y'a des zones d'inhibition autour des puits disposés sur la surface de milieu de culture ; Seules les bactéries montrant une sensibilité à nos huiles essentielles sont sélectionnées.

Tableau 5 : Transcription des diamètres d'inhibition des dilutions huile essentielle de plante Eucalyptus.

Concentration bactérie	Témoin négatif (DMSO)	Témoin positif gentamycine	HE (pur)	HE (1/2)	HE (1/4)	HE (1/8)	HE (1/16)	HE (1/32)
Escherichia-coli	-	+++	+++	+++	+++	+	-	-
Staphylococcus aureus	-	+++	++	+	+	-	-	-
Klebsiella pneumoniae	-	++	++	++	+	+	+	-
Pseudomonas aeruginosa	-	++	++	++	++	+	+	-

D'après les résultats représentés dans les Tableaux (4 et 5) et les figures (A.B.C.D) nous constatons que l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus a une très bonne activité antibactérienne

Nous constatons aussi que *E.coli* et *Klebsiellapneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les souches les plus sensible parmi les souches testés, et d'après l'échelle de mesure de l'activité antibactériennes des HE on dit que la SM montre une action extrêmement sensible de la croissance de *E.coli* (Gram -) mais son action devient très sensible pour *Staphylococcus Aureus* (Gram +) et *Klebsiellapneumoniae* et *Pseudomonas*

L'analyse comparative des effets des HEs et de l'antibiotique a révélé une sensibilité de *E. coli* et *Klebsiellapneumoniae* et *Pseudomonas* pour la gentamycine, qui inhibe la synthèse des protéines. En effet, les bactéries à Gram - et à Gram+ sont sensibles à la gentamycine (Marquet, 2004) pourrait être du au même mode d'action de la gentamycine sur les bactéries Gram-.La variation de l'activité antimicrobienne des agents antibactériens pourrait s'expliquer par des différences structurelles entre les bactéries (Rather et al., 2012)

3.2. Détermination des CMI :

Les résultats des CMI sont montrés dans le tableau suivant :

Tbleau 6 :CMI de l'EH d'*Eucalyptus globulus* sur les souches bactériennes testée.

Concentration		OBSERVATION
Solution mère (SM)	100mg/ml	Absence de bactérie
(C1) dilué (1/2)	50mg/ml	Absence de bactérie
(C2) dilué (1/4)	25mg/ml	Présence de bactérie <i>Staphylococcus Aureus</i>
(C3) dilué (1/8)	12.5mg/ml	Présence de Bactériee <i>Staphylococcus Aureus</i>
(C4) dilué (1/16)	6.25mg/mlCMI	Présence de Bactérie <i>E.coli</i> et <i>Staphylococcus Aureus</i>

La valeur la plus faible de CMI est observée pour l'HE sur *Staphylococcus Aureus* qui est de 25 mg /mL et sur *E.coli* qui est de 6.25mg/ml. Ces valeurs montrent que les bactéries à Gram+ sont plus sensibles aux HEs que les bactéries à Gram-,

Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à Gram positif possèdent uniquement le peptidoglycane qui ne constitue pas une véritable barrière sélective de ces composés (Tyagui et Malik, 2011; Raho et Benali, 2012).

