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 :
DROUICHE Fatma

HAJ MOUSSA Soumia

Thème :

Etude de l'activité biologique d'un extrait végétal

Soutenu publiquement/ le : 22 /06 /2022, devant le jury composé de :

BOUCHERIT N.	**Grade : MCA**	**UYF de Médéa**	**Présidente**
MIMI N.	**Grade : MCB**	**UYF de Médéa**	**Examinatrice**
ARBIA W.	**Grade : MCA**	**UYF de Médéa**	**Encadreur**

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord nous tenons à remercier الله qui nous a aidé et nous a donné la patience et le courage durant ces années d'études et nous a donné la volonté et la force pour réaliser ce travail de recherche.

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué à notre formation scientifique.

Ces remerciements au corps professoral et administratif de la faculté des Sciences, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation.

Nous remercions très chaleureusement notre promotrice ***Dr. ARBIA W.*** *enseignante à l'université* ***YAHYA FARES, Médéa****. Malgré ses multiples responsabilités et occupations, elle a mis minutieusement, ses remarques et corrections tout au long de ce document. Son sens de travail méthodique, ses conseils, suggestions et remarques pertinents nous ont toujours poussées à mieux faire.*

Nous exprimons également toute notre reconnaissance aux membres de jury : ***Dr. MIMI*** *et* ***Dr. BOUCHRIT*** *pour d'avoir accepté d'évaluer ce mémoire.*

Notre gratitude va également aux ingénieurs du laboratoire de département science de la matière

Nous voulons également remercier tous nos enseignants qui ont constitué un apport considérable pour que nous atteignions ce jour.

Enfin, nous tenons à remercier nos familles, et nos remerciements les plus profonds à nos parents.

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tout simplement que : je dédie ce mémoire à

A ma maman, pour son amour, toute l'énergie qu'elle a dépensée et tous les sacrifices qu'elle a faits pour nous.

A mon papa, merci pour son amour, son soutien permanent, et ses encouragements. Merci d'avoir toujours voulu ce qu'il y a de mieux pour moi, merci de m'avoir encouragé à réaliser mes rêves.

A Mes chers frères : Sofien, Mohammed, Taki Eddine et Abderrahmane ainsi que leurs épouses

A Mes sœurs : Razika, Siham et Hafidha que j'adore, ainsi que leurs maris chagu'un par son nom

A Mes merveilleux nièces et neveux

A Ma chère sœur : Manel

A mon binôme : Fatma et sa famille pour lequel je souhaite une vie pleine de joie et de réussite.

Ma deuxième famille la promotion Chimie Pharmaceutique

Mes dédicaces vont également à tous mes amis et à tous ce qui m'ont aidé du près ou du loin et à tous ceux qui me connaissent

« Soumia »

Dédicace

الحمد لله الذي بنعمته الصالحات

Je dédie ce modeste travail qui n'aurait pu aboutir et voir La lumière sans l'aide de

Dieu le tout puissant à :

La mémoire de mon cher père ***Mohammed***

A mon PAPA allah yarhmou que j'aime beaucoup qui a toujours cru en moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Je le remercie vivement pour son soutien permanent même en son absence que Dieu te bénisse papa.

A ma chère maman ***Aicha***

A ma très chère MAMAN symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse, lumière de mes yeux. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte que Dieu la garde pour moi.

A mes sœurs : ***Sarah, Houda, Hafsa***

A mes frères : ***Walid, Fares***

Pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux dans le moments difficiles tout au long de mes études .

Mon très cher fiancé ***Redha***

Pour son soutien moral, ses encouragements et son aide précieuse.

A ma chère ***Soumia****, mon binôme et sa famille pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce travail.*

A toute ma promotion « ***Chimie pharmaceutique 2021/2022*** *»*

A toute personne qui m'a aidée d'un geste si petit soit-il je dis « Merci ».

« fatma »

Table des matières

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations et des Symbole

Introduction Générale **1**

Chapitre I : généralités sur l'*eucalyptus*

I. 1. Historique et origine de la plante L'eucalyptus **3**

I. 2. Description botanique de la plante **3**

I. 3. Présentation d'*Eucalyptus globulus* **4**

I. 3. 1. Nomenclature **4**

I. 3. 2. Classification de dans la systématique botanique **4**

I. 4. Caractéristiques morphologiques **5**

I. 5. Principaux Composants chimiques du genre *Eucalyptus* **7**

I. 6. Usage thérapeutiques **7**

II. L'activité biologique des extraits de végétaux **8**

II. 1. Les polyphénols **8**

II. 1. 1. Classification **8**

II. 1. 2. Activités antimicrobiennes **11**

II. 1. 3. Activité antioxydant **11**

Chapitre II : généralités sur les émulsions

II.1. Définition d'émulsion **13**

II.2. Composition **13**

II. 2. 1. Phase hydrophile **13**

II. 2. 2. Phase lipophile **13**

II. 2. 3. Les émulsifiants **14**

II.3.Les types des émulsions **14**

II. 3.1.Émulsions simples **14**

II. 3.2. Emulsion multiple **15**

II.4. Les classes d'émulsions **15**

II. 4.1. Macroémulsions **15**

II. 4.2. Nano/mini émulsions **15**

II.4.3. Microémulsions **16**
II.5. Stabilité et instabilité des émulsions **16**
II.6. Domaine d'application les émulsions **17**
II. 6. 1. Formulation cosmétique **17**
II.6. 1.1. Cosmétique naturelle **17**
II. 6. 1.2. Cosmétique conventionnelle **18**
II.6. 2. Formulation pharmaceutique **18**

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Matériels **19**
III.1.1. Matériel du laboratoire **19**
III.1.2. Matériel biologique **19**
III. 1. 2. 1. Matériel végétal **19**
III.1. 2. 2. Les souches microbiennes **19**
III. 2. Préparation de l'extrait végétal **20**
III. 3. Analyse phytochimique de l'extrait **20**
III.3.1. Screening des composés chimiques **20**
III.4. Analyse quantitative **21**
III.4.1. Dosage des flavonoïdes totaux **21**
III.4.2. Dosage des polyphénols totaux **22**
III. 5. Analyse physico-chimiques de l'extrait **22**
III. 6. La formulation **23**
III. 6.1. Produits utilisés **23**
III. 6. 2.Techniques de formulation **24**
III. 6. 2. 2. Type d'émulsification **24**
III. 6. 2. 3. Formulation de l'émulsion **24**
III. 7. Composition des émulsions **25**
III. 8. Procédé de formulation **26**
III. 8.1. Etape de préparation la phase huileuse et la phase aqueuse **27**
III. 8.2. Etape d'émulsification **27**
III. 8. 3. Caractérisation physico-chimique des émulsions formulées **27**
III.8.3.1. Caractères organoleptiques **27**
III. 8.3.2. Etude de stabilité **27**
III. 8.3.3. Mesure de PH **27**
III. 8. 3.4. Sens de l'émulsion **28**
III. 8. 3. 5. Examen microscopique **28**

III. 8. 3.6. Etude de la viscosité **28**

III.9. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Eucalyptus* et des émulsions préparés **28**

III. 9. 1. La Préparation de préculture **28**

III. 9. 2. Préparation de l'inoculum **29**

Chapitre VI : Résultats et discussions

IV. 1. Caractérisation de l'extrait végétal **30**

IV. 1. 1. Rendement d'extraction **30**

IV. 1. 2. Analyses qualitatives et screening **31**

IV. 1. 3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes **31**

IV. 1. 4. Les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait aqueux d*'Eucalyptu*s **33**

IV. 2. Formulation **33**

IV. 2. 1. Caractérisations physico-chimique des émulsions formulées **33**

IV. 2. 1. 1. Caractères organoleptiques **33**

IV. 2. 1. 2. Etude de stabilité **35**

IV. 2. 1. 3. Test de stabilité à la température de stockage **35**

IV. 2. 1. 4. Mesure de Ph **35**

IV. 2. 1. 5. Sens de l'émulsion **36**

IV. 2. 1. 6. Examen microscopique **37**

IV. 2. 1. 7. Etude de la viscosité **38**

IV. 2. 2 Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Eucalyptus* et des émulsions préparées **39**

Conclusion Générale

Les références bibliographique

Annexes

ملخص
الهدف من هذا العمل هو دراسة النشاط المضاد للميكروبات للمستخلص المائي لأوكالبتوس وتحضير كريم على أساس هذا المستخلص. كان إنتاج الاستخلاص منخفضًا نسبيًا ، حوالي 10٪. وهكذا أظهر الفحص الكيميائي النباتي احتوائه على الفينولات و الفلافونويد والعفص و السابونين . أظهر الفحص الفيزيائي الكيميائي أن له طابعًا حمضيًا قليلاً مع درجة حموضة تبلغ 6.48 ؛ ناقلية الكهرباء تساوي 2.1107 مللي سيمنز / سم ، وكثافة 1.8 ومعامل انكسار 1.34. أظهر التحليل الكمي أنه يحتوي على تركيز(71.98 mg EAG/gمن البوليفينول) و (20.28 mg EQ/g) من الفلافونويد ,لم ينتج عن اختبارات التركيب (10:90 H / E) باستخدام الكيتوزان او ليسيثين الصويا كمستحلبات لم ينتج عنها مستحلبات مستقرة. أعطت تركيبة مستحلب (40:60 H / E) على أساس ليسيثين الصويا او المستحلبات التجارية مستحلبات مستقرة ماديًا بخصائص ميكانيكية واستقرار حراري جيد عند درجة حرارة الغرفة وعند 4 درجات مئوية. أظهرت نتائج دراسة النشاط المضاد للميكروبات أن المستخلص النباتي له نشاط مثبط قوي ضد بكتيريا Staphylococcusالبشرة مع منطقة تثبيط تبلغ 23 مم. بينما المستحلب له تأثير مثبط طفيف ضد نفس الجرثومة مع منطقة تثبيط قطرها 15 مم.
الكلمات المفتاحية: مستخلص نباتي ، أوكالبتوس الكروي، نشاط بيولوجي ، بوليفينول ، مستحلبات.

Résumé
L'objectif de ce travail est l'étude de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus* et la préparation d'une crème à base de cet extrait. Le rendement d'extraction était relativement faible d'ordre de 10%. Ainsi, le screening phytochimique a montré qu'il contient des phénols, des flavonoïdes, des tanins et de la saponine. Sa caractérisation physicochimique a montré qu'il a un caractère légèrement acide avec un pH de 6.48; une conductivité de 2,1107ms/cm, une densité de 1.8 et un indice de réfraction de 1.34. L'analyse quantitative a montré qu'il contient une concentration de 71.98mg EAG/g de polyphénols et 20.28 mg EQ/g de flavonoïdes. Des essais de formulations (10 : 90 H/E) en utilisant le chitosane ou la lécithine de soja comme émulsifiants n'ont pas abouti à des émulsions stables. La formulation d'une émulsion (40 :60 H/E) à base de lécithine de soja ou des émulsifiants commerciaux a donné des émulsions physiquement stables avec des propriétés mécaniques, et d'une bonne stabilité thermique à température ambiante et à 4°C. Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne montrent que l'extrait végétal a une activité fortement inhibitrice contre *Staphylococcus epidermis* avec une zone d'inhibition de 23mm. Tandis que l'émulsion présente un effet légèrement inhibiteur contre le même germe avec une zone d'inhibition de 15mm de diamètre.
Mot clés : Extrait végétal, *Eucalyptus globulus,* activité biologique, polyphénols, les émulsions.

Summary
The objective of this work is the study of the antimicrobial activity of the aqueous extract of Eucalyptus and the preparation of a cream based on this extract. The extraction yield was relatively low, around 10%. Thus, the phytochemical screening showed that it contains phenols, flavonoids, tannins and saponin. Its physicochemical characterization showed that it has a slightly acid character with a pH of 6.48; a conductivity of 2.1107ms/cm, a density of 1.8 and a refractive index of 1.34. Quantitative analysis showed that it contains a concentration of 71.98mgEAG/g of polyphenols and 20.28mg EQ/g of flavonoids. Formulation tests (10:90 O/W) using chitosan or soy lecithin as emulsifiers did not result in stable emulsions. The formulation of an emulsion (40:60 O/W) based on soy lecithin or commercial emulsifiers gave physically stable emulsions with mechanical properties, and good thermal stability at room temperature and at 4°C. The results of the antimicrobial activity study show that the plant extract has a strong inhibitory activity against Staphylococcus epidermis with a zone of inhibition of 23mm. While the emulsion has a slightly inhibiting effect against the same germ with an inhibition zone of 15mm in diameter.
Keywords: Plant extract, *Eucalyptus globulus*, biological activity, polyphenols, emulsions.

Liste des abréviations

APG : Angiospermes Phylogeny Group

DO : densité optique

E : Phase Aqueuse

EAG: équivalent acide gallique

EQ: équivalent quercétine

E/H : Emulsion Eau dans Huile.

E/H/E : Emulsion Eau dans Huile dans eau

GX : Gomme xanthane

H : Phase Huileuse

H/E : Emulsion Huile dans Eau.

H/E/H : Emulsion Huile dans Eau dans huile

IUPAC: International Union of Pure and Applied par Chemistry

PH : Potonciel d'hydrogène

rpm: rotation par minute.

