

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. M. OULHADJ - Bouira
Faculté des Sciences et des Sciences Appliquées
Département de Génie des Procédés



Mémoire

Présenté par

YAHIAOUI Sofiane

ZOUAOUI khalil

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière: GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Génie chimique

**Etude des effets anti microbiennes et anti
oxydants de l'huile essentielle de l'eucalyptus
globulus**

Soutenu le 22 /07/ 2019

Devant le jury composé de :

M. LOUNICI Hakim	Professeur	UAMO, Bouira	Président
M ^{me} ZAABAR	MCB	UAMO, Bouira	Examinatrice
M ^{me} ARBIA Lila	MCB	UAMO, Bouira	Examinatrice
M ^{me} GUEDOUARI Ratiba	MAA	UAMO, Bouira	Promotrice

Remerciement

C'est avec grand plaisir que nous réservons ces quelques lignes en signe de gratitude et de profonde reconnaissance à L'égard de tous ceux qui nous ont aidés à La rialisation de notre projet de fin d'étude.

En premiere Lieu, nous tenons à louange à Dieu le tout puissant, de nous Avoir aidé à realiser ce travail Nous tanons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Guedouari ratiba pour son suivi durant la période de préparation de notre mémoire son aide et ses conseils qui nos ont été très précieux .

Nous exprimons nos plus sincères remerciements à tous nos enseignants qui ont Contribué à ma formation tout au long de notre parcours scientifique et à tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce travail. Nous remercions profondément tous les enseignants du département génie procédès Finalement nous remercions chaleureusement tous les membres du jury pour leur Participation à la révision de nous travaux.

DÉDICACE

**JE DÉDIE CE TRAVAIL QUI N'AURA JAMAIS PU VOIR LE JOUR SANS LES
SOUTIENS INDÉFECTIBLES ET SANS LIMITE DE MES CHERS PARENTS
QUI NE CESSENT DE ME DONNER AVEC AMOUR LE NÉCESSAIRE POUR
QUE JE PUISSE ARRIVER À CE QUE JE SUIS AUJOURD'HUI. QUE DIEUX
VOUS PROTÈGE ET QUE LA RÉUSSITE SOIT TOUJOURS À MA PORTÉE
POUR QUE JE PUISSE VOUS COMBLER DE BONHEUR.**

JE DÉDIE AUSSI CE TRAVAIL À :

MES GRANDS-PARENTS.

MON FRÈRE, MES SŒURS ET LEUR FAMILLE.

MES ONCLES, MES TANTES ET LEUR FAMILLE.

TOUS MES COUSINS ET COUSINES.

TOUS MES AMIS, MES COLLÈGUES ET TOUS CEUX QUI M'ESTIMENT.

KHALIL

DÉDICACE

JE DÉDIE CE TRAVAIL QUI N'AURA JAMAIS PU VOIR LE JOUR SANS LES SOUTIENS INDÉFECTIBLES ET SANS LIMITE DE MES CHERS PARENTS QUI NE CESSENT DE ME DONNER AVEC AMOUR LE NÉCESSAIRE POUR QUE JE PUISSE ARRIVER À CE QUE JE SUIS AUJOURD'HUI. QUE DIEUX VOUS PROTÈGE ET QUE LA RÉUSSITE SOIT TOUJOURS À MA PORTÉE POUR QUE JE PUISSE VOUS COMBLER DE BONHEUR.

JE DÉDIE AUSSI CE TRAVAIL À :

MES GRANDS-PARENTS.

MON FRÈRE, MES SŒURS ET LEUR FAMILLE.

MES ONCLES, MES TANTES ET LEUR FAMILLE.

TOUS MES COUSINS ET COUSINES.

TOUS MES AMIS, MES COLLÈGUES ET TOUS CEUX QUI M'ESTIMENT.

SOFLANE

La liste des Figures :

Chapitre I :

Figure1:Montage-dentrainement a la vapeur d'eau .

Figure2:Montage-hydrodistillation.

Figure3 :Monatage-extraction par micro-ondes.

Chapitre II :

Figure4 :Structure chimique d'HE 1,8cinèole et globulol.

Figure5 :Photographie d'aucalyptuse globulus.labill.

Chapitre III :

Figure6 : schéma gènèrale du travail expèrimental.

Figure7 : Montage d'hydrodistilation.

Figure8 : Figure montrant la sèparation de la phase aqueuse et la phase organique.

Figure9 : Les cinqe champignons testès.

Figure10: Methode de diffusion sur disque.

Figure11:Structure chimique du DPPH• et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.

Figure12:Matériels et produits utilisès.

Chapitre IV :

Figure 13: figure montre les rèsultats des test des alcaloides ,coumarineset mucilage.

Figure14:figure montre le rèsultat d'indice de mousse.

Figure15 :HEs de eucalyptus globulus.

Figure16: L'etude cinètique dèextraction.

Figure17:Lèffet de HEs de eucalyptus globulus sur les bactèries.

Figure18: Lèffet de HEs de eucalyptus globulus sur les champignons.

Figure19 :Graphe montre lètude cinètique de lèinhibition par apport a la concentration.

Liste des Tableaux :

Chapitre II :

Tableau 1 : Classification dans la systématique botanique.

Tableau 2. Composition de l'HE d'Eucalyptus globulus.

Chapitre IV :

Tableau 3 : Résultats des tests alcaloïde et coumarine.

Tableau 4 : Résultats de test de mousse.

Tableau 5 : Résultat de test perte a la dessiccation.

Tableau 6: Résultats de test de dosage des cendres, cendres sulfurique et chlorhydrique.

Tableau 7 : Résultats de la cinitique et rendement de HEs E.globulus ..

Tableau 8 : Valeur d'indice de réfraction et de densité.

Tableau 9 : Résultats des tests d'acide et d'ester.

Tableau10 :Résultats de l'activité anti microbienne

liste des abréviations

HEs :huile essentiel.

DPPH :diphenylpicrylhdrozone.

E-globulus :eucalyptus.

% :pourcentage.

ml :mèlilitre.

Min :minute.

Cm :centimetre.

KOH : potasse caustique.

HCL : l'acide chlorhydrique.

C° :degrè cilcuse.

H₂SO₄ : L'acide sulfurique

H :heure.

P_d :perte a la dissication .

Sommaire

Introduction.....	P01
Chapitre I: Généralités sur les huiles essentielles.	
I.1 .Historique des huiles essentielles.....	P02
I.2 .Définition des huiles essentielles.....	P02
I.3 .Rôle des huiles essentielles dans la plante	P03
I. 4 .Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante	P03
I.5 .Techniques d'extractions des huiles essentielles.....	P04
a) Entraînement à la vapeur (hydro diffusion).....	P04
b) Hydro distillation.....	P04
c) C) Micro-ondes	P05
I. 6. Composition chimique des huiles essentielles	P06
I.7.Facteurs influençant la composition des huiles essentielles	P06
a) L'espèce botanique	P06
b) Le chémotype.....	P06
c) Le cycle végétatif	P06
d) La période de récolte	P07
e) L'organe végétal	P07
f) Les facteurs extrinsèques	P07
g) Les procédés d'obtention	P07
I .8. Les classes chimiques des huiles essentielles	P07
a)Les terpenoïdes	P08
b)Les composés aromatiques	P08
c)Les composés d'origine diverse	P08
I .9.Propriétés des huiles essentielles	P08
I .10. Domaine d'utilisation des huiles essentielles	P09

Chapitre II: les eucalyptus.

II. 1. Définition eucalyptus.	P11
II. 2. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae	P11
II. 3. Propriétés thérapeutique du genre Eucalyptus.....	P12
II. 4. Principaux composants chimiques du genre Eucalyptus	P12
II. 5. Description d'Eucalyptus globulus	P13
II.5.1. Classification dans la systématique botanique	P13
II.6. Huile essentielle d'Eucalyptus globulus	P14
II.6.1. Propriétés médicinales	P14
II.6.2. Utilisation des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus.	P15
II.6.2 .1. Utilisation interne	P15
II.6.2 .2. Utilisation externe	P15
II.6.3. Conservation.....	P16
II.7. Travaux antérieurs sur les HE de l'espèce Eucalyptus globulus.....	P16

Chapitre III. Matériels et méthodes.

III.1. Buts et objectifs	P18
III.2. Préparation des feuilles d'Eucalyptus	P19
III.3. Etude phyto chimique	P19
III.3.1. Recherche des alcaloïdes.....	P19
III.3.2. L'indice de mousse.....	P19
III.3.3. Détermination des coumarines dans la drogue végétale.	P20
III.4. Tests physicochimique sur les feuilles de l'eucalyptus.....	P21
III.4.1 Dosages des cendres.....	P21
III.4 2. Les cendres chlorhydriques (cendres non solubles dans l'acide chlorhydrique).....	P22
III.4.3. Dosage des cendres sulfurique	P22

III.4.4. Perte a la dessiccation.	P23
III.5. Extraction de l'huile essentielle.	P23
III.6. Tests physicochimique de l'huile d'eucalyptus	P25
III.6.1. Indice de réfraction	P25
III.6.2. Densité relative à 20C.	P26
III.6.3. Indice d'acide (IA)	P27
III.6.4. L'indice d'ester	P28
III.6.5. Indice de saponification	P29
III.7. Activité anti microbien.	P29
III.8. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles.	P31
III. 8. 1. Effet anti radicalaire du radical DPPH	P33
III. 8. 2. Calcule du pourcentage d'inhibition	P33

IV. RESULTAS ET DESSCUTION

IV .1. Testes phytochimique	P34
IV .1.1. Testes des alcaloïdes et coumarines.	P34
IV .1.2. Test d'indice de mousse	P35
IV .2. Testes physico chimique sur la plante	P36
IV .2.1. Perte a la dessiccation	P36
IV .2.2. Dosage des cendres, cendres sulfuriques et chlorhydriques.	P36
IV .3. La Cinétique et le rendement de l'HEs E. globulus.	P37
IV .4. Testes physico chimique sur l'HEs	P38
IV .4.1. L'indice de réfraction et la densité	P38
IV.4.2. Indices d'acide et d'ester et saponification.	P38
IV .5. Résultats de l'activité anti microbien.	P39

IV .6. Résultats d'antioxydant.....	P42
CONCLUSION	p43
Référence	P44

Les plantes médicinales et aromatiques ont connus ces dernières années un important regain d'intérêt et ceci devant le recul des produits chimiques. Les propriétés médicinales des plantes ont été recherchées par de nombreuses études à travers le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique. Ces études sont concentrées sur les bienfaits des composés phytochimiques des fruits, des légumes, et des plantes en général et sur leur impact sur la santé humaine. Les substances végétales sont riches en antioxydants qui sont utilisés pour lutter contre les radicaux libres responsables de plusieurs pathologies, telles que le cancer et les maladies neurodégénératives.[1]

Un autre problème qui touche la santé publique est l'émergence de la résistance aux antibiotiques, suite à l'utilisation massive et parfois abusive de ces derniers. Ceci a conduit à une forte demande du consommateur pour de nouveaux antibiotiques contre les germes pathogènes, et a incité les scientifiques à recourir à la phytothérapie, dans le but d'avoir des molécules aux propriétés antioxydants et antimicrobiennes.[1]

En effet, il est bien connu que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles exhibent une activité antibactérienne, antivirale, antimycotique, antioxydant, antiparasitaire, et aussi un effet insecticide. Par conséquent, elles peuvent constituer un puissant outil de réduction de développement et de dissémination de la résistance bactérienne. Actuellement, les huiles essentielles sont reconnues comme des substances GRAS. L'utilisation des huiles essentielles comme additif alimentaire demeure souvent limitée pour des considérations organoleptiques. Parmi les huiles essentielles utilisées en médecine, en parfumerie et aussi en industrie alimentaire, on retrouve celle des feuilles de *E. globulus* elles ont des propriétés antiseptique, anti-inflammatoire, antipyrétique, antalgique des céphalées, antispasmodique, et béchique.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des antioxydants et des antibiotiques naturels en évaluant les propriétés antioxydants et antibactériennes des huiles essentielles d'une plante médicinale largement distribuée en Algérie: *E. globulus*. Dans la partie recherche bibliographique de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude générale sur les huiles essentielles, leur extraction, leur composition, ainsi que leur propriétés. Ensuite, nous avons procédé à la description de la plante et de ses propriétés biologiques tout en rappelant les travaux antérieurs réalisés sur le *E. globulus*.[2]

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres distincts:

Le premier illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction, la détermination de la composition chimique et l'évaluation des activités biologiques (antioxydant, antibactérienne) de l'huile essentielle extraite de *E. globulus*. Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de leur interprétation. La signification statistique de ces derniers a été aussi examinée. Enfin, nous avons terminé par une conclusion générale avec quelques perspectives.[1]

CHAPITRE I

**Généralité sur les huiles
essentielles**

I. Généralités sur les huiles essentielles

I.1. Historique des huiles essentielles

Les essences parfumées connues dès l'origine des civilisations, furent d'abord utilisées pour des usages sacrés. Rites funéraires, embaumement des morts, onctions des élus, sacrifices aromatiques aux ancêtres et aux divinités apparaissent comme une constante des mondes antiques, de la Chine à la Perse et de l'Arabie à la Grèce. Nous pensons que 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. Trois mille huiles essentielles environ sont connues, dont environ 300 sont destinées à un usage commercial. Parallèlement, nous retrouvons l'utilisation de végétaux dans les pratiques thérapeutiques de ces diverses civilisations, selon différents stades évolutifs liés à leur utilisation [1].

