



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem**  
**Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie**  
**Département de Biotechnologie**

**UNIVERSITÉ**  
**Abdelhamid Ibn Badis**  
**MOSTAGANEM**

# Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

## MASTER EN BIOTECHNOLOGIE

**Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes**

Par  
**TABHIR Abdelmadjid**  
**&**  
**BELACEL Hafidh**

Thème :

# Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* pour des usages cosmécuteutiques

Soutenue le 23/06/2024 devant le jury composé de :

<b>Président</b>	<b>HAMMADI Kheira</b>	<b>Pr</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>BELARBI Amaria</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>
<b>Examineur</b>	<b>BERGHEUL Saïda</b>	<b>MCA</b>	<b>Université de Mostaganem</b>

**Année Universitaire : 2023/2024**

## *Remerciements*

Avant tout, nous remercions ALLAH le tout puissant, de nous avoir données le courage, la force, la santé et la persistance pour achever ce travail.

Tout d'abord, nous tenons particulièrement à remercier notre encadrante **Dr BELARBI Amaria**, Maître de Conférences à l'Université de Mostaganem, qui a accepté de nous encadrer et nous a orienté dans ce travail.

Nous remercions **Pr HAMMADI Kheira**, Professeur à l'Université de Mostaganem, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider ce jury.

Nous remercions également **Dr BERGHEUL Saida**, Maître de Conférences à l'Université de Mostaganem, qui nous a fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.

Un grand merci à Madame **BEDDIAF Mokhtaria** et **HAMMOU Amouria**, Ingénieurs de laboratoire de Biochimie 02 à l'Université de Mostaganem, pour leurs efforts, leur soutien et leurs conseils inestimables.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont pris part, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail. De plus, nous voulons remercier tous ceux qui nous ont initiés aux valeurs authentiques de la vie humaine, en signe de profond respect.

## إهداء

قال تعالى " يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ "

### المجادلة 11

اهدي تخرجي هذا إلى من كان دعائها سر نجاحي إلى رمز الحب وبلسم الشفاء بالحياة إلى أعلى وأحن وأجمل ما أملك بالكون أُمي " خديجة بن عبد الله " الغالية حفظها الله وأدامها لنا إلى أبي... " أحمد تبخير " هو الأول في كل شيء حتى بعد رحيله لا زال يسكن المكان ولا زالت تفاصيله تعبرني كل ليلة... مال كل شيء وظلت روح أبي ثابتة تسندني.

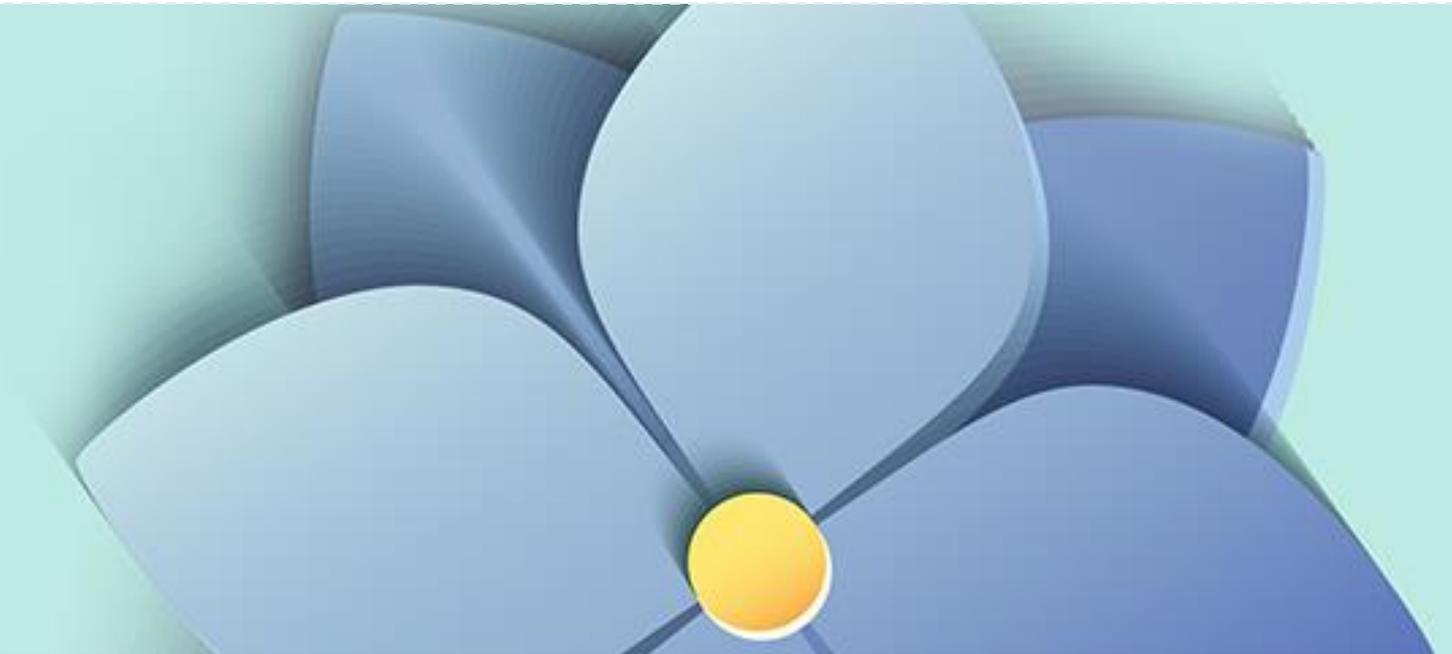
اللهم اغفر له وارحمه واسكنه فسيح جناتك

وإلى رياحين حياتي وسر سعادتي أخوتي سندي " مبارك. مبروك. مسعودة. كنزة. عائشة. محمد البشير. يونس " وإلى الذين أحببتهم وأحبوني أصدقائي ولكل من تمنى لي الخير دائماً، وإلى كل من ساهم في وصولي إلى هذا المستوى أساتذتي الأعزاء

"الحمد لله على ماتبقى، وعلى ما أتى، وعلى ما هو قادم، الحمد لله دائماً وأبداً

إرتفع لترى لا لتر

عبد المجيد تبخير



## **Dédicaces**

**Je voudrais dédier et remercier Mes Parent  
(Belacel ben Ali, Azza khaira) mes frères qui m'ont  
toujours encouragé et soutenu dès le début de  
réalisation de mon travail. L'achèvement de cette  
étude n'aurait pas été possible sans leur amour  
inconditionnel, leur soutien et leur patience.**

**Que Dieu vous garde pour moi !**

**Hafidh belacel**

## Résumé

Les huiles essentielles de la plante aromatique (*Eucalyptus globulus*) provenant de la région de Sidi M'hamed Ben Ali (wilaya de Relizane), a fait l'objet de notre travail. L'extraction des huiles essentielles à partir de 920g des feuilles d'*Eucalyptus globulus* par l'entraînement à la vapeur a donné un rendement de 0,43%.

Le criblage phytochimique a identifié une diversité de substances bioactives. L'analyse des alcaloïdes et des flavonoïdes par chromatographie sur couche mince a révélé un nombre important de spots, suggérant une abondance notable de ces composés métaboliques secondaires. L'évaluation par piégeage du radical DPPH a démontré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une activité antioxydante significative, avec un IC50 de 89 mg/ml.

Le pouvoir antibactérien de ces huiles a été évalué sur cinq souches bactériennes *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*. Les résultats obtenus, ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes étudiées avec les différentes concentrations : 100mg, 50mg, 25mg, 12.5mg et 6.25mg.

L'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* a été intégrée dans la fabrication de cosmétiques biologiques (savon et crème), afin de bénéficier de ses propriétés biologiques.

**Mots Clés :** *Eucalyptus globulus* ; Huile essentielle ; Composés phénoliques ; Activité antioxydante ; Activité antibactérienne.

## Abstract

The essential oils from the aromatic plant *Eucalyptus globulus* originating from the Sidi M'hamed Ben Ali region (Relizane province) were the focus of our study. Extraction of essential oils from 920g of *Eucalyptus globulus* leaves using steam distillation yielded 0.43%.

Phytochemical screening identified a diversity of bioactive substances. Thin-layer chromatography analysis of alkaloids and flavonoids revealed a significant number of spots, indicating a notable abundance of these secondary metabolites. Evaluation using DPPH radical scavenging assay demonstrated that *Eucalyptus globulus* essential oil possesses significant antioxidant activity, with an IC<sub>50</sub> of 89 mg/ml.

The antibacterial efficacy of these oils was assessed against five bacterial strains: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus cereus*. The results showed antibacterial effects against all tested bacterial strains at various concentrations: 100 mg, 50 mg, 25 mg, 12.5 mg, and 6.25 mg.

The essential oil from *Eucalyptus globulus* leaves was incorporated into the production of organic cosmetics (soap and cream) to leverage its biological properties.

**Keywords:** *Eucalyptus globulus* ; Essential oil ; Phenolic compounds ; Antioxidant activity ; Antibacterial activity.

## الملخص

الزيوت الأساسية للنبات العطري (*Eucalyptus globulus*) المأخوذة من منطقة سيدي محمد بن علي (ولاية غليزان) كانت موضوع دراستنا. تم استخلاص زيوت الأساس من 920 غرام من أوراق أوكالبيتوس جلوبولوس باستخدام التقطير بالبخار مما أسفر عن نسبة استرداد بنسبة 0.43%.

أظهر الفحص النباتي تنوعاً في المواد الحيوية النشطة. أظهر تحليل القلويدات والفلافونويدات بواسطة الكروماتوغرافيا الطبقيّة الرقيقة عدداً كبيراً من النقاط، مما يشير إلى وفرة ملحوظة من هذه المركبات الثانوية الأيضية. أظهر التقييم باستخدام اختبار امتصاص الراديكال DPPH أن زيت أوكالبيتوس جلوبولوس الأساسي يمتلك نشاطاً مضاداً للأكسدة ملحوظاً، مع قيمة IC50 تبلغ 89 ملغ/مل.

تم تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا لهذه الزيوت ضد خمسة سلالات بكتيرية: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* و *Bacillus cereus*. أظهرت النتائج تأثيرات مضادة للبكتيريا ضد جميع السلالات البكتيرية المختبرة بتركيز متفاوتة: 100 ملغ، 50 ملغ، 25 ملغ، 12.5 ملغ، و 6.25 ملغ.

تم دمج الزيوت الأساسية لأوراق *Eucalyptus globulus* في إنتاج مستحضرات التجميل العضوية (الصابون والكريم) للاستفادة من خصائصها البيولوجية.

**الكلمات المفتاحية :** *Eucalyptus globulus* ؛ الزيت الأساسي ؛ مركبات فينولية ؛ نشاط مضاد للأكسدة ؛ نشاط مضاد للبكتيريا.

# Table des matières

Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Abstract	
الملخص	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

## PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

### Chapitre I. Généralités sur *Eucalyptus globulus*

1. Généralités.....	03
2. Taxonomies et Systématiques.....	03
3. Nomenclature.....	04
4. Répartition géographique.....	04
4.1. Dans le monde.....	04
4.2. En Algérie.....	04
5. Description botanique.....	05
6. Structure reproductive.....	06
7. Principales substances bioactives d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	07
8. Activités biologiques d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	07
8.1. Activité antioxydante.....	07
8.2. Activité antibactérienne.....	08
8.3. Activité antifongique.....	09
9. Utilisation et domaines d'applications.....	09
10. Toxicité d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	10

### Chapitre II. Huiles essentielles

1. Historique.....	11
2. Définition.....	11
3. Propriété physico-chimique.....	12
4. Répartition et localisation.....	12
4.1. Répartition.....	12
4.2. Localisation.....	12
5. Composition chimique.....	13
5.1. Composés terpéniques.....	13
5.2. Composés aromatiques.....	14
5.3. Composés alyphatiques.....	15
5.4. Composés d'origines diverses.....	15
6. Techniques d'extraction.....	15
6.1. Hydrodistillation.....	16
6.2. Distillation par entrainement à la vapeur d'eau.....	17
6.3. Hydrodiffusion.....	17
6.4. Extraction assistée par micro-onde.....	18
6.5. Extraction par les solvants.....	18
6.6. Extraction par du CO <sub>2</sub> supercritique.....	18
6.7. Expression à froid.....	18
6.8. Extraction par les ultrasons.....	18
6.9. Extraction par enfleurage.....	20

7. Activités biologiques des huiles essentielles.....	21
7.1. Activité antioxydante.....	21
7.2. Activité antibactérienne.....	21
7.3. Activité antifongique.....	22
8. Facteur influençant la composition chimique d'HE.....	22
9. Domaine d'application des huiles essentielles.....	23
10. Conservation des huiles essentielles.....	24
11. Toxicité des huiles essentielles.....	24

## DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

### Chapitre I : Matériels et Méthodes

1. Objectif .....	25
2. Matériel végétal.....	25
3. Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiens.....	26
4. Matériels et produits de laboratoire.....	26
5. Extraction des huiles essentielles.....	26
5.1. Mode opératoire.....	26
5.1.1. Calcul du rendement.....	27
5.2.2. Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle.....	28
5.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	29
5.2.2.2. Indice d'acide.....	30
5.2.2.3. Détermination du pH.....	31
6.1. Analyse qualitative des huile essentielle.....	31
6.1. Screening phytochimique.....	31
6.1.1. Caractérisation des Flavonoïde.....	31
6.1.3. Caractérisation des Tannins.....	32
6.1.4. Chromatographie sur couche mince (CCM).....	32
6.2. Analyse quantitative des huile essentielle.....	32
6.2.1. Dosage des composés phénoliques.....	32
6.2.2. Dosage des flavonoïdes.....	33
7. Evaluation des activités biologiques .....	33
7.1. Activité antioxydante.....	33
7.1.1. Effet Scavenger du radical DPPH.....	33
7.2. Activité antimicrobienne .....	36
7.2.1. Préparation et Choix des milieux de culture .....	36
7.2.1.1. Préparation du milieu de culture.....	36
7.2.1.2. Stérilisation du matériel .....	36
7.2.1.3 préparations des dilutions.....	36
7.2.1.4. Préparation de l'inoculum.....	37
7.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	37
7.2.2.1. Préparation des disques.....	37
7.2.2.2. Ensemencement et dépôt des disques.....	38
8. Essai de fabrication des produits biocosmétiques.....	40
8.1. Réalisation d'un savon bio.....	40
8.2. Réalisation d'une crème.....	42
<b>Chapitre II : Résultat et Discussions</b>	
1. Détermination durendement en huile essentielle.....	45
2. Caractérisation de l'huile essentielle.....	45
2.1. Caractéristiques organoleptiques.....	45
2.2. Caractérisation physico-chimique de l'HE.....	46
2.2.1. Chromatographie sur une couche mince.....	47
2.2.3. Indice d'acide.....	

<b>2.2.4. pH</b> .....	<b>48</b>
<b>2.2. Analyse quantitative de l'huile essentielle</b> .....	<b>48</b>
<b>2.2.1. Screening phytochimique</b> .....	<b>48</b>
<b>2.3. Analyse quantitative de l'huile essentielle</b> .....	<b>48</b>
<b>2.3.1. Dosage des polyphénols</b> .....	<b>50</b>
<b>2.4.1 Dosage des Flavonoïdes</b> .....	<b>50</b>
<b>3. Analyse de l'activité biologique</b> .....	<b>51</b>
<b>3.1. Activité antioxydante</b> .....	<b>52</b>
<b>3.1.1. Effet scavenger du radical DPPH</b> .....	<b>52</b>
<b>3.2. Activité antibactérienne</b> .....	<b>53</b>
<b>5. Essai de fabrication des produits biocosmétiques</b> .....	<b>57</b>
<b>5.1. Savon bio</b> .....	<b>57</b>
<b>5.2. Crème</b> .....	<b>57</b>
Conclusion Générale.....	<b>59</b>
Références Bibliographiques.....	<b>60</b>

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>Tableau 01</b>	Classification taxonomique de l' <i>Eucalyptus globulus</i> est se suivant selon	<b>2</b>
<b>Tableau 02</b>	Nom commun <i>Eucalyptus globulus</i>	<b>4</b>
<b>Tableau 03 :</b>	Répartition géographique de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en Algérie	<b>5</b>
<b>Tableau 04</b>	Références des souches bactériennes utilisées dans notre étude.	<b>26</b>
<b>Tableau 05</b>	Produits chimiques et appareils utilisés dans notre étude.	<b>26</b>
<b>Tableau 06</b>	Différentes concentrations utilisées pour préparation des dilutions.	<b>37</b>
<b>Tableau 07</b>	Produits de savon utilisés.	<b>41</b>
<b>Tableau 08</b>	Caractéristique organoleptiques de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	<b>45</b>
<b>Tableau 09</b>	Résultat de la CCM.	<b>46</b>
<b>Tableau 10</b>	Résultats des tests préliminaires pour certains métabolites secondaires de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	<b>48</b>
<b>Tableau 11</b>	Valeurs des IC50 d'HE des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	<b>53</b>
<b>Tableau 12</b>	Diamètres des zone d'inhibition de différentes dilutions d'HE huiles essentielles des feuilles d' <i>E. globulus</i> .	<b>54</b>
<b>Tableau 13</b>	Zones d'inhibition d'HE des Feuilles d' <i>E. globulus</i> sur <i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. cereus</i> , <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i> .	<b>55</b>
<b>Tableau 14</b>	Potentiel hydrogéné (pH) pour certains types du savon.	<b>58</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01</b>	Feuilles et fleurs d' <i>E. globulus</i> (Cerasoli, 2016).	<b>5</b>
<b>Figure 02</b>	Fruits et graines	<b>6</b>
<b>Figure 03</b>	Fleurs et fruits d' <i>Eucalyptus globulus</i>	<b>6</b>
<b>Figure 04</b>	Structure chimique de l'eucalyptol	<b>7</b>
<b>Figure 05</b>	Courbe dose-réponse de l'évolution de l'espèce <i>Aspergillus</i> après traitement avec de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> et avec du 1,8-cinéole	<b>8</b>
<b>Figure 06</b>	Exemples de Structure chimique de terpènes	<b>13</b>
<b>Figure 07</b>	Exemples de composés aromatiques	<b>14</b>
<b>Figure 08</b>	Modes d'extraction d'huiles essentielles	<b>15</b>
<b>Figure 09</b>	Montage de l'hydro-distillation	<b>16</b>
<b>Figure 10</b>	Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau	<b>17</b>
<b>Figure 11</b>	Schéma du procédé d'hydro diffusion	<b>17</b>
<b>Figure 12</b>	Schéma du procédé d'extraction d'HE par microondes	<b>18</b>
<b>Figure 13</b>	Extraction par ultrasons	<b>20</b>
<b>Figure 14</b>	Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	<b>25</b>
<b>Figure 15</b>	Appareil d'entraînement à la vapeur d'eau	<b>17</b>
<b>Figure 16</b>	Rendement d'HE	<b>28</b>
<b>Figure 17</b>	Plaque CCM.	<b>29</b>
<b>Figure 18</b>	Protocole d'Indice d'acide.	<b>30</b>
<b>Figure 19</b>	Papier indicateur du pH	<b>31</b>
<b>Figure 20</b>	Réaction de test DPPH pour déterminer l'activité antioxydant	<b>34</b>
<b>Figure 21</b>	Absorbance de la solution de DPPH.	<b>35</b>
<b>Figure 22</b>	Protocole de l'activité antioxydante	<b>35</b>
<b>Figure 23</b>	Différentes dilutions des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> par DMSO.	<b>37</b>
<b>Figure 24</b>	Souches bactériennes étudiées	<b>38</b>
<b>Figure 25</b>	Disques stériles	<b>42</b>
<b>Figure 26</b>	Ecouvillons stérile	<b>43</b>
<b>Figure 27</b>	Savon dans le moule.	<b>42</b>
<b>Figure 28</b>	Crème dermique préparée	<b>43</b>
<b>Figure 29</b>	Huile essentielle des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	<b>45</b>

<b>Figure 30</b>	Résultat du test de CCM.	<b>46</b>
<b>Figure 31</b>	Résultat de l'Indice d'acide	<b>47</b>
<b>Figure 32</b>	Résultat de pH	<b>48</b>
<b>Figure 33</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	<b>50</b>
<b>Figure 34</b>	Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g HE.	<b>51</b>
<b>Figure 35</b>	Courbe d'étalonnage de la Quercétine	<b>51</b>
<b>Figure 36:</b>	Teneur des flavonoïdes en mg EQ/g MS	<b>52</b>
<b>Figure 37</b>	Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d' <i>Eucalyptu sglobulus</i> .	<b>52</b>
<b>Figure 38</b>	Savon après fabrication.	<b>57</b>
<b>Figure 39</b>	Crème dermique après fabrication.	<b>57</b>

## Liste des abréviations

**h**: heures

**mm** : millimètre

**cm** : centimètres

**ml**: millilitre

**mg** : milligramme

**R(%)**: rendement exprimé n %

**%**: pourcentage

**±** : Plus ou moins

**C** : concentration

**Km** : kilomètre

**SM**: Spectre de masse

**HE** : l'huile essentielle

HEs: Huile essentielle

UFC: Unité Formant Colonie.

ZI: Zone d'Inhibition.

L'*Eucalyptus* appartient à la famille des *Myrtacées*, originaire d'Australie. Il a été introduit en Algérie en 1854 par Ramel, où il est maintenant largement distribué (**Harkat-Madouri, et al., 2015**). En Algérie, l'*Eucalyptus* occupe une surface de 39.000 ha en 1995 (**Jacovelli, 2002**) et l'espèce *E. globulus* est l'une des espèces les plus répandues (**Aït youssef, 2006**). Ses feuilles sont employées traditionnellement comme remède tonique sous forme d'infusion pour traiter la grippe saisonnière, les infections des voies respiratoires, les diarrhées, les fièvres, les douleurs dentaires, les engelures et autres complications (**Aït youssef, 2006; Kim et al., 2001**).

Les propriétés pharmacologiques d'*Eucalyptus* sont liées essentiellement à sa composition en diverses classes de métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles, les tannins et les flavonoïdes (**Vankar et al., 2006**). Les huiles essentielles d'*E. globulus* contiennent plus de 20 composés avec une prévalence de 1,8-Cineole (**Harkat-Madouri, et al., 2015**). Elles sont largement utilisées dans le monde entier, l'utilisation de ces produits chimiques comme matières premières dans la production d'aliments, de médicaments et de cosmétiques a considérablement augmenté (**Fabiyi et Olatunji, 2020**). Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatiles issus du métabolisme secondaire des plantes. Elles sont dotées de plusieurs activités biologiques à savoir antivirale, anti-inflammatoire, antioxydante et anti bactérienne (**Oussou et al., 2010**).

L'huile essentielle de feuilles d'*Eucalyptus globulus* peut être utilisée pour traiter une variété de maux. Cet ingrédient peut être utilisé dans les produits de soins dentaires en raison de ses propriétés anti-inflammatoires et antifongiques, ainsi que de ses actions insecticides et acaricides (**Vigo et al., 2004**), l'utilisation répandue de l'huile essentielle de plantes médicinales comme arômes alimentaires et de boissons, parfums médicinaux et autres agents odorants atteste de la polyvalence de leur arôme distribué dans le monde entier (**Clark, 1996**). Les huiles essentielles et les plantes aromatiques sont connues pour leurs multiples utilisations dans la saveur et le parfum, comme conservateurs et comme antimicrobiens, en raison de l'effet toxicologique des produits synthétiques, des efforts renouvelés ont été fournis en ce qui concerne l'utilisation des huiles essentielles comme antioxydants naturels et agents de conservation dans la transformation des aliments, la production de compléments alimentaires et l'industrie pharmaceutique (**Harkat-Madouri et al., 2015**).

A l'heure actuelle, plusieurs travaux ont envisagé l'utilisation de ces composés bioactifs comme alternatives aux multiples substances synthétiques. En effet, la résistance croissante des bactéries aux antibiotiques considérés comme la solution quasi universelle aux infections, est à l'origine de l'engouement suscité pour les plantes aromatiques qui sont capables d'offrir des soins plus efficaces et moins agressifs pour l'organisme (**Dorman et al., 2000**). En outre, la limitation de l'utilisation d'antioxydants synthétiques et l'intérêt accru pour les antioxydants naturels non toxiques

ont donné lieu à de nombreuses études sur le potentiel antioxydant des huiles essentielles (**Harkat-Madouri et al., 2015**).

L'huile essentielle de diverses espèces d'*Eucalyptus* se caractérise par des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes et est souvent utilisée dans l'industrie pharmaceutique ainsi que dans l'industrie cosmétique. De nombreuses études indiquent de bonnes propriétés antimicrobiennes et peuvent également inhiber la croissance d'un large éventail de micro-organismes (**Almas et al., 2021**).

Le but de cette étude consiste non seulement à renforcer les données phytochimiques, antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles de feuilles d'*Eucalyptus globulus*, mais aussi à mettre en évidence pour la première fois, leur utilisation ultérieure dans les différentes industries pour produire des formulations efficaces dans la domine cosmétique. C'est dans cette optique, que se situe notre étude dont est de proposer un procédé permettant l'incorporation des huiles essentielles de feuilles d'*Eucalyptus globulus* dans la fabrication d'une crème hydratante et d'un savon solide antiseptique.

Notre travail est organisé en deux parties principales :

- La première partie est consacrée pour une étude bibliographique, constituée de deux chapitres ; le premier est consacré à des généralités sur *Eucalyptus Globulus*, qui a fait l'objet de la présente étude. Le second chapitre comprend des généralités sur les huiles essentielles ;
- La deuxième partie concerne l'étude expérimentale, en premier lieu, un chapitre qui décrit le matériel et les méthodes utilisés dans les différentes manipulations réalisées, pour répondre aux objectifs du travail, En second lieu, un deuxième chapitre qui présente les résultats obtenus et leur discussion ; et enfin, une conclusion représente les principaux résultats obtenus et les perspectives de recherche.

## 1. Généralités

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 7 sous-genres et environ 700 espèces. Leur nombre précis évolue au fil des études taxonomiques. Il appartient à la famille des myrtacées qui compte 90 genres et environ 3000 espèces. La description botanique des *Eucalyptus* date de la fin du dix-huitième siècle (**Boudiaf et Bentayeb, 2017**).

*L'Eucalyptus*, de la famille des *Myrtacées*, est connu et utilisé dans la médecine populaire pour un certain nombre d'affections et de problèmes de santé. La plante ou l'huile essentielle a été utilisée pour des traitements tels que la rhinite, l'infection bronchique ou pour réduire la fièvre (**Silva et al., 2003**), *L'Eucalyptus* est originaire d'Australie et on estime qu'il en existe jusqu'à 700 espèces. C'est un grand arbre à feuilles persistantes qui est cultivé pour son bois, sa gomme, sa pulpe, son huile, ainsi que pour sa valeur esthétique et médicinale (**Hardel et Sahoo, 2011**).

## 2. Taxonomies et Systématiques

**Tableau 01** : Classification taxonomique de *L'Eucalyptus globulus* est se suivant selon **Quézel, (1963)** :

<b>Règne</b>	plantae
<b>Empreuchement</b>	Spermaphyte
<b>Sous empreuchement</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	dicotylidones
<b>Sous classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Myrtales.
<b>Famille</b>	Myrtaceae
<b>Gene</b>	<i>Eucalyptus</i>
<b>Espèce</b>	<i>globulus</i>

### 3. Nomenclature

**Tableau 02** : Nom commun *Eucalyptus globulus* (Ivan 2001 ; Iftikhar, 2021).

Nom	Pays
Calipso	Italy
<i>Eucalyptus</i>	Tunisia
<i>Eucalyptus</i>	Australia
Neelgir	hindi
Gum Eucalypt	Anglais
Euclyptus globules	Latin

### 4. Répartition géographique

#### 4.1. Dans le monde

Les *Eucalyptus* sont indigènes au continent australien, où ils dominent d'ailleurs 95 % des forêts. Certaines espèces, notamment *Eucalyptus globulus*, ont été introduites en Europe, où elles se sont très bien acclimatées sur les rivages méditerranéens, ainsi qu'au Portugal, où d'immenses forêts d'*Eucalyptus* ont été plantées pour la production de pâte à papier. Ces espèces ont également été plantées en Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye. On les rencontre aussi dans les îles de Madagascar, de Mayotte, de Malte et de La Réunion, au Sri Lanka, en Afrique du Sud, sur les pentes du mont Elgon en Ouganda, en Californie, en Argentine, au Brésil, au Chili, en Équateur et au Pérou. Le total des plantations d'*Eucalyptus* dans le Monde Méditerranéen est de l'ordre de 540.000 ha et il s'accroît d'environ 30.000 à 40.000 ha par an (Baid, 2015).

#### 4.2. En Algérie

Les *Eucalyptus* occupaient une surface de 5 855 hectares dont plus de la moitié dans la région Oranaise (Boudy, 1955), Actuellement des plantations longent le littoral d'El-Kala et d'Azzefoun. On retrouve cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout (Foudil-Cherif, 1991), La répartition géographique de *Eucalyptus globulus* en Algérie est représentée sur le **Tableau** suivant :

**Tableau 03** : Répartition géographique de l'*Eucalyptus globulus* en Algérie (Foudil-Cherif, 1991).

Wilaya	BLIDA	BOUMERDES	RELIZANE	Sidi BELABAS	SETIF
Nom local	Kafour	Kafour	Calatous	Ouerg el Kafour	Calatous
Superficie	41 Ares	93 HA 70 Ares	1000 HA	342 HA	10 Ares

### 5. Description botanique

Les *Eucalyptus* sont des arbres qui poussent très rapidement. L'*E. globulus* mesure 30 à 60 mètres de haut et il peut atteindre jusqu'à 100 mètres dans certains cas. Son tronc est lisse et sa couleur varie du blanc au gris. Son écorce se détache facilement en longues bandes. Les jeunes feuilles sont cireuses, ovales, claires, opposées et sessiles. Mais ce sont les feuilles poussant sur les vieilles branches qui sont officinales car ce sont les seules à posséder des poches à essences sur la face inférieure. Ces feuilles peuvent atteindre 25 centimètres de long. Elles sont falciformes, alternes, pétiolées, de couleur gris-vert. Les feuilles ont une nervure principale surtout distincte sur la face inférieure. La plante coupée est reconnaissable par la présence de nombreuses poches sécrétrices sur la face inférieure de la feuille (Koziol, 2015) (Fig.01).



**Figure 01** : Feuilles et fleurs d'*E. globulus* (Cerasoli, 2016).

Le fruit ligneux est une grosse capsule glauque prenant une teinte marron à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, et s'ouvrant légèrement par trois, quatre ou cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres et minuscules (Bey ould, 2014) (Fig.02).



**Figure 02 :** Fruits et graines (Mekhelleche, 2015).

Les boutons floraux sont pruneux, verruqueux, ridés ou presque lisses, à double opercule (Rahmane et Bentboula, 2016). Les fleurs : blanches, régulières le plus souvent solitaires (Fig.03).



**Figure 03 :** Fleurs et fruits d'*Eucalyptus globulus* (Anonyme, 2024).

## 7. Principales substances bioactives d'*Eucalyptus globulus*

Quelques études ont été réalisées sur les feuilles et des fruits d'*E. globulus*, et plus de 30 composés ont été identifiés. Les composés majoritaires sont le 1,8 cineole, camphène,  $\alpha$ -pinene, globulol,  $\beta$ -pinene, *p*-cymene, myrcene,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpineol et le limonène. Une étude portugaise a révélé la présence de 33 composés dans les huiles essentielles du fruit; dont les monoterpènes (50,4%), les sesquiterpènes (49,6%). Le composé majoritaire identifié est l'aromadendrene (25,1%), suivi de phellandrene (17,2%), 1,8-cineole (11,7%), ledene (5,83%) et du globulol (5,23%) (Pereira et Neto, 2005), composés ont été identifiés dans les feuilles le 1, 8-eucalyptol (72,71 %),  $\alpha$ -pinene (9,22 %),  $\alpha$ -terpineol (2,54%), (-)-globulol (2,77%),  $\alpha$ -terpineol acétate (3,11%), et d'alloomadendrene (2,47 %), (Song A. 2009) composé majoritaire: L'eucalyptol ou le 1,8 cineole avec une concentration de 70 à 85% (Pereira et al., 2004; Songa et al., 2009) (Fig.04).

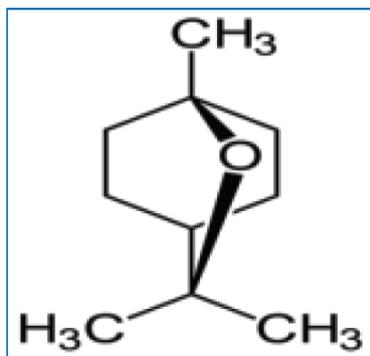


Figure 04 : Structure chimique de l'eucalyptol (Atmani-Merabet, 2018).

## 8. Activités biologiques d'*Eucalyptus globulus*

### 8.1. Activité antioxydante

Selon l'étude menée par (Mishra, 2010) l'huile essentielle d'*E. globulus* montre une activité antioxydante avec un pourcentage de piégeage du radical DPPH de  $79 \pm 0,82\%$  à une concentration de 80% (V/V) cette huile à une forte activité antioxydante de par sa composition riche en cineole (95,61%).

### 8.2. Activité antibactérienne

Contre les bactéries, des tests biologiques sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles de différentes espèces d'*Eucalyptus* sur diverses souches de bactéries se sont révélées positives (Kebisi, 2011 ; Mehani et Segni 2014), tels que : *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* (Anonyme, 2009).

Une étude évoque même la possibilité d'introduire des huiles essentielles dans les aliments afin de les conserver et de prévenir une infestation par la salmonelle (**Djenane et al., 2011**). Cependant, elle n'est pas active sur *Escherichia Coli* ou *Pseudomonas aeruginosa* (**Bey Ould, 2014**).

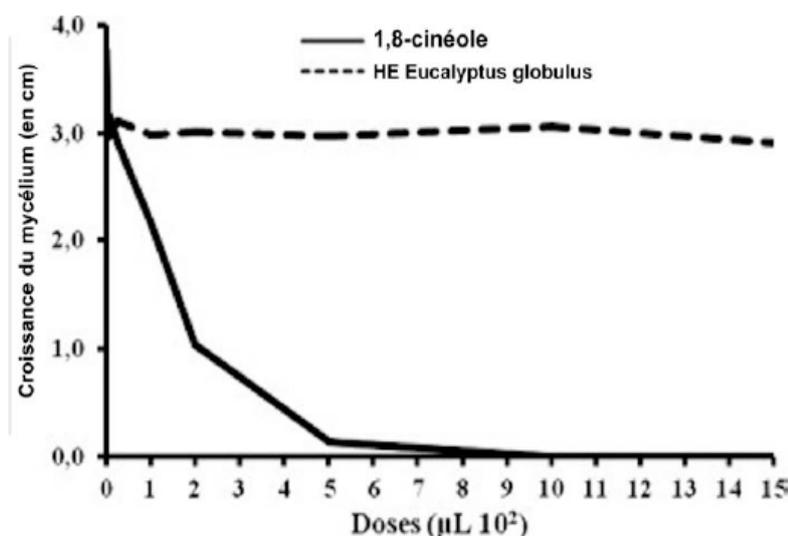
### 8.3. Activité Antivirale

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui. Les huiles essentielles constituent une des solutions pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Bouacha et al., 2017**).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une activité antivirale. Elle est notamment importante concernant Herpes Simplex Virus (HSV) (**Koziol, 2015**).

### 8.4. Activité antifongique

En plus de ses propriétés antibactériennes et antivirales, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* présente des propriétés antifongiques. Ces trois propriétés rendent l'usage de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* en diffusion très recommandé. **Vilela et al. (2009)**, ont démontré une activité antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* sur deux espèces d'*Aspergillus* : *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*, Ils ont mis des mycéliums des deux espèces en présence d'une solution A contenant de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et d'une solution B contenant uniquement du 1,8- cinéole. Les résultats sont les suivants (**Fig.05**):



**Figure 05** : Courbe dose-réponse de l'évolution de l'espèce *Aspergillus* après traitement avec de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et avec du 1,8-cinéole (**Vilela et al., 2009**).

L'expérience démontre que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a un effet plus que significatif sur l'inhibition de la croissance des mycéliums des deux espèces d'*Aspergillus*. En revanche, le 1,8-cinéole seul n'a pas d'effet sur les mycéliums. On peut donc conclure que le 1,8-cinéole n'est pas le seul responsable de l'effet antifongique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* mais qu'il s'agit d'une synergie de molécules qui donnent cette action (**Koziol, 2015**).

### 8.5. Activité insecticide

La présence de 1,8-cinéole dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* va lui conférer des propriétés répulsives et insecticides. On pourra l'utiliser par exemple en diffusion pour éloigner les moustiques (**Batish et al., 2008**). Une étude montre également que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est une bonne alternative naturelle contre les mouches domestiques (**Kumar et al., 2012**).

L'effet insecticide des huiles essentielles d'*Eucalyptus* par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, des nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer leur activité insecticide (**Ismane, 1995**). En effet l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède un effet bio insecticide contre le bruche du haricot (**Goucem –Khelfane, 2014**), sur les larves L4 *Culex pipiens* (**Aouati, 2015**), et sur le bruche niébé (**Taleb-Toudert, 2015**).

## 9. Utilisation et domaines d'applications

L'*Eucalyptus* est utilisé dans la médecine traditionnelle chinoise pour une variété de maladies, ses principales utilisations sont la production d'huiles essentielles utilisées à des fins médicinales et pharmaceutiques (**Belyagoubi, 2012**). On l'utilise aussi pour soulager les symptômes de l'asthme, pour traiter l'inflammation des voies respiratoires, de la gorge ou des muqueuses de la bouche (voie interne) ainsi que pour soulager les douleurs rhumatismales (**Atta et Alkofahi, 1998**).

Des études prouvent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède des propriétés anti-inflammatoires et analgésiques grâce à la présence de 1,8-cinéole (**Santos et Rao, 2000**). On pense qu'il s'agirait des propriétés anti-oxydantes de la plante qui pourraient être à l'origine de l'effet anti-inflammatoire (**Grassmann et al., 2000**). L'huile essentielle inhibe la formation des prostaglandines et de cytokines par les monocytes d'où l'effet anti-inflammatoire.

L'*Eucalyptus* est utilisé pour soigner les plaies, les brûlures, les affections pulmonaires, la grippe, les sinusites, la pédiculose et les moustiques. Les feuilles de l'*Eucalyptus* sont utilisées par les autochtones d'Australie pour panser les blessures (**Morigane, 2007**), Affections des voies respiratoires (bronchites, grippe, asthme et toux), Affections des voies urinaires (rhumatismes, névralgies, influenza et hyperglycémie) (**Masso, 2007**).

L'huile d'*Eucalyptus globulus* a un effet rafraîchissant indéniable sur la température corporelle. Ceci est un réducteur de fièvre. Il est utilisé dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques. Inspirez les vertus sur l'arbre. Il favorise la dissolution et l'élimination du mucus bronchique (baumes, plus mince, expectorant), il possède également des propriétés antirhumatismales, irritantes et inspirantes (**Tesche, 2008**).

### 10. Toxicité d'*Eucalyptus globulus*

Les *Eucalyptus* en général ont une toxicité aiguë par voie orale, la majorité et qui sont couramment utilisés possèdent une dose létale DL50 comprise entre 2 et 5 g/Kg, les mêmes observations peuvent être faites pour les constituants de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*, en effet rares sont ceux qui ont une DL50 < 2g/Kg, le thujone, pulégone et carvone possèdent les DL50 respectives suivantes : 0,2 g/Kg, 0,47 g/ Kg et 1,64 g/Kg (**Benazzeddine, 2010**).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est interdite chez les enfants et les femmes enceintes, le pouvoir expectorant très asséchant des *Eucalyptus* est à prendre avec précaution chez les asthmatiques. Les huiles riches en eucalyptol (1,8-cinéole) vont stimuler les glandes digestives et vont augmenter les sécrétions gastriques d'où l'apparition d'ulcère gastrique lors d'intoxication aux huiles essentielles (**Koziol, 2015**).

Plusieurs cas d'intoxications aux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Eucalyptus radiata* (de composition proche) ont été rapportées, notamment chez l'enfant. Les signes d'intoxications seront: nausées, vomissements, diarrhées, brûlures épigastriques, suivis de vertiges, ataxie, désorientation, perte de connaissance voire coma. Parfois, des bronchospasmes ont aussi été observés. Certains cas de convulsions ont aussi été rapportés chez des enfants (**Anonyme, 2009**).

En conclusion, l'huile essentielle d'*Eucalyptus* peut provoquer des brûlures gastriques, des nausées et vomissements, de la tachycardie ainsi qu'une hypertension, des suffocations et une paralysie cérébrale (**Foggie, 1911**) et même des cas de décès par voie orale, une dose trop élevée pourrait irriter les reins à cause des mono terpènes :  $\alpha$  et  $\beta$ -pinène ainsi que le limonène contenus dans les feuilles (**Anton, 2003**).

## 1. Historique

L'histoire des huiles essentielles remonte à 4000 avant JC, que les huiles essentielles et «Aromathérapie » sont assez moderne (inventé seulement au cours du XXe siècle). Les Egyptiens, Grecs, Romains, les Perses, les Chinois et les Indiens (**Amrane, 2011**), ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc. (**Uysal et al., 2015**).

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. René-Maurice Gattefosse a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches (**Khadir et al., 2013**).

## 2. Définition

Il s'agit d'une substance de nature volatile. Les molécules qui constituent une huile essentielle s'évaporent plus ou moins rapidement pour se déplacer dans l'air. Sur Terre, seulement 10 % environ des espèces végétales répertoriées sont classées plantes aromatiques.

L'huile essentielle telle que nous la connaissons, c'est-à-dire prête à l'emploi, est extraite de la plante le plus souvent à travers une distillation à la vapeur d'eau. D'autres techniques existent, comme l'enfleurage qui recourt à un corps gras et à de l'alcool, l'extraction au dioxyde de carbone appelée « supercritique » qui extrait sans élévation de température ni transformations dues au fluide d'extraction ou encore l'expression directe lorsqu'il s'agit des agrumes (on parle alors d'« essence »).

Pour utiliser les huiles essentielles, nul besoin de mélanges compliqués ou « alambiqués ». Il est le plus souvent inutile de mélanger plus de quatre ou cinq huiles essentielles. Dans certains cas, on peut même obtenir des résultats très satisfaisants avec une seule huile essentielle. En réalité, ce résultat ne devrait pas nous surprendre quand on sait que toute huile essentielle est naturellement composée de 50 à 300 principes actifs. Ces derniers peuvent être classés en grandes familles chimiques qui ont chacune un rôle thérapeutique et des caractéristiques pharmacologiques. En connaissant leur structure, on peut en exploiter les avantages. Pas besoin, donc, de se livrer à de savants mélanges, car doublons et accumulations incontrôlés d'actifs peuvent provoquer des effets imprévisibles, voire dangereux (**Schnebelen, 2012**).

### 3. Propriété physico-chimique

Les huiles essentielles sont très sensibles à la lumière, la chaleur et l'oxydation, elles se constituent des molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Degryse et al., 2008**). Ces huiles sont volatiles, inflammables et odorantes avec une densité généralement inférieure à celle de l'eau. D'une manière générale les huiles essentielles sont incolores comme elles peuvent prendre une couleur jaune pâle ou bleu claire qui est due à une activité anti-inflammatoire de l'HE (**Deschepper, 2017**).

- Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, d'odeur aromatique très prononcée, généralement incolores ou jaune pâle ;
- La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et sont entraînaibles à la vapeur d'eau ;
- La densité renseigne sur la composition chimique : ainsi une densité inférieure à 0.9 indique la présence, dans cette huile, de composés terpéniques et aliphatiques à des taux élevés, alors qu'une densité supérieure à 1 indique une composition très variée en composés terpéniques polycycliques (**Lamara, 2012**) ;
- Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires ;
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire ;
- Elles se distinguent des huiles fixes et des principaux lipides, en ce sens qu'elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur ;
- Les huiles essentielles sont solubles dans les graisses et les solvants apolaires, la solubilité est plus ou plus ou moins grande dans les alcools à différents titres ; très peu solubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs, cette eau est dite 'eau distillée florale' (**Tlili, 2017**).

### 4. Répartition et localisation

Parmi les espèces végétales 800.000 à 1.500.000 selon les botanistes, 10% seulement sont dites aromatiques. Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, elles sont presque exclusivement de l'embranchement des Spermaphytes, les genres qui sont capables de les élaborer sont rassemblés dans un nombre restreint de familles comme les : *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Asteraceae*, *Rutaceae*, *Myrtaceae*, *Poaceae*, *Cupressaceae*, *Piperaceae* (**Bruneton, 1999**).

La synthèse et l'accumulation d'une huile essentielle sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, le plus souvent situées sur ou à proximité de la surface du végétal (**Bruneton, 1987**). Il existe en fait quatre structures sécrétrices :

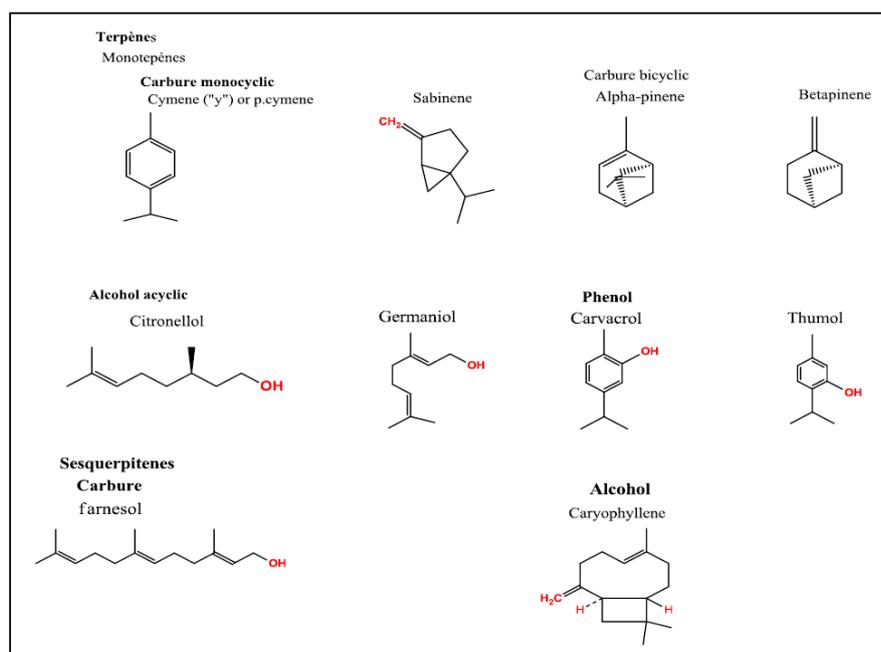
- 1) **Les cellules sécrétrices** : Chez les *Lauracées* et les *Zingibéracées* ;
- 2) **Les poils glandulaires épidermiques** : Chez les *Lamiacées*, *Géraniacées*, etc.
- 3) Les poches sphériques schizogènes : Les glandes de type poche se rencontrent chez les familles des : *Astéracées*, *Rosacées*, *Rutacées*, *Myrtacées*, etc.
- 4) **Les canaux glandulaires lysigènes** : On les retrouve chez les Conifères, Ombellifères, etc. Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupements peroxydes (**Bruneton, 1993**).

Les teneurs en huiles essentielles sont généralement très faibles, il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. A l'exception de celle du bouton florale du giroflier où le rendement en huile essentielle atteint largement les 15 % (**Makhlouf, 2002**).

## 5. Composition chimique

### 5.1. Composés terpénoïdes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). selon le mode de couplage « tête-queue » Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (**Fig.06**) (**Khadir et al., 2016**).



**Figure 06** : Exemples de Structure chimique de terpènes (**Khadir et al., 2016**).

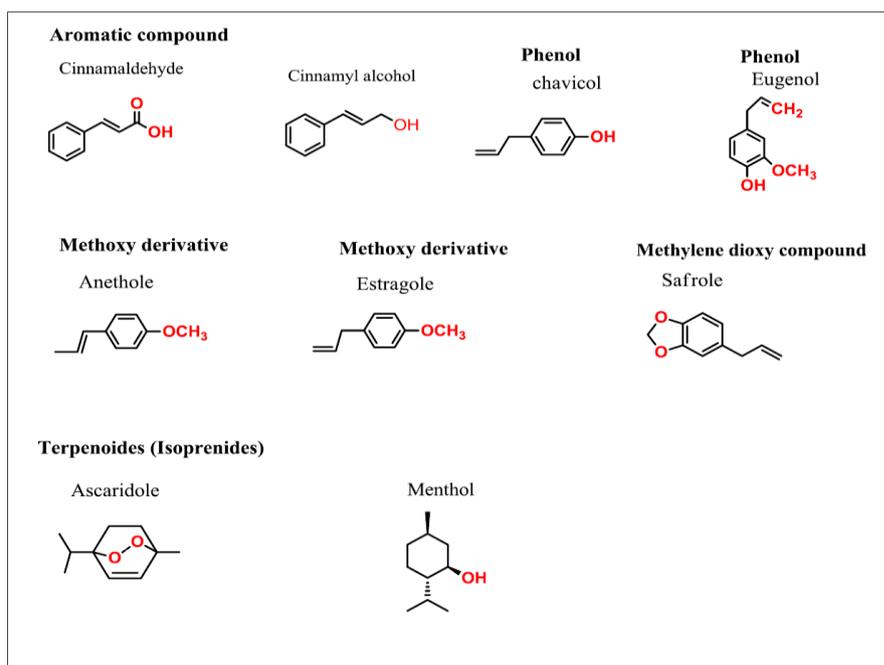
Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq atomes du carbone, l'isopenténylpyrophosphate (**Dubey, 2003**). Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C5) qui sont formés d'une seule unité isoprénique, Les autres molécules, appartenant à cette classe, proviennent de la condensation de plusieurs isoprènes et forment ainsi les monoterpénoïdes (deux unités isopréniques C10) et les sesquiterpénoïdes (trois unités isopréniques C15) (**Bohlmann, 2008 ; Bouyahya, 2017**).

Seuls les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15 peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C20 et triterpènes en C30) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés selon :

- **Leurs fonctions** : alcools (géraniol, linalol), esters (acétate de linalyle), aldéhydes (citral, citronellal), cétones (menthone, camphre, thuyone), éthers-oxydes (cinéole)
- **Leur structure** : linéaire (farnésène, farnésol), monocyclique (humulène, zingiberene) bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) (**Couic-Marinier, 2013**).

## 5.2. Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, etc. (**El haib, 2011**) (**Fig.07**).



**Figure 07** : Exemples de composés aromatiques (**El haib, 2011**).

### 5.3. Composés aliphatiques

Certaines huiles renferment de petites quantités de composés aliphatiques généralement de masse moléculaire faible, qui peuvent être entraînés avec l'huile essentielle lors de l'hydrodistillation. Ce sont des hydrocarbures linéaires ou ramifiés ou leurs dérivés oxygénés (acides, alcools ou aldéhydes). Citons pour exemple: le (Z)-hex-3-énol (note verte de l'herbe coupée) ou l'octen-3-ol (note caractéristique du champignon de Paris : *Agaricus bisporus*), et *Olea europaea*, *Cannabis sativa* (Bruneton, 1999).

### 5.4. Composés d'origines diverses

Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'un noyau benzénique, liée au moins avec un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton *et al.*, 2009) (Fig.03). Ils sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Néanmoins, certaines plantes possèdent ces composés avec des proportions significatives. Les phénylpropanoïdes dérivent majoritairement de la phénylalanine (Teisseire, 1991).

## 6. Techniques d'extraction

Le procédé d'obtention des HEs intervient d'une façon déterminante sur sa composition Chimique (Bruneton, 1999). Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des Essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (Fig.08).

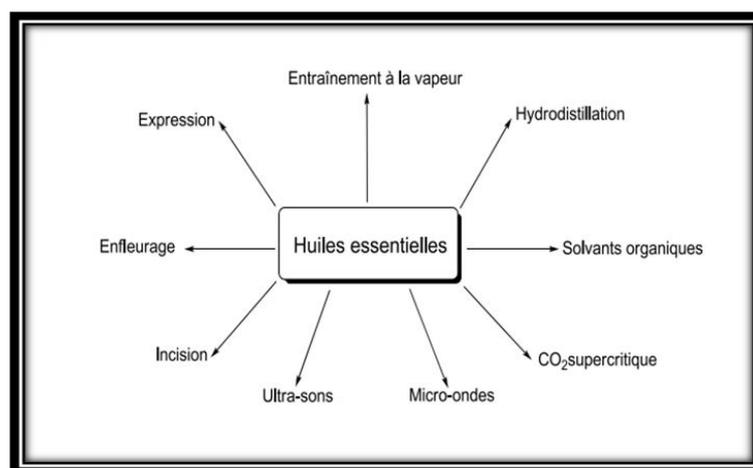


Figure 08 : Modes d'extraction d'huiles essentielles (Ben Seddik, 2021).

### 6.1. Hydrodistillation

C'est le procédé d'extraction le plus ancien. Le principe est de placer directement le matériel végétal à extraire dans l'eau puis de porter l'ensemble à ébullition en chauffant par le

bas en vue d'une distillation. Les poches à essences, soumises à l'action de l'humidité et de la chaleur, éclatent. Les vapeurs d'eau entraînent avec elles l'essence, alors, le mélange distille. Entraîné vers le système de refroidissement, le mélange se condense. A la sortie du condenseur, il y a séparation des deux liquides par différence de densité. Un essencier ou un vase florentin est également utilisé à cet effet. Ce procédé présente cependant des inconvénients qui affectent la qualité finale de l'huile essentielle. L'action prolongée de la température et le contact de l'eau peuvent mener à l'hydrolyse des esters, à la polymérisation des aldéhydes donnant naissance à la formation de produits résineux ou encore à la décomposition des autres composés comme par exemple les cétones en diols ou la saturation de certains composés insaturés. Ces réactions chimiques d'altération dépendent de l'acidité de l'eau dans laquelle est immergé le végétal, cependant le temps de distillation reste le facteur déterminant de la composition de l'huile essentielle. L'apparition d'artéfacts est bien souvent constatée et même parfois leur présence est souhaitée pour la typicité, c'est le cas de la camomille romaine bleue (*Anthemis nobilis* avec la présence de chamazulène) (Rakotomalala, 2004) (Fig.09).

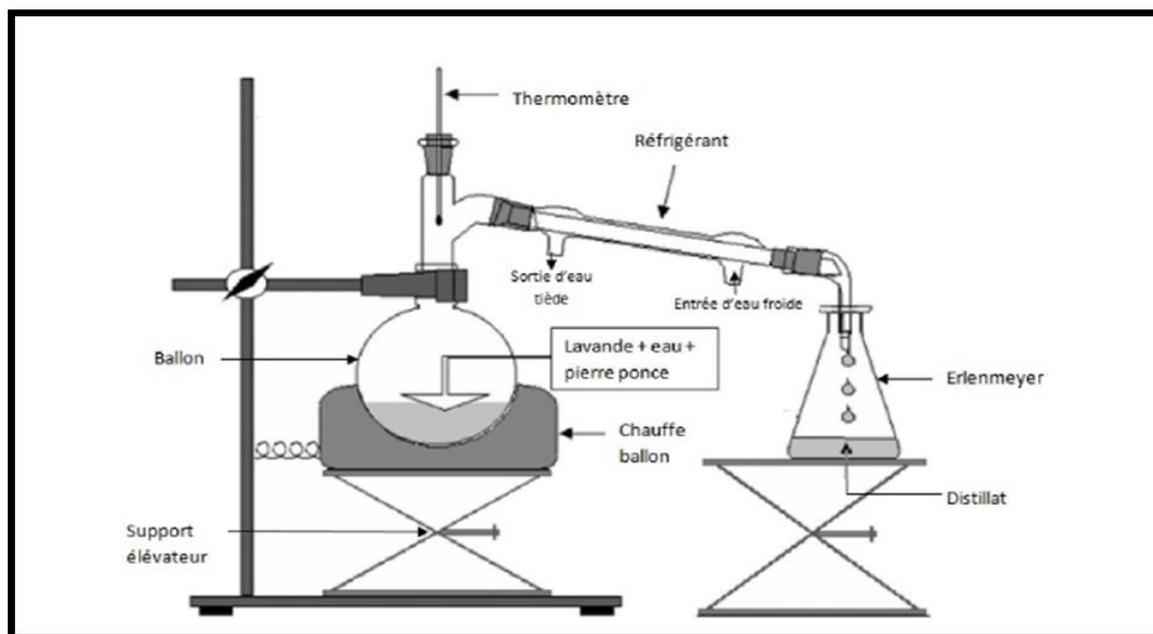


Figure 09 : Montage de l'hydro-distillation (Treiner, 2000).

## 6.2. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). Les plantes entières, ou broyées (lorsqu'il s'agit d'organes durs: racine, écorce), sont disposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau produit par la chaudière. La vapeur d'eau injectée à travers la masse végétale, disposée sur des plaques perforées, entraîne l'HE. Elle se condense ensuite

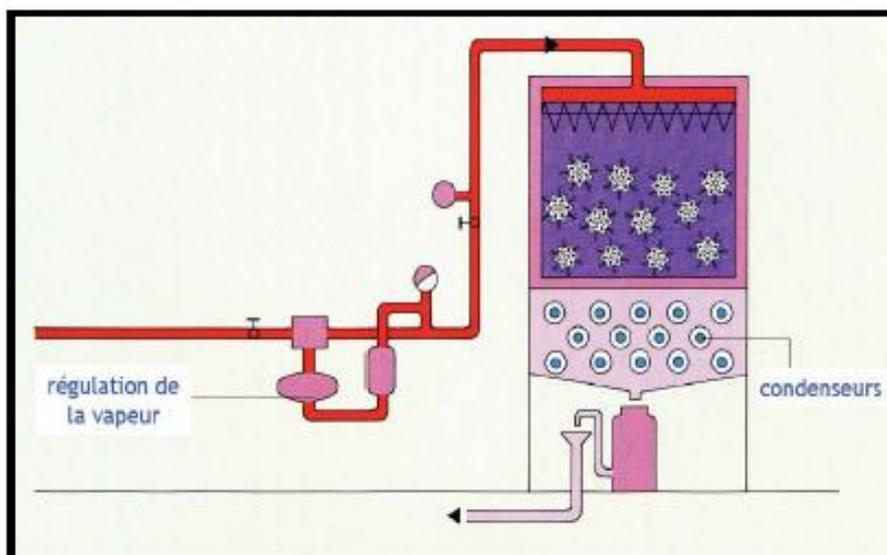
dans le serpentin du réfrigérant. A la sortie de l'alambic, le vase florentin (essencier) permet de séparer l'eau de l'HE grâce à la différence de densité des deux liquides (**Da Silva, 2010**) (**Fig.10**).



**Figure 10** : