



MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ «ABBES LAGHROUR» DE KHENCHELA  
FACULTÉ DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE



Département Sciences de la matière

N° de série :.....

## Mémoire de fin d'études

*Pour l'obtention du diplôme de Master (L.M.D)*

**Spécialité** : *Chimie analytique.*

**Option** : *Chimie analytique et environnement.*

*L'huile essentielle d'eucalyptus globulus : Extraction, étude  
des caractéristiques physicochimiques et évaluation de  
l'activité anti bactérienne*

Réalisé par : - *ALLOUCHE ROMAÏSSA*

Présenté le : 15/09/2020

-*RIM IMEN*

Dirigé par : *Dr. BENALI .CHERIFE R.*

Membres de jury :

*Présidente : Mme FALEK WAHIBA*

*Examinatrice : Mme HAMMADI FOUZIA*

*Année universitaire : 2019/2020*

# Remerciement

*Avant toutes choses, nous remercions Dieu tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, la force, le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous exprimons nos gratitudees à nos familles ALLOUCHE et RIM pour leur soutien et leur confiance tout au long de ce travail.*

*Ensuite... Au terme de cette modeste étude, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre promotrice Mme BEN ALI CHERIFE. R. d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant cette recherche, pour leur infinie gentillesse, leur disponibilité, pour ces orientations et ces conseils judicieux, pour tous ses efforts et ses encouragements tout au long de notre épreuve.*

*Nous tenons à remercier les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter d'évaluer et de juger notre travail.*

*Nous n'oublierons évidemment pas de remercier toutes les personnes de laboratoire de recherches surtout Mme CHOURFI et du laboratoire de chimie spécialement et surtout Mme NEDJWA pour leur soutien, leur encouragement et leur aide et conseils précieuse.*

*Nous adressons un grand merci à tous les enseignants du département des Sciences de la matière et à l'ensemble des étudiants de master II chimie analytique et environnement promo 2020.*

*Enfin, Nous souhaitons nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à toutes personnes qui nous ont aidés de près ou de loin, par un geste, une parole, ou un conseil, leur soutien et avis judicieux de la mener à bien à réaliser ce travail on leur dit merci.*

ROMAISSA & IMEN

# Dédicace

*Avant tous, Grace à Dieu qui nous a aidés durant toutes les années de notre cursus scolaires et universitaires.*

*C'est avec un infiniment plaisir que je dédie ce mémoire aux êtres qui me sont très chers.*

*...A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, ma source de tendresse, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié et n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.*

*...A La lumière de mes jours, mon exemple du dévouement, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur que Dieu vous protège et vous garde pour moi ; maman que j'adore.*

*...A ma très chère sœur, copine, binôme IMEN pour sa patience durant le travail et tous les bons moments passée ensemble merci énormément et encore je remercie beaucoup sa famille.*

*...A mes chers frères et sœurs qui ont toujours été présents pour moi que je manifeste une pensée pleine de reconnaissance et d'amour pour vous. Je leurs souhaite une fleurissante vie.*

*Merci pour votre encouragement et confiance.*

*...A mes très chères collègues, enseignants et personnels du département de science de la matière et surtout la spécialité Chimie analytique et environnement.*

*...A mes amies de cœur : IMEN, NABILA, DALEL, HOUDA, ABIR, NIRMINE, KHAOULA, ROUFIA merci infiniment mes belles copines pour tous ce qui passée entre nous durant cinq ans.*

*Et a toutes personne que j'aime et que je n'ai pas nommé en écrit mais que je garde en esprit je vous dis merci.*

*ROMAISSA*

# Dédicace

*Aucun dédicace, aucun mot ne pourrait exprimer à leur juste valeur la gratitude et l'amour que je vous porte je mets entre vos mains le fruit de longues années d'étude, de longs jours d'apprentissage.*

*Chaque ligne de ce mémoire chaque mot et chaque lettre vous exprime la reconnaissance le respect, l'estime ..... je dédie ce modeste travail à :*

*Les deux personnes, les plus chers au monde*

*... A mes parents*

*... A mes chères sœurs : SANED, CHAIMA et NOUR EL HOUDA pour leurs encouragements et leur soutien moral*

*... A ma très chère amie, sœur, copine, Mon binôme ROMAISSA pour sa patience durant le travail et tous les bons moments passés ensemble merci pour ton sincère amitié tu resteras à jamais ma préférée qui arrivés à remplir ma vie que de joie et de bonheur*

*... A mes chères amies : ROMAISSA, MANEL, NABILA, DALEL, ABIR, HOUDA, KHAOULA, NIRMINE Merci pour tous les bon moments, les souvenirs passés ensemble mes belles sœurs*

*... A tous mes collègues de promo en 2ème année master chimie analytique et environnement 2020*

*... A Tous les étudiants, enseignants et personnels du département de science de la matière et surtout la spécialité chimie analytique et environnement*

*Et a toutes personnes que j'aime et que je n'ai pas nommé en écrit mais que je garde en esprit je vous dis merci*

*IMEN*

## Liste des figures.

Numéro de figure	Nom de figure	Page
<b>Figure 1</b>	Eucalyptus globuleux	9
<b>Figure 2</b>	Eucalyptus radié	9
<b>Figure 3</b>	Eucalyptus citronné	9
<b>Figure 4</b>	Eucalyptus mentholé	9
<b>Figure 5</b>	Eucalyptus globulus	10
<b>Figure 6</b>	Répartition géographique de l'eucalyptus globulus	11
<b>Figure 7</b>	Structure chimique de l'eucalyptol et le globulol	12
<b>Figure 8</b>	Molécule d'isorpène	21
<b>Figure 9</b>	Montage de l'hydrodistillation de l'huile	32
<b>Figure 10</b>	Montage d'entraînement à la vapeur d'eau	32
<b>Figure 11</b>	Montage de l'hydrodiffusion	33
<b>Figure 12</b>	Schéma d'un montage soxhlet	34
<b>Figure 13</b>	Montage de l'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique	35
<b>Figure 14</b>	Montage de l'extraction par micro-onde	36
<b>Figure 15</b>	Réalisation d'une chromatographie sur couche mince	37
<b>Figure 16</b>	Schéma de la chromatographie sur colonne	38
<b>Figure 17</b>	Feuilles d'eucalyptus globulus nettoyées lavées et séchées	43
<b>Figure 18</b>	Organigramme exprimant le protocole expérimental suivi pour l'obtention de l'huile essentielle de l'Eucalyptus	45
<b>Figure 19</b>	Dispositif d'hydro distillation (image originale)	46
<b>Figure 20</b>	L'hydrolat et l'huile essentielle obtenu (les deux phases)(image originale)	47
<b>Figure 21</b>	Dispositif de la décantation	48
<b>Figure 22</b>	Image qui représente un exemple de flacon de la conservation d'huile essentielle	49
<b>Figure 23</b>	Papier indicateur de pH	50
<b>Figure 24</b>	Représentation des deux types de réfractomètre les plus connues.	53
<b>Figure 25</b>	Dispositif de CCM	56
<b>Figure 26</b>	Image représente la méthode de diffusion sur gélose	59
<b>Figure 27</b>	Résultats de test chromatographique sur plaque CCM	64

<b>Figure 28</b>	Les résultats de l'activité antibactérienne sur les deux souches testées.	65
------------------	---	----

## Liste des tableaux.

<b>Numéro du tableau</b>	<b>Nom du tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Classification botanique d'eucalyptus	11
<b>Tableau 2</b>	Les réactifs chimiques et les verreries utilisées	43
<b>Tableau 3</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus	61
<b>Tableau 4</b>	Les résultats des paramètres physicochimiques d'HE de l'Eucalyptus globulus	63

## **Liste des abréviations.**

**PAM** : Plante aromatique et médicinale

**%** : Pourcentage

**AFNOR** : Association française de normalisation

**Bar** : L'unité de pression

**CC** : Chromatographie sur colonne

**CCM** : Chromatographie sur couche mince

**Cm** : Centimètre

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse

**d** : La densité

**DL<sub>50</sub>** : dose létale 50

**DMSO** : Diméthyl sulfoxyde

**E. coli** : Escherichia. coli.

**g** : gramme

**HE** : Huile essentielle

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance

**Ia** : indice d'Acide.

**Ir** : indice de réfraction

**Ir** : indices de rétention

**J . C** : Jésus-Christ

**Kg** : kilogramme

**KOH** : Hydroxyde de potassium

**m** : mètre

**MH** : Muller Hinton

**mm** : millimètre

**nm** : nano mètre

**OH** : hydroxyde de potassium

**OMS** : L'organisation mondiale de la santé

**pH** : Potentiel d'hydrogène

**Rf**: Rapport frontal

**S.aureus** : Staphylococcus aureus

**T°** : Température

**min** : minute

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UV** : Ultra violet

**µl** : microlitre

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : sulfate de sodium

**CHCl<sub>3</sub>** : chloroforme

**C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O** : ether diéthyle

**H<sup>+</sup>** : ion d'hydrogène

**MeOH** : méthanol

## Sommaire

<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Sommaire</b>	
<b>Introduction générale</b>	2
<b>Partie bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus</b>	
Introduction	7
I. Généralité sur le genre l'Eucalyptus globulus.	7
I.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae.	7
I.2. Description de l'Eucalyptus globulus.	8
I.3. Description Botanique de l'Eucalyptus.	9
I.4. Origine et répartition géographique du genre l'Eucalyptus.	10
I.5. Classification dans la systématique botanique.	11
I.6. Composition chimique de l'Eucalyptus globulus.	12
I.7. utilisation thérapeutique de l'Eucalyptus globulus.	12
conclusion	14
<b>Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles</b>	
Introduction.	16
I. Généralités sur les huiles essentielles.	16
I.1. Définition des huiles essentielles.	16
I.2. Historique.	17
I.3. Localisation des huiles essentielles.	17
I.4. Propriétés des huiles essentielles.	19
I.4.1. Propriétés Organoleptique.	20
I.4.2. Propriétés physiques.	20
I.4.3. Propriétés Chimiques.	20
I.5. Composition chimique des huiles essentielles.	21

I.5.1. Les composés terpéniques.	21
I.5.2. Les composés aromatiques.	26
I.5.3.Composés d'origines diverses.	27
I.6.Conservation des huiles essentielles.	27
I.7.Qualité et rendement des huiles essentielles.	27
I.8.Utilisation des huiles essentielle.	28
I.9.Toxicité des huiles essentielles.	30
II. Les méthodes d'extraction et d'analyse.	30
II.1. Les méthodes d'extractions.	30
1. Distillation.	31
1.1.Hydro distillation.	31
1.2.Entrainement à la vapeur d'eau.	32
1.3.Hydro diffusion.	33
2. Extraction aux solvants organiques.	33
3. Extraction à froid.	34
4. Extraction au CO <sub>2</sub> supercritique.	34
5. Extraction assistée par micro-ondes.	35
II.2. les méthodes d'analyses.	36
II.2.1. Les méthodes de séparation.	36
II.2.1.1.La chromatographie sur couche mince (CCM).	36
II.2.1.2. Chromatographie sur colonne (CC).	37
II.2.1.3.La chromatographie en phase gazeuse (CPG).	38
II.2.1.4. La chromatographie liquide haute performance (CLHP).	38
Conclusion	39
<b>Partie expérimentale</b>	
<b>Chapitre III : Méthode et matériel</b>	
I.Méthode et matériel.	42
I.1.Matériel végétale.	43
I.2.Matériel de laboratoire.	43
I.3.Mode opératoire.	44
I.3.1.Extraction des huiles essentielles.	44
I.3.2.La décantation.	47
I.3.3.La déshydratation.	48

I.3.4.Conservation de l'huile essentielle.	48
I.4.Etude analytique	49
I.4.1.Caractéristiques des huiles essentielles.	49
I.4.1.1.Caractéristiques organoleptiques.	49
I.4.1.2.Caractéristiques physico-chimiques.	49
I.5. Etude biologique	56
I.5.1.L'étude de l'activité anti bactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.	56
<b>Chapitre IV : Résultat et discussion</b>	
I.Résultat et discussion.	61
I.1. Etude analytique	61
I.1.1.Caractéristique organoleptique.	61
I.1.2.Caractéristique physicochimique.	61
I.2.Etude biologique	64
I.2.1.L'évaluation de l'activité anti bactérienne.	64
<b>Conclusion générale</b>	67
<b>Référence bibliographique</b>	
<b>Résumé</b>	

# **Introduction générale**

## Introduction

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales «P.A.M» est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

La plupart des grands médecins du passé sont des phytothérapeutes. C'est pour ça l'Homme est toujours soigné par les plantes, de manière empirique, guidé par la tradition ou les coutumes. L'utilisation thérapeutique des plantes (phytothérapie) est très ancienne mais elle connaît actuellement un regain d'intérêt auprès du public [1].

Connues des civilisations anciennes et aujourd'hui scientifiquement reconnues, les huiles essentielles sont des extraits naturels de plantes puissants et d'une extraordinaire efficacité, tant sur le plan de la santé physique, psychique, émotionnelle que de la beauté et du bien-être car elles ont des effets pharmacologiques. Elles se distinguent par leur forte concentration, leur odeur piquante et leur facilité de volatilisation, car elles s'évaporent complètement sans laisser d'effet gras. Les huiles essentielles sont dissoutes dans les graisses bien qu'elles ne contiennent pas de composants gras et sont peu solubles dans l'eau. Elles sont utilisées en cosmétologie, comme base de fabrication de parfum et de produits dermatologiques. En agroalimentaire pour rehausser le goût, parfumer et colorer les aliments et leur conservation. Les huiles essentielles ont un spectre d'activité très large due principalement à leur grande affinité grâce à leurs natures [2], puisqu'elles inhibent la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Pour cela ont des propriétés biologique (antimicrobienne, antioxydant, analgésique, anti inflammatoire, anti-cancérogène, antiparasitaire, anti-insecticide).

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale, plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, distribué comme suit : méditerranéenne, saharienne et une flore subtropicale. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeables (15%) d'espèces endémiques. L'investigation de ces espèces représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances [1].

Parmi les plantes aromatiques et les plantes médicinales de la flore Algérienne est l'Eucalyptus globulus, qu'est une plante originaire de l'Australie poussent dans les régions tropicales et subtropicales. L'Eucalyptus globulus a plusieurs usages parmi lesquels :

- Le bois d'Eucalyptus globulus sert à fabriquer des piquets, des poteaux, et s'utilise pour la construction, de revêtements de sol, de palettes, de traverses de chemin de fer. Il convient également pour la construction maritime, la construction navale, la menuiserie et les étais de mine.
- Le rôle d'Eucalyptus globulus est très important pour le bois de feu et la production de charbon de bois, de même que comme source de pâte pour la fabrication de papiers d'impression ou d'écriture, de papiers spéciaux et papiers mousseline.
- Les feuilles d'Eucalyptus globulus sont la principale source d'huile d'eucalyptus dans le monde. Utilisée pour ses vertus médicinales, notamment antitussives et expectorantes, elle n'en a pas moins des propriétés fébrifuges, toniques, antiseptiques, anti inflammatoire et vermifuges.
- Les fleurs, source de nectar pour les abeilles, donnent un miel qui a un goût de raisin muscat.

Notre objectif dans ce travail est l'extraction d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus de la région de KHENCHELA et la réalisation de ces analyses physicochimiques ainsi que l'évaluation de son activité anti bactérienne.

Ce mémoire est structuré de la manière suivante :

- Dans la partie de recherche bibliographique de ce manuscrit, nous avons commencé par une étude bibliographique sur la plante étudiée (Eucalyptus globulus) sa description, classification botanique, ainsi que leur composition et ses différentes utilisations. Ensuite, nous avons abordé quelques généralités sur les huiles essentielles, leur composition, sa qualité et toxicité et son rendement, leurs différentes propriétés et utilisations, leurs types d'extractions.

**Chapitre I :** Généralité sur l'Eucalyptus globulus.

**Chapitre II :** Généralité sur les huiles essentielles.

- Dans la partie expérimentale de ce manuscrit, nous avons deux chapitres :

Le premier illustre le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction d'huile essentielle et la détermination des paramètres physico chimiques et l'étude de leur activité anti bactérienne de l'huile essentielle extraite d'Eucalyptus globulus. Dans cette partie, nous avons jugé nécessaire d'estimer certains paramètres tels que: la densité, le rendement, l'indice de réfraction de l'huile essentielle extraite et l'indice d'acide ... etc.

Le deuxième chapitre expose les résultats obtenus suivis de leur interprétation. Enfin, nous avons terminé par une conclusion générale.

**Chapitre III : Matériel et méthode.**

**Chapitre IV : Résultat et discussion.**

**Conclusion générale.**

# **Partie bibliographique**

# **Chapitre I :**

## **Généralité sur l'*Eucalyptus globulus***



# Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

---

## Introduction

Du latin « condimentarius » signifiant « relatif aux assaisonnements », les plantes aromatiques ou condimentaires sont omniprésentes dans notre quotidien ; Souvent liées aux beaux jours (barbecues, salades composées...) ou au simple plaisir d'une cuisine originale et savoureuse, elles présentent, pour la plupart, l'avantage d'être faciles à cultiver et à utiliser ! En effet, nul besoin de posséder un grand jardin pour en profiter : quelques pots ou une jardinière suffisent ! Depuis des siècles on leur prête également des vertus bienfaisantes pour le corps, que l'on utilise leurs feuilles, tiges, bulbes, racines, fleurs, fruits ou écorces.

Les plantes aromatiques et médicinales peuvent être utilisées dans des différents domaines: comme en parfumerie, en cosmétique, en pharmacie ou en agroalimentaire, pour leurs propriétés thérapeutiques et organoleptiques.

Les plantes aromatiques sont à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résines .....etc) qui se présentent presque toujours comme des mélanges complexes dont il convient d'analyser la composition avant leur éventuelle valorisation.

Les plantes médicinales comme toutes les plantes qui renferment un ou plusieurs principes actifs sont capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies.

Parmi les types des plantes aromatiques et médicinales ; l'Eucalyptus qui est définie comme toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique peuvent être conduire des propriétés thérapeutiques, cela grâce à la présence d'un certain nombre de substance actives.

## I. Généralité sur le genre l'Eucalyptus globulus.

### I.1. Présentation botanique et géographique de la famille des Myrtaceae.

La famille **Myrtaceae-Myrtacées** est une famille de plantes dicotylédones, deux cotylédons sur l'embryon, deux feuilles constitutives de la graine. Les Myrtacées sont réparties à environ 3000 espèces réparties en 48 à 134 genres environ. Ce sont des arbres et des arbustes, souvent producteurs d'huiles aromatiques des zones tempérées, subtropicales à tropicales, poussant principalement en Australie, en Tasmanie, en Amérique tropicale, région Méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, tropicales et tempérées d'Asie, et les îles du Pacifique.

Dans cette famille, on peut citer les genres :

# Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

- ✚ Eucalyptus, Psidium dont fait partie le goyavier.
- ✚ Myrtus dont fait partie le myrte (arbuste du maquis méditerranéen).
- ✚ Eugenia dont le giroflier (*Eugenia cariophyllata*) qui donne le clou de girofle.

On rencontre aussi des espèces dont les fruits sont comestibles (genres Feijoa, Eugenia, Campomanesia). Beaucoup d'espèces de cette famille sont une source d'huiles essentielles possèdent des propriétés thérapeutiques et sont utilisées en médecine traditionnelle [3].

## I.2. Description de l'Eucalyptus globulus.

L'Eucalyptus globulus a été découvert par l'explorateur et le botaniste français Jacques-Julien Houtou de la Billardièrre en 1792 [4]. L'Eucalyptus globulus est un arbre qui peut atteindre une taille de 25 à 30 m de hauteur quelquefois plus de 1,5 m de diamètre. C'est un arbre indigène en Tasmanie et au Sud-est du continent Australien. Introduit en Algérie par les français en 1860. Il est connu par sa croissance rapide [5].

Son joli feuillage persistant et odorant, l'aspect décoratif de son écorce et une taille imposante pour certaines variétés sont les principaux attraits de ce bel arbre d'origine exotique. Peu exigeant, l'eucalyptus s'adapte bien à nos climats méridionaux.

- **Tronc :** droit, à écorce s'exfoliant en grandes bandes verticales laissant apparaître une écorce lisse, bleutée, d'où le nom de gommier (bleu).
- **Rameaux :** quadrangulaires (juvéniles) puis cylindriques (adultes).
- **Feuilles :** opposées, larges, courtes de 6 à 15 cm, arrondies, glauques (juvéniles) puis alternes, étroites, très longues de 15 à 35 cm, vert sombre, brillantes (adultes).
- **Boutons floraux :** en forme de toupie, blanc crème.
- **Floraison :** juin à novembre.
- **Fleurs :** blanches, régulières le plus souvent solitaires.
- **Fruits grands :** hémisphériques ou déprimés, turbines [6].



## Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

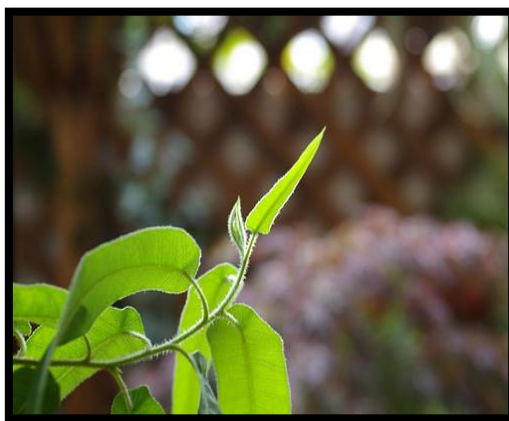
---

On à 4 types d'Eucalyptus les plus connues sont :

- Eucalyptus globuleux (Eucalyptus globulus).
- Eucalyptus radié (Eucalyptus radiata).
- Eucalyptus citronné (Eucalyptus citriodora).
- Eucalyptus mentholé (Eucalyptus dives CT piperitone).



**Figure 1.** Eucalyptus golubuleux.



**Figure 2.** Eucalyptus citronné.



**Figure 3.** Eucalyptus radié.



**Figure 4.** Eucalyptus mentholé.

### I.3. Description Botanique de l'Eucalyptus.

Le terme Eucalyptus a été utilisé pour la première fois en 1777 par un botaniste français, Charles-Louis L'Héritier de Brutelle. Il a inventé ce nom à partir du grec « eu » qui signifie « bien » et « calyptos » qui signifie « couvert ». Le genre Eucalyptus comprend environ 700

## Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

---

espèces. Leur nombre précis évolue au fil des études taxonomiques. Il appartient à la famille des myrtacées qui compte 134 genres et environ 3000 espèces.

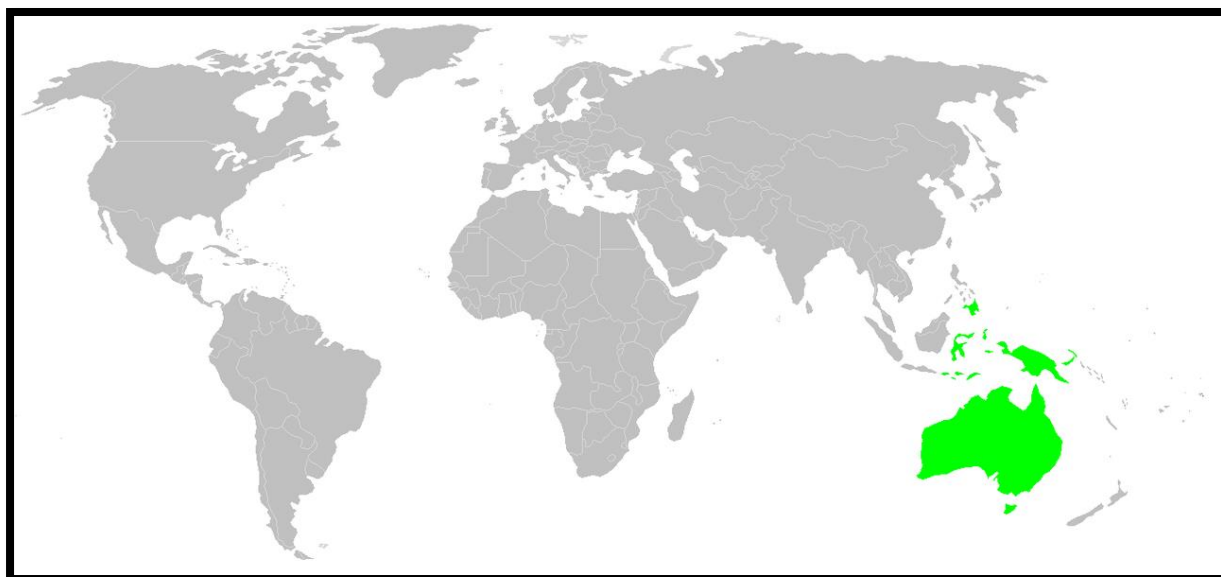
La description botanique des eucalyptus date de la fin du dix huitième siècle mais ce n'est qu'au début du vingtième qu'ils ont été utilisés en reboisement [7]. Cet arbre qui peut atteindre 30 m et plus de haut s'est parfaitement acclimaté chez nous et fait partie de notre paysage. On le trouve partout mais surtout sur les bords des routes [8].



**Figure 5.** Eucalyptus globulus.

### **I.4. Origine et répartition géographique du genre l'Eucalyptus.**

Le genre Eucalyptus est endémique en Australie et en Tasmanie. Il est cultivé de nos jours dans quelques régions subtropicales d'Afrique, d'Asie (Chine, Inde, Indonésie) et d'Amérique du Sud ainsi qu'en Europe méridionale et aux États-Unis. Les espèces appartenant à ce genre sont utilisées pour assécher certaines zones marécageuses et se sont acclimatées à la région méditerranéenne. Il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria. Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. Le reboisement à base d'eucalyptus a concerné l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda, Khenchela), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et l'Ouest (Mostaganem, Telemcen) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers [9,10].



**Figure 6.** Répartition géographique de l'Eucalyptus globulus

### I.5. Classification dans la systématique botanique.

**Tableau 1.** Classification botanique d'eucalyptus globulus[11].

Synonyme	Gommier bleu - eucalyptus globuleux – arbre de fièvre – Eucalyptus Officinal
Règne	Plante
sous – règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	dicotylédones
Sous –classe	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	Globulus
Nom botanique	Eucalyptus globulus, labill
Noms vernaculaires	Calitus (le nom le plus connue en Algérie), calibtus, kafor

### I.6. Composition chimique de l'Eucalyptus globulus.

Les principaux composants des feuilles d'Eucalyptus globulus[11] :

- Tanins.
- Flavonoïdes : des hétérosides de flavones avec les aglycones suivants : quercétine, myricétine, kaempférol et rutine.
- Huile essentielle [11,12]:
- Oxydes terpéniques : le plus notable l'eucalyptol 1,8-cinéol (principe actif) c'est le composé majoritaire.
- Mono terpènes : alpha-pinène, limonène, gamma-terpinène, para cymène.
- Sesquiterpènes : aromadendrène, Sesquiterpène : globulol.
- Alcools : eudesmol, alpha-terpineol, pinocarveol, lédol .
- Aldéhydes : citral, myrtenal.
- Aétones : carvone, pinocarvone, verbenone.
- Acétate de geranyl.
- Acide phénols.

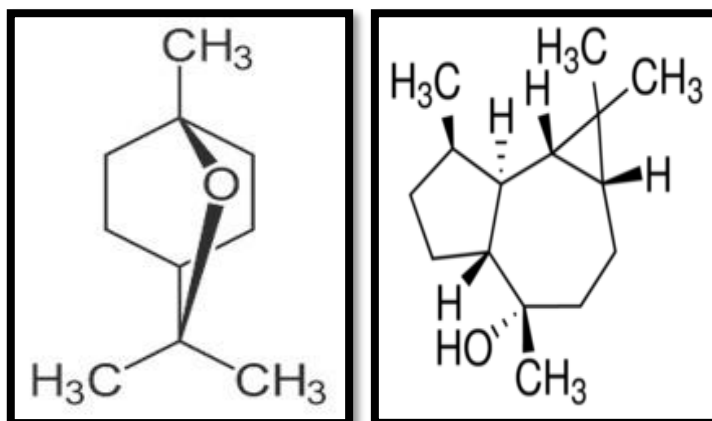


Figure 7. Structure chimique de l'eucalyptol et le globulol.

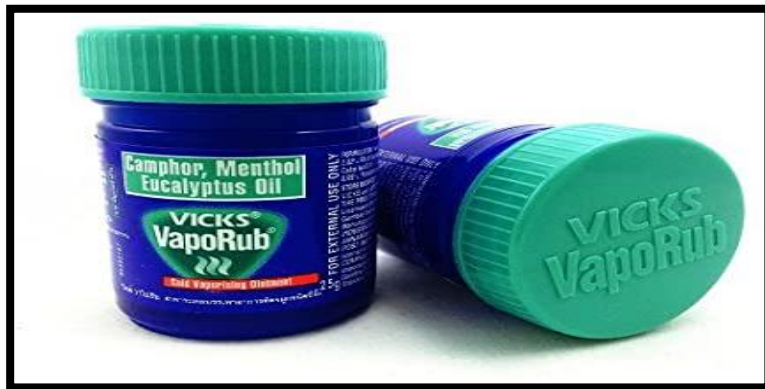
### I.7. utilisation thérapeutique de l'Eucalyptus globulus.

De nombreux pays ont rapidement intégré les usages médicaux des feuilles d'Eucalyptus dans leur pharmacopée : Chine, Inde, Sri Lanka, Afrique du Sud, Île de la Réunion, Europe, etc. La production commerciale d'huile essentielle d'Eucalyptus débuta en 1860, dans la région de Victoria en Australie. Actuellement, l'Australie, le Maroc, l'Espagne [11].

## Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

---

- L'huile d'eucalyptus possède un effet rafraîchissant indéniable sur la température du corps.
- Action analgésique et relaxante pour les muscles (huiles de bain et de massage).
- Action répulsive pour les insectes et calmante sur les piqûres.
- C'est un excellent cicatrisant naturel utilisé dans le pansement des plaies, brûlures.
- Les préparations pharmaceutiques destinées aux diverses affections des voies respiratoires (VicksVapoRub, par exemple).



- De nos jours, elle entre dans la fabrication de rince-bouche (Listerine, par exemple) et de dentifrices, les produits et les solvants endodontiques utilisés en dentisterie comprenant de l'huile de plusieurs plantes entre autre (l'huile de clou de girofle et d'Eucalyptus).



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

## Chapitre I : Généralité sur l'Eucalyptus globulus

---

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

- Action hypoglycémiant à forte dose.

L'organisation mondiale de la santé (OMS) reconnaît l'usage traditionnel des feuilles d'Eucalyptus, il est utilisé dans [11,13] :

- Le traitement du diabète.

- Anti infectieux et anti septique des voies respiratoires.

- Le traitement des infections aiguës et chroniques des voies respiratoires.

- Soulager la fièvre et les symptômes de l'asthme.

- Traiter l'inflammation des voies respiratoires (le traitement de la toux, de bronchites, des gripes et des affections pulmonaires), ce qui rend cette plante efficace pour soigner les rhumes et les maux de gorge ou de muqueuse de bouche (voie interne).

- L'huile essentielle diluée pour soulager les douleurs rhumatismales les douleurs aiguës, les raideurs, les névralgies et les infections cutanées d'origine bactérienne (voie externe).

### ➤ Autre utilisation d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.

#### **En cosmétique et en parfumerie :**

- Soins des yeux : irritations, fatigue oculaire, conjonctivite, orgelets.

- Soins des peaux grasses, acnéiques.

- Antiseptique et purifiant, il peut être utilisé pour la composition d'un spray assainissant et désodorisant.

### **Conclusion**

À la lumière de ces informations, Sur un plan médicinal, l'eucalyptus globulus présente de nombreuses vertus. Cet arbre, venu d'Australie, a su s'implanter dans le reste du monde l'eucalyptus globuleux constitue un excellent choix pour donner de l'énergie à un corps affaibli par les virus respiratoires. Il permet de lutter contre les inflammations des voies respiratoires et digestives. Ses feuilles constituent un bon remède contre le rhume, la rhinite, la sinusite, la bronchite ou encore l'état grippal et peut être aussi utilisé pour la désinfection de plaies.

# **Chapitre II :**

## **Généralité sur les huiles essentielles**



### Introduction

Le terme «huile essentielle» a été inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin Suisse PARASCELSUS VON HOHENHEIM pour désigner le composé actif d'un remède naturel [14].

Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées, aussi bien dans les parfums que dans les produits cosmétiques ou dans les spécialités pharmaceutiques, mais également en alimentaire comme agents de saveur. Les huiles essentielles sont issues de la sécrétion naturelle élaborée dans les différentes parties de la plante : la fleur, la feuille, le fruit, l'écorce... La composition chimique des huiles essentielles est très complexe, les principaux constituants sont les terpènes.

### I. Généralités sur les huiles essentielles.

#### I.1. Définition des huiles essentielles.

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante [15].

Les huiles essentielles, appelées aussi (essences ; huiles volatiles), sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, les branches, le bois, les graines, les racines, les fleurs. Elles sont présentes en petite quantité par rapport à la masse du végétal. Ce sont des substances odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air [16], ce sont des substances d'aspect huileux, inflammables, insolubles dans l'eau, solubles dans les corps gras, les alcools et les éthers. La densité des huiles essentielles est en général inférieure à celle de l'eau. Ce sont des produits souvent liquides plus ou moins épais, ayant une odeur souvent forte et très caractéristique.

