

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry Of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrour University, Khenchela
Faculty of Natural and Life Science
Department of cell and molecular biology



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par :

AGGOUN Aya

Thème

Activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de trois plantes aromatiques (Eucalyptus globulus, Lavandula officinalis, Illicium verum)

Devant le jury :

Président : YAHYA Massinissa	MCA	Université de Khenchela
Encadreur : HABIBATNI Sofiane	MCA	Université de Khenchela
Examineur : BERTELLA Anis	MCA	Université de Khenchela

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements à **Dr. HABIBATNI Sofiane** d'avoir accepté encadrer ce travail dans les moments les plus cruciaux ainsi que pour sa gentillesse, son disponibilité et pour ses conseils constructifs.*

*J'exprime mes sincères remerciements et ma profonde reconnaissance au **Dr. YAHYA Massinissa**, qui m'a honoré par sa présence en acceptant de présider le jury de cette soutenance.*

*Mes remerciements vont également au **D. BERTELLA Anis**, qui a accepté de donner des critiques sur ce mémoire et de m'éclairer avec leurs commentaires.*

*Je remercie vivement, **Dr. BOUSSAA Abdelhalim** pour l'aide qu'il m'a apporté pour la réalisation de ce travail.*

*Je profite de cette occasion pour exprimer toute ma gratitude au **Dr. TAKOUACHT Radouan** et **Dr. LARBAA Rabah** pour leur aide administrative, je vous remercie infiniment.*

*Mes remerciements vont également à tous les enseignants du département de biologie, **Dr. BOUAAZA Ilyes** et **Dr. ELAFRI Ali**, **Dr. YAHYA. Massinissa** ; **KRIM Meriem** qui ont contribué à ma formation.*

*Nous remercions également toute **l'équipe du laboratoire pédagogique Elhamma** pour leur aide et leur soutien.*

Dédicace

Je dédie ce travail :

À toi le plus doux des papas «Yahia»

Tu as su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir. que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

À ma très chère et merveilleuse mère « Samira»

Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

À ma sœur « Djihan »

Ma chère sœur, ma confidente et ma fidèle compagnante dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse. En témoignage de l'attachement, de l'amour et de l'affection que je porte pour toi , Je te dédie ce travail avec mes vœux les plus sincères de bonheur de santé et de réussite.

À mes frères «Abdelhadi» et «Sohaib»

Avec mon grand amour et toute ma tendresse, Je vous dédie ce travail en vous souhaitant beaucoup de bonheur et de succès.

À mes cher(e)s ami(e)s d'enfance

*Hadjer , Djoumana , Chaima , Marwa , Selma , Mourad
et tous mes amis l'université*

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, En témoignage de l'amitié qui nous uni , je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À tous les membres de ma famille qui me sont chers.

Aya

Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques est devenue une véritable préoccupation. Face à cela la recherche de composés antimicrobiens est plus que jamais d'actualité. Les plantes constituent un réservoir de métabolites secondaires potentiellement bénéfiques pour l'homme et l'animal.

Par le présent travail, on cherche à mettre en exergue l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles de trois plantes aromatiques médicinales à savoir : *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis* et *Illicium verum*

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type clevernger avec un rendement de 0.33%, 2% et 4.7% respectivement, L'activité antibactérienne des huiles a été évaluée in vitro sur quatre souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Psudomonas aurugionosa*, *Bacillus subtilis*) Les huiles se sont avérées actives, en outre, celles d'*Eucalyptus globulus* étaient les plus actives.

D'autre part, l'activité antioxydante des huiles a été étudiée en utilisant le test DPPH. Les résultats ont montré que seule l'huile d'*Eucalyptus globulus* possède une activité antiradicalaire la plus élevée (76.14%). Ce travail démontre que l'amélioration des activités biologiques des plantes par des études biologiques contrôlées peut être un élément à la contribution de leur valorisation.

Mots clés : activité antibactérienne, activité antioxydante, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis*, *Illicium verum*

Abstract

The resistance of bacteria to antibiotics has become a real concern. Faced with this, the search for antimicrobial compounds is more topical than ever. Plants constitute a reservoir of potentially beneficial secondary metabolites for humans and animals.

Through this work, we seek to highlight the antibacterial and antioxidant activity of the essential oils of three aromatic medicinal plants, namely: *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis* and *illicium verum*. The essential oils obtained by hydrodistillation using a cleverger type device with a yield of 0.33%, 2% and 4.7% respectively. The antibacterial activity of the oils was evaluated in vitro on four bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aurugionosa*, *Bacillus subtilis*) oils were found to be active, furthermore those of *E. globulus* were the most active.

On the other hand, the antioxidant activity of the oils was studied using the DPPH test. The results showed that only *Eucalyptus globulus* oils possess the highest antiradical activity (76.14%). This work demonstrates that the improvement of the biological activities of plants by controlled biological studies can be an element contributing to their valorization.

Keywords: biological activities, antibacterial activity, antioxidant activity, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis*, *illicium verum*

ملخص

أصبحت مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية مصدر قلق حقيقي. في مواجهة هذا، أصبح البحث عن مركبات مضادات الميكروبات موضعياً أكثر من أي وقت مضى. تشكل النباتات خزائناً من المستقلبات الثانوية التي يحتمل أن تكون مفيدة للإنسان والحيوان .

نسعى من خلال هذا العمل إلى إبراز النشاط المضاد للبكتيريا ومضادات الأكسدة للزيوت الأساسية لثلاث نباتات طبية عطرية وهي: أوكالبتوس جلوبولوس ، لافاندولا أوفيسيناليس وإلوسيوم فيروم

تم الحصول على الزيوت الأساسية بالتقطير المائي باستخدام جهاز من نوع Clevenger بحاصل 0.33% , 2% , 4.7% . تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت في المختبر على 4 بكتيريا (*Escherichia coli* ، *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas auruginosa* , *bacillus subtilis*)

أثبتت الزيوت أنها مضادة للبكتيريا ، علاوة على ذلك كانت زيوت *Eucalyptus globulus* هي الأكثر نشاطاً. من ناحية أخرى تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للزيوت باستخدام DPPH. و أظهرت النتائج ان زيت الكاليتوس فقط له أعلى نشاط مضاد للأكسدة (76.14 %).

يوضح هذا العمل أن تحسين الأنشطة البيولوجية للنباتات من خلال الدراسات البيولوجية الخاضعة للرقابة يمكن أن يكون عنصراً يساهم في تثمينها.

الكلمات المفتاحية : أنشطة بيولوجية ، نشاط مضاد للبكتيريا ، نشاط مضاد للأكسدة ، أوكالبتوس جلوبولوس ، لافاندولا أوفيسيناليس, إيليسيوم فيروم.

Liste des abréviations

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

BMH : Bouillon Mueller Hinton

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice

DPPH : 2.2-diphényle-1-picrylhydrozyl

GN : Gélose nutritive

HE : Huile Essentielle

LPS : Lipopolysaccharide

Liste des figures

Figures		Page
01	Exemples de structure monoterpènes	05
02	Exemples de structure sesquiterpène	06
03	Structure des quelques composés aromatiques	06
04	Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.	10
05	Balance de stress oxydatif	11
06	Montage d'extraction par hydrodistillation.	13
07	Montage d'extraction par entrainement à la vapeur d'eau.	14
08	Schéma du procédé d'hydrodiffusion.	14
09	Montage d'extraction par les fluides supercritiques.	15
10	Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes	15
11	montage extraction par ultraso	16
12	Technique d'extraction par distillation sèche	17
13	Photographie des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	19
14	Structures de quelques composés identifiés des feuilles de <i>E. globulus</i> .	20
15	<i>Lavandula officinalis</i>	22
16	Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de <i>L. officinalis</i>	23
17	Planche d'herbier figurant <i>illicium verum</i>	24
18	Montage hydrodistillation clevenger	28
19	Photographie montrant la séparation des HEs par décantation.	29
20	les différentes souches bactériennes utilisées	30
21	photographie des milieux de culture utilisé	30
22	Ensemencement bactérienne sur le gélose nutritive	31
23	Préparation de suspension bactérienne dans l'eau physiologique.	31
24	Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.	33
25	Les différentes huiles essentielles obtenues	34
26	Histogramme de rendement	35
27	Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l'huile <i>Eucaptylus globulus</i>	36
28	Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l'huile <i>Lavandula officinalis</i>	36
29	Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l'huile	38

Liste des figures

	<i>Illicium verum</i> page 38	
30	Résultat de l'activité antioxydante de trois HEs	38

Liste des tableaux

Tableau		Page
01	la systématique d'eucalyptus globulus	18
02	Classification botanique de <i>Lavandula officinalis</i>	21
03	Classification botanique d' <i>illicium verum</i>	23
04	récapitulatif des quantités et familles chimiques des principaux composants de l'H.E. d' <i>Illicium verum</i>	25
05	les conditions de récolte de chaque plante	28
06	Odeur, couleur et le rendement des huiles essentielles obtenues	34
07	Résultat de l'activité antibactérienne d'Eucalyptus globulus	36
08	Résultat de l'activité antibactérienne de Lavandula officinalis	37
09	Résultat de l'activité antibactérienne d' <i>Illicium verum</i>	37
10	CMI de l'activité antibactérienne des HEs sur les bactéries	38
11	Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans les trois HEs	39

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
abstract	
ملخص	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
	Page
Introduction	01
Première partie : Synthèses bibliographiques	
Chapitre I : Généralités sur les huiles essentielles	
1. Les huiles essentielles	02
1.1. Définition	02
1.2. Répartition et localisation des huiles essentielles	02
1.3. Propriétés des huiles essentielles	02
1.3.1. Propriétés physiques :	02
1.3.2. Propriétés biologique	03
13.3. Propriétés médicinales	04
1.4. Rôle des huiles essentielles dans la plante	04
1.5. Composition chimique des huiles essentielles	05
1.5.1. Les terpènes	05
a).Monoterpènes	05
b).Les sesquiterpènes	06
1.5.2. Les composés aromatiques	06
1.5.3. Composés d'origines divers	07
1.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielle	07
1.6.1. Aromathérapie	07
1.6.2. Agro-alimentaire	07
1.6.3. Cosmétologie et parfumerie	08

1.6.4. Pharmaceutique	08
1.7. Toxicité des huiles essentielles	08
2. Activités biologique des huiles essentielle	09
2.1. Activité antibactérienne	09
2.1.1. Principes actifs et mécanisme d'action antibactérien des HE	09
2.1.2. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide	10
2.2. Activité antioxydante	11
2.2.2. Les radicaux libres	11
2.2.3. Différents types de radicaux libres	11
a). Les radicaux primaires	11
b).Les radicaux secondaires	11
2.2.4. Les antioxydants	11
2.2.5. Les huiles essentielles comme antioxydants	12
2.3. Activité antifongique	12
3 Les techniques d'extractions des huiles essentielles	13
3.1. Extraction par l'hydro-distillation	13
3.2. Extraction par entrainement à la vapeur d'eau	13
3.3. Extraction par hydro-diffusion	14
3.4. Extraction par solvant	14
3.5. Extraction par CO2 super critique	15
3.6. Extraction par micro-ondes sous vide	15
3.7. Extraction par ultrasons	16
3.8. Extraction par l'expression à froid	16
3.9. Extraction par La distillation sèche	16
3.10. Extraction par les corps gras	17
Chapitre II : Description des plantes	
<i>1. Eucalyptus globulus</i>	<i>18</i>
1.1. Nom vernaculaires	18
1.2. Description botanique	18
1.3. Description géographique	20
1.4. Composition chimique	20

Table des matières

1.5. Propriétés thérapeutique	21
2. <i>Lavandula officinalis</i>	21
2.1. Nom vernaculaires	21
2.2. Classification dans la Systématique botanique	21
2.3. Description botanique	22
2.4. Description géographique	22
2.5. Composition chimique	22
2.6. Propriétés thérapeutique	23
3. <i>Illicium verum</i>	23
3.1. Classification dans la Systématique botanique	23
3.2. Origine	24
3.3. Description botanique	24
3.4. Les compositions chimiques	25
3.5. Propriétés thérapeutique	25
partie expérimentale	
Matériel et méthode	
1. Matériel	27
1.1. Matériels de laboratoire	27
1.2. Matériel végétale	27
1.2.1. La récolte des échantillons	28
1.2.2. Extraction des huiles essentielles	28
1.2.2.1. Principe	28
1.2.2.2. Mode d'opération	29
1.2.3. Détermination le rendement de l'huile essentielle	29
1.3. Matériel bactérienne	30
1.3.1. Les souches bactériennes testées	30
1.3.2. Les milieux de culture utilisés	30
1.3.3. Repiquage des souches bactéries	31
1.3.4. Préparation des suspensions bactériennes	31
2. Activité antibactérienne	32
2.1. Méthode de micro-dilution	32
2.1.1. Le principe	32

Table des matières

2.1.2. Mode d'opération	32
3. Activité antioxydante	32
3.1. Piégeage du radical DPPH	32
3.1.1. Principe	32
3.1.2. Mode d'opérateur	33
3.2. Préparation de la DPPH	33
3.2.1 Procédure	33
Résultats	34
Discussion	40
Conclusion et perspectives	44
Référence bibliographique	
Annexe	
Résumé	

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, l'homme était toujours à la recherche pour répondre à ses besoins vitaux, dans son environnement chez les plantes à savoir ; se nourrir, se soigner des blessures et soulager ses maux. (Sévenet et Tortora, 1994).

Le monde végétal renferme une panoplie de métabolites secondaires notamment les huiles essentielles, flavonoïdes, quinone, vitamine, saponines, caroténoïdes, terpènes, polyphénols, alcaloïdes, etc) (Michel, 2011).