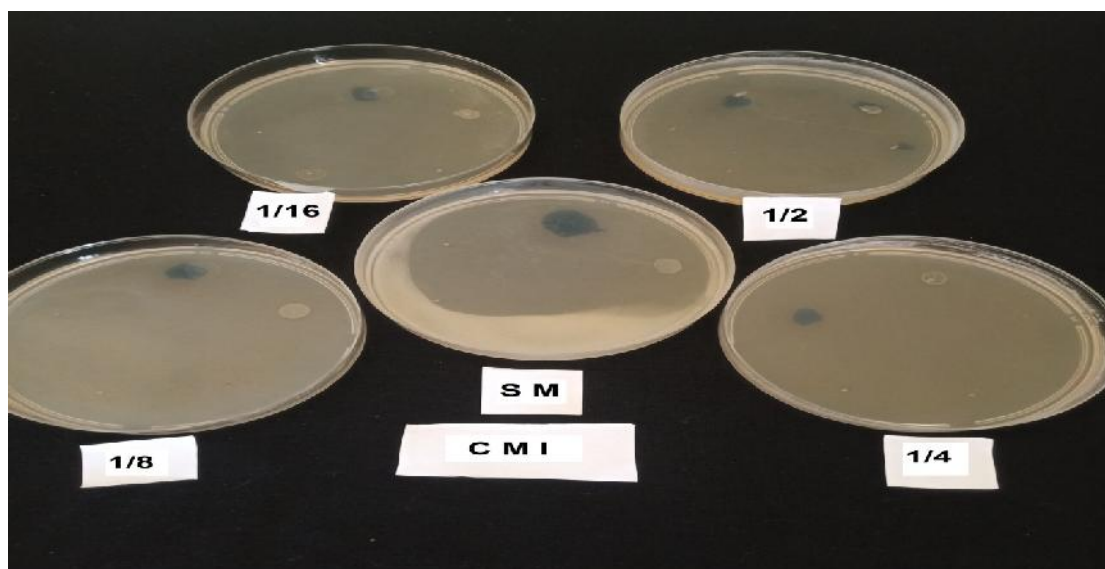


Figure22:Photographie montrant la CMI à partir d'une gamme de concentrations d'huile essentielle



CONCLUSION

CONCLUSION

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'une plante médicinale aromatique locale de la réserve biologique de djebel ouahche à Constantine qui est *Eucalyptus globulus* sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'extraction d'huile essentielle par l'hydro distillation a montré un rendement de 0.87% sur 100g des feuilles sèches de notre échantillon (*Eucalyptus globulus*). Ce résultat est satisfaisant, sachant que cette technique a le désavantage d'être longue et les rendements qui

en découlent sont généralement très faibles. Les huiles d'*Eucalyptus globulus* ont une couleur jaune foncé, une odeur fraîche forte « odeur d'une baume, camphrée » avec un aspect liquide.

Cependant, D'après les résultats obtenus, ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes avec les concentrations : 100mg ,50mg, 25mg ,12.5mg. D'après les résultats, la CMI des huiles essentielles de notre plante pour *S.aureus* et *E.coli* sont 25 mg/ml et 6.25 mg/mL respectivement. Les résultats de CMI effectués sur *P.aeruginosa* et *klebsiella pneumoniae* sont négatifs. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* s'est avérée dotée des propriétés bactériostatiques. Qui pourraient constituer une alternative à l'usage des antibiotiques conventionnels devenus inefficaces. Toutefois, les méthodes *in vitro* utilisées pour confirmer l'activité antibactérienne des différents extraits sont insuffisantes et nécessitent d'autres tests supplémentaires plus avancées tels que l'étude de l'activité antibactérienne *in vivo*.

En perspective, nos résultats obtenus restent préliminaires et mérites d'être exploités de déterminer les différents composants de notre HEs , en utilisant la CPG couplée à une spectrométrie de masse .

Cette opportunité ouvre la voie vers la mise en valeurs de la plante et ces dérivés dans le développement économique durable et dans la création de la richesse renouvelable dans notre pays. Elle permet aussi la mise en valeur de l'exploitation des HE dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques en raison de leur composition chimique.

RESUME

Les huiles essentielles de la plante aromatique (*Eucalyptus globulus*) provenant de la région de Draaenaga à Djabel el ouahche de la wilaya de Constantine fait l'objet de notre travail. L'extraction des huiles essentielles à partir de 100g des feuilles d'*Eucalyptus globulus* par hydrodistillation à la vapeur a donné un rendement de 0,87%.

Le pouvoir antibactérien de ces huiles a été évalué sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus, ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes étudiés avec les différentes concentrations : 100mg ,50mg, 25mg ,12.5mg. La CMI des huiles essentielles de notre plante est de 25 mg/ml pour *S.aureus* et 6.25 mg/ml pour *E.coli*. Les résultats de CMI effectués sur *P.aeruginosa* et *klepsiella pneumoniae* sont négatifs. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* s'est avérée dotée des propriétés bactériostatiques

Mots clés :

Eucalyptus globulus , Huiles essentielles, activité antibactérienne.

ABSTRACT

The essential oils of the aromatic plant (*Eucalyptus globulus*) from the Draaenaga region in Djabel el ouahche of the wilaya of Constantine is the subject of our work. The extraction of essential oils from 100g of *Eucalyptus globulus* leaves by steam hydrodistillation gave a yield of 0.87%.

The antibacterial power of these oils was evaluated on four bacterial strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results obtained showed an antibacterial effect on all the bacterial strains studied with the different concentrations: 100mg, 50mg, 25mg, 12.5mg. The MIC of the essential oils of our plant is 25 mg/ml for *S.aureus* and 6.25 mg/ml for *E.coli*. The MIC results performed on *P.aeruginosa* and *klepsiella pneumoniae* are negative. *Eucalyptus globulus* essential oil has been shown to have bacteriostatic properties

Key words :

Eucalyptus globulus, Essential oils, antibacterial activity.