Selon la **pharmacopée européenne**, l'huile essentielle est un produit odorant, généralement complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau (le plus fréquent), soit par distillation, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

---

significatif de sa composition [12]. Elle est très sensible à l'oxydation et à se polymériser pour former des produits résineux.

Selon l'AFNOR, une huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière végétale définie botaniquement : soit par un entraînement à la vapeur d'eau, soit par un procédé mécanique à partir de l'épicarpe pour les citrus, soit par distillation sèche après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques [15].

### I.2. Historique.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, alimentation, ...etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et avec la civilisation arabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie [17].

### I.3. Localisation des huiles essentielles.

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux [3]:

 Les fleurs comme la lavande.



✚ Feuilles comme l'eucalyptus.



✚ Racines comme les vétivers.



✚ Fruits comme les badianes.



✚ Graines comme les fenugrecs.



✚ Ecorces comme les canneliers.



### **I.4. Propriétés des huiles essentielles.**

D'une façon générale, les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles sont variables selon plusieurs facteurs (lieu de provenance, climat, époque et moyens de récolte, les procédés d'extraction et la nature du sol).

### **I.4.1. Propriétés Organoleptique.**

Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, sont très odorantes (odeur aromatique), ce sont généralement des liquides incolores ou rarement colorées quand elles sont fraîche, il existe cependant quelques exceptions exemple, l'huile essentielle d'eucalyptus qui est de coloration jaune pale [18]. La plupart sont connues par leurs goûts amères.

### **I.4.2. Propriétés physiques.**

Les HEs possèdent en commun un certains nombres de propriétés physiques [3] :

- Elles sont solubles dans la pluparts des solvants organiques comme : l'alcool, l'éther, le chloroforme, et les huiles fixes, les émulsifiants.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes [19].

### **I.4.3. Propriétés Chimiques.**

- Les huiles essentielles s'oxydent à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène en même temps que leur odeur se modifie.
- Leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue.
- Elles absorbent le chlore, le brome et l'iode avec un dégagement de chaleur.
- Elles peuvent se combiner à l'eau pour former des hydrats.
- Elles sont constituées de molécules à squelette carboné, le nombre de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15).
- Elles sont biodégradables et renouvelables dans la nature [20].

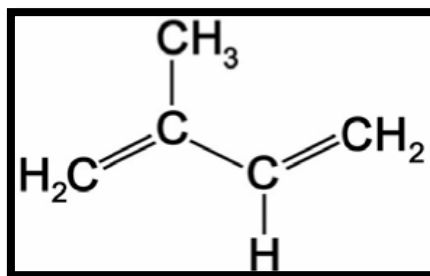
### I.5. Composition chimique des huiles essentielles.

La composition chimique d'une huile essentielle est très complexe et soumise à de très nombreuses molécules variables. Connaître avec exactitude les constituants d'une huile essentielle est fondamental, à la fois pour vérifier sa qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité. Les composés contenus dans une huile essentielle sont :

#### I.5.1. Les composés terpéniques.

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte de formule générale  $(C_5H_8)_n$ . Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unités isoprénique. Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes ( $C_{10}H_{16}$ ), les sesquiterpènes, formés de trois isoprènes ( $C_{15}H_{24}$ ), les diterpènes, formés de quatre isoprènes ( $C_{20}H_{32}$ ). Les tetraterpènes sont constitués de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes. Les polyterpènes de  $n$  égale à 9 jusqu'au 30.

Les terpénoïdes sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide) [21]. Nous donnons sur la figure 8, la molécule d'isoprène.

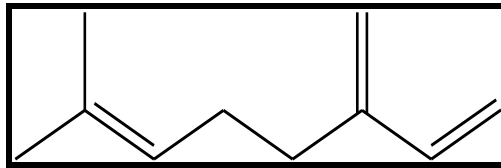


**Figure 8.** Molécule d'isoprène.

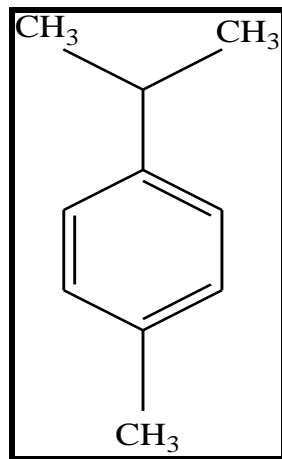
Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils : mono-terpènes et sesquiterpènes.

### a) Les mono-terpènes.

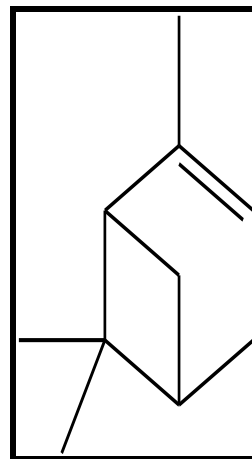
Les mono-terpènes sont volatils, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représentent la majorité des constituants des HEs, parfois plus de 90%. Ils peuvent être acyclique (myrcène, o-cymène), monocyclique (terpinène, p-cimène) ou bicyclique (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de substances à fonction chimique [22] :



Myrcène



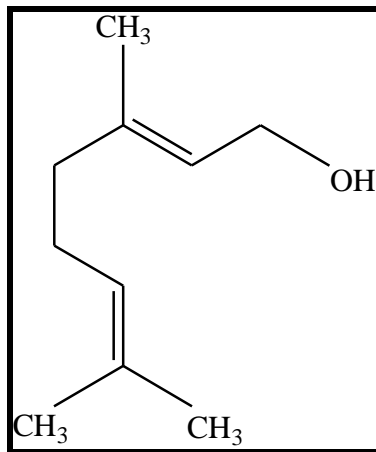
p- cimène



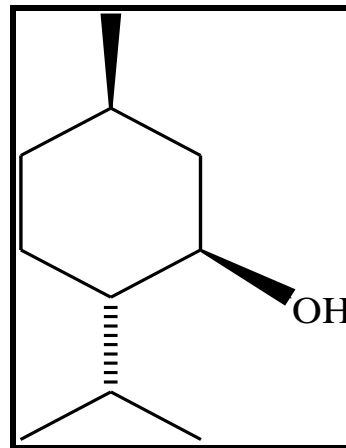
pinène

- **Alcools:** Les composés alcooliques jouent un rôle très important dans les principes odorants des végétaux [23]. Les structures sont soit acycliques (géraniol, linalol, kcitronellol), monocycliques (menthol,  $\alpha$ -terpinèol, terpine-1-én-4-ol), bicycliques (bornéol, feuchol) [3].

Géraniol

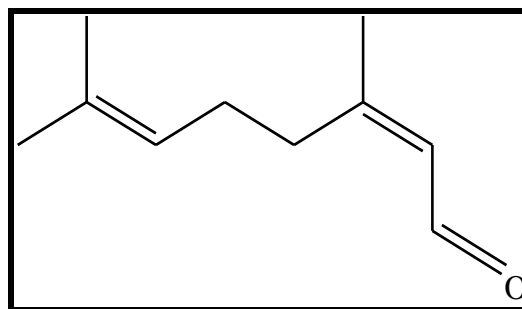


Menthol



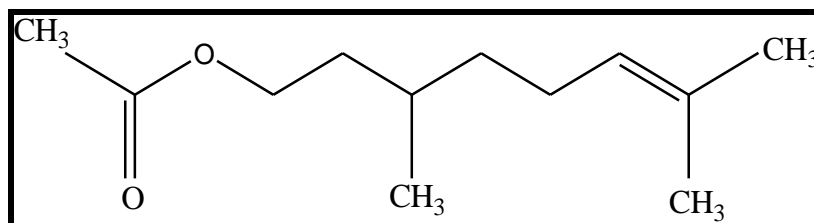
- **Aldéhydes:** Les aldéhydes contenus dans les essences naturelles sont assez nombreux et jouent un rôle de première importance du point de vue parfum [23]. Sont les plus souvent acycliques (néral, citronellal) [3].

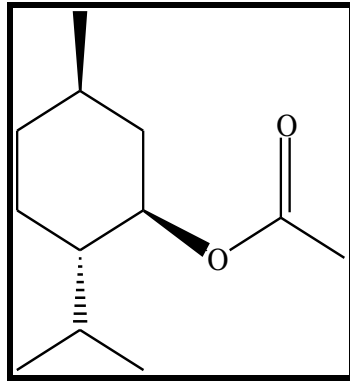
Néral



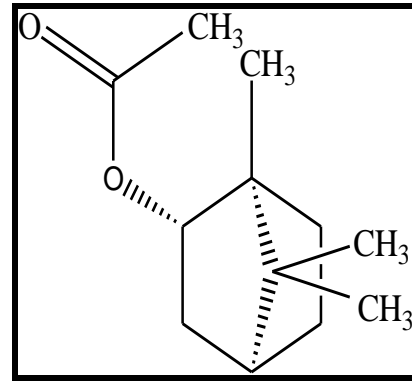
- **Esters:** Sont soit acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronillyle), monocycliques (acétate de menthyle, acétate de  $\alpha$ -terpinyle), bicycliques (acétate d'isobornyl) [23].

Acétate de citronillyle





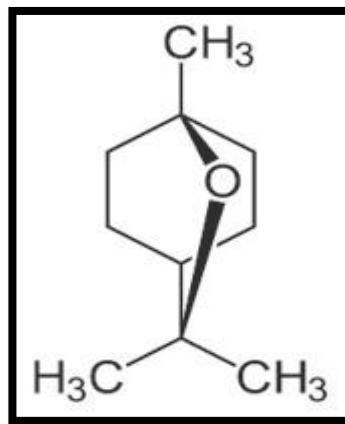
Acétate de menthyle



Acétate d'isobornyl

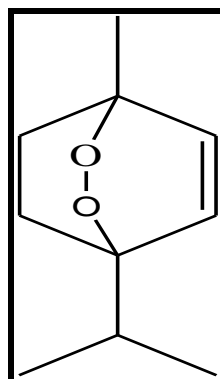
- **Ethers:** Ce sont des constituants très importants des essences. Grâce à leurs parfums, ils donnent une grande valeur à la plante qui les contient. Leur identification est généralement difficile, mais leur présence ou leur absence s'établit par une simple saponification. Sont des 1,8-cinéole ou dits aussi eucalyptol, di-éther, mais aussi les éthers cycliques qui jouent un rôle majeur dans l'arome des fruits.

1,8-cinéole



- **Peroxydes:** exemple : ascaridole [22].

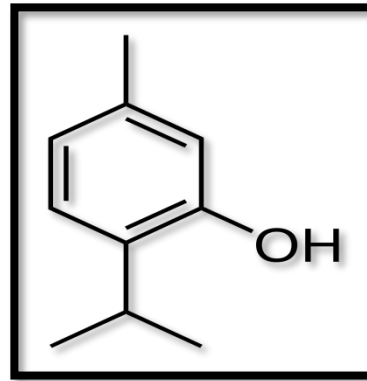
Ascaridole



## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

- **Phénols** : Ils dérivent des hydrocarbures aromatiques en substituant à un hydrogène du noyau, un groupement (OH) ce sont des substances avec une odeur forte caractéristique, liquides ou solides très stables, très solubles dans l'alcool et l'éther [24] comme thymol.

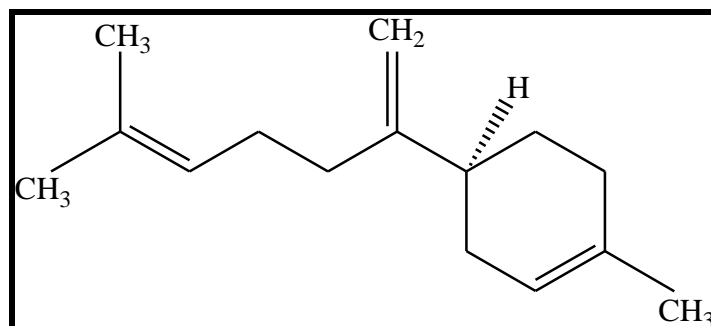
Thymol

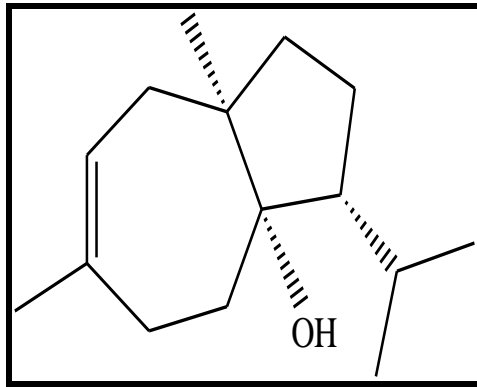


### b) Les sesquiterpènes.

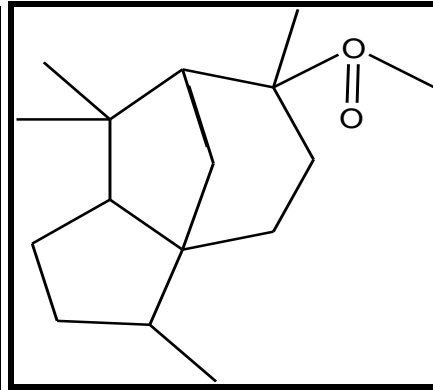
Un grand nombre de sesquiterpènes sont des constituants habituels des huiles essentielles des végétaux supérieurs, ils peuvent intervenir dans les propriétés pharmacologiques attribuées à ces fractions volatiles. On trouve quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : des carbures mono- ou polycycliques ( $\beta$ -bisabolène,  $\beta$ -caryophyllène, longifolène), alcools (farnésol, carotol,  $\beta$ -santalol, patchoulol), cétones ( $\beta$ -vétinone), esters (acétate de cédryle), aldéhydes (sinensal) [3].

$\beta$ -bisabolène

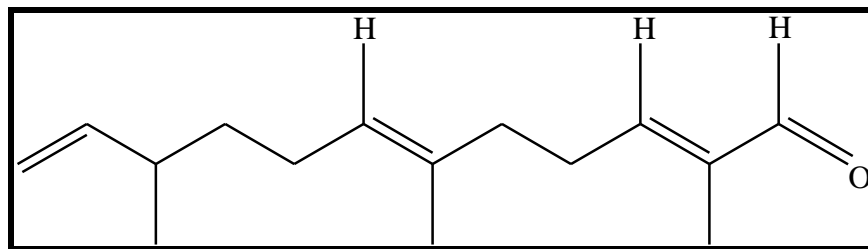




Carotol



Acétate de cédryle

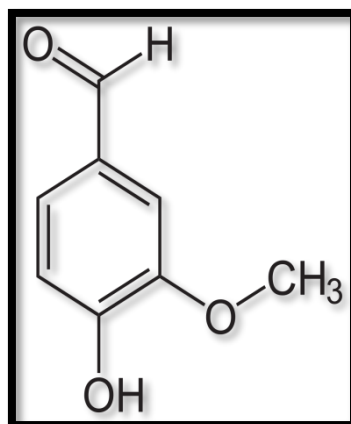


Sinensals

### I.5.2. Les composés aromatiques.

Les dérivés du phényl-propane (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>) sont beaucoup moins fréquente que les précédents (les terpènes). Ce sont très souvent des allyles et des propényl-phénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les huiles essentielles des composés en (C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>) comme la vanilline (assez fréquente) [3].

Vanilline



### **I.5.3. Composés d'origines diverses.**

Il s'agit de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles (composé issus de la dégradation d'acides gras ou d'autres composés).

Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer ces types de composés. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'elles sont entraînables par la vapeur d'eau [3]. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés.

### **I.6. Conservation des huiles essentielles.**

Les huiles essentielles sont des substances très délicates. Et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile, Certains dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres (en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté) et secs, à l'abri de la lumière et de la chaleur et dans des endroits frais. Elles doivent être conservées correctement pour préserver leur qualité [16]. Dans ces conditions, se conserveront pendant au moins 5 ans [25].

### **I.7. Qualité et rendement des huiles essentielles.**

La qualité de l'huile dépend de plusieurs facteurs dont le procédé d'obtention, l'état de maturation, de conservation et sa provenance. En effet, pour être pleinement efficace, les plantes doivent provenir de lieux de culture favorables et avoir été cueillies, préparées et conservées avec soin [26].

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles. Ainsi, le rendement peut varier de 1 à 10%, c'est-à-dire que la quantité des huiles essentielles comme en toutes choses, doit obligatoirement se payer. En effet, pour obtenir quelques grammes d'essence, il faut une grande quantité de végétaux. Par exemple pour 100 kg d'Eucalyptus on obtient : 3 kg d'essence. Pour des essences plus prisées, telles que celles de rose, de jasmin ou de fleur d'oranger, le rendement est encore plus faible. Il faut au moins trente roses pour extraire une seule goutte d'essence et 1000 kg de fleurs de jasmin pour en obtenir un litre [26].