R : rendement

Liste des symboles

g: gramme

mg : milli gramme

mS/cm : mini semence/ centimètre

µm : Micromètre

% : Pourcentage

T : Température (°C)

V : Volume (ml)

ml : millilitre

Liste des figures

Chapitre I: généralités sur l'*Eucalyptus*

Figure I.1 L'écorce d'*Eucalyptus globulus* **5**

Figure I.2 *Eucalyptus globulus* (a) Jeune rameau (b) rameau adulte **6**

Figure I.3 La fleur d'*Eucalyptus globulus* **6**

Figure I.4 Les Fruits et les graines de l'*Eucalyptus globulus* **7**

Figure I.5 Structure chimique du groupement phénolique **8**

Figure I.6 Structure chimique de l'acide phénolique **9**

Figure I.7 Structure des tannins **9**

Figure I.8 Structure de base d'un flavonoïde **10**

Figure I.9 Structure générale des saponines stéroïdique **10**

Chapitre II : généralités sur les Emulsions

Figure II.1 Représentation schématique d'une émulsion **14**

Figure II.2 Représentation d'une émulsion avec émulsifiant **14**

Figure II.3 Schémas représentant des émulsions simples H/E et E/H et une émulsion multiple E/H/E **15**

Figure II.4 Phénomènes d'instabilité des émulsions **16**

Chapitre III : Matériel et méthodes

Figure III.1 Les déférentes étapes de l'extraction **20**

Figure III.2 Les étapes du dosage des flavonoïdes totaux **22**

Figure III.3 Etapes de dosage des polyphénols **23**

Figure III.4 Diagramme présentant les différentes étapes de préparation des émulsions **27**

Chapitre IV : Résultats et discussions

Figure IV.1 L'extrait d'*Eucalyptus* après évaporation du solvant **30**

Figure IV.2 Aspects des émulsions préparés(a)formule 1(b) formule 2(c) formule 3 **33**

Figure IV.3 Stabilité à la centrifugation de formule 3 (F2 et F3) **35**

Figure VI.4 Dilution des émulsions dans l'eau **36**

Figure IV.5 Coloration des émulsions au bleu de méthylène **37**

Figure IV.5 Vues microscopique des émulsions (F1, F2 et T : crème Nivea) **38**

Figure IV.6 La viscosité des émulsions en fonction de la vitesse de rotation du viscosimètre **39**

Figure IV.7 L'activité antimicrobienne de (a) l'extrait végétale de l'*Eucalyptus* (b) l'émulsion **40**

Liste des tableaux

Chapitre I:généralités sur l'*Eucalyptus*

Tableau I.1	Classification d'*Eucalyptus globulus*	**4**
Tableau I.2	Activité biologiques de quelques composés phénoliques	**11**

Chapitre III : Matériel et Méthodes

Tableau III.1	Les appareilles et les produits et les Matériels utilisées	**19**
Tableau III.2	Les souches bactériennes étudiées	**19**
Tableau III.3	Les principaux produits utilisés	**24**
Tableau III.4	La matrice expérimentale	**25**
Tableau III.5	Facteurs étudiés et leurs valeurs	**26**
Tableau III.6	Les compositions des formules étudiées	**26**
Tableau III.7	Les compositions des formulations stables à l'huile d'amande douce	**26**

Chapitre IV : Résultats et Discussions

Tableau IV.1	Screening des constituants chimique des feuilles d'*Eucalyptus*	**31**
Tableau IV.2	Teneur en polyphénols et en flavonoïdes	**31**
Tableau IV.3	Les paramètres physico-chimiques de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus*	**33**
Tableau IV.4	Caractères organoleptiques des différentes formules	**33**
Tableau IV.5	Etude de la stabilité à la centrifugation des formules 1 et 2	**34**
Tableau IV.6	Les valeurs de pH des formules préparées	**35**
Tableau IV.7	Le résultat de mesure la conductivité	**36**

Introduction générale

Depuis toujours, l'homme a eu recourt à la médecine traditionnelle pour se soigner de diverses maladies telles que le rhume, la toux, la tuberculose, etc. (Iserin, 2001), Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice, 1997).

L'étude de la chimie des plantes est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun et al., 1996).

L'une des classes de métabolites secondaires les plus étudiées, est celle des composés phénoliques, également appelés polyphénols, dont l'utilisation est déjà importante en phytothérapie. Selon plusieurs études, ces derniers seraient à l'origine d'un nombre important de propriétés médicinales des plantes (Hennebelle et al., 2004), Ils sont dotés de multiples vertus thérapeutiques. Ils jouent un rôle très important (Bruneton, 2009).

Le genre *Eucalyptus* inclut des espèces végétales médicinales bien connue possédants diverses propriétés biologiques, parmi eux *Eucalyptus globulus*, utilisé ses feuilles pour ses vertus médicinales, notamment antitussives et expectorantes, elle n'en a pas moins des propriétés fébrifuges, toniques, astringentes, antiseptiques hémostatiques et vermifuges (Martinetti, 2013). En médecine traditionnelle africaine, l'infusion ou la décoction de feuilles se prend ou s'emploie en usage externe dans le bain, en lotion ou en lavement (Goetz, 2012).

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'extrait *d'Eucalyptus globulus*, et afin de faciliter le processus d'utilisation quotidienne, notamment dans le domaine cosmétique et thérapeutique nous avons préparé une crème à base de l'extrait aqueux de *l'Eucalyptus*.

Notre mémoire se divise en :

- La première partie du manuscrit est consacrée à une synthèse bibliographique, celle-ci regroupera deux chapitres :

- Chapitre I porte sur des généralités sur l'*Eucalyptus*.
- Chapitre II présente des généralités sur les émulsions.

- La deuxième partie, c'est la partie expérimentale, celle-ci regroupera les chapitres suivants :

- Matériel et méthodes
- Résultats et discussions

Ce travail est achevé par une conclusion générale**.**

Chapitre I

Généralités sur l'*Eucalyptus*

I. 1. Historique et origine de la plante l'*Eucalyptus*

Les *Eucalyptus*, ont été découverts en Australie par l'explorateur et botanique français Jacques-Julien Houtou de La Billardière en Australie en 1792 (Botineau, 2010). C'est un genre très grand et diversifié, c'est l'un des arbres les plus hauts au monde, ce sont des arbres très adaptables, souvent à croissance rapide; qui présentent une grande variété au niveau de la taille adulte, de la couleur de l'écorce, de la couleur des fleurs, de la forme et de la couleur des feuilles, de la résistance aux basses températures.

Une classification complète, mais informelle, de toutes les espèces d'*Eucalyptus* connues a été publiée en 1971 par Pryor et Johnson. Elle comprend sept grands groupes basés sur l'association de plusieurs caractères morphologiques et suggérées par l'incompatibilité de reproduction entre eux. Leur système a été soumis à un examen minutieux au cours des 30 dernières années. De nombreuses améliorations de cette classification ont été proposées par Johnson lui-même et par d'autres, même s'il n'a jamais officiellement publié un système de classification (Nathalie, 2015).

Ils sont utilisés pour soigner depuis des milliers d'années en Australie. Les feuilles étaient utilisées par les Aborigènes pour traiter les fièvres (notamment la malaria), d'où son nom commun d'arbre à la fièvre *ou (Australian fever tree).* Les Aborigènes vivants en Tasmanie avaient également compris l'intérêt de l'eucalyptus par sa capacité à assécher les zones marécageuses pour éradiquer les insectes, porteurs de maladies (Batish et al ,2008 ; Martinetti, 2013).

Les *Eucalyptus* ont été introduits dans de nombreux pays, pour la production de bois ou pour assécher les sols. Les feuilles éloignent les insectes, d'où des plantations en Afrique pour diminuer la propagation de la malaria (Treiner, 2000). Un grand nombre d'espèces d'*Eucalyptus* ont été introduites en Algérie, notamment par M. Cordier de 1864 à 1876 (Trabut, 1914).

I. 2. Description botanique de la plante

Les *Eucalyptus* appartiennent à la famille des Myrtacées grande famille de 72 genres et 300 espèces, Le genre *Eucalyptus* compte environ 600 à 700 espèces et variétés (Warot, 2006). Ils sont de grands arbres dont certains peuvent dépasser 100 m de hauteur, mais la moyenne des espèces les plus courantes est de 40 à 50 m, d'autres ont des dimensions plus faibles (Traore et al., 2013). Parmi les espèces les plus connues sont : *Eucalyptus globulus* (gommier bleu), *Eucalyptus camaldulensis* (gommier rouge), *Eucalyptus radiata* (*Eucalyptus* radié), *Eucalyptus regnans* (le plus grand des *Eucalyptus*), *Eucalyptus smithii* (*Eucalyptus* de Smith), *Eucalyptus citriodora* (*Eucalyptus* citronné).

Les *Eucalyptus* ont des capacités de survie et de croissance exceptionnelle, ce qui leur permet de coloniser des terrains nus dévastés par les feux, les inondations, l'activité volcanique, grâce notamment aux graines petites et nombreuses. La plupart des eucalyptus sont à feuillage persistant (Jacob, 1936). Une autre caractéristique est que les feuilles ont des formes différentes à différents stades du cycle de développement (Penfold et Willis, 1961).

I. 3. Présentation d'*Eucalyptus globulus*

Bel arbre des Angiospermes, fleurit de juin à novembre, les graines sont mûres de fin décembre à avril. Bois blanc verdâtre souvent à fibre torse il est utilisé pour les travaux en mer parce que non attaqué par les tarets. En Espagne, au Portugal et en Afrique du Sud, c'est un fournisseur de pâte à papier. Ce sont les feuilles d'*E globulus* qui sont vendues par les herboristes parce que riches en eucalyptol (Jacques, 1966).

I. 3. 1. Nomenclature

Il est connu sous les noms de "gommier bleu", "arbre au koala", "arbre à la fièvre" et "eucalyptus officinal "(Ait Youssef, 2006).Le nom botanique fut créé par le botaniste français Charles-Louis L'héritier de Brutelle en 1792. Le nom « *Eucalyptus* » vient du grec eu qui signifie « bon » ou « bien » et de kalypto qui signifie « couvrir », car les Pétales et sépales sont soudés. Le nom commun de « gommier » fait allusion à la gomme résineuse rouge qu'ils exsudent quand ils sont blessés (Lis-Balchin, 2006; Louppe, 2008). Calitouss et Kafor, ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions.

I. 3. 2. Classification de dans la systématique botanique

Selon la classification scientifique APG (Angiospermes Phylogeny Group) (Guignard, 2001), le genre *Eucalyptus* appartient à la famille de *Myrtaceae*.

Tableau I .1. Classification d'*Eucalyptus globulus*

Embranchment	Phanérogames
Sous Embranchment	Angiospermes
Ordre	Myrtales
Famille	*Myrtaceae*
Genre	*Eucalyptus*
Espèce	*Eucalyptus globulus*

I. 4. Caractéristiques morphologiques

- ✓ **L'écorce (fig. I. 1)**

Son tronc variant du blanc au gris est lisse, la vieille écorce se détache en grandes lanières qui pendent le long du tronc et des branches principales ce qui donne un aspect particulier à l'espèce (Menager, 1952). Son écorce se détache facilement en bandes longues (Nathalie, 2015).



Fig. I. 1. L'écorce d'*Eucalyptus globulus* (Nathalie, 2015).

- ✓ **Feuillage**

Les *Eucalyptus globulus* portent des feuilles persistantes, coriaces, glabres mais différentes en fonction de l'âge des rameaux: les jeunes rameaux possèdent des feuilles larges (fig. I. 2), courtes, opposées, sessiles, ovales, bleu-blanc et cireuses, avec un vrai limbe nervuré. Les rameaux plus âgés possèdent des feuilles aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30 cm, étroites, pointues, épaisses, vert foncé, courtement pétiolées, alternes et pendantes verticalement (Goetz et Ghedira, 2012).



Fig. I. 2. *Eucalyptus globulus* (a) Jeune rameau (b) rameau adulte (Mekelleche, 2015)

✓ **Les fleurs**

Les fleurs naissent à l'aisselle des feuilles et sont de couleur blanc crème (en bouton de couleur (blanc-bleu) (fig. I. 3), en toupie surmontée d'une pseudo-corolle en forme de coiffe qui tombe lors de l'épanouissement, laissant apparaitre un panache d'étamines (Baba Aissa, 1999).



Fig. I. 3. La fleur d'*Eucalyptus globulus*

✓ **Fruit et graine**

Le fruit ligneux (fig. I. 4) est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes

(qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Goetz et Ghedira, 2012).



Fig. I. 4. Les Fruits et les graines de l'*Eucalyptus globulus* (Mekellech, 2015)

I. 5. Principaux Composants chimiques du genre *Eucalyptus*

- Huile essentielle (Oxydes terpéniques : 1,8-cinéole; monoterpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, paracymène ; Sesquiterpènes : aromadendrène ; Sesquiterpènes : globulol, lédol) ;
- Flavonoïdes (des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine) ;
- Tanins (Daroui-Mokaddem, 2012).

I. 6. Usage thérapeutiques

L'*Eucalyptus* est connu pour ses bienfaits sur le système respiratoire, On utilise les feuilles en infusion, en inhalation, fumigation et sous forme de cigarettes (Sijelmassi, 1991). L'*Eucalyptus globulus* est un antiseptique et un antispasmodique des voies respiratoires (Sijelmassi, 1991), sédatif, hypoglycémiante, antirhumatismal, stimulant et vermifuge.

On l'utilise donc pour soigner les maladies de refroidissement, le diabète, les douleurs rhumatismales, certaines affections des voies urinaires, les migraines, les sinusites et les vers intestinaux (Perroti et al., 1999).L'extraction d'huile essentielle est réalisée à partir des feuilles et rameaux (Padrini et Lucheroni, 1996).

Les propriétés remarquables d'*Eucalyptus globulus* sont appréciées à leur valeur, et on se préoccupe d'en tirer parti, non seulement pour la thérapeutique, mais encore pour l'assainissement des pays marécageux (Ait Youssef, 2006). En effet, les propriétés absorbantes qu'il procure, les émanations aromatiques qu'il répand autour de lui suggèrent qu'il peut jouer un

rôle salutaire dans les pays marécageux et exercer une action salubre sur laquelle on avait cru pouvoir compter pour assainir les pays infestés par le paludisme (Batish et al., 2008 ; Leicachet al., 2012).

II. L'activité biologique des extraits de végétaux

II. 1. Les polyphénols

Les composés phénoliques forment une famille de molécules organiques largement distribuée dans le règne végétal. Ils sont qualifiés de métabolites secondaires, car ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de la plante, comme la croissance ou la reproduction, ils ne sont donc pas strictement indispensables à la vie du végétal. Cependant, ils jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Présents dans toutes les parties de la plante, ce sont les métabolites secondaires les plus abondants du règne végétal (Dai et Mumper, 2010).

L'élément structural fondamental qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un groupement phénolique (fig. I. 5), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside. Ils sont communément subdivisés en acides phénoliques (dérivés de l'acide benzoïque ou cinnamique), coumarines, stilbènes, flavonoïdes, lignanes, lignines et tanins.

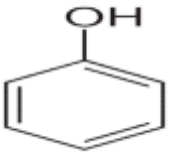


Fig. I. 5. Structure chimique du groupement phénolique (Cheynier, 2005).

II. 1. 1. Classification

- ✓ **Les acides phénoliques**

Un acide-phénol (ou acide phénolique) (fig. I. 6) est un composé organique possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Le nombre de carbones dans la chaîne renfermant la fonction acide définit le type d'acide phénolique comme l'acide gallique ou caféique par exemple. Ces deux acides sont connus pour leurs activités antioxydantes et antiradicalaires. Pour l'acide caféique, il se montre très efficace contre les virus, bactéries et champignons (Hsu et al, 2006).