إن الزيوت العطرية للنبات العطري (*Eucalyptus globulus*) بولاية قسنطينة هي موضوع عملنا. أعطى استخلاص الزيوت العطرية من 100 الكافور بواسطة التقطير المائي بالبخار عائداً قدره 0.87 .

تم تقييم القوة المضادة للبكتيريا لهذه الزيوت على أربع سلالات بكتيرية *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa* *Klebsiella pneumoniae* *Staphylococcus aureus* النتائج التي تم الحصول عليها وجود تأثير مضاد للجراثيم على جميع السلالات البكتيرية المدروسة بتركيزات : 100 50 25 12.5 . MIC للزيوت الأساسية لنباتنا هو 25 /

للبكتريا العنقودية البرتقالية و 6.25 / مل للإشريكية القولونية. MIC التي أجريت على *klebsiella pneumoniae* *P.aeruginosa* كانت سلبية. لقد ثبت أن زيت الأوكالبتوس الكروي الأساسي له خصائص جراثيم.

مفتاحي :

أوكالبتوس كروي ، زيوت عطرية ، نشاط مضاد للجراثيم.



REFERENCES

REFERENCES

REFERENCES

- Abdelli W., (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle LMD : Microbiologie Appliquée : Université Abdelhamid IbnBadis Mostaganem, 104p
- Adams, R.P.** Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Quadruple Mass Spectroscopy. Allured: Carol Stream, IL; 2001.
- Adouani, L., Merghadi, I., & Mosbah, C. (2021).** Etude des activités biologiques des extraits et l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.
- AFNOR.** « Recueil de normes : les huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris ; 2000, Tome 2:661-3.
- AFNOR.** Huiles essentielles - règles générales concernant les caractéristiques des récipients destinés à contenir des huiles essentielles et recommandations pour leur conditionnement et leur stockage - NF T75- 001. Association française de normalisation; 1996.
- AFNOR.** Huiles essentielles - règles générales d'étiquetage et de marquage des récipients - NF T75-002. Association française de normalisation; 1996
- AFNOR., 2000.** Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse ». AFNOR, Paris, 440 p.
- Allain YM.** D'où viennent nos plantes. Calmann-Levy. 2004. 224 p
- Atmani-Merabet, G.** Huiles essentielles de trois espèces d'*Eucalyptus* d'Algérie : composition et activité acaricide (*Varroa destructor*). Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine 1 ; Algérie ; 2018.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.** Biological effects of essential oils: A review. Food Chem Toxicol. 2008; 46: 446-475.
- Banthorpe, D.V.; Charlwood B.V.; Dey, P.M; Harborne, J.B.** Methods in plant biochemistry. Vol. 7. London : Academic Press, 1991, p 43-98.
- Baudoux D.** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, volume 5 : grossesse. Amyris. 2006. 316 p.
- Berche. P, Gaillard. JL, Simonet. M (1989)** : Bactériologie les bactéries des infections Humaines. Edition Flammarion 1^{ère} éd. Paris.
- Bertrand B.** L'herbier boisé : histoires et légendes des arbres et arbustes. Plume de carotte. 2007. 195 p

REFERENCES

- Besombes C., 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. These de doctorat, université de La Rochelle. 289p.
- Botineau M.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Tec&Doc. Paris; 2010. 1335 p.).
- Botineau, M. (2010).** *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Tec & doc.
- Boudy,P.** Économie forestière nord - africaine.Ed. Masson et cie, Paris, 1955, Tome IV. p 826.
- Bouguerra A.(2012).** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite desgraines de Foeniculum vulgare Mill. en vue de son utilisation comme conservateuralimentaire .Memoire de Magister en Sciences Alimentaires .Université Mentouri Constantine
- BOUKHATEM, M. N., FERHAT, A., & KAMELI, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653-1659.
- Brosse, J. (2000).** Larousse des arbres et des arbustes. Larousse.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. English.
- Bruneton, J.** Pharmacognosie : Phytochimie ; Plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier Paris : Technique et Documentation et Editions médicales internationales, 1999; p : 1120.
- Bruneton. J (1999)** : Pharmacognosie Photochimie plantes médicinales. Édition Lavoisier Technique & Documentation, Paris.)
- Burt S.,(2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*. 94: 223-253.
- Carson C.F., Mee B.J., Riley T.V.,(2002).**Mechanism of action of Melaleucaalternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureusdetermined by time-kill, lysis,leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents andChemotherapy* 46: 1914–1920
- Cerasoli, S., Caldeira, M. C., Pereira, J. S., Caudullo, G., & De Rigo, D. (2016).** Eucalyptus globulus and other eucalypts in Europe: distribution, habitat, usage and threats. *European atlas of forest tree species*. Publishing Office of the EU, Luxembourg.
- Cervantes-Ceballos, L., Caballero-Gallardo, K., & Olivero-Verbel, J. (2015).** Repellent and anti-quorum sensing activity of six aromatic plants occurring in Colombia. *Natural Product Communications*, 10(10), 1934578X1501001030.
- Daroui-Mokaddem H. (2012).** Etude phytochimique et biologique des especes Eucalyptusglobulus (Myrtaceae), Smyrnum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et