I.2. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles également appelées huiles volatiles ou étherées sont les liquides aromatiques obtenus à partir de la matière végétale (fleurs, bourgeons, les graines, feuilles, brindilles, écorce, herbes, bois, fruits et racines). Ils peuvent être obtenus par expression, fermentation, enfleurage ou extraction. La méthode de la distillation à la vapeur est la plus utilisée pour la production commerciale des huiles, souvent appelées essences, comme des produits odorants obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau des végétaux ou parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains citrus, elles sont très volatiles et possèdent une valeur olfactive et gustative fortement aromatique. Cette définition n'intègre cependant pas toutes les autres substances dont les propriétés et l'apparence semblent similaires, mais qui sont obtenues par des procédés différents :

- Les concrètes sont des concentrés aromatiques obtenus par extraction de matières végétales fraîches contenant peu de résine, à l'aide d'un solvant non aqueux, éliminé ensuite par un moyen physique.

- Les absolues sont des produits obtenus par extraction à l'éthanol et à basse température des concrètes pour supprimer les cires. - Les oléorésines sont obtenues à partir de certaines épices par une extraction avec un solvant organique.

- Les oléorésines sont obtenues à partir de certaines épices par une extraction avec un solvant organique.

- Les résinoïdes sont les produits d'extraction par un solvant organique de résine ou de baume.

- Les essences déterpénées résultent de la distillation fractionnée, sous pression réduite, des huiles essentielles, entraînant l'élimination des fractions terpéniques les plus volatiles,

augmentant ainsi leurs qualités organoleptiques et assurant une meilleure conservation du produit [1].

I.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante:

Les plantes possèdent des métabolites dits « secondaires » par opposition aux métabolites primaires que sont les protéines, les glucides et les lipides. Ces composés diffèrent en fonction des espèces et, bien que leurs rôles soient encore mal connus, il est cependant clair qu'ils 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 parasites, pathogènes et prédateurs, mais aussi pollinisateurs et disséminateurs. Ces différentes relations ont donné lieu à une extrême diversification des composés secondaires.

Les travaux de Croteau en 1977 puis ceux de Croteau et Hooper en 1978 ont montré que, bien qu'étant des produits du métabolisme secondaire, les composants volatils auraient en fait un rôle mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Certains terpènes jouent un rôle important et varié dans la relation des plantes avec leur environnement. 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. [4]

Pour certains auteurs, les huiles essentielles constitueraient « les déchets » du métabolisme cellulaire de la plante. Pour d'autres, elles serviraient à attirer les insectes pour permettre la fécondation ou alors à les éloigner de la plante. L'attrait des insectes pour les plantes à fleurs en vue de la pollinisation est également crédité aux huiles essentielles que ces plantes contiennent. Les huiles essentielles constitueraient enfin un moyen de défense de la plante vis-à-vis des prédateurs tels que les microorganismes (bactéries et champignons) et les herbivores. Dans la nature, les huiles essentielles jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antiviral, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi des insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables [4].

I.4. Répartition et localisation des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui les composent sont répartis dans une cinquantaine de familles botaniques parmi lesquelles les Lamiacées, les Astéracées, les Rutacées, les Cannelacées, les Lauracées, les Myrtacées et les Zingibéracées. Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes: fleurs (rose) feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (cucurma, gingembre), fruits (anis, badiane) et graines (muscade). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles des Lauracées ou des Zingibéracées, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées [2].

I.5. Techniques d'extractions des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction, chacune ayant plusieurs variantes, que l'on utilise en fonction du matériel végétal à traiter. Parmi ces méthodes, les plus classiques sont :

a) Entraînement à la vapeur (hydro diffusion)

Cette technique consiste à l'injection de vapeur d'eau dans un liquide organique. Ce dernier est chauffé par de la vapeur d'eau puis distillé simultanément ; il est dit entraîné par la vapeur. La distillation à la vapeur est une méthode ancienne très répandue, destinée à l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. En principe, elle est simple et utilise un équipement peu coûteux sans produits chimiques dangereux à manipuler, La distillation à la vapeur « cuit à la vapeur » les éclosions cellulaires. L'essence mélangée à la vapeur passe alors dans un réservoir refroidissant ; la vapeur se condense en un liquide saturé d'eau sur lequel flotte l'huile essentielle qui est alors prélevée [7].

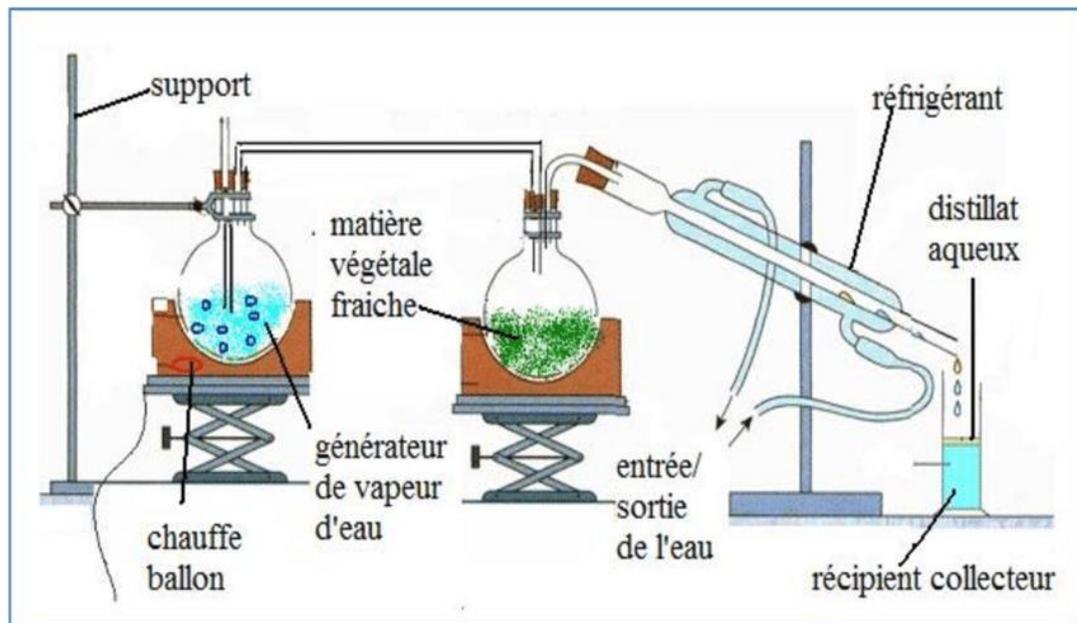


Figure-1-Montage-d'entraînement-a-la-vapeur-deau

b) Hydrodistillation :

Il s'agit de la distillation d'un mélange hétérogène d'eau et d'un liquide organique. L'hydrodistillation sous pression est une technique qui permet d'obtenir des huiles essentielles difficilement entraînaibles à la vapeur d'eau; la pression permet d'économiser de la vapeur d'eau et elle augmente la production pour un même volume d'appareillage [7].

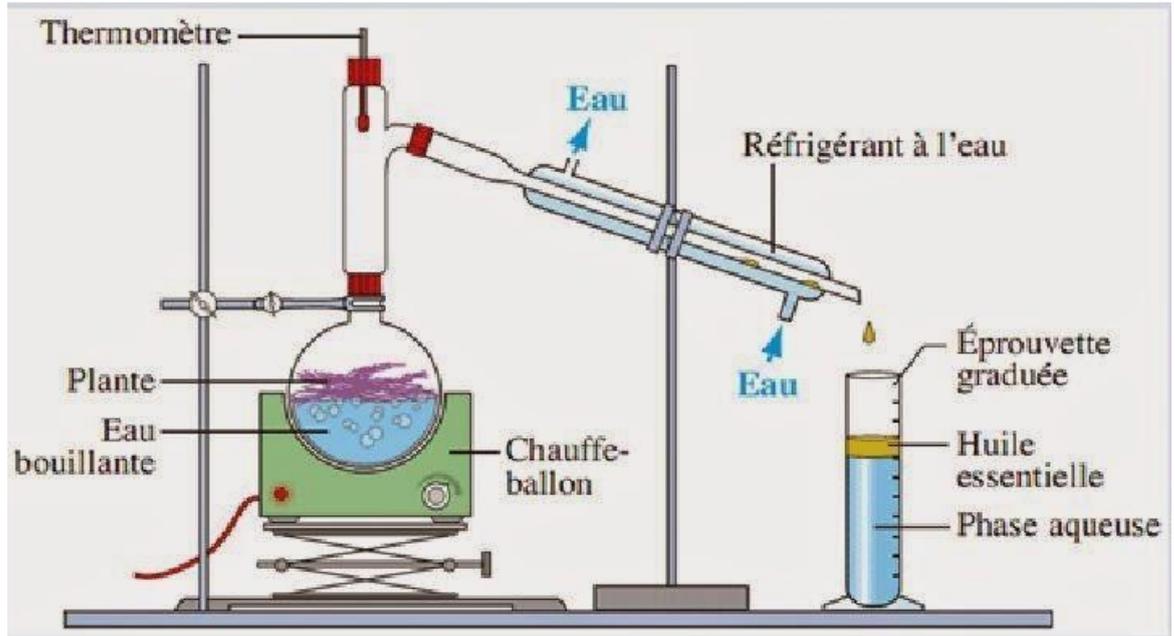


Figure-2-Montage-Hydrodistillation

c) Micro-ondes :

L'utilisation de micro-ondes permet de produire des extraits de meilleure qualité. L'irradiation du matériel végétal par les micro-ondes en présence ou non de solvant organique ou aqueux, présente l'avantage d'être très rapide, en provoquant l'éclatement des glands à huile essentielle. [7]

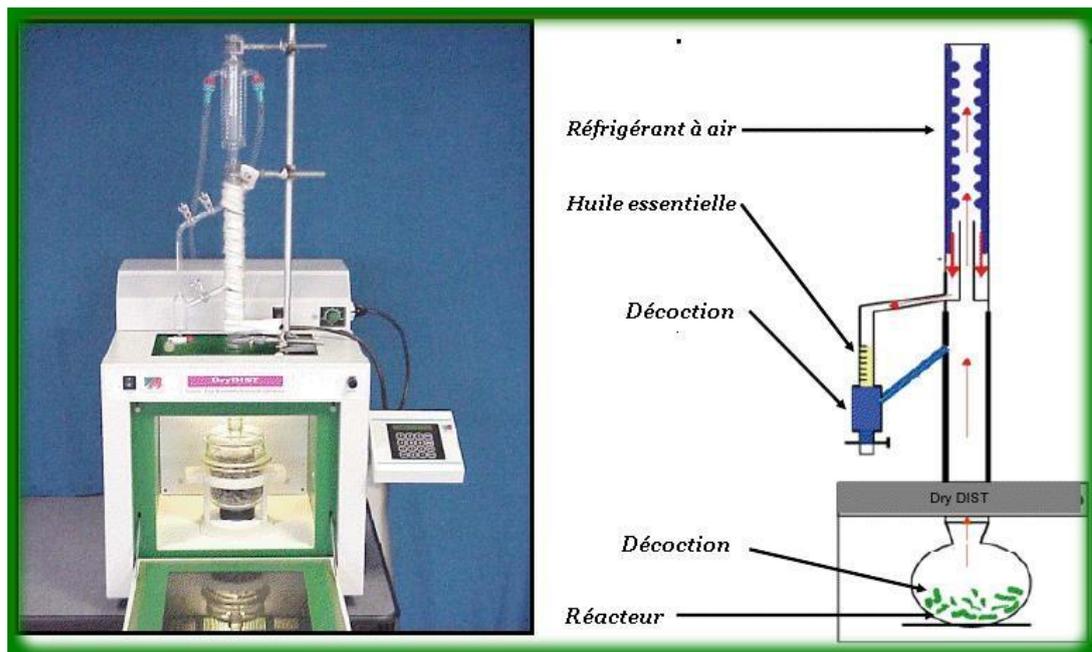


Figure-3-Montage-Extraction par micro-ondes

I.6. Composition chimique des huiles essentielles :

D'une manière générale, les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants appartenant à différentes familles chimiques. Les plus couramment représentées sont les terpénoïdes et les composés aromatiques, mais on y trouve également des constituants aliphatiques issus de la synthèse des acides gras et plus rarement d'autres composants d'origines diverses (dérivés soufrés, nitriles, Thio cyanates...) [2].

I.7. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles :

En fait, les essences produites par différentes espèces de plantes varient dans leurs caractéristiques physico-chimiques selon plusieurs facteurs. Ces derniers peuvent influencer à la fois sur la composition chimique proprement dite et le rendement de leur extraction.

- a) **L'espèce botanique** : Toutes les plantes ne sont pas aromatiques et même quand elles le sont, les constituants sont variables tant dans leur nature que dans leurs proportions.