### **I.8. Utilisation des huiles essentielle.**

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines, ce sont en effet les produits de base utilisés, en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse [27].

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que :

#### **❖ En pharmacie :**

Ce sont principalement les propriétés antiseptiques et antifongiques qui sont reconnues par les autorités sanitaires. Différentes spécialités pharmaceutiques sont sur le marché. La tendance actuelle serait l'utilisation bénéfique de cette activité antiseptique, notamment, pour purifier l'air atmosphérique dans les centres de soins (hôpitaux, clinique) et aussi dans les maisons individuelles par diffusion d'huiles essentielles dans l'air.

#### **➤ Phytothérapie pharmacologique.**

C'est un mot d'origine grecque (phytos) qui veut dire plante, et le mot (therapeuo), qui signifie soigner [28]. L'activité thérapeutique d'une huile essentielle est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ces principaux composés et à leur action synergétique [29]. Les huiles essentielles ont des usages thérapeutiques en médecine humaine en raison de leurs propriétés [30] :

- Des propriétés antiseptiques pour les poumons et les reins ou comme bain de bouche.
- Dépuratives, cicatrisantes, analgésiques et anti-inflammatoires.
- Un effet anesthésiant pour soigner les douleurs rhumatismales.
- Action stimulante sur l'utérus, effet abortif en cas d'intoxication.
- Action sur le système nerveux central, en exerçant des effets sédatif, relaxant et déstressant.
- Effet anticancéreux, en stimulant l'apoptose des cellules tumorales.
- Aromatisant des médicaments destinés à la voie orale.

### ❖ Dans l'industrie :

#### ➤ Parfumerie et cosmétologie.

Les huiles essentielles à l'état dilué, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes. Actuellement, ce sont davantage les molécules de synthèse qui entrent dans la composition très complexe et confidentielle mise au point par les grands parfumeurs.

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence d'huiles essentielles dans les préparations dermo pharmacologique (bain «calmant» ou «relaxant»), et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle qui est utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques [31].

#### ➤ Industrie alimentaire.

Les huiles essentielles sont utilisées ici comme rehausseurs de goût et pour améliorer la saveur des produits alimentaires élaborés. Depuis peu, les industriels ont souhaité l'utilisation d'huiles essentielles comme conservateurs, au détriment des molécules de synthèse classiques couramment utilisées, telles que les parabènes.

Dans le domaine agro-alimentaire, les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées dans la conservation des denrées alimentaires et employés comme agents de protection contre les micro-organismes cela grâce à leur activité antimicrobienne à large spectre comme les champignons phyto-pathogènes envahissant les denrées alimentaires [32] sans pour autant dénaturer le goût car ces aromates entrent dans la composition des préparations alimentaires [33]. On note aussi leur intégration dans les boissons non alcoolisées, les confiseries, les produits laitiers ou carnés [34]. Les huiles essentielles (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisées dans l'aromatisation des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

### ❖ En agriculture :

Les pesticides naturels basés notamment, sur les huiles essentielles représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons [35]. Les huiles essentielles sont utilisées comme agent de lutte biologique dans plusieurs cas y compris le cas de niébé infectée par *Callosobruchus maculatus* [36].

### I.9. Toxicité des huiles essentielles.

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en Thymol, ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnam-aldhyde) ou photo-toxique (huiles de citrus contenant des furacourmarines) d'autres ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' $\alpha$ -thujone). en particulier la neuro toxicité des huiles essentielles à thuyone (thuya, absinthe, tanaïsie, sauge officinale) ou à pinocomphone (hysope): ces cétones induisent des crises épileptiformes et tétaniformes, des troubles psychiques et sensoriels nécessitant l'hospitalisation [37]. Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allyldénzène ou de propenyl benzène comme le safrol, l'estragnol [38]. La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue, des données sur leurs éventuelles propriétés mutagènes, cancérigènes. Il est important de respecter la posologie et la durée de la prise. En règle générale, les HEs ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible: la majorité des huiles qui sont couramment utilisées ont une dose létale (DL50) comprise entre 2 et 5 g/kg (Anis, Eucalyptus, Girofle...etc.) ou ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (Camomille, Lavande...etc.)[39].

## II. Les méthodes d'extraction et d'analyse.

### II.1. Les méthodes d'extractions.

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles restent identiques, quel que soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire les molécules

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

---

aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation.

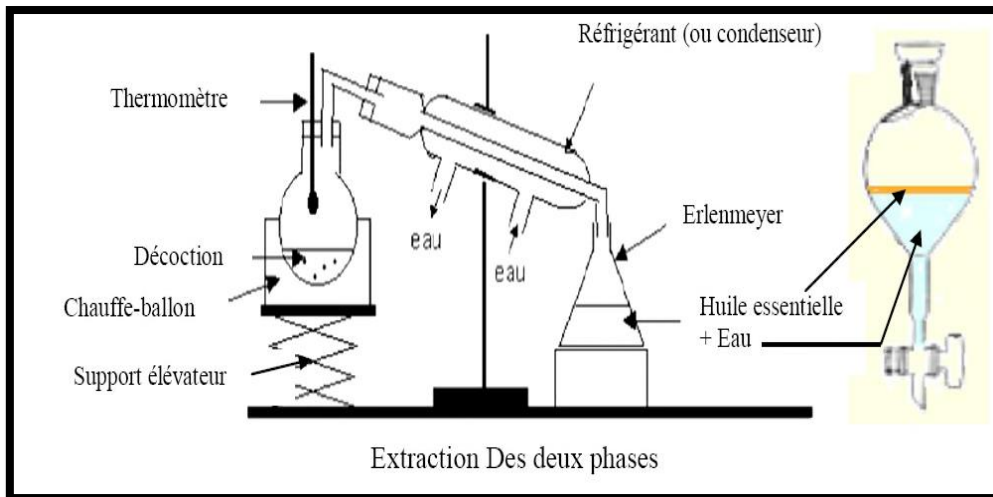
La méthode choisie pour l'extraction des huiles essentielles doit être la méthode la plus efficace et qui donnerait une huile essentielle de très bonne qualité, un rendement élevé avec un coût économique faible, l'huile essentielle obtenue doit être limpide concentrée, d'odeur fine caractéristique de la partie de la plante utilisée et ne doit contenir aucune trace de solvant, l'obtention des huiles essentielles fait appel à plusieurs méthodes [40] :

### **1. Distillation.**

La distillation à la vapeur d'eau est une méthode ancienne et très répandue pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques. Elle est simple dans son principe et utilise un équipement peu coûteux. Elle se présente sous trois (03) variantes : l'hydro distillation, l'entraînement à la vapeur et hydro diffusion [41].

#### **1.1. Hydro distillation.**

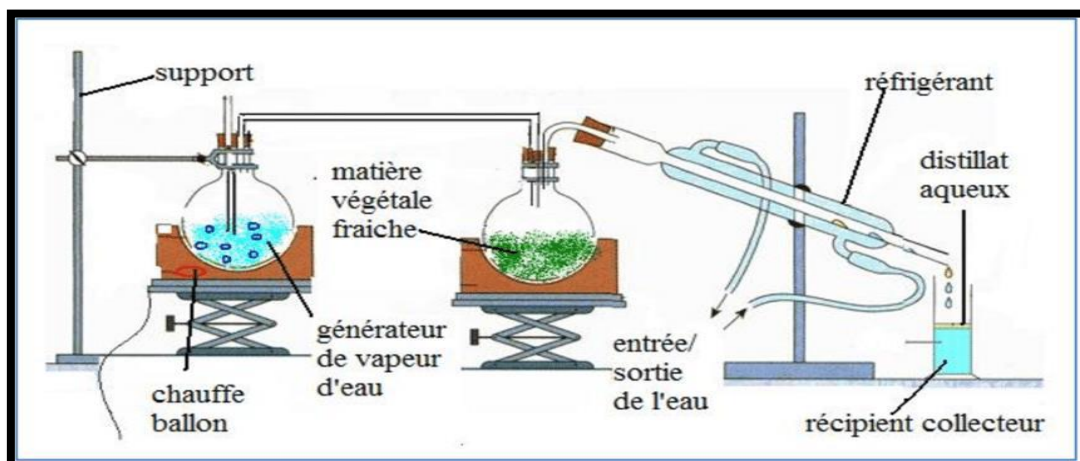
L'hydro distillation est une méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans un ballon rempli d'eau que l'on porte ensuite à l'ébullition pendant 3 heures. L'huile essentielle est évaporée avec la vapeur d'eau. Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensés à l'aide d'un réfrigérant. Le distillat est ensuite récupéré dans un erlenmeyer. L'eau et la molécule aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique.



**Figure 9.** Montage de l'hydro distillation de l'huile.

### 1.2. Entraînement à la vapeur d'eau.

Dans ce type de distillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Après 3 heures, le distillat est récupéré dans une fiole réceptrice puis séparé en une phase aqueuse l'eau condensée et phase organique l'huile essentielle. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant (éviter) les altérations hydrolytiques [40].



**Figure 10.** Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.

### 1.3. Hydro diffusion.

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression « 0.02-0.15 bar » à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie [3].

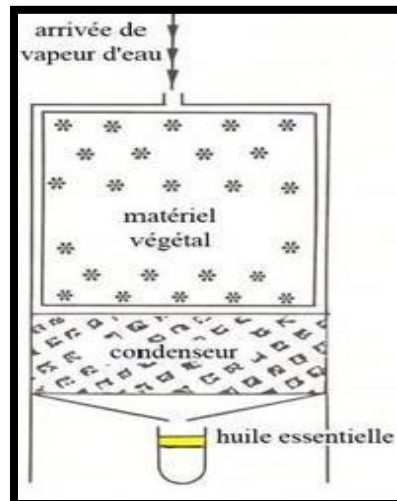


Figure 11. Montage de l'hydro diffusion.

## 2. Extraction aux solvants organiques.

Consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatique, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales et obtiendra une « absolue ».

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient:

- Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.
- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- De résinoïde ou extraits éthanoliques concentrés.

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

Parmi les solvants utilisés, sont le méthanol, l'éthanol et l'éther de pétrole, l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le di chloro méthane et l'acétone l'appareillage le plus utilisé est celui de Soxhlet [40].

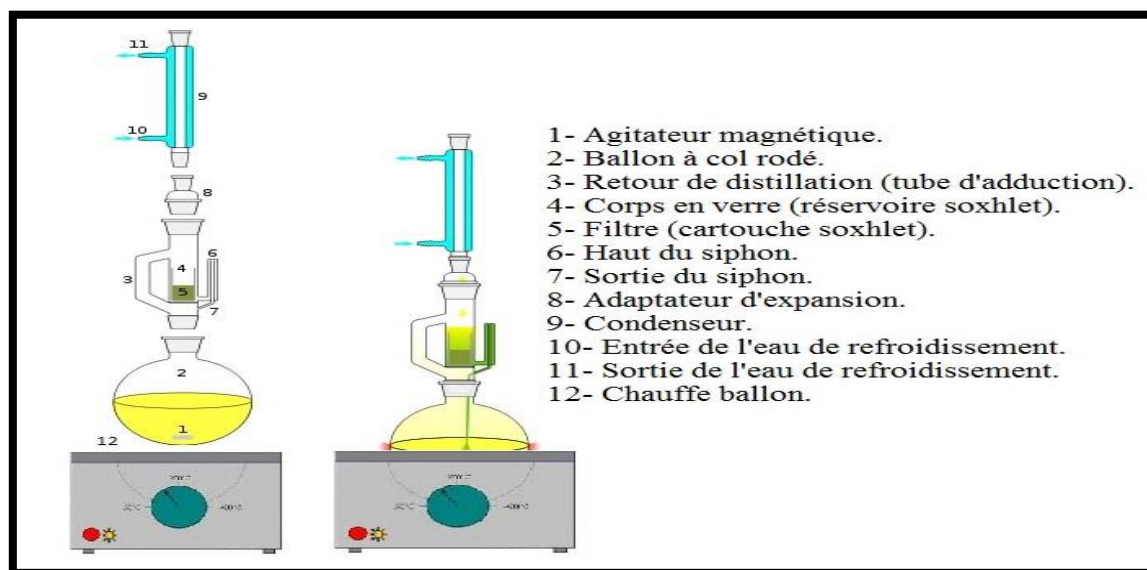


Figure 12. Schéma d'un montage Soxhlet.

### 3. Extraction à froid.

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes (orange, citron, bergamote) dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences (en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes). Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses hydraulique, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique. Cette technique permet d'extraire à faible coût des essences de bonne qualité [42].

### 4. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

C'est une des méthodes les plus modernes, mais aussi les plus coûteuses, elle consiste à faire passer dans la masse végétale (en général des fleurs) un courant de CO<sub>2</sub> qui par augmentation de la pression, fait éclater les poches à essences et entraîne les substances aromatiques. Diverses études tendent à prouver que ce procédé respecterait intégralement l'essence originelle [20].

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

On utilise le CO<sub>2</sub> car il possède de nombreux atouts : il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux.

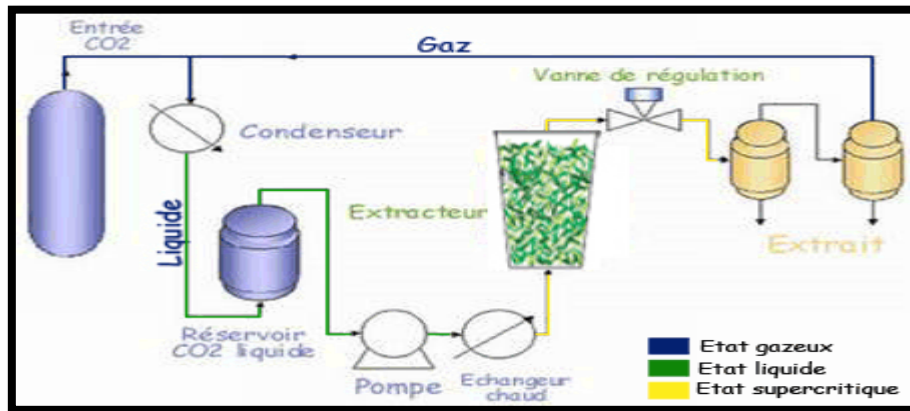
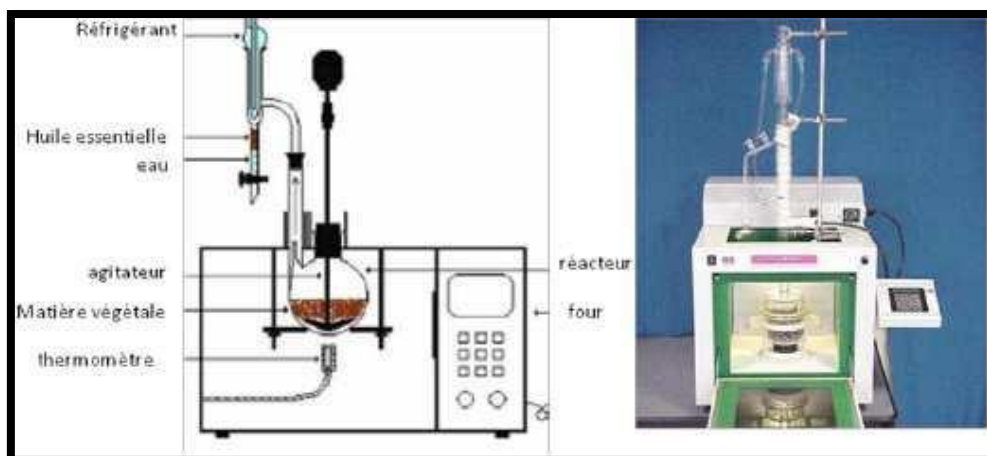


Figure 13. Montage de l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

### 5. Extraction assistée par micro-ondes.

L'extraction par micro-ondes est une nouvelle technique verte développée ces dernières années. Cette méthode consiste à placer des matières végétales dans un réacteur à micro-ondes sans ajouter ni eau ni solvant organique. Le chauffage de l'eau contenue dans la matière végétale la fait gonfler et provoque l'éclatement des glandes et des réceptacles oléifères. Ce procédé libère, ainsi, l'huile essentielle qui est évaporée par l'eau contenue dans la plante par distillation azéotrope. La vapeur passe ensuite, à travers un condenseur à l'extérieur de la cavité micro-ondes, où elle est condensée. Le distillat est recueilli en continu dans l'ampoule à décanter. L'excès d'eau est renvoyé dans le récipient d'extraction. L'huile essentielle est recueillie directement et séchée [43].



**Figure 14.** Montage de l'extraction par micro-onde.

## **II.2. les méthodes d'analyses.**

### **II.2.1. Les méthodes de séparation.**

Les méthodes physiques de séparation sont très nombreuses on peut les classes en deux grands groupes : Chromatographie et électrophorèse. Dans les deux cas, les molécules séparées sont ensuite repérées par une de propriétés.

Différentes méthodes chromatographiques sont mises en œuvre pour étudier la composition des plantes, ce sont la chromatographie sur couche mince (CCM), la chromatographie sur colonne (CC), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) [44].

#### **II.2.1.1. La chromatographie sur couche mince (CCM).**

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode analytique couramment utilisée pour la séparation et l'identification des constituants d'un extrait donné.

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant. Après la migration, le repérage des molécules s'effectue soit par ultra-violet (UV), soit par un colorant spécifique ou encore par exposition aux vapeurs d'iode. La distance de

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

migration des composés est ensuite mesurée et comparée à celle du front de la phase mobile, ceci permet de définir la référence frontale  $R_f$  caractéristique de chaque composé précise que la technique du CCM, bien que beaucoup moins performante que la chromatographie en phase gazeuse, peut être utilisée en routine pour le contrôle de qualité des huiles essentielles [45].

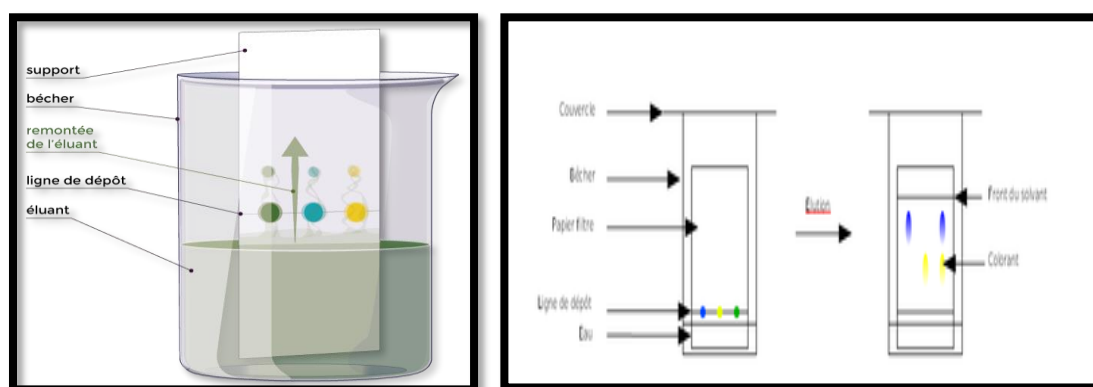


Figure 15. Réalisation d'une chromatographie sur couche mince.

### II.2.1.2. Chromatographie sur colonne (CC).

Basée sur le même principe que la chromatographie sur couche mince, sauf que la silice ne se trouve pas sur une plaque mais dans une colonne. Cette technique est très utilisée dans la purification en chimie organique. La séparation des composés est provoquée par l'écoulement continu d'un éluant passant dans la colonne par gravité ou sous l'effet d'une faible pression. Les composés sont entraînés par l'éluant à des vitesses différentes en fonction de leurs affinités avec la silice et avec l'éluant. La migration d'un composé est caractérisée par son volume d'élution, c'est-à-dire la quantité de phase mobile qu'il faut utiliser pour faire sortir le composé de la colonne. Ce procédé permet de séparer les différents composants d'un produit mais aussi de purifier le produit d'une réaction.

Elle présente cependant plusieurs inconvénients :

- De grandes quantités de solvant sont nécessaires à l'élution.
- La durée de l'élution est généralement très grande.
- La détection des composés exige une attention constante.

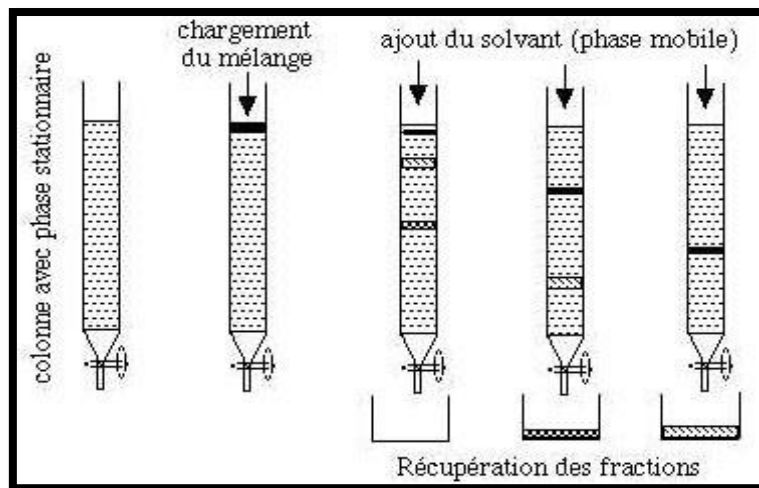


Figure 16. Schéma de la chromatographie sur colonne.

### II.2.1.3. La chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Chromatographie en phase gazeuse (CPG) C'est de loin la technique la plus utilisée pour les huiles essentielles. Elle permet l'individualisation des constituants, leur quantification et le calcul de leurs indices de rétention ( $I_r$ ).

Son principe est : Les éléments gazeux ou volatils d'un échantillon sont placés dans un injecteur. Ils vont ensuite être emportés (phase mobile est un gaz par ex : hélium, azote, argon ou hydrogène) par un gaz porteur qui va les amener dans la phase stationnaire pour qu'ils y soient séparés par migration. Il s'agit bien souvent d'un liquide ou d'un solide. Plus un élément a d'affinité avec la phase stationnaire, plus il prendra de temps pour sortir de la colonne de chromatographie. Les éléments peuvent être identifiés mais aussi quantifiés.

### II.2.1.4. La chromatographie liquide haute performance (CLHP).

Est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange. Cela permet d'adapter les méthodes chromatographiques usuelles sur un montage haut pression. Cette forme de chromatographie est fréquemment utilisée en biochimie, ainsi qu'en chimie analytique.

L'utilisation de la HPLC dans le domaine des huiles essentielles a été délaissée en faveur de la CPG aux résultats probants. Cependant l'analyse par HPLC a un certain nombre d'avantages, notamment lors de la recherche de composés thermolabiles c'est-à-dire difficiles à analyser par CPG. La principale limitation de cette technique réside dans la méthodologie

## Chapitre II : Généralité sur les huiles essentielles

---

d'analyse des terpénoïdes qui nécessitent un facteur de rétention se trouvant dans un intervalle étroit. D'où l'utilisation le plus souvent de colonne à gel de silice, du n-pentane comme phase mobile, d'une température faible (-15°C en général) et d'un système de détection UV à 220 nm. Dans ces conditions-là, la majorité des hydrocarbures mono et sesquiterpénoïdes peuvent être séparés et analysés.

D'autres conditions chromatographiques ont été testées pour l'analyse des HEs en agissant sur :

- ✚ La nature de la phase stationnaire.
- ✚ La température de la chromatographie.
- ✚ La mise en place d'un gradient acétonitrile-eau dans la colonne.

Mais malgré tout, le pouvoir séparateur de l'HPLC n'est remarquable que pour les sesquiterpénoïdes et les diterpénoïdes, la CPG faisant mieux pour les monoterpénoïdes. Il est à noter quand même que des chercheurs ont réussi une séparation énantiomérique par HPLC de sesquiterpènes d'une huile essentielle en utilisant une phase stationnaire chirale.

### Conclusion

Tout au long de ce chapitre, nous avons pu voir que Les huiles essentielles ont une composition chimique complexe, certains de leurs composants sont de puissants antiseptiques agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que les virus. D'autres agissent sur le système nerveux central et peuvent changer le seuil de la douleur (pouvoir antalgique), et qu'il existe plusieurs domaines d'utilisations des huiles essentielles et différentes techniques d'extractions même si nous n'en avons cité que quelques unes, pour l'obtention sur les principes actifs à partir des plantes cette obtention peut être complétée d'une chromatographie afin de découvrir ou de confirmer la présence de certaines espèces dans le distillat obtenu.

# **Partie expérimentale**

# Chapitre III :

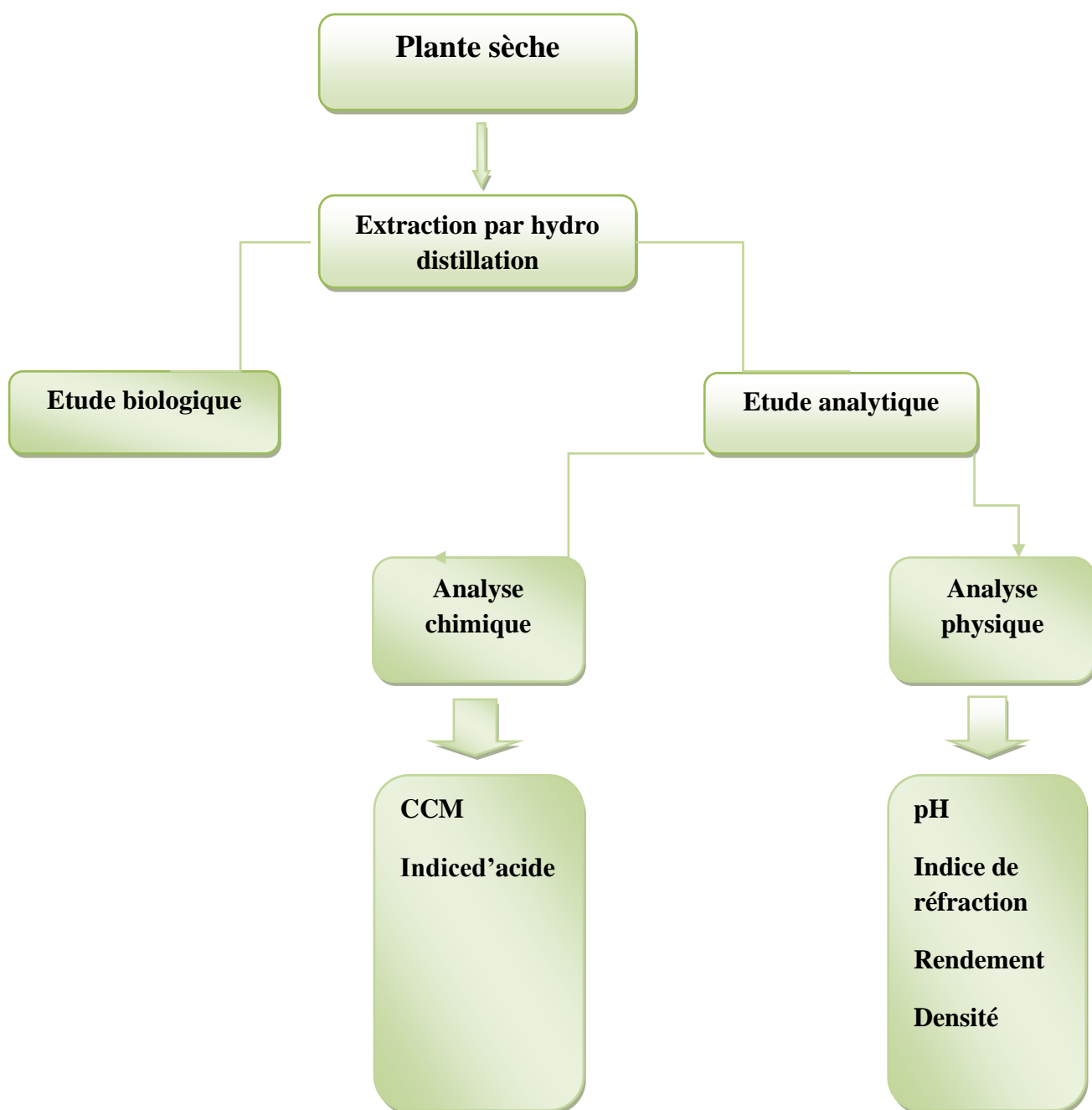
## Méthode et matériel



### I. Méthode et matériel.

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire de recherche de l'université de KHENCHELA. Ce travail s'inscrit dans le cadre d'obtention du Diplôme Master en chimie analytique et environnement. L'objectif de ce travail est d'obtenir l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus par la méthode d'hydro distillation et la détermination de ces propriétés physicochimiques, organoleptiques et l'étude de l'activité antibactérienne.

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé ci dessous:



### I.1. Matériel végétale.

Ce travail est appliqué sur l'un des types des plantes de la famille de myrtaceae sur les feuilles d'Eucalyptus globulus pour l'extraction d'huile essentielle par hydro distillation, sont récoltés de la région de EL HAMMA (KHENCHELA) de la période de fin de Février - début de Mars (2020).

Elles ont été non triées (feuilles jeunes et adultes) nettoyées lavées et séchées à l'abri de la lumière pendant cinq jours. Après séchage, les échantillons ont été coupées en partie très fine conservés dans des sachets propres jusqu'au moment de l'extraction par hydro distillation.



**Figure 17.** Feuilles d'eucalyptus globulus nettoyées lavées et séchées (image originale).

### I.2. Matériel de laboratoire.

Plusieurs réactifs chimiques et verreries ont été utilisés pour nos études (extraction, décantation, dosage, étude d'activité antibactérienne) sont :

**Tableau 2.** Les réactifs chimiques et les verreries utilisées :

<b>Réactifs chimique</b>	<b>Verreries :</b>
L'eau distillée	<b>Chauffe ballon</b>
Cyclohexane	<b>Ballon</b>
Chloroforme	<b>Réfrigérant</b>
Ethanol	<b>Erlenmeyer</b>
Méthanol	<b>Béchers</b>

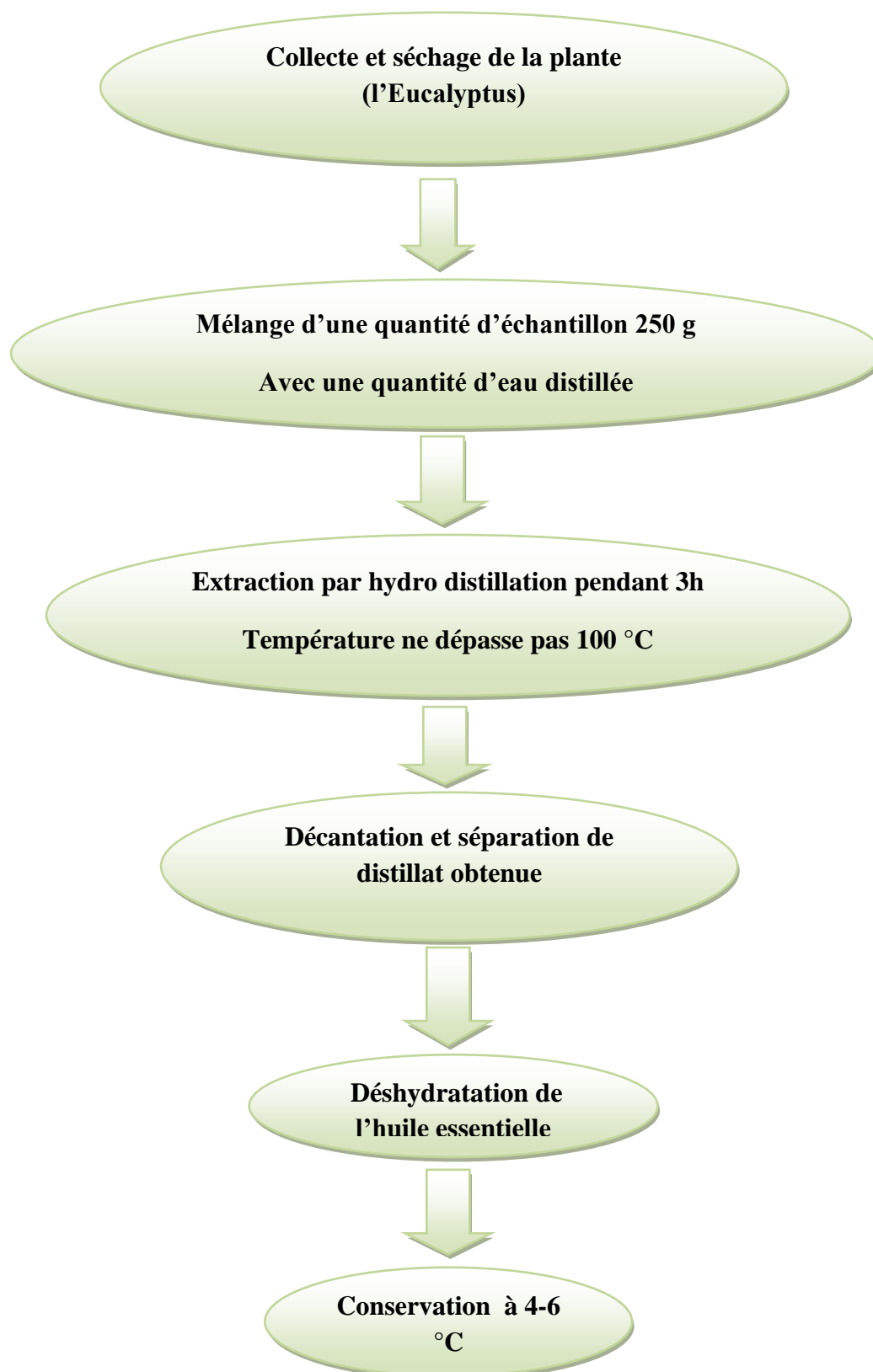
<b>Ether di éthyle</b>	<b>Thermomètre</b>
<b>Phénol phtaléine</b>	<b>Burette graduée</b>
<b>Acétone</b>	<b>Support</b>
<b>Sulfate de sodium</b>	<b>Pipette graduée</b>
<b>Hydroxyde de potassium</b>	<b>Fiole jaugée</b>
<b>Souche à tester (E.coli et S.aureus)</b>	<b>Entonnoir</b>
<b>Gélose</b>	<b>Ampoule à décanter</b>
<b>Milieu de MULLER HINTON</b>	<b>Balance électrique</b>
	<b>pH mètre</b>
	<b>Chambre UV</b>
	<b>Plaque CCM</b>
	<b>Pipette pasteur ou micropipette</b>
	<b>Disque stérile de papier wattman N°3</b>
	<b>Boîte de pétri en verre</b>
	<b>Ecouvillon stérile</b>
	<b>Plaque chauffante</b>
	<b>Seringue 5ml</b>

### **I.3.Mode opératoire.**

Dans notre travail on voit ces étapes pour obtenir l'huile et étudier leur caractéristique physico-chimique :

#### **I.3.1.Extraction des huiles essentielles.**

Les différentes étapes de la procédure d'extraction de l'huile essentielle de l'Eucalyptus sont représentées dans le schéma suivant :



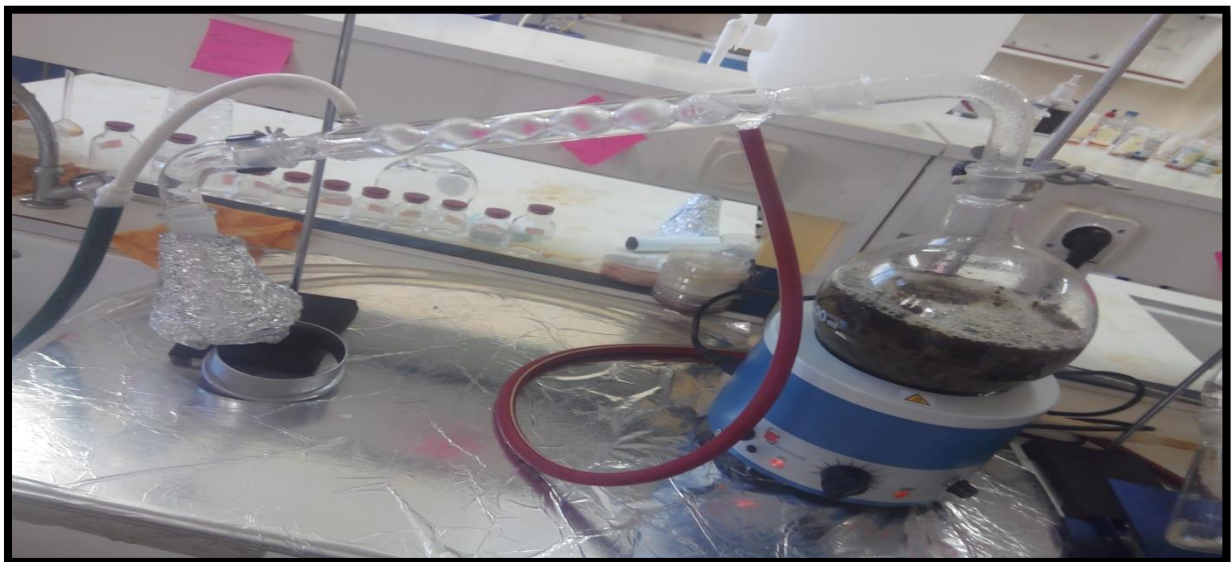
**Figure 18.** Organigramme exprimant le protocole expérimental suivi pour l'obtention d'huile essentielle de l'Eucalyptus

## Chapitre III : Méthode et matériel

---

L'extraction des huiles essentielles a été faite par la méthode d'hydrodistillation, qui reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus simple pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles.

Après séchage de la plante, l'opération consiste à immerger une quantité 250 g de la masse végétale (les feuilles d'Eucalyptus) qu'ont été coupées en parties fines sont mises dans un ballon en verre de 3L contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition, le ballon est placé sur une chauffe ballon qui est raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction. Le mélange (eau - matériel végétale) est chauffé à une température voisine de 95°C après une 1 h et demi sous l'action de chaleur les cellules de l'espèce s'évaporent et permet de former le mélange huile essentielle - eau, la vapeur chargée de l'huile essentielle passe à travers le tube vertical, puis à travers le réfrigérant (condensateur) fixé par un support approprié en position oblique pour faciliter l'écoulement du distillat dans un erlenmeyer couverts avec du papier aluminium pour éviter toute altération de l'huile. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures après le début de l'ébullition.



**Figure 19.** Dispositif d'hydro distillation (image originale).

### I.3.2.La décantation.

Faire la décantation avec un solvant éther diéthylique( $C_4H_{10}O$ ) ou sans solvant (si les deux phases sont observables) pour séparer les deux phases aqueuses et organiques



**Figure 20.** L'hydrolat et l'huile essentielle obtenu (les deux phases) (image originale).

- Fermer le robinet de l'ampoule à décanter placée sur son support.
- Verser le distillat obtenu dans l'ampoule avec un entonnoir.
- Agiter bien l'ampoule pour effectuer le dégazage, le robinet vers le haut.
- Placer ensuite l'ampoule sur son support pour laisser décanter.
- Enlever le bouchon pour récupérer les deux phases dans des erlenmeyers.

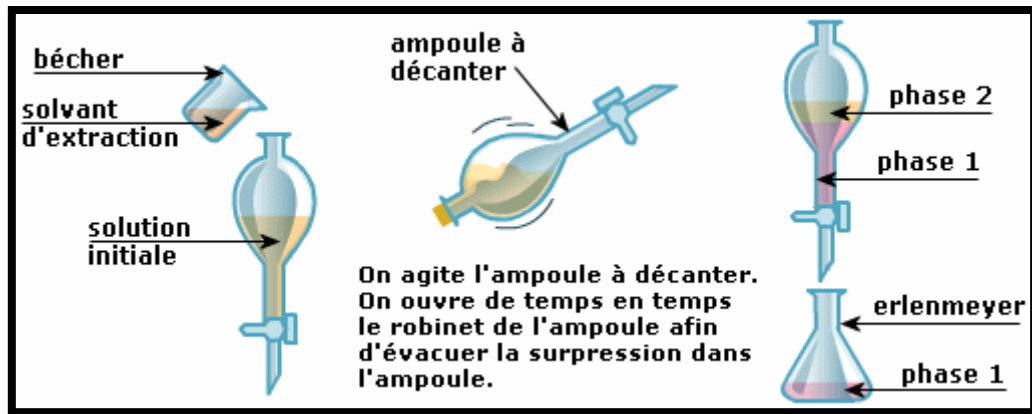


Figure 21. Dispositif de la décantation

### I.3.3.La déshydratation.

L'huile essentielle obtenue des feuilles d'Eucalyptus globulus sera par la suite récupérée dans un erlenmeyer puis séchée par un déshydratant le sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) en petite quantité suffisante par ex : 0.1 gramme de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pour 10 ml d'huile, pour éliminer toutes les traces d'eau susceptible d'avoir été retenu dans l'huile.

### I.3.4.Conservation de l'huile essentielle.

La plupart des huiles essentielles peuvent être stockées pendant une période précise. Ils doivent être conservés à l'état frais et à ne pas être en contact avec l'air, ni exposés au rayonnement solaire direct, ni en contact avec les matériaux (caoutchouc, plastic) qui ne résistent pas. C'est pour cela nous avons conservé l'huile essentielle obtenue dans des flacons appropriés en verre sombre si sont incolores on utilise le papier d'aluminium stériles fermés pour la préserver de l'air et la lumière et à température de 4 à 6 °C.



**Figure 22.** Image qui représente un exemple de flacon de la conservation d'huile essentielle

### **I.4. Etude analytique :**

#### **I.4.1. Caractéristiques des huiles essentielles.**

La caractérisation d'une huile essentielle consiste à [46]:

- ✚ Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur, saveur)
- ✚ Déterminer ses indices physiques (rendement, densité, indice de réfraction... etc.
- ✚ Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents

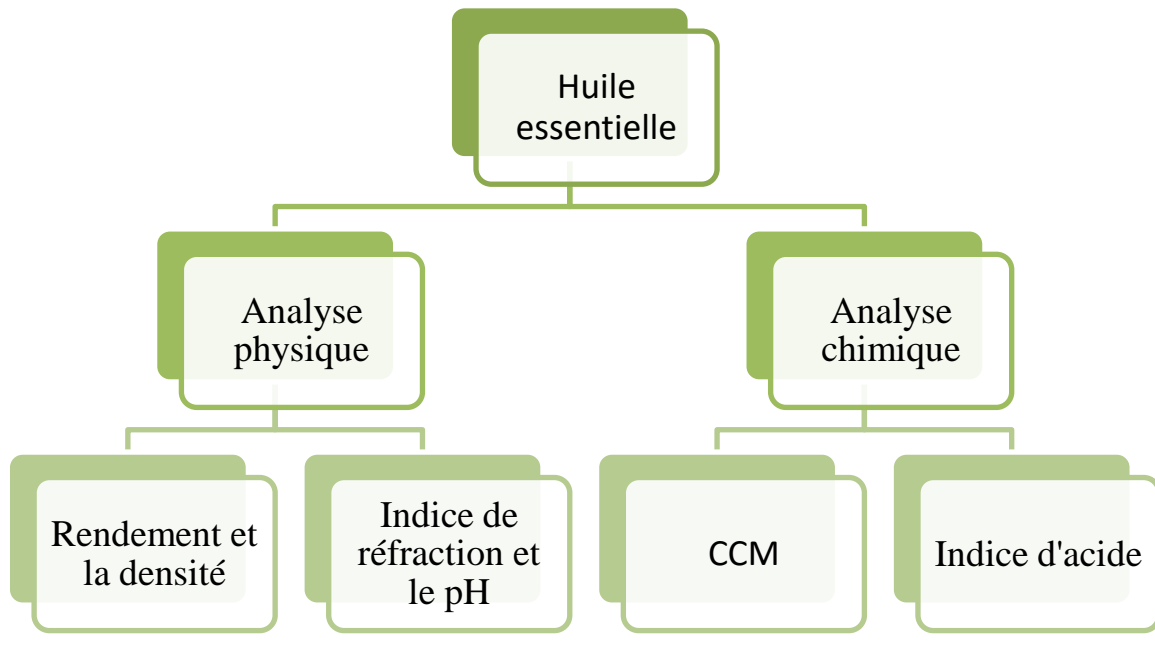
Constituants.

##### **I.4.1.1. Caractéristiques organoleptiques.**

Les Caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, gout) étaient autrefois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques [47].

##### **I.4.1.2. Caractéristiques physico-chimiques.**

Après l'obtention d'huile essentielle on doit étudiée leur caractéristique :



### ❖ Analyse physique.

#### 1) Détermination de pH.

pH l'abréviation de potentiel d'hydrogène mesure l'activité chimique des ions hydrogènes ( $H^+$ ) (appelés aussi couramment protons) en solution. Plus couramment il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre. La détermination de pH est effectuée par un papier pH, il suffit de déposer quelques gouttes de l'HE sur un côté de la bandelette et de comparer la couleur qui apparaît avec l'échelle de couleur qui se trouve au verso. Elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7[47].



Figure 23. Papier indicateur de pH.

### 2) La densité.

La densité est une grandeur physique qui caractérise le rapport de la masse volumique d'un liquide à celle de l'eau cependant, la mesure des densités de ces huiles a été effectuée par le moyen d'un densimètre[47]. La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C et son symbole  $d^{20}$ [11].

La densité est donnée par la formule ci-dessous:

$$d^{20} = \frac{m}{V}$$

Ou :

**m**: Masse d'huile.

**V**: volume d'huile.

#### Principe.

À l'aide d'une balance analytique, effectuer de pesées successives de volume égal d'huile et d'eau à la température de 20°C.

#### Mode opératoire.

Démarrer la balance et laisser le stabiliser en suite poser la seringue dans la balance et cliquer sur le bouton tare. Remplir la seringue d'huile jusqu'à 4 ml et le mettre dans la balance pour mesurer le poids, la masse de ce volume divisé sur le volume d'huile essentielle[11].

### 3) Le Rendement.

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après extraction (Me) et la masse de la matière végétale utilisée (Mv). Il est donné par la formule suivante[47]:

$$R\% = \frac{me}{mv} * 100$$

**R%**:Rendement en %.

**me** : Masse d'huile essentielle extrait.

**mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

#### 4) L'Indice de réfraction.

L'indice de réfraction d'une matière, est un nombre qui caractérise le pouvoir qu'acette matière, à ralentir et à dévier la lumière. L'indice de réfraction d'une matière est mesuré par un réfractomètre. L'indice de réfraction est donne par la formule suivante [11] :

$$I_{20} = I_t + 0,00045 (T - 20^{\circ}\text{C})$$

Où:

**I<sub>20</sub>**: indice à 20°C.

**I<sub>t</sub>**: indice à la température de chambre (ambiante).

**T**: température de mesure. L'étalon pour la réflectométrie servant à ajuster le réfractomètre est l'eau distillée avec un indice de réfraction de (1,333) à 20°C.

##### ○ Le réfractomètre.

Est un instrument optique servant à déterminer l'indice de réfraction d'une substance c'est-à-dire la mesure dans laquelle la lumière est déviée en traversant la substance. Il existe Plusieurs types de réfractomètre et le plus répandu c'est le réfractomètre d'Abbe[11].



Réfractomètre manuelle (d'Abbe) Réfractomètre électrique

**Figure 24.** Représentation des deux types de réfractomètre les plus connues.

➤ L'indice de réfraction ( $n_r$ ) est utilisé :

- Pour identifier une HE.
- Comme critère de pureté des HE.
- Pour vérifier la qualité de la distillation : une distillation trop rapide, à température trop élevée, trop lente abaisse l'indice de réfraction. L'indice de réfraction des HEs est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à  $20\text{ °C} = 1.3356$ .

### **Principe.**

Suivant le réfractomètre utilisé, soit mesurer directement l'angle de réfraction, soit observer la limite de réflexion totale.

### **mode opératoire.**

La mesure de l'indice de réfraction de notre HE a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre

Nous avons opéré comme suit :

- L'instrument est réglé à une température ambiante ( $20\text{ °C}$ ).
- Nettoyer les prismes et déposer quelques gouttes d'HE sur la surface de prisme.

- Fermer le couvercle du prisme, assurer que le film d'H.E ne contient pas de bulles d'air, puis pointer le réfractomètre en direction d'une source lumineuse.
- Déposer quelques gouttes d'huile à analyser dans la lame de réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié, et effectuer la lecture des résultats en prenant compte de la température.
- Quand il y a du liquide sur le prisme, le champ est divisé en une partie claire et une partiesombre. Le point auquel la ligne de démarcation entre ces deux parties traverse l'échelle verticale quidonne la mesure.
- Lire avec précision la valeur affichée.

### ❖ Analyse chimique.

#### 1. l'indice d'acide.

Le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 gramme d'HE. La neutralisation des acides libres se fait par une solution éthanoïque d'hydroxyde de potassium titrée. L'indice d'acide permet de vérifier la qualité d'une HE, notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage[9].L'indice d'acide est donc donné par la formule [47]:

$$I_a = N(\text{OH}) \cdot V \cdot 56.11/m$$

**N(OH)** : normalité d'hydroxyde de potassium.

**m** :masse d'HE prélevée en g.

**V** :volume de solution d'hydroxyde de potassium versée en ml.

**56,11g / mol** : masse moléculaire d'hydroxyde de potassium (KOH).

#### ✚ Principe.

L'indice d'acide des huiles essentielles revient à neutraliser les acides libres de celles-ci par l'hydroxyde de potassium (KOH)à chaud en présence de phénolphtaléine ces derniers se caractérisent par le virage de la couleur rose vers transparente.

### Mode opératoire.

Introduire 0.2 g de l'échantillon d'huile essentielle d'eucalyptus dans l'erenmeyerpropre et sec, ajouter 5 ml d'éthanol neutraliser avec la pipette et mettre 3 gouttes dephénolphtaléine puis neutraliser la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium (KOH) à l'aide de la burette quelques secondes. Si la couleur de la solution est variée on arrête le titrage[11].

## 2. Chromatographie analytique sur couche mince.

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinités des substances à analyser à l'égard de deux phases. La chromatographie sur couche mince (CCM) repose principalement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant [7].

Pour chaque spot on a calculé le facteur de rétention qui est égal à la distance parcourue par le constituant divisé par la distance parcourue par le solvant [7].

$$R_f = \frac{d}{D}$$

Ou :

**d** : Distance parcourue par le constituant.

**D** : Distance parcourue par le front du solvant.

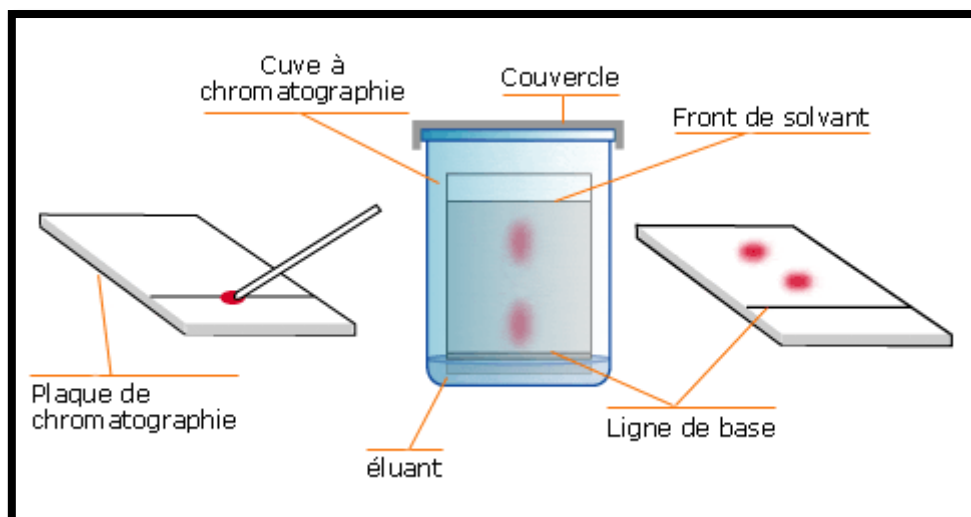


Figure 25. Dispositif de CCM.

### ✚ Méthode.

La plante pulvérisée en poudre (50g), subit une macération dans un mélange de solvants : MeOH / H<sub>2</sub>O ; 80/20 (v/v) pendant 24h, ce procédé est répété 2 fois. Les divers fractions récupérées sont réunies et évaporées sous pression réduite à une T 40 °C.

La phase aqueuse obtenue subit une extraction liquide-liquide dans une ampoule à décanter, on utilise le solvant Chloroforme (CHCl<sub>3</sub>). Après la séparation des deux phases. On utilise l'évaporateur pour éliminer le solvant utilisé. On obtient l'extrait de chloroforme et la phase aqueuse[11].

Nous avons procédé à des tests chromatographiques sur couche mince de gel de silice déposée sur une feuille d'Aluminium, la meilleure séparation obtenue était avec [11]:

**Système :** MeOH / Chloroforme (1 / 9, v/v).

**Révélation :** la visualisation de plaque est faite par la méthode Physiques (sous une lampe UV à 254 et 365nm).

### I.5. Etude biologique :

#### I.5.1. L'étude de l'activité anti bactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus.

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires [48].

## Chapitre III : Méthode et matériel

---

La première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 [49]. Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactérienne [14]. Les huiles essentielles ont un spectre d'action antibactérienne très large puisqu'inhibe bien la croissance des bactéries. Dans cette partie on a étudié l'activité antibactérienne d'HE de l'Eucalyptus globulus sur les deux souches bactérienne (Escherichia coli, Staphylococcus aureus) par la méthode de diffusion sur un milieu solide (gélose).

### ➤ Les Souches bactériennes utilisées :

#### **Escherichia coli.**

Cette bactérie est une bacille à Gram négatif appartient à la famille des Enterobacteriaceae Elle a été isolée pour la première fois par Escherich en 1885. Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire [11]. En industrie agroalimentaire, **E. coli** est particulièrement contrôlée. En effet, il est un bon indicateur de la contamination fécale d'un aliment lors de son processus de fabrication [50].

#### **Staphylococcus aureus.**

Cette bactérie est un cocci à Gram positif appartient à la famille des Micrococcaceae Elle a été identifiée de l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur en 1820. Les toxi-infections alimentaires à **S. aureus** sont en réalité des intoxications dues à l'ingestion d'aliments et responsable d'un très grand nombre d'infection chez l'homme et animale, le plus souvent impliqués dans les infections cutanées muqueuses et digestives [11].

### ➤ Méthode de diffusion sur gélose.

Afin de tester l'activité antimicrobienne de l'extrait d'Eucalyptus globulus, nous avons utilisé la méthode de l'antibiogramme par diffusion à partir de disques imprégnés d'HE (50 mg/ml, 75mg/ml, 100mg/ml) et un disque contient le diméthyle sulfoxyde (DMSO) comme témoin déposé au centre de chaque boîte. Les milieux coulés en boîte de Pétri sontensemencés par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne de  $10^6$  UFC/ml. Un volume correspondant à 10  $\mu$ L d'HE est déposé sur des disques de papier Wattman stériles de 6 mm de diamètre. En parallèle, des témoins sont utilisés afin de vérifier la croissance des différentes souches, cette opération est répétée 3 fois. Les boîtes de Pétri sont maintenues

## Chapitre III : Méthode et matériel

---

pendant 30 min à une température de 25-30 °C et sont incubées à 37°C/24 h. L'activité antibactérienne est appréciée par la mesure à l'aide d'une règle, des diamètres des zones claires (mm) qui se forment autour des disques [50].

### Procédé.

#### **i. Préparation des disques.**

On a utilisé le papier Wattman N°3 coupé en disques de 6 mm ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer les disques, une fois préparés, sont introduit dans une boîte de pétri (en verre) contenant 10ml d'eau distillée et placé dans l'autoclave pendant 20min à 120 °C (stérilisation des disques) [50].

#### **ii. Milieu de culture.**

La gélose Muller Hinton est préparée en dissolvant 19g de poudre de gélose dans 500ml d'eau distillée dans une erlene placées sur une agitateur plaque chauffante. La gélose dissolue est versée dans des flacons puis stérilisé dans l'autoclave à 120 °C pendant 20min, et enfin conservée dans le réfrigérateur à 4°C.

Avant l'utilisation la gélose Muller Hinton est fondu dans un bain marie à 95°C et coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4mm, les géloses sont pré- séchées avant l'emploi.

#### **iii. Préparation de l'inoculum.**

A partir d'une culture pure des bactéries sur milieu d'isolement (gélose nutritive) ayant au maximum 24h, on racle à l'aide d'une pipette pasteur scellée quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques [50].

Ensuite, on décharge la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologique stérile et on homogénéise la suspension bactérienne; son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Ferland qui correspond à  $10^8$  UFC/ml, puis diluer pour obtenir un inoculum à  $10^6$  UFC/ml [50].

### iv. Ensemencement.

Cette opération doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum. On trempe un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis on flotte l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée séché, de haut en bas, en stries serrées. L'opération doit se faire deux fois en tournant la boîte à  $60^\circ$  à chaque fois.

Après application immédiate des disques, les boîtes sont laissées pendant 15 mn à température ambiante [11].

On fait placer 2 disques sur chaque boîte pétri, une contienne *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* par une micropipette met sur chaque disque l'HE, puis on incube pendant 24h à l'étuve ( $37^\circ\text{C}$ ).

### v. La lecture.

Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle à l'extérieur de la boîte fermée [11].

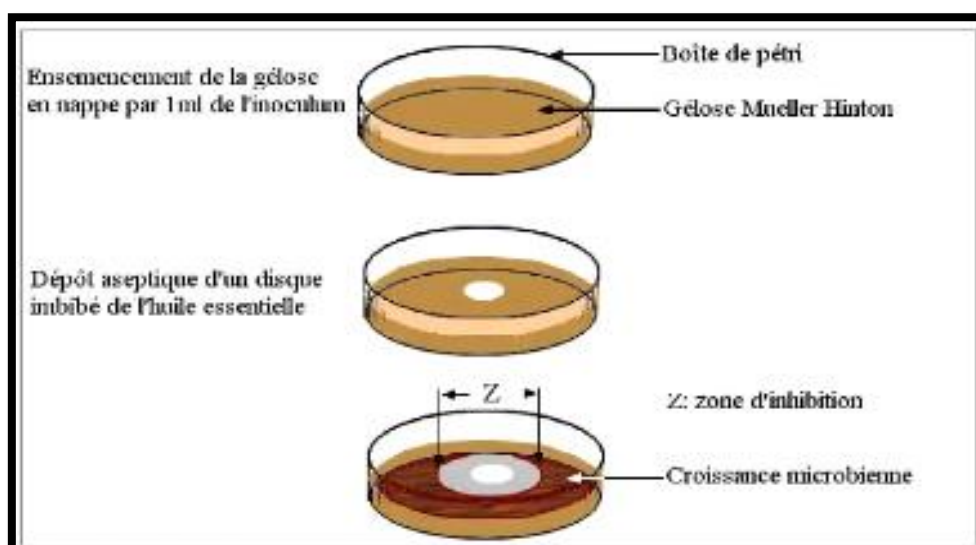
Si le diamètre des zones d'inhibition est [11]:

$d < 8$  : la bactérie résistante.

$8 < d < 14$  : la sensibilité est limitée.

$14 < d < 20$  : un peu sensible.

$d > 20$  : la bactérie très sensible.



**Figure 26.** Image représente la méthode de diffusion sur gélose.

# Chapitre IV :

## Résultat et discussion



### I. Résultat et discussion.

Nous avons basé dans ce chapitre sur l'interprétation des résultats des caractéristiques organoleptique et physicochimiques et l'étude de l'activité biologique (antibactérienne) de l'HE de l'Eucalyptus globulus afin de déterminer son rendement, les résultats des analyses physico-chimiques et l'évaluation de l'activité antibactérienne.

#### I.1. Etude analytique :

##### I.1.1. Caractéristique organoleptique.

Selon AFNOR (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau.

Les paramètres organoleptiques de notre huiles essentielles obtenues par l'hydro distillation nous avons voir leur aspect, la couleur, l'odeur sont résumé dans le tableau suivant :

**Tableau3.** Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus [51].

	Aspect	Couleur	Odeur
Norme AFNOR	Liquide limpide Fluide et mobile	Jaune très pâle à transparent	Fraiche et épicée
Notre huile	Liquide limpide	Jaune à jaune pâle	Fraiche et épicée

##### I.1.2. Caractéristique physicochimique.

###### ❖ Analyse physique :

###### 1) pH.

Dans notre travaille on utilise le pH mètre pour mesure le pH d'huile d'Eucalyptus. Et on trouve le pH dans température T=22°C est pH= 4,3[11].

###### 2) La densité.

La densité est calculée à l'aide de cette formule :

$$d^{20} = \frac{m}{V}$$

## Chapitre IV : Résultat et discussion

---

Masse d'huile :  $m = 0,81$  g  
Volume d'huile :  $V = 0,9$  ml

$$d^{20} = \frac{0,81}{0,9} = 0,9 \text{ g/ml}$$

La densité d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus est :  $d^{20} = 0,9$  g/ml à  $T = 20^\circ\text{C}$  [11].

### 3) Le rendement.

Les huiles essentielles ont été extraites des matériaux végétaux secs, le rendement en huile essentielle est variable en fonction de la plante utilisée, le matériel employé pour l'extraction et la méthode d'extraction, aussi bien l'origine de la plante [46].

Pour calculer le rendement on fait une extraction de 190 g des feuilles d'eucalyptus sèche avec 1.5 L d'eau dans l'alambic afin de l'extraction on obtient 0.81 g d'huile essentielle. On peut donc calculer le rendement à l'aide de la relation suivante [11]:

$$R\% = \frac{me}{mv} * 100$$

Masse d'huile essentielle extraite :  $me = 0,81$  g

Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction :  $mv = 190$  g

$$R\% = \frac{0,81}{190} = 0,43\%$$

Le rendement d'huile essentielle d'Eucalyptus globulus est : 0.43% [11].

### 4) Indice de réfraction.

L'indice de réfraction est utilisé pour identifier la qualité d'huile essentielle, comme critère de pureté d'huile essentielle il dépend de la composition chimique des huiles et de la température. On peut donc calculer l'indice de réfraction à l'aide de la relation suivante :

$$I_{20} = I_t + 0,00045 (T - 20^\circ\text{C})$$

Indice à la température de chambre :  $I_t = 1.356$

Température de mesure :  $T = 30^\circ\text{C}$

$$I_{20} = 1.356 + 0.00045 (30-20) = 1.401$$

L'indice de réfraction de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus est : 1.401 [51].

### ❖ Analyse chimique :

#### 1. Indice d'acide.

L'indice d'acide est un critère chimique de fraîcheur et de pureté d'huile essentielle. On peut donc calculé l'indice d'acide à l'aide de la relation suivante :

$$I_a = N(\text{OH}) \cdot V \cdot 56.11 / m$$

Normalité d'hydroxyde de potassium :  $N = 0.1$

Masse d'HE prélevée :  $m = 0.2\text{g}$

Volume de solution d'hydroxyde de potassium versée :  $V = 0.046\text{ L}$

Masse moléculaire du KOH :  $M(\text{KOH}) = 56.11\text{ g/mol}$

$$I_a = 0.1 \cdot 0.046 \cdot 56.11 / 0.2 = 1.3$$

L'indice d'acide de l'huile essentielle de l'Eucalyptus globulus est : 1.3 [11].

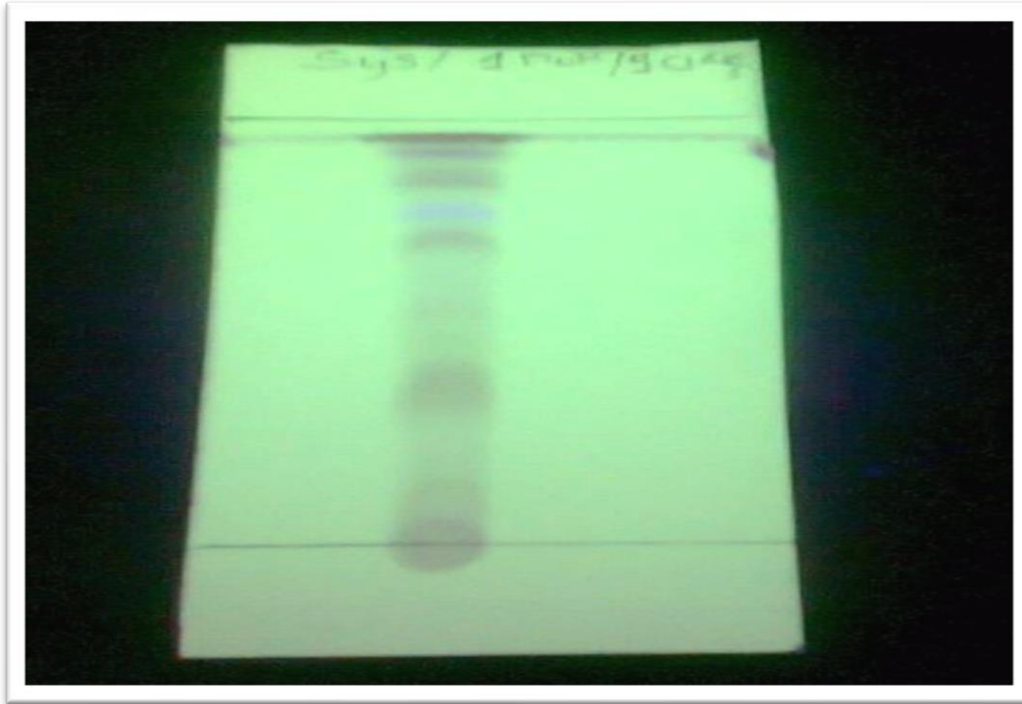
- Les résultats des indices physico chimiques de l'huile essentielle de l'Eucalyptus globulus extrait par l'hydro distillation sont résumés dans le tableau suivant sont déterminés selon un protocole précis à des normes édictées par l'association française de normalisation (AFNOR). On observe que toutes les valeurs sont interviennent a les valeurs définies selon AFNOR.

**Tableau 4.** Les résultats des paramètres physicochimiques d'HE de l'Eucalyptus globulus

Propriété	Valeur pratique	Référence AFNOR
pH	4,3	4-6
Densité	0,9	0,905-0,921
Indice de réfraction	1,401	1,460-1,476
Indice d'acide	1,3	0,84-3,74

#### 2. La chromatographie sur couche mince.

Les tests chromatographiques CCM de l'extrait chloroforme, Pour le système utilisé (MeOH / Chloroforme) de (1 / 9, v/v) à la longueur d'onde 254 et 365 nm, on a trouvé cinq taches. Les résultats de cette analyse sont montrés dans la figure suivante :



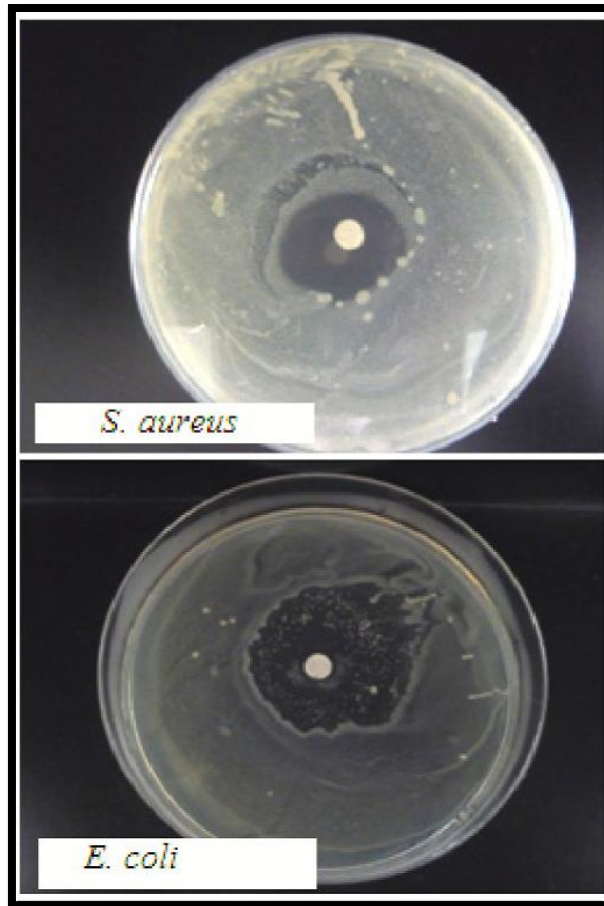
**Figure 27.** Résultats de test chromatographique sur plaque CCM [11].

D'après le chromatogramme on remarque plusieurs taches sur la plaque CCM avec des  $R_f$  et de couleur de spots différents.

### **I.2. Etude biologique :**

#### **I.2.1. L'évaluation de l'activité anti bactérienne.**

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de diffusion sur gélose est permet de mesurer les diamètres des zones d'inhibition. Nous avons testé l'activité anti bactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus vis-à-vis les deux souches bactérienne utilisées E.coli et Staphylococcus aureus on remarque que l'HE d'Eucalyptus globulus a exercé une activité inhibitrice vis-à-vis de les deux bactéries testées dans notre étude sachant que la zone d'inhibition de la souche E. coli est de 22 mm et l'autre souche sa zone d'inhibition est 20 mm.



**Figure 28.** Les résultats de l'activité antibactérienne sur les deux souches testées.

# **Conclusion générale**

## Conclusion Générale

---

### Conclusion.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. L'objectif de notre mémoire de fin d'étude consiste à faire une étude des propriétés organoleptiques (aspect, couleur, odeur), physicochimiques (indice d'acide, indice de réfraction, rendement, densité, pH) et biologique (activité antibactérienne) sur l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus obtenu par l'hydro distillation de la région de KHENCHELA.

A partir des résultats obtenus, nous pouvons résumer les conclusions issues de cette étude comme suit:

- ✚ L'obtention des huiles essentielles par hydro distillation reste une méthode simple et efficace moins coûteuse, et donne un rendement intéressant. Le calcul de rendement maximal en huile essentielle de notre plante étudié nous a révélé une valeur de (0.43%).
- ✚ L'évaluation des caractéristiques organoleptiques de notre huile étudiée présente un aspect liquide à température ambiante, de couleur jaune à jaune pâle et une odeur agréable intervient à sa composition.
- ✚ Les caractéristiques physicochimiques effectuées ont pu renseigner sur la qualité et la pureté de notre huile brute.

En effet, les résultats obtenus de ces analyses montrent que les valeurs de nos études de notre huile obtenue par hydro distillation sont conformes aux exigences des normes AFNOR.

- ✚ L'activité biologique (antibactérienne) de l'HE d'Eucalyptus globulus présente un pouvoir antibactérien qui est déterminée sur les deux souches bactériennes E.coli, staphylococcus aureus par la méthode de diffusion sur gélose. on remarque que l'huile essentielle a fortement inhibé les deux souches étudiées sont très sensibles lorsque sont occupée une bonne zone d'inhibitions supérieure à 20 mm.

Enfin, on peut dire que cette huile peut être employée dans plusieurs domaines.

# **Référence bibliographique**

- [1] : **S. Mahiddine. (2018).** Eco-extraction de l'espèce végétale foeniculum vulgare mill par hydrodistillation caractérisation systématique et modélisation paramétrique. Mémoire master. Université Annaba, P. 1
- [2] : **(2017).** Activité anti microbienne des huiles essentielles .Mémoire master. Université Bejaia, P.3
- [3] : **J. Bruneton. (1999).** Pharmacognosie Phytochimie plantes médicinales. Edition Lavoisier Technique & Documentation, 3ème Edition Paris, P. 485-555-1120
- [4] : **F. Toninoli . (2013).** Huiles essentielles L'encyclopédie. Edition JUDENA, P .168.
- [5] : **A. Beloued. (2009).** Plantes médicinales d'Algérie (5ème édition). Alger.
- [6] : **Annie, Perrier. J. (2014).** Guide des arbres et arbustes de France. Edition sud ouest, P.169.
- [7] : **D. Bentayeb, A. Boudiaf. (2016).** pouvoir alléopathe et biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus L et mentha spicata L. Mémoire master. Université Msila, P. 9. 31.32
- [8] : **FAO. (1982).** Les Eucalyptus dans les reboisements. Collection FAO: Forêts, P. 11- 753.
- [9] : **H. Belkou, F. Beyoud et Z. Taleb Bahmed . (2005).** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (Mentha spicata L.) dans la région de Ouargla. Mémoire des. Université Ouargla, P. 61.
- [10] : **Ghedirak, P. Goetz, le jeune r. (2012) .** Phytothérapie anti-infectieuse, springer verlag France. Paris. P.272.
- [11] : **M. Rabiai. (2014) .** Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus de la région M'SILA .Mémoire master. Université Msila, P.7.8.9.30.39.40.41.42.43.45.46.
- [12] : **J. Bruneton .(2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales (4ème Ed.) Techet doc/Lavoisier. Paris, P. 661-4-567
- [13] : **J.P. Durville. (1893) .** Fabrication des essences et des parfums : Extraction des essences et des parfums par distillation, par expression et par les dissolvants. J. Fritsch, Paris.
- [14] : **S. Burt . (2004) .** Essential Oils: their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods: a Review. Int J Food Microbiology 94, P. 223-253.
- [15] : **J. Bruneton . (1993) .** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec & Doc, Lavoisier. Paris, P. 915. 623

- [16] : **C. Bekhechi . D. Abdelouahid. (2014).** les huiles essentielles. Office des publications universitaires, P .55
- [17] : **C. Besombes. (2008).** Contribution a l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermo mécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle, P. 41-45.
- [18] : **CH. Benkhechi, A. Djamel. (2010).** « Les huiles essentielles », office des publications universitaire Algérienne, P.17.
- [19] : **D. Roux. (2008).** Conseil en aromathérapie. 2ème édition, Pro-Officinal
- [20] : **P. Franchomme, D. Penoel . (1990).** « l'aromathérapie (encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles), Edition Jollois, Limoges.
- [21] : **F. Bakkali , S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar .(2008) .** Biological effects of essential oils. Rev: Food. Chem.Toxicol. 46, P.446–475.
- [22] : **J. Bruneton .(2008).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 2ème Edition, Tec &Doc, Lavoisier Paris, P. 1188.
- [23] : **I. Guerg, M. Aziz. (1995).** « Contribution à l'étude et à l'analyse d'huile essentielle de clous de girofle » MFE, DEUA (USTHB).
- [24] : **Galisto cravet. (1992).** « Les essences extraction, caractère et emplois » Edition DUNOD.
- [25] : **A. Zhiri, D. Baudoux. (2016).** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Development, P.21
- [26] : **F. Padrini, M.T .Lucheroni. (1996).** « Le grand livre des huiles essentielles », Edition Vecchi, NewYork.
- [27] : **A.C. Degryse, I. Delpla et M.A. Voinier . (2008).** Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles .Atelier santé et environnement-IGS-EHESP, P.9
- [28] : **M.Hammouchi. (1999).** « Les plantes médicinales et aromatiques marocaines » Edition FEDALA,Mohammedia.
- [29] : **F. Mayer. (2012).** « Utilisation thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite ». Thèse de doctorat. Lorraine.
- [30] : **S. Djeroum, S. Meddouri. (2012).** Mémoire de fin de cycle Master 2 Sciences Alimentaires « Huile essentielle et extrait éthanolique de thymus munbyanus B. & R : étude de la composition chimique et de l'activité antioxydant ». Université d'A. Mira Bejaia, P. 4.
- [31] : **H. Richard et A. Loos. (1992) .** Nature, Origine et Propriétés des Epices et des Aromates Bruts: in RICHARD H., Aromates &épices, Tec. &Doc. Lavoisier, Paris, P. 17-69

- [32] : **O.L.R. Hernandez. (2005).** « Substitution de solvants et matières actives de synthèses par une combine solvant/actif d'origine végétale ». Thèse de doctorat Toulouse, N. 18.
- [33] : **Kurita Koike. (1982).** Systematic antimicrobial effect of sodium chloride and essential oils components. Agric. Biol. Chem, P .46-159-165.
- [34] : **LC. Véronique. (2001)** . « Toxicité des huiles essentielles ». Thèse doctorat Université de Toulouse , N 04.
- [35] : **F. Dayan, C.L. Cantrell et S.O. Duke. (2009)** . Natural products in crop protection. Bioorganic & medicinal chemistry, 17(12), 4022-4034.
- [36] : **S. Nedjai, I. Nedjai . (2017).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles, P. 12.
- [37] : **N. Nait Said . (2007).** Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes Pituranthos chloranusthus et Marrubium vulgare. Mémoire de magister à l'université de Batna.
- [38] : **M.C. Pibiri. (2006)** .Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat .polytechnique fédérale de Lausanne.
- [39] : **R. Labiod. (2016).** Valorisation des huiles essentielles et des extraits de Sature jacalaminthanepeta : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Université Annaba
- [40] : **M.E. Lucchesi . (2005)** . Extraction Sans Solvant Assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doctorat. Université de la Reunion. France
- [41] : **T. Silou, M. Malanda, L. Loubaki. (2004).** Optimisation de l'extraction de huile essentielle de cymbopogon citratus grâce à un plan factoriel complet 23.Journal of food engineering.
- [42] : **M.A. Ferhat, B.Y. Meklati et F. Chemat . (2007).** Comparaison of different isolation methods od essential oil from citrus fruits : cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. Flavour Fragr
- [43] : **J.M. Lardry et V. Haberkorn. (2007).** Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation, Kinesitherapy Reviews 61, P. 18-23.
- [44] : **J. Arkins. (2008).** Principes de chimie, DEBOCK.
- [45] : **M. Caude et A. Jardy . (1996).** Méthodes chromatographiques. Dossier P1445. Base documentaire : Techniques d'analyse. vol ; papier TA2.

[46] : **S. Chibah, F. Djouaher. (2018).** Activité antibactérienne, anti oxydantes et anti insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire master . Université Ain Defla, P.33.48

[47] : **N. Kiouas, A. Naili. (2019).** Contribution à l'étude de l'influence de la durée de stockage sur quelques caractéristiques physico chimiques d'une huile essentielle P.31.32.34.53

[48] : **M. Lahlou. (2004).** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phyto therapy Reseach, 18, P. 435-448.

[49] : **W. Boyle. (1955) .** Am. Perfumer Essent. Oil Rev. 66, P. 25.28

[50] : **Z. Bey ouled si said. (2013).** Activité biologique des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus, P.38.43.

[51] : **K. KARA et S. SAIDI. (2016).** Contribution à l'étude comparative du rendement et des composés chimiques de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus L entre les feuilles âgées et les feuilles jeunes de la forêt de Harouza (Commune de Tizi-Ouzou), P. 50.38

## Résumé

*Eucalyptus globulus* est une plante médicinale et aromatique appartient à la famille des Myrtacées très connue pour ses vertus thérapeutiques et assainissantes. Notre travail a pour le but de mettre l'évaluation et l'étude des caractéristiques organoleptiques, physicochimiques et biologiques.

L'extraction d'HE a été réalisée par l'hydro distillation on utilisant les feuilles séchées de notre plante. D'après les résultats obtenus on constate que : le rendement de l'huile essentielle extraite a partir des feuilles est de 0.43% qui est très acceptable par rapport a d'autre huile, Les résultats des analyses organoleptiques et physicochimiques (pH, densité, indice de réfraction, indice d'acide) d'huiles essentielle sont conformes à la norme (AFNOR), L'activité antibactérienne a été déterminé vis-à-vis deux souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ) par la méthode de diffusion sur gélose. Cette activité a révélé un effet inhibiteur d'huiles essentielles vis-à-vis de toutes les bactéries testées.

Tous ces résultats mettent en valeur les différentes applications thérapeutiques de cette plante dans la médecine traditionnelle et encourage la recherche de nouvelles molécules naturelles à plusieurs caractères dont le but de les investir dans les différentes industries : pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires... etc.

**Mots clés :** *Eucalyptus*, myrtacées, huile essentielle, hydro distillation, pH, densité, indice d'acide, indice de réfraction, AFNOR, activité antibactérienne, activité biologique, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

## Abstract

*Eucalyptus globulus* is a medicinal and aromatic plant belonging to the Myrtaceae family, well known for its therapeutic and sanitizing properties. Our work aims to assess and study the organoleptic, physicochemical and biological characteristics.

EO extraction was carried out by hydro distillation using the dried leaves of our plant. From the results obtained it can be seen that: the yield of the essential oil extracted from the leaves is 0.43% which is very acceptable compared to other oil, The results of organoleptic and physicochemical analyzes (pH, density, refractive index, acid index) of essential oils comply with the standard (AFNOR), The antibacterial activity was determined vis-à-vis two bacterial strains tested (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) by the diffusion method on agar. This activity revealed an essential oil inhibitory effect against all the bacteria tested.

All these results highlight the different therapeutic applications of this plant in traditional medicine and encourage research into new natural molecules with several characteristics, the aim of which is to invest them in different industries: pharmaceuticals, cosmetics, food, etc.

**Key words:** Eucalyptus, myrtaceae, essential oil, hydro distillation, pH, density, acid index, refractive index, AFNOR, antibacterial activity, biological activity, Staphylococcus aureus, Escherichia coli.

### ملخص

نبات الكينا الكروي هو نبات طبي وعطري ينتمي إلى عائلة Myrtaceae، والمعروف جيدًا بخصائصه العلاجية والمطهرة. يهدف عملنا إلى تقييم ودراسة الخصائص الحسية والفيزيائية، الكيميائية والبيولوجية. تم استخراج EO عن طريق التقطير المائي باستخدام الأوراق المجففة لنباتنا. من النتائج التي تم الحصول عليها يتضح أن: عائد الزيت العطري المستخرج من الأوراق هو 0.43% وهو مقبول جدًا مقارنة بالزيت الآخر، نتائج التحليلات الحسية والفيزيائية الكيميائية (درجة الحموضة، الكثافة، معامل الانكسار، مؤشر الحمض) للزيوت العطرية المطابقة للمواصفة (AFNOR)، تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا مقابل سلالتين من البكتيريا المختبرة (Staphylococcus aureus، Escherichia coli) بواسطة طريقة الانتشار على أجار. أظهر هذا النشاط تأثيرًا مثبطًا للزيوت العطرية ضد جميع البكتيريا المختبرة.

كل هذه النتائج تسلط الضوء على التطبيقات العلاجية المختلفة لهذا النبات في الطب التقليدي وتشجع البحث في جزيئات طبيعية جديدة ذات خصائص متعددة، والهدف منها استثمارها في صناعات مختلفة: الأدوية، مستحضرات التجميل، الغذاء، إلخ.

**الكلمات المفتاحية:** الأوكالبتوس، الأس، الزيت العطري، التقطير المائي، الرقم الهيدروجيني، الكثافة، مؤشر الحمض، معامل الانكسار، AFNOR، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط البيولوجي، المكورات العنقودية الذهبية، الإشريشية القولونية.