Des études dans ce sens ont montré que très peu parmi les plantes ont présenté une toxicité et à cela s'ajoute leur caractère économique. (Auddy et al., 2003)

Différentes plantes aromatiques sont caractéristiques par la biosynthèse des molécules odorantes et volatiles qui consistent ce qu'on appelle les huiles essentielles (Bereksi, 2017) ces huiles sont utilisées comme une source des molécules bioactives d'origine naturelles jouissantes d'activités biologiques notamment l'activité antimicrobienne, antioxydante, antiseptique et anti-inflammatoire (Bilal, 2016)

Ce travail porte sur l'étude de l'activité anti-radicalaire par DPPH et l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis*, *Illicium verum* vis-à-vis de quatre souches bactériennes pathogènes *Escherichia.Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas.aeruginosa*, *Bacillus.subtilis*

Ce travail s'organise autour de deux parties présentant successivement une synthèse bibliographique et l'évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles.

Le chapitre I est consacré à généralité des huiles essentielles, des généralités sur l'activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles, les différentes méthodes d'extraction des HEs

Le chapitre II concerne une description botanique des trois plantes qui ont fait l'objet de notre étude. Dans un deuxième temps, nous exposons les compositions chimiques des huiles essentielles relatives aux trois espèces sélectionnées

Le chapitre III est consacré pour l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante des huiles essentielles-

Le chapitre IV présente la partie expérimentale qui reprend les méthodes d'extraction des huiles essentielles, l'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante et nous terminerons par une conclusion générale et perspectives.

Synthèse
Bibliographique

Chapitre I
Généralités sur les HEs

1. Les huiles essentielles

1.1. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels végétaux complexes de métabolites secondaires volatils, extraites par hydrodistillation, par expression mécanique (**Kalemba, 2003**), par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche présente dans les plantes aromatique dans plusieurs endroits (**Bilal, 2015**). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (**Burt, 2004**). Elles se trouvent en quantité appréciable chez les lamiacées (lavande, basilic, menthe ...), les Myrtacées (eucalyptus,...), les Lauracées (cannelle, sassafras...), les Apiacées (coriandre, cumin, fenouil, persil ...) (**Richter,1993**) De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression (**Santoyo et al., 2005**) ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al., 2006**).

1.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Elles sont rencontrées dans diverses familles botaniques, sont largement répandues dans le monde végétal et se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles. ces essences se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante , dans une même plante , ces huiles peuvent exister à la fois dans différents organes, ou la composition chimique peut varier d'un organe à un autre .Ces essence aromatique sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (**Bouchikhi Tani, 2011**).

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des trichomes glandulaires sécréteurs (Lamiaceae), dans des cavités sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae) (**Bruneton, 1999; Bakkaliet al., 2008**).

1.3. Propriétés des huiles essentielles

1.3.1. Propriétés physiques :

- Les HE possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques : Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et

Dans la plupart des solvants organiques.

- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau
- Elles ont un indice de réfraction élevé
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation
- Liquides à la température ambiante
- Incolores sauf dans quelque cas où on trouve des huiles en jaune, en bleu (huiles essentielles de camomille), en vert (huile d'absinthe) et en rouge (huile volatile de cannelle).
- Elles sont volatiles ce qui différencie des huiles fixes (**Benabderrahmane, et al, 2009**).

1.3.2. Propriétés biologique

Le spectre d'action des HEs est très étendu, car elles agissent vis-à-vis d'un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. En outre, certaines essences douées d'une activité antifongique s'opposent au développement des champignons, des moisissures en les détruisant (**Latloui, 1994**). Ces activités sont par ailleurs variables d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche à l'autre (**Kalembe, 2003**). Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que sur les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la structure de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**) sauf quelques exceptions, comme par exemple *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni* qui ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles (**Wan, 2000**). Néanmoins *Pseudomonas aeruginosa*, bactérie à Gram négatif, reste la moins active vis-à-vis des essences végétales.

Les molécules aromatiques telles que les phénols suivis par les aldéhydes puis les cétones viennent ensuite les alcools puis les éthers possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé. En général l'action de l'essence se déroule en trois étapes distinctes :

- Augmentation de la perméabilité suivie par une fuite des organites.
- Blocage de la production de l'énergie cellulaire et de la synthèse des composants de structure par acidification de l'intérieur de la cellule.
- Destruction du matériel génétique et, par conséquent, la mort de la bactérie.

1.3.3. Propriétés médicinales

La plupart des constituants des huiles essentielles ont un pouvoir antimicrobien d'où leur usage comme antiseptiques dans les hôpitaux (**Zambonelli, 1996**) (**Wilson, 1997**). D'autres possèdent des propriétés digestives ou des propriétés antispasmodiques, sédatives, cicatrisantes, etc. Ces activités sont dues surtout à leurs constituants terpéniques.

La nature terpénique des huiles essentielles leur confèrent un pouvoir antimicrobien d'où leur usage comme antiseptiques dans les hôpitaux (**Zambonelli, 1996**) (**Wilson, 1997**), une activité anti-inflammatoire, une activité dans les défenses immunitaires de l'individu (**Wei, 1997**).

Par ailleurs, certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont adoptées dans le traitement préventif de certains types de cancers (Nigelle, Mélisse officinale) (**Mbarek, 2007**) (**De Sousa, 2004**).

1.4. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Pour survivre et se reproduire, les plantes ont dû développer des stratégies en synthétisant des métabolites secondaires, ces stratégies sont :

- Dissuader les prédateurs: les odeurs repoussent les herbivores;
- Attirer les pollinisateurs: les couleurs et les odeurs attirent les insectes. Par exemple, certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles;
- décourager la compétition vis-à-vis d'autres espèces: c'est l'allélopathie. Certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes; c'est le cas du noyer qui produit de la juglone qui inhibe la croissance des autres plantes dans un rayon de 8 m autour du tronc (**Bouhadjera, 2005**).

Les huiles essentielles jouent également un rôle pour la plante elle-même. On estime que certains de leurs composants seraient des messagers internes ou encore des intermédiaires du métabolisme de la plante. Enfin, les huiles essentielles pourraient être des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante (**Figueredo G, 2007**).

1.5. Composition chimique des huiles essentielles

Un mélange complexe de constituants hétérogènes, ces constituants appartiennent quasi exclusivement, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distincts: le groupe des terpènes et des terpénoïdes (isopréniques, monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes et les triterpènes) (Bruneton, 1999; Rhayour, 2002; Clarke, 2008; Baser et Buchbauer, 2010.) d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane d'autre part. Elles peuvent également contenir des constituants non volatils issus de processus de dégradation (Bakkali et al., 2008; Bruneton, 2009) en plus des hydrocarbures (terpènes et sesquiterpènes) et des composés oxygénés (les alcools, les esters, les éthers, les aldéhydes, les cétones, les phénols et les éthers de phénol). La complexité des huiles essentielles rend souvent difficile la mise en évidence de leurs activités (Bruneton, 2009).

1.5.1. Les terpènes

Sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dedans leur squelette d'unité isopréniques à 5 atomes carbone $(C_5H_8)_n$. Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes $(C_5H_8)_2$, les sesquiterpènes $(C_5H_8)_3$, les diterpènes $(C_5H_8)_4$, les tétra terpènes $(C_5H_8)_8$, les poly terpènes $(C_5H_8)_n$ où n peut être de 9 à 30 (Bessedik, 2018)

a) Monoterpènes

Ils sont constitués par le couplage de deux unités isopréniques (C_{10}) et forment 90% des huiles essentielles avec une grande diversité de structures (Bakkali et al ,2008), selon le mode de couplage «tête-queue». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (El Haib, 2011).

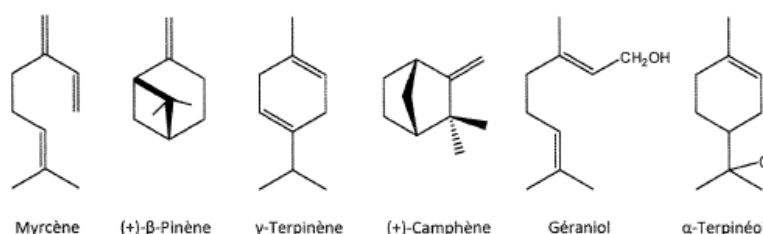


Figure 01 : Exemples de structure monoterpène

b) Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes) (**El Haib, 2011**). Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (**El Haib, 2011**). Ils contiennent plus de 3000 molécules comme par exemple: β -caryophyllène, α -humulène, α -bisabolol, farnesol l'extension de la chaîne augmente le nombre de cyclisation qui permet une grande variété de structure (**Brunton, 1999; Hernandez-Ochoa, 2005**).

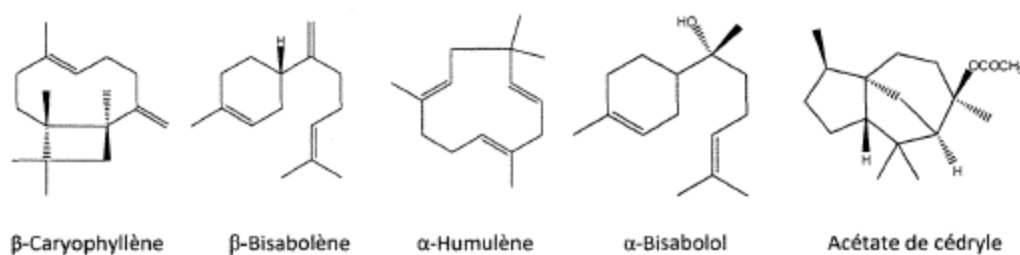


Figure 02 : Exemples de structure sesquiterpène

1.5.2. Les composés aromatiques

Les dérivés du phenylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol, et bien d'autre (**Brunton, 1999**)

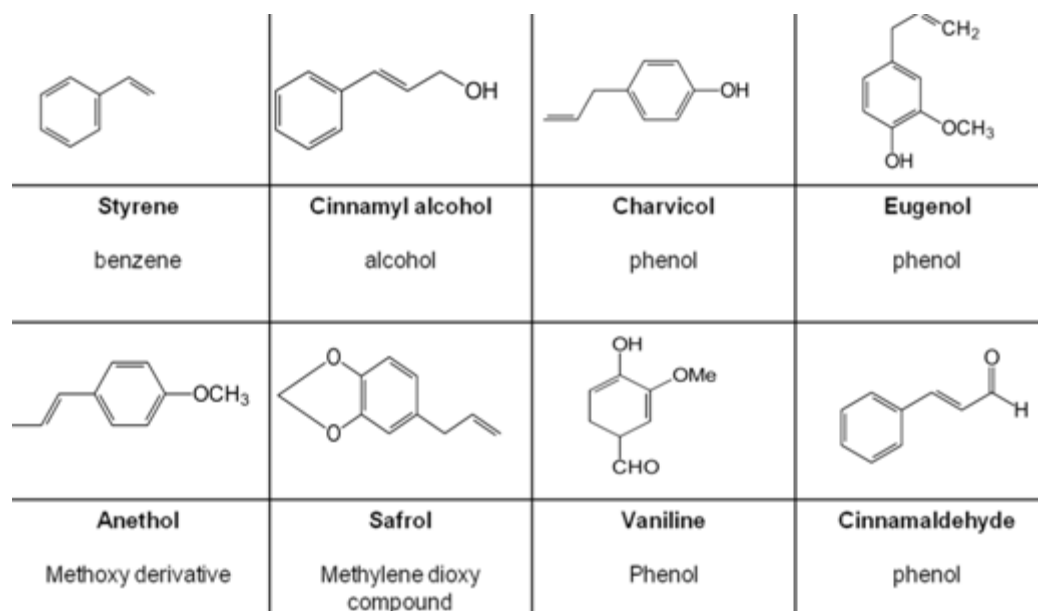


Figure 03 : Structure des quelques composés aromatiques

1.5.3. Composés d'origines divers

Il existe nombre non négligeable de produits résultants de la transformation de molécules non volatiles issues de la dégradation des terpènes non volatiles qui proviennent de l'auto-oxydation (**Piochon, 2008**).

En général, les composés d'origine variée de faible masse moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions. A titre indicatif, on peut citer :

- L'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille;
- Des acides en C3 et C10;
- Des esters acycliques présents surtout dans les fruits : acétate de butyle (pomme), acétate d'isoamyle (banane);
- Des aldéhydes comme l'octanal et le décanal des Citrus;
- Des alcools comme le 1-octène-3-ol de l'essence de lavande,... (**Singh, 1990**)
(**Lamarti 1994**)

1.6. Domaine d'utilisation des huiles essentielle

Les HE des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Amarti, 2010**).

1.6.1. Aromathérapie

En stimulant le système nerveux, les arômes des HE lancent un ordre d'autorégulation. Plus précisément, l'aromathérapie prépare le corps à lutter contre la maladie en stimulant le réflexe d'auto-guérison et en modifiant la structure chimique des liquides corporels (la salive, le sang, la lymphe). Les HE ont également une influence sur les sécrétions hormonales, sur l'équilibre endocrinien et sur les réactions neurovégétatives corporelles (**Odoul, 2003**).

1.6.2. Agro-alimentaire

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les huiles essentielles s sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, laurier, thym,...). Leur pouvoir antioxydant permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du sèment par exemple par le thym et le romarin (**Teissedre, 2000**) (**Ismail Alaoui, 1990**) (**Latloui, 1994**).

Les huiles essentielles sont finalement devenues des arômes naturels et des rehausseurs de goût dans de nombreux domaines de l'agroalimentaire : liqueurs, boissons, confiseries, plats cuisinés (**Garneau, 2005**) Parfumerie et cosmétologie.

1.6.3. Cosmétologie et parfumerie

Elles sont utilisées pour la fabrication des parfums, dans les compositions parfumantes des détergents et des produits de parfumerie fonctionnelle. Dans le secteur de cette dernière, les huiles essentielles sont sélectionnées pour renforcer l'impression de la propreté (**Loza-Tavera, 1999**), de même, elles ont aussi une grande importance économique comme saveurs et solvants (**Robinson, 1991**).

1.6.4. Pharmaceutique

De nombreuses HEs sont présentes dans la formule d'un très grand nombre de produit pharmaceutique : sirop, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres (**Odoul, 2003**).

Plusieurs activités peuvent être attribuées aux Huiles Essentielles : cholérétique, cicatrisante, neurosédatrice, spasmolytique, digestive, stomacique, antimicrobienne, anti-inflammatoire (**Bruneton, 1999**), désinfectante du système respiratoire (Inouye et al., 2001a/b), antioxydante (**Dorman et al., 2000**), en médecine dentaire (la listerine) (**Kato et al., 1990**).

1.7. Toxicité des huiles essentielles

Ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme comme tous les produits naturels. En raison de leur pouvoir irritant, certaines Huiles essentielles sont toxiques lorsqu'elles sont appliquées sur la peau (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines. D'autres Huiles essentielles ont un effet neurotoxique (huiles riche en a-thujone) ou cancérigènes (**Pionchon, 2008**).

2. Activités biologique des huiles essentielle

Les huiles essentielles ont des activités fongicide, insecticide, herbicide, bactéricide, antioxydante...etc.

Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydants, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (**Baser, 2015**).

2.1. Activité antibactérienne

2.1.2. Principes actifs et mécanisme d'action antibactérien des HsE

La présence des groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et l'effet synergique confèrent aux huiles essentielles de nombreuses activités biologiques. (**Dorman et Deans, 2000; Ultee et al., 2002**).

Les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinène-4-ol et linalol) possèdent un spectre large d'activité biologique, les alcools (α -terpinéol, terpinène-4-ol et linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les terpènes (**Cosentino et al., 1999; Dorman et Deans, 2000**).

Des études ont montré que le principal site d'action des Huiles essentielles est la membrane plasmique (**Shunying et al., 2005**), car le caractère hydrophobe des HEs leur permet de se lier avec les lipides de la membrane plasmique qui perd sa structure et devient plus perméable aux ions potassium et proton (**Burt, 2004**). Ceci entraîne une diminution du gradient de pH, du potentiel membranaire et une inhibition de la synthèse d'ATP qui s'ensuit par la mort de la bactérie (**Ultee et al., 1999 ; Burt, 2004**).

Les terpènes ainsi que les flavonoïdes peuvent pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (**Wendakoon, 1995**)(**Tsu chiya, 1996**) . Également, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intracytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de L'ATP, et du phosphate inorganique (**Tsuchiya, 1996 : Daroui-Mokaddem H, 2011**)

La présence dans la membrane des lipo-polysaccharides (LPS) chez les gram (-) la rend plus hydrophiles, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer, par conséquent, les bactéries à Gram (-) sont plus résistantes que les bactéries à Gram (+). (**Cristiani et al. 2007**). Par ailleurs, les composés phénoliques de faible poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipo-

polysaccharides membranaires grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Zani et al., 1991).

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois étapes :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la fuite des organites cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Altération du matériel génétique provoquant la mort de la bactérie.

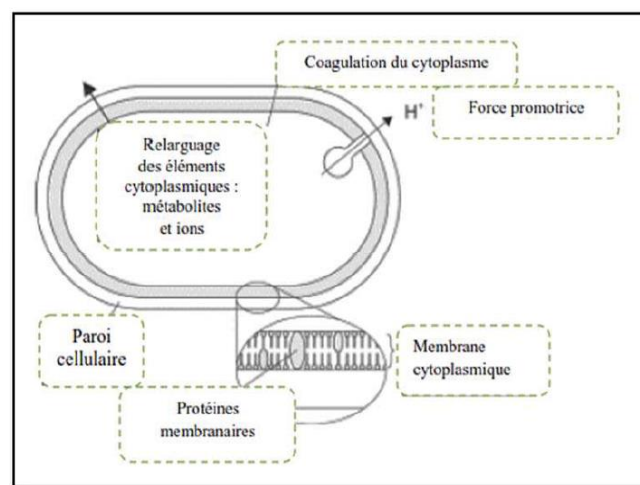


Figure 04: Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (Burt, 2004)

2.1.2. Détermination de l'effet bactériostatique ou bactéricide

La détermination de l'effet bactéricide ou bactériostatique d'une HE est réalisée en procédant un repiquage des zones d'inhibition formées et ne présentant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu sur milieu de culture. La présence d'une croissance bactérienne montre que l'huile essentielle a un effet bactériostatique sur la souche testée. Par contre, L'absence de croissance justifie l'effet bactéricide vis-à-vis de la souche en cause. (Halliwell, 1997).

2.2. Activité antioxydante

Les radicaux libres produits par divers mécanismes physiologiques sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable ; mais la production excessive ou résulter de phénomènes toxiques exogènes et l'organisme va devoir se protéger de ces excès par différents systèmes antioxydants. Dans les circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « **stress oxydant** ». La rupture d'équilibre peut provenir d'une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs des antioxydants apportés par la nutrition comme les vitamines ou les oligo-éléments. (Rhita et al., 2018)

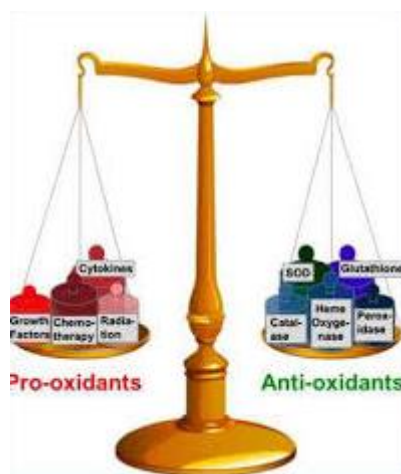


Figure 05 : Balance de stress oxydatif

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (Walker et al., 1982).

2.2.1. Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des molécules ou atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe. Ils apparaissent soit au cours de la rupture symétrique d'une liaison covalente pendant laquelle chaque atome conserve son électron, soit au cours d'une réaction redox avec perte ou gain d'électrons à partir d'un composé non radical (Koechlin-

Ramonatxo, 2006; Leverage, 2006). Cet état leur confère une très grande réactivité afin de revenir à l'état stable soit en donnant un électron ou en prenant un électron d'une autre molécule (**Koehler-Ramonatxo, 2006**).

2.2.2. Différents types de radicaux libres

a) **Les radicaux primaires** L'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) et le radical alkoxyde (RO^{\cdot}).

b) **Les radicaux secondaires**

telles que l'oxygène singulet 1O_2 , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le nitroperoxyde ($ONOOH$), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (**Favier, 2003**).

2.2.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. En outre, l'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, il est stable dans le produit fin. (**Hellal, 2011**).

2.2.2. Les huiles essentielles comme antioxydants

Le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibre entre la production des radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition des maladies telles que l'alzheimer (**Butterfield et Lauderback, 2002**), l'artériosclérose et le cancer (**Gardner, 1997**). Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher, dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydants (vitamine C, etc.) (**Béliveau et Gingras, 2005**).

Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (**Edris, 2007**). Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (**Braga et al., 2006**).

L'activité antioxydante des huiles essentielles est également attribuable à certains alcools, éthers, cétones, aldéhydes monoterpéniques (le tinalool, le 1,8-cinéol, le géraniol/nérol, le

citronellal, l'isomenthone, la menthone) et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et α -terpinolène (Edris, 2007).

2.3. Activité antifongique

Les huiles essentielles agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures. L'étude de l'effet fongicide et fongistatique des huiles essentielles vis-à-vis de champignons pathogènes a fait l'objet de plusieurs travaux (Karaman et al, 2001) (Duarte et al, 2005)

L'action antifongique des huiles essentielles est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la cellule (Cox et al., 2000)

Les composés terpéniques des huiles essentielles et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique des levures (Knobloch et al, 1989).

3. Les techniques d'extractions des huiles essentielles

3.1. Extraction par l'hydrodistillation

Le principe de l'hydrodistillation est celui de la distillation des mélanges binaires non miscibles. Elle consiste à immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau, que l'on porte ensuite à l'ébullition. La vapeur d'eau et l'essence libérée par le matériel végétal forment un mélange non miscible. Les composants d'un tel mélange se comportent comme si chacun était tout seul à la température du mélange, c'est à dire que la pression partielle de la vapeur d'un composant est égale à la pression de vapeur du corps pur. Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (Chemat F, 2009)

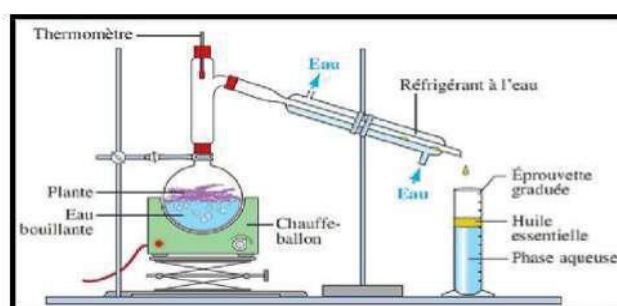


Figure 06 : Montage d'extraction par hydrodistillation (Bilal, 2016).

3.5. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydro distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique'' l'huile essentielle''. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005).

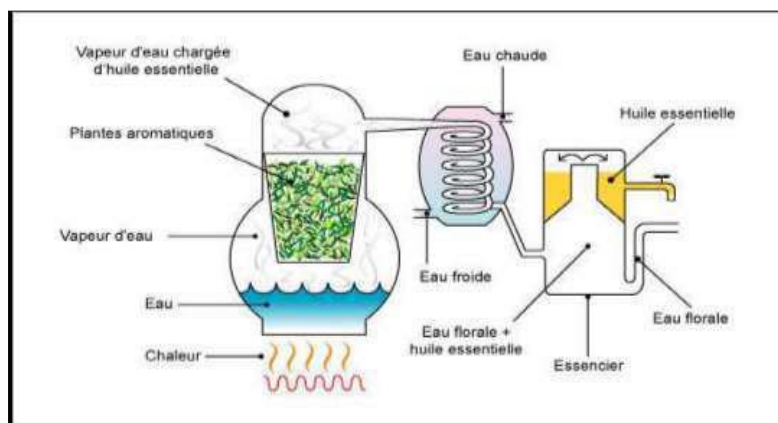


Figure 07 : Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Bilal, 2016)

3.3. Extraction par hydro-diffusion

C'est une modification du processus de l'entraînement par la vapeur d'eau au cours duquel la vapeur d'eau arrive par le haut d'un conteneur d'herbe, permettant ainsi à la vapeur de percoler à travers la matière végétale par gravité. Les vapeurs d'huile et vapeurs d'eau sont ensuite condensées et séparées (Benabdelkader, 2012).

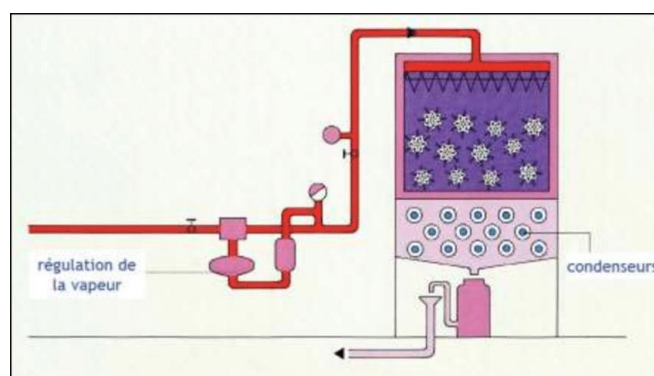


Figure 08: Schéma du procédé d'hydrodiffusion (Bousbia, 2011).

3.9. Extraction par solvant

Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants (Hajji, 1989). Ces extraits sont très utilisés en parfumerie (Benabdelkader, 2012).

3.5. Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Hajji, 1989)

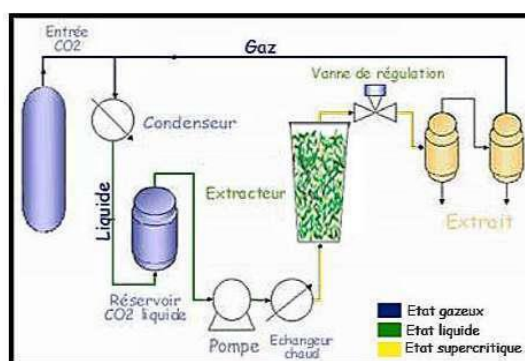


Figure 09 : Montage d'extraction par les fluides supercritiques (Bilal, 2016)

3.6. Extraction par micro-ondes sous vide

Dans ce procédé, la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement de micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle, l'HE est entraînée dans le mélange isotopique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Très rapide, peu consommateur d'énergie, ce procédé fournit un produit de qualité et de quantité supérieure à celui obtenu par l'hydrodistillation (Bruneton, 1999).

Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps, d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Hajji, 1989).

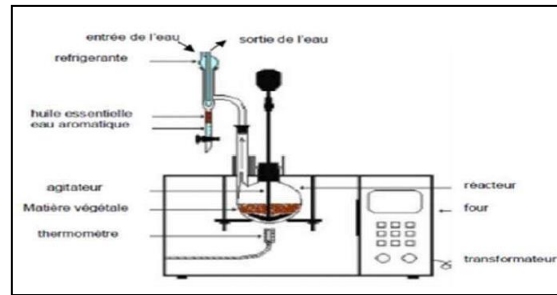


Figure 11 : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (Lamamra, 2018).

3.7. Extraction par ultrasons

Les ultrasons génèrent des micro-cavitations qui désorganisent la structure des parois végétales, notamment les zones cristallines celluliques. Les ultrasons favorisent la diffusion et peuvent modifier l'ordre de distillation, des constituants des huiles essentielles. L'extraction par les ultrasons est une technique de choix, pour les solvants de faible point d'ébullition, à des températures d'extraction inférieures au point d'ébullition (Lamamra, 2018)

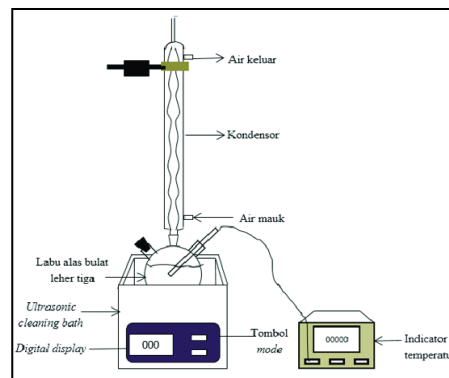


Figure 11 : montage extraction par ultraso

3.8. Extraction par l'expression à froid

C'est une technique "physique" simple où les écorces des agrumes (citron, orange,...) sont pressées à froid pour extraire leurs HEs en utilisant des rouleaux ou des éponges. Aucune source de chaleur n'est utilisée, laissant ainsi à l'huile une odeur très proche de l'original. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la superficie de l'écorce de ces fruits renfermant l'HE. L'huile libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau (Herzi, 2013).

3.9. Extraction par La distillation sèche

Cette technique, très peu utilisée, consiste en un chauffage doux de la matière première, sans eau ni solvant organique. Les substances volatiles sont ensuite condensées et récupérées.

La température est ici inférieure à 100°C, ce qui limite une nouvelle fois les phénomènes de dénaturation liés au chauffage. L'absence d'eau permet également de préserver les substances volatiles de l'hydrolyse. On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières première particulièrement fragiles (Duval, 2012)

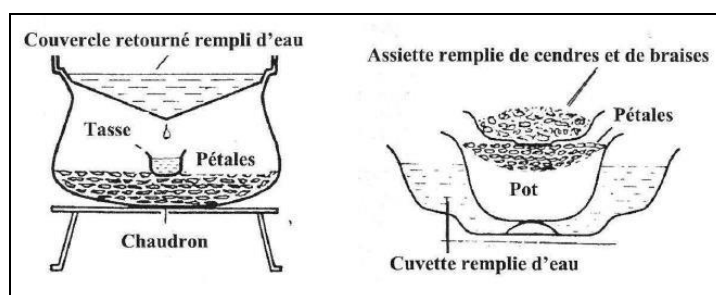


Figure 12 : Technique d'extraction par distillation sèche

3.10. Extraction par les corps gras

La méthode d'extraction par les corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite (Chemat, 2009)

Chapitre II
Description des plantes

1. *Eucalyptus globulus*

1.1. Nom vernaculaires

En français, il est appelé par plusieurs noms qui sont : eucalyptus, arbre de la fièvre, gommier bleu, en anglais: blue gumtree et en arabe: Kalitus, Kalatus (**Goetz et Ghadira, 2012**).

1.2. Classification dans la Systématique botanique

Selon la classification phylogénétique APG. (**Daroui-Mokaddem,2012**).

Tableau 01: la systématique d'*Eucalyptus globulus*

Règne	Plantae
Sous-Règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>globulus</i>

1.3. Description botanique

Le *E. globulus* est un arbre de croissance rapide qui peut atteindre à l'âge adulte 30 à 35 m de hauteur dans les régions Méditerranéennes (**Aït Youssef, 2006**) et jusqu'à 100 m dans le milieu naturel (**Australie et Tasmanie**) (**Ghedira et al., 2008**).

Les fleurs : sont généralement en bouquets ombelliformes, rarement solitaires et elles possèdent des sépales soudés en opercule conique qui tombe d'une seule pièce lorsque la fleur s'ouvre ; les étamines sont nombreuses et proéminentes. Le fruit de ce genre est sous forme de capsule (**Balmey et Wilson, 2000**).

Les feuilles : sont persistantes et polymorphes selon l'âge du rameau. Les rameaux jeunes possèdent des feuilles larges courtes, opposées, sessiles et disposées horizontalement sur les rameaux (**Babba Aïssa, 1999; Ghedira et al., 2008**). Elles mesurent 10 à 15 cm de long et 4

à 8 cm de large avec un limbe entier qui renferme des nodules sécréteurs visibles par transparence (Aït Youssef, 2006). Les feuilles adultes sont aromatiques falciformes de 12 à 30 cm de long et 2 à 5 cm de large, étroites, pointues, épaisses, vert-foncé courtement pétiolées, alternes et pendantes (Ghedira et al. 2008; Wichtl et Anton, 2003). Elle présente une nervure centrale vert-jaune. Les nervures secondaires s'anastomosent sur les bords de la feuille en une ligne continue. Les bords sont réguliers et légèrement épaissis, les 2 faces sont ponctuées de minuscules taches verruqueuses brun foncé réparties de façon irrégulière. De petites poches sécrétrices sont visibles par transparence. Les feuilles juvéniles sont très différentes du feuillage adulte : elles sont ovales, larges, sessiles, opposées et couvertes d'une pruine (couche cireuse, légèrement poudreuse, permettant à la plante de se protéger de la chaleur et des agressions extérieurs) (Pauline, 2019).

Les fleurs : les fleurs, visibles au printemps, naissent à l'aisselle des feuilles, le calice à la forme d'une toupie bosselée dont la partie large est couverte par un opercule qui se détache au moment de la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines (Nathalie, 2015). Elles sont blanches solitaires ou groupées par 2 où 3 (Brosse, 2005). Elles possèdent 4 sépales rugueux et cireux, soudés en une urne (Bruneton, 2002). Les fleurs sont bisexuées et régulières. Les fleurs couleur crème sont solitaires à l'aisselle des feuilles et produisent un abondant nectar que les abeilles transforment en un miel à saveur prononcée (Daroui-Mokaddem, 2012).

Le fruit : est une capsule ligneuse dure et anguleuse, en forme de pyramide quadrangulaire renversée (Aït Youssef, 2006), prenant une teinte marron à maturité et s'ouvrant légèrement par trois, quatre à cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres (Ghedira et al., 2008).



Figure 13: Photographie des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

1.4. Description géographique

L'*E.globulus* est originaire d'Australie et de Tasmanie, pays où il constitue la majeure partie de la flore forestière (Aït yousef, 2006 ; Schauenberg et Paris, 1977). De nombreuses espèces sont acclimatées dans d'autres pays comme l'Inde, le Brésil, l'Europe et le bassin Méditerranéen (Forrest and Moore, 2008 ; Ghedira et al., 2008) certaines pour leur bois, d'autres pour stabiliser le sol, comme brise vent ou comme arbres d'ornement (Balmey et Wilson, 2000). Les feuilles éloignent les insectes, d'où des plantations en Afrique pour diminuer la propagation de la malaria. Il a été introduit en 1857 en Algérie pour drainer les terrains de régions touchées par la malaria (Treiner, 2000).

1.5. Composition chimique

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles des feuilles et des fruits de *E. globulus*, et plus de 30 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le 1,8 cineole, camphène, α -pinene, globulol, b-pinene, p-cymene, myrcene, g-terpinene, α -terpineol et le limonène (Pereira et al., 2004; Songa et al., 2009).

Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit; dont les monoterpènes (50,4%), les sesquiterpènes (49,6%). Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrene (25,1%), suivi de phellandrene (17,2%), 1,8-cineole (11,7%), ledene (5,83%) et du globulol (5,23%) (Pereira et al., 2004).

47 composés ont été identifiés dans les huiles essentielles des feuilles: le 1, 8-eucalyptol (72,71 %), α -pinene (9,22 %), α -terpineol (2,54%), (-)-globulol (2,77%), α -terpineol acétate (3,11%), et d'alloaromadendrene (2,47 %) (Songa A et al., 2009).

Le composé majoritaire: L'eucalyptol ou le 1,8 cineole avec une concentration de 70 à 85% (Opdyke, 2002; Zhiri et Baudoux, 2005).

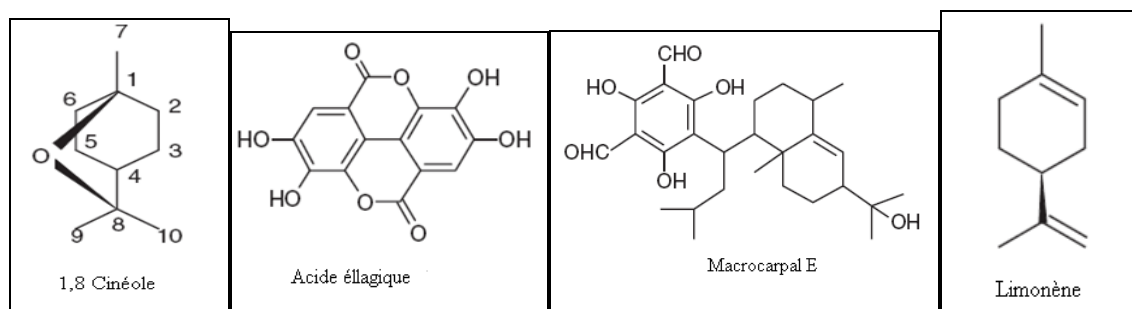


Figure 14: Structures de quelques composés identifiés des feuilles de *E. globulus* (Jacovelli, 2002).

1.6. Propriétés thérapeutique

L'Huile Essentielle d'*Eucalyptus globulus* est un antiseptique des voies respiratoires, expectorant, analgésique (Duraffourd, 1997) en usage interne et externe, décongestionnant, hypoglycémiant, une action détoxifiante des toxines diphtérique et tétanique, antimicrobien sur les bactéries Gram +, antifongique, anti inflammatoire, améliore les épreuves fonctionnelles respiratoires, mucolytique, antispasmodique bronchique, fébrifuge, tropisme broncho-pulmonaire très marqué, asséchante en forte proportion.

Les propriétés médicinales de l'Eucalyptus sont surtout attribuables à l'eucalyptol (aussi appelé 1,8-cinéole) que renferment ses feuilles. Le 1,8-cinéole que contient l'Eucalyptus s'est révélé être efficace pour réduire la dose de corticostéroïdes utilisée par des sujets souffrant d'asthme (Juergens et al., 2003) et pour combattre le rhume (Tesche, 2008 ; Kehrl et al., 2008).

2. *Lavandula officinalis*

2.1. Nom vernaculaires

Lavande vraie, Lavande officinale, Lavande fine, Lavande commune, Lavandefemelle, Nard d'Italie, Faux Nard, Garde robes.

2.2. Classification dans la Systématique botanique

La Lavande fine est une espèce d'arbre de la famille des *Lamiaceae*.

Tableau 02 : Classification botanique de *Lavandula officinalis*

Règne	Plantae
Sous-Règne	Viridaeplantae
Classe	Equisetopsida
Sous-Classe	Magnoliidae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula officinalis</i>

2.3. Description botanique

C'est une plante compacte vivace, membre de la famille de labiacée, classée dans les sous arbrisseaux, avec une tige haute de 20 à 60 cm de hauteur, ligneuse et pousse en touffe avec les rameaux allongés (Nadhmi, 2009).

Ses feuilles sont étroites, linéaires et ses fleurs bleu-violet apparaissent en épis associés à deux petites bractées ovales et pointues.

Les fleurs sont courtement pédonculées et disposées en épis de six ou dix groupes dont les plus inférieurs sont séparés des supérieurs. Elles sont portées par des bractées aussi larges que longues, et Le calice est brièvement cotonneux (Botineau, 2010).

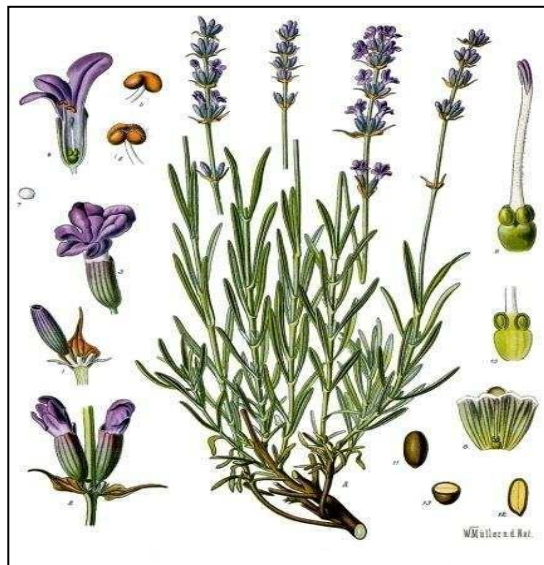


Figure 15 : *Lavandula angustifolia*

2.4. Description géographique

En général, les lavandes poussent et s'épanouissent mieux dans des terrains secs, bien drainés, légers, sablonneux et pierreux en plein soleil (Grieve, 1971). Elle pousse dans les montagnes calcaires (500 à 1800 mètres) (Kothe, 2007).

2.5. Composition chimique

Quelques études ont été réalisées sur les huiles essentielles de *Lavandula officinalis* et 49 composés ont été identifiés. la majorité des composants de l'huile essentielle sont des monoterpènes. Les composants majeurs de cette huile sont : linalyl acétate , linalool, 1,8-cineole , γ -terpinene et camphor (laib et barkat, 2011)

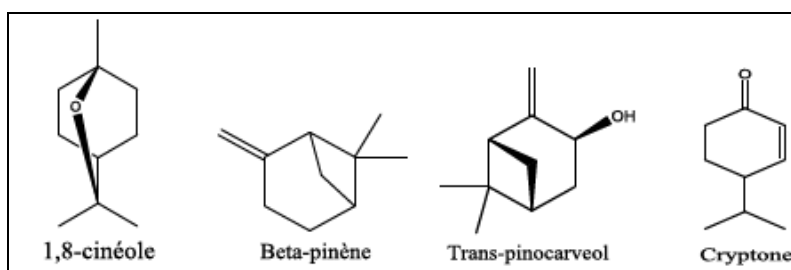


Figure 16 : Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle de *L. officinalis*.

2.6. Propriétés thérapeutique

La lavande possède des propriétés sédatives du système nerveux, cicatrisant, antiseptique, antalgique, antispasmodique, hypotenseur, sympatholytique et parasympatholytique (Magnan, 2006). La plante était exploitée également dans la confection des médicaments et des parfums, ainsi pour combattre les poux. Concernant l'essence, appliqué pure sur la peau il soulage les brûlures et les piqûres d'insectes. De même il était courant de mettre des gouttes dans l'eau du bain et dans les eaux savonneuses aussi et ceci avant que les parfums synthétiques et les détergents nous ont envahis (Wacker, 2008).

3. *Illicium verum*

3.1. Classification dans la Systématique botanique

Tableau 03 : Classification botanique d'*illicium verum*

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Magnoliidae
Ordre	Illiciales
Famille	Illiciaceae
Genre	<i>Illicium</i>
Espèce	<i>verum</i>

3.2. Origine

Il a été introduit en Europe à la fin du 17^{ème} siècle. Originaire d'Asie, principalement de Chine du Sud, Poussant essentiellement dans les régions tropicales il peut supporter le climat tempéré doux européen. La Badiane est également appelé "Anis de Sibérie", "Anis Etoilé", "Badiane", "Badiane de Chine" et "Fenouil de Chine" (**Brown sa, 1992**).

3.3. Description botanique

La badiane de Chine est un arbre ornemental et aromatique. Atteignant une dizaine de mètres, toujours vert, il supporte les températures allant jusqu'à -5°C (**Brown sa,1992**).est un polyfollicule en forme d'étoile, d'un diamètre de 1 à 2 cm, à huit branches (les carpelles). (**Carole M, 2013**)

Le feuillage est vert foncé, les fleurs assez grandes et généralement solitaires, rose ou jaune, le fruit, marron-rouge une fois séché.

Les carpelles de taille semblable sont insérés régulièrement sur un pédicule central, chaque branche de l'étoile se fend à maturité et laisse voir une graine unique, marron brillant. En outre, la badiane exhale une odeur poivrée et possède une puissante saveur anisée. (**Carole M, 2013**)

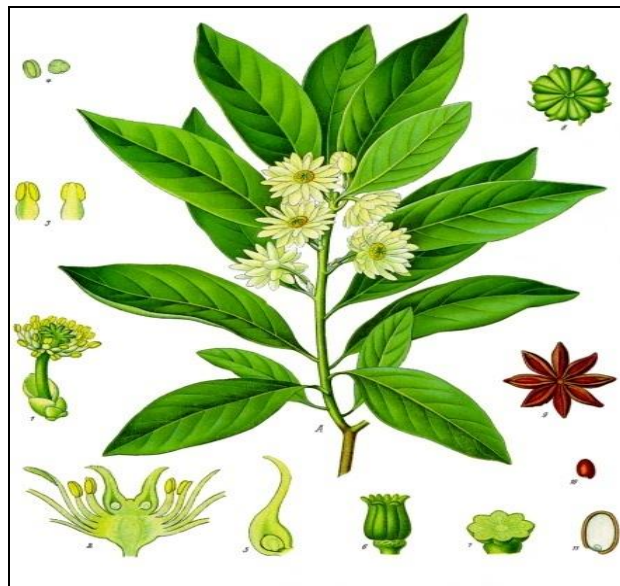


Figure 17 : planche d'herbier figurant *illicium verum*

3.4. Les compositions chimiques

Tableau 04 : récapitulatif des quantités et familles chimiques des principaux composants de l'H.E. d *Illicium verum* (Bruneton, 2009 ; Dzamic et al., 2009 ; Wang et al.,2006)

Famille chimique	Nom de la molécule	Quantité	Propriétés
<i>phénylpropènes</i> (Phénols)	Trans-anéthole = E-anéthol	80 à 95 %	Activité insecticides et anticholinestérasique, Antimicrobien, antifongique
<i>Phénylpropènes</i>	Méthyl-chavicol = estragole	0,5 à 5 %	Antifongique, Antiviral. Stimulant digestif, antiallergique, spasmolytique intestinal,
<i>Sesquiterpènes</i>	gamma-himachalène, alpha-himachalène, bêta-himachalène, bêta-bisabolène, zingibérène	Très faible quantité	Activité antiseptique, Stomachiques, Anti-inflammatoires
<i>Monoterpènes</i>	limonène, alpha-pinène, linalol	5%	Antiseptique, antivirale et sédative. Anti-inflammatoires, bronchodilatateur et expectorant

3.4. Propriétés thérapeutique

- Troubles gastro-intestinaux : atténue les colites, entérocolites, indigestions, dyspepsies, flatulences, spasmes du tube digestif.
- Troubles de la vésicule biliaire : stimule la sécrétion biliaire.
- Troubles de l'appareil urinaire : agit sur les spasmes de la vessie infectée et atténue les douleurs liées aux calculs.
- Système cardio-vasculaire : régule les troubles de la tension artérielle et des pulsations cardiaques (propriétés tonicardiaques).
- Problèmes hormonaux ; réduit les dérèglements hormonaux et les bouffées de chaleur liés à la ménopause.
- Etat général : diminue la fatigue physique, l'asthénie, l'anxiété, la dépression, stimule la libido.
- Pathologies : aide à fluidifier les sécrétions nasales (en cas de rhinopharyngites).
- Rhumatologie : Calme les douleurs articulaires et les lombalgies. Agit sur les troubles digestifs (colites, flatulences, spasmes de l'intestin), les spasmes de la vessie, les

douleurs articulaires et musculaires, la régulation hormonale, les infections et les pathologies du système respiratoire, l'hypertension et l'état général.

Partie expérimentale

❖ L'objectif de l'étude

1^{er} partie : dans un premier temps extraction des huiles essentielles par hydro-distillation clevenger.

2^{ème} partie : portera sur le test microbiologique pour déterminer l'activité antibactérienne des huiles essentielles obtenue et détermination de l'activité antioxydant des extraits obtenue.

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie et de microbiologie de l'université situé au l'Hamma du 30 mai – 14 juin 2022 à khenchela.

1. Matériel**1.2. Matériels de laboratoire**

- Appareil d'hydro distillation de type Clevenger
- Spectrophotométrie;
- Etuve
- Agitateur a barreau magnétique chauffant.
- Autoclave
- Micropipette; Ans de platine; Becher, flacons.
- Bec Benzène
- Ecouvillon stérile
- Tube à essai
- Réfrigérateur
- Boites de pétrie
- microplaque 96 puits
- Chauffe ballon.
- Ampoule à décanter

1.2. Matériel végétale

Ce présent travail a pour objectif la recherche d'activités biologiques notamment l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante des huiles essentielles. Les plantes choisies de notre choix sont ; *Eucalyptus globulus*, *Lavandula officinalis*, *Illicium verum*.

1.2.1. La récolte des échantillons

L'échantillonnage des feuilles d'*Eucalyptus globulus* est réalisé le 28 mai 2022 de la wilaya de khenchela (route de babar)

Les fleurs de *Lavandula officinalis* est collecté dans leur habitat naturel dans la région (EL'Hamma) wilaya de khenchela le 28 mai 2022

Les fruits d'*Illicium verum* est importé de la chine et est disponible dans le marché tout au long de l'année les information sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 105 : les conditions de récolte de chaque plante

Les plantes	La date de récolte	lieu de récolte	L'heure de récolte	La nature de la plante
<i>Eucalyptus globulus</i>	28mai 2022	Khenchela ville	20 :00	/
<i>Lavandula officinalis</i>	28 mai 2022	El-Hamma (khenchela)	17 :30	au stade de floraison
<i>illicium verum</i>	/	/	/	Sèche

1.2.2. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type clevenger pendant 3h

1.2.2.1. Principe

La méthode consiste à immerger le matériel végétal directement dans un récipient rempli d'eau placé sur une source de chaleur. L'ébullition de l'eau entraine alors les huiles essentielles, qui au contact d'un réfrigérant, se condensent et se récupèrent sous forme d'une mélange (eau + huile essentielle). L'huile se sépare, par la suite, par simple différence de densité.



Figure 18 : Montage hydrodistillation clevenger

1.2.2.2. Mode opératoire :

- pour l'*Eucalyptus globulus* : 590g d'*Eucalyptus* frais + 1000ml d'eau distillé sont introduits dans un ballon de 5000ml. On porte le ballon rempli à ébullition 100°C
- pour *Lavandula officinalis* : 200g de lavande au stade de floraison + 1000ml d'eau distillé
- pour *illicium verum* : 200g d'anis étoile sèche + 1000ml d'eau distillé
- Après 3h d'extraction les deux phases non miscibles sont séparées
- L'huile essentielle est récupérée dans des petits flacons en verre
- Le volume d'huile obtenue est noté pour le calcul de rendement



Figure 19 : Photographie montrant la séparation des HsE par décantation.

1.2.3. Détermination le rendement de l'huile essentielle

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée, le rendement est exprimé en pourcentage, il est calculé selon la formule suivante :

$$R = (m_{HE} / m_{MV}) \times 100$$

R : rendement de l'huile essentielle (%)

m_{HE} : masse de l'huile essentielle (ml)

m_{MV} : masse de la matière végétale (g)

1.2. Matériel bactérienne

1.3.1. Les souches bactériennes testées

Trois souches de référence ont servi à l'étude de l'activité antibactérienne de l'extrait, ces bactéries ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'Homme.

- Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*
- Bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas orginosa*

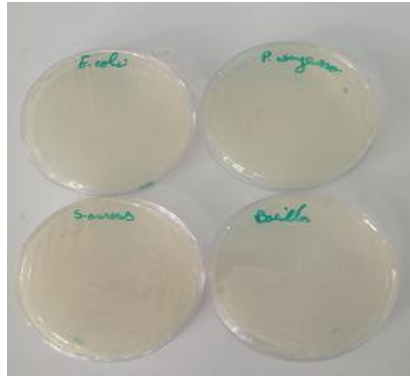


Figure 20 : les différentes souches bactériennes utilisés

1.3.2. Les milieux de culture utilisés

Nous avons utilisés deux milieux de culture : Gélose nutritive (GN) pour l'isolement et la croissance des bactéries, bouillon Mueller Hinton (BMH) pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens (HsE)

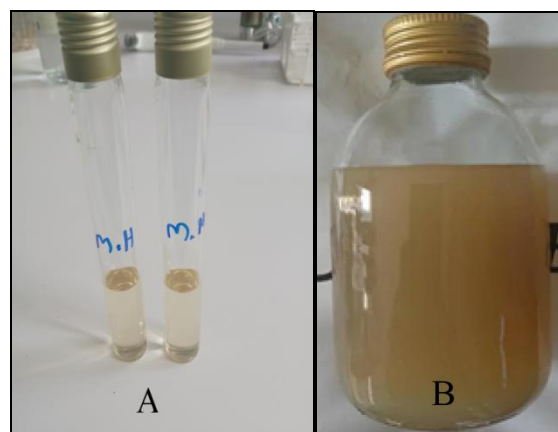


Figure 21 : photographie des milieux de culture utilisé
A : bouillon Mueller Hinton
B : gélose nutritive

1.3.3. Repiquage des souches bactériennes

L'ensemble des souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur milieu nutritif gélose favorable à leur croissance pendant 24h à l'obscurité et à 37°C afin d'obtenir des colonies jeunes et bien isolée pour l'étude de l'activité antibactérienne.



Figure 22 : Ensemencement des bactéries sur gélose nutritive

1.3.4. Préparation des souches bactériennes

La préparation des suspensions bactériennes se fait à partir des souche obtenue, on prend quelques colonies a l'aide de l'anse de platine et inclue dans un tube de 10 ml d'eau physiologique et homogénéisé la suspension puis on compare par 0.5 Mac Ferland (BaCl_2 dans H_2SO_4)

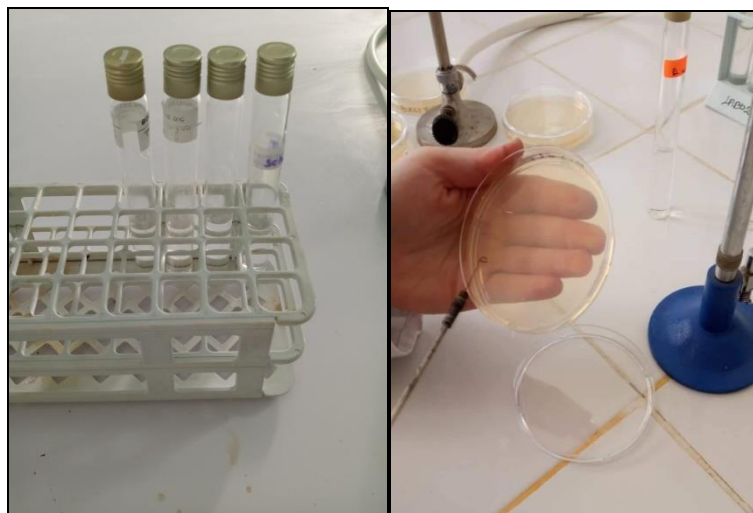


Figure 23 : préparation de suspension bactérienne dans l'eau physiologique

2. Activité antibactérienne

2.1. Méthode de micro-dilution

2.1.1. Le principe

La détermination de l'activité antibactérienne en milieu liquide des huiles testées est réalisée sur microplaque à 96 puits. Cette méthode permettant la détermination de la valeur de CMI (concentration minimal inhibitrice) d'une suspension bactérienne testée.

2.1.2. Mode d'opération

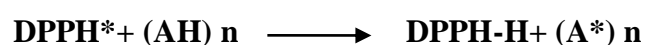
Dans chaque ligne de la microplaque, 100 ul de bouillon Mueller Hinton sont déposés dans tous les puits jusqu'au 12^{ème} puits, ensuite 100 ul d'huile essentielle sont rajoutés uniquement dans le puits N°1. Le contenu de puits N°1 est bien homogénéisé, puis 100 ul sont transférés dans le puits N°2, puis N°3, N°4 et ainsi de suite jusqu'au puits N°12 et la dernière 100 ul est jetée. Afin d'obtenir des dilutions semi successives. Les deux derniers puits (N°11 et N°12) sont utilisés comme contrôle de la croissance et de la stérilité du milieu. Enfin, 10ul de suspension bactérienne sont déposés dans chaque puits. La microplaque est scellée ensuite avec son couvercle et incubée à 37C° pendant 24h. La lecture des résultats est assurée par l'observation directe des puits à l'aide d'une source lumineuse afin de visualiser. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'HE qui inhibe complètement la croissance bactérienne dans les puits après 24h d'incubation

3. Activité antioxydante

3.1. Piégeage du radical DPPH

3.1.1. Principe

Le DPPH (2,2- diphényl-1-picrylhydrazyl) se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH), ce qui donne lieu à une coloration violette de la solution, Il absorbe aux environs de 515nm. La réduction de ce dernier en diphényl picryl-hydrazine par un composé possédant des propriétés anti-radicalaires engendre une décoloration de la solution, dont l'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité de l'antioxydant qui donne un hydrogène ou un électron (Mechernene, 2014) On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation:



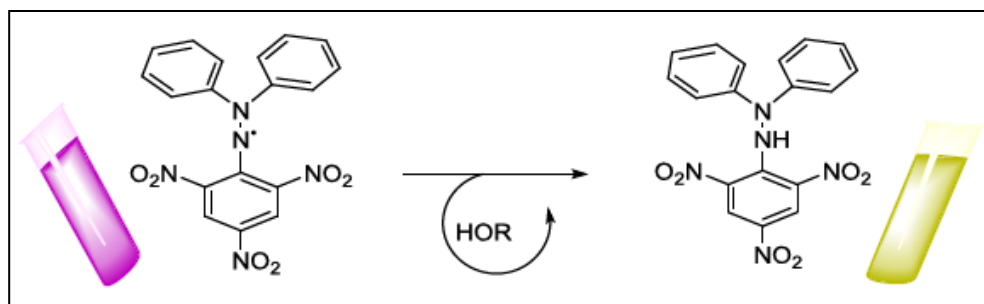


Figure 24 : Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.

3.1.2. Mode d'opérateur

3.1.2.1. Préparation de la DPPH

Dissoudre 0.0028g de DPPH dans un volume de 112 ml de MeOH, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est (517 nm) dans le spectrophotomètre.

3.1.2.2. Procédure

Après la préparation du DPPH, on prend 3 tubes et on ajoute 160 µl (DPPH) Mélangé avec 40 µl de chaque extrait. Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, L'absorbance est lue à 517 nm contre un témoin négatif (sans extrait). Le pourcentage de L'activité anti-radicalaire est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité anti-radicalaire (\%)} = [(Ac - At) / Ac] \times 100$$

Ac: Absorbance du contrôle.

At: Absorbance d'extrait ou standard.

Résultat et Discussion

1. Résultats

1.1. Rendement en huile essentielle

Les huiles essentielles a été extraite par un hydro distillateur de type Clevenger sont les feuilles d'*Eucalyptus globulus*, les fleurs de *Lavandula officinalis* et les fruits de *illicium verum* Nous avons obtenu une huile de couleur jaune avec une odeur agréable et fraîche. Nous avons récupéré une quantité huileuse importante avec des caractéristiques différents (**Figure 24**), Les rendements en HsE des trois parties (feuilles, fleur et fruits) sont consignés dans le tableau 06 :



Figure 25 : Les différentes huiles essentielles obtenues

Tableau 06 : Odeur, couleur et le rendement des huiles essentielles obtenues

Les plantes	La quantité de plante en (g)	La quantité d'HE en (ml)	Le rendement en (%)	La couleur	Odeur
<i>E.globulus</i>	590 g	2 ml	0.33 %	Jaune foncé	agréable et fraîche.
<i>L. officinalis</i>	200 g	4 ml	2 %	Jaune claire	Forte et adorable
<i>I. verum</i>	200 g	9.4 ml	4.7 %	Jaune claire	Forte et douce

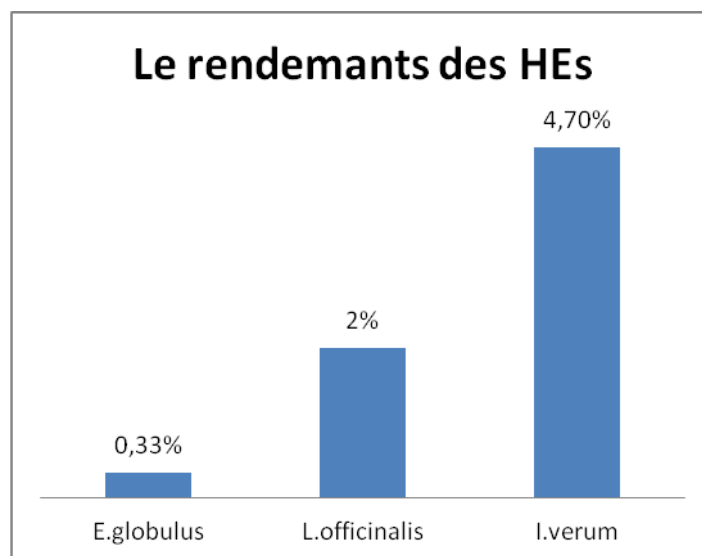


Figure 26 : Histogramme de rendement

Les plantes étudiées contiennent effectivement des huiles essentielles et le rendement en huile essentielle des fruits d'*illicium verum* sont les plus élevés.

L'ordre de grandeur des rendements en huile essentielle, se présente comme suit :

Illicium verum > *Lavandula officinalis* > *Eucalyptus globulus*

1.2. Évaluation de l'activité antibactérienne

La CMI est définie comme étant la plus faible concentration d'HE qui inhibe complètement la croissance bactérienne visible dans es puits après 24h d'incubation à 37°C

La croissance bactérienne, si elle a lieu, se traduit par l'apparition d'un trouble dans les puits l'interprétation est la suivante :

- s'il y a un trouble (y a une croissance bactérienne), cela signifie que l'HE aux concentrations testées n'a pas d'activité antibactérienne il est noté (-)
- s'il y a absence de ce trouble cela signifie que l'HE à la concentration correspondante possède une activité antibactérienne il est noté (+)

L'essai des dilutions en série dans les microplaques de 96 puits a révélé des valeurs de CMI allant de 0.003 à 0.5% les résultats et montrées dans (tableau 07, 08, 09) (figure 27, 28, 29)

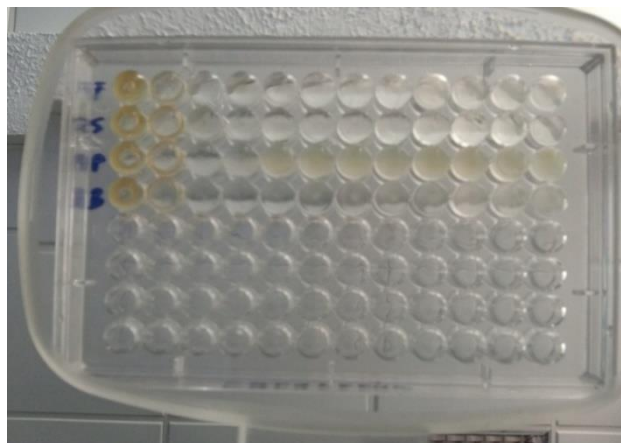


Figure 27: Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l’huile *Eucalyptus globulus*

Tableau 07 : Résultat de l’activité antibactérienne d’*Eucalyptus globulus*

les souches	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S.aureuse</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.aurugionosa</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

D’après notre résultats nous avons remarqué que l’HE d’eucalyptus globulus a montré une efficacité antibactérienne sur les trois souches *E. Coli*, *S. aureuse* et *B. subtilis*, au contraire une faible activité antibactérienne sur la bactérie *p. aurugionosa* avec CMI 1/32 ($\mu\text{g/mL}$)



Figure 28: Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l’huile *Lavandula officinalis*

Tableau 08 : Résultat de l'activité antibactérienne de *Lavandula officinalis*

les souches	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
<i>E.coli</i>	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>S.aureuse</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.aeruginosa</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure *Lavandula officinalis* montre une forte activité sur la souche *S.aureuse*, c'est la bactérie la plus sensible. D'autre part, on remarque que *E. coli*, et *B. subtilis* sont moyennement sensibles. Par contre *P.aeruginosa* était résistante à cette huile essentielle, les résultats sont démontrés dans la (figure 08).



Figure29 : Résultats sur microplaque montrant les différentes dilutions testées de l'huile *Illicium verum*

Tableau 09 : Résultat de l'activité antibactérienne d'*Illicium verum*

les souches	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048	1/4096
<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S.aureuse</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P.aeruginosa</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B.subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A partir de tableau (09) L'Huile essentielle de *Illicium verum* présente un effet positif (sensible) sur les souches bactériennes qui est de pour *S.aureuse*, *B.subtilis* et un effet négatif (résistante) sur les souches *Escherichia coli* qui est $1/4(\mu\text{g/mL})$ et $1/2(\mu\text{g/mL})$ pour celui de *Pseudomonas aurugionosa*.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'activité antibactérienne des HEs est résumée sur le tableau suivant

Tableau 10 : CMI de l'activité antibactérienne des HEs sur les bactéries

Les souches	Concentration minimal inhibitrice (CMI)		
	<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Lavandula officinalis</i>	<i>Illicium verum</i>
<i>E.coli</i>	/	$1/128(\mu\text{g/mL})$	$1/4(\mu\text{g/mL})$
<i>S.aureuse</i>	/	/	/
<i>P.aurugionosa</i>	$1/16 (\mu\text{g/mL})$	$1/4(\mu\text{g/mL})$	$1/2(\mu\text{g/mL})$
<i>B.subtilis</i>	/	$1/512(\mu\text{g/mL})$	/

1.1. L'évaluation de l'activité antioxydante

1.3.1. Piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait a été évaluée *in vitro* par la méthode de réduction de radical libre DPPH. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (figure30), ce qui entraîne une diminution de son absorbance. Le tableau (11) présente le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans les trois huiles essentielles

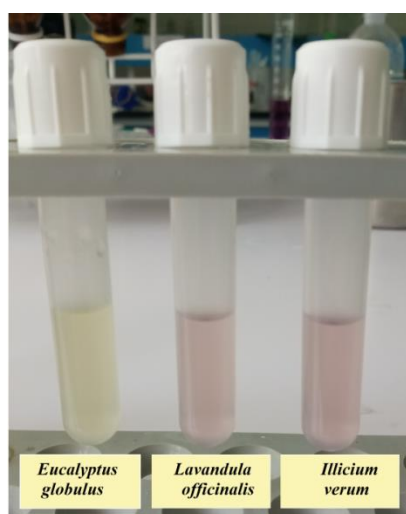


Figure 30: Résultat de l'activité antioxydante de trois HEs

Tableau 11 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH dans les trois HEs

Les huiles essentielles	L'absorbance	Pourcentage d'inhibition
<i>Eucalyptus globulus</i>	0.124	76.19%
<i>Lavandula officinalis</i>	0.454	12.85%
<i>Illicium verum</i>	0.456	12.47%

selon le tableau 11, parmi les trois HsE ont montré que l'*Eucalyptus globulus* inhibent les radicaux libre avec pourcentage 76.19%, tandis que les HsE *Lavandula officinalis* et *Illicium verum* l'effet de l'activité est similaire car il a été estimé à un rapport de 12.85% et 12.47% , respectivement.

2. Discussion

2.1. Le rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles de plantes *Eucalyptus globulus* et *Lavandula officinalis* récoltées en mai 2022 dans le territoire de wilaya khenchela et al'Hamma et extraites par la technique d'hydrodistillation sur un appareil de type clevenger L'ensemble de plantes étudiées a donné des rendements allant de 0,33 à 4.7%. En comparant séparément les rendements des huiles essentielles obtenus au cours de notre étude avec le rendement des études précédentes.

a partir de nos résultats qui montre la quantité de l'huiles essentielle de fruit *Illicium verum* est plus élevé que les autre plante de rendement (4.7%) cette quantité est très proche a celle obtenue par (**Abdelkader, 2018**) avec un rendement (6%) ces résultats sont comparée a partir de la quantité des fruits utilisé. ainsi nous avons récupérer une quantité d'huile importante d'*Eucalyptus globulus*, le rendement obtenu était de 0.33%. les résultats d'extraction d'huile montrent un taux de rendement inferieur à celle trouvé par (**Adouani Leila, 2021**) et (**Taleb-Toudert, 2015**) qui a trouvé un rendement d'extraction respectivement égale à 1.67% et 0.48 %. selon la quantité des feuilles utilisé *Lavandula officinalis* obtenue un rendement 2% de l'huile essentielle d'autre part, les résultats obtenue par (**laib et barbat, 2011**) et (**Mohammadi et al, 2011**) indiquent que les fleurs de *Lavandula officinalis* provenant de deux régions d'Algérie présentent des teneurs en HE respectivement 1.36% et 2.01%.

Les différences de rendement en huiles essentielles d'un organe à un autre ou d'une espèce à une autre ont été rapportées selon plusieurs auteurs, l'origine de récolte de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huile essentielle (**Russo et al, 1998 ; Tonzibo ,1998 ; Vekiari et al. 2002, Karousou et al. 2005 ; Kouamé, 2012**).

2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

D'après la présence ou l'absence d'un trouble au niveau des puits, l'HE eucalyptus présente une meilleur activité sur les bactéries a gram (-) comme E.coli et les bactéries a gram (+) comme S. aureus et B.subtilis. Les activités des huiles essentielles de *Lavandula officinalis* et *illicium verum* restent modérées. Le potentiel inhibiteur des huiles essentielles a été confirmé par les tests de détermination de la CMI

La CMI la plus faible (1/2 µg/mL) a été obtenue pour les huiles essentielles illicium verum sur la souche de *P.aurugionosa*.

Les résultats de notre étude ont montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* inhibe la croissance des souches d'*Escherichia.coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus.subtilis*

Les bactéries les plus sensibles à l'action des huiles essentielles étudiées sont les bactéries Gram positif. Cependant *E. coli* qui une bactérie Gram négatif présente une CMI très élevé

Parmi les souches étudiées, *P. aeruginosa* s'est montrée résistante à toutes les huiles étudiées

La sensibilité des souches à Gram positif vis-à-vis des antibiotiques peut s'expliquer probablement par la nature de leurs parois qui sont dépourvues de membrane externe et qui semble être sensibles aux changements environnementaux externes, tel que la température, le pH, et les extraits naturels (Balentine et al., 2006).

L'étude du pouvoir antibactérienne d'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus* est réalisé par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosés solides (Mueller-Hinton) pour les bactéries gram négatif (*E.coli*) et des bactérie a gram positif (*B.cereus*). L'activité antimicrobienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de deux bactéries les résultats montrent que l'HE brut des feuilles d'*E.globulus* est capable d'inhiber la souche *Escherichia coli* avec une zone d'inhibition de 27 mm et 11mm avec *Bacillus cereus*. (Adouani, 2021).

Elaissi et al., (2011) ont évalué l'activité antibactérienne de vingt espèces d'Eucalyptus récoltées dans les régions Zerniza et Souin et arboreta (Nord-Ouest et Nord de la Tunisie), par la méthode de diffusion sur papier-gélose, contre deux bactéries Gram-: *Escherichia coli* (ATCC 25922); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) et deux bactéries Gram+: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923); *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). Ils ont trouvé que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles présente des variations considérables entre les différentes espèces d'eucalyptus. Cette variabilité a été attribuée à la composition chimique des huiles de feuilles.

La plus grande efficacité contre *Staphylococcus aureus* a été observée avec l'huile d'*Eucalyptus odorata* ($16,0 \pm 1,0$ mm), caractérisée par une proportion plus élevée de cryptone. Cette efficacité est diminuée dans le cas des huiles d'*Eucalyptus diversicolor* et d'*Eucalyptus tereticornis* qui contiennent une teneur plus faible en cryptone.

Chaves et al., (2018) ont examiné l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camaldulensis* Dehn (EOEc) sur les deux souches bactériennes *Staphylococcus aureus* (SARM) et *E. coli*. Cette huile a présenté une activité significative contre *Staphylococcus*

aureus (CMI = 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$), alors qu'elle était inactive contre *Escherichia coli* (CMI > 1000 $\mu\text{g ml}^{-1}$).

La résistance intrinsèque aux agents biocides est en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *P.aeruginosa* deviennent actives (**Mann et al., 2000**). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles (**Hammer et al., 1999 ; Deans & Ritchie, 1987**). De nombreuses études ont montré que les huiles extraites des espèces d'eucalyptus ont une activité contre certaines bactéries Gram- et Gram+, mais à des degrés divers.

Concernant l'HE d'*illicium verum*, Les bactéries *E. coli* et *P.aeruginosa* sont avérées plus résistantes alors que *S.aureus* et *B.subtilis* sont sensibles. Ces résultats sont en accord avec plusieurs publications concernant les extraits de plantes médicinales où les bactéries à Gram négatif dévoilent une forte résistance aux extraits de plantes que les bactéries à Gram positif (**Arias et al., 2004; Khan et al., 2009; Oliviera et al., 2008**). (**Floris I et al 1996**) ont démontré que l'huile essentielle d'*illicium verum* est fortement antibactérienne. Cette activité pourrait être attribuée au "anéthol" composé majoritaire de cette épice.

Les résultats de *Lavandula officinalis* montrent que les bactéries à gram positif *S.aureus* et *B.subtilis* plus sensibles que les bactéries à gram négatif *P.aeruginosa* qui sont résistantes. d'une part (**Aimene et Bellil, 2019**) ont étudié le pouvoir inhibiteur des huiles essentielles par l'estimation du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques. ils ont trouvé que l'activité antibactérienne de l'huile essentielle pure *Lavandula angustifolia* Mill montre une forte activité sur les souches bactériennes. *E. coli*, *E. faecalis* et *C.freundi* respectivement d'un diamètre (12±1.41 mm), (12±0.00 mm), (11±1.41 mm). D'autre part, *S.aureus*, *P.aeruginosa* et *B. cereus* sont moyennement sensibles. Par contre *E. faecalis*(ATCC14579) et *K. Pneumoniae* étaient résistantes à cette Huile essentielle,

2.3. L'évaluation de l'activité antioxydante

Les HEs des feuilles d'*E. globulus* ont montré une forte activité antiradicalaire avec un taux d'inhibition supérieure 76.19%, ceci est justifié par l'abondance des monoterpènes. D'après une étude menée par (**Sacchetti et al, 2005**), les HEs des feuilles d'*E. globulus* ont montré une faible activité antiradicalaire avec un taux d'inhibition inférieur à 25%,

Selon (**Martins et al, 2014**), le faible taux d'inhibition du radical DPPH pourrait être attribué à l'inefficacité des composés monocarbonés. D'après (**Ruberto et Baratta, 2000**), les monoterpènes suivant: α pinene, β pinene, limonène, β myrcene, sabinene et terpinolene ont des propriétés antioxydante, mais certains d'entre eux peuvent montrer une activité faible dépendante du mécanisme utilisé dans la réaction.

Conclusion et Perspectives

L'extraction des HEs des fruits d'*Illicium verum* a été réalisée par hydrodistillation, le rendement est de 4.7%, les fleurs de *Lavandula officinalis* 2% et *Eucalyptus globulus* 0.33%. Cette étude a été consacrée à l'évaluation de l'activité antibactérienne et activité antioxydante de trois huiles essentielles utilisées seules.

Nous avons constaté au terme de notre travail que l'HE d'*E. globulus* a une meilleure activité antioxydante que celle des HsE de *Lavandula officinalis* et *Illicium verum*. Ceci est probablement en rapport avec la composition chimique de l'huile d'origan qui d'après la bibliographie est riche en monoterpènes.

Concernant l'activité antibactérienne, la méthode de micro-dilution nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des HEs d'*E. globulus vis-à-vis* des quatre souches différentes. deux Gram positif (*S. aureus*, *B. subtilis*) et deux Gram négatifs (*E. coli*, *P. aeruginosa*). Les résultats ont mis en évidence la sensibilité de tous les germes étudiés aux HEs d'*E. globulus*, sauf la bactérie *P. aeruginosa* a montré une résistance à l'HE d'*Eucalyptus. globulus*.

Enfin, nos résultats indiquent que l'HE de *E. globulus* est douée d'une activité antioxydante, et antibactérienne intéressantes par contre les huiles essentielles *Lavanadula officinalis* et *illicium verum* ont montré une faible activité. Nous pouvons conclure que l'HE d'*E. globulus* pourrait être un agent antioxydant et conservateur très prometteur pour l'industrie alimentaire capable d'empêcher l'oxydation des aliments et de réduire la croissance microbienne responsable de l'altération des denrées alimentaires.

de nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité antibactérienne, non seulement sur les HEs utilisées seul, mais également en mélange, permettant ainsi une éventuelles synergie.

une analyse chimique de la composition des huiles essentielle est nécessaire en utilisant la technique chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

Pour confirmer ou infirmer qu'il s'agit des phénols ou d'autre structure qui appartiennent à cette famille de métabolites secondaires.

il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur de nouvelles souche des bactérie qui ont développé une résistance face aux agents antibactérienne existants. ces premiers résultats que nous avons obtenus permettront une étude systématique de nombreux échantillons d'huiles essentielles sur des bactéries pathogènes présentant une résistance accrue vis-à-vis des antibactériens classique, notamment en milieu hospitalier.

Référence Bibliographique

A

Abdelkader Othmane et Bouchakour Tayeb. (2018). Etude de l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* et *Illicium verum* vis-à-vis *Aphis spiraeicola*. (Master). Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 39 pages

Adouani, Leila. Merghadi, Ichrak. (2021). Étude des activités biologiques des extraits et l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. (Master), université larbi ben mhidi d'oum el bouaghi. 39 pages

Aimene, ryma. Bellil, hayat. (2019). Etude de l'activité antibactérienne de deux huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* Mill et *Pinus sylvestris* L et leur potentiel Synergique vis à vis des souches pathogènes. (Master). Université mouloude mammeri de tizi ouzou. 49 pages

Aït youssef M. (2006). *Eucalyptus globulus* L. In « *Plante Médicinale de Kabylie* », Ed.: Paris, pp: 126-130

Amarti, F., et al., Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *Journal of Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, **2010**. 14(1): p. 141-148.

Arias M. E.; Gomez J.D.; Cudmani N. M.; Vattuone M. A. and Isla M. I. (2004). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of *Acacia aroma* Gill. ex Hook et Arn. *Life Sciences* , 75 , pp: 191–202.

B

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils- A review. *Food Chem Toxicol*. 46: 446-475.

Balmey M. et Wilson G. (2000). Les guides du naturaliste .Toutes les fleurs de Méditerranée: les fleurs, les graminées, les arbres et arbustes, Ed.: Lausanne Paris, ISBN: 2-60-301179-0, pp: 151-152.

Baser, K.H.C. and G. Buchbauer, Handbook of essential oils: science, technology, and applications. **2015**: CRC press.

Baser K. H. C. and Buchbauer G. (2010). Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, USA, 994p.

Baser K.H.C., Buchbauer G. Handbook of essential oils : science, technology and applications. CRC Press (2009). 1ère éd. 991p.

Béliveau R. et Gingras D. (2005). Les Aliments Contre le Cancer. Ed. Trécarré, Outremont (Montréal, Canada), p. 264.

Benabdelkader T.(2012). Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato, un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et Ecophysiologie Végétale de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et de l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France. P10,25

Benabderrahmane, M., et al., Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, 2009. 7(6): p. 304-308

Bessedik, Z. and B. Bahri, Evaluation de L'effet insecticide de l'extrait méthanoïque et les huiles essentielles des feuilles de *Calamintha nepeta* vis-à-vis des pucerons des agrumes. 2018. Mémoire de Master. Université de Mostaganem.

Bharti P, Bai S, Seasotiya L, Malik A et Dalal S(2012). Antibacterial activity and Chemical Composition of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against selected Bacteria *International Journal of Drug Development & Research. Vol. 4 . Issue 4. ISSN 0975-9344*

Bilal, G.m., Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques. 2015-2016, Thèse de doctorat. Université de Ouargla.

Botineau m. Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed. TEC&DOC Lavoisier, 2010, 1355 pp.

Bouchikhi Tani, Z., Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. 2011. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen.

Bouhadjera K.(2005). Contribution à l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *Oudneya africana* r.br. et *Aristida pungens*. Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université Abou Bekr Belkaid. P44.

Bousbia N.(2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydant à partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires. Thèse de doctorat en Chimie de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et de l'Ecole Nationale Supérieure

Agronomique. P16

Braga P. C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M. X. and Guffanti E. E. (2006). Antioxidant Potential of Thymol Determined by Chemiluminescence Inhibition in Human Neutrophils and Cell-Free Systems. *Pharmacology*. 76 (2): 61-68.

Brosse J. (2005). Larousse des arbres, dictionnaire des arbres et des arbustes. Ed. Larousse pp171

Brown sa, biggerstaff j, savidee gf, Disseminated intravascular coagulation and hepatocellular necrosis due to clove oil. *Blood Coagulation & fibrinolysis*.1992; 3(5): 665-668.

Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier 3ème édition, Paris, 1120p.

Bruneton J. (2009). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Tec et Doc, Lavoisier, 4ème édition, Paris. 1292 p.

Bruneton J., (2002). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 3ème édition. pp526.

Burt, S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, **2004**. 94(3): p. 223-253.

Butterfield D. and Lauderback C. (2002). Lipidperoxidation and Proteinoxidation in Alzheimer's Disease Brain: Potential Causes and Consequences Involving Amyloid Beta-Peptide Associated Free Radical Oxidative Stress. *Free Radic Biol Med*. 32 (11):1050-1060.

C

Carole M.2013, Badiane (Anis étoilé).

Chemat F., 2009. Essential oils and aromas: Green extractions and Applications. HKB Publishers, Dehradun, 311 pages. ISBN : 978-81-905771-3-7.

Chaves et al., (2018) Essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn potentiates β -lactam activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* resistant strains. *Industrial Crops & Products* 112: 70–74.

Clarke S. (2008). Chemistry of Essential Oil. 1st ed. Elsevier. British, 302p.

Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. and Palmas F.

(1999). In Vitro Antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian Thymus Essential Oils. *Lett Appl Microbiol.* 29 (2): 130-135.

Courvalin, P., et al., Bactericide, Aspects théoriques et thérapeutiques. **1990**: p. 110.

Cox S. D., Mann C. M., Markham J. L., Gustafson J. E., Warmington J. R. and Wyllie S. G. (2001). Determining the Antimicrobial Actions of Tea Tree Oil. *Molecules.* 6: 87-91.

D

Daroui-Mokaddem H., Etude phytochimique et biologique des espèces : *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrnum olusatrum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum*(Asterarceae). **2011**.Thèse de doctorat, Université Badji-Mokhtar, Annaba

Daroui-Mokaddem Habiba (2012). Etude phytochimique et Biologique des Espèces *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrnumolusatrum* (Apiaceae), *Asteriscusmaritimus* et *Chrysanthemum trifurcatum* (Asterarceae). Thèse de Doctorat en Biochimie Appliquée, Département de Biochimie, Faculté des Sciences- UniversitéBadjiMokhtar-Annaba.

De Sousa, A.C.; Alviano, D.S.; Blank, A.F.; Alves, P.B.; Alviano, C.S.; Gattass, C. R. J. *Pharm. Pharmacol.* **2004**, 56:677-681.

Deans S.G. & Ritchie G., 1987.- Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 5:165-180.

Dorman H. J. D. and Deans S. G. (2000). Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *J Appl Microbiol.* 88 (2): 308-316.

Duarte, M.C.T., et al., Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*, **2005**. 97(2): p. 305-311.

Duraffourd, c., lapraz, j-c., 1997 : Les règles d'utilisation des huiles essentielles en thérapeutique. Edition Phyto. 2000.

Duval L. Les huiles essentielles à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Université de Rouen, **2012**.

Dzamic, A., et al., Chemical composition and antifungal activity of *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*, **2009**. 45(2): p. 259-261.

E

Edris A. E. (2007). Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and their Individual Volatile Constituents. A Review, *Phytother Res.* 21 (4): 308-323.

El haib A.(2011). Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytique. These de doctorat en Chimie organique et catalyse. Université de Toulouse III.France. p 5,6 ,7

ElaissiAmeur, Hadj SalahKarima, MabroukSamia, Mohamed LarbiKhouja, ChemliRachid, Harzallah-SkhiriFethia(2011) Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species essential oils. *Food Chemistry* 129: 1427–1434.

F

Favier A., 2003.- Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.

Figueredo G. Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne. Thèse pour le diplôme de docteur d'université (chimie organique). Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, **2007.**

Floris I et al.,(1996). Activités in vitro de plusieurs huiles essentielles sur *Bacillus arvae* White et essai au rucher. *Apidologie*, 27(2),111-119

Forrest M. and Moore T. (2008).*Eucalyptus gunnii*: A possible source of bioenergy. *Biomass and Bioenergy*, 32,pp:978–980

G

Gardner P. (1997). Superoxide-Driven Aconitase FE-S Center Cycling. *Biosci Rep.* 17(1): 33-42.

Garneau F.X. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi (**2005**). 185p.

Ghedira K.; Goetz P. et Le Jeune R. (2008). *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie*, pp: 197-200.

Gianni Sacchetti , Silvia Maietti , Mariavittoria Muzzoli , Martina Scaglianti , Stefano Manfredini , Matteo Radice , Renato Bruni, (2005). Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, 91 (2005) 621–632.

Goetz P. (2007). Phytothérapie du diabète. *Phytothérapie*, 5, pp: 212-217.

Grieve, M. (1971). Culinary herbs and condiments. Dover Publications.

H

Hajji, F., El Idrissi, A., Fkih-Tetouani, S., Bellakhdar, J. 1989. Étude des compositions chimiques de quelques espèces d'Eucalyptus du Maroc. *Al Biruniya, Rev. Mar. Pharm.* 5 (2): 125-132.

Halliwell B. (1997). Antioxydants: The Basics – What they are and how to evaluate them. *Adv Pharmacol.* 38 (0): 3-20.

Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., 1999.- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of Applied Microbiology.* **86**: 985–990.

Hellal Z . (2011), Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou.

Herzi N.(2013). Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat en Génie des Procédés et de. Institut National Polytechnique de Toulouse l'Environnement.

Hernandez-Ochoa L. R. (2005). Substitutions des Solvants et Matières Actives de Synthèse par Combiné 'Solvant/Actif'. D'origine végétale. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechniques de Toulouse, Spécialité: Sciences des Agroressources, France, 225p.

J

Jacovelli A. P. (2002). Cultivation and production of eucalypts in Africa With special reference to the leaf oils. In«*Eucalyptus The Genus Eucalyptus*», Ed.: Taylor and Francis, ISBN: 041527879-1.

Juergens, ur. Dethlefsen, u., 2003: Anti-inflammatory activity of a 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respir. Med.* 97, p 250, 256.

K

Kalemba D. & Kunicka A., 2003.- Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. **10**: 813-829.

Karaman, S., et al., Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus* Celak from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, **2001**. 76(2): p. 183-186.

Kato T., Lijima H., Ishihara K., Kaneto T., Hirai K., Naito Y. and Okuda K. (1990). Antibacterial Effect Listerine on Oral Bacteria. *Bull. Tokyo. Dent. coll.* 31 (4): 301- 307.

Kehrl, w., sonnemann, u., dethlefsen, u., 2004: Therapy for acute non purulent rhino sinusitis with cineole: results of a double-blind, randomized, placebocontrolled trial. *Laryngoscope*. 114 (4), p738-742.

Khan R.; Islam B.; Akram M.; Shakil S.; Ahmad A.; Manazir Ali S.; Siddiqui M. and Khan A. U. (2009). Antimicrobial activity of five herbal extracts against multi drug resistant (MDR) strains of bacteria and fungus of clinical origin. *Molecules*, 14, pp: 586-597.

Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., 2006.- Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem.* **13**: 54-60.

Knobloch, K., et al., Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, **1989**. 1(3): p. 119-128.

Koechlin-Ramonatxo C. (2006). Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20, pp: 165-177.

Koziol Nathalie .(2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité .These de Doctorat en Pharmacie . Université de Lorraine . pp46-50.

L

laib et barkat, 2011, composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis*, page 92.

Lamamra, M., Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *tinguarra sicula* (L.) Parl et de *Filipendula hexapetala* Gibb. **2018.** Mémoire magister . Université de sètif .

Lamarti, A.; Badoc, A.; Deffieux, G.; Cadre, J-P. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, **1994**, 133, 79-99.

Latloui, N. et Tantaoui-Elaraki, A. J. Essent. oil Res. **1994**, 165.

Leverve X. (2006). Stress oxydant et régulation de la glycémie : implications pour le syndrome métabolique. *Obes*, 1, pp: 11-15.

Loza-Tavera H. (1999). Monoterpenes in Essential Oils: Biosynthesis and Properties. *Adv Exp Med Biol.* 464: 49-62.

Lucchesi, M.-E., Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. **2005.**Thèse de doctorat, Université de la Réunion.

M

Magnan, B., la lavande une plante parmi les plantes. **2006.**

Mann C.M., Cox S.D. & Markham J.L., 2000.-The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributrs to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). *Letters in Applied Microbiology*, **30**: 294-297.

Marburg, W.F.,(1999). Plante thérapeutique –tradition, pratique officinale, science et thérapeutique 3 e édition technique et documentation. pp636.

Mbarek, L.A.; Mouse, H.A.; Elabbadi, N.; Bensalah M.; Gamouh, A.; Aboufatima, R.; Benharref, A.; Chait A.; Kamal, M.; Dalal, A.; Zyad, A. *Braz. J. Med. Biol. Res.* **2007**, 40: 839-847.

Mechernene, b. évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de *bryonia dioica*. **2014.**

N

Nadhmi, A., Lavande **2009.**

O

Opdyke D.L.J.(2002).Eucalyptus oil .P107

Oliveira I.; Soussa A.; Morais J. S.; Ferreira I. C. F. R.; Bento A.; Estevinho L. and Pereira J. A. (2008). Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of three hazelnut (*Corylus avellana* L.) cultivars. *Food and Chemical Toxicology* , 46, pp: 1801-1807.

P

Pauline Erau.(2019).L'Eucalyptus : botanique , composition chimique , utilisation thérapeutique et conseil a l'Officine.these de DOCTEUR EN PHARMACIE. LA FACULTE DE PHARMACIE DE MARSEILLE pp 40-77.

Pereira S.,Freire S.R.C.; Neto P., Silvestre J. D., and Silva M.S.A.(2005). Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal .*Flavour and fragrance journal flavour fragr. J.* 2005; 20: 407–409

Piochon M.(2008).Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne:composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Thèse de doctorat en ressources renouvelables.Universite du Quebec:P7,11,17,20

R

Robinson T. (1991). The Organic Constituents of Higher Plants. Their Chemistry and Interrelationships. 6ème Edition, Cordus Press, USA. 346p.

Rhayour K. (2002). Etude du Mécanisme de l'Action Bactéricide des Huiles Essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de Doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc,170p.

Rhita Zbadi , Hicham Mohti , Fadila Moussaoui. 2018. *Médecine translationnelle.* 24 (2) : 134-41)

Richter, G. Métabolisme des végétaux, physiologie et Biochimie. presses polytechnique et universitaires, Romandes, 1993,292

Ruberto, G. and Baratta, M.T. (2000) Antioxidant Activity of Selected Essential Oil Components in Two Lipid Model Systems. *Food Chemistry*, 69, 167-174

S

Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G., 2005.- Chemical composition activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of Food Protection.* 68: 790-795.

Schauenbeg P. et Paris F. (1977). Guide des plantes médicinales Analyse, description et utilisation de 400 plantes. ISBN: 2-603-00001-2, pp: 330.

Shunying Z., Yang Y., Huaidong Y., Yue Y. and Guolin Z. (2005). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Chrysanthemum indicum*. J Ethnopharmacol. 96 (1-2): 151-158.

Singh, N.; Luthra, T.; Sangwan, R.S.; Thakur, R.S. Curr. Res. Med. Aromat. Plants **1990**, 11, 174-196;

Song A., Wang Y., Liu Y.(2009). Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4 (4)

T

Taleb-Toudert Karima. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae).Thèse de Doctorat en Sciences biologiques. Université MOULOUD MAMMERI de Tizi-Ouzou .pp31.

Teissedre, P.L.; Waterhouse, A. L. J. Agric. Food Chem. **2000**, 48, 3801-3805; **Ismail Alaoui, M.** et Bendjilali, B. 1^{er} Séminaire Magrebin sur les plantes aromatiques, Tlemcen le 29-31Mai, **1990**; c)

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

Tesche, s., metternich, f., 2008: The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double-blind, randomised, controlled trial. Arch. Otorhinolaryngo. 1265 (11):1355-1359.

Tsuchiya, H., et al., Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of ethnopharmacology, **1996**. 50(1): p. 27-34.

U

Ultee A., Bennik M. H. J. and Moezelaar R. (2002). The Phenolic Hydroxyl Group of Carvacrol is Essential for Action Against the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. Appl Environ Microbiol. 68 (4): 1561-1568.

Ultee A., Kets E. P. W. and Smid E. J. (1999). Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol.* 65 (10): 4606-4610.

V

Vargas I., Sanz I. et Prima-Yuferá E. (1999). Antimicrobial and Antioxidant Compounds in the non Volatile Fraction of Expressed Range Essential Oil. *J Food Prot.* 62 (8): 929- 932.

W

Wacker, U.C.F.e.S., connaissance des herbes lavande. Brigitte Speck., **2008.**

Walker J.E.M, Saraste M.J, Runswick and N.J.Gay., 1982.- Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The Embo Journal*, 1(8): 945-51.

Wan, J.; Wilcock, A.; Coventry, M. J. *J. Appl. Microbiol.*1998, 84: 152-158; b) Wannissorn, B.; Jarikasem S.; Siriwangchai, T.; Thubthimthed, S. *Fitoterapia* 2005,76: 233-236; c) Dorman, H.J.; Deans, S.G. *J. Appl. Microbiol.* **2000**, 88: 308-316.

Wang, Z., et al., Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook. f. and *Zingiber officinale* Rosc. by improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. *Analytical and bioanalytical chemistry*, **2006**. 386(6): p. 1863-8.

Wei, A.; Shibamoto T. *J. Agric. Food Chem.* 2007, 55, 1737-1742; b) Katiyar, S.K.; Agarwal, R.; Mukhtar, H. *Cancer Res.***1996**, 56, 1023-1030.

Wendakoon, C.N. and M. Sakaguchi, Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection*, **1995**. 58(3): p. 280-283.

Wichtl M. et Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Ed.: 2ème TEC& DOC, ISBN: 2-7430-0631-5, pp: 200-201.

Wilson, C.L.; Solar, J. L.; El Ghouth, A.; Wisniewski, M.E. *Plant Disease* **1997**, 81, 2, 204-210.

Z

Zambonelli, A.; Zechini, A.; D'aulerio, A.; Bianchi, A.; Albasni, A. *J. Phytopathology* **1996**, 144,491-494;

Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti A. and Mazza P. (1991). Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with Bacillus subtilis Rec-Assay and Salmonella/Microsome Reversion Assay. *Planta Med.* 57 (3): 237-241.

Zhiri A., Mayaud L., Bouhdid S., Baudoux D, Abrini J, Aubert G(2010). Evaluation de l'activité bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles vis-à-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques. *Congres Francophone de Phytothérapie – Beyrouth.*

Annexe

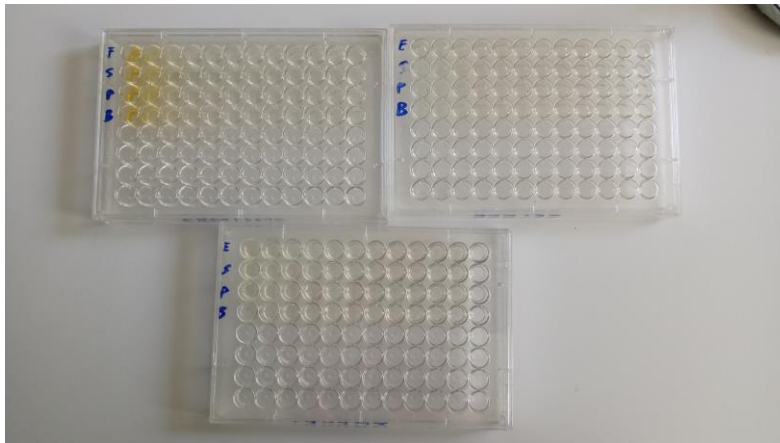


Figure 01 : Préparation de l'activité antibactérienne sur microplaque 96 puits

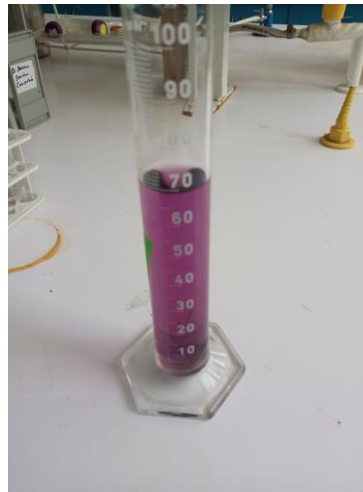


Figure 02 : Solution DPPH préparé