- b) **Le chémotype** : Une espèce morphologiquement homogène peut donner des huiles essentielles de compositions chimiques différentes. Ce phénomène a été mis en évidence pour le thym et le basilic. Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable. La plupart sont poly-moléculaires, c'est à dire composées d'une grande diversité de composés (jusqu'à 500 molécules différentes dans l'huile essentielle de rose). A côté des composés majoritaires (entre 2 et 6 généralement), des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sont présents sous forme de traces. Il existe quelques huiles dites mono-moléculaires, telle le Bois de Rose (*Aniba rosaeodora*), la Menthe Pouliot (*Mentha pulegium*) ou la Gaulthérie couchée (*Gaultheria procumbens*) qui sont constituées presque exclusivement d'une molécule majoritaire. La Sauge sclérée (*Salvia sclarea*), le Citron (*Citrus reticulata*) sont bi-moléculaire et le Clou de Girofle (*Eugenia caryophyllus*) est tri-moléculaire.

- c) **Le cycle végétatif** : pour une espèce donnée, la proportion des constituants d'une huile essentielle peut varier tout au long du développement de la plante. Le rendement est 26 généralement optimal juste avant la floraison car après, la plante perd environ 70 % de son huile essentielle.

- d)** La période de récolte : dans le cas de la fleur de jasmin, la teneur en huile essentielle est plus élevée et l'arôme est plus riche au coucher de soleil. Les fleurs d'ylang-ylang donnent un meilleur rendement en huile essentielle en mai et juin, bien qu'elles s'épanouissent tout au long de l'année.
- e)** **L'organe végétal** : citons le cas du *Curcuma longa* où l'huile essentielle de rhizomes contient des curcumènes que l'on ne retrouve pas dans les feuilles.
- f)** **Les facteurs extrinsèques** : Ceux-ci ont trait aux facteurs environnementaux (température, nature du sol, ensoleillement...) et aux pratiques culturales qui ont également une influence certaine.
- g)** **Les procédés d'obtention** : au cours de l'hydrodistillation, l'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters, mais aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations ; l'état de la matière première a donc également une influence non négligeable sur la composition chimique des essences.

[2]

I.8. Les classes chimiques des huiles essentielles :

a) Les terpenoïdes :

Sur le plan chimique, les terpènes ou hydrocarbures terpéniques sont des composés dont la formule générale est $(C_5H_8)_n$.

- ✓ Les héli terpenes : $(n=1, C_5H_8)$.
- ✓ Les monoterpènes : $(n=2, C_{10}H_{16})$.
- ✓ Les sesquiterpènes : $(n=3, C_{15}H_{24})$.
- ✓ Les di terpenes : $(n=4, C_{20}H_{32})$.
- ✓ Les sesterterpènes : $(n=5, C_{25}H_{40})$.
- ✓ Les tri terpenes : $(n=6, C_{30}H_{48})$.

- ✓ Le tétra terpènes : ($n=8$, $C_{40}H_{64}$).
- ✓ Les poly terpènes : (n unités isopréniques).

Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les plus courants dans les huiles essentielles car leur masse moléculaire faible permet leur incorporation dans la fraction volatile que constitue l'huile essentielle. Des di terpènes sont rencontrés plus rarement lorsque l'hydrodistillation est longue. Au-delà, les composés ne sont plus considérés comme volatils. La diversité des structures observées s'explique par la haute réactivité des carbocations (ion carbone) impliquées dans les processus biosynthétiques. Globalement, on y retrouve monoterpènes et sesquiterpènes acycliques, monocycliques, bicycliques ou tricycliques issus de réarrangements complexes du squelette hydrocarboné, des réactions de fonctionnalisation ultérieures, conduisant à des molécules généralement intéressantes sur le plan olfactif et même biologique tels que des alcools, aldéhydes, cétones esters, éthers, peroxydes, phénol [13].

b) Les composés aromatiques :

Ils sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes, mais également intéressants sur le plan olfactif. Par exemple, l'eugénol est responsable de l'odeur caractéristique du clou de girofle, l'anéthol de celle de l'anis, le cinnamate de méthyle et le méthylchavicol permettent de distinguer des chémotypes intéressants au sein de l'espèce d'*Ocimum basilicum*.

Les composés aliphatiques :

Certaines huiles renferment de petites quantités de composés aliphatiques généralement de masse moléculaire faible, qui peuvent être entraînés avec l'huile essentielle lors de l'hydrodistillation. Ce sont des hydrocarbures linéaires ou ramifiés ou leurs dérivés oxygénés (acides, alcools ou aldéhydes). Citons pour exemple: le (Z)-hex-3-énol (note verte de l'herbe coupée) ou l'octen-3-ol (note caractéristique du champignon de Paris : *Agaricus bisporus*), et *Olea europaea*, *Cannabis sativa* [13].

c) Les composés d'origine diverse :

Des produits de masses moléculaires plus importantes, non entraînés à la vapeur d'eau sont souvent retrouvés dans les concrètes, homologues de phénylpropanes, diterpènes, coumarines.

Entre autres, il faut noter les produits soufrés qui sont généralement responsables des odeurs piquantes rappelant le radis, l'ail... [13].

I.9. Propriétés des huiles essentielles :

a) Caractéristiques physiques :

Les huiles essentielles se distinguent des huiles grasses qui sont fixes et tachent le papier d'une manière permanente, alors que leurs taches sur du papier sont plutôt éphémères et qu'elles se volatilisent à la chaleur.

- Les huiles essentielles se distinguent des huiles grasses qui sont fixes et tachent le papier d'une manière permanente, alors que leurs taches sur du papier sont plutôt éphémères et qu'elles se volatilisent à la chaleur.

- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

- De densité généralement inférieure à celle de l'eau, elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, les huiles fixes. Elles sont insolubles dans l'eau à qui elles communiquent néanmoins leur odeur.

- Leur rendement d'extraction peut varier de moins de 1 % à plus de 10 % par rapport à la matière sèche c'est-à-dire, pour extraire quelques grammes d'huile essentielle, il faut une grande quantité de matériel végétal.

- Les huiles essentielles sont sensibles à l'oxygène atmosphérique et à la lumière, car le contact entraîne l'altération des composés aromatiques qui les constituent.

- Elles sont volatiles à température ambiante bien que leur point d'ébullition soit relativement haut (150 °C – 300 °C)

Une propriété peut être considérée comme commune à toutes les huiles essentielles. Elles ont pratiquement toutes le pouvoir de traverser la peau et de se retrouver plus ou moins rapidement dans le sang. Seul le temps de pénétration varie d'une huile essentielle à une autre : 2 minutes pour l'huile essentielle de thym, 20 minutes pour l'essence de térébenthine, 40 à 60 minutes pour celles de citron, bergamote et anis, d'où leur utilisation dans le développement de l'aromathérapie [12].

I.10. Domaine d'utilisation des huiles essentielles :

Quatre domaines principaux exploitent les diverses potentialités qu'offrent les huiles essentielles :

✓ **Pharmacie :**

Les huiles essentielles peuvent avoir un intérêt médicamenteux, en particulier dans le domaine des antiseptiques externes, comme par exemple : *Thymus vulgaris* (Thym), *Satureja montana* (Sariette). Elles sont aussi employées pour aromatiser des formulations médicamenteuses destinées à la voie orale. Elles constituent par ailleurs le support de l'aromathérapie. Les plantes aromatiques sont aussi utilisées à l'état brut, en particulier pour les préparations d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger, etc.) et sous la forme de préparations galéniques simples [2].

✓ **Parfumerie :**

C'est le débouché principal des huiles essentielles où la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène en sont les marchés principaux. On note aussi l'utilisation des huiles essentielles dans les préparations pour bains (bain « calmant » ou « relaxant ») avec la possibilité d'absorption percutanée des constituants terpéniques [9].

✓ **Industrie Agro-alimentaire :**

Certains plantes sont utilisées brutes (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoides. Tous les secteurs alimentaires en utilisent : boissons alcooliques ou non, confiserie, produits laitiers, produits carnés, soupes, sauces, boulangerie, snacks, la nutrition animale [9].

✓ **- Diverses industries :**

L'industrie chimique est le principal utilisateur des isolats issus des huiles essentielles comme matières premières pour la synthèse de principe actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, exemple : pinènes, sclaréol, linalol, citronellal, citral eugénol, safrol, etc... Ces isolats sont également utilisés en parfumerie [9].

CHAPITRE II

L'eucalyptus globulus

II. L'eucalyptus

II.1. Définition eucalyptus

Il est de famille Myrtaceae-Myrtacées, les eucalyptus sont parmi les plus grands arbres feuillus du monde végétal. Ces plantes indigènes d'origine australienne représentent d'ailleurs 95 % de la forêt de ce pays.

Les eucalyptus se présentent comme un petit buisson ou un très grand arbre (plus de 100 mètres de haut). Les feuilles sont bleutées, persistantes et recouvertes de glandes à huile. Ils sont plantés en Afrique du Nord (Algérie, Maroc) mais également dans les îles de Madagascar, Mayotte, Réunion et enfin en Afrique du Sud.

Les fleurs de couleur blanche, crème, jaune, rose ou rouge, sont source de nectar pour la production de miel en Australie. La plupart des eucalyptus ne supportent pas le gel (jusqu'à -3 à -5°) tandis que certains sont rustiques (-10 à -15°).

Ainsi, l'Eucalyptus supporte -12 °. De croissance rapide, il est utilisé pour la réalisation de meubles pour l'extérieur.

Notre plante du mois, appelée eucalyptus globulus, est antibactérienne, antiseptique, calmante pour la toux, la bronchite, le rhume et la sinusite. Vous pouvez retrouver l'Eucalyptus globulus durant la saison estivale dans la plate-bande des huiles essentielles de la collection médicinale [2].

II.2. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae

La famille **Myrtaceae-Myrtacées** est une famille de plantes dicotylédones, deux cotylédons sur l'embryon, deux feuilles constitutives de la graine. Les Myrtacées sont réparties en environ trois mille espèces réparties en 134 genres environ.

Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Amérique tropicale, région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles du Pacifique. . Dans cette famille, on peut citer les genres : Eucalyptus, Psidium dont fait partie le goyavier, Myrtus dont fait partie le myrte (arbuste du maquis méditerranéen), Eugenia dont le giroflier (*Eugenia caryophyllata*) qui donne le clou de girofle. On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres Feijoa, Eugenia, Campomanesia) [2].

Les fleurs à odeur suave des Myrtacées sont pollinisées par divers insectes, oiseaux ou mammifères ; le nectar sert de monnaie d'échange. Chez les genres Eucalyptus, Melaleuca et Callistemon, les étamines sont plus remarquables que les pétales, donnant à l'inflorescence un aspect de goupillon. Les espèces à fruit charnu sont disséminées par les oiseaux et les mammifères ; les espèces à fruits capsulaires ont de petites graines parfois ailées qui sont disséminées par le vent ou par l'eau [2].

II. 3. Propriétés thérapeutique du genre Eucalyptus

De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicaux des feuilles d'Eucalyptus dans leur pharmacopée : Chine, Inde, Sri Lanka, Afrique du Sud, Île de la Réunion, Europe, etc.

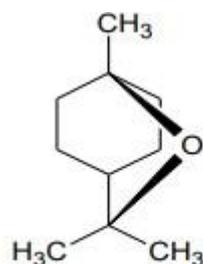
La production commerciale d'huile essentielle d'Eucalyptus a débuté en 1860, dans la région de Victoria en Australie. Actuellement, l'Australie, le Maroc, l'Espagne.

Au XIXe siècle, on utilisait l'HE pour aseptiser les cathéters urinaux dans les hôpitaux anglais. De nombreuses préparations pharmaceutiques destinées aux diverses affections des Voies respiratoires. De nos jours, elle entre dans la fabrication de rince-bouche et de dentifrices ; les produits et les solvants endodontiques utilisés en dentisterie comprenant de l'huile de plusieurs plantes entre autre l'huile de clou de girofle et d'Eucalyptus [5].

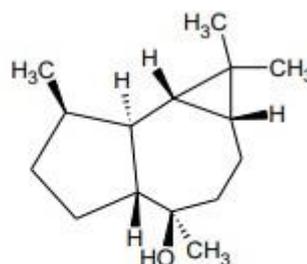
On s'en sert aussi comme dégraissant industriel. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'Eucalyptus, de l'HEs (E. globulus) pour soulager la fièvre et les symptômes de l'asthme, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires, de la gorge ou des muqueuses de la bouche (voie interne) ainsi que pour soulager les douleurs rhumatismales (vie externe) [5].

II. 4. Principaux composants chimiques du genre Eucalyptus

- ✓ Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole ; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; sesquiterpènes : aromadendrène ; sesquiterpénols : globulol, lédol).
- ✓ Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine).
- ✓ Tanins.



1,8-cinéole (Eucalyptol).



Globulol.

Figure-4-Structure chimique d'HE 1,8-cinéole et globulol

[13]

II. 5. Description d'Eucalyptus globulus

Les feuilles pétiolées ; pouvant atteindre 25 cm de long ; légèrement falciformes ; assez épaisses ; de couleur gris-vert, présentent une nervure principale surtout distincte sur la face inférieur. Le bord est lisse et quelque peu épaissi. La drogue coupée contient des fragments de limbe coriaces, friables, avec de nombreuses lenticelles de couleur brune plus ou moins foncées, par transparence, apparaissent de multiples poches sécrétrices ponctuant le limbe. De nombreux petits points visibles à la loupe correspondent aux stomates.

