UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

YOUSFI Maroua

Thème :

Caractérisation chimique et étude de biactive des extraits des plantes médicinales

Soutenue publiquement le : 23/06/2026, Devant le jury composé de :

Dr. EULDI Amel	Grade : MCB	Etablissement : UYFM	Présidente
Dr. AHMEDI Afaf	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Examinatrice
Dr. KIRDI Rachida	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Encadreur
Pr. KAIROUANI Abderrezzek	Grade : Pr	Etablissement : UYFM	Co-Encadreur



Dédicace

Je dédie ce modeste travail,

À mes très chers parents, Zahia et Omar, pour leur amour inconditionnel, leurs sacrifices, leur soutien constant et leurs précieux conseils tout au long de mon parcours. Aucun mot ne saurait exprimer ma profonde gratitude et mon immense reconnaissance envers eux.

À mes chères sœurs, Safaa et Soumia, pour leur affection, leurs encouragements et leur présence à mes côtés dans les moments les plus importants.

À toute ma famille, qui m'a toujours soutenue de près ou de loin, et dont les encouragements ont contribué à la réalisation de ce travail.

À mes collègues et amis, pour leur soutien, leur aide et les agréables moments partagés durant cette aventure universitaire.

Enfin, à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce mémoire.

Avec tout mon amour, ma reconnaissance et mon respect.

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu, le Tout-Puissant, de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience nécessaires à la réalisation de ce travail.

Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements à mon encadreur, Dr. KIRDI Rachida, Maître de Conférences classe B à l'Université Yahia Farès de Médéa, et pour mon Co-encadreur Pr. KAIROUANI Abderrezzek pour son accompagnement, ses précieux conseils, sa disponibilité ainsi que l'attention qu'elle a portée au bon déroulement de ce travail.

Mes sincères remerciements vont également à Dr. EULDI Amel, Maître de Conférences classe B à l'Université Yahia Farès de Médéa, pour avoir accepté de présider le jury de soutenance.

J'exprime aussi ma profonde gratitude à Dr. AHMEDI Afaf, Maître de Conférences classe A à l'Université Yahia Farès de Médéa, pour avoir accepté d'examiner ce travail et pour l'intérêt qu'elle lui a porté.

Enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.et notre université YAHIA FARES de MEDEA

Résumé

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales algériennes réputées pour leurs vertus thérapeutiques, nous sommes intéressés à l'étude de la plante d'Eucalyptus connue par sa richesse en matière active utilisée par la population locale dans différents thérapies

Le travail présente est consacré d'une part, à L'extraction des huiles essentielles, et l'identification de la composition chimique dont l'objectif visé est d'étudier les activités biologiques dont l'activité antimicrobienne, l'activité antifongique et l'activité antioxydante des huiles essentielles de la plante médicinale Eucalyptus, et de l'autre part de mettre en évidence ces activités. Ainsi que identifier les propriétés physico-chimiques des HEs d'Eucalyptus.

Nous avons procédé l'extraction des huiles essentielles de la partie des feuilles de la plante par la technique d'hydrodistillation. Les rendements d'extraction obtenues sont les suivants : pour l'espèce EC.FB.Blida : 0,695%, E : 0,633 % et E2 : 2,637 %.

La composition chimique de l'huile essentielle a été analysée par FTIR, Les résultats de l'analyse FTIR ont révélé que les huiles essentielles d'Eucalyptus étudiées sont riches en composés terpéniques oxygénés et hydrocarbonés, caractérisés principalement par la présence des groupes fonctionnels O–H, C–H, C–O et C=C.

L'activité antibactérienne, a été dosée contre 3 bactéries le staphylococcus -aureus est le plus sensible de 12 à 13 mm de diamètre d'inhibition. L'étude antifongique sur la souche candida albicans, par la méthode de diffusion par disque a signalée des faibles résultats, tandis que par la méthode de diffusion par puits a marquée des zones d'inhibition de diamètre de 20mm.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée en utilisant 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) essai les résultats donnent : IC50(EC.FB.Blida) de 31,285±0,488 mg/ml, IC50(E1) : 250,065±0,714 et IC50(E2) : 16,645±0,474.

L'évaluation de l'activité antidiabétique des huiles essentielles a été réalisée par l'inhibition de l'α-amylase in vitro. L'activité de notre huile essentielle d'Eucalyptus E2 est non significative et ne justifie pas d'affirmer un potentiel antidiabétique réel pour cette espèce.

Mots-clés : Eucalyptus, huile essentielle, hydrodistillation, activité antibactérienne, activité antifongique, activité antioxydante, activité antidiabétique.

Abstract

This study is part of the valorization of Algerian medicinal plants, known for their therapeutic properties. We focused on the study of Eucalyptus, a plant recognized for its richness in active compounds and used by the local population in various traditional therapies.

This work is devoted, on one hand, to the extraction of essential oils and the identification of their chemical composition, and on the other hand, to the evaluation of their biological activities: antimicrobial, antifungal, antioxidant, and antidiabetic activities. We also determined the physico-chemical properties of Eucalyptus essential oils.

Essential oils were extracted from leaves by hydrodistillation. The extraction yields obtained were: 0.695% for EC.FB.Blida, 0.633% for E1, and 2.637% for E2.

The chemical composition of essential oils was analyzed by FTIR spectroscopy. Results revealed that Eucalyptus essential oils are rich in oxygenated and hydrocarbon terpenic compounds, characterized mainly by the presence of functional groups O–H, C–H, C–O, and C=C.

The antibacterial activity was evaluated against three bacterial strains. Staphylococcus aureus was the most sensitive, with inhibition diameters of 12–13 mm. The antifungal study on Candida albicans showed weak results by the disk diffusion method, while the well diffusion method recorded inhibition zones of 20 mm.

The antioxidant activity was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay. The IC_{50} values obtained were: 31.285 ± 0.488 mg/ml for EC.FB.Blida, 250.065 ± 0.714 mg/ml for E1, and 16.645 ± 0.474 mg/ml for E2.

The antidiabetic activity evaluation by α-amylase inhibition in vitro showed that Eucalyptus essential oil E2 exhibits non-significant activity, not justifying the assertion of a real antidiabetic potential for this species.

Keywords : Eucalyptus, essential oil, hydrodistillation, antibacterial activity, antifungal activity, antioxidant activity, antidiabetic activity.

الملخص

تندرج هذه الدراسة ضمن تثمين النباتات الطبية الجزائرية المعروفة بخصائصها العلاجية. وقد ركزنا على دراسة نبات الأوكالبتوس (الكاليتوس)، المعروف بغناه بالمركبات الفعالة واستعماله من قبل السكان المحليين في عدة علاجات تقليدية

يهدف هذا العمل، من جهة، إلى استخراج الزيوت الأساسية وتحديد تركيبها الكيميائي، ومن جهة أخرى، إلى تقيي أنشطتها البيولوجية: المضادة للبكتيريا، والمضادة للفطريات، والمضادة للأكسدة، والمضادة لمرض السكري. كما تم تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوت الأساسية للأوكالبتوس

تم استخراج الزيوت الأساسية من الأوراق بواسطة التقطير المائي، وكانت مردودية الاستخراج كما يلي 0.695% :بالنسبة لـEC.FB.Blida ، و 0.633%بالنسبة لـE1 ، و 2.637%بالنسبة لـE2.

تم تحليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية باستعمال مطيافية الأشعة تحت الحمراء بتحويل فورييه.(FTIR)

وأظهرت النتائج أن الزيوت الأساسية للأوكالبتوس غنية بالمركبات التربينية المؤكسجة والهيدروكربونية، والتي تتميز أساسًا بوجود المجموعات الوظيفية O–H و C–H و C–O و C=C.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد ثلاث سلالات بكتيرية، حيث كانت بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus)الأكثر حساسية، بأقطار تثبيط تراوحت بين 12 و13 مم. أما الدراسة المضادة للفطريات على فطر المبيضات البيضاء(Candida albicans) ، فقد أظهرت نتائج ضعيفة باستعمال طريقة الانتشار بالأقراص، في حين سجلت طريقة الانتشار بالحفر مناطق تثبيط بلغت 20 مم.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستعمال اختبار DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)، وكانت قيم IC_{50} كما يلي 31.285 ± 0.488 mg/ml :بالنسبة لـEC.FB.Blida ، و 250.065 ± 0.714 mg/mlبالنسبة لـE1 ، و 16.645 ± 0.474 mg/mlبالنسبة لـE2.

أما تقييم النشاط المضاد لمرض السكري من خلال تثبيط إنزيم α-amylase في المختبر، فقد أظهر أن الزيت الأساسي E2يمتلك نشاطًا غير معنوي، مما لا يسمح بتأكيد وجود فعالية حقيقية مضادة لمرض السكري لهذا النوع.

الكلمات المفتاحية: الأوكالبتوس، الزيت الأساسي، التقطير المائي، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد لمرض السكري،.

CHAPITRE I :Les plantes Médicinales Aromatiques

Figure I.1.La Structure Chimique De Tannin .

Figure I.2. Structure chimique de quatre alcaloïdes indoliques isolés de D. guianensis. a) Dicorynamine b) N-acétyltryptamine c) Harmalan-N-oxyde d) Cordisinine.

Figure I.3. Structure chimique des flavonoïdes et leurs différents types .

Figure I.4 . Espèces d'Eucalyptus communes sélectionnées.

Figure I.5. Répartition mondiale des espèces d'arbres connues pour atteindre 70 m de hauteur .

CHAPITRE II : Les Huiles Essentielles

Figure II.1. Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des HEs.

Figure II.2. Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des HEs .

Figure II.3. Montage d'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle .

Figure II.4.Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau .

Figure II.5. Montage d'extraction par micro- ondes .

Figure II.6. Montage d'extraction par les fluides supercritiques.

Figure II.7. Appareil de la CPG.

Figure II.8. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.

CHAPITRE III : Matériels Et Méthodes

Figure III.1.les feuilles des espèces d'Eucalyptus (E1, E2, EC.FB-Blida).

Figure III.2. Extraction des HEs d'Eucalyptus par deux montages de Clevenger.

Figure III. 3. Couleurs des H.Es après le Titrage.

Figure III.4. Couleur avant titrage.

Figure III.5. Couleur après titrage (décoloration).

Figure III. 6. Réfractomètre.

Figure III.7. La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH .

Figure III.8. Activité anti-oxydante de l'Acide ascorbique.

Figure III.9. L'activité anti-oxydante des HEs d'Eucalyptus.

Figure III.10. Technique de diffusion sur gélose par la technique des disques.

CHAPITRE IV :Résultats et Discussions

Figure IV.1. Variation des rendements d'extraction des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus.

Figure IV.2. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus (EC.FB.Blida)

Figure IV.3. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus (E1)

Figure IV.4. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus (E2)

Figure IV.5. Activité antibactérienne des HEs d'Eucalyptus (Z : HE de E2, S : HE de EC.FB-Blida, C : HE de E1) par la méthode de diffusion par disques.

Figure IV.6. Activité antifongique des HEs d'Eucalyptus par la méthode diffusion par disque

Figure IV.7. Activité antibactérienne et antifongiques des HEs par la méthode de diffusion par puits.

Figure IV.8. Activité antidiabétique (Inhibition de l'alpha amylase) de l'huile essentielle d'eucalyptus (E2).

CHAPITRE I : Les plantes Médicinales Aromatiques

CHAPITRE II : Les Huiles Essentielles

CHAPITRE III : Matériels Et Méthodes

CHAPITRE IV : Résultats et Discussions

TableauIV.1. Rendements d'extraction des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus

Tableau IV.2. Propriétés organoleptiques des HEs des espèces d'Eucalyptus.

Tableau IV.3. Analyses physico-chimiques des HEs des espèces d'Eucalyptus.

Tableau IV.4. Activité anti-oxydante par la méthode de DPPH

Tableau IV.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus (Méthode de diffusion par puits).

Tableau IV.6. Activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus (Méthode de diffusion par disque).

Tableau IV.7. Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par les huiles essentielles.

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATCC : American Type Culture Collection

C : Huile essentielle de E1

C. albicans : Candida albicans

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

DMSO : Diméthylsulfoxyde

DNSA : Acide 3,5-dinitrosalicylique

DOA : Densité optique du tube contrôle

DOB : Densité optique du tube échantillon

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

E. coli : Escherichia coli

E1 : Eucalyptus sp.1

E2 : Eucalyptus sp.2

EC.FB.Blida : Eucalyptus camaldulensis à fleurs blanches récolté à Blida

FAO : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FID : Flame Ionization Detector (Détecteur à ionisation de flamme)

FRAP : Ferric Reducing Antioxidant Power

FTIR : Fourier Transform Infrared Spectroscopy (Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier)

GC/SM : Chromatographie en phase gazeuse / Spectrométrie de masse

GN : Gélose Nutritive

Gram + : Bactéries à Gram positif

Gram − : Bactéries à Gram négatif

HE : Huile Essentielle

HEs : Huiles Essentielles

HPLC : High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide à haute performance)

I% : Pourcentage d'inhibition

IC_{50} : Concentration inhibitrice 50 %

IR : Infrarouge

ISO : International Organization for Standardization

kHz : Kilohertz

M : Masse d'huile essentielle récupérée

M_0 : Masse de matière végétale

NF : Norme Française

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PDA : Potato Dextrose Agar

pH : Potentiel hydrogène

Pseudo. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa

psi : Pound per square inch

R% : Rendement en huile essentielle

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène

S : Huile essentielle d'Eucalyptus camaldulensis FB.Blida

SFME : Solvent Free Microwave Extraction (Extraction par micro-ondes sans solvant)

UV : Ultraviolet

w/w : Rapport masse/masse

Z : Huile essentielle d' E2

TABLE DE MATIER

Dédicace

Remerciements

Résumé

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLES

LISTE DES ABRIVIATION

TABLE DE MATIER

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I : Les plantes Médicinales Aromatiques 3

I.1.Historique 3

I.2.Définition des Plantes Médicinales Aromatiques 4

I.3.L'importance Economique et Scientifique 5

I.3.1. Dans le monde 5

I.3.2. En Algérie 5

I.4.Classification et Diversité Des Plantes Médicinales Aromatiques 6

I.4.1. Morphologie 6

I.4.2. Physiologique ou thérapeutique 7

I.4.3. Systématique et taxonomie des plantes 7

I.5. Les Principes Actifs Des Plantes Médicinales Aromatiques 7

I.5.1. Métabolites primaires 7

I.5.2. Métabolites secondaires 8

I.6.Le genre Eucalyptus 10

I.6.1. Origine et définition 10

I.6.2. Description botanique 12

CHAPITRE II : Les Huiles Essentielles 13

II.1. Définition 13

II.2. Localisation Dans La Plante 13

II.3. Composition Chimiques Des Huiles Essentielles

II.4. Facteurs influençant la variabilité chimique et l'efficacité des huiles essentielles 17

II.4.1. Facteurs endogènes 17

II.4.2.Les facteurs exogènes 17

II.5.Méthodes d'extraction des huiles Essentielles	18
II.5.1. Méthodes d'extractions traditionnelles	18
II.5.2.Méthodes d'Extraction moderne	21
II.6.Caractéristiques physiques-chimiques des huiles essentielles	24
II.6.1. Caractéristiques organoleptiques	24
II.7.Méthodes de caractérisation chimique	25
II.8.Les Activités Biologiques	27
II.9. Toxicité des huiles essentielles	31
CHAPITRE III : Matériels Et Méthodes	33
III.1. Matériels utilisés	33
III.1.1. Matériels végétaux	33
III.2. Extraction de l'huile essentielle	34
III.3. Calcul des rendements en huile essentielle	35
III.4. Caractérisation des huiles essentielles	35
III.4.1. Caractéristiques physico-chimiques	35
III.4.1.1. L'indice d'acide	35
III.4.1.2. Indice de Saponification	36
III.4.1.3. Indice d'ester	38
III.4.1.4. Indice de réfraction	38
III.4.2. Analyse Spectroscopique	39
III.5. Evaluation des Activités biologique	40
III.5. 1. Activité ant-ioxydante	40
III.5.2. Activité antibactérienne	42
III.5. 3. Activité antifongique	45
III.5. 4. Activité antidiabétique	46
CHAPITRE IV : Résultats et Discussions	49
IV.1. Rendement d'extraction	49
IV. 2. Analyses physico-chimique et organoleptiques	5O
IV.2.1. Caractéristiques organoleptiques	50
I V.2.2. Caractéristiques physico-chimique	50
IV.3. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles	52

IV.3.1. Spectroscopie Infra- Rouge FTIR 52

IV.4. Activités biologiques 56

IV.4.1.Activité anti-oxydante 56

IV.4.2. Activité antimicrobienne 57

IV.4.3.Activité antidiabétique 60

CONCLUSION GENERALE 62

Références

Introduction générale

De nombreux grands médecins historiques étaient des phytothérapeutes **[1].** C'est pourquoi l'Homme a toujours recours aux plantes pour se soigner, que ce soit de manière empirique, sous l'influence de la tradition ou des coutumes.

L'utilisation thérapeutique des plantes (phytothérapie) est très ancienne mais elle connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public. Il est possible d'utiliser les plantes entières ou les extraits qu'elles fournissent.

Selon l'organisation mondiale de la santé (O.M.S); la médecine traditionnelle se définit comme l'ensemble de toutes les connaissances pratiques explicables ou non pour diagnostiquer ou éliminer un déséquilibre physique, mental en s'appuyant exclusivement sur l'expérience vécue et l'observation, transmises de génération en génération (oralement ou par écrit)[2].Selon (OMS), 60 % de la médecine traditionnelle en Afrique utilise plus de 4000 plantes médicinales, et près de 6377 espèces de ces plantes.

Ces plantes peuvent contenir des centaines, voire des milliers de métabolites secondaires ou de substances actives, qui peuvent induire diverses réponses physiologiques au sein de l'organisme humain **[3].** De plus, elles font partie des mécanismes de défense naturels des plantes contre les maladies. Elles ont été mises en avant dans le cadre de traitements et de la lutte contre les maladies.

La popularité dont jouissent depuis longtemps les huiles essentielles et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, tonifiantes, stimulantes, calmantes, etc.**[4, 5]**

L'attention s'est portée sur les propriétés médicinales des espèces d'eucalyptus, qui ont été utilisées pour traiter l'arthrite, l'asthme, les brûlures, la fièvre, la grippe, les maux de gorge, le paludisme, les plaies et la pharyngite. Il a été démontré que les HEs de feuilles d'eucalyptus possèdent de nombreuses propriétés, et plusieurs études ont mis en évidence leurs effets antihyperglycémiques, antioxydants, antibactériens, cicatrisants, cytotoxiques, L'eucalyptus appartient à la famille des Myrtacées et est considéré comme un grand genre aromatique comprenant environ 900 espèces **[6].** Il a été introduit en Algérie pendant la colonisation, entre 1854 et 1860. Les plantes d'eucalyptus attirent l'attention des chercheurs et des écologistes du monde entier, car elles constituent une source croissante de bois ainsi qu'une source d'huile utilisée à de nombreuses fins. La plupart des eucalyptus sont à feuilles

persistantes, mais certaines espèces tropicales perdent leurs feuilles à la fin de la saison sèche **[7].**

Le travail qui nous a été confié consiste à approfondir la connaissance de cette espèce .Pour cela, nous avons attachez une étude chimique consiste à des analyses (physico-chimiques, composition chimique) et étude biologique représenté dans les différentes activités (antimicrobiennes, antifongiques, antioxydantes et antidiabétique)

Le travail présent est composé de deux parties :

Dans la première partie, nous avons abordés, l'état des connaissances bibliographiques incluant une généralité sur les plantes médicinales aromatiques, leur importance, leurs utilisations traditionnelles et généralités sur les huiles essentielle, leurs méthodes d'extraction, leur composition chimique ainsi que leurs principales activités biologiques.

La deuxième partie s'articule au matériel et méthodes utilisées, tel que :

- L'extraction de l'huile essentielle d'espèce végétale étudiée Eucalyptus
- L'analyses physico-chimiques et détermination de la composition chimique des huiles essentielles par FTIR
- Les activités biologiques telles que les tests antibactériennes, les tests antifongiques, tests antioxydantes qui font par la méthode de DPPH et les tests antidiabétique.

Et en fin résultats et discussions et interprétations scientifiques de ces résultats et une conclusion générale.

Partie théorique

I. Les plantes Médicinales Aromatiques

I.1.Historique

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées par l'humanité depuis l'Antiquité **[8].**

Les populations anciennes ont développé des systèmes de connaissances complexes basés sur leur relation étroite avec la nature, leur permettant d'exploiter les propriétés thérapeutiques des plantes. Au cours des siècles, l'emploi des plantes médicinales aromatiques intégré dans de nombreuses cultures et civilisations, comme en témoignent les papyrus égyptiens de l'Antiquité, aux écrits de la médecine ayurvédique en Inde ainsi que les pratiques de la médecine traditionnelle chinoise. Ces traditions illustrent la quête permanente de l'humanité continue de l'homme pour le bien-être et la santé à travers l'usage de substances médicinales naturelles **[9].** À l'échelle mondiale, les plantes ont toujours constitué une source essentielle d'alimentation et de soins, notamment pour les populations locales [10]. Les premiers écrits médicinaux connus, datant d'environ 5000 à 3000 av. J.-C. et attribués aux Sumériens, témoignent déjà de l'utilisation des plantes pour traiter les maladies et rétablir une bonne santé. Ainsi, la phytothérapie représente l'une des plus anciennes formes de médecine, dont l'influence persiste encore aujourd'hui, puisque de nombreux médicaments modernes sont d'origine végétale **[11].**

Le développement historique de l'aromathérapie, qui est celle des huiles essentielles peut être divisé en quatre grandes périodes, la première correspond à l'usage Direct de plantes aromatiques sous forme brute ou sous forme d'infusion ou de décoction, la seconde période est caractérise par La brûlure des plantes aromatiques et leurs macération dans des huiles végétales, à partir de cette époque, intervient la notion d'activité liée à la substance odorante.

La troisième correspond à un tournant important qui conduit à l'apparition du concept d'huile essentielle qui aboutit à la création et au développement de la distillation.

