REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES CIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité: Microbiologie Appliquée

par :
BARAKAT Hadil
MADANI Rofeida
MOUISSI Ahlam

Thème

Variation intraspécifique et évaluation de certaines activités biologiques, en particulier l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits de l'*Eucalyptus sideroxylon.*

Soutenu publiquement le :26 /06/2024., Devant le jury composé de

KIRAOUANI Abderezak	**MCA**	U.Médéa	Président
BENDOUMIA Houda	**MCA**	U. Médéa	Examinatrice
BOUKHALFOUN Leila	**MCA**	U.Médéa	Encadrant
KIRDI Rachida	**MCB**	U. Médéa	Co-Encadrant

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Au terme de cette étude, nous remercions avant tout Dieu le Tout Puissant, de nous avoir donné la foi et le courage et de nous avoir guidés pour l'accomplissement de ce travail. Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien que nous avons reçu de la part de nombreuses personnes. C'est avec un grand plaisir que nous tenons donc à remercier :

Un grand merci à Mr Kirouani Abdelrazak,.ils ont grandement facilité notre travail.

Nous remercions les membres du jury qui ont accepté l'analyse et la correction de ce travail de recherche : Présidente du jury,Mr Kiraoni Abdelrazak MCA , Examinatrice,Madam Bendounia Houda MCA, Encadrant, Madam Boukhalfoun Leila MCA, et Co_Encadrant, Madam Kirdi rachida MCB.

Nous remercions en fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces quelques lignes et qui ont contribués de près ou de loin par leur aide au bon déroulement de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travaille

À

ceux qui m'ont donné la vie, l'amour et le soutien.

mon père Rabeh et ma mère Hakima.

cet accomplissement est le fruit de vos sacrifices et de vos efforts constants. Vous êtes la raison de chaque pas réussi que j'ai fait.

À

mes frères: Lamiss, Mohamed Anis et Rahef

À

qui nous a quittés trop tôt mais reste vivant dans mon cœur et mes pensées, mon cher cousin, qui était plus qu'un frère pour moi. Cet hommage t'est spécialement dédié. Que Dieu te repose en paix.

À

mes amis d'enfance et d'études, en particulier Chaima, chahinez et ma chère cousine Khaoula.

À

toute ma famille, un merci spécial pour votre amour et votre soutien.

À

tous ceux qui j'aime et À toutes les personnes qui m'ont prodigué des encouragements.

Hadil

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes parents bien-aimés, Tahar et Fatima, Qui m'ont donné le merveilleux cadeau de la vie, entouré d'un amour inconditionnel et d'un soutien sans faille.

À ma sœurs et frères, En particulier à ma petite sœur Jinane, qui a su apporter de la joie

À mes amies ,et a toute ma famille, Qui ont partagé les bons comme les mauvais moments, et qui m'ont soutenu inconditionnellement. Votre amitié précieuse a été d'un grand réconfort.

À mon père, Qui a toujours été un pilier de force et de sagesse dans ma vie. Merci pour ton soutien indéfectible, tes encouragements et tes sacrifices qui m'ont permis d'atteindre ce niveau d'accomplissement.

Rofeida

Dédicace

Mon profonds remercie à mon cher père « Ahmed »,

que j'admire beaucoup, qui m'ont toujours aidés dans ma vie et qui n'ont

cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que

dieu le garde en bonne santé.

A mes chères sœurs, chacune en son nom, surtout Amira, vous êtes le modèle de la sœur gentille que je

trouve dans les moments difficiles,

merci pour votre soutien et vos encouragements, je vous aime.

A mes chères frères Faysel et Djaloule, je vous aime

A tous ma famille

A tous mes chères amies chacune en son nom, merci

A mes partenaires Rofieda et Hadil

qui sont partagées avec moi les moment difficiles pour réaliser ce travail, merci beaucoup

A tous ceux qui m'ont soutenu dans ce travail de près ou de loin, merci

ahlam

Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer les propriétés biologiques des extraits de feuilles de l'Eucalyptus sideroxylon, en particulier les propriétés antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles extraites de différentes régions. Les huiles essentielles ont été extraites en utilisant la technique de l'hydrodistillation, et l'extrait éthanolique des feuilles d'Eucalyptus a également été préparé par macération.

Les résultats de l'extraction ont montré que le rendement le plus élevé en huiles essentielles a été obtenu dans la région de Bougzoul pour la sous espèce à fleurs blanches avec une valeur de 2,22%. Le meilleur rendement pour l'extrait éthanolique a été obtenu dans la région de Bougzoul pour la sous espèce à fleurs rouges, atteignant 78%. Les résultats des analyses physico-chimiquesdes huiles essentielles étaient relativement similaires aux normes AFNOR.

L'évaluation de l'effet antimicrobien des huiles essentielles vis à vis les différentes souches bactériennes a montré que les huiles des régions de Bougzoul et de Boumerdès fleurs rouges, avaient l'effet le plus significatif par rapport aux autres régions. L'huile de Bougzoul a montré un effet notable sur Bacillus subtilis et Staphylococcus epidermidis (14,5 mm), tandis que celle de Boumerdès a montré un impact sur Bacillus subtilis (14,5 mm) et Candida albicans (29,5 mm).

Le test d'hymolyse des globules rouges a montré que les extraits ne présentent aucune toxicité vis-à-vis les globules rouges humains. De même, l'étude de la stabilité de la membrane des globules rouges in vitro a montré que les taux de stabilité étaient similaires à ceux obtenus par diclofénac des extraits. exprimant ainsi l'effet anti-inflammatoire des extraits.Cette stabilité membranaire s’exprime par un effet anti-inflammatoire des extraits.

Les résultats de l'étude sur l'extrait de l'Eucalyptus sidroxylon ont révélé un effet inhibiteur prometteur sur l'enzyme alpha-amylase. Cette inhibition pourrait contribuer à ralentir la libération de glucose dans le sang, ce qui est bénéfique pour la gestion du diabète. Parmi les différentes régions étudiées, l'extrait de la région "Bougezoul fb" s'est démarqué en présentant le pourcentage d'inhibition le plus élevé à 98,9%. Cependant, l'extrait de la région "Medea fb" a montré le pourcentage d'inhibition le plus faible, soit 9,96%. Ces résultats soulignent le potentiel de cet extrait naturel comme agent antidiabétique potentiel.

Mots clés :: Eucalyptus sideroxylon, huile essentielle, extrait éthanolique, effet antimicrobien, anti inflammatoire, anti diabétique ,Nord centre de l'algérie .

abstract

The objective of our work is to evaluate the biological properties of Eucalyptus sideroxylon leaf extracts, particularly the antibacterial and antifungal properties of essential oils extracted from different regions. The essential oils were extracted using the hydrodistillation technique, and an ethanolic extract of eucalyptus leaves was also prepared.

The extraction results showed that the highest yield of essential oils was obtained in the Bougzoul region for the white-flowered subspecies with a yield of 2.22%. The best yield for the ethanolic extract was obtained in the Bougzoul region for the red-flowered subspecies, reaching 78%. The results of the physicochemical analyses were relatively similar to AFNOR standards.

The evaluation of the antibacterial effect of essential oils against different bacterial strains showed that the oils from the Bougzoul and Boumerdès red flower regions had the most significant effect compared to others. The Bougzoul oil showed a notable impact on Bacillus subtilis and Staphylococcus epidermidis (14.5 mm), while the Boumerdès oil showed an impact on Bacillus subtilis (14.5 mm) and Candida albicans (29.5 mm).

The red blood cell hemolysis test showed that the extracts do not exhibit any toxicity towards human red blood cells. Similarly, the study of the stability of the red blood cell membrane in vitro showed that the stability rates were similar to those obtained from diclofenac from the extracts, thus expressing the anti-inflammatory effect of the extracts. This membrane stability is expressed by an anti-inflammatory effect of the extracts.

The results of the study on the Eucalyptus sideroxylon extract revealed a promising inhibitory effect on the alpha-amylase enzyme. This inhibition could contribute to slowing down the release of glucose into the blood, which is beneficial for diabetes management.

Among the different regions studied, the extract from the "Bougezoul fb" region stood out with the highest inhibition percentage of 98.9%. However, the extract from the "Medea fb" region showed the lowest inhibition percentage of 9.96%. These results highlight the potential of this natural extract as a potential antidiabetic agent.

Key words: Eucalyptus sideroxylon, essential oil, ethanolic extract, antimicrobial effect, anti-inflammatory, anti-diabetic, North center of Algeria.

ملخص

الهدف من عملنا هو تقييم الخصائص البيولوجية لمستخلصات أوراق Eucalyptus sideroxylon : ، وخاصة الخصائص المضاد للبكتيريا والفطريات للزيوت الأساسية المستخرجة من مناطق مختلفة. تم استخراج الزيوت الأساسية باستخدام تقنية التقطير البخاري ، كما تم أيضًا تحضير المستخلص الإيثانولي لأوراق.Eucalyptus

اظهرت نتائج الاستخراج أن أعلى عائد للزيوت الأساسية تم الحصول عليه في منطقة بوجزول للأنواع الفرعية ذات الأزهار البيضاء بعائد بلغ 2.22٪. تم الحصول على أفضل عائد للمستخلص الإيثانولي في منطقة بوجزول للأنواع الفرعية ذات الأزهار الحمراء ، حيث بلغت 78٪. كانت نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية متشابهة نسبيًا مع معايير AFNOR.

أظهر تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية تجاه سلالات البكتيريا المختلفة أن الزيوت من مناطق بوجزول وبومرديس أزهار حمراء ، كان لها التأثير الأكثر أهمية مقارنة بغيرها. أظهرت زيت بوجزول تأثيرًا ملحوظًا على Bacillus subtilis و (14.5) Staphylococcus epidermidisمم) ، بينما أظهر زيت بومرداس تأثيرًا على Bacillus subtilis (14.5)مم و(29.5) Candida albicans مم.

أظهر اختبار حل كريات الدم الحمراء أن المستخلصات لا تظهر أي سمية تجاه كريات الدم الحمراء البشرية. وبالمثل ، أظهرت دراسة استقرار غشاء كريات الدم الحمراء في المختبر أن معدلات الاستقرار كانت مماثلة لتلك التي تم الحصول عليها من الديكلوفيناك من المستخلصات. مما يعبر عن التأثير المضاد للالتهابات للمستخلصات. يُعبر عن هذا الاستقرار الغشائي بتأثير مضاد للالتهابات للمستخلصات.

كشفت نتائج الدراسة على مستخلص Eucalyptus sideroxylon : عن تأثير مثبط واعد على إنزيم ألفا-أميليز. يمكن أن يساهم هذا التثبيط في إبطاء تحرير الجلوكوز في الدم ، مما يعد مفيدًا لإدارة مرض السكري. من بين المناطق المختلفة التي تمت دراستها ، تميز مستخلص منطقة "بوجزول ازهار بيضاء" بأعلى نسبة مئوية للتثبيط بلغت 98.9٪. ومع ذلك ، أظهر مستخلص منطقة "المدية ازهار بيضاء" أدنى نسبة مئوية للتثبيط ، وهي 9.96٪. تُبرز هذه النتائج إمكانات هذا المستخلص الطبيعي كعامل محتمل لمكافحة مرض السكري.

الكلمات المفتاحية :

الكينا الحديدي، زيت عطري، مستخلص إيثانولي، تأثير مضاد للميكروبات، مضاد للالتهابات، مضاد لمرض السكر، مركز شمال الجزائر .

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

E: Eucalyptus.

HEs: Huiles Essentielles.

PH: potentiel d'Hydrogène.

R(%): Rendements en huiles essentielle /Extraits.

DMSO : dimethylsulphoxide

MH : Mueller Hinton.

Mm : millimètres.

Ml : millilitre.

ul : microlitre.

DO : Densité Optique.

Liste des figures

Figure I .1 : Nombre et pourcentage d'espèces de plantes médicinales dans différents pays. ……7

FigureI. 2 : Méthode de l'enfleurage. ……..…...10

Figure I. 3 : méthode del'Hydrodistillation. ……..……..12

FigureI.4 : Structure chimique d'isoprène (C5H8)……...13

FigureI. 5 : Structure chimiques de quelques composés d'huile essentielle……..…14

Figure I. 6. Structure de l'acide gallique…….…….....18

FigureI. 7. Structure de l'acide caféique……..….....19

Figure I. 8 : Structure de base d'un flavonoïde……..……20

FigureI. 9 : Structure chimique de quelques coumarines……..…...21

Figure I.10 : Structure de coumarine simple……..…….21

Figure. I .11 : Quelques structures de la coumarine complexe…….....22

Figure II .1: Partie aérienne *d'eucalyptus sideroxylonaprès* séchage (des feuilles)….....28

Figure II. 2 : Photographie du dispositif utilisé pour l'extraction des *HEs* par hydro - distillation.(clevenger)……..…28

Figure II.3 : Photographie montrant la séparation des *HEs* par décantation……...29

Figure II.4 : refractomètre……...31

Figure II.5 : le changement de couleur à le roze après l'ajout de KOH……..……32

Figure II. 6 : Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum … 36

Figure II .7 :préparation de l'inoculum (suspensions bactérienne) ……....…….37

Figure I.8 :. Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne (photo originale)…….….38

Figure II .9 : l'Ensemencement par l'écouvillonage sur la surface du milieu PDA ….....40

Figure II .10 :le dépot les disques sur le milieu inoculé……....40

Figure II .11. préparation de la suspension des globules rouges humains……..…41

Figure III. 1 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge……..58

Figure III. 2 : .Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche……..…59

Figure III. 3 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleur rouge ……..…..60

Figure III. 4 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* Fleur blanche ……..…61

Figure III. 5 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleur rouge ……...……...64

Figure III. 6 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleur blanche…….65

Figure III. 7 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleur rouge …….....66

Figure III. 8 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleurblanche…….66

Figure III. 9 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure rouge……..69

Figure III. 10 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure blanche……...70

Figure III. 11 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure rouge…….……71

Figure III. 12 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure blanche ……..72

Figure III. 13 : Comparaison de l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fr)…….73

Figure III. 14 : Comparaison de l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fb)……74

Figure III. 15 : Comparaison de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fleur blanche)……...75

Figure III. 16 : Comparaison de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fleur rouge)…….….76

Figure III. 17 : Effets hémolytiques des extraits d'E.sideroxylon. ……77

Figure III. 18 : Résultats de l'effet des extraits *d'Eucaliptus sideroxylon* et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR……..…79

Figure III. 19 : la variation du pourcentage d'inhibition pour l'éxtrait d'eucalyptus sidroxylon de chaque région sur l'activité enzymatique de l'alpha-amylase……...81

Figure III. 20 : présentation de Lineweaver-Burk défférente extraits éthalonique…….82

Liste des tableaux

Tableau III .1 : caractéristique organoleptiques…….……48

Tableau III. 2 : Rendements d'HEs ……...….49

Tableau III.Résultats de rendement des extraits de la plante Eucalyptus Sideroxylon……..50

Tableau III.4 : Résultats des analyses physico-chimiques des HEs *d'E sidroxylon*……...61

Tableau III.5: screening phytochimiques de l'extraits d'eucalyptus sidroxylon …….....63

TableauIII.6: Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD ……56

Tableau III. 7 : Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD……57

Tableau III .8: Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD…….63

Tableau III .9: Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD……..……..64

Tabeau III. 10 : (Concentration X Souche bactérienne) fleur rouge…….....….68

Tableau III. 11 : (Concentration X Souche bactérienne) fleure blanche……68

Tableau III. 12 : Résultat de vm et km de tube de l'étalon (contrôle) 83

Tableau III.13 Résultats de vm et km des tubes contenantl'éxtrait *d'eucalyptus sidroxylon* ……83

Sommaire

résumé

▪Liste des abréviations

▪Liste des figures

▪Liste des tableaux

▪Introduction.....1

▪Revue Bibliographique.

I.1.Généralités sur les plantes médicinales…….....3

I.1.1.Historique.....3

I.1.2.Définition des plantes médicinales…….....4

I.1.3.Récoltes et conservation des plantes médicinales……..4

I.1.3.1 Récolte 4

I.1.3.2 Séchage 5

I.1.3.3 Conservation 5

I.1.4 La phytothérapie 6

I.1.4.1 Définition.....6

I.1.5 La diversité des plantes médicinales 7

I.2 l'Eucalyptus 8

I.2.1Généralité.....8

I.2.2 classification phylogénétique ……..……8

I.2.3Description botanique ……9

I.3Les métabolites secondaires 10

I.3.1 les huil esessentielles …….……10

I.3.1.1 Définition.....10

I.3.1.2 Méthodes d'extractions.....11

I.3.1.2.1 extraction par solvant.....11

I.3.1.2.2 Enfleurage.....12

I.3.1.2.3 Extraction par distillation turbo.....12

I.3.1.2.4 Distillation à la vapeur.....12

I.3.1.2.5 Hydrodistillation.....13

I.3.1.3 les rendements des huiles essentielles 14

I.3.1.4 composition chimique des huiles essentielles.....14

I.3.1.5 Propriétés biologiques des huiles essentielles.....17

I.3.1.5.1 Propriétés anti bactériennes.....17

I.3.1.5.2 Propriétés anti fongiques.....18

I.3.2 les composés phénoliques.....18

I.3.3 les flavonoïdes.....20

I.3.4 les coumarines.....21

I.3.5 les Alcaloïdes.....23

I.3.6 les quinones.....24

Chapitre II: Matériels et Méthodes

II-1- Présentation de la région d'étude…….25

II.2 Matériel 27

II.2.1 Matériels végétale.....27

II.1.1.1Descriprion de l'espèce Eucalyptus sideroxylon 28

II.1.1.2 Classification 28

II.2 Les souches microbiennes ……..…….... .29

II.3.Methodologie 30

II.3.1 Extracions des huiles essentielles d'eucalyptus sideroxylon.....30

II.3.2 Détermination du rendement 32

II..3.3 Analyse physico-chimiques.....32

II.3.3.1. Indice de refracrion.....32

II.3.3.3 L'indice d'acide ……..…...33

II.3.4 Preparation des extraits éthanolique.....34

II.3.5 Détermination du rendement des extrait 35

II.3.6 Scrining phytochimiques ……..35

II.3.7 Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles d'eucalyptus sideroxylon ……..……37

II.3.7.1 Evaluation de l'activité anti bactérienne.....37

II.3.7.2 Evalunion de l'activité antifongique.....40

II.3.7.3 Evaluation de l'activité anti inflammatoire in vitro.....42

II.3.7.4 Evaluation de l'activité anti diabétique.....45

Chapitre III: Résultats et Discussions

III.1 Étude analytique des huiles essentielles.....48

III.1.1 les caractères organoleptiques des huilles essentielles 48

III .1 .2Rendements d'HEs……49

III.1.3 caractères physico-chimiques des huiles essentielles.....50

III.2 Etude des extraits ethanoliques……..…….……51

III.2.1 Rendement de l'extrait éthanolique …….……51

III.2.2 Screening phytochimique…….……52

III.3 Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles d'Eucalyptus sideroxylon……54

III.3.1 Evaluation de l'activité anti bactérienne.....54

III.3.2 Evaluatuon de l'activité antifongiques 66

III.4 Evaluation de l'activité anti inflammatoire des extraits éthanolique ……..75

III.5. Evaluation de l'activité anti diabétique.....79

Conclusion 84

Références bibliographique.

Annexes

Introduction Générale



Introduction :

Les plantes médicinales constituent et restent le moyen essentiel et le plus utilisé surtout en milieu rural pour traiter les problèmes de santé humaine et animale. Il existe des milliers d'espèces végétales sur la terre dont beaucoup ont des propriétés médicinales. Dans les pays tropicaux d'Afrique, on estime qu'il y a plus de 200000 espèces végétales médicinales, au Bénin, par exemple, sur les 5000 espèces de plantes recensées, environ 172 sont utilisées comme aliments et 814 comme plantes médicinales. Ces plantes renferment une variété de composés actifs bénéfiques pour la pharmacologie, l'alimentation et la cosmétiques, tels que les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpènes, etc **(koudoro Yaya Alain, 2018)**.

L'Eucalyptus est un genre d'arbre haut, à feuilles persistantes et majestueux, cultivé dans le monde entier pour ses huiles, sa gomme, sa pâte à papier, son bois, ses propriétés médicinales et sa valeur esthétique. Il appartient à la famille des Myrtaceae et il est représenté par 700 espèces **(Daizy R. Batish et al ,2008).**

Les feuilles de diverses espèces *d'Eucalyptus* renferment une multitude de métabolites secondaires. Par le biais de la distillation à la vapeur, elles produisent des huiles essentielles aux propriétés biologiques variées, telles que des effets antibactériens et antifongiques. De plus, les extraits de ces feuilles ont également démontré diverses activités biologiques **(Houssam M et al, 2008).** Notre étude s'est concentrée sur *l'Eucalyptus sideroxylon*, communément appelé "red ironbark" dans le Victoria et "mugga" en Nouvelle-Galles du Sud. Cet arbre forestier peut atteindre jusqu'à 30 mètres de hauteur. **Johnson (1962)** a clarifié la classification de l'espèce en reconnaissant deux sous-espèces, principalement basées sur les caractéristiques de l'inflorescence, de la taille des fleurs et des fruits. La sous-espèce *sideroxylon* se distingue par une inflorescence à 7 fleurs et des fruits de petite à moyenne taille (6-10 x 5-8 mm), tandis que la sous-espèce *tricarpa* présente constamment des inflorescences à 3 fleurs et des fruits plus grands (10-15 x 9-15 mm) (**H. W. Bramwells, 1984**).

Le diabète sucré est un trouble métabolique chronique caractérisé par une hyperglycémie. Cela peut être dû à une diminution de la synthèse d'insuline (diabète de type I) ou due à une diminution de la sécrétion d'insuline à partir de cellules bêta des îlots du pancréas (diabète de type II) . L'augmentation du taux de glucose génère l'auto-oxydation du glucose et la glycosylation auto-oxydative des protéines, ce qui conduit à un stress oxydatif par augmentant les espèces réactives de l'oxygène . Le diabète sucré produit divers dysfonctionnements dans le corps, y compris troubles vasculaires, rétinopathie,

cardiomyopathie, altération des fonctions immunitaires, changements dans la fonction intestinale, la neuropathie périphérique et dysfonctionnement du système nerveux central. Le traitement du diabète est essentiel pour prévenir ou du moins retarder l'apparition de ces complications. Les feuilles d'Eucalyptus sont utilisées pour le traitement de diabète sucré en médecine traditionnelle.(**H. Mahmoudzadeh-Sagheb1,2010)**

L'objectif de cette étude est l'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles et des extraits d'Eucalyptus sideroxylon provenant de différentes régions. Les activités principales étudiées incluent l'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles, ainsi que l'activité anti-inflammatoire et anti-diabétique des extraits éthanoliques. Ce mémoire est structuré en deux grandes parties :

La première partie, correspondant au chapitre I, débute par une revue bibliographique qui explore les plantes médicinales et leurs métabolites secondaires tels que les huiles essentielles, les polyphénols, etc., en mettant l'accent sur leurs propriétés biologiques. Une description détaillée de l'Eucalyptus est également incluse.

La deuxième partie se concentre sur l'étude expérimentale, divisée en deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit le matériel utilisé ainsi que la méthodologie employée pour l'extraction des huiles essentielles et la préparation des extraits éthanoliques provenant de différentes régions. Il comprend également la caractérisation physicochimique et l'évaluation des activités biologiques.
- Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus ainsi que leur analyse détaillée. En conclusion, une synthèse des résultats est proposée pour terminer ce travail.

Chapitre I : revue bibliographique



I.1 Généralités Sur les plantes médicinales

I.1.1 Historique

Les plantes aromatiques et médicinales ont été utilisées depuis des siècles pour traiter les maladies humaines en raison de leurs composants thérapeutiques. Cette pratique ancienne a gagné en reconnaissance avec l'acceptation croissante de la médecine traditionnelle comme une forme alternative de soins de santé. Le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a également suscité un intérêt renouvelé pour les propriétés antimicrobiennes des plantes (**Nostro et al., 2000**). Cependant, la découverte des bienfaits thérapeutiques des plantes par l'homme a été le fruit d'une approche progressive, facilitée par l'organisation sociale, notamment depuis le Néolithique (**8000 ans avant J.C).**

De nos jours, l'utilisation croissante des extraits de plantes dans les industries alimentaire, cosmétique et pharmaceutique souligne l'importance de rechercher des composés actifs, ce qui rend une étude systématique des plantes médicinales cruciale. Cela est d'autant plus pertinent face au problème croissant de la résistance antimicrobienne, qui complique le traitement des infections nosocomiales et communautaires importantes en particulier pour les plantes fréquemment utilisées **(Draoui,2020).**

Dans les civilisations chinoise, indienne et aztèque, on retrouve des utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicinale, qui traite des plantes aromatiques et médicinales de l'empereur Shen Nung, a été rédigé vers 2900 avant J.C. De plus, 4000 ans avant J.C., les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes à des fins curatives. Les Égyptiens ont décrit plus de 800 remèdes, et environ 600 tablettes d'argile mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives (**Nostro et al., 2000**).

Les grands médecins de l'Antiquité, parmi lesquels Hippocrate, célèbre au 5ème siècle avant J.C., recouraient fréquemment à l'utilisation de narcotiques, de laxatifs et d'émétiques (vomitifs). Dans son ouvrage "Historiaplantarum", rédigé entre 370 et 285 avant J.C., Théophraste classait les plantes **(Fouché et al., 2000**).

Les Arabes avaient également leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Bakr Al-Razi ou Rhazès, un grand médecin du 9ème siècle, fut également un précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne au 10ème siècle, auteur du "Canon de

la Médecine", qui servit de base à l'enseignement médical dans les universités de Louvain et Montpellier jusqu'au 17ème siècle. Ibn Al-Baytar, au 13ème siècle, rédigea la somme exhaustive "Les Simples", comprenant une liste de 1400 préparations et plantes médicinales, dont un millier étaient déjà connues des auteurs grecs **(Fouché et al., 2000**).

I.1.2 Définition

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui servent de précurseurs dans la synthèse de médicaments utiles **(Sofowora, 2010).** Selon le **Dr. Jésus Cardenas (2014**), l'OMS ne fournit pas de définition précise de la plante médicinale, mais plutôt du médicament à base de plantes, tout en classant l'utilisation de plantes médicinales et de médicaments à base de plantes parmi les médecines et formes de médication traditionnelle.

D'autre part, la pharmacopée française définit la plante médicinale comme une « drogue végétale » pouvant être utilisée en entier ou en partie pour ses propriétés médicamenteuses. Elle est employée de diverses manières (décoction, macération, infusion, etc.) et une ou plusieurs de ses parties peuvent être utilisées (racines, rhizome, feuille, fleur, etc.) **(Dutertre, 2011).** En d'autres termes, il s'agit d'une plante possédant des propriétés curatives ou préventives, utilisée pour soigner ou soulager divers maux.

I.1.3 Récolte ; séchage et conservation des plantes médicinales

I. 1.3.1. Récolte

Les plantes médicinales doivent être récoltées pendant la saison ou la période appropriée pour garantir la meilleure qualité possible des matières premières et des produits finis. Il est bien connu que la concentration quantitative des phyto-constituants biologiquement actifs varie selon le stade de croissance et de développement de la plante. Le meilleur moment pour la récolte (saison/période de la journée optimale) doit être déterminé en fonction de la qualité et de la quantité des constituants biologiquement actifs, plutôt que du rendement végétatif total des parties de plantes médicinales ciblées lors de la récolte **(Pandey, A. K. 2017)**.

Il est préférable d'utiliser les plantes de certains pays ou régions réputées pour leur efficacité maximale **(Valnet, 1986**). On veille à ne cueillir que les plantes qui sont saines et propres. Pour les feuilles, on les récolte avant et pendant la floraison avec précaution, une à

une, sans endommager les pétales. Quant aux fruits, ils sont récoltés à maturité, tandis que pour les racines, on les cueille au repos végétatif, en les dégageant pour les sectionner partiellement, permettant ainsi à la plante de repartir éventuellement pour l'année suivante. En ce qui concerne les graines, on les récolte lorsqu'elles sont mûres, généralement en fin de saison (**Philips et al., 1991**).

I.1.3.2. Séchage

La première étape dans de nombreuses opérations post-récolte est l'élimination de l'eau, c'est-à-dire le séchage, les propriétés physiques et chimiques des plantes médicinales sont déterminées par leur teneur en humidité. le séchage est défini comme la réduction de la teneur en humidité des plantes, visant à empêcher l'activité enzymatique et microbienne, et par conséquent à préserver le produit pour prolonger sa durée de conservation.