- **Odeur** : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- **Saveur** : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- **Biotope** : très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- **Récolte** : en Février et en Novembre à la taille des arbres.
- **Partie à utiliser** : essentiellement par ses feuilles adultes poussant sur les rameaux âgés [2].

II.5.1. Classification dans la systématique botanique

Tableau 1 : Classification dans la systématique botanique

Synonymes	Gommier bleu, Eucalyptus globuleux, Arbre fièvre, Eucalyptus officinal.
Règne	Plante
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida-Dicotylédones
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	globulus
Nom botanique	Eucalyptus globulus, labill

Les noms vernaculaires : Calitous « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions.



Figure-5- photographie d'eucalyptus globulus,labill.

II.6. Huile essentielle d'Eucalyptus globulus

L'huile essentielle d'eucalyptus est très convoitée en aromathérapie en raison de son action expectorante (elle dégage les voies respiratoires), anti-infectieuse, antispasmodique (elle prévient les contractions musculaires involontaires), astringente (elle accélère l'assèchement des tissus) et antiseptique (elle désinfecte les plaies). Grâce à sa propriété immunostimulante, elle contribue aussi à renforcer le système immunitaire afin de mieux lutter contre les infections hivernales [2].

Cette essence aromatique possède également d'innombrables vertus et s'avère efficiente dans le maintien de la santé au quotidien.

II.6.1. Propriétés médicinales

Cette huile possède un effet rafraîchissant indéniable sur la température du corps. C'est un fébrifuge.

Elle est utilisée dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques pour ses multiples vertus sur l'arbre respiratoire.

Elle Facilite la dissolution et l'élimination des glaires bronchiques (balsamique, fluidifiant, expectorant), anti-infectieux vis-à-vis des bactéries et virus.

Antiseptique pour les voies urinaires, elle est aussi antirhumatisme, stimulante et tonifiante.

En outre, c'est un excellent antibiotique naturel [3].

II.6.2. Utilisation des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus

Les huiles essentielles d'Eucalyptus est utilisé par deux voie la voie interne et la voie externe.

II.6.2 .1. Utilisation interne :

Inflammation et infection des voies respiratoires (bronchite, sinusite, rhume, etc.).

Infusion : Infuser de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 150 ml d'eau bouillante durant 10 minutes. Boire deux tasses par jour.

Inhalation : Elle consiste à respirer de la vapeur d'eau (par le nez) chargée de quelques gouttes d'huile essentielle (pas plus de 10 gouttes). A défaut d'inhalateur (que vous pouvez acheter en pharmacie), vous pouvez tout simplement vous pencher au-dessus d'un bol d'eau chaude avec une serviette de bain sur la tête pour respirer le plus possible de vapeur. Ne pas dépasser plus de 15 minutes par inhalation. Répéter jusqu'à trois fois par jour [4].

II.6.2 .2. Utilisation externe :

✓ **Inflammation et infection des voies respiratoires**

Friction et massage : Appliquées sur la peau, les huiles essentielles pénètrent les tissus et irriguent le corps par le sang. On peut ainsi privilégier les passages veineux comme le poignet ou le coude. En règle générale, il vaut mieux éviter d'appliquer sur la peau des huiles essentielles non diluées. Il est conseillé de les mélanger au préalable avec une huile végétale (jojoba, macadamia, rose musquée, argan, noix de coco, germes de blé, amande douce, olive, noyau d'abricot...).

✓ **Mal de gorge**

Gargarisme : Infuser durant 10 minutes de 2 g à 3 g de feuilles séchées dans 100 ml d'eau bouillante. Se rincer la bouche ou se gargariser avec la préparation filtrée et refroidie, de deux à trois fois par jour. On peut également préparer un gargarisme en diluant de 2 à 3 gouttes d'huile essentielle dans 5 ml d'alcool, préparation à laquelle on ajoutera 50 ml d'eau.

✓ **Hygiène buccale Rince-bouche**

Diluer de 2 à 3 gouttes d'huile essentielle d'eucalyptus dans 5 ml d'alcool et ajouter 50 ml d'eau. Faire un bain de bouche deux à trois fois par jour.

✓ **Douleurs rhumatismales**

Friction : Verser de 15 à 20 gouttes d'huile essentielle dans 25 ml d'huile végétale et frictionner les articulations douloureuses, trois fois par jour.

✓ **Mal de tête :**

Friction : Verser de 1 à 2 gouttes d'huile essentielle dans quelques gouttes d'huile végétale; frictionner les tempes et le front. Ne pas appliquer trop près des yeux [4].

II.6.3. Conservation

Il est recommandé de stocker les huiles essentielles dans des flacons en verre ambre ou foncé, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (pas d'ouverture prolongée des flacons). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années.

II.7. Travaux antérieurs sur les HE de l'espèce *Eucalyptus globulus*

L'espèce *Eucalyptus globulus* d'une région algérienne a été l'objet d'une analyse de son HE d'où 20 composés, représentant 98,3% de l'HE ont été identifiés. Cette huile est majoritairement composée de 1,8-cinéole (48,6%), α -pinène (9,7%) globulol (10,9%), transpinocarveol (10,7%) et α -terpinéol (6,6%) [1].

Le Tableau 2 : Composition de l'HE d'Eucalyptus globulus.

Composants	%
α-Pinène	9.7
1,8-cinéole	48.6
Isoamylisovalerate	1.1
trans-Pinocarveol	10.7
Pinocarvone	1.0
4-Terpineol	0.3
α -Terpineol	6.6
trans-Carveol	0.8
Carvacrol	0.1
α -Terpinyl acetate	0.3
Geranyl acétate	0.1
Aromadendrène	4.6
Ledene	0.6
Viridiflorol	0.4
Globulol	10.9
α-Eudesmol	0.8
Juriper Camphor	0.6
Isoaromadendrene oxide	0.2
6, 6-Dimethyl-2-(3-oxobuy)-bicyclo [3, 11] heptan-3-one	0.2
Carboxamide	0.7

CHAPITRE III

Matériel et méthode

III. Matériels et méthodes

III.1. Buts et objectifs

notre premier but est de déterminer les caractéristiques des feuilles de *Eucalyptus globulus*, puis de faire une extraction de l'HEs par hydrodistillation ensuite examiner l'HEs pour savoir son influence sur les microbiennes, en terminant par l'évaluation de l'activité antioxydant de HEs qui a été réalisée par la méthode de réduction du DPPH•.

Afin d'atteindre nos buts on a adopté le plant de travail suivant :



Figure-6- Schéma générale du travail expérimental

III.2.Préparation des feuilles d'*Eucalyptus*:

Les feuilles d'*E. globulus* ont été récoltées au mois de mai de l'année 2019 à la commune de kadiria wilaya de Bouira, les feuilles sont bien sécher à l'ombre à la température ambiante pendant 15 jours.

III. 3. Etude phyto chimique

III.3.1. Recherche des alcaloïdes

Principe :

La mise en évidence des alcaloïdes consiste à les précipiter à l'aide de l'un de six réactifs de précipitation a savoir. Réactif de dragendorff, réactif de Mayer, réactif de HAGER ; réactif de BERTRANDE ; réactif de WAGNAR et le réactif de SONNENSCHIEN.

Mode opératoire :

Extraction :

Introduire 10 g de matière végétal pulvérisée dans un erlenmeyer de 250 ml, et verser 50 ml d'acide sulfurique a 10% .agiter et laisser macérer 24h à température ambiante.

Filter sur papier et lever à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat.

Prendre un tube à essai et introduire 1 ml de filtrat, ajouter : 05 gouttes de réactif de DRAGENDORFF : l'apparition d'un précipité rouge orange indique la présence d'alcaloïdes.

Matériel utilisé :

- ✓ Matière végétal ;
- ✓ Un erlenmeyer ;
- ✓ Acide sulfurique a 10% ;
- ✓ Papier filtre ;
- ✓ Tube à essai ;
- ✓ Réactif de DRAGENDORFF ;
- ✓ Eau distillé ; [14]

III.3.2. L'indice de mousse

Mode opératoire

Préparation du décocté a 1% :

A l'aide d'un erlenmeyer de 250 ml ; faire une décoction de 1 g de poudre dans 100ml d'eau distillé .chauffer pendant 15 min tout en maintenant une ébullition modèrèe.filterer après refroidissement et ajuster à 100ml.

Caractérisation

Dans une série de 10 tubes à essais numérotés de 1 à 10, répartir successivement 1, 2, ... 10 ml de décocté à 1% préparé, ajuster le volume dans chaque tube à 10 ml avec de l'eau distillée et agiter chaque tube dans le sens de la longueur pendant 15 secondes à raison de 2 agitations par seconde. Laisser reposer pendant 15 min et mesurer la hauteur de la mousse dans chaque tube. Le tube dans lequel la hauteur de la mousse est de 1 cm permet de calculer l'indice de mousse.

Calcul

$$\text{Indice de mousse} = 10 / (n * 10^{-2})$$

Matériel utilisé

- ✓ Un erlenmeyer ;
- ✓ Poudre de matière végétale ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Balance ;
- ✓ Papier filtre ;
- ✓ Tubes à essais ;
- ✓ Eau distillée ; [16]

III.3.3. Détermination des coumarines dans la drogue végétale

Mode opératoire

Faire bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique on le fait bouillir pendant 15 mn puis filtrer après refroidissement. À 5 ml du filtrat rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH à 10% et quelques gouttes d'HCL à 10% .

Matériel utilisé

- ✓ Poudre matière végétale ;
- ✓ Alcool éthylique ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Papier filtré ;
- ✓ KOH ;
- ✓ HCL ;

[14]

III.3.4. Détermination du mucilage (polyuronite) dans la drogue végétale

Mode opératoire

Nous avons introduit 1 ml du décocté à 10 % dans un tube à essai et ajoutons 5 ml d'éthanol absolu. Après une dizaine de minutes, l'obtention d'un précipité floconneux par mélange indique la présence de mucilages.

Matériel utilisée :

- ✓ Matière végétal ;
- ✓ Tube à essai ;
- ✓ Ethanol ; [16]

III.4. Tests physicochimique sur les feuilles de *l'eucalyptus***III.4.1. Dosages des cendres****Mode opératoire**

Chauffer au rouge un creuset pendant 30 min. Laisser refroidir dans un dessiccateur contenant du gel de silice anhydre, puis peser. Introduire dans le creuset 1g de la matière végétale. Dessécher pendant 1h à 100-105C°, puis incinérer dans un four a moufle a une température de 600C° jusqu'à masse constante.

Calcule :

La masse résiduelle a été déterminée comme suite :

$$CT = \left(\frac{PF - PV}{PE} \right) * 100$$

CT : Cendres totales (%) ;

PE : Poids de la prise d'essai(g) ;

PV : poids vide du creuset ;

PF : Poids final du creuset ;

Matériels utilisé

- ✓ Matière végétal ;
- ✓ Une balance ;
- ✓ Les creusets ;
- ✓ L'étuve ;
- ✓ Un four à moufle ;
- ✓ Un dessiccateur ; [13]

III.4.2. Les cendres chlorhydriques (cendres non solubles dans l'acide chlorhydrique)

Mode opératoire

Dans le creuset, ajouter au résidu obtenu ;lors de la détermination des cendres sulfuriques ou totales, 15 ml d'eau et 10 ml d'HCL a 10%.recouvrir d'un verre de montre et faire bouillir doucement pendant 10 min. Filtrer le résidu et laver à l'eau très chaude. Dessécher et incinérer jusqu'au rouge sombre .laissez refroidir au dessiccateur et peser dans le même creuset.

Matériels utilisé

- ✓ Creuset ;
- ✓ Eau ;
- ✓ HCL ;
- ✓ Verre de montre ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Papier filtre ;
- ✓ Un dessiccateur ;
- ✓ Une balance ; [13]

III.4.3. Dosage des cendres sulfurique

Mode opératoire

Chauffer un creuset de porcelaine a 600C° pendant 30 min .laisser refroidir dans un dessiccateur sur du gel de silice et peser. Placer ensuite 1 g de la matière pulvèrisée.humecter la matière avec une quantité suffisante de H_2SO_4 dilué (environ 1M) et chauffer lentement jusqu'à Carbonisation complète de la matière .après refroidissement. Humecter le résidu avec un peu de H_2SO_4 dilué a demi, chauffer de la même manière jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches. Calciner ensuite à 600C° jusqu'à Incinération complète du résidu.

Laisser refroidir le creuset dans un dessiccateur, puis peser.

Matériel utilisé :

- ✓ Four à moufle ;
- ✓ H_2SO_4 ;
- ✓ Creuset ;
- ✓ Dessiccateur ;
- ✓ Balance ;
- ✓ matière végétal ;
- ✓ plaque chauffante ; [13]

III.4.4. Perte a la dessiccation :

Définition

La dessiccation est un procédé d'élimination de l'eau d'un corps à un stade poussé. Il s'agit d'une déshydratation visant à éliminer autant d'eau que possible. Ce phénomène peut être naturel ou forcé [13].

Principe

La prise d'essai est soumise à la dessiccation dans des conditions définies, variant en fonction de la nature de l'aliment ; la perte de masse est déterminée par pesée. Il est nécessaire de procéder à une prédessiccation lorsqu'il s'agit d'aliments solides, ayant une teneur élevée en humidité [13].

Mode opératoire

Peser rapidement 1g de la matière végétale dans une capsule à fond plat de diamètre 50 mm et de 30 mm de hauteur .dessécher dans l'étuve a 100-105 c° durant 02 h .placer dans un dessiccateur contenant de gel de silice anhydre. Laisser refroidir puis peser [15].

Calcul

La perte en masse a été calculée suivant la formule suivante :

$$P_D = \left(\frac{P_1 - P_2}{P_1} \right) * 100$$

P_D : Perte a la dessiccation(%) ;

P_1 : poids initial de l'échantillon (g) ;

P_2 : poids de l'échantillon après séchage (g) ;

Matériels utiliser

- ✓ Matière végétale sec ;
- ✓ Verre de montre ;
- ✓ Etuve ;
- ✓ Balance ; [13]

III.5.Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de HEs de *E.globulus* est réaliser avec la méthode d'hydro-distillation pendant 2h et 30min à l'aide d'un dispositif de type clevenger.

Matériels utilisé

- ✓ Un élévateur ;
- ✓ Un chauffe ballon ;
- ✓ Ballon de 1000ml ;
- ✓ Coude ;
- ✓ Un réfrigérant ;
- ✓ Deux supports (fer et bois) ;
- ✓ Boule à décantation ;
- ✓ Flacon en verre ;
- ✓ Matière végétal sec ;
- ✓ Balance ;



Figure-7-Montage d'hydrodistillation

Protocol

Dans un ballon de 1000ml , une quantité du matière végétal de *Eucalyptus globolus* (100 g) est mise en contact direct avec 700 ml d'eau distillée. La vapeur condensée obtenue correspond à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'eau aromatique par décantation comme le montre la figure suivante:



Figure-8- Figure montrant la séparation de la phase aqueuse et la phase organique

Après l'élimination de la phase aqueuse et la récupération de la phase organique (HEs) en conservant notre huile dans un flacon en verre à une température de 4C°.

A partir de l'étude cinétique en calculant le rendement de l'extraction de HEs par apport au matériel végétal sec à l'aide de la formule suivante :

$$R(\%) = \left(\frac{\text{poids de HEs}}{\text{poids sec de la plante}} \right) * 100$$

[7]

III.6. Tests physicochimique de l'huile d'*eucalyptus*

III.6.1. Indice de réfraction

Définition :

L'indice de réfraction, souvent noté n, est une grandeur sans dimension caractéristique d'un milieu, décrivant le comportement de la lumière dans celui-ci ; il dépend de la longueur d'onde de mesure mais aussi des caractéristiques de l'environnement.

Principe

c'est une grandeur qui caractérise la vitesse de la lumière dans les solution .un indice de 1 ,5 signifie que dans le liquide, la lumière se dèplace1,5 fois moins vite que dans le vide.si c'est la vitesse de la lumière dans le vide ,v la vitesse de la lumière dans le milieu dont l'indice est n [15] .

Mode opératoire

Régler le réfractomètre en mesurant les indices des réfractions des produits étalons tels que : L'eau distillée, benzoate de benzyle, éthanol.

L'appareille a été étalonné par l'éthanol ayant un indice de réfraction connu égale à 1.3611 a 20C°.

Calcul

L'indice de réfraction a la température de référence t est :

$$n=n'+0.0004*(t'-t)$$

Où la température de référence est de 20C°.

Où :

n' : Valeur de lecteur ;

t : La température de HEs ;

Matériels utilisé

- ✓ HEs ;
- ✓ Micro pipette ;
- ✓ Réfractomètre ; [15]

III.6.2. Densité relative à 20C°**Définition**

La densité relative de l'HE est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C [15] .

Principe

La densité ou densité d'un corps ou densité relative d'un corps est le rapport de sa masse volumique à la masse volumique d'un corps pris comme référence.

La densité est une grandeur sans dimension et sa valeur s'exprime sans unité de mesure [15] .

Mode opératoire

A l'aide d'un densimètre on a pu calculer la valeur de densité relative de HEs de l'eucalyptus globulus.

Calcul manuelle

La densité est ainsi donnée par la formule ci-dessous:

$$d = \frac{m2 - m0}{m1 - M0}$$

Où :

m0 : est la masse, en grammes, du pycnomètre vide ;

m1 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'eau ;

m2 : est la masse, en grammes, du pycnomètre rempli d'HEs ;

Matériels utilisé

- ✓ HEs ;
- ✓ Densimètre ; [15]

III.6.3. Indice d'acide (IA) :

Mode opératoire

Introduire 1g de la prise d'essai dans la fiole, Ajouter 5ml d'éthanol, et 5 goutte de phénolphtaléine neutralisé le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0.1mol/l) contenu dans la burette.

Calcule

$$IA=56.11*V*C/m$$

Où :

V : Volume en ml de KOH utilisé ;

m : Masse en g de la prise d'essai ;

C : Concentration exacte de KOH (0.1) en mol /l ;

Matériel utilisé

- ✓ HEs ;
- ✓ KOH ;
- ✓ Phénolphtaléine ;
- ✓ Ethanol ;
- ✓ Fiole;
- ✓ Burette; [15]

III.6.4. L'indice d'ester

Mode opératoire

On prend 0.5ml de l'échantillon pour essai .introduire la prise d'essai dans le ballon ; puis à l'aide d'une burette ajouter 15 ml de solution de KOH (0.5mol/l). Puis on place un réfrigérant ascendant on plonge l'ensemble dans un bain-marie. On chauffe jusqu'à ébullition pendant 30 min .on détermine la fin de la réaction de saponification lorsqu' on obtient une solution transparente et homogène (absence de trace de l'huile).

Laisser refroidir le ballon et démontrer le réfrigérant .ajouter 5 gouttes de solution de phénolphtaléine titrer l'excès de KOH avec la solution d'acide chlorhydrique a 0.5 mol/l ; on réalise en parallèlement un essai à blanc dans les mêmes conditions c'est-à-dire 15 ml de solution de KOH titrées par HCL 0.5 N la différence des volumes dépenses lors du titrage de l'essai à blanc et de l'échantillon correspondant à la quantité de KOH dépensé pour la saponification et pour la neutralisation des acides libres contenus dans l'échantillon.

Calcul

$$IE=28.05/m*(V_0 - V_1) -IA$$

Où :

V_0 : Volume en ml d'HCL pour le blanc ;

V_1 : Volume en ml d'HCL pour la détermination ;

m: Masse de la prise d'essai ;

IA: Indice d'acide ;

Matériels utilisé

- ✓ Ballon de 500ml ;
- ✓ Bicher 50ml ;
- ✓ Burette ;
- ✓ Support en plastique ;
- ✓ Plaque chauffante ;
- ✓ Un réfrigérant ;
- ✓ Un bain-marie ;
- ✓ HEs ;
- ✓ KOH ;
- ✓ Phénolphtaléine ;
- ✓ HCL ; [15]

III.6.5. Indice de saponification

Définition

L'indice de saponification (IS) d'un corps gras est le poids en milligramme de potasse (KOH) nécessaire pour saponifier les esters d'acides gras et neutraliser les acides gras non estérifiés dans un gramme de matière grasse. L'indice de saponification est lié aux autres indices, comme l'indice d'acidité (IA) et l'indice d'ester (IE).

Calcul

$$IS = IE + IA$$

Où :

IS : L'indice de saponification ;

IE : L'indice d'ester ;

IA : l'indice d'acidité ; [15]

III.7. Activité anti microbien :

Les différents protocoles peuvent être classés selon le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle et selon la nature du contact de l'HEs avec le germe. Les méthodes les plus utilisées sont: diffusion sur disque, dilution d'agar et dilution de bouillon. Ces méthodes sont relativement rapides, peu coûteuses et n'exigent pas un équipement de laboratoire sophistiqué.

Choix des souches microbiennes

Les bactéries et les champignons étudiés ont été choisis pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité. Elles nous ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'Hôpital de Thenia wilaya de Boumerdes et laboratoire de micro biologie de la faculté de SNV de BOUIRA. Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance pendant 24 h à 37°C. 3 Bactéries et 5 champignons été testées.

Type des souches :

Souches bactériennes : Staphylococcus, Escherichia coli, Pseudomonas.

Souches champignons : fusariums sp, fusariums sp₂, Cladosporium, L'Aspergillus, Altarmara.

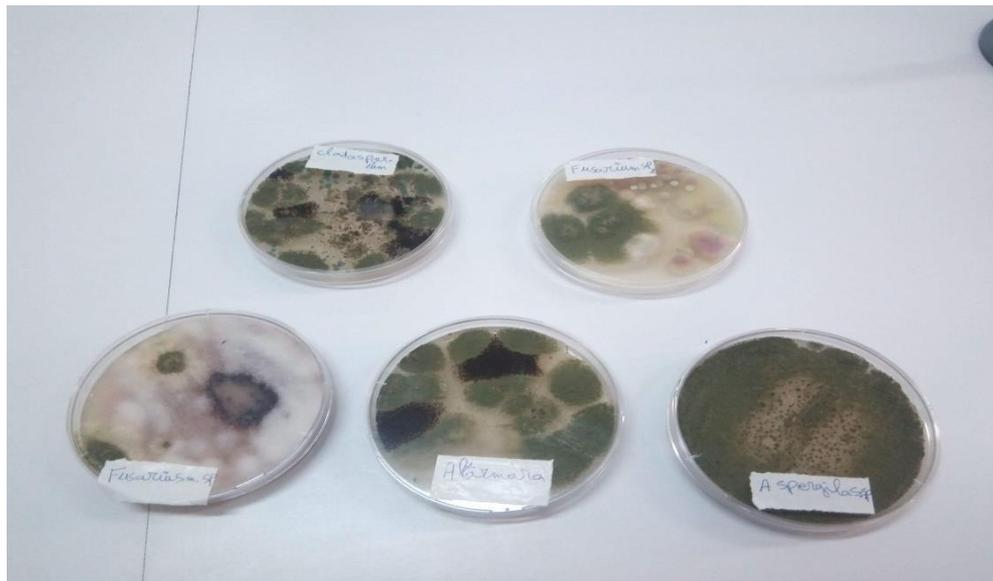


Figure-9- Les Cinq champignons testés

Matériel utilisé de l'activité anti microbienne

- ✓ Bec bunsen ;
- ✓ Boites de pétri ;
- ✓ Disque de papier filtre 6mm ;
- ✓ Pipette pasteur ;
- ✓ pince ;
- ✓ micropipette ;
- ✓ Autoclave ;
- ✓ Ecouvillon ;
- ✓ Etuve ; [10]

Mode opératoire

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture pure des bactéries ou champignons 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 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne.[11]

- **Diffusion sur gélose**

Méthode de diffusion sur gélose Afin de tester l'activité antimicrobienne des HEs, nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disques imprégnés d'HEs. Les milieux coulés en boîte de Pétri sontensemencés par écouvillonnage à partir

d'une suspension microbienne (bactérie et champignon). Un volume correspondant à 10 μL d'HEs est déposé sur des disques de papier Whatman stériles de 6 mm de diamètre. En parallèle. Les boîtes de Pétri sont maintenues pendant 30 min à une température de 25-30 $^{\circ}\text{C}$ et sont ensuite incubées à 37 $^{\circ}\text{C}$ /24 h pour les bactéries et 25 $^{\circ}\text{C}$ /5jours pour les champignons. L'activité

antibactérienne est appréciée par la mesure, à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, des diamètres des zones claires (mm) qui se forment autour des disques. [13]

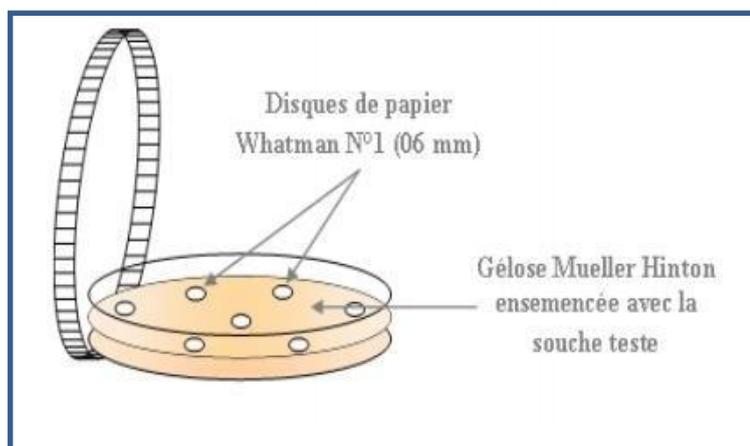


Figure-10-Methode de diffusion sur disque

III.8. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant de HES a été évalué in vitro en utilisant le test de piégeage du radical DPPH.

Principe

Le DPPH est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517 nm. En présence d'un antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration du DPPH du violet (forme radicalaire DPPH \cdot) au jaune (forme réduite DPPH-H) (figure-11-) Cette décoloration représente donc la capacité de l'échantillon à piéger ce radical [8].

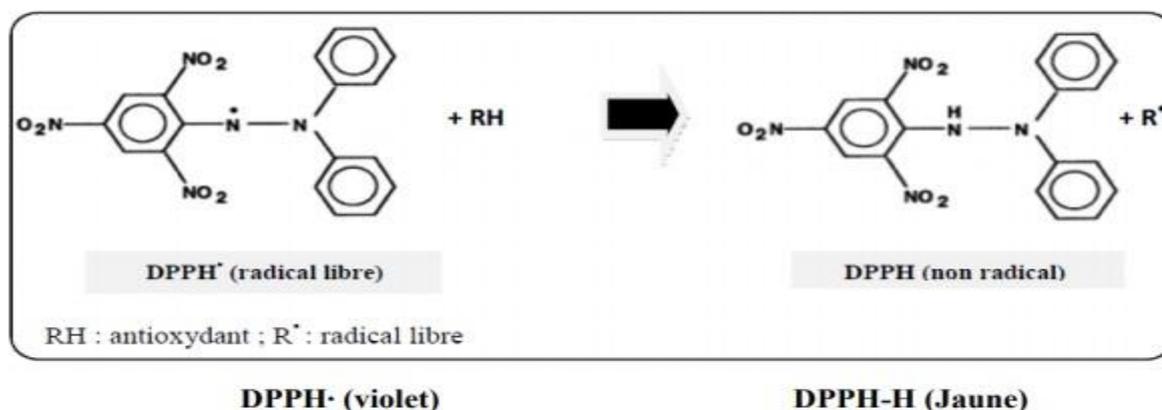


Figure-11- Structure chimique du DPPH \cdot et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.

Matériels utilisés

- ✓ L'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus globulus
- ✓ méthanol
- ✓ Les tubes à essais
- ✓ Les micropipettes (200 μ l, 1000 μ l)
- ✓ Porte tubes
- ✓ Solution de DPPH
- ✓ Spectrophotomètre UV-Visible.
- ✓ Bécher de 500ml

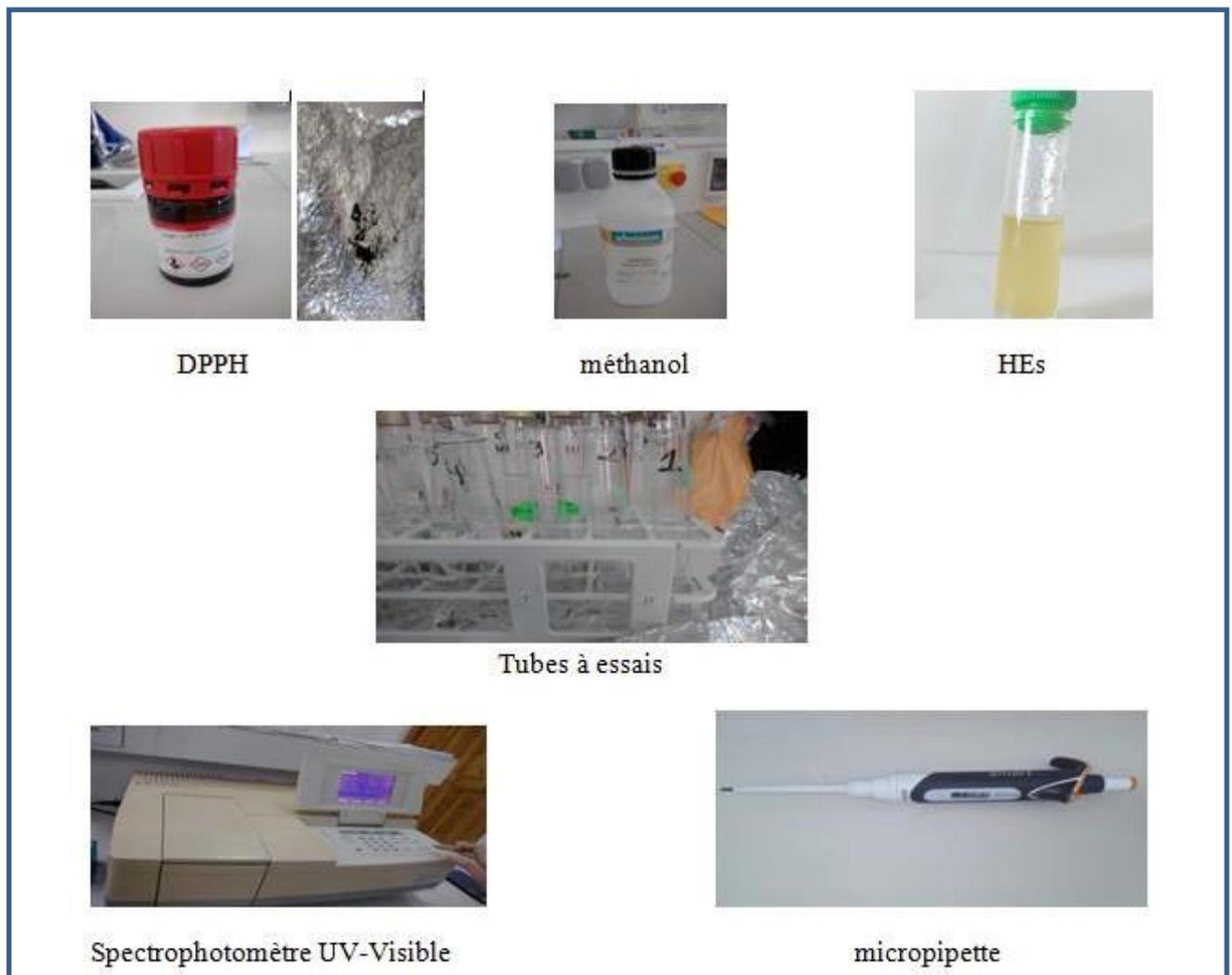


Figure-12-Matériels et produits utilisé

Mode opératoire

La solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 0,004g de DPPH dans 150 ml du méthanol, la couleur de la solution de DPPH est violette. On prépare par la suite, 12 tubes marqués sur le bouchon par l'ordre de décroissance (1 jusqu'à 12), contenant chacun 100µl de méthanol, dans le premier tube on introduit 100µl de notre huile essentielle HEs et on homogénéise bien puis à l'aide d'une micropipette on prend de chaque dilution 100µl et on le verse dans l'autre tube qui contient 100µl du méthanol et on homogénéise et on procède de la même manière jusqu'à la dernière dilution.

Les absorbances sont mesurées directement par le spectrophotomètre à 517 nm après l'avoir taré et remis à zéro par du méthanol. Après on détermine la cinétique de la réaction et les paramètres du calcul d'activité antioxydant pour notre huile essentielle. A partir d'une comparaison avec une référence préparée dans les mêmes conditions à base d'une vitamine C (un anti oxydant fort) [9].

III. 8. 1. Effet anti radicalaire du radical DPPH

L'activité antioxydant de HEs du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie suivant la réduction de ce radical qui se traduit par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 517 nm. Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire le DPPH, ce qui conduit au 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) [8].

III. 8. 2. Calcule du pourcentage d'inhibition

L'absorbance lue est transformée en pourcentage d'inhibition par rapport à l'absorbance de la solution témoin comme suit :

$$I\% = [(abs\ contrôlée - abs\ test) / (abs\ contrôlée)] \times 100$$

Avec:

- ✓ I% : pourcentage d'inhibition (pourcentage de l'activité anti-radicalaire) ;
- ✓ Abs contrôlée : c'est l'absorbance de l'échantillon mesuré comme témoin négatif ;
- ✓ Abs test : c'est l'absorbance de chaque échantillon (composé d'essai) ;

Tous les essais ont été effectués en triple , la cinétique des réactions de l'HE des feuilles de E.globulus avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée

Les concentrations en HE des feuilles Eucalyptus globulus en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction [11].

CHAPITRE IV
RESULTATS ET
DESSCUTION

IV.RESULTATS ET DESSCUTION

IV .1.Testes phyto chimique

IV .1.1.Testes des alcaloïdes et coumarines

Résultats : Tableau 3 : Résultats des tests alcaloïde et coumarine

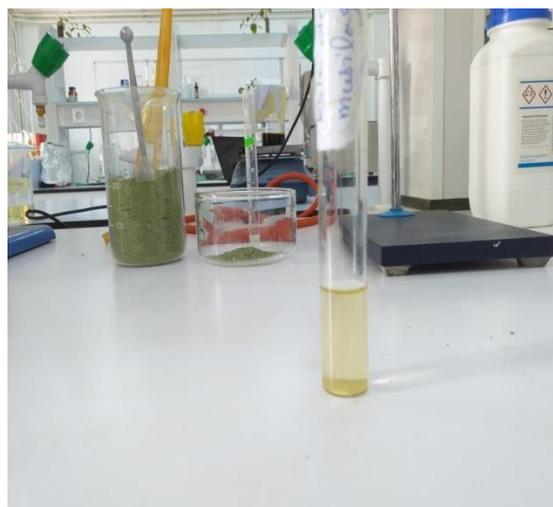
Alcaloïdes	-
Coumarines	+
Mucilage	+



Alcaloïde



coumarine



Mucilage

Figure-13- figure montre les résultats des tests des alcaloïdes, coumarines et mucilage

Discussion

Les résultats obtenus montrent la richesse de notre plante en coumarines car on a remarqué un changement de couleur de notre décocté vers le noir et une absence totale des alcaloïdes par ce que y a pas de précipitation, La formation de précipita prouve l'existence de mucilage dans la plante de *eucalyptus globulus*.

IV .1.2.Test d'indice de mousse

Résultats

Tableau 4 : Résultats de test de mousse

N° de Tube	Hauteur de mousse (mm)
1	1
2	2
3	2
4	3.5
5	2.5
6	5.5
7	3
8	3
9	3
10	3.5



Figure-14- figure montre le résultat d'indice de mousse

Discussion

D'après les résultats obtenus on n'a pas pu calculer l'indice de mousse car on n'a pas une hauteur de 1 cm, donc notre plante à une faible quantité de saponosides.

IV .2. Testes physico chimique sur la plante**IV .2.1. Perte a la dessiccation****Résultats****Tableau 5 : Résultat de test perte a la dessiccation**

P₁ : poids initial de l'échantillon (g)	P₂ : poids de l'échantillon après séchage (g)	P_D : Perte a la dessiccation(%)
1.0033	0.8983	10.46

Discussion

D'après le teste de perte a la dessiccation on a obtenu un résultat qui nous montre la teneur d'humidité des feuilles de *Eucalyptus globulus*, P_D égale à 10,46%.

IV .2.2. Dosage des cendres, cendres sulfuriques et chlorhydriques :**Résultats****Tableau 6**

TEST 1	Echantillon	CT(%)	Norme(%)
dosage des cendres totales	1g de poudre de matière végétal	3.63 ±0,9	<6%
TEST 2	Echantillon	CS(%)	Norme(%)
Cendre sulfurique	1g de poudre de matière végétal	10,85±0,26	<6%
TEST 3	Echantillon	CC(%)	Norme(%)
Cendre chlorhydrique	1g de poudre de matière végétal	6,01±1,4	<0.5%

Discussion

les résultats obtenus des cendres sulfuriques et chlorhydriques, indiquent une forte contamination par la poussière ou le sable.

IV.3. La Cinétique et le rendement de l'HEs *E. globulus*

Résultat

Tableau 7: Rendement d'extraction de HEs *E. globulus*

Echantillon	Le rendement (%)
Feuille d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	1.04 ±0.06



Figure-15- HEs de *Eucalyptus globulus*

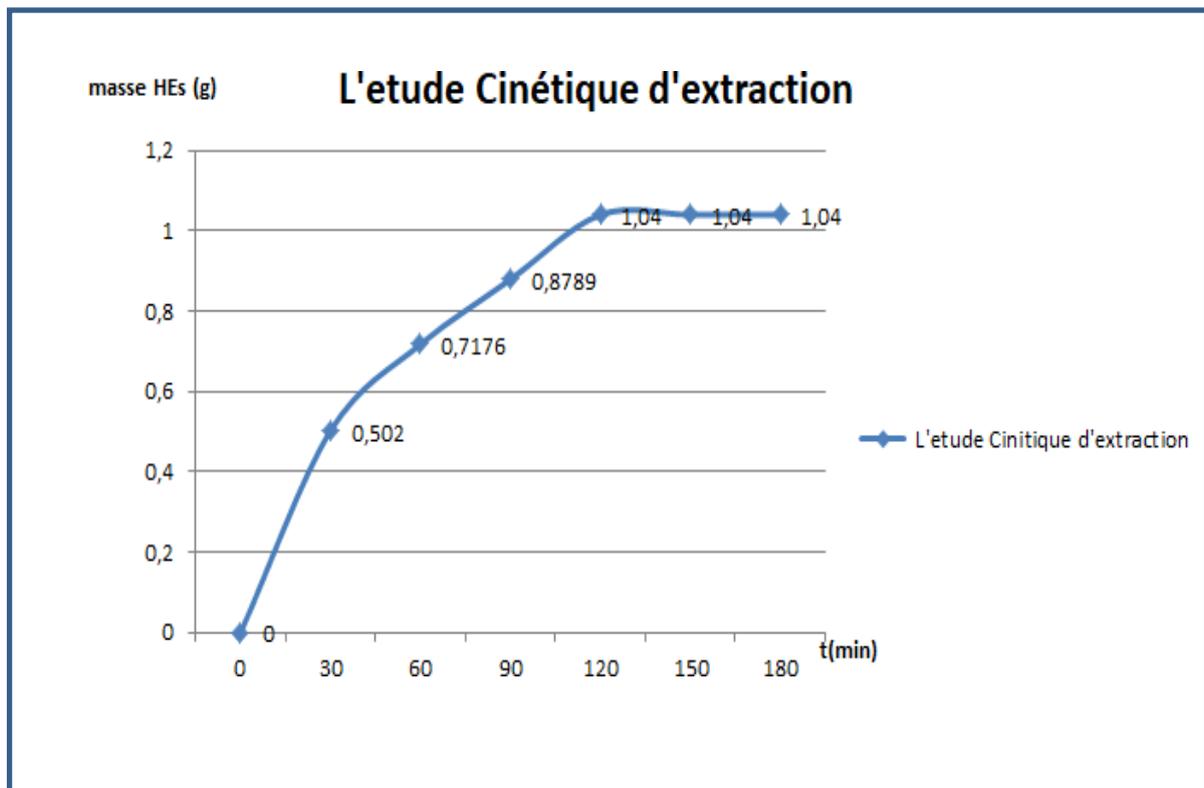


Figure-16-L'etude cinétique d'extraction

Discussion

D'après ces résultats, nous avons remarqué que la quantité de l'HEs augmente avec le temps jusque à une stabilisation après 120 min de distillation.