Enfin, la période moderne visant à connaître les composants chimiques des huiles extraits à partir des plantes, permettant d'intervenir et expliquer leurs mécanismes physiques, chimiques, biochimiques, physiologiques des arômes végétaux.

Aujourd'hui, les propriétés médicinales des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles sont de plus en plus prouvées scientifiquement, c'est ce qui constitue d'ailleurs leur place en médecine et dans la recherche en bioactivité **[12].**

I.2.Définition des Plantes Médicinales Aromatiques

Une plante est appelée une plante médicinale si un ou plusieurs de ses membres renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de traiter, soulager ou guérir une maladie spécifique **[13].**

D'après **l'OMS** une plante médicinale est définie comme « une plante ou un de ses organes capable de produire des substances qui peuvent être utilisées pour le but thérapeutiques ou qui sont des précurseurs pour la synthèse d'autres drogues végétales utiles pour la santé humaine et dont ces propriétés médicamenteuses sont prouvées scientifiquement par l'emploi en médecine traditionnelle **[14].**

Dans le code de la santé publique, Plusieurs concepts existent pour définir les plantes médicinales, au sens juridique, c'est une plante non mentionnée en tant que médicinale, qui est en vente libre par les pharmaciens **[15].**

Selon la pharmacopée française de la Xème édition, « les plantes médicinales dont au moins une partie une ou des substances qui possèdent des propriétés thérapeutiques ». Ces plantes médicinales aromatiques utilisées comme tous les végétaux en : alimentaires, hygiéniques ou cosmétiques. En d'autre terme, ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages traditionnelle et/ou moderne **[16].**

Origine des plantes médicinales

Les plantes médicinales proviennent de deux sources distinctes. D'une part, il y a les plantes spontanées, communément appelées "sauvages" ou "de cueillette", et d'autre part, les plantes qui sont cultivées **[17]**.

Plantes sauvages

Cette catégorie regroupe les plantes qui ont été utilisées depuis longtemps et qui continuent de représenter aujourd'hui un pourcentage significatif de marché mondial actuel. Leur distribution et leur développement sont déterminés par divers facteurs, notamment le type de sol et, surtout, le climat **[17].** En effet, ces plantes sont affectées par des éléments tels que la température, la latitude, l'altitude et la composition du sol. Ces conditions édaphiques font de ces plantes de véritables réservoirs de diversité génétique.

Les plantes cultivées

Ce type de production garantit une quantité adéquate de matière première pour satisfaire les besoins, et les drogues récoltées présentent une homogénéité tant sur le plan de leur apparence que de leur composition chimique. (Grenez, 2019).en effet, La culture des plantes médicinales respecte effectivement les directives de l'OMS relatives aux bonnes pratiques agricoles et de récolte pour ces espèces. Ces directives s'appliquent à la culture, à la récolte ainsi qu'à certaines étapes post-récolte des plantes médicinales **[18].** Cette culture, en plus d'élever la qualité, joue un rôle dans la réduction de la dispersion ou de l'hétérogénéité des populations naturelles .Bien que la variété des espèces cultivées soit significativement moins riche que celle des espèces sauvages, elle représente tout de même un réservoir de diversité génétique **[19].**

I.3.L'importance Economique et Scientifique

I.3.1. Dans le monde

Malgré les avancées considérables de la pharmacologie, l'usage des plantes médicinales pour le but thérapeutique présentent largement dans certains pays du monde, en particulier dans les pays en voie de développement **[20].**

• D'après les estimations de l'organisation mondial de la santé (OMS), environ 65 à 80 % de la Population Mondiale, en particulier dans les pays de développement, utilise des traitements traditionnels pour répondre à leurs besoins en santé et en soins primaires.

• À partir de l'année 2000, on observe une augmentation rapide de la demande mondiale pour des produits dans ces domaines, avec un taux annuel compris entre 10 et 20 %.

• La recherche de la FAO sur le commerce des plantes médicinales révèle l'augmentation du marché international des plantes ainsi que l'insuffisance d'informations précises, fiables et détaillées dans ce secteur.

• Les plantes médicinales jouent un rôle crucial non seulement dans la recherche pharmaceutique et le développement de médicaments, mais également en tant qu'agents thérapeutiques directs, ainsi que comme matières premières pour la synthèse pharmaceutique ou comme modèles d'ingrédients actifs.

I.3.2. En Algérie

L'Algérie possède une tradition de mille ans dans l'emploi des plantes médicinales.

Même durant la période du colonialisme français, qui s'étend de 1830 à 1962, les botanistes ont réussi à inventorier un nombre considérable d'espèces médicinales. En 1942, Fourment et Roque ont publié un livre qui contient 200 espèces végétales aux vertus médicinales. La plupart des espèces identifiées sont originaires du Nord algérien, avec seulement six espèces répertoriées dans le Sahara.

•Au sein de l'Algérie, comme dans les autres pays maghrébins, les plantes médicinales sont surtout exploitées dans les zones rurales par des aînés qui possèdent encore des connaissances sur diverses recettes de tisanes.

•La richesse de la flore algérienne en espèces végétales permet l'extraction de substances naturelles, d'huiles essentielles, utilisées comme additif aromatisant ou aromatique, qui sont particulièrement précieux pour les domaines agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

•les plantes médicinales aromatiques sont largement utilisées dans l'industrie pharmaceutique pour la fabrication de médicaments destinés au soulagement des douleurs articulaires, au traitement des affections rhumatismales, les médicaments contre l'hypertension artérielle **[21].**

I.4.Classification et Diversité Des Plantes Médicinales Aromatiques

I.4.1.Morphologie

Les plantes médicinales aromatiques présentent une grande diversité morphologique, caractérisée par l'étude de la morphologie externe (forme, agencement et relations des différents organes) et leur structure internes (anatomie notamment l'histologie et la cytologie). Ces caractéristiques jouent un rôle important dans la compréhension des systèmes végétaux notamment en pharmacognosie, Il arrivait que l'on considère la forme des plantes comme ayant une fonction thérapeutique. On soutenait que la forme des organes végétaux est similaire à celle de certains organes humains possédaient des propriétés curatives et pouvaient être employés pour traiter ces derniers **[22].**

Donc les plantes médicinales sont diversifiées selon la partie utilisée qui contient le principe active :

Les plantes utilisées entières : Qui ont leurs substances chimiques actives sont répartis dans différentes parties de la plante sans se focaliser ou s'accumuler dans un organe spécifique.

Les plantes utilisant leurs feuilles : Elles renferment des composés chimiques actifs dans leurs feuilles, comme la menthe, le basilic, le thé et le henné, l'Aloe Vera.

Plantes qui utilisent leurs fleurs : Il s'agit des plantes qui possèdent des substances actives au sein de leurs inflorescences, comme c'est le cas pour la camomille, les roses, l'hibiscus ou les fleurs de safran.

Plantes qui utilisent leurs fruits : Ce sont des espèces végétales qui contiennent des substances chimiques actives dans les fruits appelés « carvi ».

Plantes utilisent leurs parties terrestres : Plantes utilisent leurs parties terrestres : comme les tiges ou les racines, qui contiennent des produits chimiques actifs, notamment la réglisse et d'autres.

I.4.2. Physiologique ou thérapeutique :

La physiologie végétale constitue une branche de la botanique qui étudiée les mécanismes fonctionnels des plantes. Il s'agit d'une discipline expérimentale qui observe les impacts des variations environnementales et génétiques sur les processus vitaux, en se servant de ces données pour expliquer et réguler le comportement des plantes. La variation dans l'intensité de la production de principes actifs établit également un lien crucial entre les plantes médicinales et la botanique **[23].**

I.4.3. Systématique et taxonomie des plantes :

Au sein de nombreuses familles botaniques, les plantes médicinales et aromatiques sont susceptibles de produire des principes actifs similaires, en raison de voies biosynthétiques communes. Par conséquent, la famille des Lamiacées inclut de nombreuses espèces riches en huiles essentielles telles que la lavande, le thym, le romarin et la sauge, alors que d'autres familles, comme les Solanacées, se caractérisent par la diversité d'espèces contenant des alcaloïdes (la belladone, le datura et le tabac) **[22].**

I.5. Les Principes Actifs Des Plantes Médicinales Aromatiques

Les substances synthétisées par les végétaux sont regroupées en deux classes :

I.5.1. Métabolites primaires :

Les métabolites primaires, sont des molécules organiques qui sont nécessaires à la vie végétale omniprésentes dans toutes les cellules de l'organisme des plantes, contribuant à leur survie. Possédant une activité pharmacologique de base [**19].**

. Ils sont classés en quatre grandes catégories :

- Les glucides tels que la cellulose et l'amidon
- Les protides
- Les lipides
- Les acides nucléiques

I.5.2. Métabolites secondaires :

Métabolites secondaires ou spécialisés, caractérisés par une composition plus complexe, sont généralement classés dans de grandes familles chimiques **[24].**

I.5.2.1. Tanins :

Les tanins sont habituellement la principale fraction de l'extrait polyphénolique de structures variées, se caractérisent par leur propriété de tanner la peau. Cette caractéristique du tannage résulte de la formation de liaisons entre les molécules de tannins et les protéines.

On les trouve fréquemment dans le règne végétal, pouvant exister dans divers organes, avec une accumulation notable dans les tissus âgés ou d'origine pathologique, où ils se situent dans les vacuoles[25] . Les connaissances sur leur rôle biologique dans la plante demeurent limitées, néanmoins, leur présence confère à cette dernière des propriétés astringentes, antiseptiques, antioxydantes et antidiarrhéiques **[26].**

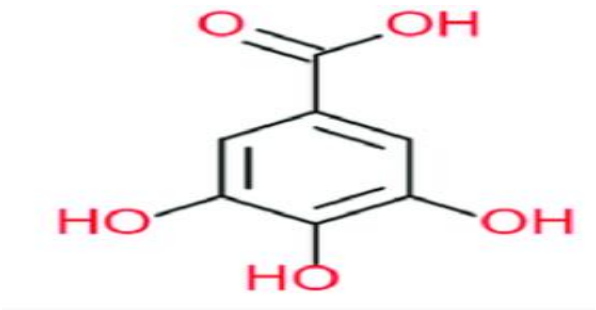


Figure I.1. La Structure Chimique De Tannin **[27].**

I.5.2.2. Quinones :

Les quinones sont des composés contenant de l'oxygène, issus de l'oxydation de dérivés aromatiques, et se distinguent par la présence d'un motif 1,4-dicétocyclohexa-2,5-diénique ou d'un motif 1,2-dicétocyclohexa-3,5-diénique. La dione peut interagir avec les doubles liaisons d'un noyau benzénique ou avec celles d'un système aromatique polycyclique condensé, tel que le naphtalène, l'anthracène et le naphtodianthrène **[28].**

I.5.2.3.Saponines :

Les saponines constituent des substances naturelles capables de produire, lors de leur dissolution dans l'eau et après agitation, une mousse riche et beaucoup plus persistante que celle engendrée par d'autres substances naturelles dans des conditions similaires. Ces substances sont souvent considérées comme expectorantes et améliorent l'absorption des aliments **[29].**

I.5.2.4. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes constituent une classe variée de composés azotés de faible masse moléculaire, qui se caractérisent souvent par leur puissance d'action et leur goût amer. On les rencontre dans environ 20 % des plantes à fleurs, et ils sont particulièrement répandus dans des familles spécifiques telles que les Fabacées, les Liliacées, les Solanacées et les Renonculacées. Les alcaloïdes, par rapport à d'autres groupes de composés naturels, se caractérisent par une diversité structurelle importante, et leur classification n'est pas homogène. Les divers groupes d'alcaloïdes présentent une gamme variée de propriétés biologiques et pharmacologiques. Souvent se sont extrêmement toxiques **[30].**

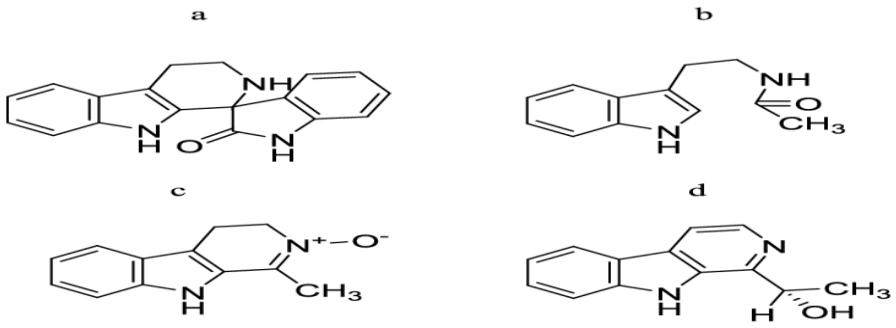


Figure I.2. Structure chimique de quatre alcaloïdes indoliques isolés de D. guianensis. a) Dicorynamine b) N-acétyltryptamine c) Harmalan-N-oxyde d) Cordisinine **[31].**

I.5.2.5. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent un groupe étendu de composés polyphénoliques ayant une structure benzo-cyprone, que l'on observe dans diverses plantes. Les proanthocyanidines sont des composés oligomériques issus des flavonoïdes. Ces deux catégories de composés peuvent exister sous forme de glycosides ainsi que de dérivés méthylés. Les flavonoïdes représentent le groupe le plus commun et le plus largement distribué des composés phénoliques d'origine végétale ; ils sont présents dans presque toutes les parties de la plante, notamment dans les cellules photosynthétiques **[32].**

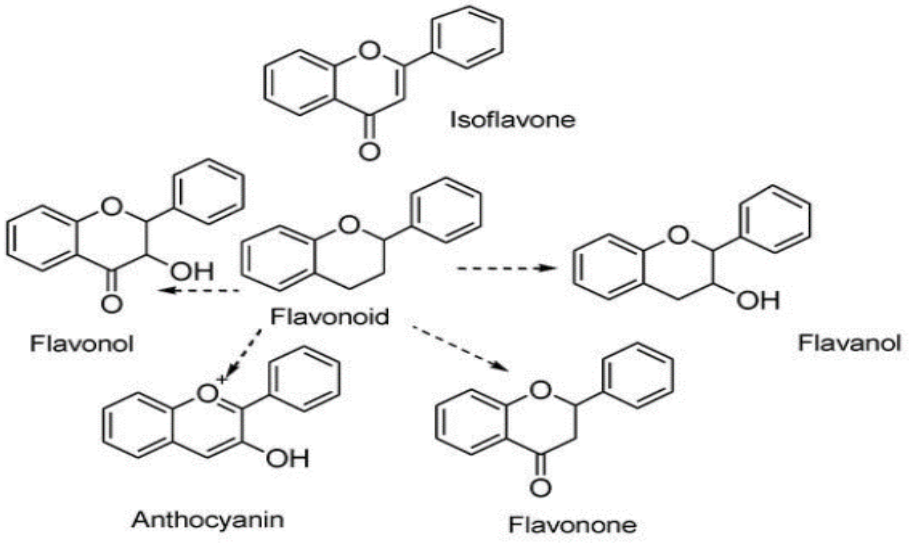


Figure I.3. Structure chimique des flavonoïdes et leurs différents types **[33].**

I.5.2.6. Terpènes :

Les terpénoïdes, connus aussi sous le nom d'isoprénoïdes ou d'isopenténoïdes, forment la catégorie la plus large et la plus hétérogène de composés chimiques parmi la multitude de substances générées par les plantes [34]. Les terpénoïdes sont produits à partir de l'isoprène, qui constitue un motif fondamental de cinq atomes de carbone. Les terpénoïdes sont habituellement classifiées en hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10) , sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tétraterpènes (C40) et polyterpènes (>C40) , en fonction du nombre de motifs constitutifs [**35], [36].**

I.6.Le genre Eucalyptus :

I.6.1. Origine et définition :

L'Eucalyptus aurait été découvert lors des voyages du capitaine James Cook dans les années 1770. Au cours de son premier voyage, des spécimens végétaux furent collectés à Botany Bay sous la direction de Joseph Banks. En 1788, un spécimen d'eucalyptus fut d'abord classé par erreur dans le genre Metrosideros par Joseph Gaertner.

Lors du troisième voyage de Cook, David Nelson récolta un spécimen sur Bruny Island. Ce spécimen fut ensuite étudié par Charles Louis L'Héritier de Brutelle, qui décrivit officiellement

le genre en 1788 sous le nom Eucalyptus. Ce nom provient du grec eu signifiant « bien » et calyptos signifiant « couvert », en référence à l'opercule recouvrant le bouton floral **[37]**.

Les extraits d'eucalyptus ont été approuvés comme additifs alimentaires et sont actuellement utilisés dans diverses formulations cosmétiques. Les feuilles présentent plusieurs activités biologiques telles que les propriétés antioxydantes, antiseptiques et anti-inflammatoires. En plus de leur activité antimicrobienne, l'huile essentielle d'eucalyptus et ses constituants possèdent également des activités herbicides, insecticides, anthelminthiques, antitumorales etanti-sangsue**[38].**

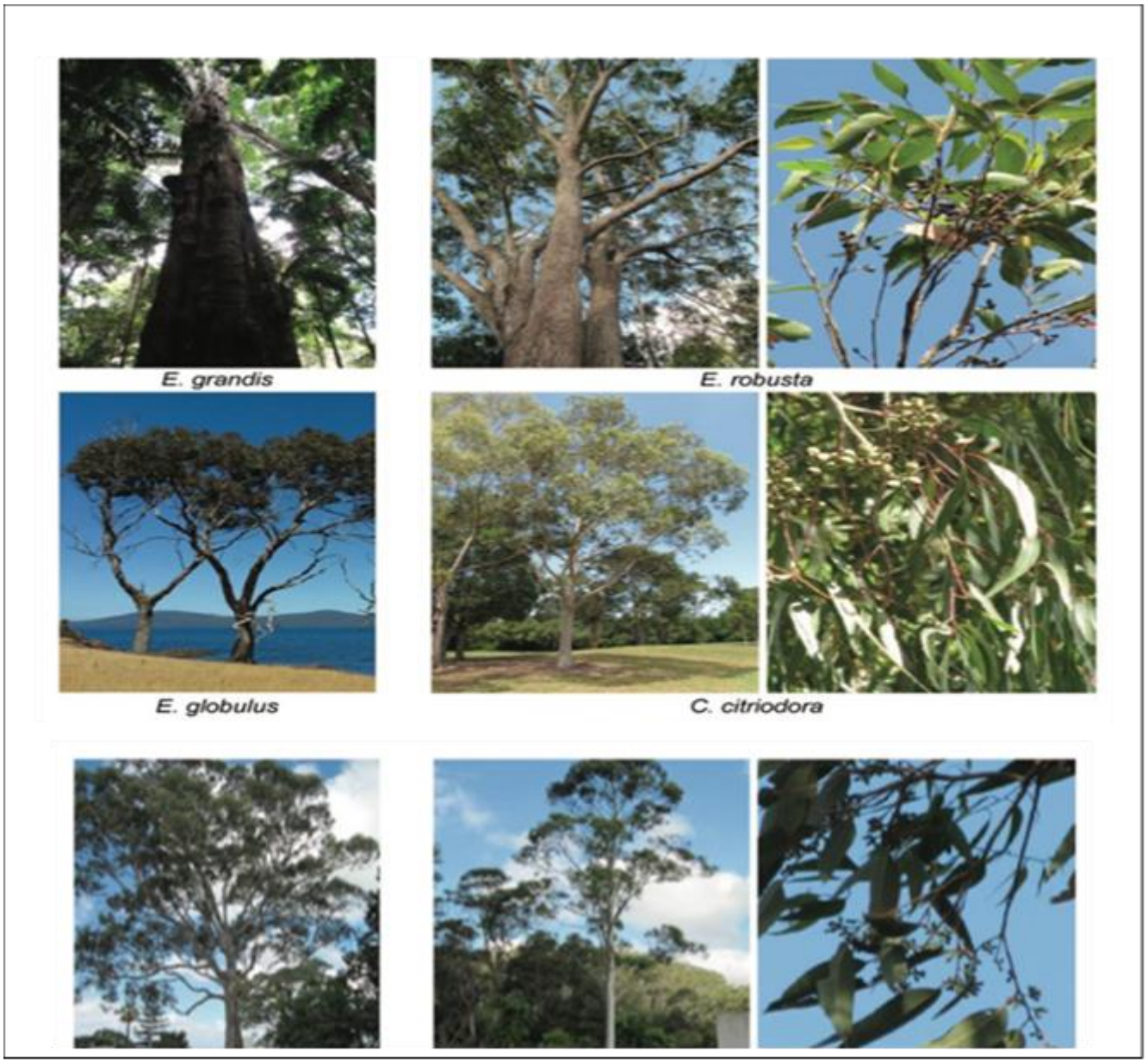


Figure I.4 .. Espèces d'Eucalyptus communes sélectionnées [**39]**

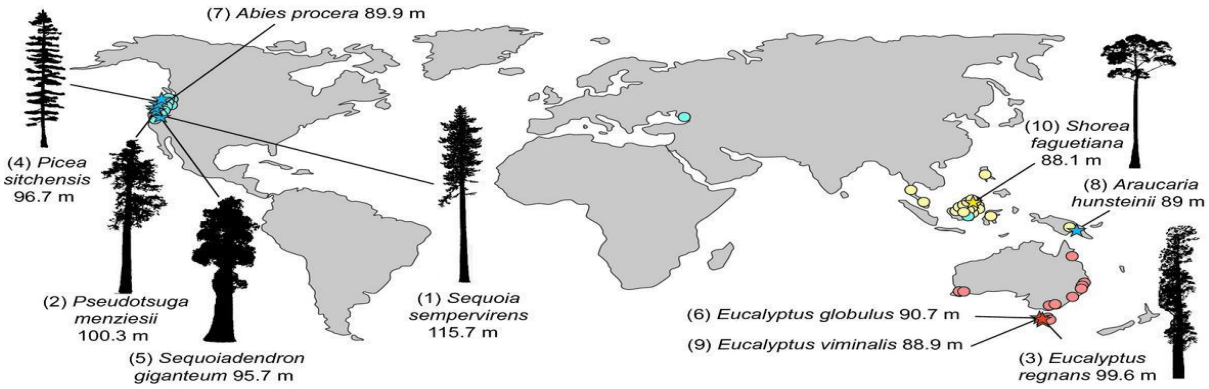
I.6.2. Description botanique :

Le genre Eucalyptus, appartenant à la famille des Myrtacées, est originaire d'Australie et comprend plus de 900 espèces. Il a été exporté dans plusieurs régions du monde. Les espèces d'eucalyptus constituent des plantes polyvalentes par excellence. Elles sont cultivées non seulement pour la production de pâte à papier, du bois d'œuvre et du bois de chauffage, mais également pour leurs extraits qui présentent d'importantes propriétés thérapeutiques et médicinales [**40].**

L'eucalyptus est un arbre pouvant atteindre 30 à 35 mètres de hauteur, avec un tronc droit, lisse et grisâtre, portant des branches dressées **[41].** Les jeunes feuilles sont bleuâtres, opposées et étroites à la base de la tige, tandis que les feuilles adultes sont vert foncé, alternes et pendantes.

Les fleurs apparaissent au printemps et naissent à l'aisselle des feuilles. Elles sont généralement regroupées en bouquets, parfois solitaires. Le calice a la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est recouverte d'un opercule qui se détache au moment de la floraison, laissant apparaître de nombreuses étamines, sans pétales ni sépales. Le fruit est une capsule anguleuse provenant du calice **[42].**

Les eucalyptus ont été introduits en Algérie entre 1856 et 1860, et plusieurs espèces ont donné d'excellents résultats dans les régions subhumides et semi-arides du pays, principalement à des altitudes inférieures à 800 mètres et dans les zones recevant plus de 400 mm de précipitations annuelles **[43].**



.

Figure I.5. Répartition mondiale des espèces d'arbres connues pour atteindre 70 m de hauteur **[44]**

II. Les Huiles Essentielles

II.1. Définition

Les HEs (= essences = huiles volatiles) sont décrites comme « des produits ayant une composition généralement complexe, contenant des principes volatils présents dans les plantes, et qui subissent divers modification durant leur préparation ». Les huiles essentielles sont des liquides aromatiques et huileux, très concentrés, qui sont principalement renferment de mélanges complexes de substances volatiles, comprenant de nombreux composés. Qui sont extraites soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation **[44].**

Les huiles essentielles, ou essences, sont des mélanges de substances aromatiques issus de diverses plantes. Elles se retrouvent sous forme de petites gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches et le bois, et leur présence est limitée par rapport à la masse totale du végétal. La plupart des huiles essentielles sont des liquides légèrement colorés et se volatilisent à température ambiante. Les huiles essentielles se caractérisent par une odeur unique et sont, en général, plus légères que l'eau, tout en ayant des propriétés hydrophobes **[45].**

Les huiles essentielles se retrouvent au sein de différentes familles botaniques, étant largement présentes dans le règne végétal et se présentent en quantités significatives chez environ 2000 espèces appartenant à 60 familles. Actuellement, le nombre d'espèces végétales est d'environ 800 000, et seulement 10 % d'entre elles possèdent la capacité de synthétiser des essences, incluant ainsi les plantes aromatiques **[44].**

II.2. Localisation Dans La Plante

Les huiles essentielles se localisées fréquemment à la surface de la plante ou à proximité de celle-ci. Ces substances peuvent être stockées au sein de tous les organes des plantes **[46] [47].** [**48]. [49].**

- ✓ Les fleurs (Oranger, rose, lavande, menthe) ;
- ✓ Les feuilles (Eucalyptus, menthe, thym, laurier, sauge, aiguilles de pin, le basilic) ;
- ✓ Les organes souterrains : racines, rhizomes (Gingembre) ;
- ✓ Les fruits (Fenouil, poivre, épicarpes des citrus) ;
- ✓ Les graines (Noix de muscade, coriandre) ;
- ✓ Le bois et les écorces (Cannelle, camphrier, bois de rose) ;

- ✓ Les poils sécréteurs épidermiques, accumulés dans des cellules glandulaires spécialisées situées en surface et dotées d'une cuticule, sont souvent rencontrés chez les Lamiaceae, les Myrtaceae et les Apiaceae **[50].**
- ✓ Au niveau du site de stockage, les gouttes d'huile essentielle sont enveloppées par des membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés à haute polymérisation, en interaction avec des groupements peroxydes. En raison de leur nature lipophile et de leur faible perméabilité aux gaz, ces membranes restreignent considérablement l'évaporation des huiles essentielles ainsi que leur oxydation dans l'air**. [46][51]**

II.3.Composition Chimiques Des Huiles Essentielles

Dans le règne végétal, les huiles essentielles sont principalement existées chez les végétaux supérieurs. Elles sont synthétisées dans le cytoplasme des cellules responsables de la sécrétion. Les huiles essentielles sont des compositions complexes de molécules organiques, dotées de structures et de fonctions chimiques hétérogènes. On recense plus de 60 molécules diverses dans la composition chimique d'une huile essentielle. Les principaux composés peuvent constituer à eux seuls plus de 85 % de l'huile, tandis que d'autres composés ne se retrouvent qu'en de traces.

Ces constituants se répartissent en deux groupes, caractérisés par des origines biogénétiques différentes : d'une part, le groupe des terpénoïdes, et d'autre part, le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins répandus **[52].**

II.3.1. Les terpénoïdes

Le terme terpène se rapporte à l'extraction précoce de ce type de composé dans l'huile de térébenthine. Dans les huiles essentielles, les terpénoïdes se distinguent par leur faible masse moléculaire, ce qui les classe parmi les molécules les plus volatiles. Dans la majorité des cas, ils adoptent la formule générale (C5H8)n. Les composants des huiles essentielles présentent une grande diversité. En plus des terpènes, on y retrouve des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et d'autres substances.

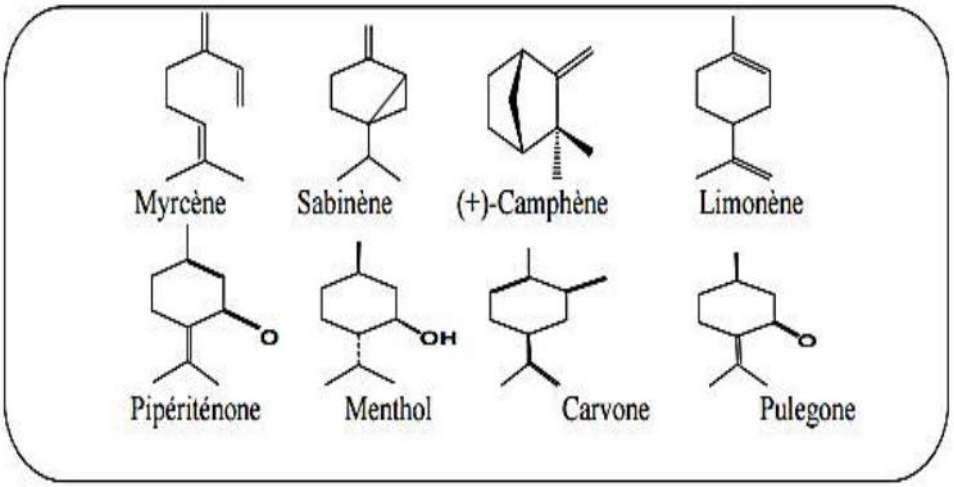


Figure II.1. Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des HEs **[53].**

II.3.2. Les monoterpènes

Les monoterpènes sont des composés organiques constitués de 10 atomes de carbones (C5H8)2, souvent caractérisés par leur volatilité et leur arôme. On les retrouve dans les huiles essentielles dérivées de diverses plantes, y compris les fruits, légumes, épices et herbes. Ces substances jouent un rôle essentiel dans la saveur et l'arôme des plantes dont elles proviennent [46].Elles peuvent être :

- ✓ Acycliques (Myrcène, myrte, ocimène, sécoïdane,…)
- ✓ Monocycliques (α-terpinène, p-menthane, iridane,…)
- ✓ Bi et tricycliques (Carene, pinene, bornane, camphène,….)

II.3.3. Les sesquiterpènes

Ces composés sont des dérivés d'hydrocarbures de formule C15H24, appartenant à la classe la plus variée des terpènes. Ils se déclinent en plusieurs catégories structurelles : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques et polycycliques. Il se trouve sous forme d'hydrocarbures ou d'hydrocarbures oxygénés, tels que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature.

II.3.4. Les Diterpènes

ce sont des composés terpéniques qui possèdent 20 carbones. Ils se trouvent au sein de la chaîne phytol des chlorophylles a et b, le tocophérol (Vitamine E) et la phylloquinone (Vitamine K1).

II.3.5. Triterpènes (C30)

Ces substances sont des dérivés d'hydrocarbures aromatiques, incluant des composés dérivés d'une entité à 30 carbones.

II.3.6. Tétraterpènes ou polyterpènes (C40)

On retrouve dans la famille des terpènes à 40 carbones des caroténoïdes, qui sont des pigments photosynthétiques importants possédant des propriétés antioxydantes.

Le caoutchouc naturel, dont les origines sont liées à des stéroïdes couramment rencontrés, notamment dans les résines, se présente sous forme libre, estérifiée ou hétérosidique **[52].**

II.3.7. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques, contrairement aux dérivés terpéniques, sont moins abondants dans les huiles essentielles. Cependant, il est perçu comme un ensemble significatif en raison de leur responsabilité dans les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles. Il est courant de trouver des substances comme l'allyle et le propénylphénol. L'eugénol, par exemple, est celui qui dégage l'odeur du clou de girofle. **[53]**

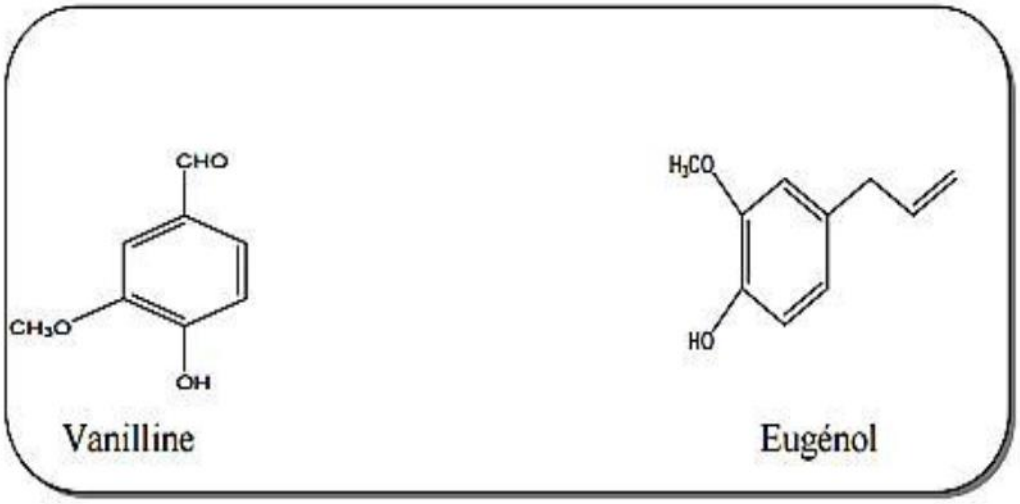


Figure II.2 Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des HEs **[53].**

II.4.Facteurs influençant la variabilité chimique et l'efficacité des huiles essentielles

II.4.1. Facteurs endogènes

On parle de facteurs associés à la plante, tels que la partie de celle-ci où les huiles essentielles se forment et s'accumulent, l'âge de la plante au moment de l'extraction de l'huile, ainsi que les caractéristiques génétiques qui contrôlent la sécrétion d'HEs.

II.4.1.1. Âge de la plante et tissus produisant l'huile essentielle

La synthèse HEs chez les plantes est influencée par l'âge de celles-ci et par la nature des tissus. Des organes végétaux identiques, mais à des phases de croissance distinctes, produisent des huiles essentielles dont la composition chimique est différente. De nombreuses recherches ont démontré l'impact de l'âge des plantes sur la composition chimique des huiles essentielles ainsi que sur leur efficacité dans la lutte contre les ravageurs et les maladies.

II.4.1.2.L'organe producteur

La composition et la quantité d'une huile essentielle varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite, Les variations dans la composition chimique entraînent une variabilité dans l'efficacité de l'HE.

II.4.2.Les facteurs exogènes

Ce sont des éléments environnementaux qui affectent la croissance des végétaux, la composition des huiles essentielles, ainsi que leur rendement et leur efficacité. Parmi ces facteurs, on trouve la lumière, les précipitations, la position géographique ainsi que le sol.

II.4.2.1.Intensité lumineuse et Température

L'intensité lumineuse était responsable des variations dans la composition chimique des HEs d'espèces végétales similaires cultivées dans des environnements présentant des intensités lumineuses différentes. En effet, l'intensité de la lumière a un impact sur les activités métaboliques des plantes, ce qui conduit à la production de ces composés chimiques.

La température a également influencé la synthèse des huiles essentielles de manière à la fois positive et négative chez différentes plantes. Les variations de température influencent les réactions enzymatiques nécessaires à la synthèse de divers composés chimiques.

II.4.2.2.Type et composition du sol

Le type de sol, son pH et ses constituants affectent le rendement, l'efficacité et la composition chimique des huiles essentielles, car les plantes dépendent du sol pour leurs nutriments, et le pH modifie l'absorption de ces nutriments.

II.4.2.3. choix de méthode d'extraction des HEs

Les huiles essentielles peuvent être extraites par diverses méthodes. Parmi celles-ci distinguent la distillation à basse température pour les composés sensibles à la chaleur et la distillation à la vapeur pour ceux qui nécessitent des températures élevées. D'autres méthodes incluent l'extraction par solvants, l'hydrodistillation, la distillation assistée par micro-ondes, l'expression, l'extraction au dioxyde de carbone supercritique, l'enfleurage, le procédé phytonique et l'extraction par ultrasons.

La technique d'extraction des huiles essentielles détermine la composition chimique et, par conséquent, la qualité de ces huiles **[54].**

II.5.Méthodes d'extraction des huiles Essentielles

II.5.1. Méthodes d'extraction traditionnelles

Les techniques traditionnelles utilisées pour extraire les huiles essentielles végétales reposent sur la distillation à l'eau par chauffage.

II.5.1.1.Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode d'extraction d'huiles la plus ancienne et la plus simple, découverte par Avicenne, qui fut le premier à mettre au point l'extraction à l'aide d'un alambic. La rose fut la première plante dont l'extrait fut utilisé et purifié par cette méthode. Le procédé commence par l'immersion des matières végétales directement dans l'eau à l'intérieur de l'alambic (récipient), puis l'ensemble du mélange est porté à ébullition. L'appareil comprend une source de chauffage, un récipient (alambic), un condenseur pour transformer la vapeur du récipient en liquide, et un décanteur pour recueillir le condensat et séparer les huiles essentielles de l'eau.

Cette technique d'extraction est considérée comme une méthode unique pour extraire des matières végétales telles que le bois ou les fleurs et est fréquemment utilisée pour les extractions impliquant des matières végétales naturelles hydrophobes ayant un point d'ébullition élevé. Comme les huiles sont entourées d'eau, cette méthode permet de protéger les huiles essentielles à extraire dans une certaine mesure sans qu'elles ne soient surchauffées. Le principal avantage de cette technique d'extraction est sa capacité à isoler les matières végétales à une température inférieure à 100 °C **[55].**

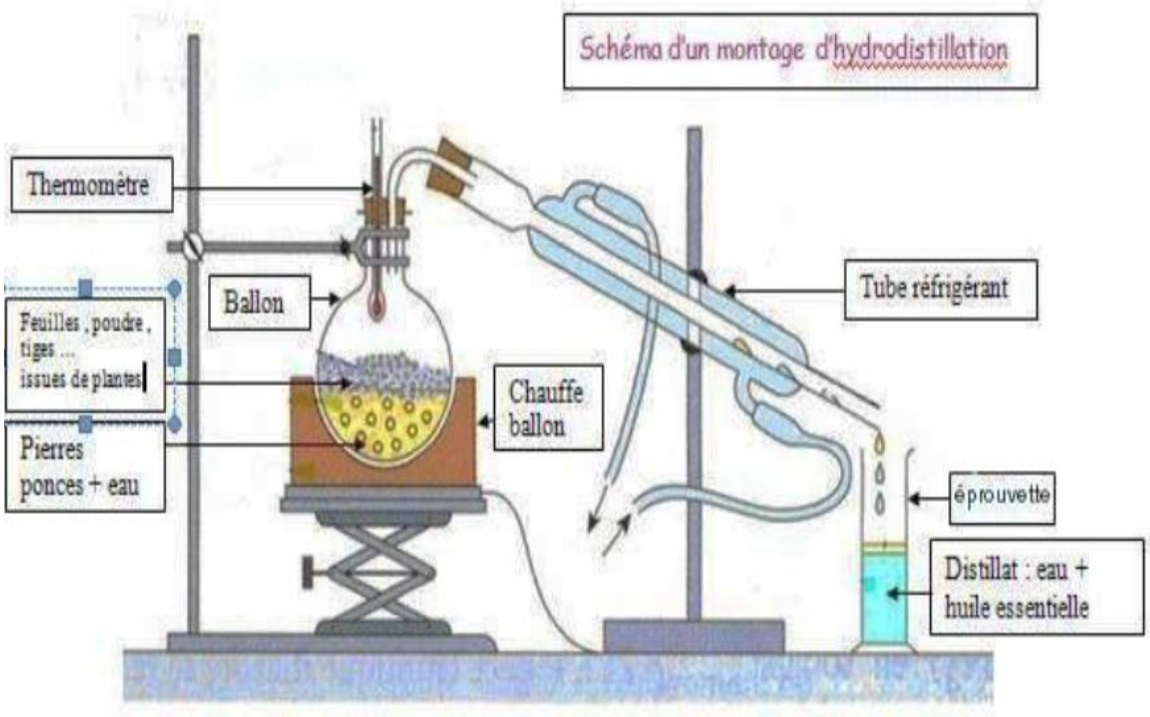


Figure II.3. Montage d'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle **[53].**

II.5.1.2. Distillation à la vapeur d'eau

Dans le domaine de l'extraction des huiles essentielles végétales, la distillation à la vapeur est la technique la plus largement utilisée. Le pourcentage d'huiles essentielles extraites par cette technique est de 93 %, les 7 % restants pouvant être extraits par d'autres méthodes. En substance, le processus commence par le chauffage de la matière végétale à l'aide de vapeur provenant d'un générateur de vapeur. La chaleur est le principal facteur déterminant l'efficacité avec laquelle les structures de la matière végétale se décomposent, éclatent et libèrent les composants aromatiques ou les huiles essentielles.

Masango a mis au point une technique innovante d'extraction par distillation à la vapeur afin d'augmenter les rendements en huile essentielle isolée et de réduire la quantité d'eaux usées produites pendant le processus d'extraction. Le système utilise un lit fixe d'échantillons végétaux, placé au-dessus de la source de vapeur. Seule la vapeur est autorisée à traverser les plantes et l'eau bouillante ne se mélange pas avec les matières végétales. Par conséquent, le processus nécessite moins de vapeur et la quantité d'eau dans le distillat peut être réduite **[55].**

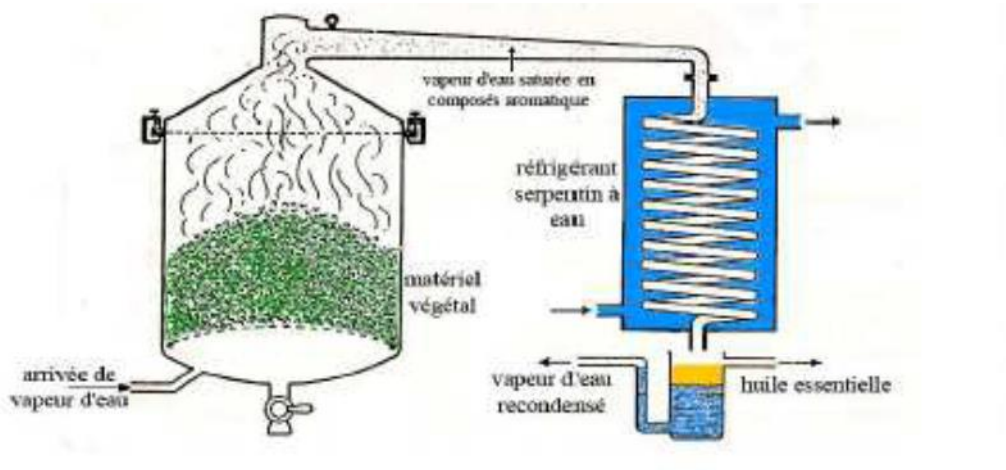


Figure II.4. Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **[56].**

II.5.1.3.Hydrodiffusion

La méthode d'extraction par hydrodiffusion est un procédé d'extraction dans lequel de la vapeur est introduite dans un récipient contenant des matières végétales.

Cette technique n'est appliquée qu'aux échantillons végétaux séchés susceptibles d'être endommagés à la température d'ébullition. Dans le procédé de distillation à la vapeur, la vapeur est introduite par le bas du générateur de vapeur, tandis que dans la méthode d'hydrodiffusion, elle est introduite par le haut du générateur. Ce procédé est réalisé à basse pression ou sous vide, et la température de la vapeur peut être réduite en dessous de 100 °C. Cette méthode de diffusion de vapeur a été encore améliorée par l'ajout de la technologie des micro-ondes **[55].**

II.5.1.4.Extraction par solvant

Des solvants courants tels que l'acétone, l'éther de pétrole, l'hexane, le méthanol ou l'éthanol ont été utilisés dans le cadre de cette technique pour extraire des matières florales fragiles ou délicates qui ne peuvent pas être extraites à l'aide de chaleur ou de vapeur. En général, les échantillons végétaux sont mélangés aux solvants, puis le mélange est chauffé doucement pour permettre l'extraction ; le processus est suivi d'une filtration et d'une évaporation des solvants. Le filtrat contient une résine (résinoïde) ou un mélange de cire, de parfum et d'huile essentielle. De l'alcool est ajouté au mélange filtré afin d'y dissoudre l'huile essentielle, puis le tout est distillé à basse température. Au cours du processus de distillation, l'alcool absorbe les parfums et s'évapore, tandis que l'huile absolue aromatique reste dans le résidu du récipient. Comparée à d'autres méthodes, cette technique est plus complexe pour l'extraction desHEs, et par conséquent, plus longue et plus coûteuse **[55].**

II.5.2.Méthodes d'Extraction moderne

II.5.2.1.Extraction par micro-ondes

Ces dernières années, différents chercheurs ont utilisé les micro-ondes pour l'extraction de plusieurs huiles essentielles et ont rapporté que les huiles essentielles obtenues en 30 minutes ou moins étaient comparables, tant d'un point de vue qualitatif que quantitatif, à celles obtenues après plus du double de temps avec certaines techniques traditionnelles telles que l'extraction Hydrodistillation ou l'extraction par solvant **[57].**

L'extraction par micro-ondes utilise le rayonnement micro-ondes comme source de chauffage du mélange solvant-échantillon. En raison des effets particuliers des micro-ondes sur la matière (à savoir la rotation dipolaire et la conductance ionique), le chauffage par micro-ondes est instantané et se produit à l'intérieur de l'échantillon, ce qui permet des extractions très rapides **[58].** L'un des avantages du chauffage par micro-ondes est la rupture des liaisons hydrogène faibles, favorisée par la rotation dipolaire des molécules. Les procédés d'extraction par micro-ondes diffèrent de ceux des méthodes conventionnelles car l'extraction résulte de modifications de la structure cellulaire provoquées par les ondes électromagnétiques **[57].**

Cette technique permet d'isoler rapidement les huiles essentielles à partir d'épices, d'herbes aromatiques et de graines sèches. Plusieurs avantages de l'extraction assistée par micro-ondes ont été rapportés par les chercheurs, qui peuvent être résumés comme suit : obtention d'huiles essentielles avec un rendement et une sélectivité élevés, un temps d'extraction plus court et un procédé respectueux de l'environnement. La SFME implique une combinaison de deux techniques, à savoir le chauffage d'échantillons végétaux à l'aide de la technologie micro-ondes, suivi d'une distillation à sec fonctionnant à pression atmosphérique en l'absence de tout solvant **[55].**

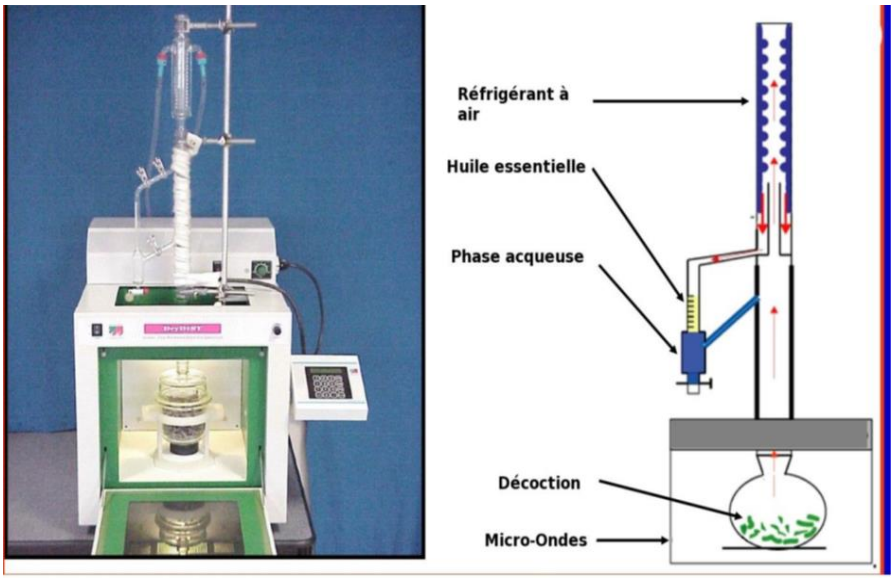


Figure II.5. Montage d'extraction par micro- ondes **[53].**

II.5.2.2.Extraction par ultrasons

L'extraction assistée par ultrasons est utilisée pour l'isolation des composés volatils issus de produits naturels à température ambiante à l'aide de solvants organiques, ce qui réduit le temps de traitement, diminue le volume de solvant et augmente le rendement de l'extrait par rapport aux méthodes conventionnelles. Son effet est beaucoup plus marqué à basses fréquences (18–40 kHz) et pratiquement négligeable à 400–800 kHz. L'amélioration de l'efficacité d'extraction des composés organiques par ultrasons est attribuée au phénomène de cavitation produit dans le solvant par le passage d'une onde ultrasonore. Des bulles de cavitation sont produites et omprimées pendant l'application des ultrasons. L'augmentation de la pression et de la température causée par la compression entraîne l'effondrement des bulles, une « onde de choc» résultante traverse le solvant, améliorant ainsi le mélange. De plus, dans le traitement des tissus végétaux bruts, il a été démontré que les cellules contenant des huiles essentielles possèdent une paroi très fine qui peut être très facilement détruite par sonication; ainsi, l'application d'ultrasons facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de masse du solvant de la phase continue vers la cellule végétale. Par conséquent, une rupture cellulaire efficace et un transfert de masse performant sont les deux principaux facteurs qui permettent d'améliorer l'extraction grâce à l'énergie ultrasonique **[57].**

II.5.2.3.Extraction par fluide supercritique

L'extraction par fluide supercritique est une méthode innovante avec un fort potentiel pour les secteurs industriels ; elle a été utilisée pour extraire des matières végétales, en particulier des

lipides, des arômes et des huiles essentielles. Cette méthode d'extraction émergente est souvent plus efficace, plus sélective pour les composés à extraire, et plus respectueuse de l'environnement que les méthodes traditionnelles. L'extraction par fluide supercritique repose sur l'utilisation de solvants à l'état supercritique, ce qui signifie qu'ils sont soumis à des températures et des pressions supérieures à leurs points critiques **[57].** Les fluides présentant ces paramètres critiques possèdent des propriétés très intéressantes, telles qu'une faible viscosité, une diffusivité élevée et une densité plus proche de celle des liquides [48]. Le CO_2 est le solvant supercritique de choix pour l'extraction de composés végétaux, car il n'est pas toxique et permet un fonctionnement en conditions supercritiques à des pressions relativement basses et à des températures proches de la température ambiante **[57].**sa polarité similaire à celle du pentane, ce qui le rend adapté à l'extraction de composés lipophiles. En général, le principe du procédé d'extraction par fluide supercritique implique l'utilisation et le recyclage du fluide au cours d'étapes répétées de compression/ décompression. L'état supercritique du CO_2 peut être obtenu en comprimant fortement et en chauffant ce fluide. Il passe ensuite à travers la matière végétale brute pour charger les matières volatiles et les extraits végétaux. Le procédé est suivi d'étapes de décompression, au cours desquelles le mélange de CO_2 et d'extraits végétaux est acheminé vers deux séparateurs où le fluide est progressivement décomprimé afin de séparer les extraits obtenus du CO_2. Le CO_2 est libéré du deuxième séparateur et recyclé dans un réservoir de stockage, et aucun résidu de solvant ne subsiste dans le produit final **[55].**

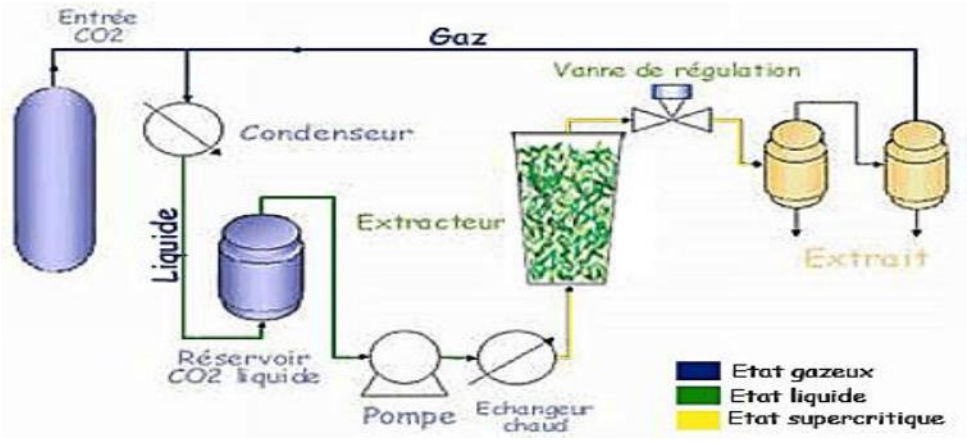


Figure II.6. Montage d'extraction par les fluides supercritiques **[59].**

II.6.Caractéristiques physiques-chimiques des huiles essentielles

L'importance des huiles essentielles à travers divers domaines (pharmacie, cosmétique,

Parfumerie) nous amène à porter un regard sur leur qualité. La caractérisation d'une huile implique :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques ;
- Établir ses paramètres physico-chimiques ;
- Déterminer son profil chromatographique et effectuer une quantification relative des différents constituants.

II.6.1. Caractéristiques organoleptiques

Chaque extrait possède des propriétés organoleptiques, telles que l'odeur, l'aspect et la couleur.

- L'odeur : L'odorat constitue un sens chimique d'une grande sensibilité, et la capacité des parfumeurs à classifier et à caractériser des substances chimiques leur permet de mesurer les produits naturels, dont la perception peut atteindre des concentrations aussi faibles que dix millionièmes de grammes par litre d'air.
- La couleur : La coloration d'une huile essentielle dépend des substances qui la forment. Certains solvants possèdent la capacité d'extraire une grande quantité de pigments, ce qui renforce l'intensité de la couleur d'une huile spécifique.
- L'aspect : L'aspect d'un extrait est déterminé par les produits qui le composent, lesquels peuvent se présenter sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

II.6.2. Propriétés physico-chimiques

La qualité ainsi que la valeur d'une huile essentielle sont régies par des normes établies portant sur les indices physicochimiques.

II.6.2.1.Densité

La densité, ou densité relative, d'une huile essentielle correspond au rapport entre sa masse volumique et celle de l'eau distillée à une température de 20°C. Cette grandeur sans dimension est mesurée selon la norme NF T 75-111 à l'aide d'un pycnomètre. La densité des huiles essentielles est généralement inférieure à 1 et varie en fonction de leur composition chimique. On peut considérer que la valeur de 0,92 représente une moyenne **[60].**

II.6.2.2.Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle correspond au rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux d'une longueur d'onde spécifique, se déplaçant de l'air vers l'huile essentielle à une température constante. L'indice de réfraction est sans unité, étant donné qu'il s'agit du rapport de deux vitesses. Lorsque la lumière est ralentit, l'indice de réfraction de la matière augmente. Les huiles essentielles affichent généralement un indice de réfraction supérieur à ceux de l'eau à 20ºC= 1.3356, et de l'huile d'olive à 20C= 1.4684. Cela met en évidence leur richesse en éléments capables de dévier la lumière polarisée.

II.6.2.3.Indice d'acide

Il s'agit de la quantité de milligrammes de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans 1 g d'huile essentielle. L'augmentation de la teneur en acides libres des corps gras au fil du temps rend l'indice d'acide utile pour évaluer leur niveau de détérioration **[61].**

II.6.2.4. Indice ester Ie

C'est la quantité de mg de KOH nécessaire pour neutraliser les acides générés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle. L'hydrolyse des esters contenus dans l'huile essentielle se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution EtOH titrée de KOH et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution titrée d'HCl **[62].**

II.7.Méthodes de caractérisation chimique

II.7.1.Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

La chromatographie constitue une méthode particulièrement efficace pour séparer diverses espèces chimiques d'un mélange complexe, ainsi que pour identifier et quantifier les espèces isolées. Le principe fondamental de toutes les méthodes chromatographiques est identique : chaque espèce se répartit différemment des autres entre deux phases, l'une stationnaire, qui peut être un solide ou un liquide greffé sur un support solide, et l'autre mobile, qui peut être gazeuse ou liquide.

La méthode de chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la plus largement utilisée pour l'identification de la composition chimique des huiles essentielles. La chromatographie en phase gazeuse capillaire à haute résolution, grâce à ses phases stationnaires spécifiques, constitue un atout majeur pour résoudre les défis liés à la séparation des composés volatils

présents dans les huiles essentielles[46] , La solution est injectée à l'aide d'une seringue, que ce soit manuellement ou à l'aide d'un injecteur automatique, permettant ainsi d'assurer une meilleure reproductibilité. La température de la chambre d'injection est établie pour garantir que la vaporisation de l'échantillon se réalise aussi rapidement que possible. Le type de colonne et la polarité de la phase stationnaire déterminent la séparation des composés. Une fois le type de colonne approprié et un programme de température adéquat sélectionnés, la détection des composés éludés s'effectue à l'aide d'un détecteur FID (flamme ionisation détector - détecteur à ionisation de flamme). Dans le cas des huiles essentielles, le FID est le détecteur le plus cité dans la littérature **[63].**

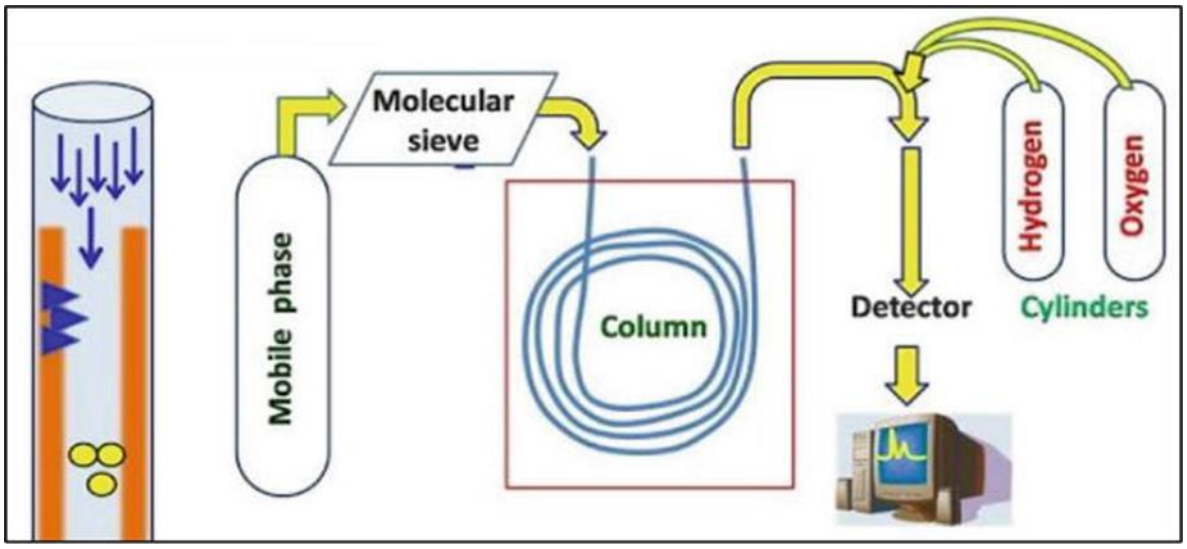


Figure II.7. Appareil de la CPG [**64].**

II.7.2.Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (GC/SM)

La chromatographie en phase gazeuse, en combinaison avec la spectrométrie de masse, représente une méthode d'analyse qui intègre la séparation et l'identification pour permettre l'identification et/ou la quantification précise de nombreuses substances. La technique repose sur la séparation des composants à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et leur identification par spectrométrie de masse.

Les spectres de masse recueillis sont ensuite comparés à ceux des produits de référence présents dans les bibliothèques informatisées, qu'elles soient commerciales (NIST/EPA/NI Mass Spectral Library, Wiley Registry of Mass Spectral Data contenant plusieurs milliers de spectres, Konig-Joulain, intitulée « Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils » contenant plus de 1200 composés) ou identifiées au sein du laboratoire. La bibliothèque appelée « Arômes » renferme environ 500 spectres de composés majoritairement terpéniques

[58].Plusieurs spectres de masse expérimentaux peuvent également être mis en comparaison avec des spectres contenus dans des bibliothèques non informatisées. Ces spectres correspondent à des constituants de l'huile essentielle qui ne sont pas répertoriés dans les bibliothèques de référence et qui n'ont pas été décrits dans la littérature. Il est donc essentiel de procéder à leur purification via la distillation fractionnée ou par des méthodes chromatographiques préparatoires telles que la chromatographie sur couche mince, la chromatographie liquide sur colonne ouverte, la chromatographie liquide à haute performanceHPLC ou encore la chromatographie en phase gazeuse préparatoire. Afin d'atteindre l'identification structurale on utilise les techniques spectroscopiques suivantes : Résonance Magnétique Nucléaire du proton et du carbone-13, SM, IRTF**,… [53].**

II.7.3 .Spectroscopie Infra- Rouge FTIR

Les spectres d'absorption ont été mesurés dans la gamme 1 000-4 000 cm^{-1} à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (technique FTIR), modèle FTIR 640, fabriqué par JASCO. Cette technique de mesure présente l'avantage d'offrir un rapport signal/bruit particulièrement favorable. De ce fait, le temps nécessaire à la mesure d'un spectre complet est réduit. La grande rapidité de mesure (moins d'une seconde) permet d'effectuer des mesures répétées (l'appareil a été réglé pour 64 mesures consécutives), puis de calculer la moyenne pour chaque valeur du nombre d'onde (opération « acquisition des spectres »). Grâce aux mesures de 64 spectres, le rapport signal/bruit a été multiplié par 8. Les échantillons d'huile essentielle et l'huile essentielle utilisée comme référence ont été comprimés sous forme de film mince (environ 20 μm) entre deux lames de cristal de fluorure de calcium (transparentes entre 1000 et 4000 cm^{-1}) et intercalés dans le trajet optique de la source de rayonnement à émission infrarouge. Le fonctionnement du spectrophotomètre à transformée de Fourier repose sur l'interférence lumineuse et une transformation mathématique (transformée de Fourier) du signal du détecteur, opération à l'issue de laquelle on obtient le spectre d'absorption de l'échantillon et du matériau de référence [**66].**

II.8.Les Activités Biologiques

II.8.1.Activités antioxydantes

L'étude de nouveaux antioxydants provenant de matières végétales a connu une attention significative au cours des dernières décennies. Les antioxydants synthétiques, employés dans les domaines agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique, sont suspectés d'entraîner des effets tératogènes, mutagènes et cancérigènes à long terme.

Plusieurs limites et restrictions ont été mises en place concernant leur utilisation, leur substitution par des antioxydants naturels s'avère primordial **[52].**

Les antioxydants sont définis comme étant des substances capables de protéger l'organisme contre les effets de stress oxydatif.

Il existe trois types d'antioxydants : les antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques. Les huiles essentielles sont considérées comme des substances naturelles agissant en tant qu'antioxydants non enzymatiques.

L'activité antioxydante peut être classée en deux catégories : primaire et préventive. Cette dernière a la capacité de ralentir l'oxydation par des mécanismes indirects, notamment en réduisant la concentration d'oxygène.

Cependant, les antioxydants à action directe sont capables de transférer des électrons à l'oxygène radicalaire, ce qui permet de le neutraliser et d'éviter la dégradation des structures biologiques. Ils peuvent agir en tant qu'agents réducteurs, en passant leurs électrons aux ROS espèces réactives de l'oxygène et en les éliminant.

Plusieurs études ont indiqué que certaines huiles essentielles sont plus performantes que les antioxydants synthétiques.

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles et des extraits de plantes sont principalement dues à la présence de groupes hydroxyles dans leur structure chimique.

On conclusion la composition chimique des huiles essentielles est directement responsable sur les activités biologiques [**53].**

II.8.2 .Activités antibactériennes

Les propriétés antibactériennes des plantes aromatiques et médicinales sont reconnues depuis l'Antiquité. Ces caractéristiques résultent de la proportion d'huiles essentielles présentes dans les plantes. Les huiles essentielles ayant fait l'objet des recherches les plus approfondies concernant leurs propriétés antibactériennes proviennent principalement des Labiatae : l'origan, le thym, la sauge, le romarin et le clou de girofle sont autant de plantes aromatiques couramment utilisées en tant qu'ingrédients alimentaires.

Les huiles essentielles issues de ces espèces végétales possèdent toutes une caractéristique commune : une richesse en composés phénoliques, notamment l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces trois composés possèdent une forte activité antibactérienne contre un large

spectre de bactéries : Escherichia coli, Bacillus cereus, Listeria monocytogene, Salmonella enterica, Clostridium jejuni, Lactobacillus sake, Satphylococcus aureus et Helicobacter pyroli.

Le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. En raison de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire **[52].**Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur les microorganismes :

- Effet bactéricide (bactéricidie) : exerçant une activité mortelle

- Effet bactériostatique (bactériostase) : entraînant une inhibition de la croissance **[53].**

D'une manière générale, leur action se deroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bacterienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'interieur de la cellule, bloquant la production de l'energie cellulaire et la synthèse des composants de structure
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie **[52].**

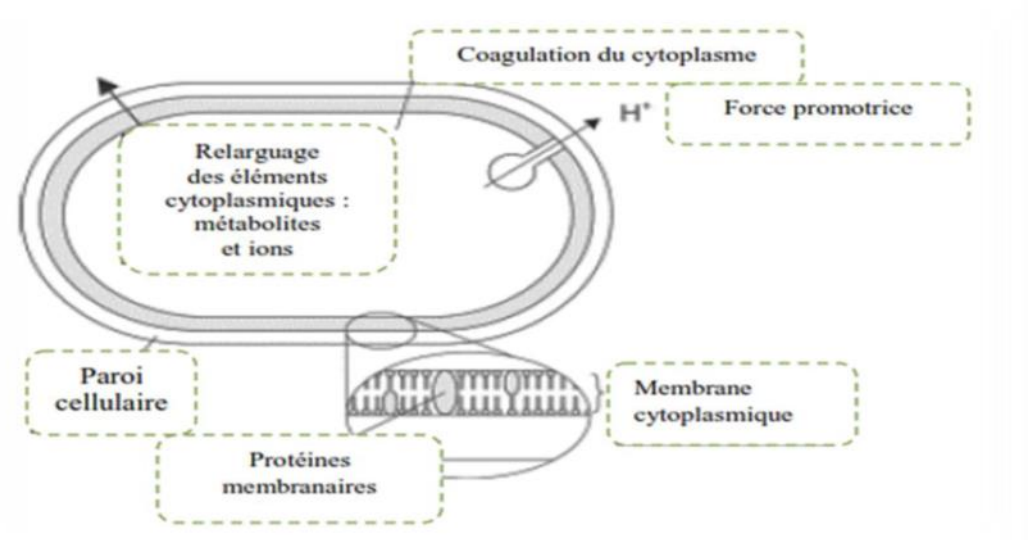


Figure II.8. Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne **[53].**

II.8.3.Activité antifongique

Les infections fongiques représentent un enjeu majeur dans le contexte actuel .en effet, leur développement est largement facilité par une utilisation abusive et parfois trop légère des antibiotiques. Ici les groupes moléculaires cités en priorité pour leurs actions antibactériennes Elles sont également active sur les champignons. Néanmoins, la durée de ce type de traitement pendant une période plus longue que pour le traitement antibactérien.

Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Palmarosa, de Clou de girofle et de Niaouli sont des antifongiques **[53].**

Le pouvoir antifongique est attribué aussi à la présence de certains groupements fonctionnels chimiques dans la composition des huiles essentielle **[52].**Plusieurs travaux montrent que le pouvoir inhibiteur était essentiellement dû à la réactivité de la fonction aldéhyde avec le groupement thiol des acides aminés impliqués dans la division cellulaire.

D'autres chercheurs ont prouvé 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 se traduit par un déséquilibre dans les échanges avec le milieu extérieur. Ce déséquilibre entraîne la destruction cellulaire. Cependant, les composés phénoliques présentent une activité antifongique supérieure à celle des aldéhydes testés.

II.8.4.Activité anti-inflammatoire

Le processus inflammatoire est intégré au système de protection de l'organisme humain contre les agents pathogènes et est essentiel à la régénération des tissus blessés. Les cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-6 et le facteur de nécrose tumorale peuvent endommager les tissus sains lorsqu'elles déclenchent une inflammation n'importe où dans le corps humain. Une production excessive de ces cytokines pro-inflammatoires peut évoluer vers de nombreuses maladies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite rhumatoïde, l'asthme et l'athérosclérose. Les médicaments anti-inflammatoires réduisent la production de ces cytokines pro-inflammatoires et soulagent ainsi les symptômes de l'inflammation **[67].**

II.8.5.Activité antidiabétique

Le diabète sucré représente un ensemble de maladies métaboliques caractérisées par une hyperglycémie, due à des anomalies dans la sécrétion d'insuline, l'action de l'insuline, ou les deux. La présence d'hyperglycémie chronique dans le cadre du diabète est associée à des lésions durables, à des dysfonctionnements et à une défaillance de divers organes, en particulier ceux

des yeux, des reins, des nerfs, du cœur et du système vasculaire. Il existe trois principaux types de diabète : le diabète de type 1, le diabète de type 2 et le diabète gestationnel [**68].**

Les personnes atteintes d'une faible tolérance au glucose ou de diabète ont souvent des taux de glycémie postprandiale élevés pendant de longues périodes.

L'α-amylase est responsable de la dégradation des hydrates de carbone au niveau de l'intestin gré1e. Cette dégradation permet l'absorption du glucose et fait augmenter la glycémie. De ce fait, l'inhibition de cette enzyme permette une limitation de l'augmentation de la glycémie postprandiale **[69].**

II.9. Toxicité des huiles essentielles

Bien que les huiles essentielles soient des substances naturelles, cela ne signifie pas qu'elles soient sans danger pour la santé humaine. Il est donc essentiel de bien connaître le produit, de le sélectionner selon des critères qualitatifs stricts, de respecter avec précision les doses et de choisir le mode d'administration approprié, afin de prévenir l'apparition d'effets indésirables et d'interactions avec d'autres médicaments.

Ainsi, les huiles essentielles peuvent s'avérer allergisants, photosensibilisants, cytotoxiques, irritants, néphrotoxiques, hépatotoxiques, neurotoxiques…

On distingue les toxicités suivantes :

II.9.1. Toxicité par voie orale

La plupart des huiles essentielles fréquemment utilisées affichent une faible toxicité par voie orale, avec des doses létales à 50% dépassant 5 g/kg. Cependant, la Sarriette et l'Origan affichent une toxicité significative d'environ 1,4 g/kg, tandis que les huiles essentielles les plus toxiques incluent celles de Boldo, de Chénopode, de Thuya, ainsi que l'essence de moutarde [63].L'eugénol, un des composants du thym, peut s'avérer une toxicité hépatique et, à des doses élevées (10 ml), provoquer une insuffisance rénale chez l'enfant **[71].**

II.9.2.Toxicité dermique

L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie ou en cosmétique, lorsqu'appliquées localement sur la peau, peut entraîner des irritations, des allergies, voire une photosensibilisation. L'huile essentielle de Thym, d'Origan et de Sarriette est reconnue pour ses propriétés irritantes et agressives, tandis que les essences d'agrumes peuvent provoquer des réactions épidermiques photosensibilisantes après une exposition au soleil **[72].**

II.9.3.Cytotoxicité

Certaines huiles essentielles peuvent exercer une cytotoxicité sur les cellules animales et humaines. En effet, il a été démontré que les huiles essentielles d'Origan, de différentes variétés, présentent une forte cytotoxicité sur des cellules humaines cancéreuses **[73].**

Il a également été établi que les huiles essentielles de Thym et de Lavande exercent une cytotoxicité sur des cellules animales (hamster), selon la phase d'interaction (phase liquide ou gazeuse) **[75].**

II.9.4. Neurotoxicité

Quelques huiles essentielles peuvent induire des convulsions et provoquer des avortements en raison d'une utilisation prolongée. C'est le cas des huiles essentielles à thuyones qui sont neurotoxiques [**75]. [72].**

PARTIE EXPERIMENTALE

III. Matériels Et Méthodes :

Ce travail à été réalisé au sein de laboratoire des plantes médicinales et sciences biologique de l'université se Yahia Farés De Médéa.

Notre étude se concentré sur trois aspects principaux :

•détermination des rendements en huile essentielle de plusieurs échantillons de différentes espèces d'*Eucalyptus*.

•caractérisation de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*

•évaluation des activités biologiques : antimicrobienne, antioxydant, anti-inflammatoire et antidiabétique.

III.1. Matériels utilisés :

III.1.1. Matériels végétaux :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des feuilles de trois espèces d'Eucalyptus. Parmi ces espèces, une seule a été identifiée comme étant Eucalyptus camaldulensis à fleurs blanches, tandis que les deux autres espèces n'ont pas pu être déterminées avec précision quant à leur variété.

La récolte et l'identification des espèces ont été réalisées par le Pr. Kairaouani (directeur de laboratoire). Les feuilles ont été récoltées puis lavées soigneusement à l'eau afin d'éliminer les impuretés et les poussières. Elles ont ensuite été séchées à l'air libre pendant une durée de 3 à 4 jours, à l'abri de l'humidité.

Après séchage, les feuilles ont été conservées dans des sachets propres jusqu'à leur utilisation. Par la suite, les feuilles séchées ont été fragmentées manuellement en petits morceaux au niveau du laboratoire des plantes médicinales et des sciences biologiques. Le broyage manuel des feuilles a été effectué le même jour que le lancement de l'extraction des huiles essentielles afin de préserver au maximum les composés volatiles.



Figure III.1.les feuilles des espèces d'Eucalyptus (E1, E2, EC.FB-Blida).

III.2. Extraction de l'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus a été réalisé par la technique d'hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger. Une quantité de **50 g** de feuilles sèches a été introduit dans un ballon contenant **500 ml** d'eau distillée, L'opération d'extraction est réalisée en trois heures à partir du début d'ébullition **3h .**

L'huile essentielle obtenus a été récupérée après l'élimination des gouttes d'eaux, puis conservée dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière, enveloppé de papier d'aluminium, à une température de 5°C, jusqu'à son usage pour éviter toute éventuelle dégradation.



Figure III.2. Extraction des HEs d'Eucalyptus par deux montages de Clevenger.

III.3. Calcul des rendements en huile essentielle :

Le rendement est le rapport de la quantité d'huile recueillie après distillation sur la quantité de la biomasse, exprimée en pourcentage. Le rendement d'huile essentielle a été calculé selon la formule suivante :

R%: Rendement en huile essentielle

$$R(\%) = (M/M0) \times 100$$

M : Masse d'HE récupéré en gramme

M0 : Masse de matière végétale à traiter en gramme

III.4.Caractérisation des huiles essentielles :

III.4.1. Caractéristiques physico-chimiques :

III.4.1.1. L'indice d'acide :

L'indice d'acide d'une huile est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium alcoolique nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un (1) gramme (g) de matière grasse.

• Mode opératoire :

À 0,2 g d'huile essentielle dissoute dans 2 ml d'éthanol, on ajoute 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. La solution ainsi formée est titrée par une solution de KOH (0,01 N) dans l'éthanol jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle (AFNOR, 2000).nous mettons ensuite le volume de la solution de KOH utilisé. Le résultat est exprimé en mg de KOH par g d'huile. L'indice d'acide est calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{Ia} = \boldsymbol{[(V*N*56.11) / m]}$$

Où :

- **N** : normalité de la solution de KOH.

- **V** : volume de KOH utilisé pour le titrage (en **ml**).

- **m** : masse de la prise d'essai en **g**.

- **56.11** : masse molaire de KOH.

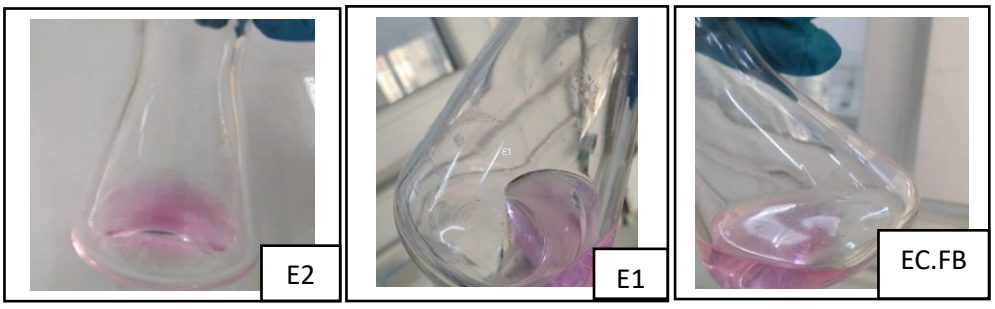


Figure III. 3. Couleurs des H.Es après le Titrage.

III.4.1.2. Indice de Saponification :

Il correspond au nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour saponifier les acides gras contenus dans un gramme de matière grasse.

- **Mode opératoire**

On introduit dans une fiole une prise d'essai de 0,2g d'huile essentielle. Puis, on ajoute 12.5 ml de potasse alcoolique (0,5 N). Ensuite, on porte le mélange à ébullition pendant 1 h. Après, on ajoute 3 gouttes de phénolphtaléine. La solution savonneuse est titrée avec l'acide chlorhydrique (0,5 N) jusqu'à l'obtention d'une décoloration. Un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions.

Il est calculé à partir de la formule suivante (ISO, 1977) :

$$Is= [(Vb-Ve)*N*56.11]/m$$

Vb : volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique dans le test blanc

Ve : volume d'HCl utilisé pour le titrage en (ml)

m: masse en grammes de prise d'essai

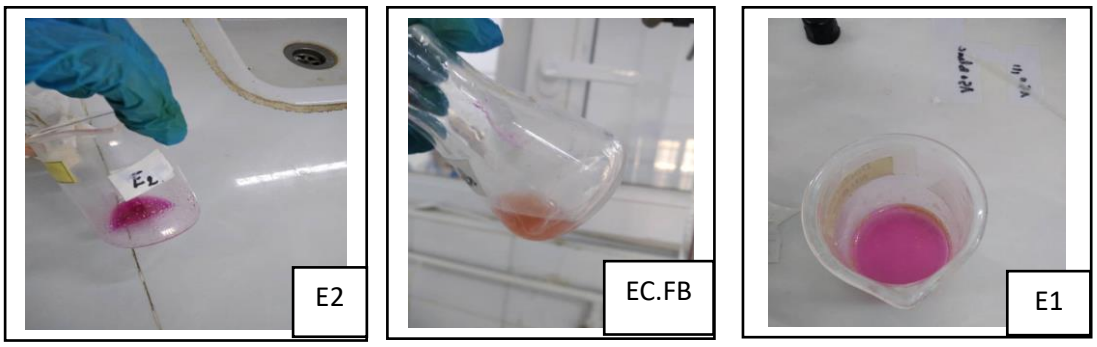


Figure III.4. Couleur avant titrage.

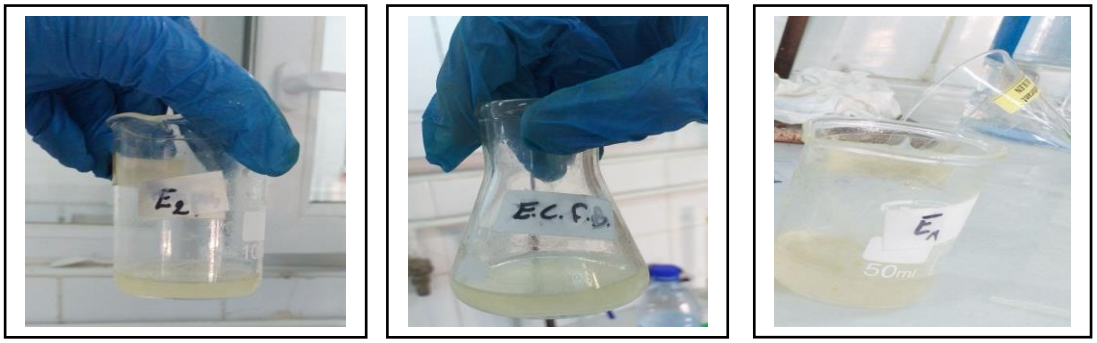


Figure III.5. Couleur après titrage (décoloration).

III.4.1.3. Indice d'ester :

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des esters contenus dans un gramme d'huile essentielle.

- **Mode opératoire**

Dans un ballon, on introduit 0,5 g d'huile essentielle. À l'aide d'une burette, on ajoute 25 ml d'une solution d'hydroxyde de potassium (0,5 N), ainsi que quelques billes en verre. On adapte un tube en verre ou un réfrigérant et on place le ballon sur le bain d'eau bouillante et on le laisse pendant 1 h. Après refroidissement de la solution, on ajoute 20 ml d'eau distillée puis 5 gouttes de solution de phénolphtaléine comme indicateur. On titre l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique. Parallèlement, un essai à blanc est réalisé dans les mêmes conditions opératoires.

Compte tenu de l'insuffisance de la quantité des HE étudiées, la détermination expérimentale de l'indice d'ester n'a pas pu être réalisée. Par conséquent, cet indice a été calculé à partir de l'indice de saponification et de l'indice d'acide selon la formule suivante (ISO 709:2001)

$$I_e = I_s - I_a$$

IE : Indice d'ester

IA : valeur d'indice d'acide

III.4.1.3. Indice de réfraction :

Il s'agit du rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

- **Mode opératoire :**

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 du réfractomètre et on attend la stabilisation de la température. Puis, on effectue les mesures.

Il est calculé à partir de la formule suivante **[62]:**

$$n_d^t = n_d^{t'} + 0{,}0004\ (t' - t)$$

n_d^t: Indice de réfraction de référence

$n_d^{t'}$: Indice de réfraction mesuré

t : température de référence qui est à 20 °C

t' : température au moment de la détermination (26°C)



Figure III. 6.. Réfractomètre.

III.4.2. Analyse Spectroscopique

III.4.2. 1.Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :

On utilise le spectre infrarouge IR pour identifier les espèces présentes dans un échantillon. Le spectre est constitué de bandes que l'on appelle bandes d'absorption. L'échantillon est traversé par une lumière complexe et on détermine quelle radiation manque à la sortie, c'est-à-dire quelles fréquences ont été sélectivement absorbées par l'échantillon.

L'absorption de transition infrarouge IR d'une certaine longueur d'onde indique la présence d'un groupe donné d'atomes dans une molécule de structure inconnue. Cette absorption est caractéristique des liaisons chimiques et physico-chimiques des produits considéré.

Dans l'IR l'observation d'une bande d'absorption à une longueur d'onde spécifique provoque l'identité d'une liaison ou d'un groupe de liaison particulière dans une molécule **[76].**

Mode opératoire :

L'équipement a été calibré, après le nettoyage de la zone de dépôt par le Chloroforme afin d'éliminer les traces de l'échantillon précédent :

- On verse dans le cristal une goutte d'huile essentielle ;

- On introduit le cristal dans l'appareil pour l'analyse qui se fait en mode transmission.

- Le test est piloté par ordinateur pour permettre l'analyse statistique des données spectrales.

III.5.Evaluation des Activités biologique :

III.5. 1. Activité antioxydante :

III.5.1.1. Méthode de DPPH :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Le test de DPPH a été utilisé au cours de notre étude. Le principe de la méthode est basé sur la mesure en spectrophotométrie du changement de couleur (du violet vers le jaune) du radical DPPH• en présence de molécules antioxydantes.

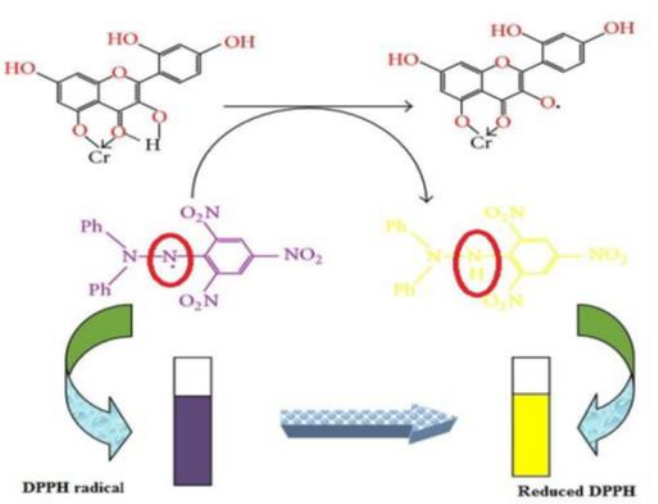


Figure III.7. La forme réduite DPPH et la forme radical DPPH **[46].**

- **Mode opératoire :**

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de méthanol. L'huile essentielle a été préparée par dissolution dans le méthanol absolu. Le test s'effectue en mélangeant 1800µl de la solution précédente de DPPH avec 200 µl de l'huile à tester à différentes concentrations (3.906 à 500) mg/ml. Après agitation par un vortex, le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 30 min et la densité optique a été mesurée avec un spectrophotomètre UV-Visible (spectrophotomètre) à 517 nm.

Un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 200 µl de méthanol avec 1800µl de la solution de DPPH.et le contrôle positif est (Acide ascorbique) a été aussi préparé selon la même méthode avec des mêmes concentrations pour la comparaison. Tous les essais ont été effectués en triple, La capacité antioxydante a été exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH à l'aide de la formule :

$$I\ \% = [(\text{Abs } \textit{control négatif} - \text{Abs } \textit{échantillon}) / (\text{Abs } \textit{control négatif})] \times 100$$

Où :

Abs control négatif : est l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sans le produit à tester).

Abs échantillon : est l'absorbance du test.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'IC50 correspondant à la concentration d'huile nécessaire pour réduire de 50 % l'activité du radical DPPH. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence.

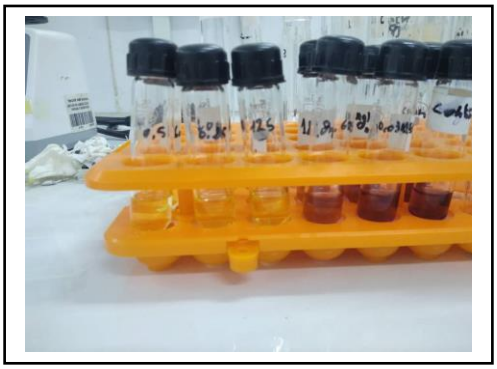


Figure III.8. Activité anti-oxydante de l'Acide ascorbique.

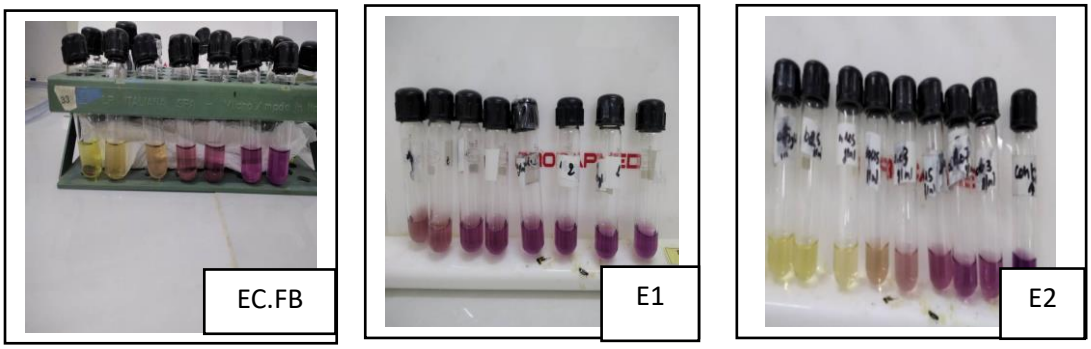


Figure III.9. L'activité anti-oxydante des HEs d'Eucalyptus.

III.5.2. Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus a été réalisée au niveau du laboratoire des plantes médicinales et des sciences biologiques (Université de Yahia Fares de Médéa). Une bactérie Gram positive ont été testé, *Staphylococcus aureus* et deux bactéries Gram négative *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027).

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est réalisée par deux méthodes : l'un c'est la méthode de diffusion sur disques en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries et autre c'est la méthode des puits (méthode de diffusion en gélose).

III.5.2.1. Préparation des milieux de culture

Le milieu Mueller-Hinton a été préparé selon les recommandations du fabricant. 39 g de poudre ont été dissous dans 1l d'eau distillée sous agitation. Le mélange a été porté à ébullition jusqu'à dissolution complète du milieu. Le **pH** du milieu a été ajusté à **7,3 ± 0,1** si nécessaire. Le milieu obtenu a ensuite été réparti dans des flacons puis stérilisé à l'autoclave à **121 °C** sous une pression de **15 psi** pendant **15 minutes**. Après stérilisation, le milieu a été laissé refroidir à une température de **45–50 °C,** puis a été coulée dans des boites de Pétri stériles de **90 mm** de diamètre jusqu'à une épaisseur de **4 mm** répartie uniformément dans les boites.

III.5.2.2. Préparation des dilutions des HEs :

- **Préparation des dilutions des Huile essentielle pour la méthode des puits :**

Pour la méthode de diffusion en puits, la solution d'huile essentielle a été préparée en mélangeant **100 µl** d'huile essentielle avec **200 µl** de **DMSO** (diméthylsulfoxyde) stérile afin d'assurer une bonne solubilisation. Le mélange a été homogénéisé à l'aide d'un vortex avant utilisation.

La solution obtenue a ensuite été utilisée directement pour les essais d'activité antimicrobienne par diffusion en puits.

- **Préparation des solutions d'Huile essentielle pour la méthode de diffusion par disque :**

Pour la méthode de diffusion par disque, une solution mère d'huile essentielle a été préparée à une concentration de **100 mg/ml**. Une quantité de **100 mg** d'huile essentielle a été dissoute dans **1 ml** de **DMSO**.

La solution a été homogénéisée par agitation douce puis utilisée pour imprégner les disques stériles destinés aux tests d'activité antimicrobienne.

III.5.2.3. Préparation de l'inoculum :

Chaque souche bactérienne a été ensemencée en stries sur des boites de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) et incubée pendant 18 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies bien isolées. Après les 18 heures et à partir de ces boites, À l'aide d'une anse de platine stérile, on a prélevé quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et les transférer dans un tube contenant 5 ml d'une solution d'eau physiologique stérile à 0,9 % de sel (NaCl).

La suspension bactérienne a été homogénéisée à l'aide d'un vortex afin d'obtenir une suspension uniforme. La densité de l'inoculum a ensuite été ajustée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

III.5.2.4. L'ensemencement, dépôt des disques / diffusion en puits :

Dans les 15 minutes qui suivent l'ajustement de la densité de la suspension bactérienne ou l'inoculum, on a trempé un écouvillon dans la suspension et on a étalé toute la surface de la gélose (Mueller Hinton) à trois répétitions en tournant la boite à chaque fois avec 60°, et enfin, on a écouvillonné partout autour du bord de la surface de la gélose. Le but de chaque application est d'avoir une distribution uniforme de l'inoculum.

- **La méthode de diffusion par disque :**

Des disques de papier stériles ont été imprégnés avec la solution d'Huile essentielle préparée à la concentration de **100 mg/ml**, puis déposés délicatement à la surface du milieu ensemencé à l'aide d'une pince stérile. Chaque essai a été réalisé en triple (trois répétitions) .une légère pression a été exercée sur chaque disque afin d'assurer un contact complet avec la surface du milieu. Pour chaque boîte, un disque imprégné uniquement de **DMSO** a été utilisé comme contrôle négatif.

- **La méthode de diffusion sur puits :**

Une quantité de 10 µl e la solution d'huile essentielle préparée (100 µl d'HE mélangé à 200 µl de DMSO) a été déposée dans chaque puits à l'aide d'une micropipette stérile. Chaque essai a été réalisé en triple. Un puits contenant uniquement 10 µl DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

III.5.2.5. Incubation et expression des résultats

Les boites de Pétri sont incubées à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition autour des disques est mesuré à l'aide d'une règle et exprimée en mm.

L'interprétation des résultats se fait selon l'échelle de **[77].**

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

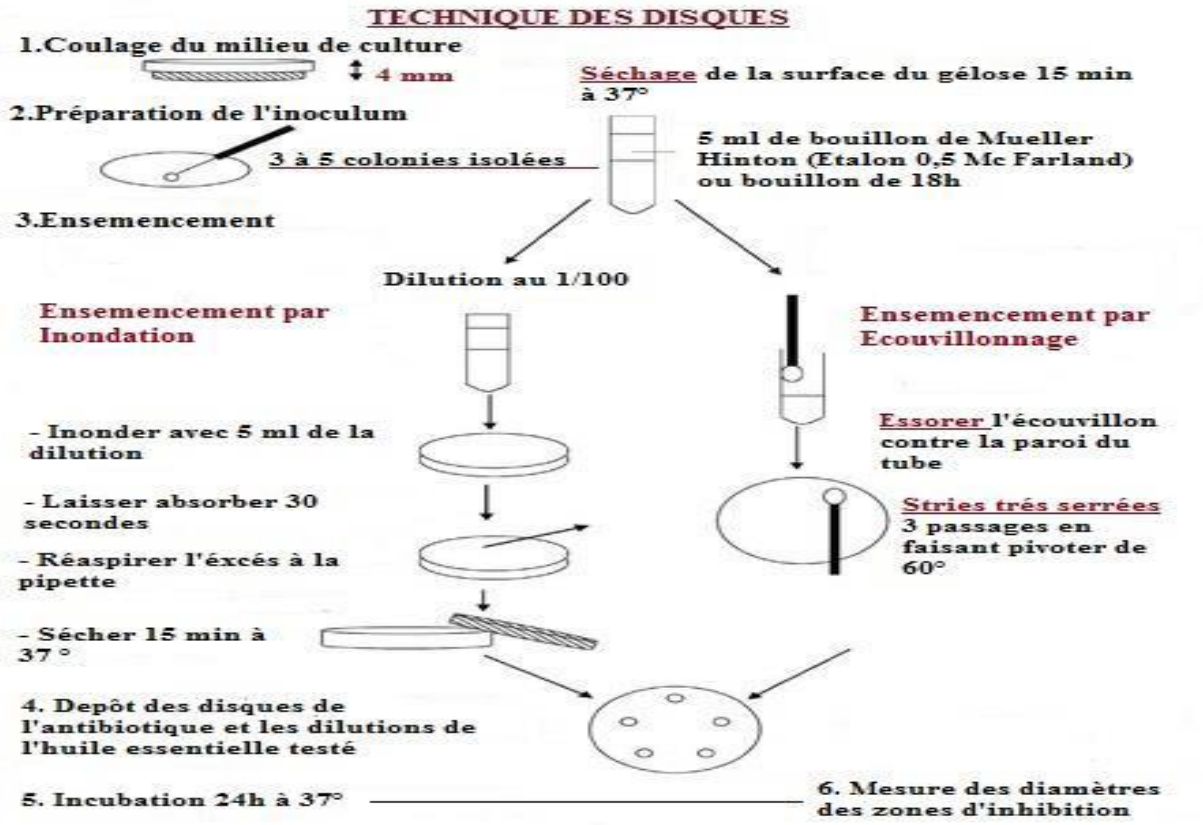


Figure III.10. Technique de diffusion sur gélose par la technique des disques [46].

III.5. 3. Activité antifongique

L'activité antifongique des Huile essentielle d'Eucalyptus a été évaluée contre la levure *Candida albicans* (ATCC 10231) par les méthodes de diffusion sur disque et de diffusion en puits sur le milieu PDA.

En ce qui concerne les champignons, les mêmes étapes à celles de l'activité antibactérienne, L'inoculum de *Candida albicans* a été préparé à partir de colonies jeunes à base de milieu de culture **PDA**.

- **Méthode de diffusion par disque**

Des disques de papier stériles ont été imprégnés avec la solution d'huile essentielle préparée à la concentration de 100 mg/ml puis déposés sous la zone stérile à la surface des boîtes ensemencées à l'aide d'une pince pasteur stérile. Chaque essai a été réalisé en triple.

L'inoculum se présente sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique de cellules fongiques .Un disque imprégné uniquement de DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

L'incubation a été réalisée à température ambiante pendant 24heurs à trois jours pour la levure (*Candida albicans*). La température d'incubation est de 37 °C.

- **Méthode de diffusion en puits**

Des puits de diamètre uniforme ont été réalisés aseptiquement dans la gélose à l'aide d'un emporte-pièce stérile. Ensuite, 100 µL de la solution d'huile essentielle préparée avec 200 µL de DMSO ont été déposés dans chaque puits à l'aide d'une micropipette stérile. Un puits contenant uniquement le DMSO a été utilisé comme contrôle négatif.

Les boîtes ont été incubées en position inversée à 37 °C pendant 24heures à 3 jours.

La croissance mycélienne a été évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques et des puits, exprimés en millimètres.

III.5. 4. Activité antidiabétique :

III.5.4.1. préparation de solution Tampon phosphate

Dans un premier temps, 17 g de phosphate dipotassique (K_2HPO_4) ont été dissous dans 500 ml d'eau distillée afin d'obtenir la première solution. Parallèlement, 13 g de phosphate monopotassique (KH_2PO_4) ont été dissous dans 500 ml d'eau distillée pour préparer la seconde solution.

Les deux solutions ont été homogénéisées par agitation jusqu'à dissolution complète des sels. Ensuite, 30 ml de la solution de K_2HPO_4 ont été ajoutés délicatement à 60 ml de la solution de KH_2PO_4 sous agitation continue afin d'obtenir une solution tampon (0.2 mol/l) de pH 6,9. Le pH a été vérifié et ajusté à l'aide d'un pH-mètre.

Par la suite, une dilution au 1/10 de la solution tampon a été réalisée en prélevant 100 ml de la solution tampon préparée, puis en ajoutant 900 ml d'eau distillée. La solution obtenue a été homogénéisée et conservée au réfrigérateur jusqu'à son utilisation dans les essais d'activité antidiabétique.

III.5.4.2. Réactif 3,5-dinitrosalicylique (DNS)

Dans un erlenmeyer, 30g de tartrate double de sodium et potassium dissout dans 50ml d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à dissolution complète.

Parallèlement, 2,25 g d'hydroxyde de potassium (KOH) ont été dissous dans 20 ml d'eau distillée. Après dissolution complète, 1 g d'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS) a été ajouté progressivement à la solution alcaline sous agitation continue jusqu'à obtention d'une solution homogène et de couleur jaune opaque.

La solution obtenue a ensuite été incorporée lentement à la solution de tartrate double de sodium et de potassium sous agitation continue. Le volume final a été ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée. Le réactif préparé a été conservé dans un flacon opaque à 4C° et à l'abri de la lumière.

III.5.4.3.Préparation du substrat d'Amidon

Le substrat utilisé est l'amidon soluble de pomme de terre (Merk). La concentration de l'amidon préparé dans la solution tampon phosphate (0.2M, pH 6.9) afin de réaliser le test sur l'α-amylase. Une quantité de 1,5 g d'amidon a été dissoute dans 30 ml de solution tampon phosphate préalablement préparée. Le mélange a été chauffé à 100 °C sous agitation jusqu'à obtention d'une solution limpide et homogène, indiquant la dissolution complète de l'amidon.

Après refroidissement à température ambiante, le volume final a été ajusté à 300 ml par la solution tampon phosphate. La solution obtenue a ensuite été homogénéisée puis utilisée dans le milieu réactionnel.

III.5.4.4.Préparation des dilutions des HE d'Eucalyptus :

Différente concentrations des HEs sont préparées dans la solution tampon phosphate (0.2M, pH 6.9) à partir de la solution mère (1mg/ml) afin d'évaluer leur effet sur l'activité enzymatique de l'α-amylase. Les concertations finales utilisées sont : 20,60, 100, 120, 150 et 200g/ml.

III.5.4.5. Dosage des sucres réducteurs par DNSA

Cette méthode est basée sur le pouvoir réducteur des groupements aldéhydes et cétones libre des sucres. En milieu alcalin et à chaud, l'oxydation de ces fonctions provoque simultanément la réduction l'acide 3,5-dinitrosalicylique de couleur jaune orange en acide 3-amino 5-nitrosalicylique de couleur rouge orange qui absorbe à 540 nm.

L'intensité de la coloration varie selon la quantité de sucres réducteurs présents dans le milieu réactionnel.

- **Mode opératoire :**

On prépare une série de tube à essai pour le test de réaction DOB (en présence d'HE), on met un tube de contrôle (DOA, sans HE) et chaque tube a son tube blanc (sans enzyme) ;

- On introduit 500 µl de solution de l'enzyme α-amylase dans tous les tubes puis 400 µl de l'HE (pour chaque concentration) avec l'ajout de 500 µl de solution tampon. Dans les tubes contrôle, les HEs est remplacé par 400 µl de solution tampon ;
- On ajout dans tous les tubes Blanc 500 µl de solution tampon au lieu de 500 µl d'enzyme, le mélange réactionnel incubée à 37°C pendant 5min ;
- Quand le substrat (Amidon) introduit dans les tubes (sauf les tubes du blanc), on démarré le chronomètre ;
- Après 10 min d'incubation à 37°C, on arrête la réaction par 1000 µl de DNSA;
- Les tubes sont agités et placés dans un bain mari bouillant (100°C en même temps pendant 5 min;
- Ils ont immédiatement refroidis à Température ambiante puis on ajoute 10 ml de l'eau distillée dans chaque tube, avec agitation ;

Les densités optiques sont lues contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 540 nm.

L'inhibition d'α-amylase est exprimée par un pourcentage d'inhibition et calcule par l'équation suivant :

$$\mathbf{I\% = [(DOA-DOB)/DOA]*100}$$

DOB : la DO de tube d'échantillon.

DOA : la DO de tube de contrôle.

IV.1. Rendement d'extraction

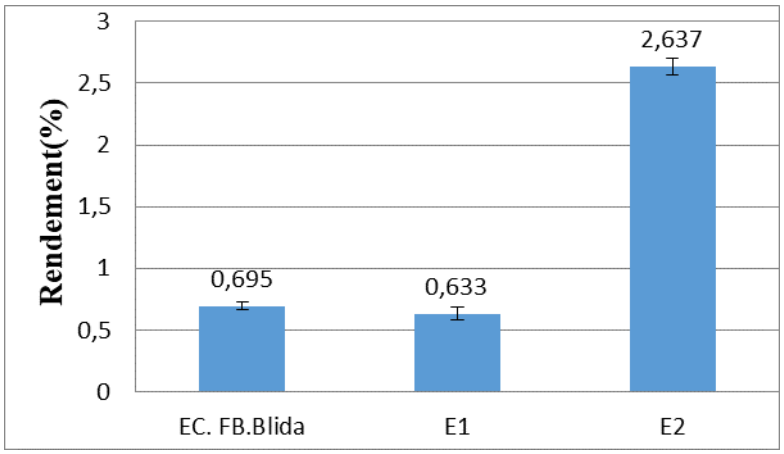
Les extractions des huiles essentielles des différentes espèces d'Eucalyptus ont été réalisées par la méthode d'hydrodistillation. Les rendements d'extraction sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous. Les huiles essentielles obtenues présentent une couleur jaunâtre avec une odeur aromatique forte et persistante caractéristique du genre Eucalyptus.

Les rendements obtenus varient selon les espèces étudiées. L'espèce ***EC.FB.Blida*** a présenté un rendement en huile essentielle de 0,695 % (w/w), tandis que l'espèce E1 a donné un rendement de 0,633 % (w/w). Cependant, l'espèce E2 a affiché le rendement le plus élevé avec une valeur de 2,637 % (w/w). Comparativement aux valeurs publiées pour d'autres espèces, ces résultats confirment que le rendement peut varier fortement entre espèces et entre individus d'une même espèce en fonction des paramètres cités ci-dessous : l'espèce végétale, le moment de la récolte et la méthode d'extraction.

TableauIV.1. Rendements d'extraction des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus.

Espèce	R1(%)	R2(%)	Moyenne(%)
EC.FB.Blida	0,716	0,674	0,695±0,0297
E1	0,594	0,672	0,633±0,0552
E2	2,686	2,588	2,637±0,0693

L'histogramme ci-dessous illustre la variation des rendements d'extraction des huiles essentielles entre les espèces d'Eucalyptus :



FigureIV.1 . Variation des rendements d'extraction des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus.

IV. 2. Analyses physico-chimique et organoleptiques

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques des huiles essentielles constituent des paramètres importants pour l'évaluation de leur qualité, de leur pureté ainsi que de leur conformité aux normes établies. Dans nous étude, les analyses physicochimiques des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus ont été réalisées selon des protocoles expérimentaux précis conformément aux méthodes normalisées recommandées pour l'évaluation des huiles essentielles.

IV.2.1. Caractéristiques organoleptiques

A l'issue des distillations, l'HE obtenue est de couleur jaune avec une odeur prononcée mentholée / citronnée.

Les paramètres organoleptiques de notre HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (norme NF T73-205).

Tableau IV.2. Propriétés organoleptiques des HEs des espèces d'Eucalyptus

Paramètre	AFNOR	EC.FB.Blida	E1	E2
Aspect	**Liquide clair, limpide,**	**Liquide**	**liquide**	**Liquide limpide**
Couleur	**incolore à jaunâtre pâle**	**jaune**	**jaune**	**jaune pâle**
Odeur	**Menthée/citronnée**	**Menthée fort**	**menthée**	**citronnée**

IV.2.2. Caractéristiques physico-chimique

Tableau IV.3. Analyses physico-chimiques des HEs des espèces d'Eucalyptus**.**

Paramètre	EC.FB.Blida	E1	E2	Norme AFNOR
Indice de réfraction	1,623±0,057	1,620±0,085	1,629±0,042	**NF T75-247 (ISO 3044)**
Indice d'acide	14,3085±1,984	41,66±1,389	11,221±0,398	**Norme NFT-60 -2000**
Indice de saponification	126,247±0	56,11±0	98,192±0	
Indice d'ester	110,537±0	14,45 ±0	86,69±0	

L'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donne un indice élevé. Pour certains auteurs, le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière, ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques.

Dans le cas de nos HEs étudiées, les indices mesurés (1,6204–1,6294) sont relativement élevés, indiquant une forte concentration en monoterpènes. L'espèce E2 présente l'indice le plus élevé (1,6294 ± 0,042), avec l'incertitude la plus faible, suggérant une meilleure homogénéité de l'échantillon.les indices élevés suggèrent une forte concentration en monoterpènes, ce qui confirme la richesse de ces huiles essentielles en composés volatils caractéristiques des eucalyptus.

L'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres. Dans notre étude, cet indice, Cet indice, certes variable selon les espèces, demeure relativement élevé pour EC.FB.Blida et surtout pour E1 (41,6616 ± 1,389). Cela peut trouver une explication dans la dégradation de l'HE (hydrolyse des esters) durant sa conservation, ce qui est à terme préjudiciable à la qualité de l'huile.

Par contre, l'espèce E2 présente l'indice d'acide le plus faible (11,2212 ± 0,398), avec l'incertitude la plus basse, témoignant d'une meilleure conservation de l'essence (quantité d'acides libres plus faible).

L’indice d’ester donne une idée sur la teneur en esters de l'huile essentielle. Dans notre étude, les valeurs de l'indice d'ester varient selon les espèces, mais restent relativement élevées pour EC.FB.Blida (110,537±0) et E2 (86,69±0). Ces résultats témoignent d'une forte concentration en esters, caractéristique des huiles essentielles d'eucalyptus de qualité supérieure. Cette abondance en esters contribue significativement à leurs propriétés aromatiques et thérapeutiques.

Par contraste, l'espèce E1 affiche l'indice d'ester le plus bas (14,45 ±0), indiquant une teneur plus faible en esters et révélant une composition chimique distincte, vraisemblablement plus riche en monoterpènes non estérifiés ou en aldéhydes.. La forte variation entre les espèces (de 14,45 à110,537) peut refléter : Des différentes profils chimiques, Des conditions de culture distinctes, La durée de conservation (les esters peuvent s'hydrolyser au cours du temps). EC.FB.Blida est l'espèce présentant la teneur la plus élevée en esters, ce qui pourrait renforcer ses propriétés aromatiques, calmantes et antispasmodiques, tandis que E1 représente un profil chimique plus simple, potentiellement plus riche en monoterpènes volatils.

IV.3. Méthodes d'identification chimique des huiles essentielles

IV.3.1. Spectroscopie Infra- Rouge FTIR

L'analyse par spectroscopie FTIR des huiles essentielles obtenues à partir des espèces d'Eucalyptus (EC.FB, E1 et E2) a révélé plusieurs bandes d'absorption caractéristiques correspondant à différents groupes fonctionnels couramment rencontrés dans les composés terpéniques et oxygénés des huiles essentielles. La spectroscopie infrarouge est considérée comme une méthode analytique fiable pour l'identification des structures moléculaires des constituants volatils grâce à la comparaison avec des spectres de référence standards et des données rapportées dans la littérature.

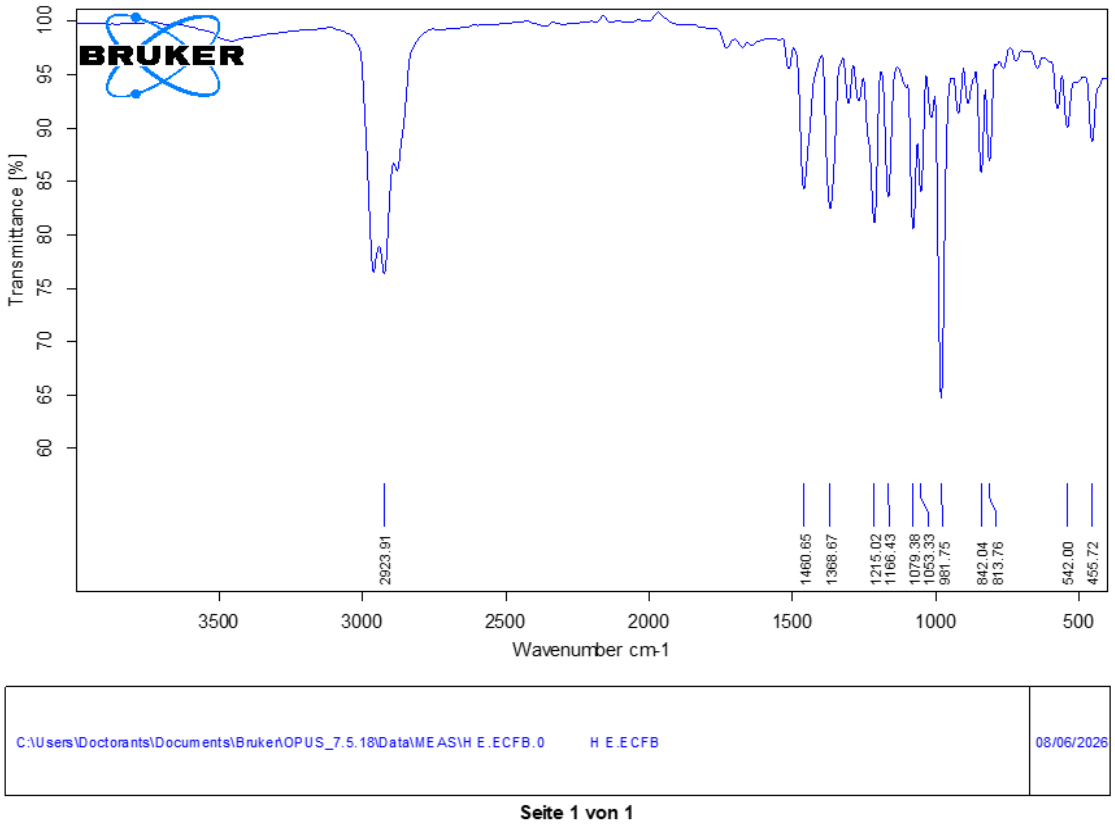


Figure IV.2. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus (EC.FB.Blida)

Le spectre FTIR de l'huile essentielle EC.FB a révélé plusieurs bandes d'absorption caractéristiques.

Le principal pic d'absorption observé à 2923,91 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation asymétrique des liaisons aliphatiques C–H associées aux groupes CH_2 et CH_3 des monoterpènes et sesquiterpènes **[78] , [79].**

Les bandes détectées à 1460,65 cm^{-1} et 1368,67 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations de déformation et de flexion des groupes méthyle et méthylène. Ces absorptions sont

caractéristiques des squelettes terpéniques et indiquent l'abondance des chaînes hydrocarbonées au sein des constituants volatils [**80], [74].**

Les pics d'absorption situés à (1053,33 cm^{-1}- 1215,02 cm^{-1}), correspondent principalement aux vibrations d'élongation C–O des groupes fonctionnels alcool, éther et ester [**72]**. Ces bandes sont généralement associées aux monoterpènes oxygénés, notamment le 1,8-cinéole (eucalyptol), considéré comme le composé majoritaire chez de nombreuses espèces d'Eucalyptus **[75]** . Selon les standards de spectroscopie infrarouge, la région spectrale comprise entre 1000 et 1300 cm^{-1} représente la zone d'empreinte caractéristique des dérivés éthers et alcools [**71], [73].**

Les pics observés à (813,76 cm^{-1} 981,75) cm^{-1}, sont attribués aux vibrations de déformation hors du plan des liaisons oléfiniques =C–H appartenant aux structures alcéniques présentes dans les composés terpéniques [**74],[72]** . Ces bandes confirment la présence d'hydrocarbures insaturés dans la composition de l'huile essentielle.

Le profil FTIR de l'huile essentielle EC.FB indique la présence des monoterpènes et des dérivés oxygénés, couramment retrouvés dans les huiles essentielles d'Eucalyptus [75]. Les résultats obtenus confirment la richesse de cette huile en composés terpéniques possédant des groupes fonctionnels éther, alcool et hydrocarbure.

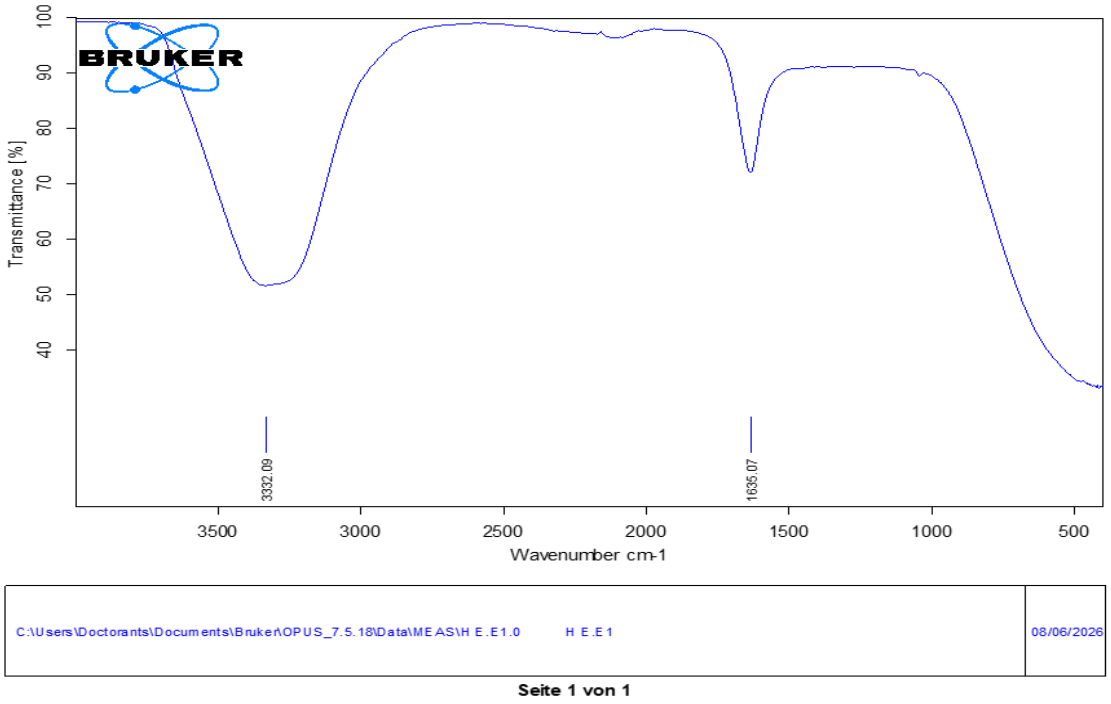


Figure IV.3. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus (E1**)**

Le spectre FTIR de l'huile essentielle E1 a révélé deux principales bandes d'absorption à 3332,09 cm^{-1} et 1635,07 cm^{-1}. La bande large et intense observée autour de 3332 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation O–H des groupes hydroxyles impliqués dans des interactions par liaisons hydrogène [71],[72].L'absorption détectée suggère donc la présence de composés alcooliques associés ou de dérivés phénoliques dans l'huile essentielle E1[73].

Le pic d'absorption situé à 1635,07 cm^{-1} peut être attribué aux vibrations d'élongation C=C des alcènes ou des doubles liaisons conjuguées associées aux structures terpéniques insaturées [71]. Cette bande spectrale est fréquemment rapportée dans les huiles essentielles contenant des monoterpènes et des sesquiterpènes possédant des groupes fonctionnels oléfiniques [75].

Le nombre réduit de pics intenses observés dans le spectre E1 peut indiquer soit une complexité chimique plus faible, soit la prédominance de composés spécifiques possédant des groupes hydroxyles et des fonctions insaturées marquées. Les caractéristiques spectrales suggèrent la présence de composés oxygénés pouvant contribuer aux activités biologiques et antioxydantes de l'huile essentielle.

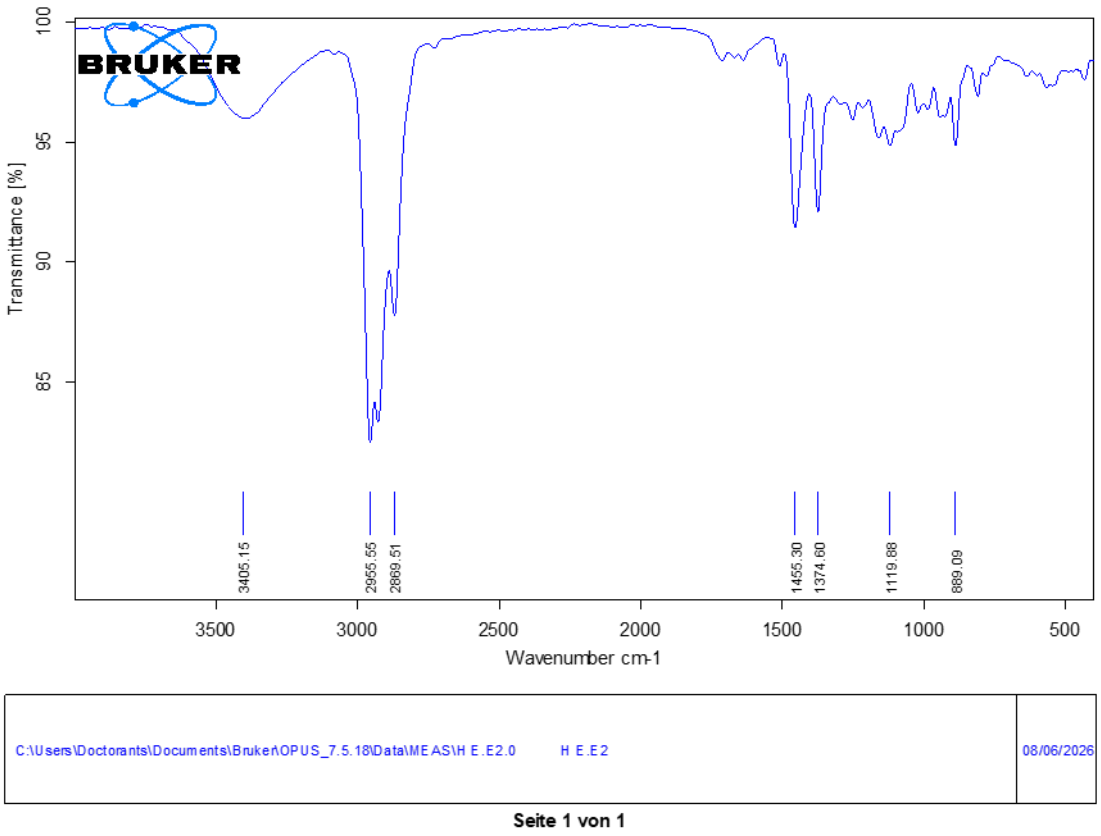


Figure IV.4. Spectre d'absorption de l'huile essentielle d'Eucalyptus **(E2)**

Le spectre FTIR de l'huile essentielle E2 a montré plusieurs bandes d'absorption caractéristiques confirmant la présence d'hydrocarbures terpéniques et de constituants oxygénés. La large bande d'absorption observée à 3405,15 cm^{-1} correspond aux vibrations d'élongation O–H associées aux groupes hydroxyles engagés dans des interactions par liaisons hydrogène [71], [72]. Cette bande indique la présence d'alcools ou de composés phénoliques dans l'huile essentielle [73].

Les pics situés à 2955,55 cm^{-1} et 2869,51 cm^{-1} sont attribués aux vibrations d'élongation asymétrique et symétrique des liaisons aliphatiques C–H des groupes CH_2 et CH_3 [71]. Ces absorptions sont typiques des monoterpènes et sesquiterpènes constituant la fraction volatile des huiles essentielles d'Eucalyptus [75].

Les bandes d'absorption détectées à 1455,30 cm^{-1} et 1374,60 cm^{-1} correspondent aux vibrations de déformation des groupes méthyle et méthylène. De telles bandes sont fréquemment observées dans les huiles essentielles riches en terpènes et confirment la nature hydrocarbonée de plusieurs constituants [74], [72].

Le pic intense observé à 1119,88 cm^{-1} est attribué aux vibrations d'élongation C–O des groupes fonctionnels éther et alcool [73]. Cette région est caractéristique des monoterpènes oxygénés tels que l'eucalyptol et le terpinen-4-ol, couramment identifiés chez les espèces d'Eucalyptus [75]. Le pic d'absorption situé à 889,09 cm^{-1} peut correspondre aux vibrations de déformation hors du plan des groupes oléfiniques =C–H associés aux structures alcéniques [72], [74].

Les groupes fonctionnels détectés sont en accord avec la composition chimique caractéristique généralement rapportée pour les huiles essentielles d'Eucalyptus [75].

IV.4. Activités biologiques

IV.4.1.Activité anti-oxydante

Dans le but de déterminer l'activité antioxydante des fractions obtenues pour l'espèce étudiée, on a utilisé La méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl- I -picrylhydrazyl).

L'essai est basé sur la réduction du DPPH dissout dans du méthanol ce qui cause une diminution de l'absorbance mesurée à 517 nm.

IV.4.1.1. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH*

La capacité de donation des électrons par les huiles essentielles est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique, en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution méthanolique contenant le radical libre DPPH + (1,1-Diphenyl-2 picryhydrazyl) [76].

Tableau IV.4. Activité anti-oxydante par la méthode de DPPH.

Espèce	DPPH IC_{50}(mg/ml)
EC.FB.Blida	31,285±0,488
E1	250,065±0,714
E2	16,645±0,474
Acide ascorbique	0,985±0,064

Les résultats semblent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour les HEs des trois espèces d'eucalyptus.

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour toutes les HEs testées est inférieur à celui de l'acide ascorbique pour toutes les concentrations utilisées.

L'IC50 est inversement lié à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité anti-oxydante d'un composé est grande.

L'HE de E2 montre la meilleure activité (IC50 = 16,645 ± 0,474 µg/ml), suivie de EC.FB.Blida (IC50 = 31,285 ± 0,488 µg/ml). E1 présente l'activité la plus faible avec une IC50 de 250,065 ± 0,714 µg/ml. Ces valeurs indiquent que E2 possède un pouvoir antioxydant supérieur à EC.FB.Blida et bien supérieur à E1, mais reste nettement inférieur à celui de l'acide ascorbique.

La variabilité observée entre les huiles essentielles peut s'expliquer par des différences de composition chimique. En général, les composés phénoliques et certains alcools terpéniques contribuent fortement à l'activité DPPH, tandis que les hydrocarbures monoterpéniques ont une activité moindre ; la supériorité d'E2 laisse supposer une teneur plus élevée en constituants réactifs (phénols, alcools) par rapport à EC.FB.Blida et surtout à E1.

En conclusion, nos espèces étudiées montrent que, bien que les huiles essentielles testées possèdent une activité antioxydante détectable, elles restent très inférieures à l'acide ascorbique.

IV.4.2. Activité antimicrobienne

Tableau IV.5. Activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus (Méthode de diffusion par puits).

Espèce	**Bactéries**			**Champignon**
	E-coli	*Pseudo- aerug*	*S- aureus*	*Candida albicans*
Zone d'inhibition (mm) EC.FB.Blida	0	0	13±0,577	12±2,517
Zone d'inhibition(mm) E1	0	0	0	0
Zone d'inhibition(mm) E2	0	0±5,774	12±1,528	20±3,055

Tableau IV.6. Activité antibactérienne des huiles essentielles des espèces d'Eucalyptus (Méthode de diffusion par disque).

Espèce	**Bactéries**			**Champignon**
	E-coli	*Pseudo- aerug*	*S- aureus*	*Candida albicans*
Zone d'inhibition (mm) EC.FB.Blida	0	3,5±4,949	0	0
Zone d'inhibition(mm)E1	0	0	0	0
Zone d'inhibition(mm) E2	0	0	0	5±7,778

Le tableau 5 ,6 montre un effet sélectif des huiles essentielles d'Eucalyptus testées. EC.FB.Blida et E2 présentent une activité notable contre Staphylococcus aureus (13 mm et 12 mm respectivement) et contre Candida albicans (12 mm pour EC.FB.Blida et 20 mm pour E2), tandis qu'*E. coli* et *Pseudo. aeruginosa* étaient résistants (zones = 0). L'huile E1 est inactive vis-à-vis des souches testées (zones = 0).

Ces résultats sont cohérents avec la littérature montrant généralement une plus grande sensibilité des bactéries Gram-positives et des levures aux huiles essentielles, et une résistance relative des Gram-négatifs due à la membrane externe riche en lipopolysaccharides limitant la pénétration des composés lipophiles [77]. La différence d'activité entre EC.FB.Blida et E2 (notamment contre C. albicans) suggère des profils chimiques différents ou des concentrations plus élevées en composants antifongiques dans E2 (monoterpènes, phénols, oxydes) [78].

La différence entre les résultats obtenus par la méthode de diffusion par puits (zones plus larges) et par la méthode de diffusion par disque (zones faibles ou nulles) s'explique par des facteurs méthodologiques : volume appliqué et concentration locale plus élevés dans les puits, meilleure diffusion des composés lipophiles et moindre adsorption sur le support de disque, tandis que le disque limite la quantité libérée et peut favoriser l'évaporation des constituants volatils [79], [80]. Par conséquent, la méthode par puits est souvent plus sensible pour détecter l'activité des huiles essentielles.

En conclusion, EC.FB.Blida et E2 montrent un pouvoir antifongique et anti-Gram-positif significatif, tandis que E1 est inactive. Les variations observées entre huiles sont probablement dues à des différences de composition chimique (chémotypes).

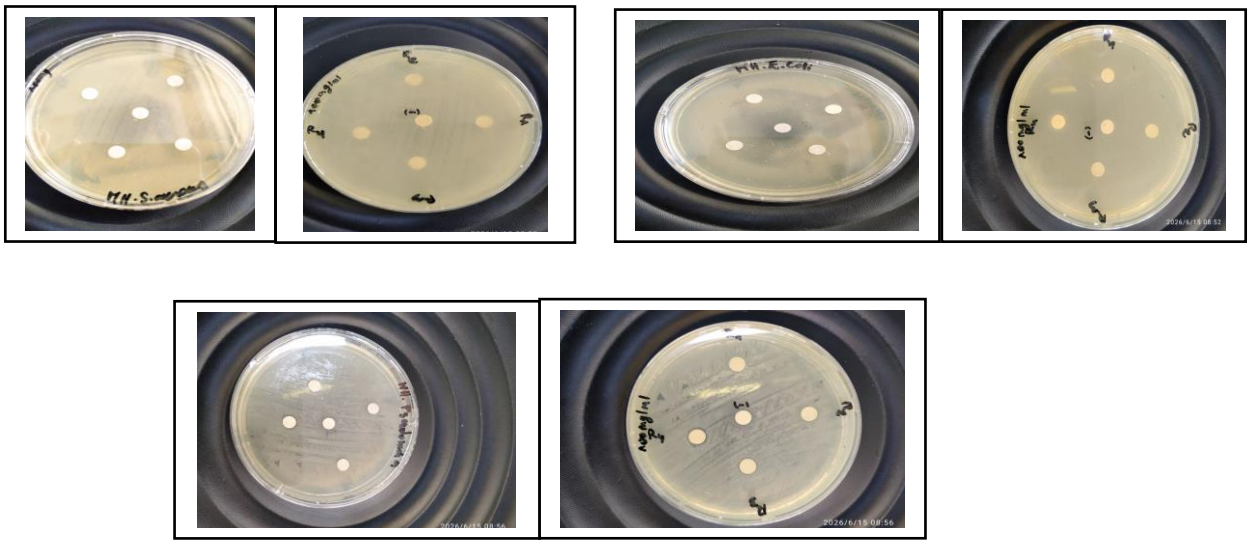


Figure IV.5. Activité antibactérienne des HEs d'Eucalyptus (**Z** : HE de E2, **S** : HE de EC.FB-Blida, **C** : HE de E1) par la méthode de diffusion par disques.

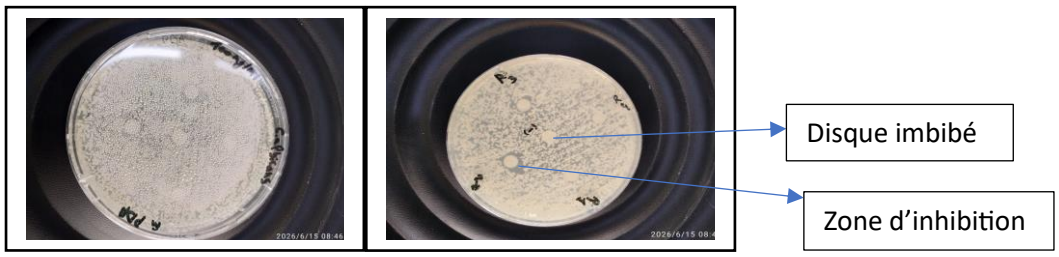


Figure IV.6. Activité antifongique des HEs d'Eucalyptus par la méthode diffusion par disque

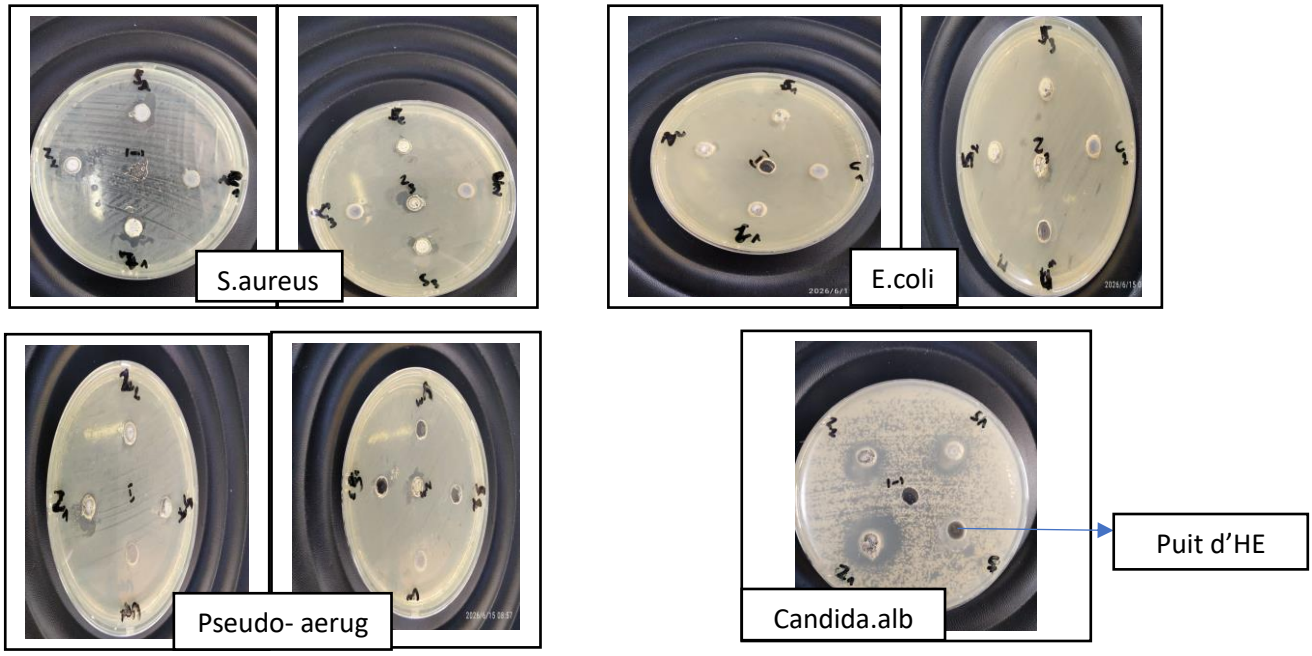


Figure IV.7. Activité antibactérienne et antifongiques des HEs par la méthode de diffusion par puits.