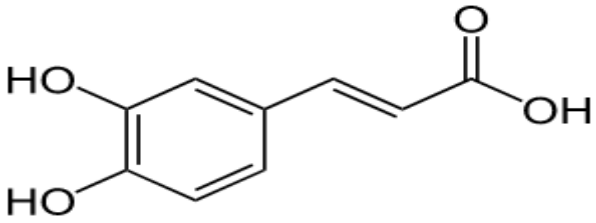


Fig. I. 6. Structure chimique de l'acide phénolique.

✓ **Tanins**

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, ils possèdent la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes, et les polysaccharides (fig. I. 7). Ils sont utilisés par les plantes supérieures comme moyen de défense chimique contre les parasites et une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Ozcan et al., 2014).

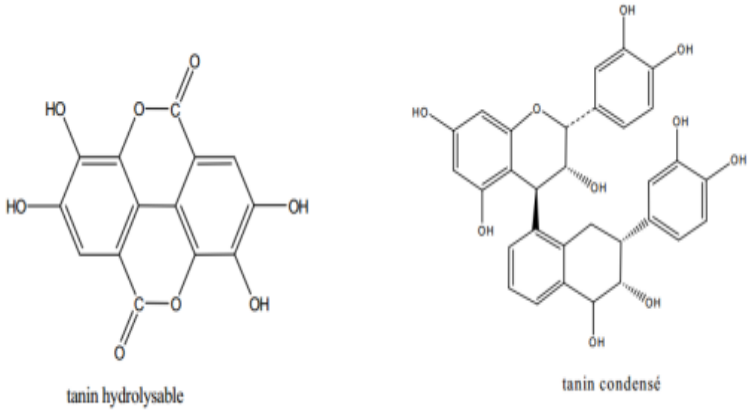


Fig. I. 7. Structures des tannins (Bahaz et Rachdi, 2010).

✓ **Les flavonoïdes**

Les flavonoïdes au sens large sont des pigments quasiment universels des végétaux. Structuralement, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les flavones, les flavonols, les flavanones, les dihydroflavonols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces diverses structures se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides (fig. I. 8). On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits (Paris et Hurabielle, 1980).

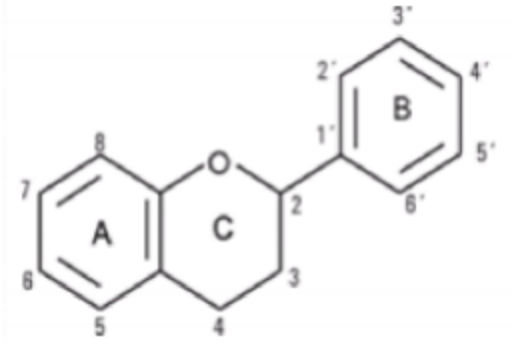


Fig. I. 8. Structure de base d'un flavonoïde (Laguerre et al, 2007).

- ✓ **Les saponines**

Les saponines sont des molécules naturellement produites par des plantes ou des animaux, dont le rôle n'est pas encore clairement cerné. Ce sont des hétérosides complexes dits saponosides, appartenant aux terpènes cycliques (nom générique donné aux hydrocarbures saturés cycliques ou acycliques ayant pour motif de base le terpène) ou aux stéroïdes (fig. I. 10). On les trouve chez de nombreux végétaux (salsepareille, quinoa...) mais sont dégradées à la cuisson. Douées de propriétés tensioactives, les saponines font mousser leurs solutions et servent de détergent. Elles présentent une toxicité plus ou moins importante (selon les saponines, les espèces qui les ingèrent, et le contexte).

Injectées dans le sang ou dans les tissus, elles provoquent la dissolution (lyse) de cellules ou de tissus sous l'influence d'agents chimiques, physiques ou biologiques des globules rouges (Paolini et al., 2003).

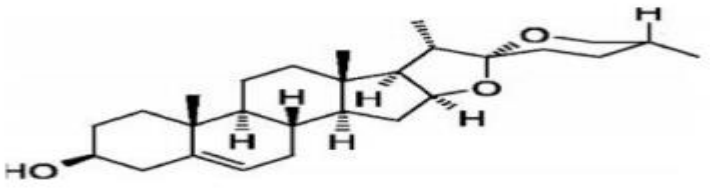


Fig. I. 10. Structure générale des saponines stéroïdique (Garai, 2014).

II. 1. 2. Activités antimicrobiennes

Les polyphénols sont doués d'activités antimicrobiennes importantes et diverses, probablement dû à leur diversités structurales (tableau I. 2). Les sites et le nombre des groupes

hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés et plus ils sont inhibiteurs des microorganismes (AliShdayeh et al., 1997).

Tableau I. 2. Activité biologiques de quelques composés phénoliques

Polyphénols	Activités	Auteurs
Acide phénoliques	Antibactérien Antifongique Antioxydants	(Didryet al., 1982) (Ravnet al., 1984) (Haase et Kato, 1984)
Flavonoïdes	Anti tumorales Anti carcinogènes Anti-inflammatoire Hypotenseur et diurétiques Antioxydants	(Stavric et Mutula, 1992) (Daset al., 1994) (Daset al., 1994) (Bidet et al., 1987) (Bruneton, 1993)

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al. (2009), ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes :

- ✓ D≥30mm : Très fortement inhibitrice.
- ✓ 21mm≤D≤29mm : Fortement inhibitrice.
- ✓ 17mm≤D≤20mm : Modérément inhibitrice.
- ✓ 11mm≤D≤16mm : Légèrement inhibitrice.
- ✓ D<10mm : Non inhibitrice.

II. 1. 3. Activité antioxydant

Un antioxydant peut être défini comme toute substance qui est capable d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats par les espèces réactives.

Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques (superoxyde dismutase, catalase et la glutathion peroxydase) et des petites molécules hydrosolubles ou liposolubles (Vit. E, Vit. C, oligoéléments et les polyphénols) (Droge, 2002).

- **Les principaux antioxydants naturels**

Plusieurs substances peuvent agir en tant qu'antioxydants, *In- vivo,* ont été proposées. Elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine E…etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres (Cheklat, 2018).

- **Mécanisme d'action des antioxydants**

D'une manière générale, en s'oxydant lui-même plus rapidement qu'un autre, un antioxydant pourra empêcher l'oxydation d'un autre substrat. Un tel effet résulte d'une structure de donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques, cas des dérivés du phénol. Les antioxydants interviennent en interrompant la réaction en chaine de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un autre acide gras (Bersert et Cervelier, 1996).

Chapitre II

Généralités sur les émulsions

II. Les émulsions

II.1. Définition d'émulsion

Une émulsion est, selon la définition courante, une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides étant non miscibles : - le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne ; - l'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe. Les émulsions appartiennent donc aux systèmes dispersés.

La définition traditionnelle de l'émulsion comme dispersion liquide/liquide a été modifiée I'IUPAC (International Union of Pure and Applied par Chemistry) pour y inclure les cristaux liquides (le cristal liquide désignant un état combinant les propriétés d'un liquide conventionnel et celles d'un solide cristallisé). Une émulsion est donc une dispersion liquide/liquide ou cristal liquide/liquide. Cette modification se justifie par le fait que de nombreuses émulsions commerciales, dans toutes les bio-industries, contiennent de telles structures. Les deux phases non miscibles de l'émulsion n'ont pas la même solubilité. L'une est hydrophobe ou lipophile. On parle couramment de phase huileuse (mais elle n'est pas forcément lipidique). L'autre est hydrophile. On parle aussi de phase aqueuse.

II. 2. Composition

Une émulsion est en général composée de deux phases : une phase hydrophile et une phase lipophile.

II. 2. 1. Phase hydrophile

La phase hydrophile appelée aussi phase aqueuse ou phase dispersante contient de l'eau et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ion minéraux, acides, bases, protéines, glucides et vitamines etc.

II. 2. 2. Phase lipophile

La phase lipophile appelée aussi phase huileuse, phase dispersée, phase grasse ou phase organique qui contient de l'huile et d'autres produits de stabilisation et de viscosité comme les émulsifiants et les polymères (Fig. II. 1).

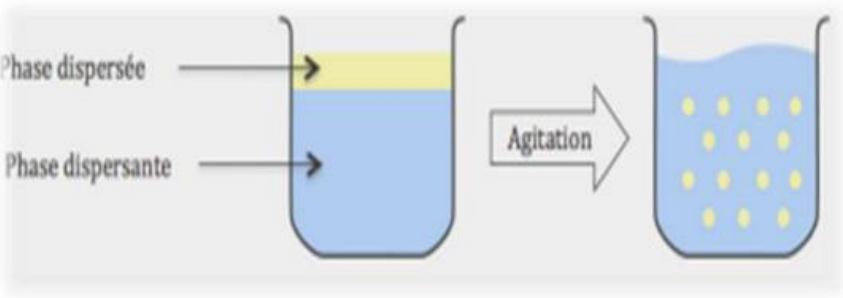


Fig. II. 1. Représentation schématique d'une émulsion (Bouregaa et Hayaoui, 2021)

II. 2. 3. Les émulsifiants

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre. En raison de cette instabilité les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, formant un film interfacial, ou film mince, ou membrane interfaciale, autour des globules de phase dispersée (fig. II.2) (Gasmi, 2017).

.

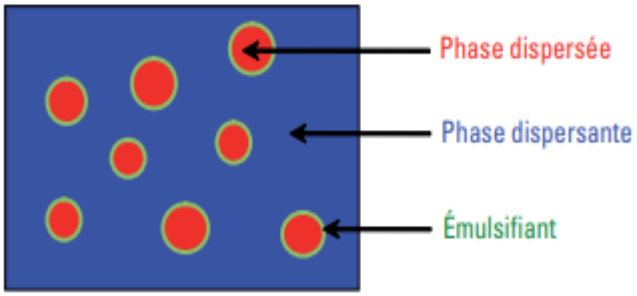


Fig. II. 2. Représentation d'une émulsion avec émulsifiant (Gasmi,2017)

II. 3. Les types des émulsions

Les émulsions peuvent être classées selon leurs types et le nombre de phases comme suivant :

II. 3.1. Émulsions simples

Elles sont composées d'une phase lipophile (L ou H), d'une phase hydrophile (H ou E) et d'un émulsifiant. Suivant que la phase continue est lipophile ou hydrophile, on définit deux types d'émulsions. Les symboles utilisés (L ou H) désignent toujours la phase dispersée en premier. Les

émulsions de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées émulsions inverses (Bouzid et Kehal, 2020).

II. 3. 2. Emulsion multiple (fig. II. 3): Il s'agit de l'émulsion d'émulsions ou dispersion d'émulsion

- ✓ Emulsion L/H/L, c'est la dispersion d'une émulsion H/E dans une phase aqueuse ;
- ✓ Emulsion H/L/H, c'est la dispersion d'une émulsion E/H dans une phase huileuse (El-Hadjdahmane et Mazari, 2021).

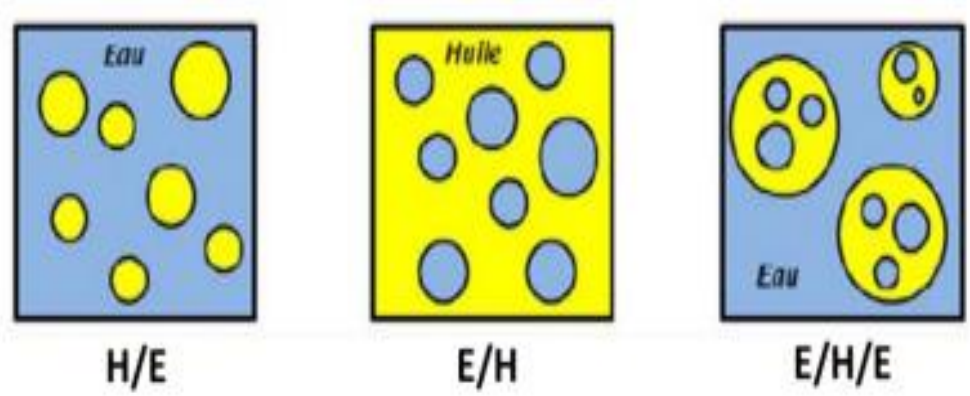


Fig. II. 3. Schémas représentant des émulsions simples H/E et E/H et une émulsion multiple E/H/E (Desplan,2018).

II. 4. Les classes d'émulsions

Suivant la taille des globules, les émulsions se divisent en plusieurs classes :

II. 4. 1. Macroémulsions, ce sont des émulsions classiques dont le diamètre moyen des gouttelettes est supérieur ou égal au micromètre. La taille des gouttes peut être comprise entre 0.5 et 500 µm.

II. 4. 2. Nano/mini émulsions, ces deux termes sont utilisés pour nommer des systèmes biphasiques, constitués de gouttelettes de tailles comprises entre 20 et 200 nm. En raison de la taille des gouttelettes, les nanoémulsions sont transparentes ou translucides à l'œil nu et sont stables à la sédimentation ou au crémage. La préparation des nanoémulsions exige soit l'utilisation de méthodes hautement énergétiques, comme la microfluidisation, ou bien l'utilisation de méthodes non conventionnelles et complexes, mais de faible consommation énergétique, comme l'inversion de phase. L'avantage des miniémulsions est leur extraordinaire stabilité au vieillissement et à la dilution.

II. 4. 3. Microémulsions, ce terme est utilisé aujourd'hui pour désigner un système monophasique dans lequel un tensioactif particulièrement performant rend possible la coexistence, à l'échelle quasi

moléculaire, des phases eau et huile. Contrairement aux (macro ou nano) émulsions, elles sont thermodynamiquement stables (Yahoum, 2017).

II. 5. Stabilité et instabilité des émulsions

Du fait de leur nature, les émulsions sont thermodynamiquement instables. Les collisions, lors desquelles les gouttelettes peuvent soit rebondir soit s'agréger, ont des causes diverses selon les conditions dans lesquelles est placée l'émulsion. Les phénomènes de déstabilisation fréquemment rencontrés dans les émulsions cosmétiques sont relativementnombreux et bien décrits dans la littérature (fig. II. 4) (Slimani et Ayad, 2012).

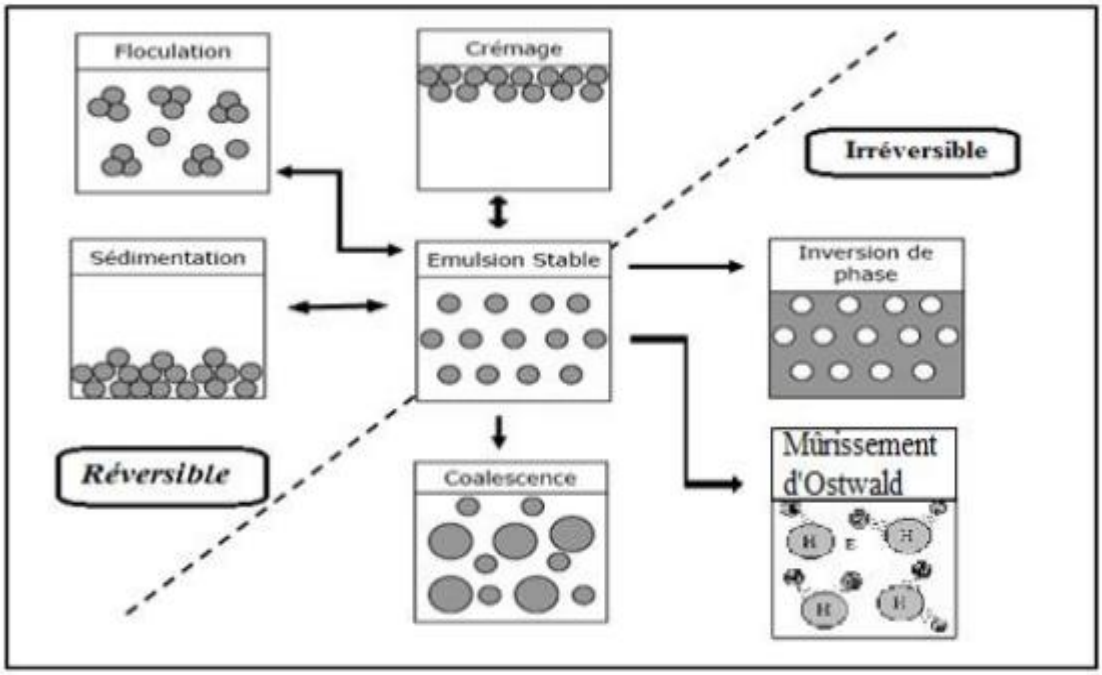


Fig. II. 4. Phénomènes d'instabilité des émulsions (Slimani et Ayad, 2012)

- **Le crémage ou la sédimentation,** provoque une séparation gravitationnelle en fonction de la densité de la phase dispersée.
- **La floculation,** est le passage d'un système dispersé à un système non-dispersé dans lequel existent des agrégats appelés flocs, elle peut être due :
  - aux forces attractives présentes dans le système ;

- à un déficit en tensioactif, par exemple, ce qui induit une séparation de phase, encore appelée floculation par pontage ;
- à l'écoulement du solvant hors de la région entre deux gouttelettes du fait d'une différence de pression osmotique, c'est la floculation par déplétion (Dubuisson, 2017).

- **La coalescence,** consiste en la rupture du film présent entre deux gouttelettes au point de contact et la formation d'une plus grosse gouttelette.
- **le mûrissement d'Ostwald,** représente la diffusion du contenu des petites gouttelettes vers les plus grandes gouttelettes via la phase externe, à cause d'une tension interfaciale élevée, d'une phase dispersée soluble ou d'une différence de pression de Laplace élevée, jusqu'à disparition complète des petites gouttelettes qui entraîne une augmentation de la taille moyenne des gouttelettes dispersés dans l'émulsion (Caullet et al., 2018) ;
- **L'inversion de phase,** pour laquelle une émulsion E/H se transforme en H/E et inversement due à un mauvais choix de matières premières et notamment de tensioactif ou à une augmentation de la température (Dubuisson, 2017).

II. 6. Domaine d'application les émulsions

Parmi les différents domaines existant dans la formulation Nous s'intéressons aux :

II. 6. 1. Formulation cosmétique

Par définition, la cosmétique, terme générale appliqué à tout substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les divers parties superficielles du corps humains ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue exclusivement ou principalement de les nettoyer de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de corriger les odeurs corporelles les et/ou de les protéger ou les maintenir en bon état (Baures et al., 2009).

II. 6. 1. 1. Cosmétique naturelle

Bien que le terme « cosmétique naturelle » ne dispose toujours pas d'une véritable définition légale, les produits répondent néanmoins à certaines exigences spécifiques. En premier lieu, ils ne sont pas testés sur les animaux, leurs ingrédients viennent d'un commerce de matières premières durables et équitables et sont d'origine naturelle. Ensuite, les cosmétiques naturels sont généralement exempts d'additifs tels que les paraffines, les dérivés du pétrole, les huiles minérales et les conservateurs synthétiques. Enfin, qu'il s'agisse d'un véritable produit à base de plantes ou pas, c'est la présence d'un label de qualité qui indiquera la nature du produit au consommateur (Kara et al., 2017).

II. 6. 1. 2. Cosmétique conventionnelle

Dans la cosmétique conventionnelle, on trouve des ingrédients d'origine synthétique et parfois même d'origine animale. L'impact des cosmétiques dérivés de la pétrochimie sur l'organisme est difficile à prévoir à, plus ou moins, long terme. De plus, la plupart des procédés de fabrication utilisée pour la transformation des matières ont des effets néfastes pour l'environnement. Ces ingrédients de synthèse permettent d'obtenir des textures et des parfums agréables avec des formules dites efficaces. Malgré cet état de fait, on continue à nous servir des arguments prétendant que les doses contenues dans ces cosmétiques sont si infinitésimales que les risque de toxicité ou d'allergie sont faibles pour l'homme (Kara et al., 2017).

II. 6. 2. Formulation pharmaceutique

Ce type de formulation consiste en général au développement pharmaceutique et transformer un principe actif en un médicament (Gibson, 2004).

L'utilisation des méthodes d'études de criblage des facteurs est très utile pour comprendre et définir l'influence des différents facteurs, la possibilité d'existence d'interaction entre les uns et les autres, et ainsi de prendre les bons choix pour la conduite d'une bonne formulation (Rodriguez et al., 1996).

Chapitre III

Matériel et Méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau de Laboratoire des Sciences de la Matière (SM) faculté des sciences, De l'université de Médéa.

L'objectif de ce travail est de formulation d'une crème en utilisant un extrait végétal, à effet thérapeutique anti-acnéique, ainsi qu'un émulsifiant naturel, pour application topique. La crème formulée est une émulsion (H/E).

III. 1. Matériel

III. 1. 1. Matériel du laboratoire

Tableau III. 1. Les appareilles et les produits et les Matériels utilisées.

Appareillages	Produits	Matériels
Balance, densitomètre, Etuve, microscope optique, agitateur, pH mètre, conductimètre, Bras mixeur, centrifugeuse, bain marie, autoclave, réfractomètre, micropipette.	$AlCl_3$, $FeCl_3$, H_2SO_4, NaoH, HCl, Na_2CO_3, folin-ciocaleu, acide acétique, chloroforme, solution de Fehling.	Spatule, tubes à essais, verre de montre, fioles, bicher, erlenmeyer, entonnoir pipette pasteur, pipettes jaugées, éprouvettes, boites de Pétri.

III. 1. 2. Matériel biologique

III. 1. 2. 1. Matériel végétal

Les feuilles de l'*Eucalyptus globulus* sont récoltées dans la ville de Médéa, pendant le mois de février de l'année 2022. La récolte a été faite d'une manière aléatoire, après identification de la plantes, les feuilles sont nettoyées des poussières et autres impuretés, puis mises à sécher pendant dix jour. Après le séchage, la matière sèche broyée a été utilisée pour l'extraction.

III. 1. 2. 2. Les souches microbiennes

L'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* a été testée contre quatre bactéries pathogènes qui sont cités dans le tableau III. 2.

Tableau III. 2. Les souches bactériennes étudiées

Nome de la souche	Type	Référence
Bacillus subtilis	Gram+	ATCC 6633
S. epidermidis	Gram+	ATCC12228
Escherichia coli	Gram-	ATCC 8739
Staphylococcus aureus	Gram +	/

III. 2. Préparation de l'extrait végétal

- ✓ **Extraction par décoction**

On prend 20g de la poudre végétale de l'*Eucalyptus globulus*, auquel on ajoute 200ml d'eau, on laisse le mélange bouillir sur le chauffage à T°= 60C°, pendant 1h sous agitation magnétique. Puis, on filtre et on concentre le filtrat avec le rota-évaporateur à une température de 65C° à 68C°. L'extrait aqueux obtenu, est séché à l'étuve à 40C°pendants 24h, L'extrait est conservé à 4 C°, Les étapes de l'extraction sont résumées dans la figure III.1

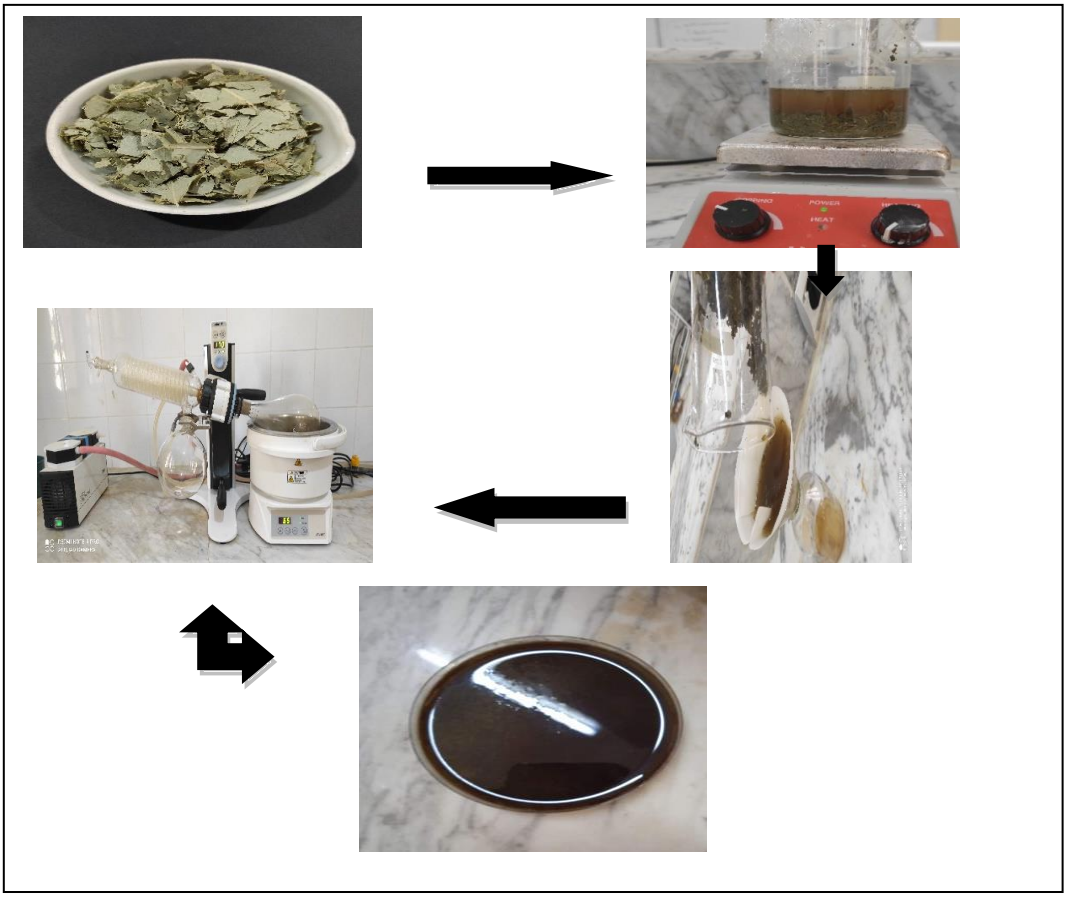


Fig. III. 1. Les différentes étapes de l'extraction.

✓ **Calcul de rendement**

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante qui donnée par Falleh et ses collaborateurs (2008).

$$R\ (\%) = M_{ext} / M_{ech} \times 100$$

Sachant que :

R : rendement de l'extrait en %

M_{ext} *: masse de l'extrait en gramme*

M_{ech} *: masse de la matière végétale utilisée en gramme*

III. 3. Analyse phytochimique de l'extrait

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaire constituants de l'extrait de l'*Eucalyptus globulus* a été faite selon les méthodes standards de screening phytochimique (Kumar et al., 2010 ; Dohou et al., 2003).

La quantité de la substance recherchée est proportionnelle soit à l'intensité du précipité formé ou à l'intensité de la couleur.

III. 3. 1. Screening des composés chimiques

✓ **Recherche des phénols**

3ml de l'extrait est mélangée avec 3ml de l'éthanol et quelque gouttes de de $FeCl_3$.

✓ **Recherche des tanins**

On ajoute 3 gouttes de solution de F_eCl_3 (1%) à 1ml d'échantillon, puis on fait une incubation pendant 2min.

✓ **Recherche des flavonoïdes**

A 0.5ml de l'extrait, on ajoute 2ml d'eau distillée, 1ml de NaOH (10%),et quelque goutte de HCl (33%).

✓ **Recherche des saponosides**

On met 1ml d'extrait dans 5ml d'eau distillée et agite verticalement pendant 20 secondes.

III. 4. Analyse quantitative

III. 4. 1. Dosage des flavonoïdes totaux

La méthode du trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ (Kosalec et al., 2004) a été adoptée pour quantifier les flavonoïdes dans l'extrait.

➢ **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ces réactifs. Elle entraîne la formation d'un complexe brunâtre qui absorbe à 430nm. La comparaison de la D.O

observée à celle obtenue par un étalon de quercétine (Athamena, 2009), de concentration connue, cité dans l'Annexe.

- **protocole**

Le dosage des flavonoïdes totaux représentés dans le diagramme dans la figure III. 2. L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 430 nm. Le résultat est exprimé en mg équivalent quercétine par gramme de la matière sèche de la plante.

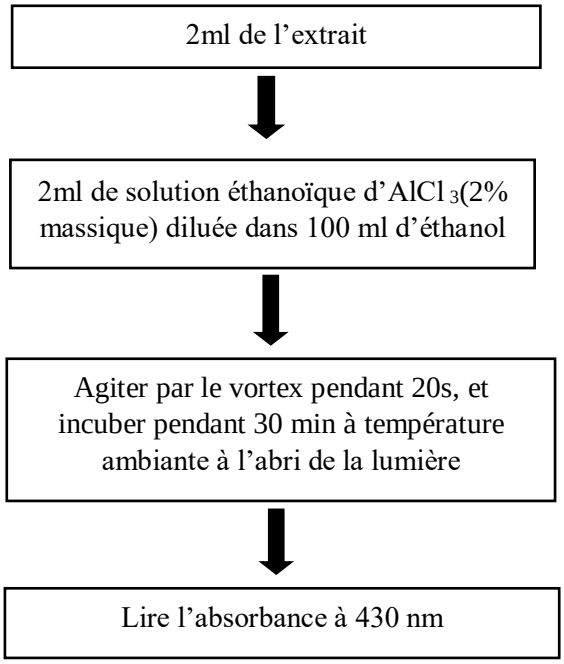


Fig. III. 2. Les étapes du dosage des flavonoïdes totaux.

III. 4. 2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1999).

- **Principe**

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, elle entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène de couleur bleu qui absorbe à 700 nm, le dosage de PPT est effectué par la comparaison de la D.O observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique (Athamena, 2009), de concentration connue, cité dans l'Annexe.

- **Protocole**

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait de la plante d'eucalyptus globulus représenté par le diagramme de la figure III. 3. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 700 nm. Le résultat est exprimé en mg de acide gallique (mg EQ/g Ms) sur la base de la courbe standard de l'acide gallique.

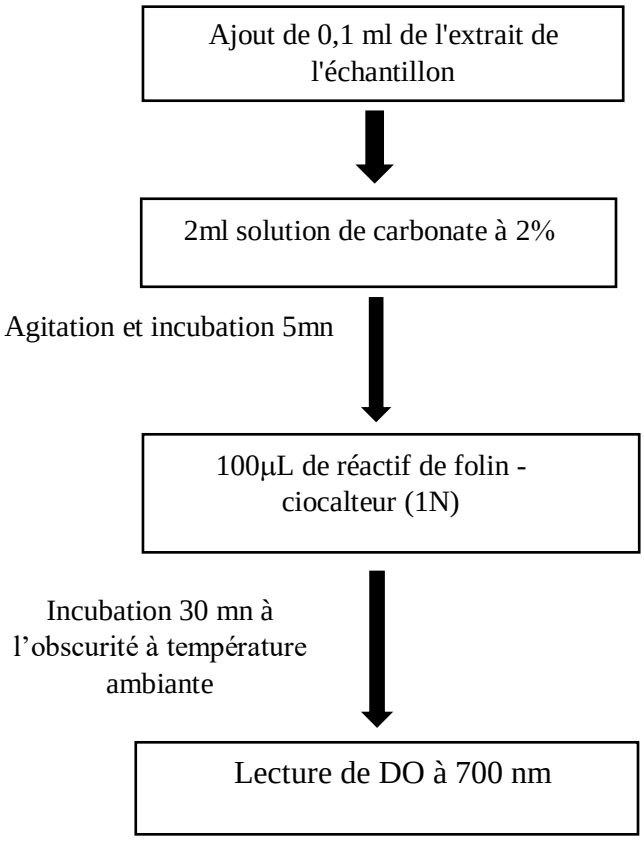


Fig. III. 3. Etapes de dosage des polyphénols

III. 5. Analyse physico-chimiques de l'extrait

- ✓ **Mesure de pH et de la conductivité**

  Mesurés à l'aide d'un pH-mètre et d'un conductimètre, respectivement. Les électrodes sont plongées dans un volume V de l'échantillon et la valeur du pH et de la conductivité sont affichées directement sur l'afficheur de l'appareil.

- ✓ **Mesure de la densité**

  Elle est directement mesurée à l'aide d'un densitomètre, en prenant un volume de l'extrait que l'on met à l'intérieur du densitomètre. La valeur est directement lue.

- ✓ **Mesure de l'indice réfraction**

  L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre à température ambiante.

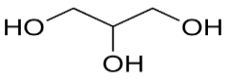
III. 6. La formulation

L'objectif de notre étude est la préparation d'une crème (émulsion) à base de produits naturels à savoir : un extrait végétal, comme phase aqueuse, l'huile d'amande comme phases huileuse, en faisant varier les proportions des principaux ingrédients. Pour cela on a utilisé la technique de plan d'expérience qui permet, de planifier les essais de formulation et faire varier plusieurs facteurs à la fois.

III. 6. 1. Produits utilisés

Les principaux produits utilisés pour la réalisation de notre expérience sont regroupés dans le tableau III. 3.

Tableau III. 3. Les principaux produits utilisés

	Produits	Principales caractères
Phase aqueuse	Eau distillé	-C'est une eau préparée par distillation à partir de l'eau potable, nous l'utilisons pour la préparation les différentes formulations
	Extrait végétale	-C'est l'extrait de l'*Eucalyptus*, nous l'utiliserons comme phase aqueuse dans la préparation de l'émulsion - **odeur :** bon odeur, **Couleur :** marron
	Chitosane	-**Apparence :** solide translucide et amorphe, -**Couleur :** blanc cassé, **Odeur :** inodore -**Solubilité :** soluble dans les solutions acides aqueuses
	Gomme xanthane	-**Apparence :** Poudre blanchâtre inodore -**Formule brute :** $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$ - **solubilité :** soluble dans l'eau, insoluble dans l'éthanol
	Glycérine 	-**Aspect :** liquide, transparent, **Couleur :** incolore, - **saveur et à l'Odeur :** inodore, faiblement toxique, au goût sucré - **Toucher :** visqueux
Phase huileuse	Huile d'olive	-**Aspect :** liquide huileux fluide, **Couleur :** verte **Saveur et à l'Odeur :** naturelle agréable
	Huile d'amande Douce	-**Aspect :** liquide huileux fluide, **Couleur :** légèrement jaune, **Odeur :** douce et discrète, **Toucher :** gras
	Lécithine de soja	-**Aspect :** liquide visqueux, huileux**, couleur :** jaunâtre **Odeur :** quasi inodore, **Toucher :** gras
	Emulsifiants commerciaux	Emulsifiant 1 Emulsifiant 2 Emulsifiant 3

III. 6. 2. Techniques de formulation

Dans cette étude nous avons réalisé deux séries d'expériences. Dans la première, on a utilisé le chitosane, biopolymère biodégradable, comme émulsifiant. Et dans la deuxième série on a utilisé la lécithine de soja comme émulsifiant.

La première partie de l'étude consistera à faire des essais préliminaires et préparer deux séries d'émulsions avec différentes quantité en chitosane (série 1), puis en lécithine de soja (série 2).

Les résultats obtenus nous ont permis de choisir, parmi les séries d'émulsions réalisées, la formule la plus stable en apparence et le pourcentage optimal des phases pour étudier leur stabilité.

III. 6. 2. 2. Type d'émulsification

C'est une émulsification de type huile dans l'eau (H/E), à chaud. L'introduction de la phase huileuse se fait goutte à goutte dans la phase aqueuse à 70°C. Au préalable le tensioactif est rajouté à la phase aqueuse ou bien à la phase huileuse selon la nature de l'émulsifiant utilisé. Chaque série est formulée en deux types :

Type (A): (10 / 90; H/E)

Type (B): (40 /60; H/E)

III. 6. 2. 3. Formulation de l'émulsion

Le mode opératoire qu'on a suivi dans cette étude est simple et effectué dans les conditions d'hygiène et les bonnes pratiques de fabrication afin d'assurer la qualité hygiénique de la crème sans contamination microbiologique.

Toutes nos expériences de formulation ont été réalisées selon la matrice expérimentale présentée dans le tableau III. 4.

Tableau III. 4. La matrice expérimentale

	X_1	X_2	X_3
1	+	+	-
2	-	+	+
3	+	-	+
4	-	-	-
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0

Les différentes variables étudiées ainsi que leurs valeurs sont présentées dans le tableau III. 5.

Tableau III. 5. Facteurs étudiés et leurs valeurs

Facteur	Valeur		
	+	0	-
X_1 : solution de Chitosane 3% (g) ($1^{ère}$ série)	20	15	10
X_1 : lécithine de soja (g) ($2^{ème}$ série)	5	4	3
X_2 : gomme xanthane (g)	0.6	0.45	0.3
X_3 : ajustement de Ph	6.5	6	5.5

(+) la valeur maximale, (0) la valeur moyenne et (-) la valeur minimale.

III. 7. Composition des émulsions

L'objectif de notre travail est la préparation d'une émulsion H/E avec une proportion aqueuse très importante et en utilisant le chitosane comme émulsifiant. En cherchant la stabilité mécanique, plusieurs émulsions ont été préparées, afin de trouver la formule la plus stable. Le tableau III. 6, présente toutes les compositions détaillées de chaque émulsion.

Il est à noter qu'on a ajouté la formulation 3, à cause de l'instabilité des émulsions préparées lors des expériences de la série 1 et 2.

Tableau III. 6. Les compositions des formules étudiées

Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3
Phases aqueuse	Phases aqueuse	Phases aqueuse
-Eau distillé -Chitosane -Gomme xanthane -2ml de glycérine	- Eau distillé - gomme xanthane - glycérine (2ml)	-Eau distillé -gomme xanthane - glycérine (3ml)
Phases huileuse	Phases huileuse	Phases huileuse
-l'huile d'olive	- l'huile d'olive - lécithine de soja	-l'huile d'olive - les 3 émulsifiants : * Emulsifiant 1 (3g) * Emulsifiant 2 (2.5g) * Emulsifiant 3 (2g)

Après avoir préparé et caractérisé les émulsions présentées dans le tableau III. 6, les émulsions stables ont été reprises en utilisant l'huile d'amande à la place d'huile d'olive et l'eau distillé par l'extrait végétal (tableau III. 7).

Tableau III. 7. Les compositions des formulations stables à l'huile d'amande douce

Formulation 2	Formulation 3
Phases aqueuse	Phases aqueuse
- Extrait d'*Eucalyptus* - Gomme xanthane - Glycérine	- Extrait d'*Eucalyptus* - Gomme xanthane - Glycérine
Phases huileuse	Phases huileuse
- L'huile d'amande - Lécithine de soja	- L'huile d'amande - Les 3 émulsifiants

III. 8. Procédé de formulation

Dans notre travail on a procédé par la méthode d'émulsification à chaud selon le diagramme présenté dans la figure III.4.

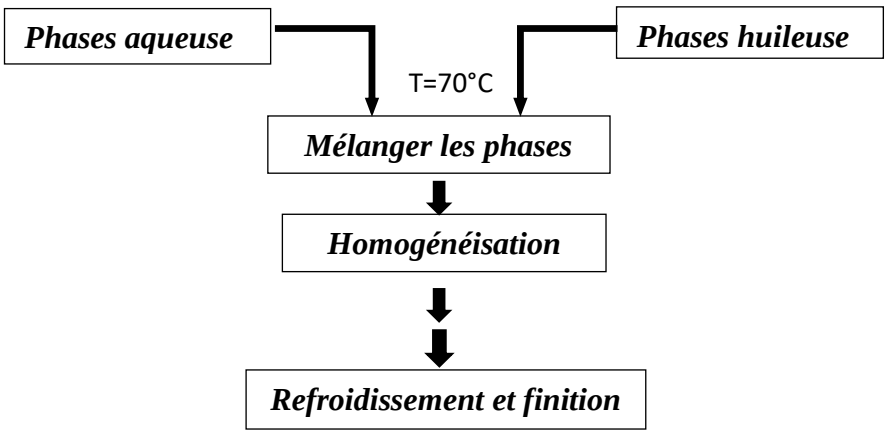


Fig. III. 4. Diagramme présentant les différentes étapes de préparation des émulsions

III. 8. 1. Etape de préparation la phase huileuse et la phase aqueuse

La première étape consiste en la préparation de la phase huileuse et la phase aqueuse. Il s'agit de peser dans des récipients séparés les ingrédients de chaque phase et seront portés au bain-marie, à une température de 70°C.

II. 8. 2. Etape d'émulsification

Afin d'avoir une formulation bien homogène, la phase huileuse est ajoutée goutte à goutte à la phase aqueuse à 70°C en maintenant l'agitation pendant 5minutes à l'aide d'un mélangeur afin de faciliter la dispersion, pour obtenir une émulsion de type (H/E). Lorsque l'émulsion commence à prendre, le récipient est placé dans un bain d'eau froide pour accélérer le refroidissement et la formation de l'émulsion. À la fin de l'émulsification, ajuster le pH par les solutions HCL (2M) et NaoH (2M).

Après cette étape l'émulsion est introduite dans des tubes et flacons en verre pour les différents tests et contrôles. Ces échantillons doivent être conservés à température ambiante et dans un endroit sec pour l'étude de la stabilité physique.

III. 8. 3. Caractérisation physico-chimique des émulsions formulées

La caractérisation sont des opérations visant à déterminer, à l'aide de moyens appropriés, si le produit préparé est conforme ou non aux spécifications ou aux exigences.

III. 8. 3. 1. Caractères organoleptiques

Il s'agit de contrôler l'odeur, l'aspect et la couleur de l'émulsion. Donc il s'agit de l'aspect visuel.

III. 8. 3. 2. Etude de stabilité

- ✓ **Test de stabilité à la centrifugeuse (stabilité mécanique)**

Les émulsions préparées ont été soumises à deux régimes centrifuges de 3000 et 6000rpm/minutes, pendant 10 minutes, on note chaque fois l'apparition ou non des phénomènes de crémage sédimentation ou déphasage.

- ✓ **Test de stabilité à la température de stockage**

La température est un facteur essentiel de l'étude de stabilité. Donc on a étudié ce paramètre afin de voir l'influence de la variation de température sur la stabilité de la crème (l'émulsion). La détermination de la température du changement d'état sera très utile pour spécifier n'importe quelles précautions d'entreposage. Les températures testées sont 4°C, 35° C et la température ambiante.

III. 8. 3. 3. Mesure de pH

La mesure de pH est un paramètre important car l'émulsion est conçue pour une application humaine. La détermination du pH de chaque émulsion se fait en insérant l'électrode directement dans l'émulsions et lire la valeur de pH qui s'affiche sur l'écran de l'appareil.

III. 8. 3. 4. Sens de l'émulsion

Pour déterminer le sens de l'émulsion, on a utilisé les trois méthodes :

- ✓ **Méthode par dilution,** une émulsion H/E se dilue facilement dans l'eau.
- ✓ **Méthode de la conductivité,** le passage du courant a été vérifié par un conductimètre. La phase aqueuse, qui contient habituellement des électrolytes, est caractérisée par une forte conductivité, tandis que la phase huileuse, par sa nature apolaire, a une conductivité très faible. Par conséquent, une émulsion H/E aura une conductivité élevée tandis qu'une émulsion E/H aura une conductivité nulle.
- ✓ **Méthode de Coloration au bleu de méthylène,** en ajoutant quelques gouttes de bleu de méthylène (hydrosoluble) à la crème et agitée : si le colorant diffuse dans l'émulsion, c'est-à-dire que les bords de la goutte de colorant ne sont pas nets, la phase continue de l'émulsion est de la même nature que la solubilité du colorant, c'est-à-dire l'homogénéité de la coloration, la phase continue de l'émulsion est aqueuse, ce qui signifie "émulsion H/E". Si le colorant ne diffuse pas dans l'émulsion, c'est-à-dire que la coloration est hétérogène, c'est que la phase continue de l'émulsion n'est pas de même nature que la solubilité du colorant, C'est-à-dire coloration hétérogène, la phase continue de l'émulsion est huileuse ce qui signifie "émulsion E/H"

III. 8. 3. 5. Examen microscopique

Cet examen est réalisé en plaçant une petite quantité de la crème entre lame et lamelle d'un microscope photonique et avec une goutte de bleu de méthylène et on fait une observation au grossissement X 40

III. 8. 3. 6. Etude de la viscosité

Il s'agit d'étudier la variation de la viscosité apparente (η) en fonction de la vitesse de cisaillement, les mesures de la viscosité sont réalisées à température ambiante par un viscosimètre

III. 9. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Eucalyptus* et des émulsions préparés

La méthode utilisée est celle de diffusion sur milieu gélosé. Les étapes consistent en :

III. 9. 1. La Préparation de préculture

L'analyse antimicrobienne doit être effectuée à partir de cultures jeunes. Les germes utilisés ont été cultivés sur la gélose nutritive, et incubées à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

III. 9. 2. Préparation de l'inoculum

A partir des cultures préparées, on prélève 2 à 3 colonies bien isolées et identiques dans 10 ml d'eau physiologique stérile, après une bonne agitation à l'aide de vortex, on mesure l'absorbance à une longueur d'onde de 600nm par spectrophotomètre. La suspension microbienne doit avoir une DO de l'ordre de 0.08 à 0.1 correspondant à une concentration de 10^7-10^8germes/ ml.

- ✓ **Ensemencement**

Les boites pétries stériles précédemment coulées, sont ensemencées par écouvillonnage à la surface du milieu gélosé.

- ✓ **Dépôts des disques**

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman de 9 mm de diamètre contenant l'extrait d'*Eucalyptus* sont déposés sur la surface du milieu gélosé. On laisse à température ambiante pendant 15minutes et on incube les boites à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

Pour les émulsions, on dépose un spot de l'émulsion directement sur la surface du milieu gélosé ensemencé.

- ✓ **Lecture**

La lecture se fait après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus), la lecture se fait à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

Chapitre VI

Résultats et Discussion

L'objectif de notre travail est la préparation d'un extrait végétal, d'étudier son effet antimicrobien et de l'utiliser pour préparer une crème à effet antimicrobien.

IV. 1. Caractérisation de l'extrait végétal

IV. 1. 1. Rendement d'extraction

L'extraction a été réalisée en utilisant l'eau distillée comme solvant d'extraction. A la fin on a obtenu 2g d'extrait végétal de l'*Eucalyptus* (Fig. IV. 1), ce qui donne rendement d'extraction de 10%.



Fig. IV. 1. L'extrait d'*Eucalyptus* après évaporation du solvant

Le rendement de obtenu lors de notre travail 10% est nettement supérieur à celui obtenu par Gueddahi et Soualat (2019) qui ont obtenu un rendement de 8,639% par décoction dans de l'eau distillée à (1/10 m/v). Nos résultats sont, également supérieurs, à ceux obtenu par Raho et son équipe (2008) dont le rendement est de l'ordre de 1,2%, et de Pal singh et ses collaborateurs (2012) et qui ont obtenu de 1,8% en utilisant des feuilles fraiches. De nombreux auteurs ont remarqué que les plantes sèches donnent un meilleur rendement que les plantes fraiches. Zrira et al. (1994) ont rapporté que les feuilles d'*E. globulus* donnaient un meilleur rendement à l'état sec (4,29%) que frais (3,91%). Donc il y'a une relation entre le rendement et l'état de fraicheur de la plante utilisée pour l'extraction. Cette différence de rendement entre les mêmes espèces peut être attribuée à des nombreux facteurs tels que : le stade de croissance, conditions pédoclimatiques et édaphiques de la région, technique d'extraction, etc.…. (Ben Ammar et al., 2007).

Un rendement de même ordre de grandeur, 12.94%, a été obtenu par Adouani et Merghadi (2021), qui ont travaillé sur l'extraction des polyphénols à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus* par un mélange méthanol/eau distillé donne le rendement le plus élevés avec un taux de 12.94%. Beggas et Bendoukhane (2017) ont trouvé un rendement égal à 13,62% pour 50 g de poudre et Amari (2016) 5,37% pour 25 g de poudre.

IV. 1. 2. Analyses qualitatives et screening

Les différents constituants chimiques des feuilles d'*Eucalyptus* MS. et leur présence dans le tableau IV. 1 (Annex 1).

Tableau IV. 1. Screening des constituants chimique des feuilles d'*Eucalyptus*

Métabolites secondaires	Observation	Présence
Polyphénols	Présente une coloration verdâtre	+
Flavonoïdes	Présente une coloration orange	+
Tannins	Présente de la Coloration bleue noire	+
Saponines	Présente d'une mousse	+

Réaction positive : (+) abondant ; Réaction négative : (-) absent

A la fin de cette étude qualitative des différentes substances bioactives, nous apercevons l'existence des substances naturelles bioactives. D'après ces résultats, nous nous déduisons que la plante *Eucalyptus* de la région de Médéa, comme d'autres espèces de la famille myrtacées, est riche en divers métabolites secondaires (Flavonoïdes, Polyphénols, Tanins, Saponines).

IV. 1. 3. Dosage des polyphénols et flavonoïdes

La concentration en polyphénols totaux de l'extrait a été calculée à partir de l'équation de la courbe étalonnage acide gallique (Annex 2), et exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait. La mesure de la densité optique a été effectuée à une longueur d'onde de 750nm. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau IV. 2.

Tableau IV. 2. Concentration en polyphénols et en flavonoïdes

	Concentration de polyphénols (mg EAG/g)	**Concentration de flavonoïdes (mg EQ/g)**
Extrait *d'eucalyptus*	71.98	20.28

Le tableau montre que l'extrait aqueux de *l'Eucalyptus* contient 71.98 mg EAG/g de polyphénols. D'une manière générale, l'estimation de la concentration de polyphénols totaux, en utilisant le réactif du Folin- Ciocalteu.

La concentration de flavonoïdes de l'extrait a été calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de quercétine (Annex 3) et exprimée en mg d'équivalents quercétine par gramme (mg EQ/g). La mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 430 nm. Les résultats sont présentés dans le tableau IV. 2. On remarque que la quantité de flavonoïdes est 20.28 mg EQ/ g.

IV. 1. 4. Les caractéristiques physico-chimiques de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus*

Les résultats de la caractérisation physico-chimique de l'extrait d'*Eucalyptus* sont présentés dans le tableau IV. 3.

Tableau IV. 3. Les paramètres physico-chimiques de l'extrait aqueux d'*Eucalyptus*

Paramètre	Résultat
pH	6.48
Conductivité (mS/cm)	2.1107
Densité	1.8
Indice de réfraction	1.340

Le tableau montre que l'extrait aqueux *d'Eucalyptus* a un pH légèrement acide dont la valeur est de 6.48 à une température de 22°C. Sa conductivité est de 2.1107mS/cm avec une densité de 1.8. Son indice de réfraction est de 1.340.

IV. 2. Formulation

IV. 2. 1. Caractérisations physico-chimique des émulsions formulées

IV. 2. 1. 1. Caractères organoleptiques

Les émulsions préparées sont présentées dans la figue IV. 2, et leurs descriptions sont présentées dans le tableau IV. 4.

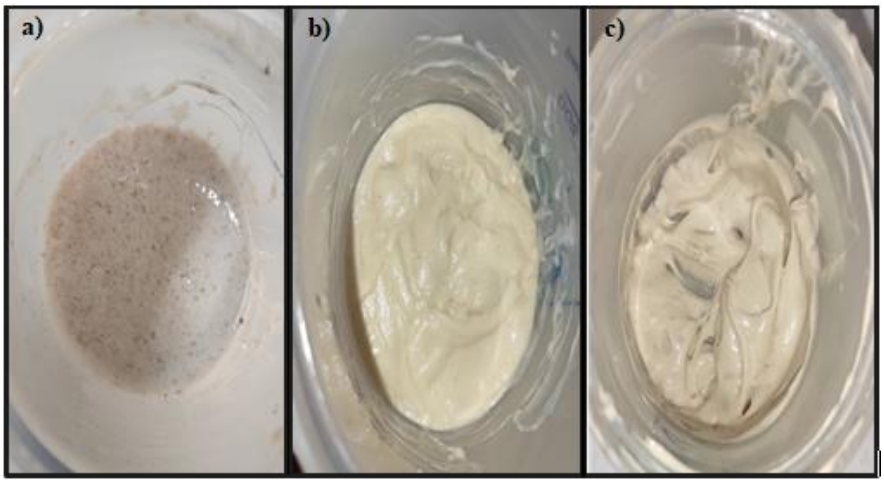


Fig. IV. 2. Aspect des émulsions préparées (a) formule 1 (b) formule 2 (c) formule 3

Tableau IV. 4. Caractères organoleptiques des différentes formules

	Formulations de série1	**Formulations de série 2**	**Formulation 3**
couleur	Blanche	Légèrement jaune	Légèrement jaune
L'odeur	Odeur agréable (odeur d'huile d'olive)	Douce et discrète (odeur d'EH d'arbre à thé)	Douce et discrète (odeur d'EH d'arbre à thé)
Apparence (f orme et brillance)	Crème fluide, légère	Crème fluide, légère, brillante au toucher doux et soyeux	Crème fluide, légère, brillante au toucher doux et soyeux

L'analyse des propriétés organoleptiques des différentes formules étudiées dans notre travail montre qu'en général l'utilisation des huiles et de cire donnent des crèmes légère, de toucher soyeux et doux, laissant une sensation de fraicheur agréable. Ces textures sont obtenues en fonction de la composition et la richesse de la crème en huiles et en cire ainsi que le type de l'émulsifiant utilisé.

IV. 2. 1. 2. Etude de stabilité

Test de stabilité à la centrifugeuse (stabilité mécanique)

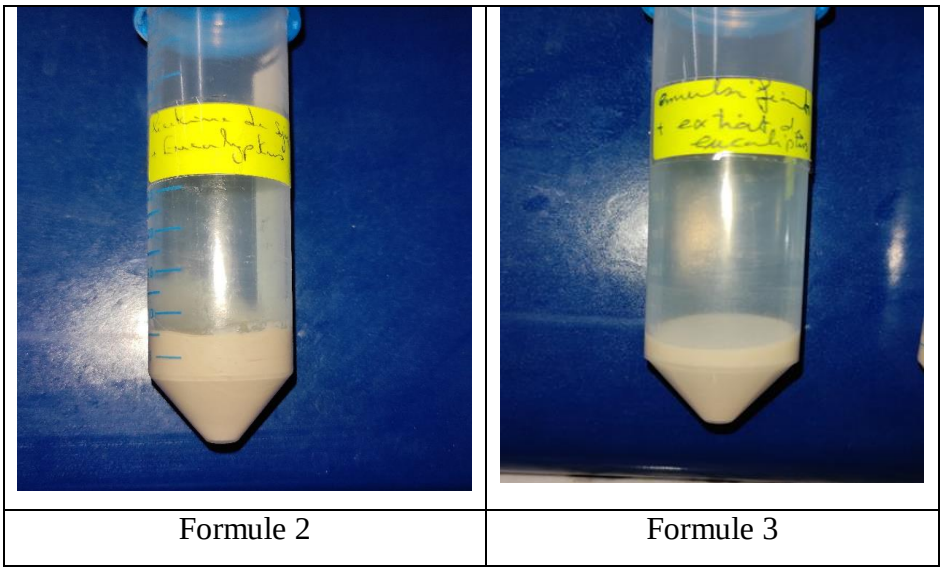
Ce test consiste à mettre la préparation sous l'effet d'une centrifugation. Les résultats sont résumés dans le tableau IV. 5.

Tableau IV.5. Etude de la stabilité à la centrifugation des formules 1 et 2

	3000 rpm/t=10mn			**6000rpm/t=10mn**		
	Série 1	**Série 2**		**Série 1**	**Série 2**	
	Type A et B	**Type A**	**Type B**	**Type A et B**	**Type A**	**Type B**
1	**-**	**-**	**+**	**-**	**-**	**+**
2	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
3	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
4	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
5	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
6	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
7	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
8	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**

(-) instable, séparation de phase ; (+) stable, pas de séparation de phase
A : 10 :90 (H/E), B : 40 :60 (H/E), A et B : même résultats pour les deux types d'émulsion
Série 1 : à base de chitosane ; Série 2 : à base de lécithine de soja ; Formule 3 : les 3 émulsifiants (40 :60)

On remarque que toutes les formules que ce soit à base de chitosane (Annex 5) ou lécithine de soja (Annex 4) sans instables sauf l'essai 1 pour l'émulsion B (émulsion à base de lécithine de soja). Ces résultats nous ont poussés à préparer une 3ème formule en utilisant des émulsifiants commerciaux. Cette formule (3) présente une très bonne stabilité mécanique à la vitesse de centrifugation 3000 rpm et 6000 rpm pendant 10 minutes (fig. IV. 3).



Formule 2	Formule 3

Fig. VI. 3. stabilité à la centrifugation de formule 3
(F2 à base de lécithine de soja et F3 à base de 3 émulsifiants)

L'instabilité physique de ces émulsions est due au fait que le volume de la phase aqueuse était plus important par rapport à la phase huileuse en plus des tensioactifs utilisés, c'est-à-dire que les facteurs étudiés ont un effet négatif sur la stabilité de notre émulsion dans les conditions de notre travail.

Après l'essai de stabilité mécanique, on a effectué les autres caractérisations seulement pour les formules stables.

IV. 2. 1. 3. Test de stabilité à la température de stockage

Pour connaitre l'influence de la température des échantillons ont été stockés à différentes températures**,** On a obtenu les résultats suivant après trois semaines de stockage (Annex 6) :

- ✓ **A température ambiante :** les crèmes conservent les caractères physico-chimiques l'aspect, l'odeur et la couleur.
- ✓ **A 4°C :** les crèmes conservent les caractères physico-chimiques l'aspect, l'odeur et la couleur.
- ✓ **A 37°C :** on remarque qu'il y aura un léger changement de couleur et d'odeur.

Remarques : *Toutes les photos sont présentées dans l'Annexe.*

IV. 2. 1. 4. Mesure de pH

La mesure de pH des émulsions stable, a été effectuée après 24h de repos. Les résultats sont présentés dans le tableau IV. 6.

Tableau IV. 6. Les valeurs de pH des formules préparées

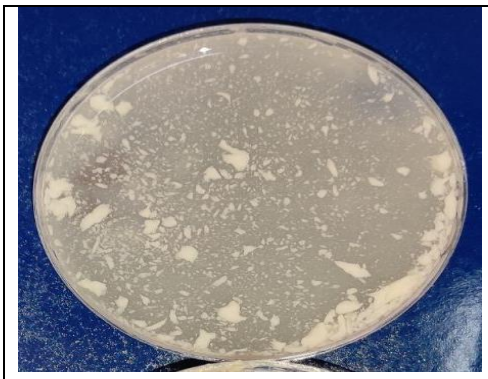
	Formule 2	Formule 3
pH	**5.20**	**5.08**
Masse (g)	**95.6**	**92**

Sachant que le pH des préparations à usage dermique doit être compris entre 5 et 6 pour puisque le pH de la peau est légèrement acide, donc on peut dire que notre crème est conforme et idéale pour la peau.

IV. 2. 1. 5. Sens de l'émulsion

A. Méthode par dilution

Les résultats de test de détermination du sens de l'émulsion sont présentés dans la figure IV. 4.



Formule 2



Formule 3

Fig. IV. 4. Dilution des émulsions dans l'eau

Nous avons remarqué une dispersion facile des émulsions dans l'eau donc on peut dire que la phase continue est la phase aqueuse ce qui signifie que l'émulsion est de type H/E.

B. Méthode de la conductivité

Les résultats de la mesure de la conductivité de différentes formules préparées sont présentés dans le tableau IV. 7.

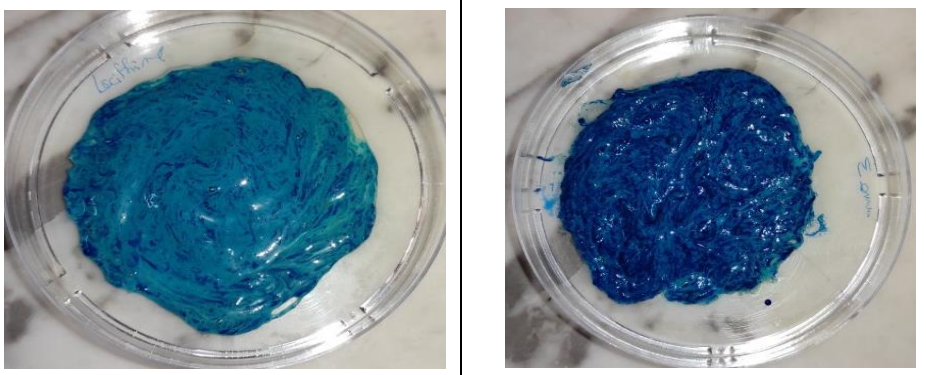
Tableau IV. 7. Le résultat de mesure de la conductivité.

	Formule 2	Formule 3
Conductivité (mS/cm)	5	4.90

Les résultats de mesure de la conductivité électrique montrent que la conductivité des formules est élevée (mS/cm) ce qui montre que la phase continue est une phase aqueuse.

C. Méthode de Coloration au bleu de méthylène

Les résultats de test de détermination du sens de l'émulsion par la coloration au bleu de méthylène sont présentés dans la figure IV. 5.



Formule 2	Formule 3

Fig. IV. 5. Coloration des émulsions au bleu de méthylène

On observe une bonne solubilisation du colorant dans l'échantillon étudié ce qui confirme que la phase continue est la phase aqueuse ce qui confirme que l'émulsion est de type H/E.

IV. 2. 1. 6 .Examen microscopique

Le résultat de l'observation microscopique des deux émulsions préparées et de la crème témoin (Nivea Soft), est présenté dans la figure IV. 6.

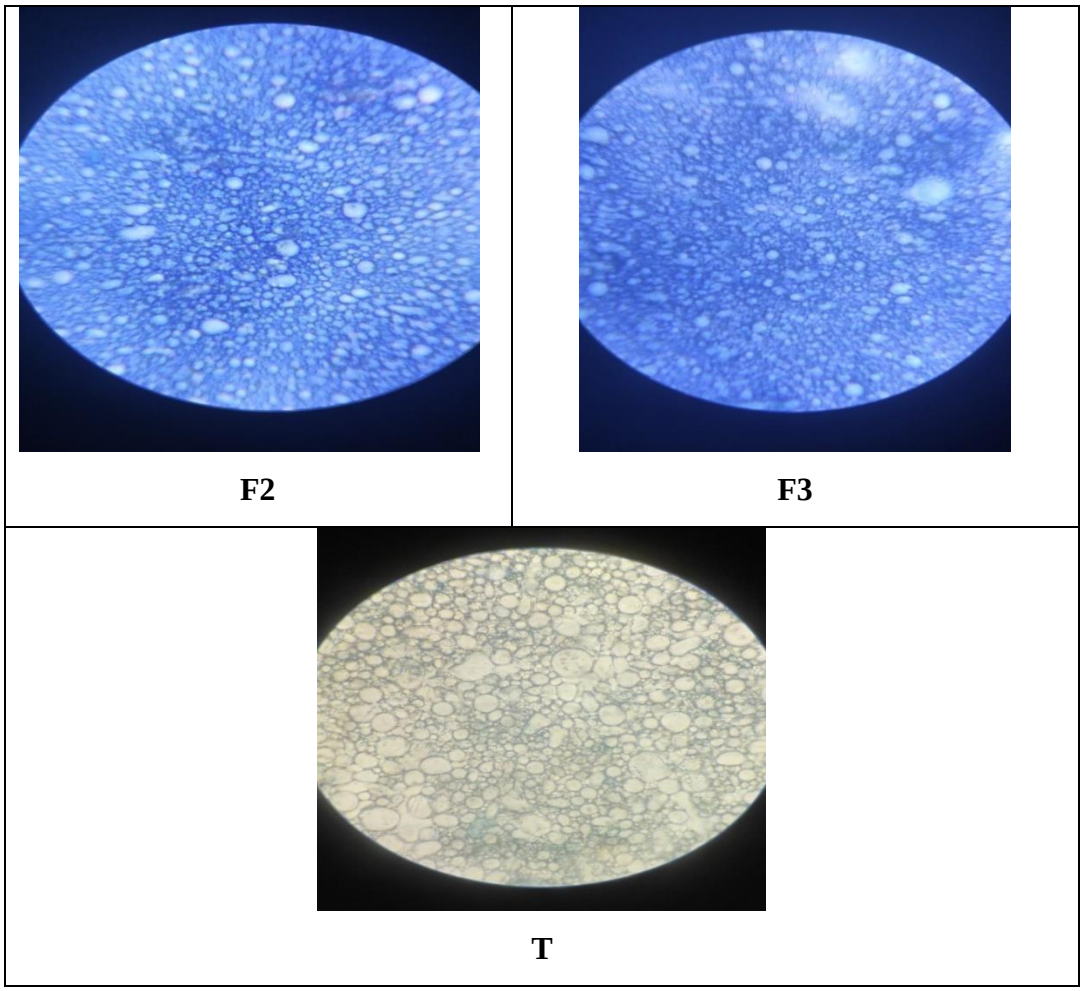


Fig. IV. 6. Observation microscopique des émulsions (F1, F2 et T : Crème Nivea Soft) au grossissement X40

L'observation microscopique au grossissement 40 nous a permis d'obtenir la photo IV. 5, qui montre que la taille des globules est homogène

IV. 2. 1. 7. Etude de la viscosité

Le résultat obtenu est présentés dans la figure IV. 7.

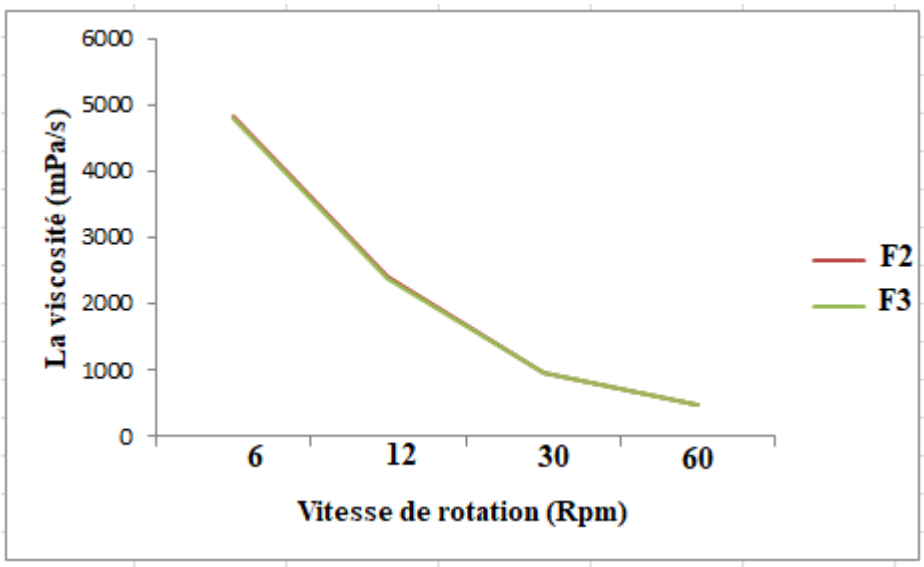


Fig. IV. 7. La viscosité des émulsions en fonction de la vitesse de rotation du viscosimètre

Cette figure montre également que la viscosité des deux formules diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les émulsions obtenues sont de type fluide non-newtonien d'un comportement pseudo-plastique (rhéofluidifiant). Sachant que le comportement le plus fréquemment rencontré pour les émulsions de types crème cosmétiques est le comportement rhéofluidifiant, permettant notamment de faciliter leur application sur la peau. Ces caractéristiques correspondent à une rhéologie particulière des crèmes et lotions cosmétiques, définies et optimisées lors de la formulation ; elles donnent ainsi des informations intéressantes sur les propriétés d'écoulement du produit, qui affectent par exemple la façon dont le technicien doit pomper le produit en usine ou encore l'impression sensorielle perçue par le consommateur lorsqu'il utilisera le produit (Gilbert, 2014).

IV. 2. 2 Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait d'*Eucalyptus* et des émulsions préparées

L'analyse microbiologique des émulsions contre les souches pathogènes a donné les résultats présentés dans la figure IV. 8.

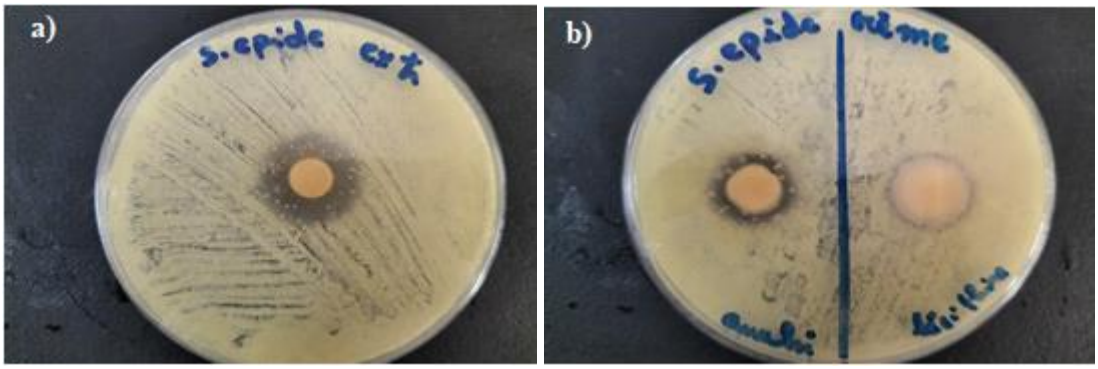


Fig. IV. 8. L'activité antimicrobienne de (a) l'extrait végétal de l'*Eucalyptus* (b) l'émulsion Contre *S. epidermidis*

Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne contre des souches pathogènes montrent que l'extrait végétal a une activité fortement inhibitrice contre *Staphylococcus epidermidis* avec une zone d'inhibition de 23mm. Tandis que l'émulsion présente un effet légèrement inhibiteur contre le même germe avec une zone d'inhibition de 15mm de diamètre.

Conclusion générale

Les plantes médicinales restent toujours la source des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutique. Ce travail a pour objectifs de préparer un extrait végétal d'*Eucalyptus*, d'évaluer son activité biologique ainsi que de la préparation d'une émulsion. L'effet antimicrobien de cette dernière a été également évalué.

Les résultats obtenus au cours de cette étude sont résumés comme suit :

- Le criblage phytochimique – screening a démontré la richesse de la plante en métabolites secondaires telles que : polyphénols, flavonoïdes, tanins, saponines. La décoction de l'extrait a donné de un rendement relativement faible, de 10%, par rapport à la masse de la matière sèche utilisée.
- L'analyse physicochimique de l'extrait aqueux de l'*Eucalyptus* montre qu'il présente un pH légèrement acide de 6.68, une conductivité de 2.1107ms/cm, un indice de réfraction de 1.34 et une densité de 1.8.
- Le dosage quantitatif des polyphénols totaux, et des flavonoïdes totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu et de $ALCL_3$ respectivement a révélé que les feuilles de la plante d'*Eucalyptus globulus* contiennent, dans les conditions de notre travail, une concentration de 71.98mg EAG/g de polyphénols et le dosage quantitative des flavonoïdes par le réactif 20.28 mg EQ/g de flavonoïdes.
- La caractérisation physicochimique des formules préparées a montré que :
    - ✓ L'émulsion constituée de 10 : 90 (H/E) et contient le chitosane ou la lécithine de soja comme émulsifiant est physiquement instable après une centrifugation à 3000 rpm/mn pendant 10 minutes.
    - ✓ L'étude de la stabilité thermique les émulsions préparées a montré que ces crèmes conservent leurs aspects, odeurs et couleurs à température ambiante et à 4°C. tandis qu'à 37°C un léger changement de couleur et d'odeur a été constaté.
    - ✓ Toutes les émulsions obtenues ont un pH acide allant de 5 à 6.
    - ✓ Toutes les émulsions préparées sont de types H/E dont la conductivité varie de 4.90 à 5 mS/cm.
    - ✓ L'observation microscopique montre que la taille des globules homogènes.
    - ✓ La mesure de la viscosité montre que la cette dernière diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement.
- Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne montrent que l'extrait végétal a une activité fortement inhibitrice contre *Staphylococcus epidermis* avec une zone d'inhibition de

23mm. Tandis que l'émulsion présente un effet légèrement inhibiteur contre le même germe avec une zone d'inhibition de 15mm de diamètre.

En perspective, on propose de

- Faire une étude approfondie pour comprendre le problème de l'instabilité mécanique des émulsions à base de chitosane.
- Déterminer le ou les principes actifs responsables de l'activité antimicrobienne de l'extrait végétal étudié.
- Etudier l'effet anti-inflammatoire de l'extrait végétal préparé.
- Formulation d'une autre forme pharmaceutique « gel » à base de l'extrait d'*Eucalyptus*.

Les Références Bibliographiques

A

Ait Youssef M . (2006) .Plantes médicinales de Kabylie. Éditions Ibispress, Paris, France

Athamena S. (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique (Doctoral dissertation, Université de Batna 2).

B

Baba Aissa F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident. Edition : Librairie moderne – Rouïba: P101

Bahaz M et Rachdi H. (2010). Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhetinolepis lonadoides* Coss (Tichert), thèse d'ingéniorat, Université de Ouargla, Algérie,54p

Batish DR; Singh HP; Kohli RK et al. (2008). *Eucalyptus* essential oil as a natural pesticide. Forest Ecol Manag 256:2166–74

Bidet D ; Gaignault J ;C Girard P et Trotin F. (1987). Inflammation, allergie, douleur et acide arachidonique: du jardin des Hespérides à la cascade de l'acide arachidonique: Les flavonoïdes. L'actualité chimique. 89 - 97.

Botineau M. (2010). Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Éditions Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France

Brand-williams W; cuvelier M E; et Berset C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity.Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie.28 : 25-30.

Bruneton J. (1993).Pharmacognosie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France.

Bruneton J. (2009). Pharmacognoise : Phytochimie. Lavoisier, 4eme édition. Paris : 901-904.

C

Caullet L ; A Dos Santos ;G Knipper, M Rusalen et M Seineur. (2018). Projet professiennel : les emulsions alimentaire et cosmétique.

Cheklat Meriem ; Hemdani Lidia. (2018). Etude phytochimique, et évaluation de activité antioxydante et antibactérienne de la partie aérienne de la plante *Raphanus sativus* l, faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, université mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, p17.

Cheynier V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. Am J Clin Nutr, 81(1). 223S-229S.

Czubinski J; Dwiecki K. (2016). A review of methods used for investigation of protein-phenolic compound interactions. International Journal of Food Science & Technology, 52(3), 573–585.

Catherine Baures ; Bedda Sonia ; Garderes Lucie Moreau ; Mélanie Raulot. (2009). « Entrez dans l'univers des controverses actuelle, des labels et de la réglementation », les cosmétiques biologiques à la loupe.

D

Dai J. et Mumper R J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, analysis and their antioxydant and anticancer properties. Molecules; 15(10), 7313-52.

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

Delille L. (2007). plantes médicinales d'Algérie Ed, Bertie, Alger, 240p.

Didry N ; Pinkas M ; Et Torck M ; (1982). Sur la composition chimique et l'activité antibactérienne des feuilles de diverses espèces de *Grindelia*. Pl. Med. Phytother. XVI, 7 -15

Doumeix O .(2001).les emulsions.opération unitaires en génie biologique scéren CNDPCRDP.

Droge K.S. (2002). Free radicals in physiological control of cell fuction. Physiological. 82. 47-95.

F

Fraval (2005). Le Longicorne de l'*Eucalyptus* -1ère partie. Insectes 4 n° 139.

G

Garai S. (2014). Triterpenoid Saponins. Natural Products Chemistry & Research, 148(2):10.

Ghedira K ;Goetz P ;Le jeune R. (2008). *Eucalyptus globulus* labill, monographie médicalisé Phytotherapie 6 :197-200.

Gibson M. (2004). Pharmaceutical performulation and formulation. Interpharm/CRC

Guignard J L. (2001). Botanique. Systématique moléculaire. Ed. Masson, 290.

Gülçin I ; Oktay M ; Kirreçci E ; et Kufrevioglu O I. (2003). Screening of antioxydant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts.Food Chemistry.83:371- 381.

H

Hsu C and Yen G. (2007). Effect of gallic acid on high fat diet-induced dyslipidemia, hepatosteatosis and oxidative stress in rats. British Journal of Nutrition, 98(04):2524-2534.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Eucalyptus

J

Jacques Grec. (1966). L'érison, la défence, et la restauration des sols, le reboisement en Algérie, Alger, p275-281.

Jane Roche. (2005). Composition de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L.) sous l'effet conjugué des contraintes agri environnementales et des potentiels variétaux ; Sciences des Agroressources ; Le Titre De Docteur De L'institut Nation Al Polytechnique De Toulouse.

K

Kara Amar ; Beddek Meriem. (2017). Mise au forme d'un système disperse stable à usage cosmétique.

Karak P. (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 10(4), 1567-1574.

Koziol Nathalie .(2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus,* d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Universite de Lorraine . p46-50.

L

Laguerre M; Lopez-Giraldo L ; Lecomte J ; Pina M ; Et Villeneuve P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydante. Oxford College of London, 14 (5): 278-292.

Laura A ; Moreno-Escamilla J O ; Rodrigo-García J ; & Alvarez-Parrilla E. (2019). Phenolic compounds. In Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables. Woodhead Publishing. 253-271.

Leicach SR; Guarnaschelli AB; Garau AM et al. (2012). Chemical defenses in Eucalyptus species: a sustainable strategy based on antique knowledge to diminish agrochemical dependency. Intech Open Access Publisher, NY, USA.

Lis-Balchin M. (2006). Aromatherapy science: a guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press, Londres, Grande-Bretagne.

Louppe D. (2008) PROTA. Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Backhuys Publishers, Wageningen, Pays-Bas (siteweb: http://www.prota4u.org/).

M

Mabry T J et Ulubelen A. (1980). Chemistry and utilization of panoids including flavonoids, coumarins and lignans. J. Agric. Food Chem. 28, 188 - 196.

Martinetti P. (2013). Mon guide des huiles essentielles. Éditions Fernand Lanore, Paris, France

Mekellech H. (2015). Contribution à l'étude morphométrique d'*Eucalyptus globulus* labill. (Myrtacées) dans la région de Tlemcen, faculté de science de la nature de la vie, département de biologie et environnement, Université de Tlemcen.

Menager H. (1952). Les *Eucalyptus* dans le Gharb (Marc occidental). Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée, pp321-322.

Molyneux P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Journal of Science Technology. 26 (2): 211-219.

M.S.AliShdayeh et al. (1997). Antimicrobial activity of 20 plants used in Folkloric medicine in the Palestinian area. Ethno-pharma cology.60:p265.

O

Ozcan T;Akpinar-Bayizit A;Yilmaz-Ersan L et Delikanli B. (2014). Phenolics in human health. International Journal of Chemical Engineering and Applications. 5 (5): 393- 396.

P

Padrini F et Lucheroni M T. (1996). Le grand livre des huiles essentielles-guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec Plus de 100 Photographie. Edition De Vecchi, Paris, 11-15-61 et 111p.

Paolini V ; Dorchies Ph ; Hoste H. (2003). Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri., 17-19.

Perroti C ;Caraffa N ; Aîli S. (1999). Se soigner par les plantes. Berti Editions, 118p.

R

Ravn H ; Andary C ; Kovacs G Et Molgaard P. (1984). Caffeic acid esters as in vitroinhibitors of plant pathogenic bacteria and fungi. Biochem. Syst. Ecol. 17, 175 – 1.

Ribereau G P. (1968). Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 254 p.

Rodriguez F And Michaud P. (1996). Méthodologie expérimentale et optimisation, in formes pharmaceutique pour application locale, : PARIS, p, 236-273.

S

Shrestha A; Pandey R P ;Pokhrel A R; Dhakal D ;Chu L and Sohng J K. (2018). Modular pathway engineering for resveratrol and piceatannol production in engineered Escherichia coli. Applied microbiology and biotechnology, 102(22), 9691-9706.

Sijelmassi A. (1991). Les plantes médicinales du Maroc. 2^{éme} ED, le feunec 125p.

Stavric B. et Matula T I. (1992). Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health. p. 274 - 294.

T

Trabut M L.(1914). Naturalisation d'un *Eucalyptus* en Algérie: *Eucalyptus algeriensis* Trab. Bulletin de la Société Botanique de France. 61:5.

Traikia A,Mansouri M. (2020). Etude des caractéristiques physique et chimique des huiles essentielles du clou de girofle et de l'*Eucalyptus*.

Traore N ; Sidibe L ; Bouare S ; Harama D; Somboro A ; Fofana B ; Diallo D; Figueredo G ; et Chalchat J C. (1991). Activités antimicrobiennes des huiles essentielles d'*Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W. Fitzg. ex Maiden. Int. J. Biol. Chem. Sci. 7(2): 800-804,

Treiner J. (2000). Extrait du Bulletin officiel n° 6 du 12 août 1999, France. 39-143

Telles, A. C., Kupski, L., & Furlong, E. B. (2017). Phenolic compound in beans as protection against mycotoxins. Food Chemistry, 214, 293–299.

Y

Yahoum M M , (2017). Formulation Et Caractérisation De Fluides A Structure Complexe : Application Aux Dispersions. Faculté De Technologie Département De Génie Des Procédés Et Environnemen, P10.

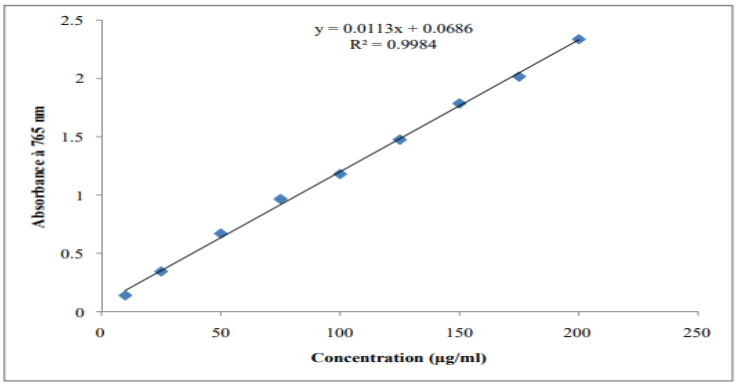
W

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

Résultats des tests phytochimique des composées phénoliques

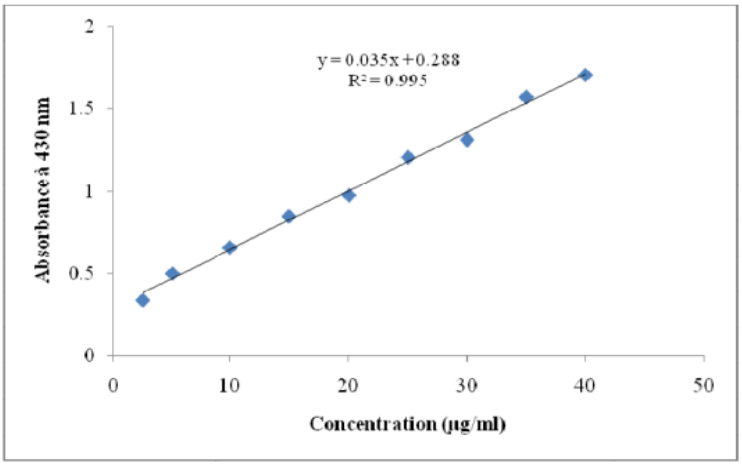
Composé phénolique	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins	Saponines
Photo				

photos des résultats phytochimique de l'extrait végétale

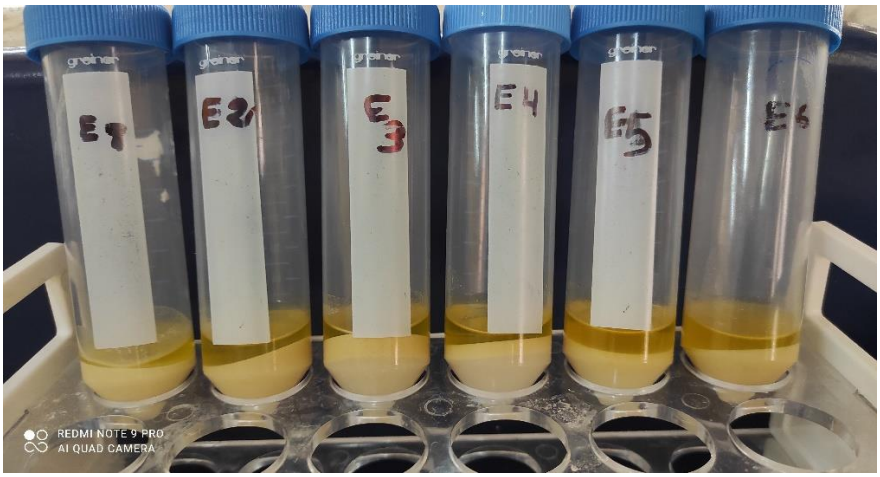


Courbe d'étalonnage de l'acide gallique (Athamena, 2009).

Annexe 3



Courbe d'étalonnage de quercétine (Athamena, 2009).



Emulsion à base de lécithine de soja instable à 3000 rpm /min



Emulsion à base de chitosane instable à 3000 rpm /min

Résultats de tests de stabilité thermique

Température	Photos de F2 et F3
4°C	
25°C	
37°C	