Les méthodes traditionnelles de séchage, telles que le séchage au soleil ou à l'ombre, présentent des inconvénients, notamment une mauvaise gestion de la capacité des moissonneuses et des normes de qualité insuffisantes. Le Le séchage par convection à air chaud est préféré pour garantir une réduction rapide de l'humidité sans compromettre les principes actifs. Il est important de maintenir des conditions de séchage appropriées, comme des températures contrôlées et une bonne circulation d'air, pour éviter la dégradation des constituants volatils. Le séchage doit être uniforme pour prévenir la formation de moisissures, et les matériaux doivent être protégés contre les nuisibles. Des méthodes comme le séchage sous vide ou par pulvérisation sont également utilisées pour des matériaux spécifiques (**Pandey, A. K. 2017**).

I.1.3.3 Conservation

La conservation des plantes médicinales est essentielle pour préserver leur qualité et leur efficacité thérapeutique. Après la récolte, il est crucial de mettre en place des pratiques de conservation appropriées pour garantir la durabilité des ressources médicinales. Les plantes doivent être stockées dans des conditions optimales, en évitant l'humidité et les températures extrêmes qui pourraient favoriser la détérioration et la croissance de moisissures. Pour ce faire, il est recommandé de les entreposer dans des endroits secs et bien ventilés, loin de la lumière directe du soleil. De plus, il est important de maintenir une séparation adéquate entre les différentes parties de la plante pour éviter toute contamination croisée. Les conteneurs de stockage doivent être régulièrement inspectés et

nettoyés pour garantir des conditions sanitaires optimales. Enfin, des mesures de protection contre les insectes et autres nuisibles doivent être mises en place, et les outils de manipulation et de stockage doivent être maintenus propres et en bon état pour éviter toute contamination indésirable des plantes médicinales. (**Pandey, A. K. 2017**).

I.1.4 La phytothérapie

I.1.4.1 Définition

Autrement appelée la médecine par les plantes, est la plus ancienne façon au monde de se soigner, on la retrouve dans toutes les civilisations, chacune d'entre elles ayant élaboré sa propre thérapeutique au fil de siècles (**verbois, 2015**).

Étymologiquement, la phytothérapie provient du grec « phytos » signifiant plantes et « thérapia » signifiant soins ou traitement. La phytothérapie est donc l'art de soigner par les plantes médicinales **(Barka, 2017**). Elle consiste à traiter ou prévenir les maladies en utilisant certaines parties de plantes médicinales. Elle fait partie des médecines parallèles ou douces **(Zeghad, 2009**).

On distingue deux types de phytothérapie, qui sont en fait complémentaires. La première est la phytothérapie traditionnelle (ou classique), et la seconde est la phytothérapie clinique (ou moderne) (**Barka, 2017).**

- Phytothérapie traditionnelle (classique) : Cette thérapie vise à traiter les symptômes d'une affection en utilisant des plantes selon des vertus découvertes empiriquement. Elle est souvent utilisée pour les pathologies saisonnières, les troubles psychosomatiques légers, ainsi que les symptômes hépatobiliaires, digestifs ou dermatologiques (**Chabrier, 2010).**

- **Phytothérapie clinique (moderne)**:Basée sur une utilisation scientifique des plantes, cette approche s'inspire de méthodes ancestrales. Elle agit sur le système neuro-végétatif par un traitement à long terme et sert de complément à la médecine allopathique classique pour renforcer l'efficacité des traitements dans certaines pathologies (**Guettiche et al., 2018).**

I.1.5 La diversité des plantes médicinales utilisées dans le monde

Elle est inégalement répartie. Plus d'un dixième des espèces végétales sont utilisées dans les médicaments et les produits de santé, avec plus de 50 000 espèces utilisées **[Huang H2011, Rafieian 2013].** La Chine et l'Inde ont le plus grand nombre de plantes médicinales utilisées, avec respectivement 11 146 et 7 500 espèces [Rafieian 2013– Srujana ST 2012]. D'autres pays comme la Colombie, l'Afrique du Sud, les États-Unis et 16 autres pays ont des pourcentages de plantes médicinales par rapport à leur nombre total d'espèces végétales allant de 7 % en Malaisie à 44 % en Inde **[Rafieian 2013– Srujana ST 2012**] (Figure I. 1). Certaines familles de plantes ont non seulement un nombre plus élevé de plantes médicinales, mais aussi des proportions plus élevées d'espèces menacées que d'autres [**Huang H 2011**]. Seule une partie des plantes médicinales qui souffrent d'érosion génétique et de destruction des ressources ont été répertoriées comme menacées **[Schippmann U 2005, Deeb T, 2013].**

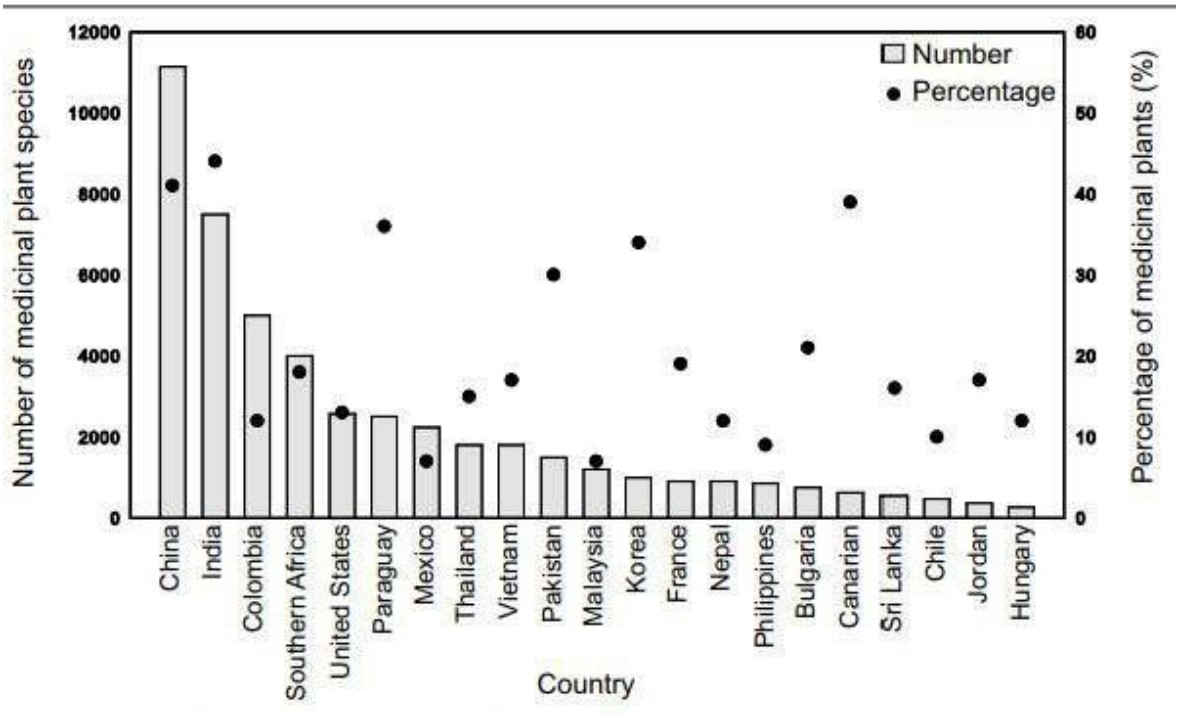


Figure I. 1 : Nombre et pourcentage d'espèces de plantes médicinales dans différents pays. Les barres claires indiquent le nombre d'espèces de plantes médicinales et les points foncés indiquent le pourcentage de plantes médicinales par rapport au nombre total d'espèces de plantes. Sources des données : [**Rafieian 2013], [Hamilton A 2003], [Marcy J 2005].[Srujana ST 2012].**

I.2 l’eucalyptus

I.2.1 Généralité

L'eucalyptus, appartenant au vaste genre *Eucalyptus* de la famille des *Myrtacées*, compte environ 900 espèces et sous-espèces, ce qui en fait le deuxième plus grand genre après *l'acacia* [**Elliot WR, 1984**.]. Originaire d'Australie et de Tasmanie, ce grand arbre à feuillage persistant a connu un succès remarquable depuis les années 1850, étant désormais introduit dans 90 pays à travers le monde et figurant parmi les genres les plus importants et les plus largement cultivés [**Brooker MI, 2006**.]. Autrefois utilisé à diverses fins médicinales et alimentaires par les populations aborigènes, *l'Eucalyptus* trouve aujourd'hui de multiples applications en foresterie pour son bois d'œuvre, son potentiel combustible et la production de pâte à papier. Il est également planté pour lutter contre l'érosion hydrique et éolienne, et représente une source précieuse d'huiles essentielles à usage médicinal, cosmétique et dans l'industrie de la parfumerie, sans oublier son rôle dans l'artisanat [**Elliot WR, 1984].** Parmi toutes les espèces australiennes, *l'Eucalyptus globulus*, ou *eucalyptus à gomme bleue*, a connu une large diffusion internationale [**Damjanović-2011;]**, devenant très cultivé dans les régions subtropicales, méditerranéennes [**Takahashi T, 2004;**] et au Nigéria. Connu sous divers noms vernaculaires tels que *eucalyptus* en bengali et hindi, Karpuramaram en tamoul [**Dixit A, 2012**;], l'E. globulus est grandement exploité pour la production de pâte à papier ainsi que pour l'extraction à grande échelle de son huile essentielle (EO) dans de nombreux pays, trouvant des applications en parfumerie, cosmétique, agroalimentaire, boissons, aromathérapie et phytothérapie [**Buchbauer G. 2000.]**.

I.2.2 classification phylogénétique :

Règne : Plantae

Sous règne: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Sous classe: Rosidae

Ordre: Myrtales

Famille: Myrtacees

Genre: Eucalyptus

Règne : végétal

Embranchement: Phanérogames

Sous embranchement: Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous classe: Dialypétales

Série: Caliciflores

Ordre: Myrtales

Famille: Myrtacées

Genre: Eucalyptus

La classification de l'Eucaliptus selon **Ghedira.**

I.2.3 Description botanique

Cet arbre est grand et à croissance rapide, atteignant une hauteur de 80 à 100 mètres en Tasmanie et de 40 mètres en région méditerranéenne, avec un tronc lisse (Moyse, H. 1958). comprend une écorce sombre et rugueuse à la base, et lisse et grise en hauteur, se desquamant en longues lambeaux souples et odorants. Il possède également des lenticelles remplies de gomme balsamique (Ghedira, K. 2008. Marie, J. 2007). Les jeunes rameaux sont quadrangulaires et pruineux, tandis que les rameaux adultes sont cylindriques et dépourvus de pruine (Ait, youcef, M 1983). Les feuilles sont de deux types, selon qu'elles proviennent de jeunes plants ou de rameaux plus âgés. (Belaouad, A. 1998).

Les feuilles sont souvent persistantes. Les feuilles jeunes sont opposées, ovales, cireuses et horizontales. Les feuilles adultes sont alternées, pétiolées et lancéolées, coriaces ; elles sont souvent épaisses, raides fortement actimisées riches en sclérenchyme, parfois elles sont pendantes en forme de faux. Les feuilles jeunes et les feuilles âgées sont les deux

principaux types de feuilles des Eucalyptus. ll existe chez la plupart des espèces d'Eucalyptus, des glandes de sécrétions à huiles essentielles. Ce sont des poches schizogènes sécrétrices d'huiles essentielles localisées sous épiderme foliaire dans le parenchyme chlorophyllien pallisadique , leur nombre est variable et se répartit différemment dans les feuilles selon les espèces. On note une corrélation étroite entre la densité des glandes sécrétrices et le rendement en huiles essentielles. **(Gbenou, J. D. 1999)**

I.3. Métabolites secondaires

Tous les organismes possèdent un métabolisme primaire qui génère les éléments fondamentaux tels que les acides nucléiques, les lipides, les protéines, les acides aminés et les glucides. En outre, les plantes synthétisent un large éventail de composés qui ne découlent pas directement de la photosynthèse, mais plutôt de réactions chimiques subséquentes. Ces composés sont désignés sous le terme de métabolites secondaires. Ci-dessous, nous évoquerons quelques groupes phytochimiques importants, fournissant des molécules dotées d'activités biologiques.

I.3.1. Huiles essentielles

I.3.1.1 Définition

Les huiles essentielles, également appelées essences ou huiles volatiles, sont des produits complexes composés des éléments volatils présents dans les plantes, souvent altérés lors du processus de préparation (**Mehani Mouna, 2015**). Elles représentent des métabolites secondaires produits par les plantes en réaction au stress, aux infections ou aux attaques parasitaires. Dans le cas spécifique des *huiles d'Eucalyptus*, ces composés organiques volatils sont présents dans diverses parties de la plante, telles que les fruits, les fleurs, l'écorce, les graines, le bois et les racines, mais elles sont principalement extraites des feuilles (**Jinbiao Zhang, 2009**).

I.3.1.2 Méthodes d’extraction des huiles essentielles

D'après **(Virendra PS Rao (2006)),** les premières tentatives d'extraction des huiles essentielles impliquaient l'utilisation d'alcool et d'un processus de fermentation. De nos jours, de nouvelles techniques d'extraction émergent dans le domaine de l'aromathérapie, offrant ainsi une gamme élargie d'huiles jusque-là inédites. Avec l'avènement des méthodes modernes telles que l'extraction au *CO2* et au *CO2 supercritique,* en plus des procédés traditionnels de distillation à la vapeur et à l'hydro, ainsi que les méthodes d'extraction par "absolus" et "pression à froid", il est essentiel pour les amateurs d'aromathérapie de s'informer pour faire des choix éclairés concernant les huiles essentielles. La question de savoir si un processus est supérieur à un autre se pose, que ce soit en termes d'arôme plus agréable ou de valeur thérapeutique accrue. En effet, la production d'huiles essentielles, tout comme la vinification, est à la fois un art et une science. Le mode d'extraction des huiles des plantes revêt une importance capitale, car certains procédés utilisent des solvants pouvant altérer les propriétés thérapeutiques des huiles. Les organes végétaux les plus fragiles, notamment les fleurs, ne peuvent pas être soumises à la distillation à la vapeur en raison de leur délicatesse ou parce que leur essence aromatique et thérapeutique ne peut être totalement libérée par l'eau seule. Ainsi, ces huiles sont obtenues sous forme d'"absolus". Bien que techniquement elles ne soient pas classées comme des huiles essentielles, elles peuvent tout de même avoir une valeur thérapeutique. C'est le cas, par exemple, de l'huile de jasmin et de l'huile de rose.

La qualité des huiles essentielles produites par les méthodes de traitement les plus récentes est largement influencée par l'expertise du distillateur et l'objectif d'utilisation du produit final. Chaque méthode joue un rôle crucial dans la fabrication des huiles essentielles de qualité pour l'aromathérapie. Voici quelques méthodes d'extraction disponibles :

I.3.1.2 .1 Extraction par solvant

Un liquide hydrocarboné est introduit dans la matière végétale afin de faciliter la dissolution des huiles essentielles. Après filtration et concentration par distillation, un résidu contenant de la résine (appelé résinoïde) ou un mélange de cire et d'huile essentielle (appelé béton) demeure. Ce concentré est ensuite traité avec de l'alcool pur pour extraire l'huile. Lorsque l'alcool s'évapore, l'huile reste. Cependant, cette méthode d'extraction n'est

pas idéale car les solvants peuvent laisser des traces de résidus, susceptibles de déclencher des réactions allergiques et de perturber le système immunitaire . **(Virendra PS Rao (2006))**.

I.3.1.2 .2-Enfleurage

Est une méthode traditionnelle et intensive pour extraire l'huile des fleurs. Cette technique implique l'application de graisse sur les pétales de fleurs. Une fois que la graisse a absorbé les huiles essentielles, on utilise de l'alcool pour les séparer et les extraire de la graisse. Ensuite, l'alcool s'évapore, laissant derrière lui l'huile essentielle récupérée. (Figure I. 2.)**(Virendra PS Rao (2006)).**

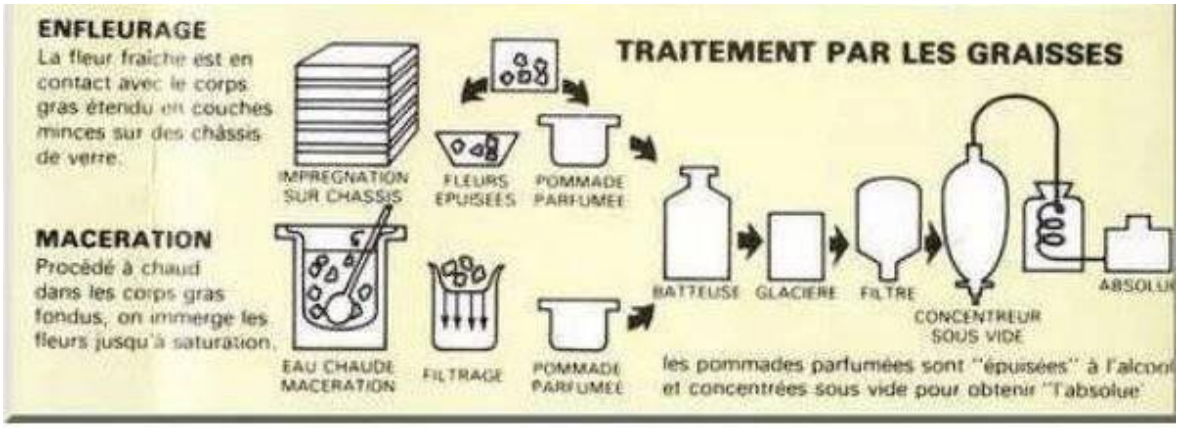


Figure I. 2 : Méthode de l'enfleurage.(Jerry Louis JeuneAoût 5, 2020)

I.3.1.2 .3 -Extractionpar distillation turbo

Adaptée aux matières végétales robustes ou difficiles à extraire telles que les racines et les graines, la distillation turbo implique le trempage des plantes dans l'eau, tandis que de la vapeur circule à travers ce mélange de plantes et d'eau. Tout au long du processus, la même eau est continuellement recyclée à travers le matérial végétal. Cette méthode permet une extraction plus rapide des huiles essentielles des matières végétales difficiles à extraire **(Virendra PS Rao (2006)).**

I.3.1.2.4 Distillation à la vapeur

L'extraction de l'essence des plantes est généralement réalisée par distillation. Une méthode de distillation implique le placement des plantes ou des fleurs sur un écran où la

vapeur les traverse, absorbant ainsi l'essence. Ensuite, la vapeur traverse une zone où elle se refroidit et se condense. Le mélange d'eau et d'huile essentielle résultant est ensuite séparé et embouteillé **(Virendra PS Rao (2006)).**

I.3.1.2.5 Hydrodistillation

Cette méthode consiste à ne pas mettre directement en contact l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau, produite par une chaudière, traverse la matière végétale disposée au-dessus d'une grille (Figure I.3) **(Meyer, 1984).** Les feuilles d'Eucalyptus pulvérisées, récoltées pendant les saisons sèches et pluvieuses, ont été soumises à une extraction distincte par hydrodistillation pendant une durée de 3 heures à l'aide d'un appareil de type Clevenger. L'huile essentielle de chaque échantillon a été collectée, préservée dans un tube scellé, puis conservée sous réfrigération en vue d'une analyse ultérieure **(L.A. Usman, 2021).**

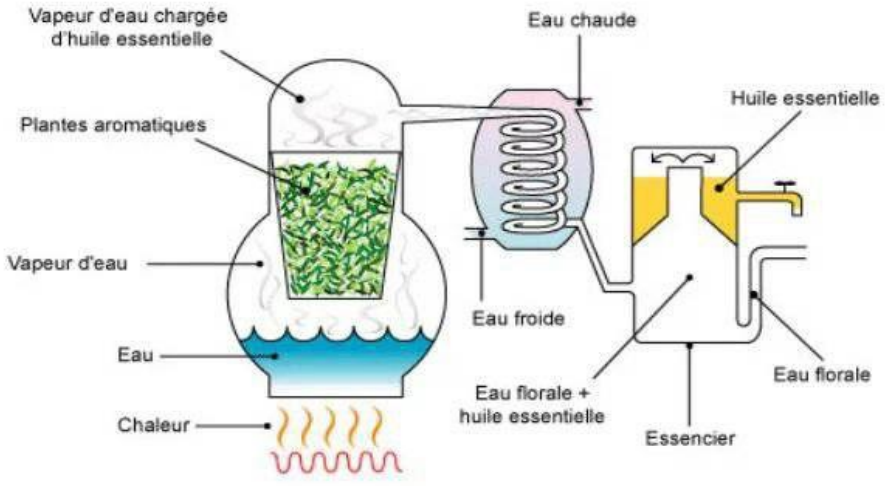


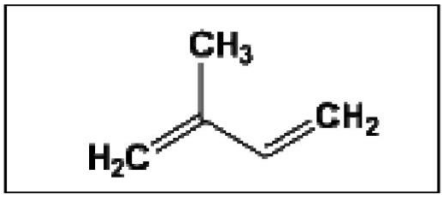
Figure I.3 : Méthode del'Hydrodistillation.**(Jerry Louis JeuneAoût 5, 2020**)

I.3.1.3. Les rendements des huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles d'Eucalyptus à partir des feuilles présentent une variation significative selon l'espèce étudiée, s'échelonnant de 0,10 à 9,0 % sur la base du poids sec. Plusieurs facteurs influent sur ces rendements, parmi lesquels l'âge de l'arbre, celui des feuilles, l'altitude, la saison, le moment de la récolte et l'application d'engrais. En général, les jeunes feuilles renferment une quantité d'huile supérieure à celle des feuilles plus âgées, bien que les arbres plus matures produisent légèrement plus. Cependant, l'influence de l'altitude semble plus marquée sur la production d'huile que l'âge des arbres. De plus, le contenu en huile varie selon la saison **(Jinbiao Zhang, 2009).**

I.3.1.4. Composition chimique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques ont la particularité de renfermer au sein de leurs organes sécréteurs, des cellules génératrices demétabolites secondaires où il apparaît clairement comment les molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters terpéniques. L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique **(HEINRICH et al., 1983).**



FigureI. 4: Structure chimique d'isoprène (C5H8)n

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C5H8) .Cet isoprène (I) est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Ruzicka et complétée par Lynen et al (1958) et Bloch et al (1959) **(MOHAMMEDI, 2006).** Cette règle considère le diphosphate d'isopenténylе (II), désigné sous le nom d'isoprèneactif, comme le véritable

précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également. Les terpènoïdes sont classés selon le nombre d'unités isoprène en une série de structures homologues : hemiterpènes C5 (1 unité isoprène), monoterpènesC10 (2 unités isoprènes), sesquiterpènes C15 (3 unités isoprènes), diterpènes C20 (4 unités isoprènes), triterpènes C30 (6 unités isoprène), tetraterpène C40 (8 unités isoprène), polyterpènes (C5)n où n peut être 9-30 **(MOHAMDI Z., 2006.)**

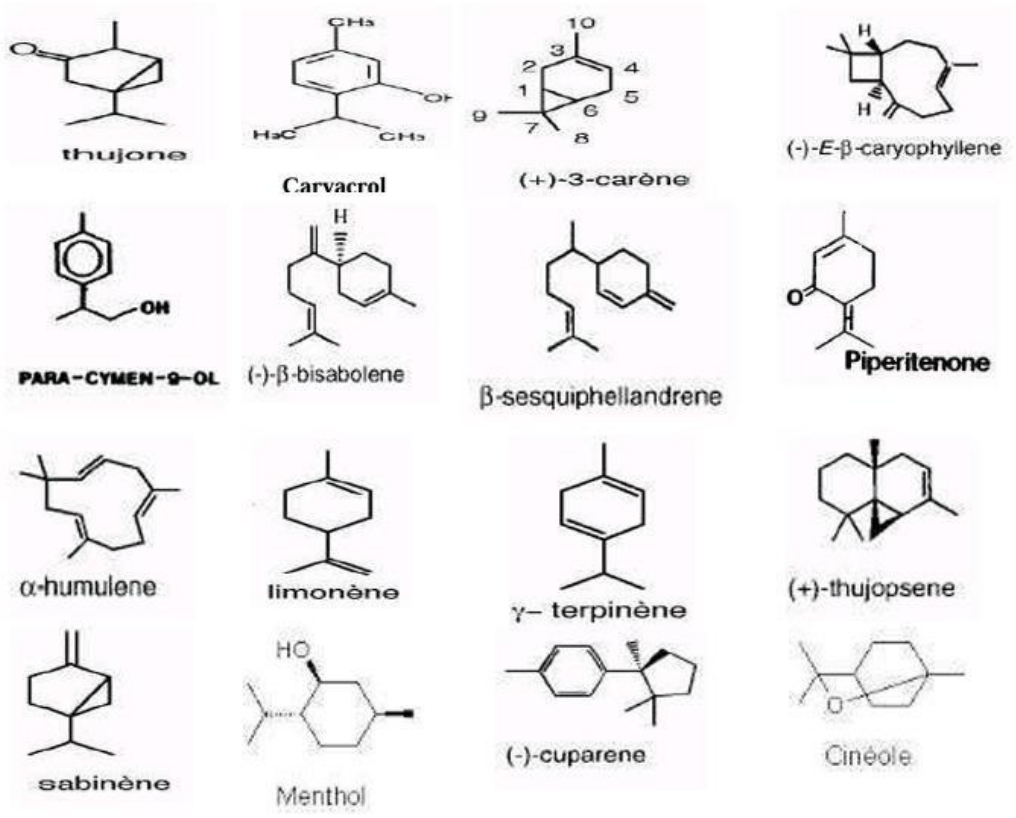


Figure I.5: Structure chimiques de quelques composés d'huile essentielle

1.Monotèrpènes

Les carbures sont presque toujours présents. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène...), monocycliques (α et β-terpène, α-cymène) ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphère, sabinène…) constituent parfois plus que de 90% d'huile essentielle, notamment chez les citrus et la famille des térébenthines. La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules fonctionnalisées **(BRUNETON, 1993).**

• Alcools, des éthérés oxydes : bornéole, géraniol, citronillol, menthol et cinéale 1,8 (éther-oxyde) ou eucalyptol ;

• Phénol : thymol, cavacrol, eugénol et anéthol ;

• Aldéhydes : aldéhyde cuminique, aldéhyde cinnamique, aldéhyde aninsique et citronellal ou citral ;

• Esters : acétate de linalyle et acétate de geranyle ;

• Cétone : thuyon, carvone et monthon ;

• Aldéhydes-phénols : aldéhyde salicylique ou aldéhyde prolocatéchique ;

• Acides : acide benzoïque et acide cinnamique ;

• Lactone : ligustilide ;

• Composés sulfurés : isosulfocyanate.

2 Sesquiterpènes

La variation structurale dans cette série est de même nature que dans le cas précédent : carbures, alcools et cétones, étant les plus fréquents **(BRUNETON, 1993).** Nous trouverons ci-dessous quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles :

• Carbures : β- bisobolène, β-caryoohyllènes et longifolène ;

• Alcools : farnésol, carotol, patchoulol et β-santatol ;

• Cétones : nootakatone, cis-longipinane-2,7 dione et β-citocone ;

• Aldéhydes : sininasale;

• Esters : acétate de cédryle.

3.Composés odorants

Les dérivés phénylpropane (C6 et C3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des Allyles et Propyphénoles, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huilles essentielles d'apiaceae telle que : anéthol, anisaldéhyde, apiol, methyl-chavicol, eugénol, myristicine et asorones cinamaldéhyde. Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants de type « phynilpropanoide » qui empruntent une

voie biosynthétique dit shikimate, conduisant essentiellement à la synthèse de la lignine **(BERNARD et al., 1988).**

I.3.1.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Propriétés antimicrobiennes

I.3.1.5.1 Antibactérienne

Depuis l'antiquité, les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien documentées. De nombreuses études ont confirmé leur capacité à combattre une large gamme de microorganismes, y compris les bactéries résistantes aux antibiotiques. Par exemple, les huiles essentielles d'arbre à thé, d'eucalyptus et de melaleuca se sont avérées particulièrement efficaces contre les souches de Staphylocoques dorés résistantes à la méthicilline **(Tohidpour et al., 2010).**Les huiles essentielles extraites des feuilles et des tiges d'Eucalyptus sideroxylonont démontré une activité antibactérienne significative contre Bacillus subtilis et Staphylococcus aureus ;Les huiles essentielles doivent leur pouvoir antibactérien aux composés terpéniques et phénylpropanoïdes qui les composent. L'efficacité de ces molécules bioactives repose sur la combinaison du caractère lipophile de leur structure hydrocarbonée et du caractère hydrophile de leurs groupes fonctionnels, comme l'a souligné Guinoiseau en 2010. Parmi ces composés chimiques, les phénols tels que le carvacrol, le thymol et l'eugénol, ainsi que les alcools tels que l'α-terpinéol, le terpinène-4-ol et le linalol, sont les plus efficaces et à large spectre. On trouve également des aldéhydes, des cétones et plus rarement des carbures, comme mentionné par Dorman et Deans en 2000. Effectivement, la plupart des recherches avancent que la membrane plasmique constitue le principal site d'action des huiles essentielles, comme l'ont indiqué Shunying et ses collègues en 2005. Grâce à leur caractère hydrophobe, les huiles essentielles sont capables de se lier aux lipides de la membrane plasmique, altérant ainsi sa structure et la rendant plus perméable aux ions potassium et aux protons, comme l'a observé Burt en 2004. Ce processus conduit à une diminution du gradient de pH et du potentiel membranaire, entraînant ainsi une inhibition de la synthèse d'ATP et ultimement la mort de la bactérie. Toutefois, il convient de noter que les phénols ne sont pas seuls responsables de l'activité des huiles essentielles dans son intégralité ; les autres composés

chimiques doivent également être pris en considération, comme le soulignent Cosentino et ses collaborateurs en 1999.

I.3.1.5.2 Antifongique

Les infections fongiques sont un problème de santé de plus en plus préoccupant aujourd'hui, notamment en raison de l'utilisation excessive et parfois inadéquate des antibiotiques. Plusieurs groupes de molécules, initialement reconnues pour leurs propriétés antibactériennes, montrent également une efficacité contre les champignons. Cependant, le traitement antifongique doit généralement être poursuivi sur une période plus longue que le traitement antibactérien.

Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Palmarosa, de Clou de girofle et de Niaouli possèdent des propriétés antifongiques. L'efficacité antifongique de ces huiles essentielles est attribuée à la présence de certains groupements fonctionnels chimiques. Des études ont montré que le pouvoir inhibiteur est principalement dû à la réactivité des fonctions aldéhyde avec les groupements thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire. D'autres recherches ont démontré que la formation d'un complexe entre le donneur d'électrons et l'aldéhyde entraîne une modification de l'état ionique de la membrane, ce qui perturbe les échanges avec le milieu extérieur et conduit à la destruction cellulaire. Cependant, les phénols (comme l'eugénol, le chavicol et le 4-allyl-2,6-diméthoxyphénol) montrent une activité antifongique supérieure à celle des aldéhydes testés**.(BENCHEIKH, 2017).**

I.3.2 Les composés phénoliques

Les polyphénols sont parmi les groupes les plus nombreux et largement distribués dans le règne végétal, avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante **(Lugasi et al., 2003).** Leur point commun est la présence d'une ou plusieurs fonctions hydroxyles (OH). Ils se divisent en plusieurs classes distinctes par la complexité et le degré de modification de leur squelette de base **(Macheix et al., 2005).** Parmi ces classes, on trouve les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins et les coumarines.

Les acides phénoliques simples

Le terme "acide phénolique" s'applique à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Ils dérivent de l'acide hydroxybenzoïque (composés en C6-C1) tels que l'acide gallique, ou de l'acide hydroxycinnamique (composés en C6-C3) comme l'acide caféique **(Bruneton, 2009).**

Dérivés de l'acide hydroxycinnamique

Ces composés ont une structure en C6-C1, avec un noyau benzénique et une chaîne aliphatique à un carbone. Le principal composé de cette classe est l'acide gallique **(Chira et al., 2008).**

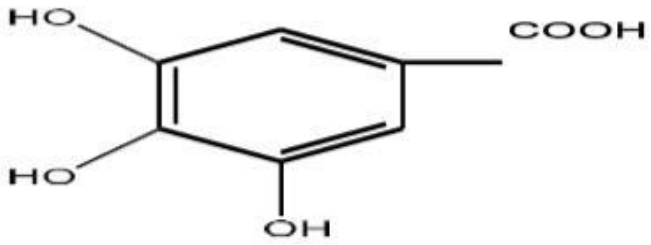


Figure I .6 : Structure de l'acide gallique

Dérivés de l'acides hydroxy benzoïques

Leur squelette de base est un noyau benzénique avec une chaine aliphatique à trois carbones (C6-C3) avec un ou plusieurs groupements OH, souvent estérifiés en ester d'alcoolaliphatique (figureI. 7) **(Chira et al., 2008)**

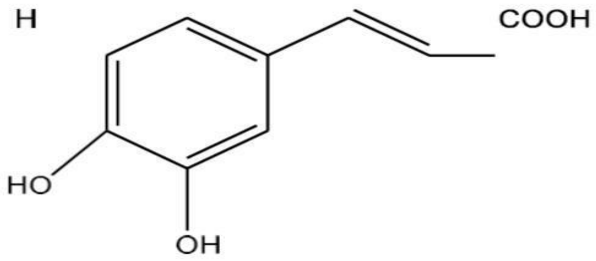


Figure I.7 : Structure de l'acide caféique

Les flavonoïdes

Le terme flavonoïdes rassemble une très large gamme de composés naturels généralement polyphénoliques **(Gàbor, 1988),** très répondus chez les végétaux, presque toujours hydrocarbures, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. A l'état naturel les flavonoïdes peuvent se trouver sous forme d'hétérosides (C- ou O-glycosides) **(Ghestem, 2008).** La plupart des flavonoïdes ont une structure de base relativement simple (figure I. 8). Ils sont composés de deux cycles aromatique de type phényle liées par une chaine de trois atomes de carbone généralement cyclique, soit un système C6-C3-C6 dont la configuration est la suivante **(Gàbor, 1988).**

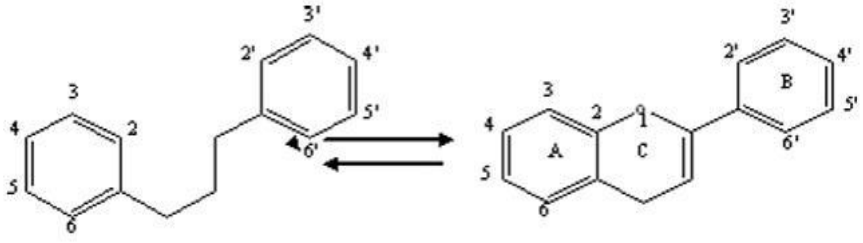


Figure I. 8 : Structure de base d'un flavonoïde.

Les flavonoïdes peuvent être regroupés en une douzaine de classes. La formation de ces classes est déterminée par la chaîne carbonée qui forme généralement un hétérocycle C par condensation avec un hydroxyle phénolique du noyau A **(Benmakhbi, 2004).** Les différents cycles peuvent ensuite être modifiés par glucosylation, méthylation, hydroxylation ou acylation. Parmi les principales classes de flavonoïdes, on trouve les flavones, flavonols, isoflavones, flavanones et anthocyanidines .

Les flavonoïdes sont des solides cristallins dont la couleur varie du blanc ou noir au jaune vif. Les hétérosides de flavonoïdes sont solubles dans l'eau (surtout à chaud), l'alcool, les solvants organiques polaires et les solutions alcalines (ammoniaque ou potasse), produisant une coloration jaune qui disparaît à l'addition d'acides (Cos, 1998). Ils sont insolubles dans les solvants organiques apolaires. De plus, les flavonoïdes possèdent une bande d'absorption dans l'ultraviolet proche du visible, qui varie selon le type de flavonoïde, permettant ainsi leur identification.

I.3.4 Les coumarines

Les coumarines tirent leur nom de « coumarou », nom vernaculaire de la fève tonka (Dipteryxodorata, Fabaceae) d'où fut isolée, en 1820, la coumarine. Plus d'un millier de coumarine ont été décrites et les plus simples d'entre elles sont largement distribuées dans tout le règne végétal **(Bruneton, 1999).** Elles dégagent une odeur agréable rappelant la vanilline, contribue à l'odeur de foin coupé et rentrent dans la composition de nombreux parfums **(Chevalier, 2001).** Elles se trouvent dans la nature soit à l'état libre ou bien combiné avec des sucres. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique du foin **(Cowan, 1999).** Les coumarines est un composé chimique organique appartenant à la famille des benzopyrones, dont le nom selon l'IUPAC est 2H-1-benzopyran-2-one, que l'on peut considérer, en première approximation, comme étant les lactones des acides 2-hydroxy-zcinnamique (figure. I.9)**(Bruneton, 2009).**

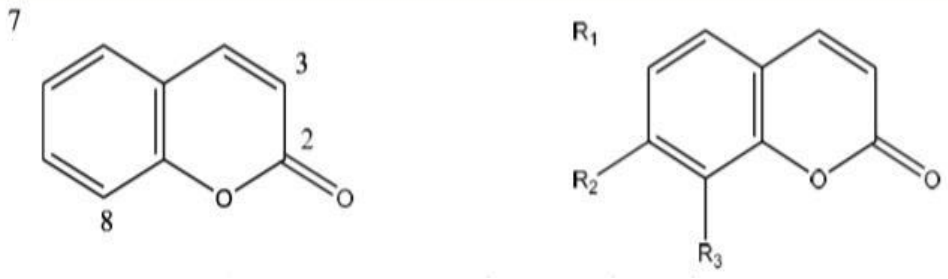
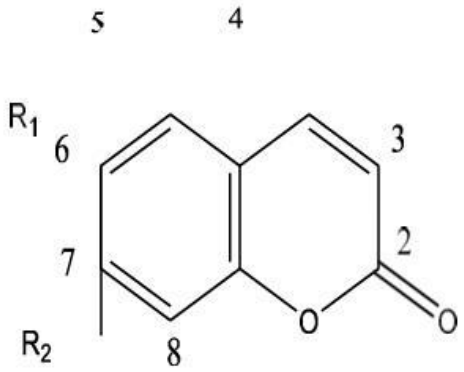


Figure I.9 : Structure chimique de quelques coumarines

Ces constituants possèdent une ou plusieurs fonction phénoliques, estérifiés ou non; C'est pour quoi on les rattache ou vent aux poly phénols. On les divise en :

Coumarine simples : les plus répandues dans le végétal possèdent des substitutions (OH ou OCH3) en position 6 et 7 (figure. I. 10) **(Bruneton, 1999).**



FigureI.10 : Structure de coumarine simple

Coumarines complexes : on distingue : (**figure. I.11**.)

- ✓ Les furo coumarines (a)
- ✓ Les pyranno coumarines (b)



a)Les furocoumarinesb) Les pyranno coumarines

Figure I . 11 : Quelques structures de la coumarine complexe

Les coumarines sont des solides cristallins blancs ou jaunâtres avec une saveur généralement amère. Elles sont sublimables et peuvent être entraînées par la vapeur d'eau. Les coumarines hydroxylées présentent une intense fluorescence bleue sous lumière ultraviolette. Leur spectre UV distinctif est utilisé pour leur identification. Leurs propriétés chimiques sont principalement attribuées à la fonction lactone insaturée, notamment l'ouverture de l'anneau lactonique en milieu alcalin **(Laouer et al., 1997)**

I.3. 5Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe important et structurellement diversifié de métabolites secondaires d'origine microbienne, végétale ou animale. On les retrouve dans environ 300 familles de plantes. Cependant, certains composés sont limités à des familles spécifiques, comme l'hyoscyamine dans les Solanacées **(Cushnie et al., 2014).** Bien qu'ils soient présents dans différentes parties de la plante, certains composés sont limités à une partie spécifique, comme la quinine dans l'écorce de quinquina. Les alcaloïdes sont également présents dans les animaux terrestres et dans certains animaux marins. Il existe plus de 18 000 alcaloïdes de différentes sources **(Dembitsky, 2005).** Les alcaloïdes sont des structures hétérocycliques contenant un ou plusieurs atomes d'azote. Ils sont classés en fonction de leur structure chimique ou de leur origine naturelle. Étant donné que certains alcaloïdes sont limités à certaines sources, une classification en raison de leur origine naturelle est possible **(Cushnie et al., 2014).** Il existe deux grandes divisions dans la classification selon la structure chimique. La première division contient les alcaloïdes non hétérocycliques ou atypiques, également appelés protoalcaloïdes ou amines biologiques, tels que l'hordénine ou N-méthyltyramine, la colchicine et l'érythromycine (un antibiotique ; **Evans, 2009).** La deuxième division comprend les alcaloïdes hétérocycliques ou typiques tels que les hygrines appartenant au groupe pyrrole et pyrrolidine, et la quinine appartenant au groupe quinoléine. La deuxième division peut être divisée en 14 groupes en fonction de la structure cyclique **(Evans, 2009).**

Il existe plusieurs façons de nommer les alcaloïdes individuels. Ils peuvent être nommés en fonction de l'organisme à partir duquel ils sont isolés ; par exemple, l'atropine est dérivée d'Atropa belladonna **(Cushnie et al., 2014).** Lorsque plusieurs alcaloïdes sont découverts à partir de la même source, cela nécessite l'utilisation d'un préfixe ou d'un suffixe plus complexe, par exemple, quinine, hydroquinine, quinidine, ou d'une série de lettres, par

exemple, épicoccarine A et épicoccarine B. Enfin, les alcaloïdes peuvent être nommés en fonction de leur activité pharmacologique (par exemple, l'émétine provoque des vomissements), du nom du lieu géographique d'origine (par exemple, la tasmanine a été isolée d'une plante de Tasmanie), ou du nom de leur découvreur (par exemple, la pelletiérine d'après le professeur Pelletier ; **(Cushnie et al., 2014).**

Les alcaloïdes sont connus en médecine traditionnelle et moderne pour avoir plusieurs activités pharmacologiques. Certains alcaloïdes ont été intégrés à la culture humaine comme drogues récréatives ou drogues abusives telles que la caféine, la cocaïne et la nicotine. Certains alcaloïdes sont connus pour être hautement toxiques, ce qui a conduit à plusieurs cas d'empoisonnement humain **(Cushnie et al., 2014).** Les alcaloïdes peuvent former des liaisons hydrogène avec des enzymes, des récepteurs et des protéines, car ils possèdent, en plus des groupes fonctionnels, un atome d'azote accepteur de protons et un ou plusieurs atomes d'hydrogène d'amine donneurs de protons. Les alcaloïdes ont de nombreuses propriétés pharmacologiques, telles que des stimulants du système nerveux central (brucine), des agents anticholinergiques (atropine), une activité ocytocique et vasoconstrictrice (ergométrine) et une activité antipaludique **; (Cushnie et al., 2014).**

I.3.6 Les quinones

Les quinones sont caractérisées par un cycle aromatique avec deux substitutions cétoniques. L'activité antimicrobienne des quinones provient de leur capacité à donner des radicaux libres. Elles peuvent également former des complexes irréversibles avec les acides aminés des protéines, les inactivant ainsi. Ces propriétés des quinones leur permettent d'attaquer les adhérences de surface, les polypeptides de la paroi cellulaire et les enzymes membranaires. Les quinones peuvent également séquestrer les substrats nécessaires aux micro-organismes **(Cowan, 1999).** L'analyse par essai de diffusion en puits de Lawsonia inermis Linn, communément appelé henné, a démontré une activité antibactérienne contre *P. aeruginosa,* l'activité la plus élevée étant observée chez les espèces de la région d'Al-Sharqiya (Sultanat d'Oman). Les feuilles de henné contiennent jusqu'à 5 % de 2-hydroxy-1,4-naphtaloquinone en poids. La présence de quinone lui confère ses propriétés tinctoriales **(Habbal et al., 2011 ; Rathi et al., 2017).**

Plusieurs quinones présentes dans les graines de Nigella sativa de tout le Moyen-Orient se sont révélées avoir un effet antimicrobien contre *S. aureus, S. mutans et Streptococcus* mitis. Les fractions méthanoliques présentaient des zones d'inhibition comprises entre 15 et 30 mm, tandis que les fractions n-hexane variaient entre 0 et 22 mm avec des variations selon les pays d'origine. Cette activité antimicrobienne est attribuée à des composés comme la thymoquinone, les thymohydroquinones et la dithymoquinone (Sudhir et al., 2016).

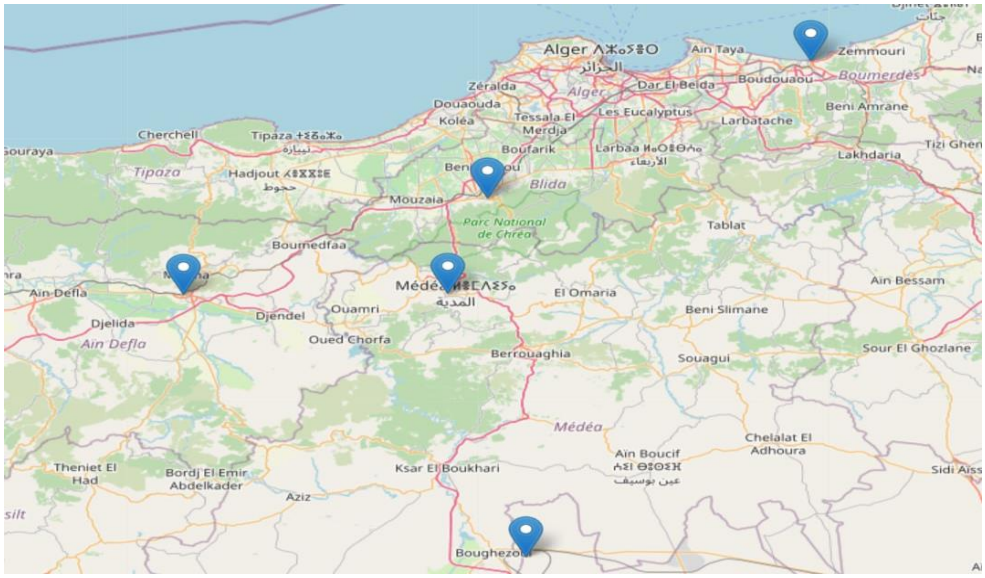
Chapitre II

Matériels et Méthodes

II-1- Présentation de la région d’étude

La récolte des feuilles des deux sous espèces d’Eucalyptus a été effectuée danscinq régions :Médéa,Boumerdes,Boughezol, Blida et Chorfa

Carte géographiqe des régions étudiée



- À Blida, les étés sont courts, très chauds, secs et dégagés, tandis que les hivers sont longs, frais et partiellement nuageux. Les températures varient de 4 °C à 33 °C, avec une saison très chaude de mi-juin à mi-septembre (max > 30 °C) et une saison fraîche de mi-novembre à mi-mars (max < 19 °C). Le mois le plus chaud est août (max 33 °C, min 19 °C) et le plus froid est janvier (max 15 °C, min 4 °C). La période pluvieuse s'étend de fin août à début juin, avec décembre comme mois le plus pluvieux (59 mm), tandis que la période sèche va de début juin à fin août, avec juillet comme mois le moins pluvieux (2 mm). L'humidité est la plus lourde de fin juin à fin septembre, avec août comptant 10,6 jours lourds. Le vent est le plus fort de fin octobre à fin avril, avec décembre comme mois le plus venteux (14,1 km/h), et la période la plus calme est de fin avril à fin octobre, avec août comme mois le plus calme (11,1 km/h). **(https://fr.weatherspark.com/y/47103/Météo-moyenne-à-Blida-Algérie-tout-au-long-de-l'année#Sections-Temperature)**
- À Médéa, les étés sont brefs, très chauds, secs et généralement dégagés, tandis que les hivers sont longs, assez froids et parfois nuageux. Les températures oscillent

entre 1 °C et 32 °C au cours de l'année, avec des extrêmes rarement en dessous de -3 °C ou au-dessus de 36 °C. La saison très chaude dure du 17 juin au 11 septembre, atteignant un pic en août (max 32 °C, min 17 °C), tandis que la saison fraîche s'étend du 17 novembre au 20 mars, avec janvier comme mois le plus froid (max 11 °C, min 1 °C). Les précipitations montrent une variation saisonnière modérée, avec une période pluvieuse de fin août à mi-juin, culminant en décembre (53 mm), et une période sèche de mi-juin à fin août, avec juillet comme mois le moins pluvieux (3 mm). La neige, bien que rare, atteint son pic en février (22 mm) et est presque inexistante de février à janvier. Le vent présente une variation modérée, avec la période la plus venteuse de fin octobre à fin avril, culminant en décembre (12,8 km/h), et la période la plus calme de fin avril à fin octobre, avec juin comme mois le plus calme (10,3 km/h). **(https://fr.weatherspark.com/y/47091/Météo-moyenne-à-Médéa-Algérie-tout-au-long-de-l'année)**

- À Boumerdes, le climat se caractérise par des étés très chauds, lourds, secs et dégagés, contrastant avec des hivers longs, frisquets, venteux et partiellement nuageux. Les températures annuelles varient généralement de 6 °C à 31 °C, rarement descendant en dessous de 2 °C ou dépassant 35 °C. L'été s'étend sur 3,0 mois, de fin juin à mi-septembre, avec août comme mois le plus chaud (max 31 °C, min 20 °C). L'hiver couvre 4,0 mois, de fin novembre à fin mars, janvier étant le mois le plus froid (max 16 °C, min 6 °C). Décembre est le mois le plus pluvieux avec une moyenne de 70 mm, tandis que juillet est le moins pluvieux avec seulement 3 mm. L'humidité est ressentie de manière intense pendant 4,2 mois, de début juin à mi-octobre, août étant le mois le plus étouffant avec 22,2 jours lourds. En termes de vent, la période la plus venteuse s'étend sur 5,5 mois, d'octobre à avril, avec décembre comme mois le plus venteux (moyenne de 16,5 km/h), et la période la plus calme s'étend sur 6,5 mois d'avril à octobre, juin étant le mois le plus calme (12,5 km/h). **(https://fr.weatherspark.com/y/48896/Météo-moyenne-à-Boumerdas-Algérie-tout-au-long-de-l'année)**
- À Chorfa, en Algérie, les étés sont brefs, très chauds, secs et principalement dégagés, tandis que les hivers sont longs, frais, avec des précipitations et partiellement nuageux. Les températures annuelles varient généralement de 3 °C à 36 °C, avec des extrêmes rarement en dessous de -1 °C ou au-dessus de 39 °C. La saison très chaude s'étend sur 2,7 mois, de fin juin à début septembre, atteignant son apogée en août avec des températures maximales moyennes de 35 °C et

minimales de 20 °C. La saison fraîche dure 4,1 mois, de mi-novembre à fin mars, janvier étant le mois le plus froid avec des températures minimales moyennes de 3 °C et maximales de 14 °C. Janvier est également le mois le plus pluvieux avec une moyenne de 78 mm de précipitations, tandis que juillet est le plus sec avec seulement 5 mm. L'humidité perçue reste relativement stable tout au long de l'année, fluctuant autour de 5 % +/- 5 %. En ce qui concerne le vent, décembre est le mois le plus venteux avec une vitesse moyenne de 11,7 km/h, tandis que septembre est le plus calme avec une moyenne de 10,1 km/h. **(https://fr.weatherspark.com/y/50128/Météo-moyenne-à-Chorfa-Algérie-tout-au-long-de-l'année)**

- À Bougzoul, le climat est classé comme tempéré méditerranéen avec des étés chauds et secs, selon la classification de Köppen-Geiger. La température moyenne annuelle est de 15,9°C, avec des précipitations moyennes totalisant 676,3 mm par an. En comparaison, à Alger, la température moyenne annuelle est légèrement plus élevée, à 19,7°C, avec des précipitations moyennes similaires de 672,3 mm par an. **(https://planificateur.a-contresens.net/afrique/algerie/wilaya-de-medea/bougzoul/2503086.html)**

II.2Matériel

II.2.1 Matériel végétal

Le matériel végétal étudié comprend deux sous-espèces d'Eucalyptus sideroxylon, l'une à fleurs rouges et l'autre à fleurs blanches. La collecte des feuilles a été effectuée le matin entre décembre 2022 et janvier 2024, période correspondant à la floraison. Les feuilles matures ont été récoltées à partir d'arbres sains, éloignés des lisières et exempts de maladies.

Les feuilles des sous-espèces examinées ont été séchées naturellement pendant deux semaines à température ambiante, dans un environnement sec et bien ventilé, à l'abri de la lumière et de l'humidité pour préserver leur intégrité moléculaire. Par la suite, elles ont été réduites en fine poudre et soigneusement conservées dans des bocaux en verre jusqu'à leur utilisation ultérieureou laminées sans êtres broyées pour servir à l’extraction de l’huile essentielle.

L'identification des sous-espèces a été réalisée par le **Dr. Kirouani** A du Département SNV de l'Université de Médéa, en collaboration avec des chercheurs de l'Institut National de la Recherche Forestière (INRF) à Baïnem, Alger. Cette identification s'est appuyée sur le guide d'identification des Eucalyptus de Ritter (2014*), utilisant des critères tels que le port de l'arbre, sa hauteur, sa ramification et son tronc. Des observations complémentaires en laboratoire ont été effectuées, incluant l'examen détaillé des feuilles, des fleurs et des graines pour confirmer les sous-espèces.

*Ritter, 2014 : Field Guide to the Cultivated Eucalypts (Myrtaceae) and How to Identify Them, Published By: Missouri Botanical Garden.

II.1.1.1Descriprion de l'espèce Eucalyptus sideroxylon

Eucalyptussideroxylon est un grand arbre que l'on trouve principalement dans les vallées intérieures sèches. Il se distingue par son apparence majestueuse, avec ses feuilles gris bleuté et ses fleurs écarlates. L'arbre présente également une écorce rugueuse et persistante, lui conférant une allure robuste et caractéristique.

Les caractéristiques distinctives *d'Eucalyptus sideroxylon* incluent son écorce rugueuse et persistante, ses fleurs rouges éclatantes et ses feuilles gris argenté. Ces traits contribuent à son attrait visuel et à sa reconnaissance facile dans son environnement.

Eucalyptus sideroxylon présente une diversité génétique significative, avec plusieurs variétés identifiées. Certaines de ces variétés ont des caractéristiques spécifiques telles que des fleurs blanches ou roses, tandis que d'autres ont des feuilles et des écorces de couleurs différentes. Cette diversité génétique témoigne de l'adaptabilité de l'espèce à différents environnements.

Outre son attrait esthétique, *Eucalyptus sideroxylon* a plusieurs utilisations pratiques. Son bois est précieux et utilisé dans diverses industries, tandis que ses fleurs attirent les abeilles et contribuent à la pollinisation. De plus, son utilisation comme arbre d'ornement dans les jardins et les parcs ajoute à sa valeur économique. **(Kinney,A.1895)**

II.1.1.2 Classification

Domaine : *Biota Endl.*(D.Don)

Règne : *Plantae***Haeckel, 1866**

Sous-Règne : *Viridaeplantae*

Infra-Règne : *Streptophyta***John, Williamson & Guiry, 2011**

Classe : *Equisetopsida* **C.Agardh, 1825**

Clade : *Tracheophyta***Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998**

Clade : *Spermatophyta*

Sous-Classe : Magnoliidae **Novák ex Takht., 1967**

Super-Ordre : Rosanae Takht., 1967

Ordre : *MyrtalesJuss.* ex **Bercht. & J.Presl, 1820**

Famille : *Myrtaceae Juss.,* **1789 [nom. cons.]**

Sous-Famille : *Myrtoideae* **Sweet, 1827**

Tribu : *Eucalypteae* **Peter G.Wilson, 2005**

Genre : *Eucalyptus* **L'Hér., 1789**

Espèce : *Eucalyptus sideroxylon* **A.Cunn. ex Woolls, 1887**

Sous-Espèce : *Eucalyptus sideroxylon* subsp. *tricarpa* **L.A.S.Johnson, 1962**

II.2 Les souches microbiennes

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles *d'Eucalyptus sideroxylon* a été évaluée à l'encontre de :

Escherichia coli ATCC 8739

Staphylococcus aureus ATCC25923

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027

Bacillus Subtilis ATCC 6633

*Salmonella Typhi*ATCC 14028

Salmonella epidermidus ATCC 12228

Candida albicans ATCC 10231

Saccharomyces Cerevisiae ATCC 9763

Aspergillus brasilliensis ATCC 16404

II.3Méthodologie

II.3.1 .Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple la plus anciennement utiliséeréalisée pendant 3h à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Le principe consiste à faire bouillir le mélange d'eau et de plantespour lequel l'huile essentielle est souhaitée 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(**Figure II .1)**.



Figure II .1 : Partie aérienne *d'Eucalyptus sideroxylon*après séchage (originale).

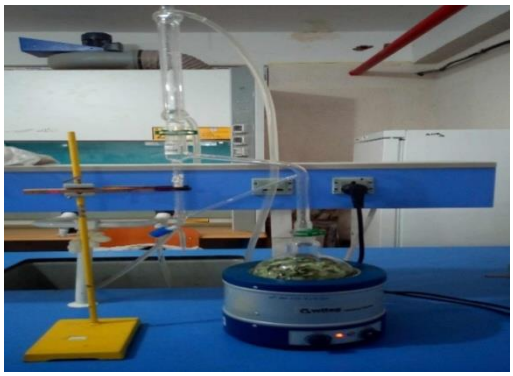


Figure II.2 : Photographie du dispositif utilisé pour l'extraction des HEs par hydro distillation. (originale).

En premier lieu, dansun ballon de 1000 mL, une quantité du matériel végétal (50 g des feuilles *d'Eucalyptus sideroxylon*bien séchés et coupées en petits morceaux) est mise en contact direct avec 500 ml d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffeballon(Figure II.2).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 (Figure II.3).



Figure II.3 : Photographie montrant la séparation des HEs par décantation.

Le volume de l'huile essentielle obtenu a été pesé puis conservé dans un flacon en verre stérile à 4°C dans un réfrigérateur. Le flacon a été couvert d'un papier aluminium à l'abri de la lumière jusqu'à son usage pour les activités biologiques.

Caractérisation organoleptique

Les caractéristiques organoleptiques à savoir l'apparence, couleur, odeur et gout étaient autrefois les indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle.

II .3.2 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=(Me/Mm) 100.

Me : masse d'huile essentielle en g.

Mm : :masse de matériel végétale utilisé .

II .3.3.Détermination des indices physico-chimiques

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico-chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation **(AFNOR)**.

II.3.3.1. l'indice de réfraction

L'indice de réfraction **: AFNOR NFT 75-112-2000** : est le rapport entre le sinus de l'angled'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'ondedéterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante. La détermination de l'indice de réfraction de l'huile essentielle est effectuée à l'aide d'un réfractomètre classique de marque OPTECH. On dépose quelques gouttes d'huile essentielle sur le prisme de réfractomètre et on attend la stabilisation de la température puis on effectue le mesurage. L'indice de réfraction, ntD est donné comme suit :

$nDt = nDt' + 0.0004 (t' – t)$

D'où

nDt : est l'indice de réfraction de référence

nDt´ : est l'indice de réfraction mesurée

t : température de référence qui est à 20°C

t´ ; température au moment de la détermination

Mode opératoire

Nettoyer soigneusement les prismes du réfractomètre avec un papier absorbant, Déposer quelques gouttes d'eau distillée sur le prisme de mesure à l'aide de la pipette pasteur. Fermer le couvercle du réfractomètre et attendre quelques instants pour que la température se stabilise. Regarder dans l'oculaire et ajuster le réfractomètre pour obtenir une ligne de démarcation nette entre les zones claires et sombres. Faire la mise au point de l'échelle du réfractomètre et noter la valeur affichée pour l'eau distillée, qui devrait être proche de 1,33 ;ouvrir le couvercle et essuyer soigneusement les prismes avec un papier absorbant.Déposer quelques gouttes d'huile essentielle *d'eucalyptus* sur le prisme de mesure.Mesurer la température de l'huile à l'aide du thermomètre et noter la valeur.Refermer le couvercle et attendre quelques instants pour que la température se stabilise. Regarder dans l'oculaire et ajuster le réfractomètre pour obtenir une ligne de démarcation nette.Faire la lecture de la valeur affichée sur l'échelle du réfractomètre (**Figure II.4) .**

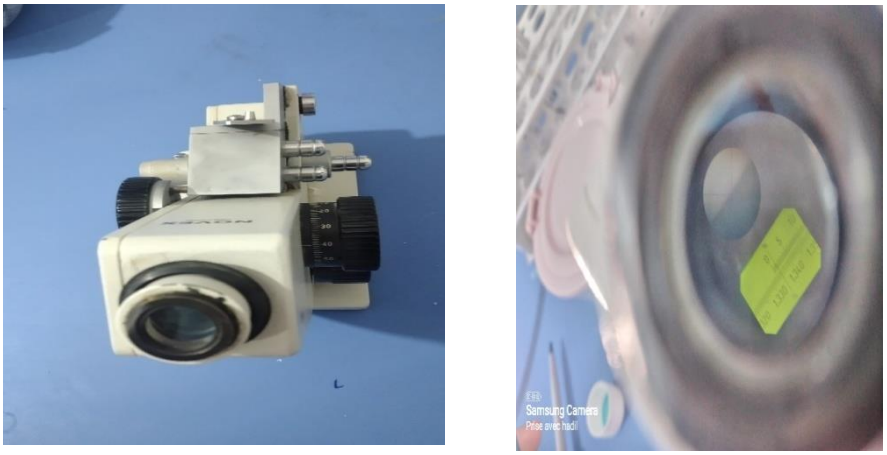


Figure II.4 : Refractomètre (originale).

II.3.3.3 L'indice d'acide

L’Indice d’acide selon **AFNOR-NFT-60-20** est le nombre de milligramme d’hydroxyde de Potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres dans un gramme de

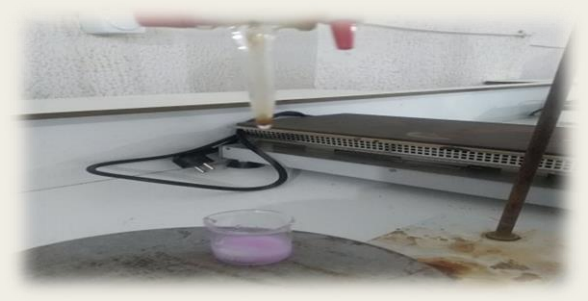
l’huile essentielle. A 0.2 g d’huile essentielle dissoute dans 2ml d’éthanol, on additionne 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. La solution ainsi formée est titrée par une solution de KOH (0.01N) dansl’éthanol jusqu’à l’apparition d’une coloration rose pale.

Mode opératoire

La détermination de l'indice d'acide de l'huile essentielle a été réalisée par une méthode de titration colorimétrique.

Dans un bécher, 0,1 g d'huile ont été pesés avec précision, puis on ajoute 1 mL d'éthanol par micropipette graduée,Deux gouttes de phénolphtaléine, utilisée comme indicateur coloré, ont ensuite été ajoutées au mélange.

Une solution de hydroxyde de potassium (KOH) de normalité 0,01N, préalablement préparée, a été versée dans une burette graduée ,Le titrage a débuté en ajoutant goutte à goutte la solution de KOH 0,01N dans le bécher sous agitation continuelle assurée par un agitateur magnétique avec barreau aimanté, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle **FigureII.5** persistante ;Le volume de KOH consommé lors du changement de couleur a été relevé avec précision pour permettre le calcul de l'indice d'acide selon la formule standard.



FigureII.5: Le virage de couleuraprès l'ajout de KOH (originale).

II.3.4.Préparation des extraits éthanoliques

L'extraction des composés actifs a été réalisée par macération en utilisant l'éthanol.

Mode opératoire

Une quantité de 40 g de poudre d’*Eucalyptus sideroxylon* est mise à macérer dans 400 ml d’éthanol. Les mélanges obtenus ont été régulièrement agités pendant trois jours à température ambiante, puis filtrés en utilisant du papier filtre, le filtrat récupéré est concentré à sec sous pression réduite à 65°C dans un évaporateur rotatif. Les substances obtenues sous forme visqueuse sont stockées dans bocaux étanches à 4°C jusqu’à

utilisation ultérieure.Chaque extrait a été transféré dans des boites de pétrie stériles et conservés au froid jusqu'à ce qu'on réalise les tests nécessaires.

II.3.5Le Rendement des extraits

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante : R%= (M/M°)X 100

R (%) =Rendement de l'extrait sec.

M° : Masse en gramme du matériel.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

II.3.6Screening phytochimique

Le screening phytochimique des extraits s'appuie sur des réactions chimiques spécifiques pour identifier la présence de métabolites secondaires(alcaloïdes, tanins,flavonoïdes,quinones libres,coumarines...etc). Ces réactions, telles que la précipitation ou la colorimétrie, permettent de mettre en évidence la présence ou l'absence de composésd'intérêt pharmacologique par laformation de précipités ou des changements de couleur.

Les méthodes utilisées dans cette étude sont des travaux réalisées par plusieurs auteurs : **(Shubhreet Kaur2018; Trease et Evans 1989;M. H. Shagal 2012;H. N. USMAN 2021 ; Bruneton 1999,).**

A) Test des Tanins

La présence des tanins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait éthanolique, 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution de chlorure ferrique (FeCl3) dans un tube à essai. L'apparition d'une coloration verte foncéeou bleu vert indique la présence des tanins condensés et des tanins hydrolysables respectivement.

B) Test des quinones

On ajoute quelques gouttes de NaOH 1% à 2 ml de chaque extrait, l'apparition d'une coloration rouge ou violette indique la présence des quinones.

C)Recherche des coumarines

Dans deux tubes à essai, on ajoute 2 ml de solution éthanolique obtenue à partir de chaque résidu. Ensuite, Dans l'un des tubes, en ajoutant, 5 ml de NaOH (hydroxyde de sodium) à 10%. Les tubes à essai ont été placés dans un bain-marie jusqu'à l'ébullition. Après refroidissement, la réaction a été arrêtée en ajoutant 4 ml d'eau distillée dans chaque tube. La réaction est considérée positive si nous observons une couleur transparente pour le tube dans lequel on a ajouté la soude.

D)Recherche des alcaloïdes

En mélangeant 0,1g de résidu avec 6ml d'éthanol à 60%. Ensuite, on ajoute deux gouttes de réactif de Dragendorff à cette solution alcoolique. Si un précipité rouge-orangé ou brun-rougeâtre se forme, cela indique un test positif.

E)Test des composés réducteurs

Pour détecter ces molécules, on chauffe un mélange composé de 2 ml d'extrait et 2 ml de liqueur de Fehling dans un bain-marie pendant 8 min. Si un test est positif, un précipité rouge brique se forme.

F) Recherche des anthraquinones

On dépose 10 ml de l'extrait dans un tube à essai, puis on met 5 ml de NH4OH à 10% avec agitation. La présence d'anthraquinones a été confirmée par la formation d'un anneau rouge.

G)Recherche des glycosides cardiaques

On ajoute soigneusement H2SO4 en couche dans un tube à essai contenant 2 ml d'extrait et 1 ml de chloroforme. L'apparition d'une coloration brun rougeâtre confirme la présence d'un anneau stéroïdien de glycosides.

H)Recherche des protéines

Ce test est réalisée par le dissout de résidu dans 2ml de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, puis on ajoute 2-3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO4 à 2%. Le développement de la couleur violette indique la présence de protéines.

I)Recherche des flavonoïdes

2 mL de l'extrait ont été prélevés, auxquels quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré ont été ajoutées, suivies de l'incorporation de 0,5 g de magnésium métallique. L'apparition d'une couleur rose-orange témoigne de la présence de flavonoïdes.

j)Recherche des poly terpènes

On dissout le résidu dans 1 ml d'anhydride acétique à chaud dans une capsule. On transfère ensuite la solution dans un tube à essai et on ajoute 0,5 ml d'acide sulfurique concentré. Une coloration violette apparaissant et évoluant vers le bleu puis le vert indique une réaction positive.

II.3.7Etudedes activités biologiques des extraits d'eucalyptus sideroxylon

II.3.7.1 Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Les tests de sensibilité et résistance antimicrobienne ont été effectués selon la méthode de diffusion sur milieu solide.

Le principe

L'activitéantibactérienne des HEs consiste à réaliser une culture microbienne sur milieu Muller- Hinton (MH), en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si ces derniers ont une activité antimicrobienne, on observera une zone d'inhibition autour du disque.

Mode opératoire

Réactivation des souches

Les souches bactériennes ont été revivifiées et repiquées dans le bouillon nutritif (Figure II.6), puis incubées à des températures optimales de développement (37°C) pendant 18 heures.

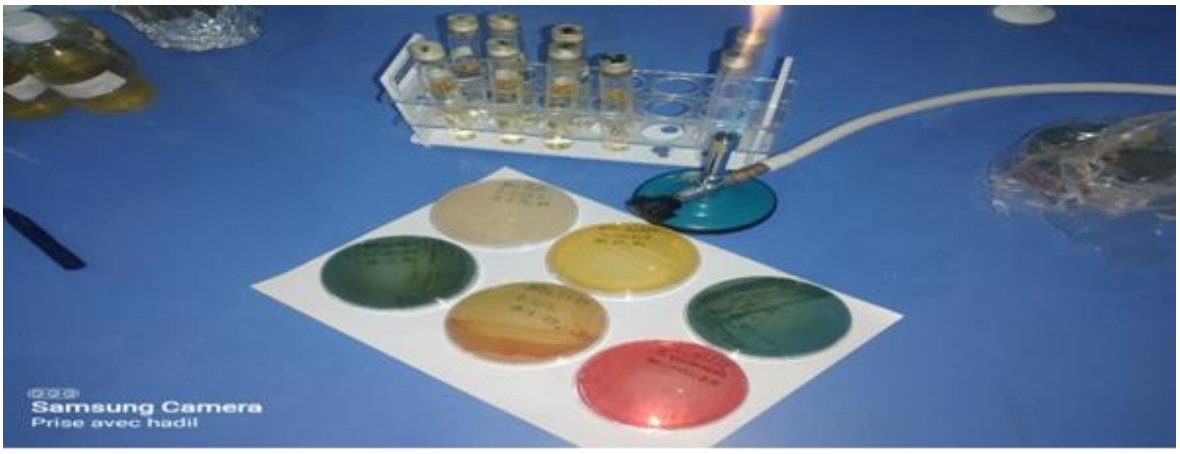


Figure II.6 : Revivification des souches bactériennes et préparation de l'inoculum (photo originale).

Préparation de l'inoculum

Chaque souche est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive puis incubées à 37°C pendant 24h, pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions microbiennes seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies jeunes, bien isolées et identiques. Tremper dans 5ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex à fin d'avoir une turbidité cellulaire (106 à 108UFC/ml) correspondant à une densité optique DO entre 0,08 à 0,12 lue à 625 nm. La gélose de Muller- Hinton (milieu spécifique pour la réalisation de l'antibiogramme (chez les bactéries), prêt à l'usage, a été coulée, une quantité équivalente à 15 ml dans des boites de pétrie stériles. Laisser les boites entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification avant leur emploi.

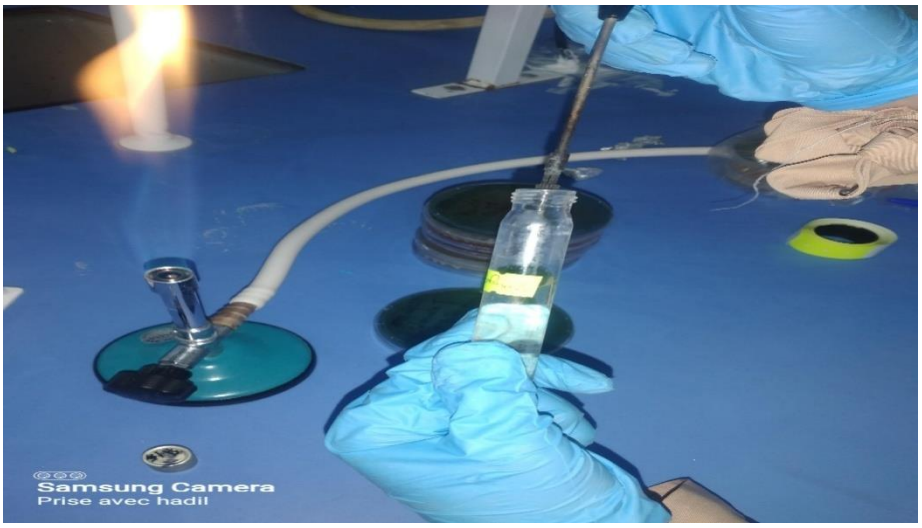


Figure II.7 :préparation de l'inoculum (suspensions bactérienne).

Ensemencement par écouvillonnage

L'écouvillon stérile, trempé et agité dans la suspension bactérienne, préalablement préparée, est essoré sur la paroi de tube à essai. L'ensemencement consiste en l'étalement par écouvillonnage d'un milieu Muller –Hinton . L'écouvillon doit passer 2 à 3 fois sur toute la surface de manière à obtenir un ensemencement homogène et une culture abondante. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

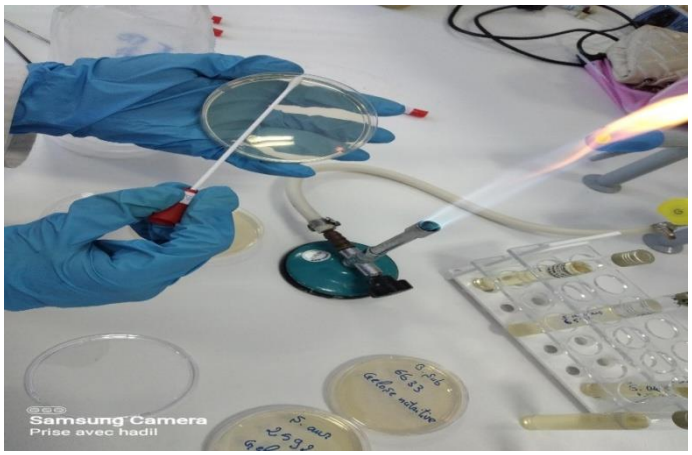


Figure II.8 : Ensemencement par écouvillonnage de la suspension bactérienne (photo originale).

Préparation des disques

Des disques (en papier filtre type Wattman N°1) stériles de 6mm de diamètre ont été déposé stérilement à l'aide d'une pince stérile sur la boîte ensemencée, ils sont préalablement imbibés de 13µl de chaque concentration de l'huile. Les boites de pétri sont placées à basse température (+4°C) pendant 2h afin de permettre aux huiles de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier; Retirer les boites du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendent 24 h.

Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre de la zone d'inhibition des bactéries auteur des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe vis- à- vis l'huile essentielle.

II.3.7.2 Évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles

Mode opératoire

À partir des cultures conservées dans un bouillon nutritif, nous avons prélevé un échantillon de chaque souche fongique à tester. Ces échantillons ont été ensemencés sur des géloses nutritives stériles et incubés à 27°C pendant 2 jours pour favoriser le développement des colonies fongiques. Une fois que les colonies ont atteint un développement satisfaisant, nous avons débuté l'évaluation de l'activité antifongique.

Une jeune colonie de chaque souche fongique a été prélevée à l'aide d'une anse puis homogénéisée dans 10 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir une concentration fongique équivalente à 0,5 McFarland. Ensuite, le milieu PDA a été versé dans des boîtes de Petri chauffées au bec Bunsen jusqu'à ce qu'il sèche. La surface du milieu PDA a été ensuite ensemencée avec chaque suspension fongique en l'étalant à l'aide d'un écouvillon stérile.

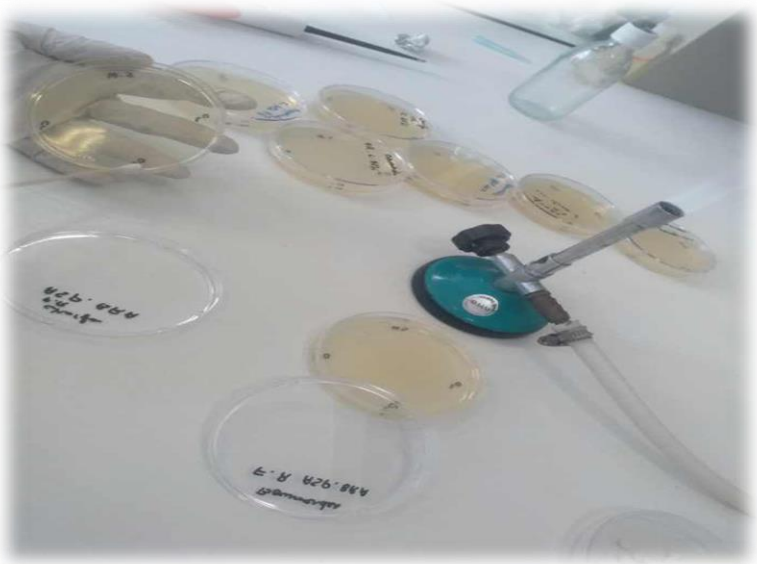


Figure II.9: l'Ensemencement par l'écouvillonnage sur la surface du milieu PDA.

Nous avons immergé des disques stériles, préalablement flambés avec une pince, dans chaque dilution de l'huile essentielle en conditions stériles. Ensuite, nous avons disposé ces disques sur le milieu inoculé, en les espaçant d'au moins 15 mm. Tout le processus a été réalisé dans la zone stérile à proximité du bec Bunsen.



Figure II.10 :le dépôt les disques sur le milieu inoculé

Les boîtes sont incubées pendant 48h à 27C, la lecture des résultats se fait par la mesure des zones d'inhibition autour des disques .

II.3.7.3Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro des extraits éthaloniques de l'eucalyptus sidroxylon

Echantillons de sang humain

Des échantillons de sang frais (environ 6ml) ont été récupérés dans des tubes héparinisés, à partir du laboratoire de l'hôpital du Médea où la prise de sang a été effectuée, sur des volontaires (20- 25 ans) n'ayant pas pris de médicaments anti-inflammatoires, durant les deux dernières semaines avant le prélèvement**.**

Préparation de la suspension des globules rouges humains

Les échantillons de sang récupérés ont été centrifugés à 3000rpm, pendant 10min. Le surnageant est, par la suite, éliminé et le culot de globules rouges a été lavé trois fois avec de l'eau physiologique, jusqu'à l'obtention d'un surnageant clair, en centrifugeant à chaque fois à la vitesse 3000 rpm, pendant 5 min (Figure II.11**)**. Le volume de globules rouges a été mesuré afin de préparer une suspension de 10% (v/v) de globules rouges humains, avec de l'eau physiologique.





FigureII.11 :préparation de la suspension des globules rouges humains.

▪Evaluation de l'activité hémolytique (la toxicité des extraits vis- à- vis des globules rouges)

Le test d'effet hémolytique des extraits végétaux étudiés est réalisé selon la méthode de Haddouchi et ses collaborateurs (2016). Dans des tubes à hémolyse, 20µl de chaque extrait est ajouté à 1980µl de la suspension érythrocytaire préparée. Ces tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 60 minutes. Après l'incubation, des prélèvements de 250µl sont réalisés pour chaque tube pour être repris dans 750µl de PBS ; la mixture obtenue est mélangée délicatement et mise dans un bain glacé pour arrêter la réaction, puis centrifuger à 2500 tours/min durant dix minutes .

La lecture de des absorbances est effectuée à 548 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, contre un blanc contenant du PBS.

Dans les mêmes conditions et les mêmes démarches expérimentales, nous avons préparé un tube d'hémolyse totale (témoin positif) qui contient 100µl de la suspension érythrocytaire et 1900µl d'eau distillée et un tube témoin négatif composé de 250µl de la suspension érythrocytaire et de 750 µl de PBS.

Nous avons utilisé l'acide gallique comme molécule de référence avec les mêmes démarches expérimentales que les extraits des plantes. Le taux d'hémolyse de différents

extraits est calculé par rapport à l'hémolyse totale, après 60 minutes d'incubation selon la formule suivante :

Taux d'hémolyse (%) = (DO extrait – DO témoin négatif)/DO témoin positif

Evaluation de l'effet des extraits sur la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test se base sur l'étude de l'effet des extraits végétaux, étudiés dans notre travail, sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de **Ganesh et al. (2013).**

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 mL d'extraits, 1.5 mL du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %) ont été mélangés et incubés, à 37°C pendant 20 min (Fig. II.13). Par la suite, un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (20%) a été rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56°C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle consiste en un mélange de 2.5ml de la solution hyposaline, 1.5 ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges.

Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec lesmêmes concentrations que l'extrait. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

% de stabilité des membranes des GR = 100-[At / Ac]

Ac : absorbance de control, At : absorbance de l'échantillon (test)

Le test se base sur l'étude de l'effet des extraits végétaux, étudiés dans notre travail, sur la stabilisation des érythrocytes, après induction de l'hémolyse par une solution hypotonique associée à une température élevée, selon le protocole de Ganesh et al. (2013).

Dans des tubes à hémolyse, 0.5 mL d'extraits, 1.5 mL du tampon phosphate (0.15 M, pH 7.4) et 2 ml de la solution hyposaline (NaCl à 0.36 %) ont été mélangés et incubés, à 37°C pendant 20 min (Fig. II.13). Par la suite, un volume de 0.5 ml de la suspension des érythrocytes (20%) a été rajouté pour chaque tube, enchainé d'une incubation, à 56°C pendant 30 min. Les tubes ont été mis dans de l'eau froide pendant 20 min, afin d'arrêter la réaction ensuite centrifugé, à 3000 rpm pendant 5 min. La lecture d'absorbance du surnageant est faite à 560nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. Le contrôle consiste en un mélange de 2.5ml de la solution hyposaline, 1.5 ml du tampon PBS, 0.5 ml de la suspension de globules rouges.

Le diclofénac est utilisé comme molécule de traitement anti-inflammatoire, avec les mêmes concentrations que l'extrait. Le pourcentage d'hémolyse a été calculé selon l'équation suivante :

$$\% \text{ de stabilité des membranes des GR} = 100-[At / Ac]$$

Ac : absorbance de control, At : absorbance de l'échantillon (test).

II.3.7.4 Evaluation de l'activité anti diabétique

Mode opératoire

Dans un Erlen Meyer, 30g de tartrate double de sodium et potassium est solubilisé dans 50ml d'eau distillée. Dans une autre Erlen Meyer, 2.25 g de hydroxyde de potassium (KOH) est dissouts dans 20 ml de l'eau distillée, a cette solution on ajoute 1g de DNS. Les deux solution sont ensuite mélangé et agité, la solution finale de réactif DNS avec une couleur rouge/orangée.Le volume obtenu est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée et le réactif obtenu doit être conservé a l'abri de la lumière a +4C°.

Différente concentrations des extraits de *E.sideroxylon* sont préparées par la dissolution de 1mg des extraits dans 1ml de l'eau distillée avec agitation par vortex.

L'amylase de *Bacillus* stearothermophilus (BStA) achetée chez Novozymes (Novamylw, Bagsvaerd, Danemark) a été utilisée pour les procédures d'immobilisation. La solution de

L’amylase a été préparée en diluant la solution mère d'enzyme au 1 : 300 (v/v) dans une solution tampon de phosphate de sodium 0,1 M (pH 6,3). Elle est conservée à une température de +4°C.

La solution de substrat utilisée dans cette expérience est constituée d'amidon soluble de pomme de terre (Merk). Pour préparer la solution, l'amidon est dilué dans une solution tampon phosphate (0,1 M, pH 6.3). L'objectif de cette expérience est de tester l'activité de l'α-amylase. La concentration finale d'amidon utilisée dans le milieu est variee entre 10, 7.5, 5, 2.5, 1.25g/l

Dosage des sucres réducteurs par la méthode de Benfeld (1955)

La méthode repose sur le pouvoir réducteur des groupes aldéhydes et cétones libres des sucres. En présence d'un milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions entraîne la réduction simultanée de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (jaune orange) en acide 3-amino 5-nitrosalicylique (rouge orange), qui absorbe la lumière à 540 nm. L'intensité de la coloration obtenue est directement proportionnelle à la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel**.[Benfeld, 1955];[In Negi et Baner, 2006].**

Mode opératoire

√ Pour le test de réaction DOB, on prépare une série de tubes à essai. Chaque tube contient un échantillon avec l'extrait, sauf le tube de contrôle qui contient uniquement DOA (sans extrait). Chaque tube possède également un tube blanc correspondant.

√ Dans chaque tube, on introduit 200 µl de solution d'enzyme α-amylase. Puis, on ajoute 100 µl de l'extrait correspondant à chaque concentration. Dans les tubes de contrôle, l'extrait est remplacé par 100 µl de solution tampon.

√ On ajoute dans tous les tubes blanc 200 µl de solution tampon, sauf le tube de blanc du contrôle on met 300µl;

√On introduit 200µl de substrat dans tous les tubes ;

√ On arrête la réaction par 500 µl de DNSA, après 5min d'incubation à 37°C.

√ En même temps les tubes sont agités et placés dans un bain mari bouillant pendant 5 min;

√ Ils ont immédiatement refroidis dans un bain d'eau glacée.

√ Dans chaque tube, on met 1ml de l'eau distillée.

√ Les mesures de densité optique sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre de marque JENWAY, réglé sur une longueur d'onde de 540 nm. Ces mesures sont comparées à une lecture de référence effectuée avec un échantillon blanc.

Le degré d'inhibition de l'α-amylase est quantifié en pourcentage et calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$I\% = (DOA - DOB / DOA) \times 100$$

DOB: la DO de tube d'échantillon.

DOA : la DO de tube de contrôle.

CHAPITRE III
RÉSULTATS Et DISCUSSION

III.1L’étude analytique des huiles essentielles

III .1 .1 Les caractèresorganoleptiques

Tableau III .1 : Caractéristiques organoleptique

Caractéristique organoleptique	Aspect	Couleur	odeur
L’AFNOR	Liquide Mobile Limpide	Presque incolore A jaune pàle	Caractéristique fraiche , plus ou moins *eucalyptus* selon l’origine .
Boughezoul F.R	Liquide Limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée
Boughezoul F.B	Liquide Limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée
Boumerdes F.R	Liquide Limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée
Boumerdes F.B	Liquide limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée
Chorfa fleurs rose	Liquide limpide	Jaune foncé	Fraiche eucalyptolée
Blida F.R	Liquide limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée
Blida F.B	Liquide limpide	Jaune claire	Fraiche eucalyptolée

III .1 .2Rendements d'HEs

Le rendement est exprimé en pourcentage (%) est calculé par la formule suivante :

R = (mH/ mf) 100 où

mH : masse totale d'huil essentiel.

mf : masse de la matière végétale sèche.

Tableau III.2 : Rendements d'HEs

Les Régions	Rendements (%)
Boumerdes F.R	2.21
Boumerdes F.B	1.51
Blida F.R	1.31
Blida F.B	1.32
Boughezoul F.R	1.46
Boughezoul F.B	2.22
Chorfa fleurs rose	0.88

L'hydrodistillation de la partie aérienne de plante séchés a été réalisée avec le dispositif de Clevenger.

Les résultats montrent que le rendement des HEs d'E. sideroxylon varie entre (0,88%) et (2,22%) selon les régions. (pour 50 g de matériel végétal séchés). Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Karamian et al. (2015**), qui ont constaté que le rendement des huiles essentielles de *l'eucalyptus* varie selon les espèces, de 1,12 % à 5,38 %. La variation des rendements en huile essentielle est due à plusieurs facteurs biotiques et abiotiques qui déterminent la quantité et les constituants de l'huile essentielle (Kissayi, 2011).Cependant, ce rendement en HE est relativement élevé comparé à ceux rapportés par Baalouiamer en 1985 (0,8 - 0,7 %). En Algérie, le rendement en HE peut varier d'une région à l'autre selon les facteurs pédoclimatiques. Une étude de BOUFERKAS en 1996 a rapporté un taux de (0,68-0,21%) en HE extraite des plantes cultivées dans la plaine de Mitidja. Ce taux est très

en dessous du rendement obtenu au cours de nos extractions. Ceci peut être lié aux influences pédologiques (texture, composition, porosité et pH du sol). D'un autre côté, certains auteurs **SINGH et al en 1989, PARAKASH et al en 1972, NAKASHIMA en 1985 et ZRIRA et al en 1992** ont obtenu un rendement relativement similaire au notre qui est respectivement : 2,51, 2,83, 3,8 et 2,12%. En résumé, plusieurs études ont confirmé que les fluctuations observées dans le rendement en HE peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à l'imbrication d'une multitude de facteurs (biotique et abiotique). Parmi ces facteurs, nous pouvons citer la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents, apport des engrais organiques et/ou minéraux) et aux méthodes d'extraction. Ce dernier exerce une influence directe chez les espèces végétales.

III.1.3Analyse physico-chimiques

Tableau III. 4 : Les résultats des analyses physico-chimiques des HEs *d'E sidroxylon*.

Indice de réfraction à 20°C	Indice d'acide	Région	Référence
1,441-1,464	**0,84-3,74**		AFNOR
1.4604	1,61 mg KOH/g d'huile	Boumerdes F.R	
1.4578	2,805 mg KOH/g d'huile	Boumerdes F.B	
1.4603	1,293 mg KOH/g d'huile	Boughezoul F.R	
1.4610	2,805 mg KOH/g d'huile	Boughezoul F.B	
1.4591	1,415 mg KOH/g d'huile	Blida F.R	
1.4623	1,805 mg KOH/g d'huile	Blida F.B	
1.4556	2,61 mg KOH/g d'huile	ChorfaF.rose	

Indice d’acide

D'après les résultats représentés dans le tableau III. 4 , on constate que les valeurs des indices d'acide de l'HE de l'eucalyptus des cinq régions sont conformes aux normes, ils doivent être inférieurs à **3,74**. Ce qui indique que notre HE est bien pur et qu'elle n'a pas subi de dégradation oxydative au cours du temps écoulé avant le titrage.

On comparant nos résultats avec ceux obtenus par **BENBELLI Khamsa 2021 ;** l’indice d’acide est déterminé par la relation suivante: Ia = 56,1.M.V m**,** Où le volume de KOH consommé V_{KOH}=50 ml. Donc: **Ia = 1 ,62.**

Indice de refraction

D'après les résultats mentionnés dans le tableau III. 4 , tous les indices de réfractions mesurés sont conformes aux normes(**1,441-1,464)**. Ce qui indique que les huiles essentielles que nous avons obtenus, liquide de couleur jaune très pale est bien pure.

Les résultats obtenus sont proches de ceux trouvés par d'autres auteurs pour les autres variétés d'eucalyptus **: [Abdo MB. 2019]** ont trouvé 1,45952 comme indice de réfraction pour l'huile essentielle d'E.globulus et 1,45215 pour l'huile essentielle d'E. citriodora.

[Kassahun A .2019] ont trouvé 0,925 comme densité relative et 1,451 comme indice de réfraction pour l'huile essentielle *d'E. globulus*.

III.2 Etude des extraits ethanoliques

III.2.1 Rendement de l’extrait éthanolique

Dans cette étude, nous avons préparé des extraits bruts à partir des feuilles *d’E. Sideroxylon.*en utilisant la méthode de macération dans le éthanol (extraits éthanoliques). Nous avons déterminé les rendements d’extraction de nos extraits obtenus après évaporation par rapport au matériel végétal sec. Les résultats sont présentés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Les résultats de rendement des extraits de la plante Eucalyptus Sideroxylon

Les régions	Rendement en %
BM .FB	40.75
BM . fr	47.5
Bg . fb	35
Bg . fr	78
Medea fr	42.5
Medea fb	35
Medea f.rose	74.5

Les extraits préparés à partir de notre échantillon ont produit des rendements variant de 35% à 78 %, en fonction de la région d'origine de la plante. Nous avons observé que le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait éthanolique de région Boughezoul Fleurs rouges, tandis que le rendement est diminué dans Boughezoul Fleurs blanches (35%). C'est résultats obtenu par **(khedachi djihad , merrah hadjer, 2024).**

Par la comparaison de nos résultats avec d'autres études nous avons trouvé que le rendement de l'extrait éthanolique est supérieur à celle trouvé par **Hayate Bouharb etal(2014)**préparé a partir d'Eucalyptus gomphocephala qui a été estimé à 2, 17%.

III.2.2 Screening phytochimique

Le screening phytochimique des extraits éthanoliques a permis qualitativement, la mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires de l'espèce *E. sideroxylon* du régios : Blida, médea , boumerdess , bougezoul dont les résultats sont rassemblés dans le(tableauIII .5).

TableauIII .5 : screening phytochimiques de l'extraits d'eucalyptus sidroxylon

Constituants phytochimique	Fleure rouge	Fleure blanc
Tanins	+	+
Poly terpènes	+	+
Flavonoïdes	+	+
Quinones libres	+	+
Coumarines	+	+
Glycosides cardiaques	+	+
Alcaloïdes	-	-
Sucres réducteurs	-	-
Protéines	-	-
anthraquinones	+	+

Positive:+ ; Négatif:-

C'est résultats obtenu par **(khedachi djihad , merrah hadjer, 2024).**

Le criblage phytochimique de l'espèce *Eucalyptus sideroxylon* a révélé une présence significative de plusieurs métabolites secondaires, notamment les tanins, les flavonoïdes, les polyterpènes, les quinones libres, les coumarines et les glycosides cardiaques .

Les composés réducteurs, les protéines et les alcaloïdes sont absents. Ces résultats sont en accord avec une étude menée par Upreti, A .et al 2018 sur un extrait ethanoliques d'une espèce *d'Eucalyptus sp* qui a observé la présence de ces métabolites secondaires que nous avons détecté, et il a signalé également l'absence de ceux qui nous n'avons pas détecté.Cependant, les tanins présents dans notre espèce ne sont pas présents dans l'espèce étudiée par **(Upreti, A .et al 2018).** La présence des tanins dans notre espèce sont en accord avec les travaux de **Belbachir en 2019** sur une espèce *d'Eucalyptu sp* à Ain Timouchent en Algérie.

On comparant nos résultats avec ceux obtenus par **M. H. Shagal et al (2012)** , il a noté que tous les bioactifs étaient présents dans les feuilles sauf les alcaloïdes qui sont absents. Cette variation dans les résultats peut s'expliquer par plusieurs paramètres, tels que des facteurs biologiques, géographiques ou physicochimiques. Par exemple, l'influence du stade de croissance de la plante, l'organe de la plante étudié, la différence de site de récolte incluant l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, les conditions du sol, la période de récolte, le patrimoine génétique et la méthode d'extraction utilisée. Ces facteurs peuvent influencer la composition chimique des plantes et expliquer les variations observées dans la présence ou l'absence de certaines familles chimiques **(Benini, 2007 ; Bruneton, 1999)**.

III.3Evaluation des activités biologiques des huiles essentielles *d'eucalyptus sideroxylon*

III.3.1 Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles *d'eucalyptus sideroxylon*

l'activité antibactérienne

Region de Boughezoul

***Eucalyptus sideroxylon* à fleurs rouges et blanches**

Analyse de la variance:

L'analyse de la variance de l'interaction « concentration X Souche bactérienne » a mis en évidence une différence hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition (Annexe, Tableau 1 et 2). Le diamètre d'inhibition s'étale de 29.5 mm, une valeur moyenne obtenue suite à l'application de l'antibiotique sur la souche bactérienne S. aureus à 6 mm, résultat de l'effet de cette huile sur *S. typhimurium* et *S. epidermidis*, pour *l'E.sideroxylon* à fleurs rouges et de 33 mm, sur la souche bactérienne S. aureus à 6 mm, résultat de l'effet de cette huile sur *S. epidermidis* et *p.aeruginosa*, pour *l'E.sideroxylon* à fleurs blanches.

Le test de Fisher place l'antibiotique en tête de classement quel que soit la concentration utilisée, en effet, la gentamycine était plus efficace contre *S. aureus* classée en premier dans le groupe unique A pour les deux sous espèces *d'E.sideroxylon*;

E. sideroxylon F.R

Bien que l'effet de la gentamycine est moindre, cependant il reste significatif sur d'autres souches bactérienne ce qui les classe en d'autres groupes B (26,5 mm), C (20-21,5 mm) et D (16,5 mm) ce dernier montre une activité similaire à celle de la solution mère de l'huile sur certaines souches comme *B.subtilis* et *S. epidermidis* . L'effet à la concentration 1 s'avère également efficace contre *B. subtilis* générant une zone de 12 mm similaire que celui de la solution mère sur p.aeruginosa, ces résultats leur permet d'occuper le groupe f, et l'effet à la concentration 2 s'avère également efficace contre *B. subtilis* générant une zone de 10.5 mm au même niveau que celui de la solution mère sur *S. typhimurium* et S. aureus. ces résultats leur permet d'occuper le groupe G . Les résultats montrant une légère efficacité des HEs ont été observés généralement sous l'effet des concentrations 2 et 3, la concentration 3 montre une efficacité similaire à la concentration 2 sur *S.aureus, S. epidermidis et S.typhimurium* (Tableau III.6).

E.sideroxylon F.B:

son effet bien qu'il est moindre, la gentamycine reste significatif sur d'autres souches bactérienne aussi, ce qui les classe en d'autres groupes B(26 mm), c(22,5 mm) et D(20 - 20,5 mm), L'effet à la solution mère s'avère également efficace contre *B. subtilis, s.epidermidis,* générant une ZI de (11,5 mm) et *p.aeruginosa*, s. aureus (10,5 mm), ce dernier montre une activité similaire à celle de la concentration 1 de l'HE de *l'E.sideroxylon* à fleurs blanches sur B. subtilis générant une ZI de (10.5 mm), ce qui les classe tous dans un groupe unique E.L'effet le moins prononcé des HEs est observé aux concentrations 2 et 3. la concentration 3 montre une efficacité similaire à la concentration 2 sur *S. aureus*. (Tableau III 7)

Tableau III.6 Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3	AB
P. aeruginosa	11,50000^{f}	9,00000^{i}	8,00000^{k}	6,50000^{m}	20,00000^{c}
S. typhimurium	10,50000^{g}	7,00000^{l}	6,50000^{m}	6,00000^{n}	16,50000^{d}
S. epidermidis	14,50000^{d}	9,50000^{h}	6,50000 ^{m}	6,00000^{n}	21,50000^{c}
E. coli	13,50000^{e}	9,50000 ^{h}	8,00000^{k}	6,50000 ^{m}	20,00000^{c}
S. aureus	11,00000^{g}	8,50000^{j}	6,00000^{n}	6,00000^{n}	29,50000^{A}
B. subtilis	14,50000^{d}	12,00000^{f}	10,50000^{g}	8,50000^{j}	26,50000^{b}

Tableau III 7 : Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3	AB
P. aeruginosa	10,50000^{e}	8,50000^{g}	7,00000^{i}	6,00000^{k}	20,50000^{d}
S. typhimurium	9,00000^{f}	7,50000^{h}	7,00000^{i}	6,50000^{j}	20,50000^{d}
S. epidermidis	11,50000^{e}	9,50000^{f}	8,00000^{g}	6,00000^{k}	22,50000^{c}
E. coli	9,50000^{f}	8,50000^{g}	7,50000^{h}	6,50000^{j}	20,00000^{d}
S. aureus	10,50000^{e}	9,00000^{f}	6,50000^{j}	6,00000^{k}	33,00000^{a}
B. subtilis	11,50000^{e}	10,50000^{e}	8,00000^{g}	6,50000^{j}	26,00000^{b}

En comparant nos résultats avec ceux obtenus par **Mehani,M 2015** .Elle a appliqué une expérience similaire mais en utilisant *l'Eucalyptus camendulensis*, il est à noté que l'HE utilisée dans le présent travail a une efficacité contre les souches testés plus ou moins similaire au leur étude. selon la même étude, elle indique que *l'Eucalyptus* est doué d'une activité biologique efficace sur les microorganismes et leurs HEs active sur certaines souches comme *E.coli* et moins active vis-à-vis d'autres comme *p.aeruginosa* ,c'est ce que nous avons trouvé dans notre travail.

Des résultats similaires ont été rapportés par **ALITONOU et al (2004)**. Ils montrent que l'huile essentielle d'Eucalyptus tereticornis Sm.a, un assez large pouvoir inhibiteur à l'égard des micro-organismes étudiés; aussi **SOHOUNHLOUE et al (1999**) ont montré que les huiles essentielles de Clausena anisata, *Eucalyptus camadulensis* et Ocimum basilicum ont une activité biologique sur les microorganismes.

B.Analyse graphique

Pour les deux sous espèces *d'E.sideroxylon*, L'analyse graphique met en évidence une séparation nette de la courbe de l'antibiotique par rapport aux autres courbes, ce qui indique que son effet est prédominant et dépendant de la souche bactérienne. Cette séparation est également observable, bien que dans une moindre mesure, pour la courbe correspondant à la concentration de la solution mère, et ce, pour l'ensemble des souches bactériennes. En revanche, les courbes correspondant aux concentrations C1, C2 et C3 sont très proches les unes des autres, ce qui suggère un effet similaire entre ces doses (Figure III. 1).

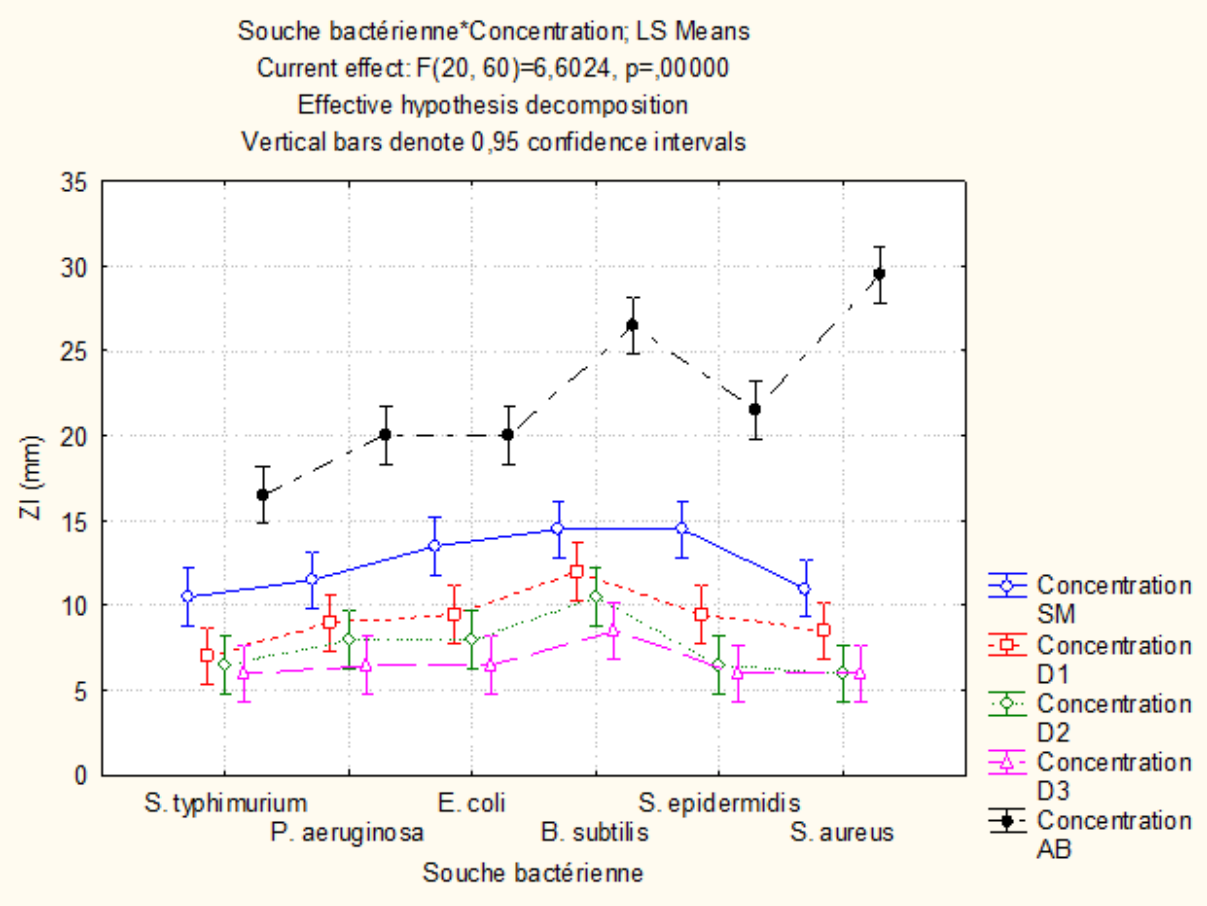


Figure III. 1 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge.

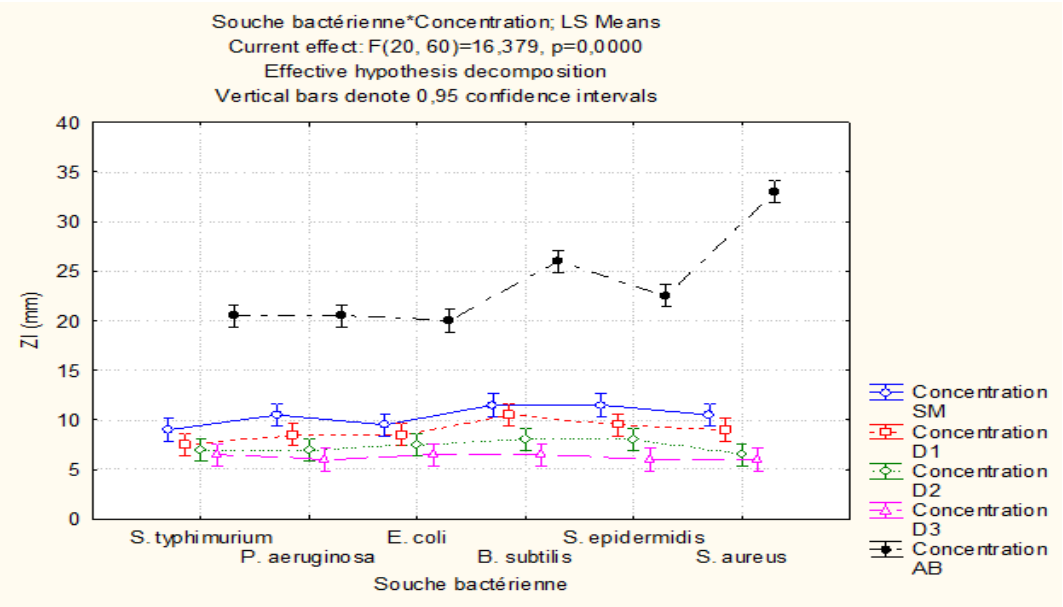


Figure III. 2 : .Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche.

C-Sensibilité et résistance des souches bactérienne

l'analyse graphique montre que *B. subtilis* est la plus sensible suite à l'application de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge et blanches quelque soit la concentration utilisée, à l'exception de la concentration de l'antibiotique, où *S. aureus* présente une sensibilité plus élevée que *B. subtilis*.

cependant, la tolérance des autres souches est dépendante à la concentration, en effet, elles s'avèrent sensible à forte concentration (Smet AB) et tolérante à une concentration moyenne et faible (C2 et C3). Figure III. 3 .

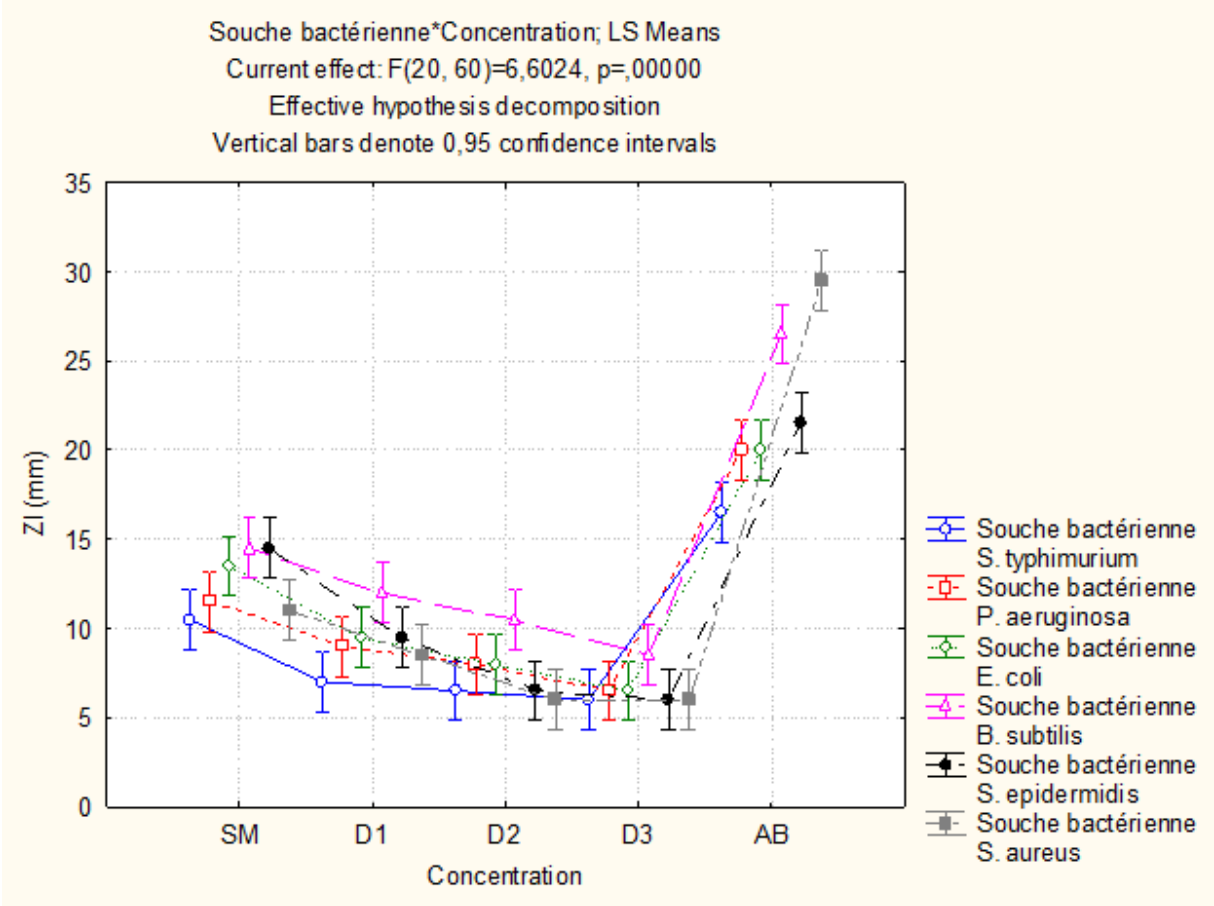


Figure III. 3 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure rouge .

:

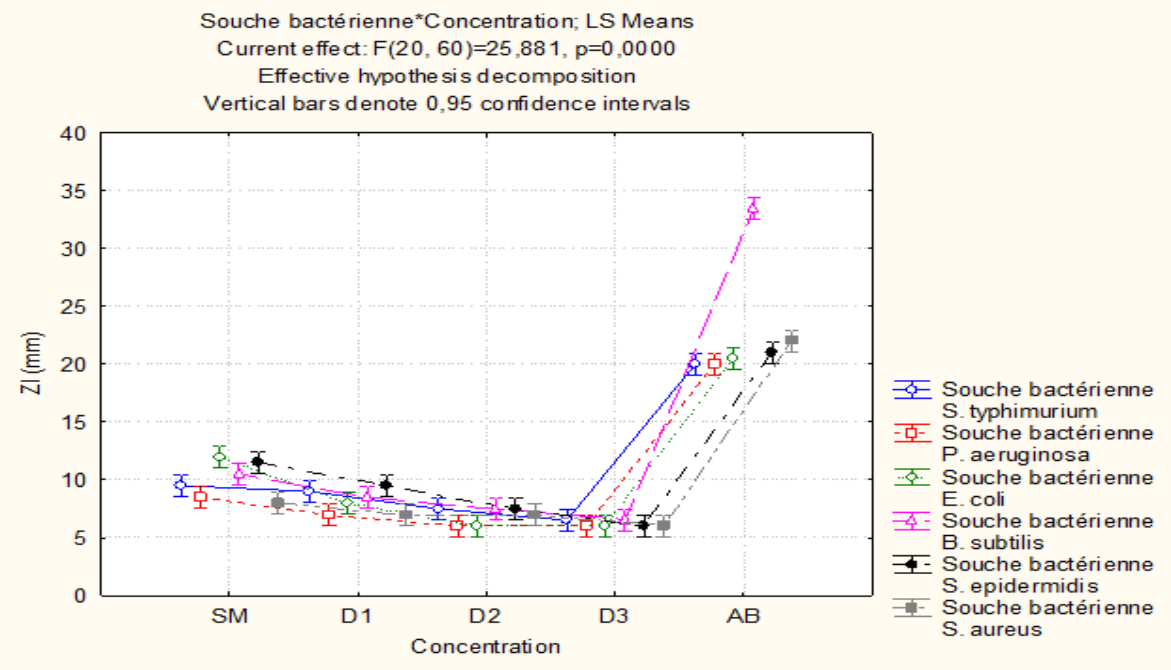


Figure III. 4 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*Fleure blanche

2. Region de Boumerdes

Eucalyptus sideroxylon à fleurs rouges et blanches

Analyse de la variance

L'analyse de la variance de l'interaction « concentration X Souche bactérienne » a mis en évidence une différence hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition (Annexe, Tableau … et …). Le diamètre d'inhibition s'étale de 28 mm, une valeur moyenne obtenue suite à l'application de l'antibiotique sur la souche bactérienne *B.subtilis* à 6 mm, résultat de l'effet de ce huile essentielle sur certaines souches bactérienne comme *E.coli, p.aeruginosa, s.aureus* pour *l'E.sideroxylon F.R* et s'étale de 33,5 mm, une valeur moyenne obtenue suite à l'application de l'antibiotique sur la souche bactérienne B.subtilis à 6mm aussi résultat de l'effet de ce huile sur *E.coli, S. typhimurium, s.epidermidis,* pour l'*E.* à fleurs blanches.

Le test de Fisher place l'antibiotique en tête de classement quelque soit la concentration utilisée, en effet, la gentamycine était plus efficace contre *S. aureus* classée en premier dans le groupe unique A pour les deux sous espèces *d'E.sideroxylon*;

E. sideroxylon F.R

la ZI de gentamycine est (29.5 mm), son effet bien que moindre, reste significatif sur d'autres souches bactérienne ce qui les classe en groupes B (21 - 22 mm) et C (20- 20,5 mm) , L'effet à la solution mère s'avère également efficace contre *B. subtilis,* générant une ZI de (14,5 mm) et *S.epidermidis*(11,5 mm) et l'effet à la concentration 1 s'avère également efficace contre *B.subtilis* générant une ZI de (10,5 mm) au même niveau que celui de la solution mère sur *E.coli*, ces résultats leur permet d'occuper le groupe G.

la concentration 2 montre une efficacité similaire à la concentration 1 sur *S.typhimurium*. La concentration 3 ne montre aucun effet avec une ZI de 6 mm. (Tableau III.8)

E.sideroxylon F.B

la ZI de gentamycine est 33,5 mm ,son effet bien que moindre, il reste significatif sur d'autres souches bactérienne ce qui les classe en d'autres groupes.

L'effet à la solution mère s'avère également efficace contre *E.coli* 12 mm, *S.epidermidis* 11,5 mm, ce qui leur permet d'occuper le groupe D. De même, l'effet à la concentration 1 s'avère également efficace contre *S.epidermidis* générant une ZI de 9,5 mm au même niveau que celui de la solution mère sur *S.typhimurium*, ces résultats leur permet d'occuper le groupe f. La concentration 2 montre une efficacité similaire à la concentration 1 sur *s.aureus* ce qui leur permet d'occuper le groupe j. La concentration 3 ne montre aucun effet (6 mm) sur toutes les souches bactériennes. (Tableau III. 9)

Tableau III.8: Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3	AB
P. aeruginosa	9,50000^{h}	7,00000^{i}	6,00000^{j}	6,00000^{j}	19,50000^{d}
S. typhimurium	7,00000^{i}	6,00000^{j}	6,00000^{j}	6,00000^{j}	21,00000^{b}
S. epidermidis	11,50000^{f}	9,00000^{h}	6,50000^{i}	6,00000^{j}	20,00000^{c}
E. coli	10,50000^{g}	7,00000^{i}	6,00000^{j}	6,00000^{j}	20,50000^{b}
S. aureus	9,50000^{h}	6,50000^{i}	6,00000^{j}	6,00000^{j}	20,00000^{c}
B. subtilis	14,50000^{e}	10,50000^{g}	7,00000^{i}	6,00000^{j}	28,00000^{a}

Tableau III. 9: Comparaison des moyennes de l'interaction (Concentration X Souche bactérienne) par l'utilisation du test de Fisher LSD

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3	AB
P. aeruginosa	8,50000^{g}	7,00000^{j}	6,00000^{l}	6,00000^{l}	20,00000^{c}
S. typhimurium	9,50000^{f}	9,00000^{g}	7,50000^{i}	6,50000^{k}	20,00000^{c}
S. epidermidis	11,50000^{d}	9,50000^{f}	7,50000^{i}	6,00000^{l}	21,00000^{b}
E. coli	12,00000^{d}	8,00000^{h}	6,00000^{l}	6,00000^{l}	20,50000^{c}
S. aureus	8,00000^{h}	7,00000^{j}	7,00000^{j}	6,00000^{l}	22,00000^{b}
B. subtilis	10,50000^{e}	8,50000^{g}	7,50000^{i}	6,50000^{k}	33,50000^{a}

Analyse Graphique

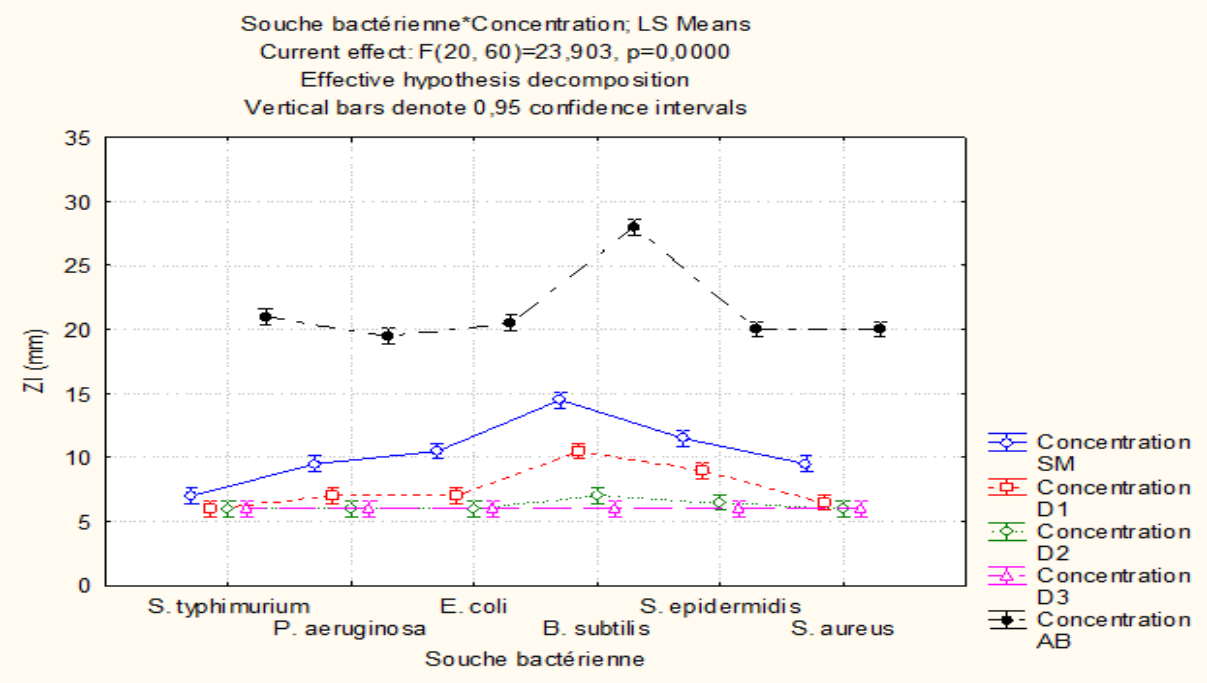


Figure III. 5 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*fleure rouge

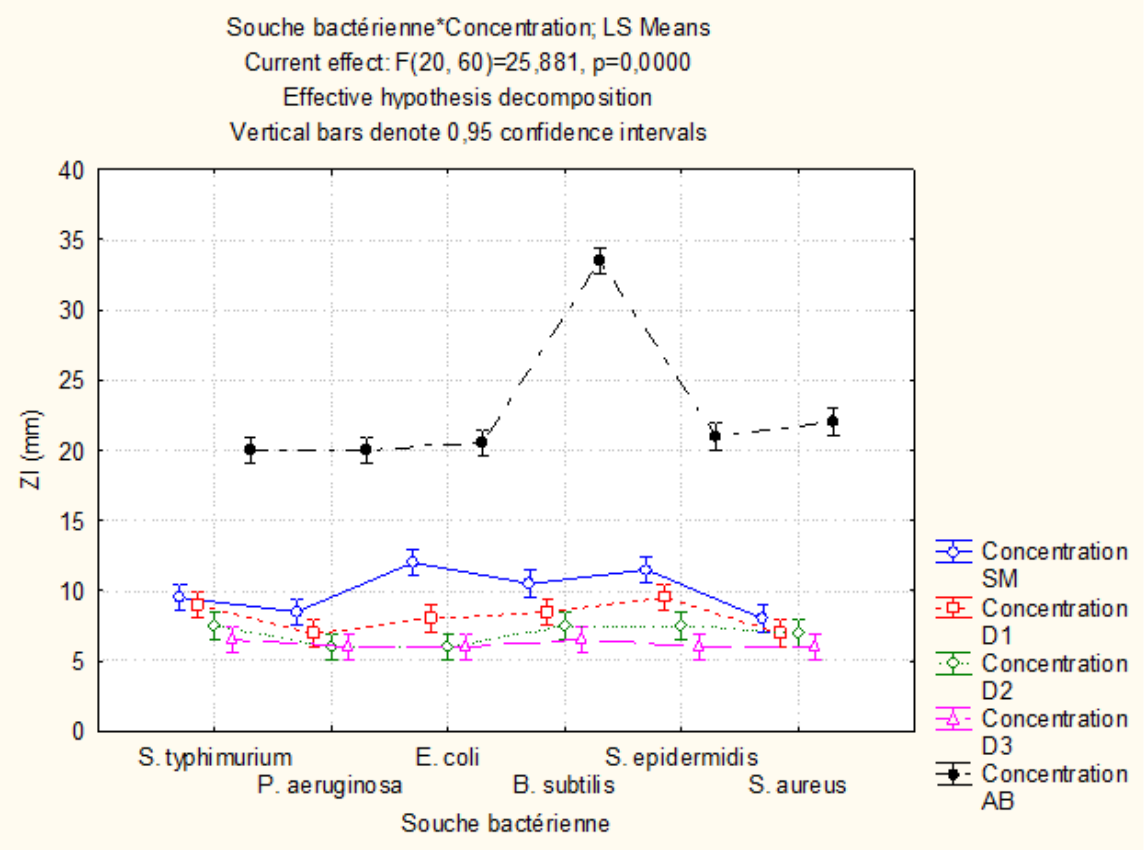


Figure III. 6 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*fleure blanche.

c. sensibilité et résistance des souches bactérienne

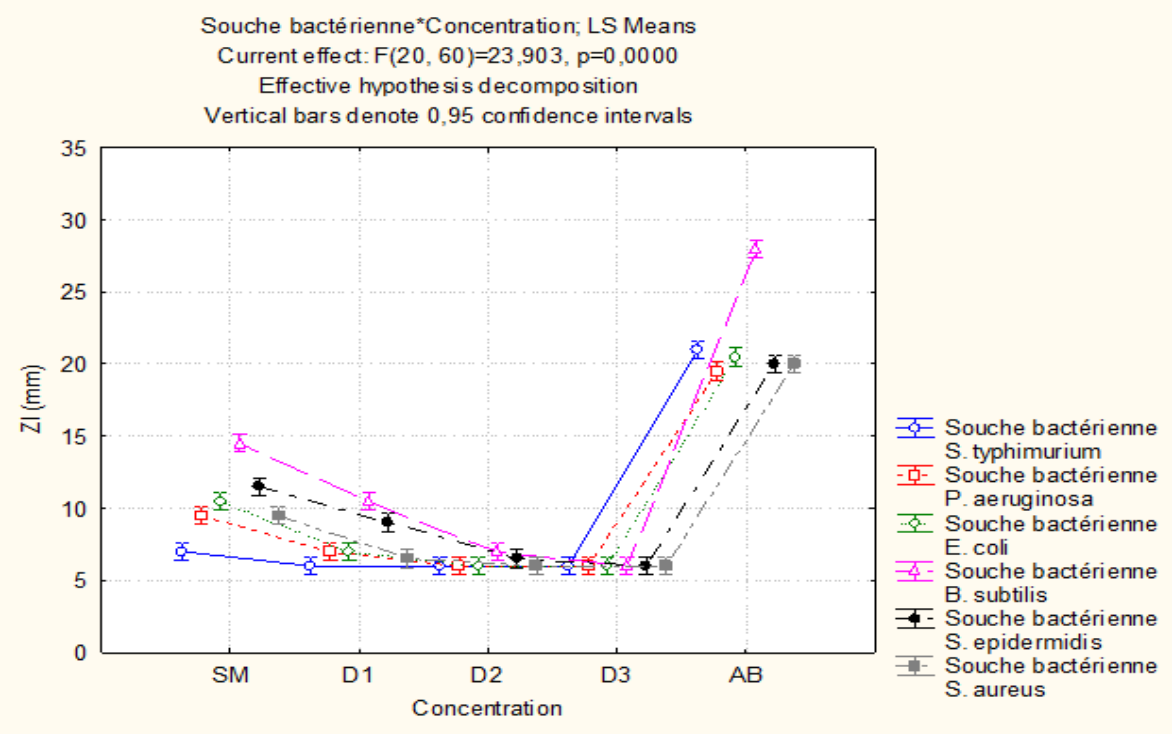


Figure III. 7 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*fleure rouge .

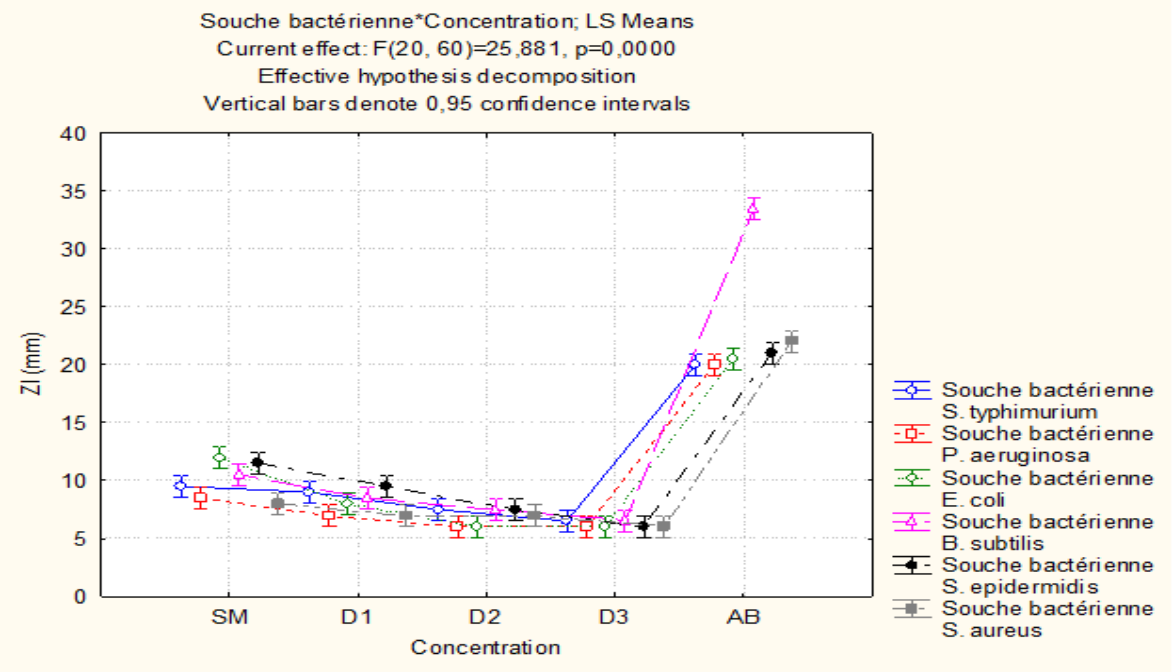


Figure III. 8 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*fleure blanche.

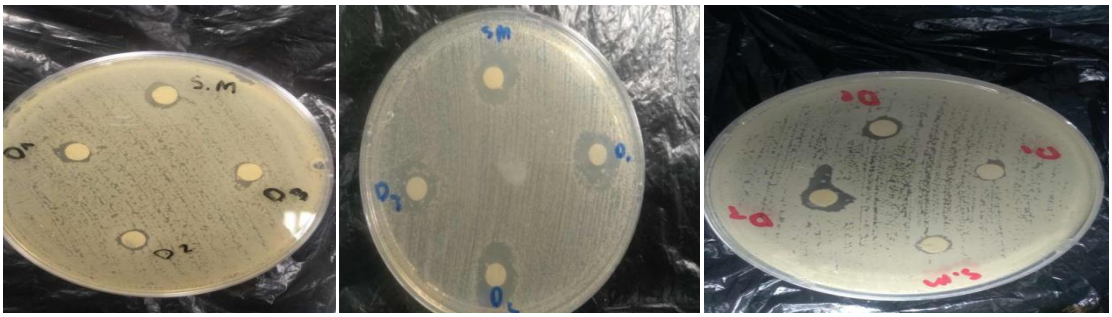


Figure III.9 les boites pétries

III.3.2 L'activité antifongiques

Evaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles *d'eucalyptus sideroxylon* Boughezoul

A. analyse de la variance

L'analyse de la variance de l'interaction « concentration X Souche bactérienne » a mis en évidence une différence très hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition (Annexe, Tableau 1). Le diamètre d'inhibition s'étale de19,5 mm , une valeur moyenne obtenue suite à l'application de l'huile essentielle sur la souche fongique *A. brasilinensis* à 7,5 mm, résultat de l'effet de ce huile sur *s. Cerevisiae*.

Le test de Fisher place la solution mère en tête de classement quelque soit la concentration utilisée, en effet, la solution mère était plus efficace contre *A. brasilinensis* classée en premier dans le groupe unique A (19,5 mm), son effet reste significatif sur d'autres souches fongiques ce qui les classe en groupe D(11,5 - 12 mm). ce dernier montre une efficacité similaire à celle de la concentration 1 de l'HE sur *s.Cerevisiae* 11 mm, l'effet à la concentration 1 s'avère également efficace contre *A.brasilinensis* 16 mm, de même

L'effet à la concentration 2 s'avère également efficace contre *A. brasilinensis* générant une zone de 14.5 mm. la concentration 2 montre une efficacité similaire à la concentration 1 sur *C.albicans* (Tableau III.10)

les fleurs blanches

Le test de Fisher place la solution mère en tête de classement aussi, où il était plus efficace contre *A. brasilinensis* 12,5 mm (groupe unique A).

son effet reste significatif sur d'autres souches fongiques ce qui les classe en groupe B (10,5mm). ce dernier est au même niveau que celui de la concentration 1 sur certaines souches comme *A.brasilinensis* et *s.Cerevisiae*. (Tableau III 11.)

Tabeau III. 10 : (Concentration X Souche bactérienne) fleure rouge

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3
S. cerevisiae	12,00000 [d]	11,00000[e]	9,00000 [h]	7,50000[i]
A. brasiliensis	19,50000[a]	16,00000[b]	14,50000[c]	8,50000[h]
C. albicans	11,50000[d]	10,00000[g]	10,50000[f]	9,00000 [h]

Tableau III. 11 : (Concentration X Souche bactérienne) fleure blanche

Concentration / Souche	Sm	c1	c2	c3
S. cerevisiae	10,50000 [b]	10,00000 [b]	8,50000 [e]	6,00000[g]
A. brasiliensis	12,50000[a]	10,00000 [b]	8,50000 [e]	6,00000 [g]
C. albicans	10,50000 [b]	9,50000 [c]	9,00000 [d]	7,00000 [f]

Analyse Graphique

L'analyse graphique de la régions des fleurs rouges met en évidence une séparation moindre mais reste significatif par rapport aux autres concentration, les courbes correspondant aux concentrations c1 et c2 sont proches, ce qui suggère un effet similaire entre ces concentrations. la courbe correspondant aux concentrations C1 montre l'effet le plus faible. (figure III. 10)

pour les fleurs blanches ; L'analyse montre une

proximité significatif entre la solution mère et la contcentration 1, indiquant que l'effet est similaire. une séparation nette entre ces derniers et les autres courbes. (Figure III. 11)

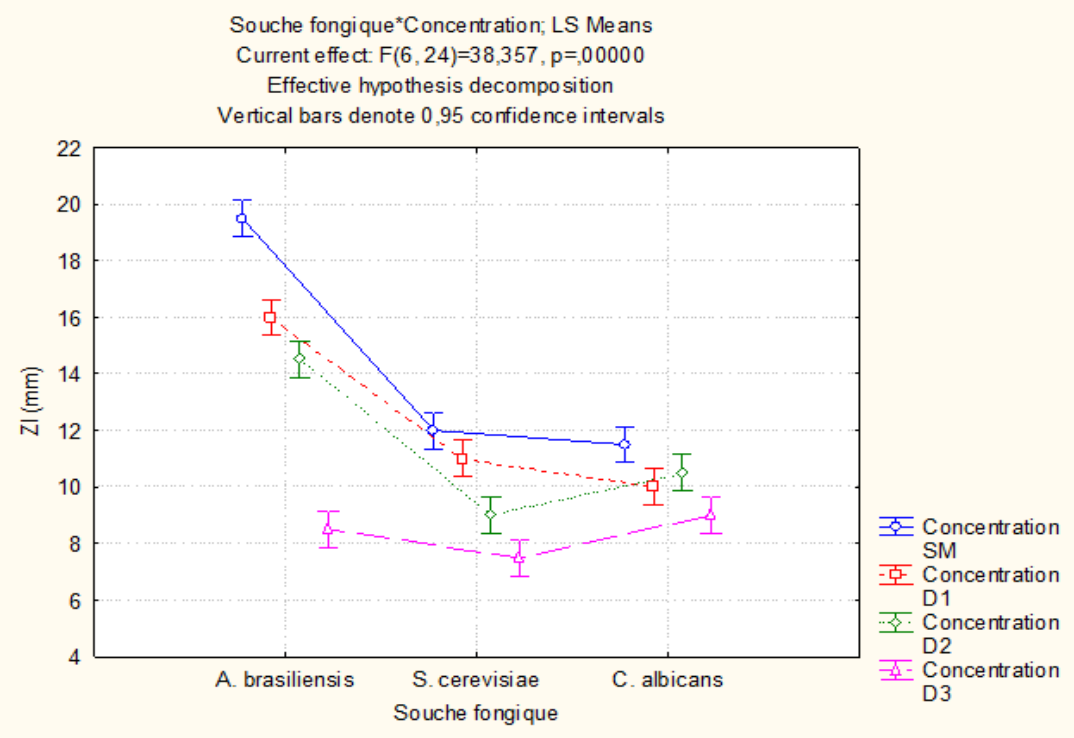


Figure III. 10 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure rouge.

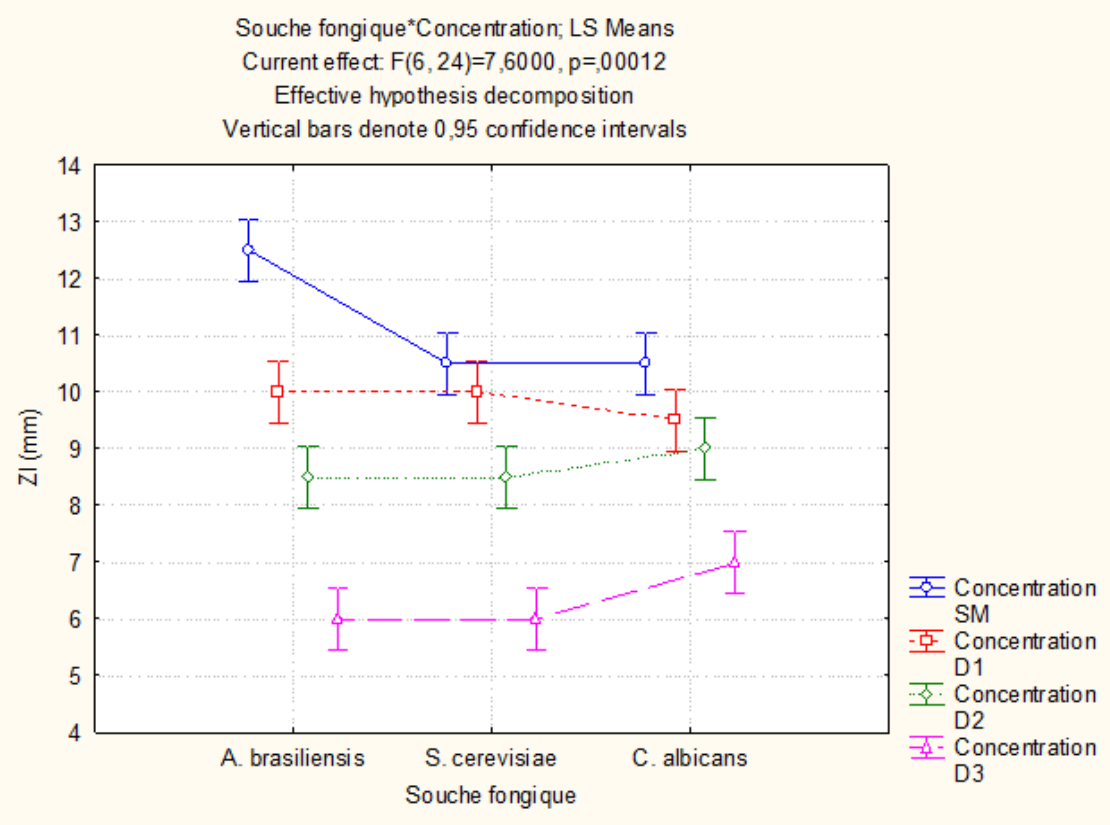


Figure III. 11 : Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure blanche.

c. sensibilité et résistance des souches fongiques

L'analyse graphique montre que *A.brasilinensis* est la plus sensible suite à l'application des huiles essentielles *d'eucalyptus sideroxylon* à fleurs rouges quelque soit la concentration utilisée

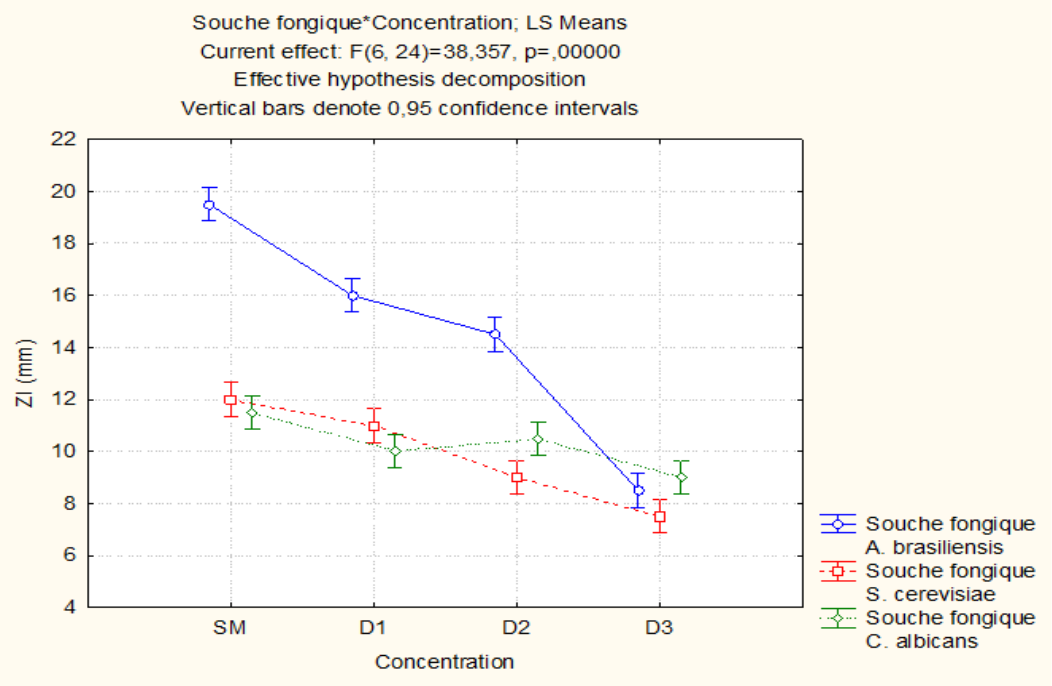


Figure III. 12 :Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* fleure rouge.

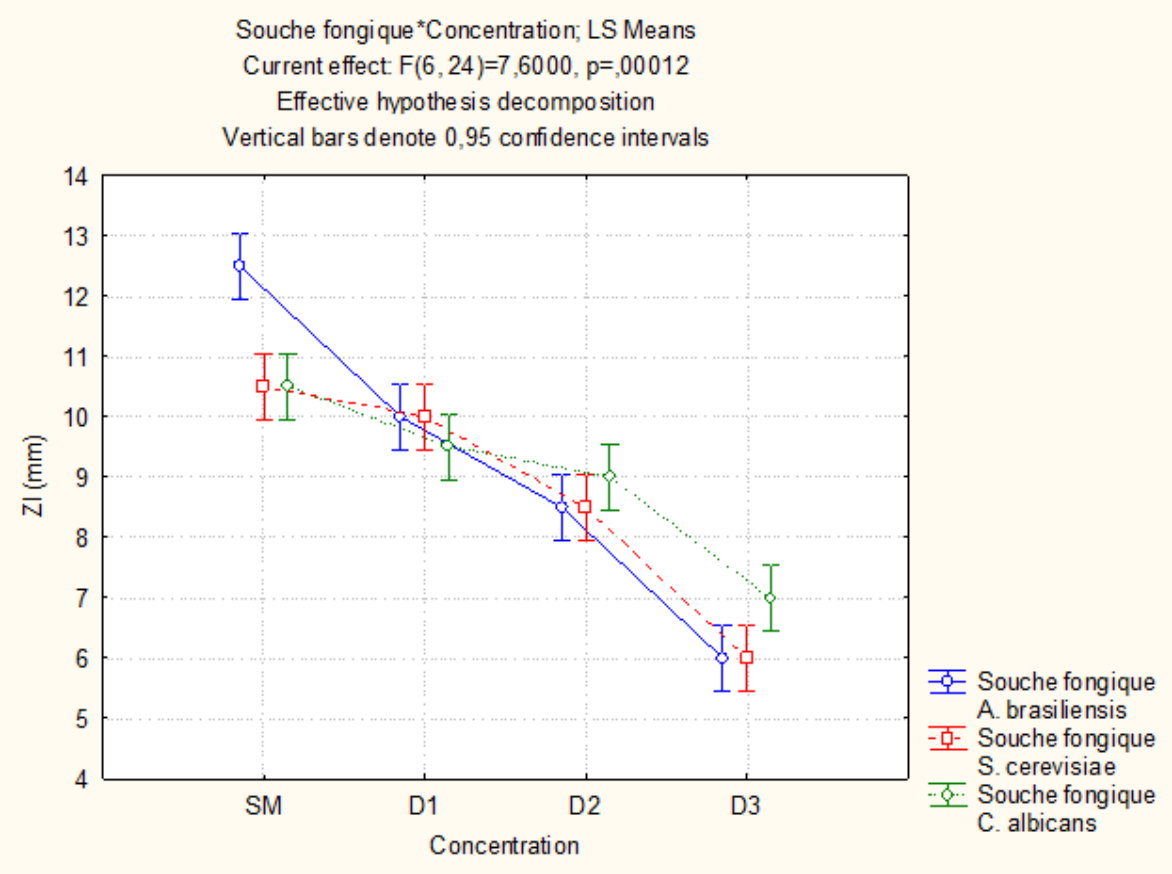


Figure III. 13 :Effet de l'interaction « Souche bactérienne X Concentration » de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon*fleure blanche .

IV-comparaison des Activités antifingique de l'huile essentielle de*l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge pour la concentration SM

Analyse de la variance

L'analyse de la variance de l'interaction « Région x souche fongique » a révélé une différence très hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition .Le diamètre d'inhibition varie de 29,5 mm, valeur moyenne obtenue après l'application de l'huile essentielle *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge de la région de Boumerdes sur la souche fongique *C. albicans*, à 6 mm, observé avec l'HE *d'E. sideroxylon* à fleur rouge de blida et chorfa sur *s.Cerevisiae*.

Le test de Fisher indique que *l'HE d'E. sideroxylon* à fleur rouge de Boumerdes est particulièrement efficace contre *C.albicans* et *A.brasilinensis,* atteignant une zone d'inhibition de 29,5 mm et 14,5 mm respectivement.

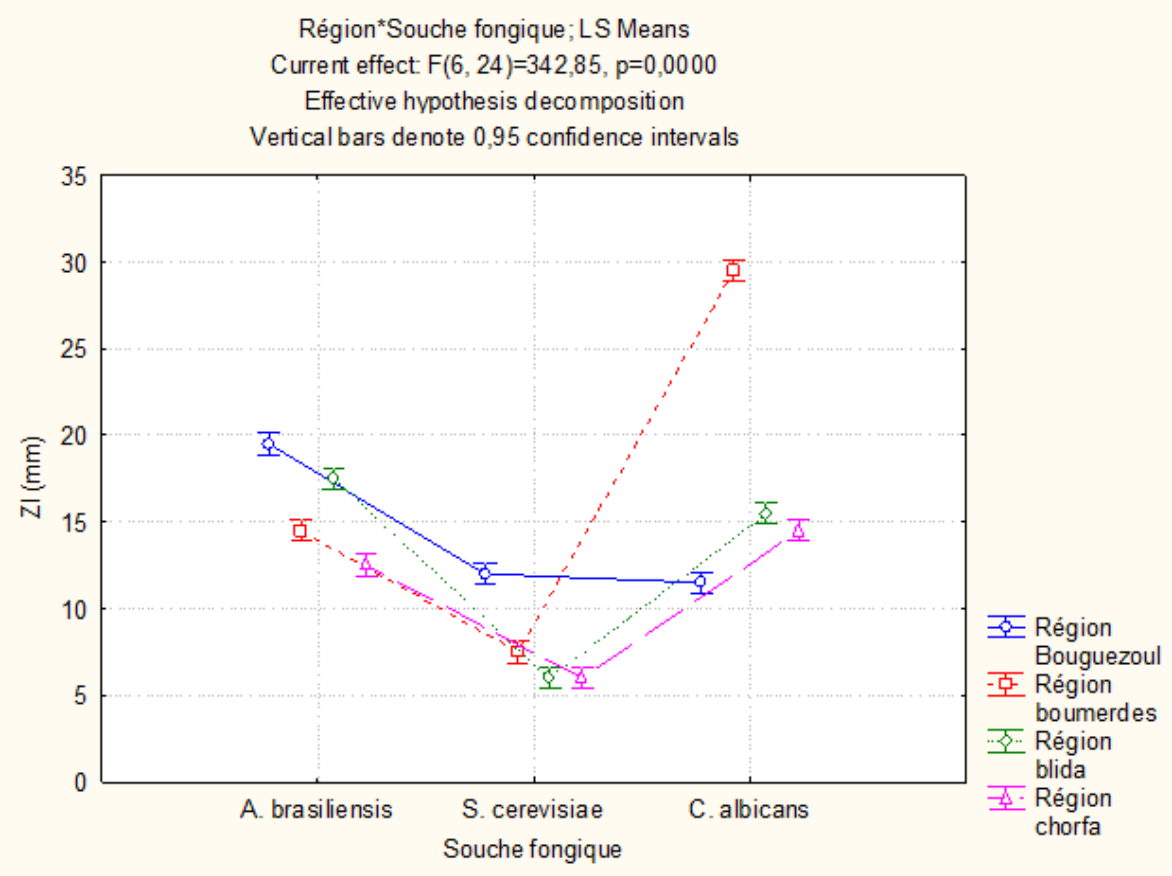


Figure III. 14: Comparaison de l'activité antifongique de l'huile essentielle de *l'Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fr)

tandis que l'HE de *l'E. sideroxylon* à fleur rouge des autres régions montre un effet moindre contre *C.albicans* par rapport à Boumerdes avec des zones d'inhibition de11.5 mm, 14,4 mm (Figure III. 13).

Analyse de la variance

L'analyse de la variance de l'interaction « Région x souche fongique » a révélé une différence très hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition Le diamètre d'inhibition varie de 29,5 mm, valeur moyenne obtenue après l'application de l'HE *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche de la région de Boumerdes sur la souche fongique *C.albicans* à 6 mm, observé avec l'HE *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche de la région blida sur *s.Cerevisiae*.

Le test de Fisher indique que l'HE *d'E. sideroxylon* à fleur blanche de la région de boumerdes est particulièrement efficace contre *C.albicans* et *A.brasilinensis*, atteignant une zone d'inhibition de 29,5 mm et 16,5 mm respectivement, tandis que l'HE de *l'E. sideroxylon* à fleur blanche de blida a une moindre efficacité sur *C.albicans* avec une zone de 21,5 mm et une efficacité similaire contre *A.brasilinensis* avec une zone de 17,5 mm. l'HE de Boughezoul montre un effet faible contre tous les souches, avec une zone d'inhibition de 10,5 mm et 12,5 mm (Figure III. 14).

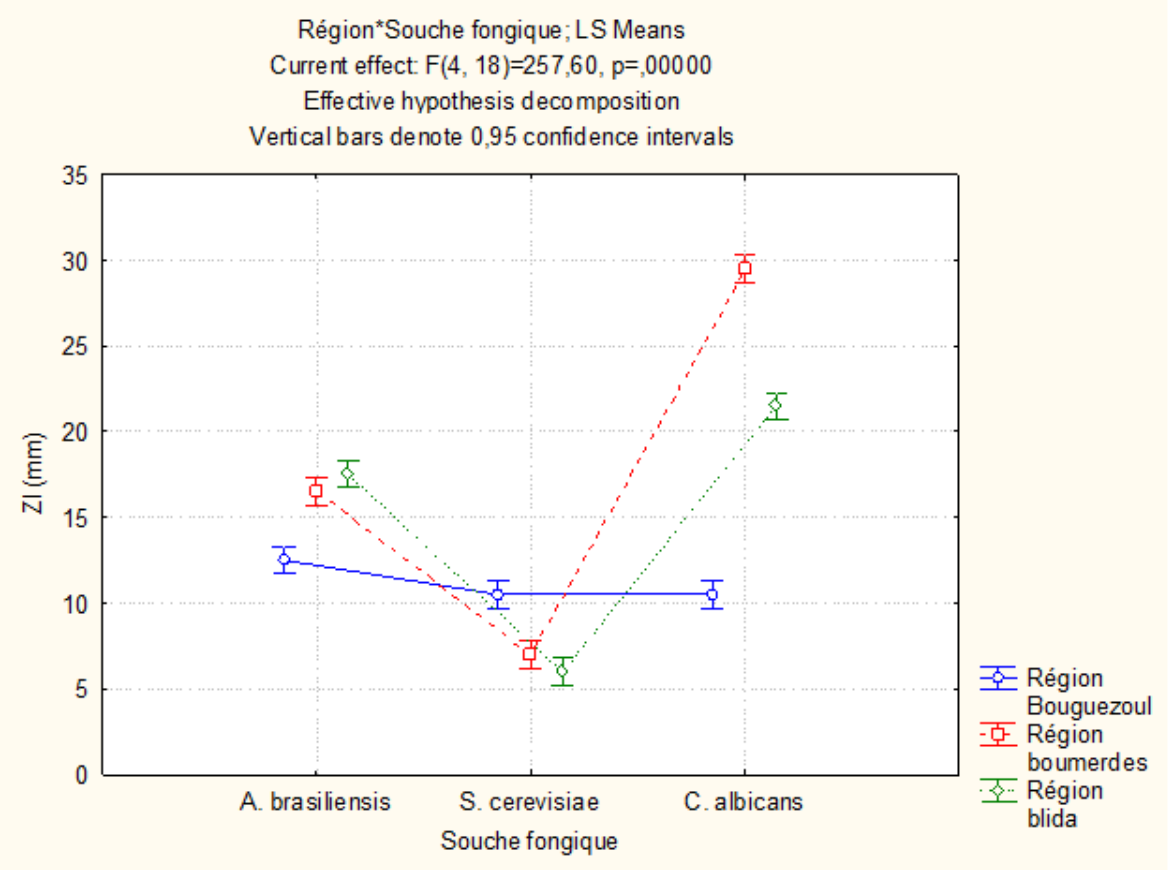


Figure III. 14 : Comparaison de l'activité antifongique de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fb)

comparaison des Activités antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche pour la concentration SM

Analyse de variance

L'analyse de la variance de l'interaction « Région x souche bactérienne » pour *l'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche a révélé une différence très hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition .Le diamètre d'inhibition varie de 13 mm, valeur moyenne obtenue après l'application de l'HE *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur blanche de blida sur la souche bactérienne *S.epidermidis*, à 8 mm, observé avec l'huile *d'Eucalyptussideroxylon* à fleur blanche de Boumerdes sur *s.aureus*.

Le test de Fisher indique que l'huile essentielle *d'E. sideroxylon* à fleur blanche de blida est particulièrement efficace contre *S.epidermidis*, tandis que l'huile essentielle

d'E. sideroxylon à fleur blanche de Boumerdes est efficace sur *E.coli* atteignant des zones d'inhibitions de 13 et 12 mm, respectivement (**Figure III. 15**). ce dernier est au même niveau que celui de la région de bougzoul sur *S.epidermidis*, les classe en groupe B.

Les effets sur les autres souches sont comparables entre les trois régions.

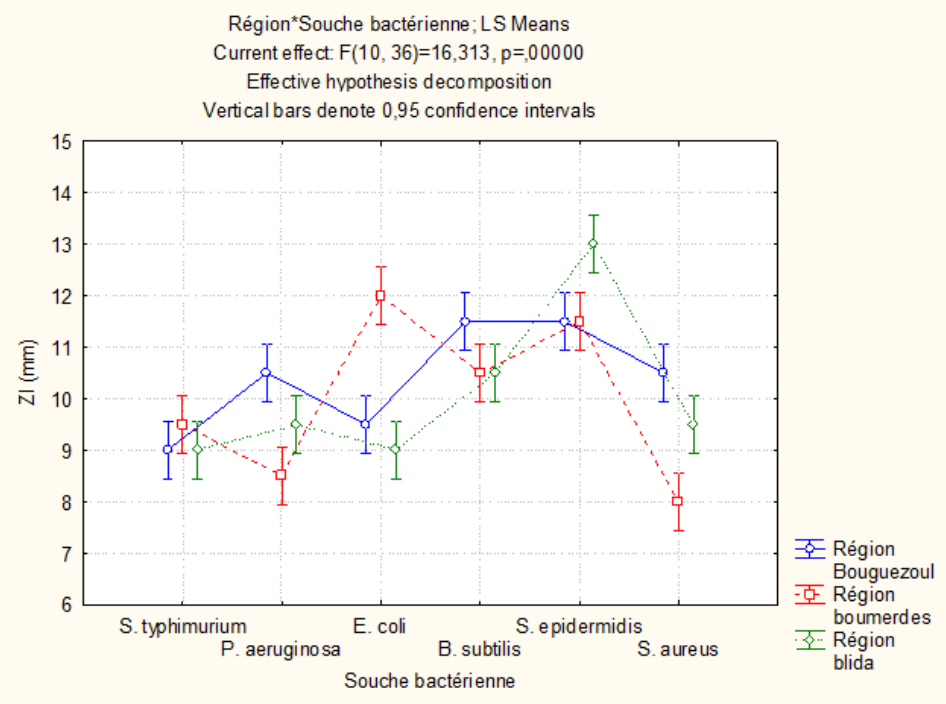


Figure III. 15 : Comparaison de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fleur blanche)

comparaison des Activités antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge pour la concentration SM

Analyse de la variance

L'analyse de la variance de l'interaction « Région x souche bactérienne » a révélé une différence très hautement significative (P<0,001) entre les moyennes des zones d'inhibition Le diamètre d'inhibition varie de 14,5 mm, valeur moyenne obtenue après l'application de l'HE *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge de boumerdes et boughezoul sur la souche bactérienne *B. subtilis*, à 7 mm, observé avec l'HE *d'Eucalyptus sideroxylon* à fleur rouge de boumerdes sur *S.typhimurium*.

Le test de Fisher indique que l'HE *d'E. sideroxylon* à fleur rouge de Boughezoul particulièrement efficace contre *B. subtilis*, *s.epidermidis* et *E.coli*, atteignant des zones d'inhibitions de 14,5 mm, 14,5mm et 13,5 mm respectivement . tandis que l'HE *d'E.sideroxylon* à fleur rouge de boumerdes montre un effet notable uniquement sur *B.subtilis* atteignant une ZI de 14,5 mm, (**Figure III. 16**). Les effets sur les autres souches sont comparables entre les régions.

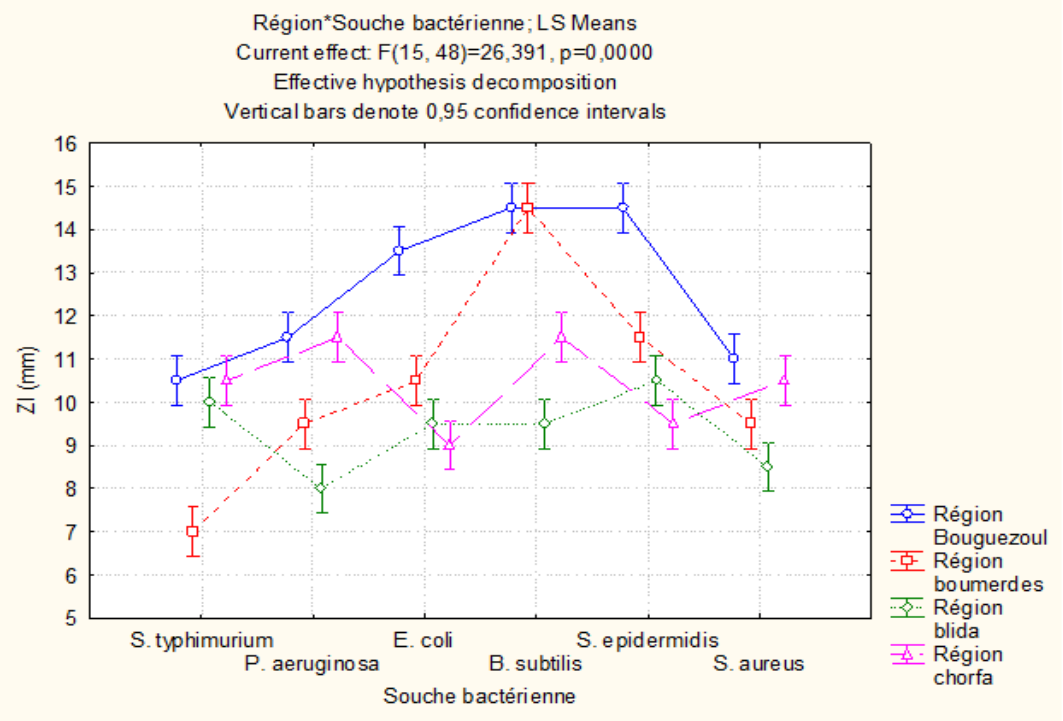


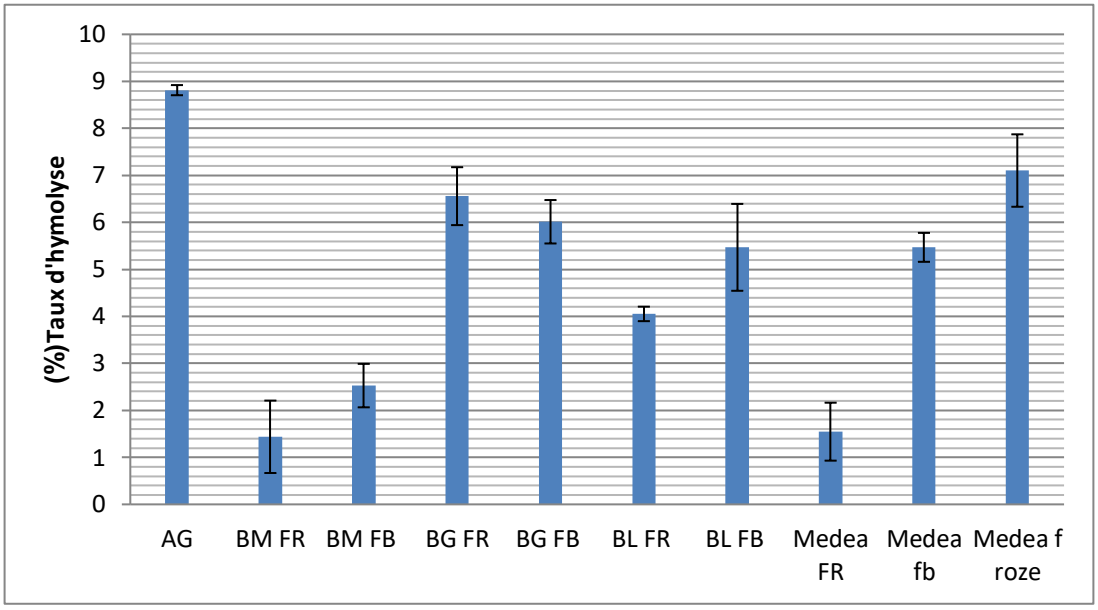
Figure III. 16 : Comparaison de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle de l'*Eucalyptus sideroxylon* extraite pour la concentration SM(fleur rouge)

III.4 Evaluation des activités antiinflammatoires in vitro des extraits éthanolique

1.activité hémolytique :

Certaines plantes utilisées à visée thérapeutique peuvent présenter une menace pour la santé de l'homme,Il est donc nécessaire d'effectuer un test hémolytique, qui un indicateur de cytotoxicité **(Haddouchi et al.,2016).**

Les résultats des tests d'hémolyse des différents extraits végétaux préparés dans notre travail et de l'acide galliquesont illustrés dans la figure III. 17 .



FigureIII. 17 : Effets hémolytiques des extraits d'E.sideroxylon.

Les résultats obtenus montrent que l'effet hémolytique varie selon la région d'origine des extraits. Par exemple, les extraits de Boumerdès (BM.FR et BM.FB) présentent les taux d'hémolyse les plus bas, respectivement 1.98% et 2.85%. En revanche, les extraits de Boughezoul (BG.FR et BG.FB) montrent des taux d'hémolyse élevés, proches de ceux de l'acide gallique, avec respectivement 6.99% et 6.34%.

Les taux d'hémolyse obtenus avec les extraits de Médéa varient également considérablement, de 1.11% pour MEDEA F.R à 7.65% pour MEDEA F.ROSE. Ces différences peuvent être attribuées à la variabilité dans la composition chimique des plantes en fonction de leur origine géographique, influencée par les conditions environnementales locales.

Notons que les taux d'hémolyse obtenus, restent très faibles par rapport au taux d'hémolyse obtenu par l'acide gallique qui est de l'ordre de 8.74%.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Haddouchi et ses collaborateurs (2016), qui ont étudié le pouvoir hémolytique des plantes sahariennes d'Algérie comme

Asteriscusgraveolens et Piturantsscoparius. De même, Ganesh et son équipe (2013) ont trouvé des résultats similaires en travaillant sur la plante *Mimusopselengi L.*

Évaluation de la stabilisation de la membrane des globules rouges

Le test de stabilité de la membrane est basé sur la découverte que certains agents anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibent la lyse des érythrocytes induite par la chaleur, probablement en stabilisant la membrane cellulaire. La membrane érythrocytaire peut être considérée comme un modèle de la membrane lysosomale, qui joue un rôle important dans l'inflammation. Les composés qui empêchent la lyse de la membrane provoquée par la libération des enzymes hydrolytiques contenues dans les lysosomes peuvent soulager certains symptômes de l'inflammation.

Afin d'évaluer l'effet anti-inflammatoire des extraits de plantes provenant de différentes régions, un test de stabilisation membranaire des globules rouges humains a été réalisé. Ce test consiste à incuber une suspension de globules rouges humains traitée avec une solution hypotonique associée à une température élevée, avec les extraits ou la molécule de référence (le diclofénac de potassium).

Les résultats de ce test sont illustrés dans la figure III. 18.

Figure III. 18 Résultats de l'effet des extraits *d'E.sideroxylon*et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR

La stabilisation de la membrane des globules rouges a été utilisée comme méthode pour étudier l'activité anti-inflammatoire in vitro, car la membrane érythrocytaire est analogue à la membrane lysosomale **(Marliyah et Ananthi, 2015).**

les résultats obtenus montrent que tous les extraits présentent une stabilisation significative de la membrane des globules rouges avec des pourcentages de stabilisation allant de 97.58% à 99.15%. Le pourcentage de stabilité maximale est obtenu avec le diclofénac de potassium (99.15%), suivi des extraits de Médéa F.ROSE (98.83%) et Boumerdès FB (98.87%).

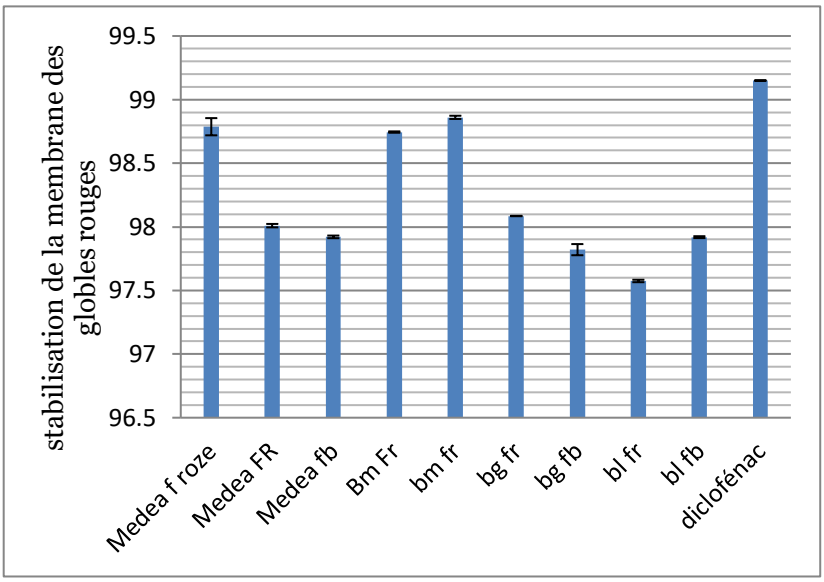


Figure III. 18 : Résultats de l'effet des extraits d'Eucaliptus sideroxylon et le diclofénac de potassium sur la stabilité de la membrane des GR

- Ces résultats sont compatibles avec les résultats du screening phytochimique des extraits qu'ont révélé la présence de saponines et de flavonoïdes dans l'E. sideroxylon, ce qui corrobore les conclusions de l'étude de **Ganesh et al. (2013).** En effet, ces auteurs ont démontré que certains saponines et les flavonoïdes peuvent exercer un effet stabilisant profond sur la membrane lysosomale à la fois In- vivo et In- vitro, tandis que les tanins et les saponines possèdent la capacité de lier lescations, stabilisant ainsi les membranes érythrocytaires et autres macromolécules biologiques **(Ganesh et al., 2013).**

Les résultats obtenus avec tous les extraits sont plus proches à ceux obtenus par **Kumari et ses collaborateurs (2015),** qui ont travaillé sur l'extrait de Rhizophora mucronata, qui a donné une stabilisation significative de la membrane de 95%.

Les résultats indiquent que la stabilisation de la membrane des globules rouges est influencée par la région d'origine des extraits. Par exemple, les extraits de Médéa F.ROSE montrent une stabilisation élevée, comparable à celle du diclofénac. Ces variations

peuvent être liées à la concentration des composés bioactifs présents dans les extraits en fonction de leur région géographique d'origine.

les différences observées dans l'activité hémolytique et la stabilisation membranaire des extraits éthanoliques de plantes provenant de différentes régions peuvent être attribuées la variabilité dans la composition chimique des plantes en fonction de leur origine géographique.

III.5. Evaluation de l'activité anti diabétique

Afin de confirmer l'effet antidiabétique de ces extraits par l'inhibition de *l'α-amylase* bacterienne utilisée dans ce travail, nous avons mené des études in vitro. Les effets de nos extraits sur l'activité enzymatique ont été évalués. Les activités enzymatiques de l'α-amylase ont été mesurées en utilisant l'amidon comme substrat, qui libère du glucose détecté au spectrophotomètre après réaction avec des agents de complexation. Sur la base de la courbe d'étalonnage du glucose, nous avons déterminé les concentrations de glucose libérées lors de la réaction pour différentes concentrations d'amidon. Les résultats obtenus sont dans la (FigureIII. 19) .D'après l'histogramme présenté, il semble représenter les pourcentages d'inhibition de l'enzyme alpha-amylase par différents extraits d'eucalyptus sidroxylon naturels , L'extrait de region "bougezoul fb" présente le plus fort pourcentage d'inhibition de *l'alpha-amylase*, 98.9%. Cet extrait semble donc être le plus puissant inhibiteur enzymatique de la série testée. Suivi par l'extrait du région Médéa fr 76% Ce qui est également considéré comme élevé , Il se classent parmi les extraits les plus actifs après "Bougezoul fb", puis on a Les extraits "Medea f roze" et "Boumerdes fb" ont des pouvoirs inhibiteurs similaires, autour de 57%ces niveaux d'inhibition restent intéressants et potentiellement exploitables. Les inhibitions les plus faibles sont de 34% et 9.96% donnes par l'extrait bougezoul fr et l'extrait "medea fb, respectivement.

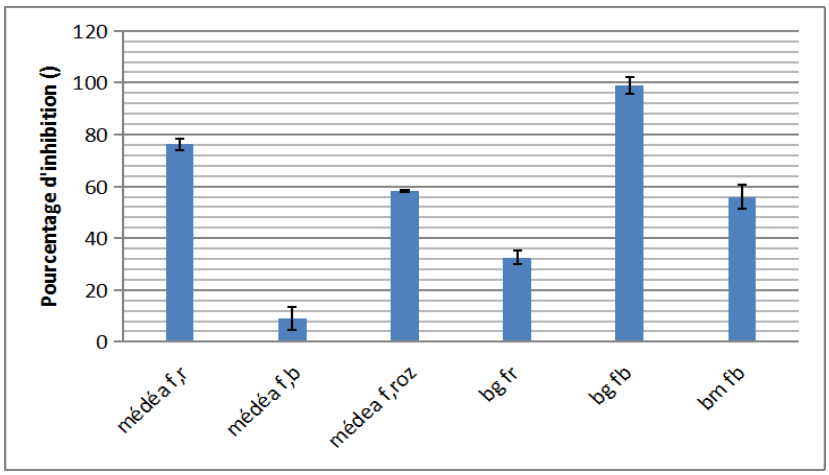


Figure III. 19 : la variation du pourcentage d'inhibition pour l'éxtrait d'eucalyptus sidroxylon de chaque région sur l'activité enzymatique de l'alpha-amylase

Selon les recherches menées par l'auteure **(Ihcen Khacheba, 2014)**Les résultats révèlent une variation des niveaux d'inhibition allant de 8,29 % à 100 %. Les extraits de «

Ciste », les gousses d'« Oudneya Africana » et les grains d'« Equisetum arvense » présentent les pourcentages les plus élevés d'inhibition. Dans la majorité des cas, les taux d'inhibition observés dans cette étude sont supérieurs à ceux rapportés dans d'autres recherches sur des espèces végétales de la région de Laghouat menées par Khacheba et al. **[I. Khacheba 2014,].** Cette forte inhibition pourrait être attribuée au mode d'extraction utilisé (infusion) et à la nature très polaire du solvant, permettant l'extraction d'un grand nombre de molécules inhibitrices, justifiant ainsi l'utilisation traditionnelle de ces plantes médicinales en infusion.

Les activités α-amylase ont été mesurées en présence de diverses concentrations de substrat (0,4–1,11 g/L) et d'eau, et semblent être influencées par la présence de concentrations plus élevées de polyphénols par rapport aux extraits aqueux. Cette observation suggère une plus grande efficacité dans la dégradation des parois cellulaires et des graines, lesquelles sont apolaires et entraînent la libération de polyphénols par les cellules. La diminution de l'activité de l'extrait aqueux peut être attribuée à l'enzyme polyphénol oxydase, qui dégrade les polyphénols dans les extraits aqueux mais reste inactive dans le méthanol et l'éthanol. De plus, la présence d'eau favorise le développement de micro-organismes **[P. Tiwari 2011].**

Afin de déterminer les constantes cinétiques(Km, Vm) et type d'inhibition enzymatique pour chaque extrait. L'activité de l'α-amylase a été testé a déférentes concentration de substrat (amidon : 10g/L, 7,5g/L, 5g/L, 2,5g/L et 1,25g/L.) et une concentration de 1 mg/mL d'extraits. Les valeurs obtenues nous ont permis de constater que l'enzyme présente une cinétique similaire à la cinétique de Michaelis.

Les valeurs de Km sont :9,042 µmol/l ; 14,862 µmol/l ; 10,860 µmol/l ; 4,226 µmol/l ; 9,332 µmol/l ; 11,261 µmol/l pour les extraits méthanoliques ont été obtenue à partir de Lineweaver-Burk (figures III. 20), qui ont montré que le type d'inhibition étudiés était non compétitive et incompétitive. Les résultats sont résumés dans le (tableau III.13). Ces deux types d'inhibition peuvent être expliqués par le fait que les extraits méthanoliques ne possèdent pas des groupes fonctionnels similaires à ceux de l'amidon (substrat).

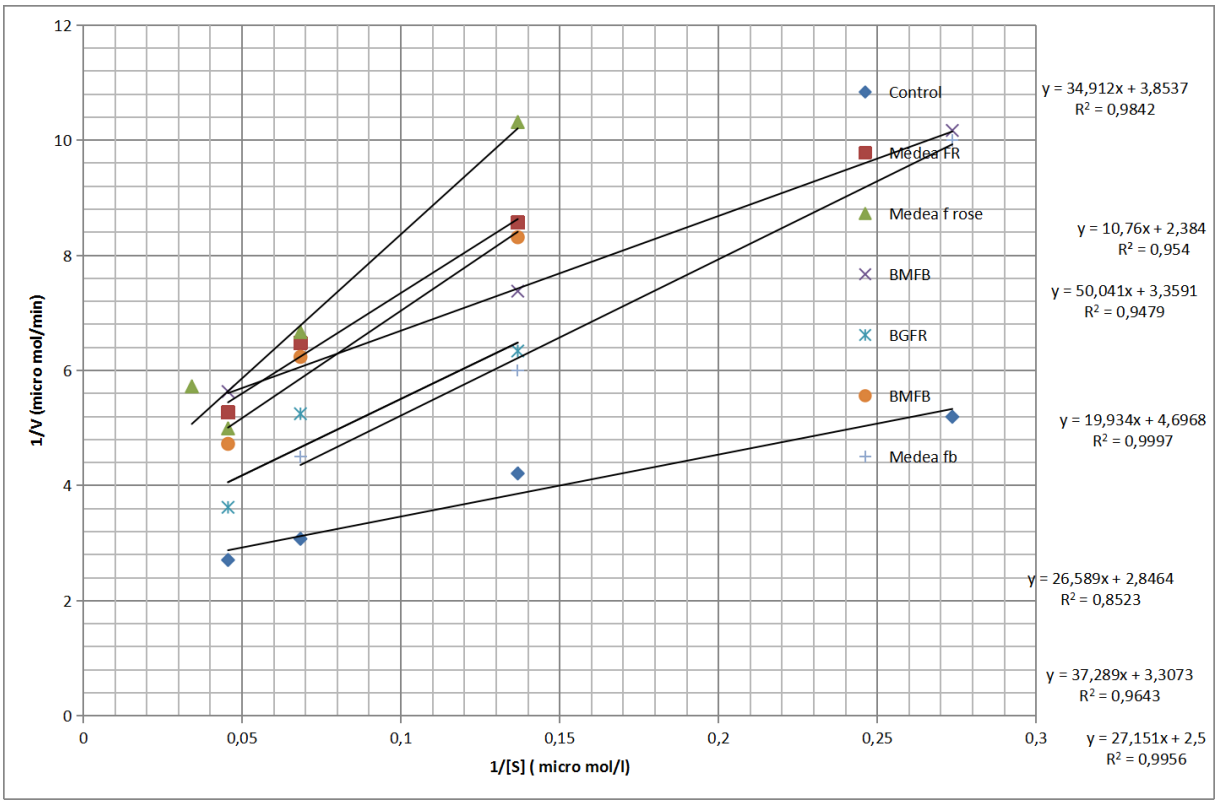


Figure III. 20: présentation de Lineweaver-Burk défférente extraits éthalonique

Tableau III. 12 : des résultat de vm et km de tube de l'étalon (contrôle) :

	Equation	V_m(µmol/min)	K_m(µmol/l)
Control	Y=10,76x +2,384	0,419	4,508

TableauIII.13des résultats de vm et km des tubes qui contien l'éxtrait *d'eucalyptus sidroxylon* :

régions	Equation	Vm(µmol/min)	Km(µmol/l)	Type d'inhibition
Medea f, r	y=34,9123x+3,8537	0,259	9,042	incompétitive
Medea f, rose	y=50,041x+3,3591	0,297	14,862	incompétitive
Medea fb	y=27,1512x+2,5	0,4	10,860	incompétitive
BGFB	y=19,9344x+4.6968	0,212	4,226	Non compétitive
BGFR	y=26,5889x+2,8464	0,351	9,332	incompétitive
BMFB	y=37,2895x+3,3073	0,302	11,261	incompétitive

Conclusion:

Les plantes sont en effet une source importante de principes actifs pour traiter diverses maladies. Leurs vertus thérapeutiques sont utilisées depuis longtemps de manière empirique. Les métabolites secondaires, tels que les huiles essentielles, contiennent souvent les principes actifs responsables des bienfaits médicinaux des plantes. Ces substances sont utilisées dans divers secteurs, notamment la cosmétique, l'alimentation et la médecine.

Notre objectif principal est d'analyser la composition chimique des extraits d'Eucalyptus sideroxylon obtenus par hydrodistillation, ainsi que d'étudier leurs effets sur diverses activités biologiques telles que l'activité antibactérienne, antifongique, antidiabétique et anti-inflammatoire.

L'objectif principal de notre travail est l'évaluation de certaines activités biologiques tels que l'activité antibactérienne, antifongiques,antidiabitique et anti_inflammatoire des huiles essentielles et des extraits d'eucalyptus sideroxylon..

La première partie du travail consistait en l'extraction des huiles essentielles *d'E.Sideroxylon* par la méthode d'hydrodistillation type Clevenger. Cette méthode est de méthode simples et qui ne nécessitent pas l'utilisation de solvants organiques ce qui assure la pureté de nos huiles.

Le rendement varie entre 0,88% et 2,22%. Les régions de Bougezhole F.B. et Boumerdes F.R. ont montré les rendements les plus élevés, atteignant respectivement 2,22% et 2,21%

Les huiles extraites ont fait l'objet d'une caractérisation des différentes propriétés physico-chimiques (indice d'acide ,indice de réfraction), résultat aux norme AFNOR.

Le sreening chimique effectué sur cette plante a révélé une richesse en métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, les coumarines , les poly terpène, les anthraquinones, les glycosides cardiaques et les quinones libres. Ces composés sont souvent associés à diverses propriétés bénéfiques pour la santé et peuvent avoir des effets pharmacologiques intéressants.

L'huile essentielle *d'E. Sideroxylon*, , s'est avérée très efficace contre les bactéries, les champignons, tout en présentant une faible toxicité. Ces propriétés en font un candidat prometteur pour le développement de médicaments antimicrobiens dans l'industrie pharmaceutique, sous diverses formes galéniques.

L’activité antibactérienne de l’huile essentielle *d’E.Sideroxylon* a été réalisée par la méthodes des disques. Ce test a été testée par la méthode de diffusion vis-à-vis de six souches bactériennes (*Escherichia coli, Pseudomanas aeruginosa, Staphylococcus aureus,Staphylococcus epidermidis,S.tyhimurium et Bacillus subtilis*).

L’huile a montré un effet inhibiteur variable sur toutes les bactéries aux différentes concentrations.L'effet antifongique des trois souches de champignons (*Candida albicans, Aspergillus brasiliensis et Saccharomyces cerevisiae)* a été évalué par dissemination. L'huile a fournis un effet significatif sur tous les champignons testés.

Les résultats obtenus concernant les propriétés de *l'Eucalyptus sideroxylon* en tant qu'agent antibactérien, antifongique, antidiabétique et anti-inflammatoire soient prometteurs. Ces résultats sont importants pour divers secteurs comme l'agriculture, l'industrie alimentaire, chimique et pharmaceutique. *L'Eucalyptus sideroxylon* semble être une plante polyvalente aux multiples applications.

Références bibliographiques

A.A AbdEL-Mageed, A.KOsman, A.Q Tawfik and H.A MohammedResearchJournal of Phytochemistry 5(2) :115-122,2011,chemical composition of the essential oil of four Eucalyptus species(Myrtaceae)fromEgypt.

Abdo MB. Physico-Chemical Profile and Antioxidant Activities of Eucalyptus globulus Labill and Eucalyptus citriodora Essential Oils in Ethiopia. Med Aromat Plants. 2019; 8:p332. Doi: 10.35248/2167-0412.19.8.332

AFNOR. « Recueil de normes : les huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris ; 2000,Tome 2:661-3. Bergey'smanual 2012

Ait Youcef, M. (1983). Les plantes médicinales de Kabylie. Bis Press.

Alitonou, G., Avlessi, G. F., Wotto, V. D., Edwige, A., Dangou, J., & Sohounhloue, D. C. K. (2004). Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et activités sur les tiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus tereticornis Sm. C. R. Chimie, 7.

Attou A .(2001). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante Ruta chalepensis (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.Verbois Sylvie. (2015). La phytothérapie. Édition Eyrolles. Paris. p.19.

AYEPOLA O.O AND B.A. ADENIYI Department of Biological Sciences, College of Science and Technology, CovenantUniversity, PMB 1023, Ota, Ogun State, Nigeria. Department of Pharmaceutical Microbiology, Faculty of Pharmacy, P.O. Box 22346, University of Ibadan, Nigeria. J. Appl. Sci. Res., 4(11): 1410-1413, 2008.

Barka I . (2017). Mémoire sur l'inventaire des plantes médicinales de la réserve de Chasse de Moutas à Tlemcen. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen.

Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. Forest ecology and management, 256(12), 2166-2174.

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

Benini C. (2007) Contribution à l‟étude de la diversification de la production des huiles Essentielles aux Comores. Mémoire d‟Ingéniorat. Université Gembloux.

Benmakhbi L. (2004). Etude phytochimique et biologique de l'extrait butanolique et des huile essentielle des grains et des tiges de l'espèce endémique de chabka du m'zaba « pituranthos scoparius » (apiacéas). Mémoire.de magister en chimie. Université Mentouri Constantine.

BERNARD T., PERIAU F., BRAV O., DELMAS M. et GASET A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information chimie. Brewing Microbiology, 3rd edition. Priest and Campbell, ISBN 0-306-47288-0 .

Bleaouad, A. (1998). Les plantes médicinales d'Algérie. OPU.

Bouferkas, F., Touabet, A., & Foudil, Y. (1996). Extraction et analyse des essences de trois espèces d'Eucalyptus Algérien et l'étude du comportement chromatographique de deux polymères synthétiques** (Thèse d'ingénieur en application chimie industrielle). Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, Alger, Algérie.

Bramwells, H. W., & Whiffin, T. (1984). Patterns of Variation in Eucalyptus sideroxylon A. Cunn. Ex. Woolls. I. Variation in Adult Morphology. Australian journal of Botany, 32(3), 263-281.

Brooker, M. I., & Kleinig, D. A. (2006). Field guide to Eucalyptus (3rd ed.). Melbourne, Australia: Blooming Books.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes Médicinales. 3eme édition Lavoisier Technique & documentation. Paris.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales. 4eme édition. Lavoisier. Paris

BRUNETON J., 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Buchbauer, G. (2000). The detailed analysis of essential oils leads to the understanding of their properties. Perfumer and Flavorist.

Callery E. (1998). Le grand livre des herbes. Le guide pratique de la culture du séchage et des vertus de plus de 50 herbes. Edition Koinemancologue. p.128.

Chabrier J-Y. (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Sciences pharmaceutiques. p.22.

Chemistry and bioactivity of Eucalyptus essential oils JINBIAO ZHANG*1, MIN AN1, HANWEN WU1,2, REX STANTON1 and DEIRDRE LEMERLE1Allelopathy Journal 25 (2): 313-330 (2010).

Chen, S. L., Yu, H., Luo, H. M., Wu, Q., Li, C. F., & Steinmetz, A. (2016). Conservation and sustainable use of medicinal plants: Problems, progress, and prospects.

Chevalier A. (2001). Encyclopédie de plantes médicinales. Larousse. p.335.

Chira K, Suh J .H Saucier C .Teissèdre P –L. (2008). Les polyphénols du raisin.

Corne, P., Staphylococcus aureus dans un service de réanimation: étude génétique, phénotypique et épidémiologique. thèse. 2004, Montpellier 1.

Cos P, Ying L, and Calomme M. (1998). Structure activity relationship and classification of flavonoids as inhibition of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. J. Nat. Prod. 1998.61.1.71-76.

Cowan M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical Microbiology Reviews. 10.1128/CMR.12.4.564.

Dai, J.; Mumper, R.J. Plant phenolics: Extraction, analysis and theirantioxidant and anticancerproperties. Molecules 2010, 15, 7313–7352.

Damjanović-Vratnica, B., Đakov, T., Šuković, D., & Damjanović, J. (2011). Antimicrobial effect of essential oil isolated from Eucalyptus globulus Labill from Montenegro. Czech Journal of Food Sciences, 3, 277-284.

Deeb, T., Knio, K., Shinwari, Z. K., Kreydiyyeh, S., & Baydoun, E. (2013). Survey of medicinal plants currently used by herbalists in Lebanon. Pakistan Journal of Botany, 45(2), 543–555.

Dixit, A., Rohilla, A., & Singh, V. (2012). Eucalyptus globulus: A new perspective in therapeutics. International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences, 1(4), 1678-1683.

Douhan.H (2021), les infections à entérobactéries, épidémiologie et diagnostic bactériologique, thèse de docteur en pharmacie.

Draoui, M., Moussaoui, A., & Bouderba, N. N. (2020). Chemical compounds and antibacterial activity of (Juniperus phoenicea L. and Rosmarinus officinalis L.) from Algerian Sahara.

Dutertre J . (2011). Enquête prospective au seine de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'ile de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec la médecine généraliste .Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2 –Victor Segalan. U.F.R des sciences médicale .120p

Egawa, H., Tsutsui, O., Tatsuyama, K., & Hatta, T. (1977). Antifungal substances found in leaves of Eucalyptus species. Experientia, 33(7), 889-890. http://dx.doi.org/10.1007/BF01951263.

Elliot, W. R., & Jones, D. L. (1984). Encyclopaedia of Australian plants suitable for cultivation. Melbourne: Lothian Publishing.

El-Rhaffari, L., & Zaid, A. (2004). Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafialet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savates.

Fouché J G, Marquet A and Hambuckers A. (2000). Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoires du monde des plantes Start-Tilman.

Gàbor M. (1988). Plants flavonoids in biology and medicine. Biochemical cellular and medicinal properties. Edition 5.cody. New York.

Gbenou, J. D. (1999). Huiles essentielles de quelques plantes aromatiques des genres Eucalyptus et Chenopodium du Bénin : Variations inter et intraspécifiques du rendement et de la composition chimique et propriétés pharmacodynamiques (Thèse de doctorat, Université Nationale du Bénin, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Chimie).

Ghestem A , Seguin E Paris M, Orecchioni A M. (2008). Le préparateur en pharmacie. Dossier 2 : botanique-Pharmacognosie-Phytothérapie-Homéopathie. Ed. Tec & Doc. Lavoisier. Paris.

Ghedira, K. (2008). Eucalyptus globulus Labill. Springer.

Ghedira, K. (2006). Eucalyptus globulus Labill. Springer.

GodhandaramanSangeetha, RamalingamVidhya, In vitro anti-inflammatoryactivity of different parts of Pedalium murex (L.)International Journal of HerbalMedicine 2016; 4(3): 31-3622.

Guettiche A, Abdeddaim F, Benyoucef M, Chabane N. (2018). Mémoire sur Les plantes aromatiques de l'Algérie, étude pharmacognosique et potentiel anti- inflammatoire. Université de Constantine.

H. N. USMAN*1, H. MAJIYA1, Kolawole H. AREMU3, M. I. LEGBO1 and A. D. MUSA2.Biokemistri Volume 33, Number 4 (2021). Evaluation of phytochemicalanalysis and antibacterialpotential of differentsolventextracts of leaves and stem bark of Eucalyptus camaldulensisagainstselectedpathogenicbacteria.

H.MahmoudzadehSagheb et al., Antidiabeticeffects of eucalyptus globules,FoliaMorphol., 2010, Vol. 69, No. 2.

Hamilton, A. (2003). Medicinal plant and conservation: Issues and approaches. UK: WWF.

Hayate Bouharb, Khalid El Badaoui[1], Touriya Zair[2], Jalila El amri[1], Said Chakir1, Tajelmolk Alaoui1.Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun (Maroc centrale) pour l'activité antibactérienne contre Pseudomonas aeruginosa.Bouharb et al. J. Appl. Biosci. 2014. Journal of Applied Biosciences 78:6685 – 6693.

HEINRICH G., SCHULTZE W., PFAB I., ET BOETTGER M., 1983. The site of essential oil biosynthesis in Poncirus trifoliata and Monarda fistulosa." Physiologie Vegetale, 21 : 257-268.

Hossam M. Ashour (2008) Antibacterial, antifungal, and anticancer activities of volatile oils and extracts from stems, leaves, and flowers of Eucalyptus sideroxylon and Eucalyptus torquata, Cancer Biology & Therapy, 7:3, 399-403.

Huang, H. (2011). Plant diversity and conservation in China: Planning a strategic bioresource for a sustainabl future. Botanical Journal of the Linnean Society, 166(3), 282–300. https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2011.01157.x

Iserin, P. (2001). Larousse des plantes médicinales (identification, préparation, soin). Paris: Larousse.

J.B. Harbome,1998,PhytochemicalMethods A guide to modern techniques qf plant analysisCHAPMAN& HALL.

Karamian R., Mohammadian A., Hassanimoghadam E., Alizadeh L., Abdali N., Keshvari M., Hosseini S.M., Beyranvand K. (2015). Identification and comparison of the yield and composition of essential oil constituents of four eucalyptus species adapted to the climatic conditions of Khorramabad. J. Herbmed. Pharmacol. 4 (1). p. 25-28.

Kassahun A, Feleke G. Chemical Composition and Physico-Chemical Analysis of Eucalyptus Globulus Leave and Oil. Science Journal of Chemistry. 2019; 7(2):36-38. Doi: 10.11648/j.sjc.20190702.11

khedachi djihad , merrah hadjer. Analyse de la variation du screening phytochimique, des activités antimicrobiennes et antioxydantes decertains extraits provenant de différents organes d'Eucalyptus sideroxylon cultivé dans des régions contrastées, 2024.

Kissayi K. (2011). Survival and vigor of eucalyptus species in Morocco and relation with attacks of Phoracantha semipunctata Fabricius (Coleoptera: Cerambycidae). Silva. Lusitana. p. 105-115.

Laouer H, Arnold N, Valentini G, Bellomaria B. (1997). Comparative study of the essential oils from Rosmarinus eriocalyx Jordan & from Algeria and R. officinallis L from other countries. J essent. Oil Res. 9 : p : 167-175.

Leila Abaza, AmaniTaamalli *, HoudaNsir and Mokhtar Zarrouk.OliveTree (Olea europeae L.) Leaves: Importance and Advances in the Analysis of PhenolicCompounds.Antioxidants 2015, 4, 682-698.

Lugasi A, Hovari J, Sagik V, Biro L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases Acta Biologica Szegedientsis.47(1-4) : p:119-125.

M. H. Shagal1*, D. Kubmarawa1, K. Tadzabia2 and K. I. Dennis1.African Journal of Pure and AppliedChemistry Vol. 6(5), pp. 74-77, 10 March, 2012. Evaluation of phytochemical and antimicrobialpotentials of roots, stem-bark and leavesextracts of Eucalyptus camaldulensis

Macheix J –J, Fleuriet L A, Jay-allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux, un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Parution. Montrial. Canada. p. :101-121.

Marie, J. (2007). Arbre et arbuste de méditerranée. Compagnes des éditions de la lesse.

Marcy, J., Balunas, A., & Kinghorn, D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. Life Sciences, 78(5), 431–441. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.021

MAZEN K., EL TAMER., 2002. Molecular Regulation of plant monoterpene biosynthesis in relation to frangrance. Prof Schirift wageningen university. ISBN. 905808-752-2.

Mehani, M. (2015). Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région de Ouargla (Unpublished doctoral dissertation). Université Kasdi Merbah – Ouargla.

Mirke NB, Shelke PS, Malavdkar PR, Jagtap PN. In vitro proteindenaturation inhibition assay of Eucalyptus globulus and Glycine max for potential anti-inflammatoryactivity. InnovPharmPharmacother 2020;8(2):28-31.

MOHAMDI Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen, p105.

NAKASHIMA T., 1985. Essential oil in some species of Eucalyptus growing in the PARANA state acclimate.

Nisha.V.P et Michael P.D(1992), Escherichia coli O157 :H7 : Epidemiology, Pathogenesis, and methods for detection in food, journal of food protection, Vol.55, No. 7 pages 555-565.

Nostro, A., Germano, M. P., D'Angelo, V., Marino, A., & Cannatelli, M. A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, 30(5), 379-385.

Pandey, A., & Savita, R. (2017). Harvesting and post-harvest processing of medicinal plants: Problems and prospects. The Pharma Innovation Journal, 6(12), 229-235.

Patel, S., & Wiggins, J. (1980). Eucalyptus oil poisoning. Archives of Disease in Childhood, 55(5), 405-406.

Philips R Foy N. (1991). Herbes, cueillette, culture, utilisation, pour la santé par l'herboriste, pour la beauté par la cosmétologie, pour la cuisine Edition la maison Rustique Paris. p.191. Phytothérapie. 6. p :75–82.

Philips R Foy N. (1991). Herbes, cueillette, culture, utilisation, pour la santé par l'herboriste, pour la beauté par la cosmétologie, pour la cuisine Edition la maison Rustique Paris. p.191. Phytothérapie. 6. p :75–82.

Prakash, S., & Sinha, G. K. (1972). Chemical study of essential oil extracted from the fruits of Ind Perfum, 16, 5-10.

Qing Rao et al. J Med Microbiol. 2015 Dec.

Rafieia-Kopaei, M. (2011). Medicinal plants and the human needs. J Biol, 35, 635-9.

Rafieian-Kopaei, M. (2013). Medicinal plants and the human needs. Journal of HerbMed Pharmacology, 1(1), 1–2.

Rao, V. P., & Pandey, D. (2007). Extraction of essential oil and its applications (Doctoral dissertation).

Salagno A G. (1989). Le séchage solaire des plantes aromatiques et médicinales. p.80

Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A.,Trombetta, D., Ezzat, S. M., Salem, M. A., Zayed, A. M., Salgado Castillo, C. M., EmamzadehYazdi, S., Sen, S., Acharya, K., Sharopov, F., & Martins, N. (2019). Aperçu des constituants chimiques, des activités biologiques et des effets favorables sur la santé du genre Eucalyptus. Tendances en science et technologie alimentaires.

Schippmann, U., Leaman, D. J., Cunningham, A. B., & Walter, S. (2005). Impact of cultivation and collection on the conservation of medicinal plants: Global trends and issues. III WOCMAP Congress on Medicinal and Aromatic Plants: Conservation, Cultivation and Sustainable Use of Medicinal and Aromatic Plants, Chiang Mai.

Shubhreet Kaur, Dr. Saurabh Gupta and PriyaeBrath Gautam. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2019; 8(1): 2442-2446.Phytochemicalanalysis of Eucalyptus leavesextract.

Silva, J., Abebe, W., Sousa, S. M., Duarte, V. G., Machado, M. I., & Matos, F. J. (2003). Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus. Journal of Ethnopharmacology, 89(2-3), 277-283. http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.007.

Singh, A. K., Naguib, A. A., & Bhattacharya, A. K. (1989). Chemical constituents of essential oils in different Eucalyptus grown in Kumaon hills (Ranikhet), India. Herba Hungarica, 28(3), 55-58.

Sofowora A. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Edition KARTHALA. p.22.

SOHOUNHLOUE.D.K, AGBAKA.A., DOCKIMO. E.B, DJOSSOU.L., et FOUABI K., 1999. J. SOC.Ouest Afr.chim.8.87.

Srujana, S. T., Babu, K. R., & Rao, B. S. S. (2012). Phytochemical investigation and biological activity of leaves extract of plant Boswellia serrata. Pharm Innovation, 1(1), 22–46.

T. Takahashi1, R. Kokubo1 and M. Sakaino2.activities of eucalyptus leafextracts and f lavonoidsfromEucalyptusmaculata.2004TheSocietyforAppliedMicrobiology,LettersinAppl iedMicrobiology,39,60–64.

Takahashi, T., Kokubo, R., & Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from Eucalyptus maculata. Letters in Applied Microbiology, 39(1), 60-64. http://dx.doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01538.x

Tenaillon, O., Skurnik, D., Picard, B., & Denamur, E. (2010). The population genetics of commensal Escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, *8*(3), 207-217.

Upreti, A., Byanju, B., Fuyal, M., Chhetri, A., Pandey, P., Ranjitkar, R., Bhatta, J. J., & Pandey, B. P. (2018). Evaluation of α-amylase, lipase inhibition and in-vivo pharmacological activities of Eucalyptus camaladulensis Dehnh leaf extract. Journal of traditional and complementary medicine, 9(4), 312–318. https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2018.07.001

Valnet J. (1986). La Phytothérapie : Se soigner par les plantes. p.639.

Vecchio, M. G., Loganes, C., & Minto, C. (2016, May 11). Beneficial and healthy properties of Eucalyptus plants: A great potential use.

Verbois Sylvie. (2015). La phytothérapie. Édition Eyrolles. Paris. p.19.

Wertheim.H.F (2005), The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections.lancetinfectiousdiseases, 5(12) : pages 751-762

Williams, L. R., Stockley, J. K., Yan, W., & Home, V. N. (1998). Essential oils with high antimicrobial activity for therapeutic use. International Journal of Aromatherapy, 8(4), 30-39. http://dx.doi.org/10.1016/S0962-4562(98)80079-

Références bibliographiques

Yves.L, Florence.B and Gautier.M (2003), Staphylococcus aureus and foodpoisoning, Genetics and molecularresearch 2(1) :63-76, pages 66.

Zeghad N. (2009). Etude de contenue polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Economique Thymus vulgrais, Rosmarinus officinalis et évaluation de leur activité antibactérienne. Thèse de magister. Université Mentouri Constantine .

Zohreh Khoshraftar, Ali Akbar Safekordi, Ali Shamel& Mohammad Zaefizadeh.Synthesis of naturalnanopesticideswith the origin of Eucalyptus globulusextract for pest control. GREEN CHEMISTRY LETTERS AND REVIEWS 2019, VOL. 12, NO. 3, 286–298 https://doi.org/10.1080/17518253.2019.1643930.

ZRIRA S., 1992. Les huiles essentielles d'Eucalyptus du Maroc. Facteurs influençant la productivité et la qualité de ces essences, investigation sur les possibilités d'exploiter l'E camaldulensis pour la production d'huile essentielle d'Eucalyptus à cinéole. Thèse de doctorat ès sciences Agronomiques, Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc.

ANNEXES

Annexe 1. Matériel de laboratoire et produits utilisés

Appareillage et autres	**Verreries et autres**	**Produits et milieu de culture**
Spectrophotomètre Incubateur Balance Agitateur (vertex) Autoclave Bain marie Réfrigérateur Rotavape	-Ballon 1000ml -Bac bunsen -Erlenmeyer -Tube à essais -Ecouvillon -Boite de pétri -l'ance de platine -Eprouvette -Micropipette -Cuve de spectrophotométrie -un support élévateur -une potence (support) -pince -barrot -Papier wattman (6mm) -les embouts	-Eau distillée stérile -Eau physiologiestérile -Milieu MH -Gélose nutritifs - Milieu PDA -phénolphtaline -DMSO

Tableau 1 : Matériel de laboratoire et produits utilisés

Annex 2 : les résultats de l’activites antimicrobienne