IV.4.3.Activité antidiabétique :

L'activité antidiabétique des huiles essentielles a été évaluée in vitro par leur capacité à inhiber l'enzyme α-amylase, enzyme clé dans la digestion des glucides qui hydrolyse l'amidon en glucose. Cette inhibition réduit la libération de glucose dans l'intestin.

Les résultats de l'activité inhibitrice des huiles essentielles sur l'enzyme α-amylase sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV.7. Pourcentage d'inhibition de l'α-amylase par les huiles essentielles.

Espèce	Concentration (µg/ml)	Inhibition(%)
E2	20	12,61373036± 5,609715201
	60	-9,05707196± 5,157471387
	100	9,88420182± 0,358157735
	120	19,02398677± 14,42855673
	150	5,913978495± 12,24857564
	200	2,936311001±4,702107761

Les résultats montrent que l'huile essentielle d'Eucalyptus(E2) présente une activité inhibitrice très faible et non constante de l'α-amylase. Le pourcentage d'inhibition maximal atteint seulement 19,02% à 120 µg/ml.

Cette absence d'activité inhibitrice significative peut être expliquée par la composition chimique de l'huile essentielle, principalement constituée de composés terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes) qui possèdent une affinité très faible pour le site actif de

L'α-amylase, comparée aux composés phénoliques et flavonoïdes connus pour leur puissant pouvoir inhibiteur.

Donc, l'activité de notre huile essentielle d'Eucalyptus E2 est non significative et ne justifie pas d'affirmer un potentiel antidiabétique réel pour cette espèce.



Figure IV.8. Activité antidiabétique (Inhibition de l'alpha amylase) de l'huile essentielle d'eucalyptus (E2).

CONCLUSION GENERALE

L'exploitation du potentiel biologique des espèces végétales revêt un intérêt scientifique et thérapeutique important. Les nouvelles démarches consistent à s'intéresser à la recherche de principes actifs dans les produits naturels d'origine végétale, particulièrement les plantes médicinales algériennes réputées pour leurs vertus thérapeutiques.

Dans le but de valoriser l'Eucalyptus, une plante médicinale connue par sa richesse en composés actifs et utilisée par la population locale dans diverses thérapies traditionnelles, nous avons effectué un travail permettant de mettre en évidence l'activité biologique des huiles essentielles de cette espèce.

Notre travail a porté sur l'étude de la plante d'Eucalyptus, extraite de la partie aérienne (feuilles), et l'évaluation de ses potentialités bioactives avec l'identification chimique de ses composées bioactives.

Quelque expérience effectués sur la plante étudiée dont :

- Extraction des huiles essentielles et identification de sa composition chimique par la technique FTIR.
- Evaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes (DPPH et FRAP)
- Test de l'activité antibactérienne des HEs sur les souches bactérienne suivantes : Escherichia coli, , Pseudomonas aeruginosa, Staphyloccous aureus .
- Et la détermination de l'activité antifongique sur la souche : candida albicans.

Le rendement en huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus varie selon les espèces : 0,695% pour EC.FB.Blida, 0,633% pour E1, et 2,637% pour E2. Cette valeur de 2,637% pour E2 est supérieure aux rendements obtenus chez d'autres espèces du même genre, ce qui constitue un avantage pour l'extraction.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH, on constate des valeurs d'IC_{50} suivantes : 31,285 ± 0,488 mg/mL pour EC.FB.Blida, 250,065 ± 0,714 mg/mL pour E1, et 16,645 ± 0,474 mg/mL pour E2. L'huile essentielle E2 possède une bonne activité antioxydante avec une faible concentration d'IC_{50}, ce qui indique une efficacité à faible dose.

L'analyse par FTIR a révélé que les huiles essentielles d'Eucalyptus sont riches en composés terpéniques oxygénés et hydrocarbonés, caractérisés principalement par la présence des groupes fonctionnels O–H, C–H, C–O et C=C. Ces composés terpéniques expliquent les activités biologiques observées.

Les tests antimicrobiens effectués dans ce travail montrent que l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'Eucalyptus sur les souches bactériennes est significatif sur la souche Staphylococcus aureus (Gram positif), avec des diamètres d'inhibition de 12 à 13 mm. Staphylococcus aureus est la souche la plus sensible parmi les trois bactéries testées.

L'étude de l'activité antifongique réalisée sur la souche Candida albicans par la méthode de diffusion par disque a donné de faibles résultats, tandis que la méthode de diffusion par puits a marqué des zones d'inhibition de diamètre 20 mm, ce qui indique une activité antifongique modérée selon la méthode utilisée.

L'évaluation de l'activité antidiabétique par inhibition de l'α-amylase in vitro a montré que l'huile essentielle E2 d'Eucalyptus présente une activité non significative (inhibition maximale de 19,02% à 120 µg/ml sans effet dose-dépendant clair), ne justifiant pas d'affirmer un potentiel antidiabétique réel pour cette espèce.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active.

Références bibliographiques

[1] GOEB, P., Aromathérapie pratique et familiale. Ed. MDB. 1999.

[2] Goulle, J.P., P.G. P, and L. Christian, Botanique, chimie et toxicologie des solanacées hallucinogènes: belladone, datura, jusquiame, mandragore. Annales de toxicologie analytique. . 2004, 16(1). pp.55-65.

[3] Edeoga, H., G. Omosun, and L. Uche, Chemical composition of Hyptis suaveolens and Ocimum gratissimum hybrids from Nigeria. African journal of Biotechnology. 2006, 510.

[4] NICOLAS, V., Huiles essentielles: Production mondiale, échanges internationaux et évaluation des prix. 10ième journée internationale des huiles essentielles. Actes, Ravista italiana Eppos ; numéro spécial 02/1992 : 534-539. 1991.

[5] Mishra, A. and N. Dubey, Evaluation of some essential oils for their toxicity against fungi causing deterioration of stored food commodities. Applied and environmental microbiology. 1994, 604, 1101-1105.

[6] Alghamdi, A. I., & Ababutain, I. M. (2019). Research Article Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Eucalyptus camaldulensis ' s Leaves and Bark Extracts Azzah Ibrahim Alghamdi and Ibtisam Mohammed Ababutain. Asian Journal of Scientific Research. https://doi.org/10.3923/ajsr.2019.202.210

[7] Affaf, B., Yasmine, B. K., & Kawther, A. (2020). Exploration de Quelques Activités Pharmaceutiques D ' extrait D ' eucalyptus Spp. In Mémoire de Fin D'étude En Vue de L'obtention du Diplôme de Master Option Biologie et Pathologie Cellulaire Thème Explorationde Quelques Activités Pharmaceutiques D'extrait D'eucalyptus Spp. Université Dr .Yahia Farés - Médéa.

[8] Inoue, M., Hayashi, S. and Craker, L.E., 2019. Role of medicinal and aromatic plants: Past, present, and future. In: Perveen, S. and Al-Taweel, A. (eds.) Pharmacognosy-Medicinal Plants. London: IntechOpen, p.1-13.

[9] Balyan, S. and Sheoran, A., 2023. Medicinal and aromatic plants and their utilization. In: Essence of Science: Book on Latest Researches. Chapitre 17, p.168.

[10] Carrubba, A., Marceddu, R. and Sarno, M., 2023. Bringing spontaneous plants to cultivation: Issues and constraints for medicinal and aromatic plants. Acta Horticulturae, 1358, pp.43-48.

[11] Azaizeh, H., Saad, B., Cooper, E. and Said, O., 2010. Traditional Arabic and Islamic medicine, a re-emerging health aid. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 7, pp.419-424.

[12] Ntezurubanza, L., 2000. Les huiles essentielles du Rwanda. Québec: Éditions Laseve, p.88.

[13] Schauenberg, P. and Paris, F., 1977. Guide to Medicinal Plants. Guildford: Lutterworth Press, p.349.

[14] Amini, R., 2010. Analyse chimique et activité bactérienne de trois plantes médicinales antituberculeuses à Kisangani. Monographie inédite, Faculté des Sciences, Université de Kisangani.

[15] Moreau, B., 2003. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie. Nancy: Faculté de Pharmacie de Nancy.

[16] WHO (2000b) General guidelines for methodologies on research and evaluation of traditional medicine. Geneva: World Health Organization.

[17] Chabrier, J.Y., 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Thèse diplôme d'état de docteur en pharmacie, Faculté de pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy 1.

[18] World Health Organization (WHO), 2003. Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Genève: Organisation mondiale de la Santé, Suisse.

[19] Ouedraogo, S., et al., 2021. Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 15(2), pp.750-772.

[20] Tabuti, J.R., Dhillion, S.S. and Lye, K.A., 2003. Ethnoveterinary medicines for cattle (Bos indicus) in Bulamogi county, Uganda: plant species and mode of use. Journal of Ethnopharmacology, 88(2-3), pp.279-286.

[21] Fendi, D., Ounas, M. and Rouibah, A., 2023. Valorisation des plantes aromatiques et médicinales : étude du potentiel insecticide des huiles essentielles ou des extraits aqueux d'Erica arborea. Mémoire de Master, spécialité Écologie fondamentale et appliquée, Université Ibn Khaldoun de Tiaret, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Nature et de la Vie.

[22] Máthé, A., 2015. Medicinal and Aromatic Plants of the World: Scientific, Production, Commercial and Utilization Aspects. Dordrecht: Springer, p.15.

[23] Robbins, W.W., Weier, T.E. and Stocking, C.R., 1957. Botany: An Introduction to Plant Science. 2nd ed. New York: Wiley, p.578.

[24] Yarnell, E., 2007. Plant chemistry in veterinary medicine: Medicinal constituents and their mechanisms of action. In: Veterinary Herbal Medicine. Elsevier, pp.159-182.

[25] Catier, O. and Roux, D., 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie : Cahier du préparateur en pharmacie. 3ème éd. Paris: Wolters Kluwer.

[26] Bernays, E.A., Cooper-Driver, G. and Bilgener, M., 1989. Herbivores and plant tannins. Advances in Ecological Research, 19, pp.263-302.

[27] Bar, G. and Ganguly, D., 2022. Application of Bauhinia vahlii bark extract on wool fiber. Available at: DOI

[28] Bruneton, J., 1996. Plantes toxiques : végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Paris: Tec & Doc.

[29] Chaachouay, N., 2020. Étude floristique et ethnomédicinale des plantes aromatiques et médicinales dans le Rif (Nord du Maroc). Thèse de doctorat national, Université Abdelmalek Essaâdi / Université Ibn Tofaïl.

[30] Lounasmaa, M. and Tamminen, T., 1993. The tropane alkaloids. In: Cordell, G.A. (ed.) The Alkaloids. Vol.44. New York: Academic Press, pp.1-114.

[31] Vanbellingen, Q., 2015. Imagerie de substances naturelles par spectrométrie de masse. Available at: TEL Archives ouvertes

[32] Kumar, S. and Pandey, A.K., 2013. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. Scientific World Journal, 2013, p.162750.

[33] Ullah, A., Munir, S., Badshah, S.L., Khan, N., Ghani, L., Poulson, B.G., Emwas, A.H. and Jaremko, M., 2020. Important flavonoids and their role as a therapeutic agent. Molecules, 25(22), p.5243. Available at: DOI

[34] Tholl, D., 2015. Biosynthesis and biological functions of terpenoids in plants. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, 148, pp.63-106.

[35] Ashour, M., Wink, M. and Gershenzon, J., 2010. Biochemistry of terpenoids: monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. In: Wink, M. (ed.) Annual Plant Reviews: Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. 2nd ed. New York: Wiley.

[36] Martin, V.J.J., Pitera, D.J., Withers, S.T., Newman, J.D. and Keasling, J.D., 2003. Engineering a mevalonate pathway in Escherichia coli for production of terpenoids. Nature Biotechnology, 21, pp.796-802.

[37.]John J.W.Coppen. (2002) . Eucalyptus .

[38]. Kaur, S., Gupta, S., & Gautam, P. B. (2019). Phytochemical analysis of Eucalyptus leaves extract. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 8(1), 2442–2446.

[39].Vuong, Q. V, Chalmers, A. C., Bhuyan, J., Bowyer, M. C., & Scarlett, C. J. (2015). REVIEW Botanical, Phytochemical, and Anticancer Properties of the Eucalyptus Species.

[40]. Ayed, A., Caputo, L., Feo, V. De, Elshafie, H. S., Fratianni, F., Nazzaro, F., Hamrouni, L., & Amri, I. (2024). Heliyon Antimicrobial , anti-enzymatic and antioxidant activities of essential oils from some Tunisian E ucalyptus species. Heliyon, 10(14), e34518. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34518

[41]. Rameau. J. C., Monsion. D, Dumé. O., Ganbberville. G., 1989. Flore floristique francaise,

[42.]Metro A.1970 - Les eucalyptus dans le monde méditerranéen. Ed.masson et cie.Paris, p513

[43]. Kihel, R., & Khelifa, S. (2023). Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila Thème :Effet des extraits successifs de déférentes concentrations méthanoliques sur les activités biologiques d'Eucalyptus globulus labill. Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila Institut.

[44].Tng, D. Y. P., Williamson, G. J., Jordan, G. J., & Bowman, D. M. J. S. (2012). Giant eucalypts - globally unique fire-adapted rain-forest trees In New Phytologist (Vol. 196, Issue 4, pp. 1001–1014). https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04359.x

[45] Chekoual, L., 2019. Étude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de Lavandula stoechas L. du Nord de l'Algérie extraites par hydrodistillation et ultrasons. Thèse de doctorat, Université Saad Dahlab Blida 1, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Biotechnologies.

[46] Heinrich, G., Schultze, W., Pfab, I. and Boettger, M., 1983. The site of essential oil biosynthesis in Poncirus trifoliata and Monarda fistulosa. Physiologie Végétale, 21, pp.257-268.

[47] Bruneton, J., 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2ème éd. Paris: Lavoisier, France, p.915.

[48] Loupy, A., 2006. Microwaves in Organic Synthesis. 2ème éd. Tome I et II. Weinheim: Wiley-VCH, p.1303.

[49] Rahili, G., 2002. Les huiles essentielles et leurs intérêts. La Forêt Algérienne, n°4. Institut national de la recherche forestière, Bainem, Alger.

[50] Tenscher, E., Anton, R. and Lobstein, A., 2005. Plantes aromatiques. Épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris: Tec & Doc, pp.3-50 / 121-124.

[51] Fahn, A., 1988. Tansley Review No.14 Secretory tissues in vascular plants. New Phytologist, 108, pp.229-257.

[52] Laiche, C.E. and Mecheri, M., 2023. Extraction des huiles essentielles et hydrolats. Mémoire de master en Sciences de la nature et de la vie, spécialité Biodiversité et physiologie végétale, Université Saad Dahlab Blida 1.

[53] Bounab, S., 2020. Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. Thèse de doctorat en sciences biologiques, spécialité valorisation et protection de la biodiversité végétale, Université Mohamed Boudiaf de M'sila.

[54] Bencheikh, S.E., 2017. Étude de l'activité des huiles essentielles de la plante Teucrium polium ssp Aurasianum Labiatae. Thèse de doctorat en génie des procédés et environnement, Université Kasdi Merbah Ouargla, Faculté des Sciences appliquées, Département de Génie des procédés.

[55] Mugao, L., 2024. Factors influencing yield, chemical composition and efficacy of essential oils. International Journal of Multidisciplinary Research and Growth Evaluation, 5(4), pp.169-178.

[56] Abdul Aziz, Z.A., Ahmad, A., et al., 2018. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential - a review. Current Drug Metabolism, 19(13), pp.1100-1110.

[57] Lucchesi, M.E., 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat de l'Université de la Réunion, p.142.

[58] Reyes-Jurado, F., et al., 2015. Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. Food Engineering Reviews, 7(3), pp.275-297.

[59] Camel, V., 2001. Recent extraction techniques for solid matrices: supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. Analyst, 126, pp.1182-1193.

[60] Pourmortazavi, S.M. and Hajimirsadeghi, S.S., 2007. Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. Journal of Chromatography A, 1162, pp.2-24.

[61] Raoudi, Ch. and Krami, I., 2019. Contribution à l'étude de l'influence de la période de récolte sur quelques caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles de Pituranthos scoparius et d'Artemisia herba alba. Mémoire de Master en Génie chimique, Université de Ghardaïa.

[62] Mohamdi, Z., 2005. Étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pp.89-92.

[63] AFNOR. , 2000, « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris, p,661-663 .

[64] Bechlaghem, K., 2020. Études chimiques et biologiques des extraits préparés à partir de quelques espèces de Cistacées poussant en Algérie. Thèse de Doctorat Es-Sciences en Chimie, Laboratoire des Substances Naturelles et Bioactives (LASNABIO), Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

[65] Alimi, D., Hajri, A., Selmi, S. and Sebai, H., 2023. Essential oils from medicinal plants: extraction techniques, biochemical characterization, and technical analysis. In: de Oliveira, M.S., Andrade, E.H.A., Kumar, R. and Mali, S.N. (eds.) Medicinal Plants - Chemical, Biochemical, and Pharmacological Approaches. London: IntechOpen.

[66] Paolini, J., 2005. Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM (IE et IC) et RMN du carbone-13 de Cistus albidus et de deux Asteraceae endémiques de Corse : Eupatorium cannabinum subsp. corsicum et Doronicum corsicum. Thèse de doctorat en Chimie, Université de Corse, France.

[67] Samfira, I., et al., 2015. Characterization and identity confirmation of essential oils by mid infrared absorption spectrophotometry. Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures, 10(2), pp.557-566.

[68] Qabaha, K., Ras, S.A., Abbadi, J. and Al-Rimawi, F., 2016. Anti-inflammatory activity of Eucalyptus spp. and Pistacia lentiscus leaf extracts. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 13(5), pp.1-6. Available at: DOI

[69] Ellitus, D. I. M. (2003). Report of the Expert Committee on the DESCRIPTION OF DIABETES CATEGORIES OF GLUCOSE. 26, 5–20.

[70] Goetz, P., 2007. Phytothérapie du diabète. Springer, 5, pp.212-221.

[71] Bruneton, J., Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris. 1999.

[72] Eisenhut, M., 2007. The toxicity of essential oils. International Journal of Infectious Diseases, 11(4), pp.365-366.

[73] Couic-Marinier, F. and Lobstein, A., 2013. Mode d'utilisation des huiles essentielles. Actualités Pharmaceutiques, 52(525), pp.26-30.

[74] Chaouki, W., et al., 2010. Antiproliferative effect of extracts from Aristolochia baetica and Origanum compactum on human breast cancer cell line MCF-7. Pharmaceutical Biology, 48(3), pp.269-274.

[75] Inouye, S., 2003. Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). International Journal of Aromatherapy, 13(2), pp.95-107.

[76] Franchomme, P. and Penoel, D., 1990. L'aromathérapie exactement. Limoges.

[77] M. Rabiai . « Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus de la région M'sila ».Mémoire de Master. Université de M'sila(Algérie), 2014.

[78] Ponce A.G, Fritz R, Del Valle C, Roura S.I. 2003. Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie 36 (7) : 679-684

[71] Silverstein, R.M., Webster, F.X. and Kiemle, D. (2005). Spectrometric Identification of Organic Compounds. 7th Edition, John Wiley & Sons, New York.

[72] Stuart, B. (2004). Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons Ltd, England.

[73] Socrates, G. (2001). Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts. 3rd Edition, John Wiley & Sons Ltd.

[74] Coates, J. (2006). Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In: Meyers, R.A. (Ed.), Encyclopedia of Analytical Chemistry. John Wiley & Sons Ltd.

[75] Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A.G. and Maggi, F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of Eucalyptus globulus. Industrial Crops and Products, 107, 533–538.

[76] Burits, M. and Bucar, F., 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research, 14(5), pp.323-328.

[77] Aoussat, H., Gouffi, R., Sebbagh, C., Tandjir, L., & Ouamane, S. (2023). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et de Citrus limon. Mémoire de Master, Université de Skikda, Algérie.

[78] Haied, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Hadef, Y. (2015). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des aiguilles de Pinus halepensis Mill. Rev. Sci. Technol., Synthèse, 30:33-39.

[79] Xianfei, X., Xiaoqiang, C., & Shunying, Z.G. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils. Food Chemistry, 100, 1312-1315.

[80] Aoussat, H., Gouffi, R., Sebbagh, C., Tandjir, L., & Ouamane, S. (2023). Etude comparative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et de Citrus limon. Mémoire de Master, Université de Skikda, Algérie.

[81] DifferBetween. (2024). Différence entre le puits d'agar et la méthode de diffusion sur disque.https://fr.differbetween.com/article/difference_between_agar_well_and_disc_diffusion_methd

[82] Benyoucef, E., et al. (2024). Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus. Mémoire de Master, Université de Mostaganem, Algérie.

[83] Kamel, A., et al. (2023). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite des feuilles d'Eucalyptus camaldulensis. Mémoire de Master, Université de Tébessa, Algérie.

[84] Bajalan, I., Rouzbahani, R., Pirbalouti, A.G. and Maggi, F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of Eucalyptus globulus. Industrial Crops and Products, 107, 533–538.