REFERENCES

- chrysanthemum trifurcatum (asteraceae).Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée.Universite Badji Mokhtar-Annaba.P8,14, 28
- Daroui-Mokaddem Habiba .(2012)** . Etude phytochimique et biologique des especes Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrniolumolusatrum (Apiaceae), Asteriscusmaritimus ET Chrysanthemumtrifurcatum (Asteraceae).pp30-37.
- DE MAACK F et SABLIER M., 1997.** Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. P 2614, Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation
- Deschepper, R. (2017).** *Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie* (Doctoral dissertation).
- Dorman H.J.D., Peltoketo A., Hiltunen, R., Tikkanen M.J., (2003).**Characterisationof the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceaeherbs. Food Chem. 83: 255-262.
- Evans, W.C.; Trease, G. E.** Trease and Evan's Pharmacognosy.14thedition. London: W.B. Saunders, 1996.
- Farhat, A. (2010).** *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application* (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- FAUCHERE J., et AVRIL J., 2002.** Bactériologie générale et médicale. Elleipses Edition Marketing, ISBN : 2- 7298, 0747-0
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., Smadja, J., & Chemat, F. (2006).** An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 121-126.
- Ferron. A (1976)** : Bactériologie à l'usage des étudiants en médecine G ROQUES. 8émé MASSON.
- Filly, A., Fernandez, X., Minuti, M., Visinoni, F., Cravotto, G., & Chemat, F. (2014).** Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: from laboratory to pilot and industrial scale. *Food chemistry*, 150, 193-198.
- Foudil-Cherif, Y. (1991).** Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'eucalyptus globulus labill et camaldulensis (Doctoral dissertation, Alger)
- GACHKAR L., YADEGARI D., REZAEI M.B., TAGHIZADEH M., ASTANEH S.A., et RASOOLI I., 2007.** Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food Chem., 102: pp.898-904
- Ghedira, K., Goetz, P., & Le Jeune, R. (2008).** Eucalyptus globulus Labill. Phytothérapie, 6(3), 197-200.

REFERENCES

- Giordani R., Hadeff Y., Kaloustian J., (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79: 199-203.31. Goetz P et Ghedira K., (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194.
- Guenther E., 1948.** *The Essential Oils* -: D. Van Nostrand Co., New York, N.Y., 456p.
- Guignard J.L., 2000.** *Biochimie végétale*. 2ème Ed. De l'abrégé Dunod , Paris, pp.177-185.
- Guinoiseau E., (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse.
- <https://wikimemoires.net/2021/01/plantes-medicinales-eucalyptus-et-eucalyptusglobulus/>
- <https://www.achat-vente-palmiers.com/fr/eucalyptus/2979-eucalyptus-globulus.html>
- <https://www.aujardin.info/plantes/eucalyptus-globulus.php>
- <https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-eucalyptus-8065/>
- <https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/>
- Hurtel, J.M.** Noix de muscade, *Myristica fragrans*, fiche médicale sur cette épice Aphrodisiaque et son huile essentielle antiseptique, phytomania : phytothérapie, plantes Médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Phytomania. com. 2006.
- Kalemba D., Kunicka A., (2003).** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10: 813-829.
- Kesbi, A.** Etude des propriétés physico chimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* dans la région de Ouargla. Mémoire de fin d'études. Université Kasdi Merbah, Ouargla, Algérie ; 2011.
- Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., & Polissiou, M. G. (2006).** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics sonochemistry*, 13(1), 54-60.
- Koziol, N. (2015).** *Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora: qualité, efficacité et toxicité* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Kurkin, A.** *Chem. Nat. Compd.* 2003, p 39,123.
- Laurain-Mattar, D. (2018).** Critères de qualité des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 57(580), 18-20.
- LAVERDIERE F., HOLSTEIN A., THIEBAUT L., MALLEE R., GRAVEJAT G., DESCLOZEAUX B., 1999.** Les principales méthodes d'analyse. Dossier couplage. Centre sciences des processus industriels et naturel (SPIN). 51p.

REFERENCES

- Lucchesi, M. E. (2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles (Doctoral dissertation, Université de la Réunion).
- Malecky M.(2008).**Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie) .Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement(AgroParisTech)
- Mayer, F. (2012).** *Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: Etude de cas en maison de retraite* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Mc Lafferty, F.W.; Stauffer, D.B.**Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed., Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10d. Palisade Co.: Newfield; 1994.
- Mebarki N., (2010).**Extraction de l'huile essentielle de Thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse –antimicrobienne. [En ligne]. Magister : Génie des procédés chimiques et pharmaceutiques Boumerdes: Université M'hamed BougaraBoumerdes,137p
- Mehani M.,(2015).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camaldulensis dans la région d'Ouargla. [En ligne]. Thèse de doctorat: Microbiologie
- Monteil. H, Avril. J (1992) :** Bactériologie chimique. 2^{ème} Ed. MarKeting. Paris.
- Norme AFNOR.** Les huiles essentielles. NFT75-001. Paris: AFNOR 1996.
- Norme ISO.** Matière premières d'origine naturelle. ISO 9235. 1997.
- Pauline Erau.(2019).**L'Eucalyptus : botanique , composition chimique , utilisation thérapeutique et conseil à l'Officine.these de DOCTEUR EN PHARMACIE. LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE pp 40-77.
- Pibiri M-C., (2005).**Assainissement microbiologique de l'aire et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse N °3311, Lausanne Suisse.
- Ponce A.G., Fritz R.,DelvalleC., Roura S.I., (2003).**Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. LebensmittelWissenschaft and Technologic 36:679-684
- Rather M.A., Dar B.A, Dar M.Y, Wani B.A, Shah W.S., Bhat B.A., Ganai B.A., BhatK.A, Anand R., Qurishi M.A(2012).** Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the leaf essential oil of Juglans regia L. and its constituents.Phytomedicine19//1185– 1190

REFERENCES

- Razafindrakoto, 1988.** Teneurs en isotopes stables des précipitations et des eaux souterraines et leurs variations en France. Thèse de doctorat en Géologie appliquée. Hydrogéologie, Avignon).
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G., 2005.** - Chemical composition activity of *Rosmarius officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection*. 68: 790-795.
- Trabut, M. L. (1914).** Naturalisation d'un Eucalyptus en Algérie: Eucalyptus algeriensis Trab. Bulletin de la Société Botanique de France, 61(5), XIII-XIV.
- Tyagi A.,Malik A.**Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulosoil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.Food Chemistry 126(2011) 228–235
- Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H., ... & He, H. (2006).** Improved solvent-free microwave extraction of essential oil from dried Cuminum cyminum L. and Zanthoxylum bungeanum Maxim. *Journal of Chromatography A*, 1102(1-2), 11-17.
- Zhiri A., Mayaud L., Bouhdid S., Baudoux D, Abrini J, Aubert G(2010).** Evaluation del'activité bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles visà-vis des souches d'origineclinique résistantes aux antibiotiques.Congres Francophone de Phytothérapie – Beyrouth.

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : Djendli sabiha

Bouali leila

Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante
médicinale "*Eucalyptus globulus*".

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliqué

Résumé

Les huiles essentielles de la plante aromatique (*Eucalyptus globulus*) provenant de la région de Draaenaga à Djabel el ouahche de la wilaya de Constantine fait l'objet de notre travail. L'extraction des huiles essentielles à partir de 100g des feuilles d'*Eucalyptus globulus* par hydrodistillation à la vapeur a donné un rendement de 0,87%.

Le pouvoir antibactérien de ces huiles a été évalué sur quatre souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats obtenus, ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes étudiés avec les différentes concentrations : 100mg ,50mg, 25mg ,12.5mg. La CMI des huiles essentielles de notre plante est de 25 mg/ml pour *S.aureus* et 6.25 mg/ml pour *E.coli*. Les résultats de CMI effectués sur *P.aeruginosa* et *klepsiella pneumoniae* sont négatifs. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* s'est avérée dotée des propriétés bactériostatiques.

Mots-clefs : *Eucalyptus globulus* , Huiles essentielles, activité antibactérienne.

Laboratoires de recherche : Laboratoire de Biochimie appliquée (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mme. Teniou S (M-A-A - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme. klibet F (M-C-B- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mr. Mokrani E.H (M-C-B - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