IV .4. Testes physico chimique sur l'HEs

IV .4.1. L'indice de réfraction et la densité

A température ambiante 25C°

Résultat

Tableau 8 : Valeur d'indice de réfraction et de densité

L'indice de réfraction	1,4734
La densité	0,8979 g /cm³

Discussion

L'analyse statistique nous a permis de calculer l'indice de réfraction et la densité de notre l'huile essentielle. L'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice plus élevé, l'indice de réfraction et la densité ne sont pas affectés par la variation des saisons, Pour certains auteurs, un faible indice de réfraction de l'HEs indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques.

IV.4.2. Indices d'acide et d'ester et saponification:

Résultats

Tableau 9 : Résultats d'indices d'acide et d'ester

Indice d'acide	6.1721
Indice d'ester	331.2705
Saponification	337.4426

Discussion :

L'indice de saponification de l'huile essentielle de l'eucalyptus est de 337.4426 .cela implique que cette l'huile contient une forte quantité d'acide gras a un important poids moléculaire. L'indice de saponification rend compte de la longueur des hydrocarbonées des acides gras, plus le poids moléculaire est élevé plus l'acide de saponification est faible.

IV .5. Résultats de l'activité anti microbienne

Résultats

Tableau 10 : Résultats de l'activité anti microbiens

Les souches	Famille	Diamètre (mm) d'inhibition	Effet
Bactérie Staphylococcus	Micrococcaceae	12 ±0,9	++
Bactérie Escherichia coli	Enterobacteriaceae	11 ± 1,4	++
Bactérie Pseudomonas	Pseudomonadaceae	8 ±1,2	+
Champignon fusariums sp ₂	Nectriaceae	7,5 ±0,7	+
Champignon Cladosporium	Cladosporiaceae	8 ±0,8	+
Champignon L'Aspergillus sp	Trichocomaceae	7 ±0,3	+
Champignon fusariums sp ₁	Nectriaceae	7 ±0,5	+
Champignon Altarmara	-----	6 ±0,0	+

+ : Faible effet ; ++ : Fort effet ;

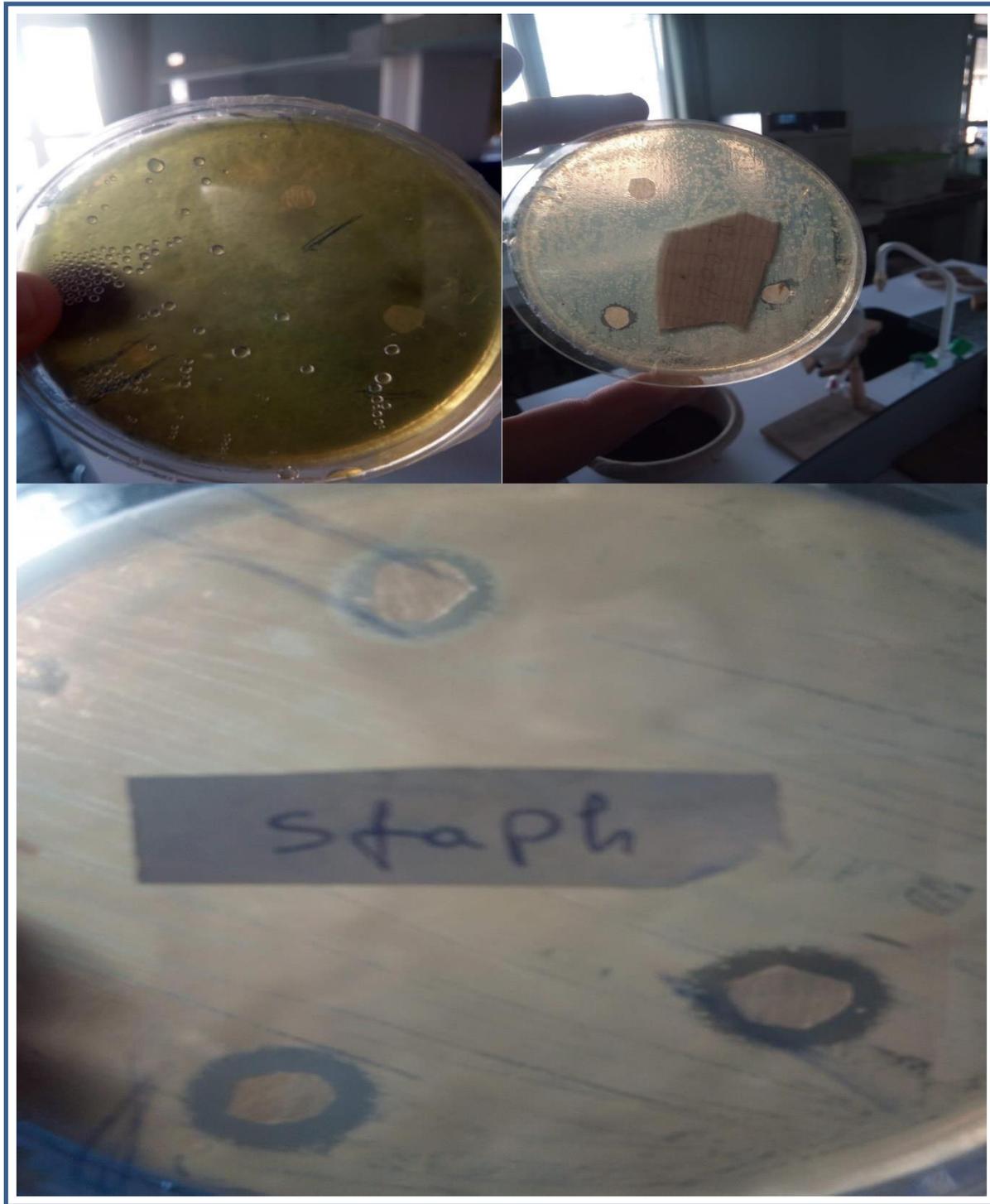


Figure-16-L'effet de HEs de *eucalyptus globulus* sur les bactéries

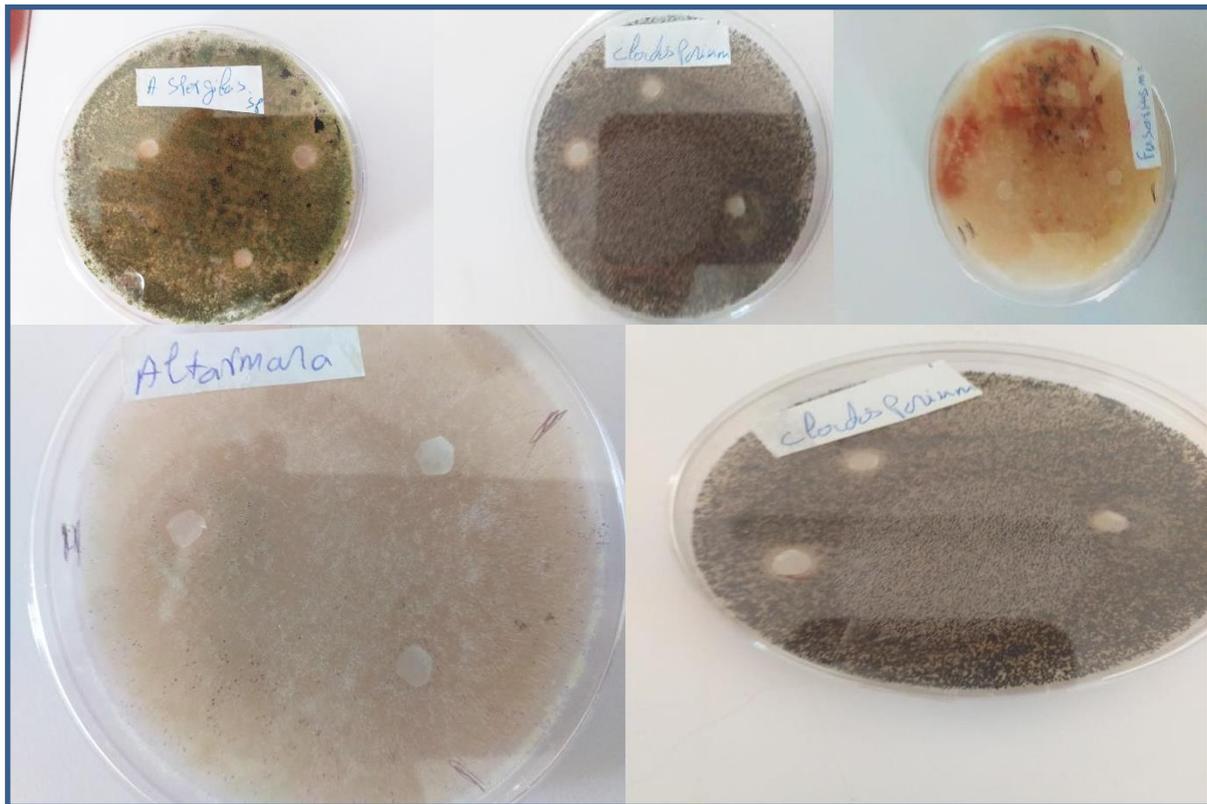


Figure-17-L'effet de HEs de *eucalyptus globulus* sur les champignons

Discussion

Le diamètre moyen de la zone d'inhibition observé autour des disques imprégnés de l'HEs pure, après 24h d'incubation à 37C° pour les bactéries et après 4jour pour les champignons, ainsi que leurs diamètres d'inhibitions sont résumés dans le tableau. L'HEs pure de *eucalyptus globulus* présente des activistes sur toutes les souches bactériennes et champignons testés, les diamètres d'inhibitions varient de 6 à 12 ±0,9mm le plus grand diamètre d'inhibition obtenu avec l'HEs de *eucalyptus globulus* contre *staphylococcus* et les petits diamètres d'inhibitions contre : Bactérie *Pseudomonas*, Champignon *Cladosporium*, Champignon *L'Aspergillus sp*, Champignon *Altarmara*.

L'HEs de *eucalyptus globulus* a une faible résistance sur les champignons.

IV .6. Résultats d'activité antioxydante

Résultats

On a interprété les résultats de test antioxydant avec deux tableaux et deux graphes qui nous montrons la cinétique de l'inhibition par rapport aux concentrations de l'HEs de l'eucalyptus globulus, plus une comparaison avec une référence vitamine c (antioxydant fort).

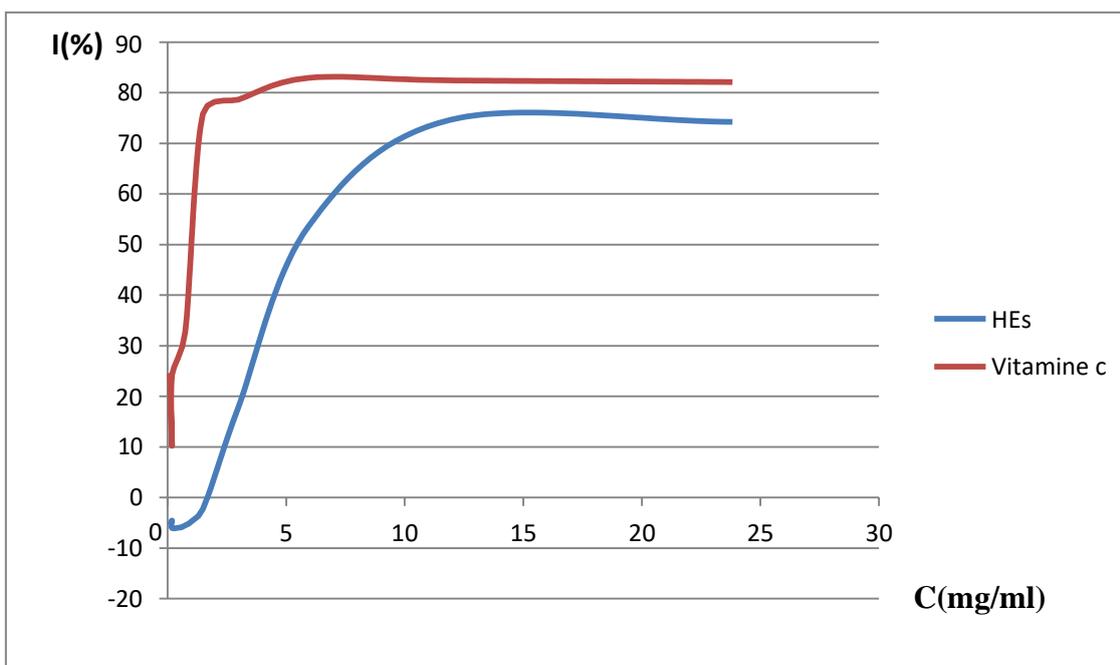


Figure-18- Graphe montre l'étude cinétique de l'inhibition para apport à la concentration

Discussion

D'après les deux graphes obtenus de la cinétique de l'inhibition par rapport aux concentrations de l'HEs et la vitamine c comme référence, tout d'abord on remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile essentielle est inférieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées. Ensuite l'augmentation des concentrations de HEs.

De l'intervalle :

- ✓ [0 à 2mg/ml] il n'est ya pas de changement de pourcentage d'inhibition (faible);
- ✓ [2 à 12mg/ml] on a une croissance de pourcentage d'inhibition par rapport à l'augmentation de la concentration de HEs;
- ✓ [12 à 24mg/ml] on remarque une stabilisation de graphe a un pourcentage d'inhibition maximal qui égale à $74,59 \pm 0,29\%$

On peut conclure que l'HEs de *eucalyptus globulus* a un effet antioxydant important par rapport à la vitamine c (référence) .

La valorisation des HEs dans l'industrie alimentaire passe par une étape préliminaire de détermination de leur composition chimique (pour les caractériser, et pour mettre en évidence leur éventuelle spécificité), ainsi que par l'étude de leur propriétés biologiques, afin de les utiliser comme agent antioxydant et conservateur, qui permettraient de prévenir le phénomène d'oxydation lipidique qui aboutit au rancissement et la prolifération des micro-organismes. Ces derniers sont responsables des altérations organoleptiques et des intoxications alimentaires.

Les HEs peuvent même être utilisées comme aromatisant grâce à leur propriété odorante, ce qui leur permet de remplacer les additifs, surtout que ces derniers sont pour la plupart d'origine synthétique, et leurs conséquences sur la santé publiques sont néfastes. L'extraction des HEs des feuilles d'E. globulus a été réalisée par hydrodistillation avec un pourcentage de $1.42 \pm 0.21\%$.

L'évaluation de l'activité antioxydante de HEs a été réalisée par la méthode de réduction du DPPH•, qui a donné un pourcentage d'inhibition important égale à $74,59 \pm 0,29\%$.

Concernant l'activité anti microbienne l'HEs de E. globulus a un pouvoir importants aussi contre les bactéries et les champignons vu les résultats que on a obtenu sur les trois déférentes souches microbiennes et Cinque déférentes souches de champignons avec un pourcentage varie entre 6 à $12 \pm 0,9$.

En fin, nos résultats indiquent que l'HE de E. globulus est douée d'une activité antioxydante, et antimicrobienne intéressantes. Nous pouvons conclure qu'elle pourrait être un agent antioxydant et conservateur très prometteur pour l'industrie alimentaire capable d'empêcher l'oxydation des aliments et de réduire la croissance microbienne responsable de l'altération des denrées alimentaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] **Zrira S., El khiran F., Benjllal B. (1994).** Huiles essentielles de six espèces xérophytes d'Eucalyptus: effet du milieu sur les rendements et la composition-chimique. Actes Inst. Agron. Veto (Maroc), Vol. 14 (1): 5 – 9

[2] **Paul. S, Ferdinande. P(2006)** : Guide des plantes médicinales (Analyse, description et utilisation de 400 plantes). DELACHAUX et NIESTLE.

[3] **Yves. M (2003):** Petit Larousse de la médecine.1^{ère} éd. Edith Ybert. 705.

[4]**Bechaalany. P** : L'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal, European School of Animal Osteopathy. 2005 pp 10,11.

[5]**Wchet. M, Antom. R** : Plantes thérapeutiques (tradition, pratique, officinale, science etthérapeutique). Ed. Tec et Doc.

[6]**Laouer. H (2004):** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif.Bejaia. Djelfa. Thèse de doctorat en écologie végétale. Uni. Sétif.

[7]**Penchev P.I. (2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de Doctorat en: Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. P 9, P17, P19

[8]-**Pastre J., Priymenko N(2007)** .Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. Revue Méd. Vêt., 158, 4, 180-189

[9]-**Pal Singh H., Kaur S, Negi K., Kumari S., Saini V., Batish R D., Kumar Kohli R. (2012)** Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus citriodora (lemonscented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. LWT - Food Science and Technology 48: 23-241

[10]-**Makhloufi A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydant de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctotrat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen. P 64, 65, 66,67, 74

[11]-**Geethalakshmi R.; Sarada D.V.L (2013).** Evaluation of antimicrobial and antioxidant activityof essential oil of Trianthema decandra L. Journal of pharmacy research 6- 101 -106

[12]-Zrira S., El khiran F., Benjlal B.(1994). Huiles essentielles de six espèces xérophytes d'Eucalyptus: effet du milieu sur les rendements et la composition-chimique. Actes Inst. Agron. Veto (Maroc), Vol. 14 (1): 5 – 9

[13]-Tyagi A.,Malik A.Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.Food Chemistry 126 (2011) 228–235

[14]-Daroui-Mokaddem H. (2012). Etude phytochimique et biologique des espèces Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrnum olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et chrysanthemum trifurcatum (asterarceae).Thèse de doctorat en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba.P8,14,28

[15]-AFNOR, Association française de normes normalisation, recueil de norme français. « Huile essentielles, AFNOR, paris AFNOR NF T75-006.2000».

[16]-Mahamane Baoua, joel Eayn-Marie Bessiére. (1991).Essais phytochimique sur quelque plantes médicinales du Niger.Plantes et thérapie,tomeX,n°4,251-266pp

Annexe:

Bactéries :

- ✓ Staphylococcus : Famille des Micrococcaceae, Ils s'organisent en groupes et en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive Pathogène le plus fréquent (infections nosocomiales), car ubiquitaire et virulent [10].
- ✓ Escherichia coli : appartient à la famille des Enterobacteriaceae, c'est un hôte normal de la flore intestinale. Cette bactérie est un bacille Gram négatif à mobilité péritriche. En industrie agroalimentaire, E. coli est particulièrement contrôlée. En effet, il est un bon indicateur de la contamination fécale d'un aliment lors de son processus de fabrication. Cette espèce ordinairement commensale est entéropathogène par l'expression de facteurs de virulence éventuellement acquis et /ou constitutifs [11].
- ✓ Pseudomonas : Les bacilles du genre Pseudomonas sont des bactéries en forme de bâtonnets droits ou courbés, à Gram négatif, à oxydase positive, et strictement aérobies, bien que dans certains cas, elles peuvent utiliser le nitrate comme accepteur d'électrons. Certains membres du genre Pseudomonas sp sont psychrophiles, tandis que d'autres synthétisent des sidérophores fluorescentes de couleur jaune-vert. Les espèces Pseudomonas ont en commun la présence de plasmides et ne forment pas de spores [11].

Champignons :

- ✓ Les fusariums : Les espèces de Fusarium sont bien connues pour être des contaminants communs et des pathogènes des plantes; elles peuvent aussi causer diverses infections chez l'homme. Elles sont surtout reconnues en tant que productrices de puissantes mycotoxines [11].
- ✓ Cladosporium : Le genre Cladosporium est l'un des mycètes environnementaux les plus communs trouvés dans le monde entier. Le C. herbarum et le C. cladosporioides sont les espèces les plus souvent trouvées dans l'environnement extérieur et dans l'environnement intérieur; ce sont aussi des espèces communes du milieu intérieur parfois associées à des problèmes de santé. L'information contenue dans cette fiche portera sur ces deux espèces, à moins d'indication contraire [10].
- ✓ L'Aspergillus : L'Aspergillus a été associé à chacun des types de problèmes de santé attribués aux moisissures environnementales : irritation et inflammation, allergie, asthme, pneumonite, effets toxiques ainsi que toute la gamme des infections fongiques.

Des infections ont été rapportées touchant chaque site anatomique et chaque type de tissu, excepté les ongles. L'Aspergillus fumigatus est l'agent principal de l'aspergillose chez les patients présentant une altération de l'immunité naturelle. L'exposition à cette espèce se fait la plupart du temps par l'inhalation d'air contaminé

par les moisissures présentes sur de la matière végétale en décomposition, des grains contaminés ou des aérosols d'eaux résiduaires[10]..

Altarmara

Préparation milieux de culture PDA :

Le milieu de culture PDA est favorable pour la croissance des champignons phyto - pathogènes. A chaque préparation, une dose de 0,4 g de sodium acide a été ajouté dans 1 l de milieu pour limiter les contaminations bactériennes des milieux de culture.

Voici le protocole utilisé pour la préparation de milieu de culture pour la croissance des champignons :

Constituants :

- ✓ 200 g de Pomme de terre ;
- ✓ 20g de glucose ;
- ✓ 20 g d'agar – agar ;
- ✓ gélose ou de gélatine ;
- ✓ 1 litre d'eau ;

Préparation :

- ✓ 1. Dissoudre 20g d'agar-agar dans 300 ml d'eau distillée, homogénéiser la solution.
- ✓ 2. Peser 200g de pomme de terre, éplucher la pomme de terre, mélanger 200g de pomme de terre bien découpé avec 300 ml d'eau distillée,
- ✓ 3. bouillir à 100° C pendant 20 à 25 minutes, ensuite recueillir l'eau de la pomme de terre environ 300 ml.
- ✓ 4. Le 300 ml de l'eau venant de la pomme de terre est mélangé à 300 ml de la solution agar - agar.
- ✓ 5. Ajuster ensuite le volume du mélange au moyen de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml.
- ✓ 6. Auto - claver le mélange à la température de 125° C, la pression de 1,4 bar pendant 15 minutes.
- ✓ 7. Sous hotte à flux laminaire, couler la solution obtenue sur des boîtes de Pétri.
- ✓ 7. Laisser sécher pendant 24 à 48 heures [11].

Réactif de dragen droff :

- ✓ Solution a : 0,85g de nitrate de bismuth +40 ml d'eau distillée+10ml d'acide acétique.
- ✓ Solution b : 8g d'iode de potassium +2ml d'eau distillée.
- ✓ On mélange a+b
- ✓ 15 ml de mélange+20 ml d'acide acétique puis compléter a 100 ml de l'eau distillée.

Résumé :

Eucalyptus globulus est une plante très connue pour ses vertus thérapeutiques et assainissantes. Dans le but de mettre en valeur les huiles essentielles (HEs) de ses feuilles et de son fruit, nous avons étudié leur composition, et leurs propriétés biologiques. L'extraction des HEs a été réalisée par hydrodistillation avec un appareil de type clevenger. Les feuilles ont donné un rendement de $1.04 \pm 0.06 \%$.

Les résultats de l'activité antioxydante prouvent que avec une concentration de HEs de l'eucalyptus globulus de 24mg/ml pour les tests du DPPH donne un meilleur pourcentage d'inhibition qui t'égale à $74,59 \pm 0,29\%$, L'activité antibactérienne a révélé un effet inhibiteur des huiles essentielles vis-à-vis de toutes les bactéries et champignons testées avec des valeurs varie entre 6 à $12 \pm 0,9$ mm . Les résultats de notre étude confirment les propriétés biologiques des HEs des feuilles de la plante E. globulus.

Abstrac :

Eucalyptus globulus is a plant well known for its therapeutic and sanitizing properties. In order to highlight the essential oils (HEs) of its leaves and its fruit, we studied their composition, and their biological properties. The extraction of the HEs was carried out by hydrodistillation with a device of the clevenger type. The leaves gave a yield of $1.04 \pm 0.06\%$.

The results of the antioxidant activity show that with a concentration of eucalyptus globulus HEs of 24mg / ml for DPPH tests gives a better percentage inhibition which equates to $74.59 \pm 0.29\%$, Antibacterial activity revealed an inhibitory effect of essential oils on all tested bacteria and fungi with values ranging from 6 to 12 ± 0.9 mm. The results of our study confirm the biological properties of the HEs of the leaves of the E. globulus plant.

ملخص :

الكاليتوس غلوبولوس هو نبات معروف بخصائصه العلاجية والمطهرة. من أجل استخلاص زيوته الأساسية من أوراقها، درسنا تكوينها، وخصائصها البيولوجية. وقمنا باستخلاصها بواسطة التقطير المائي باستخدام جهاز من النوع كليفانجر أعطت النتائج التالية: نسبة مئوية تقدر ب: $0.06 \pm 1.04 \%$. تظهر نتائج نشاط مضادات الأكسدة أنه بتركيز زيت الطيارة من 24 مجم / مل من اختبارات DPPH يعطي نسبة أكسدة أفضل تعادل $74.59 \pm 0.29 \%$ ، النشاط المضاد للبكتيريا عن تأثير تثبيت زيت الطيارة الأساسية على جميع البكتيريا والفطريات التي أعطت النتائج من 6 إلى 12 ± 0.9 ملم. وهذا يؤكد أن زيت الطيارة للكاليتوس لها تأثير فعال ضد الأكسدة و البكتيريا و الفطريات.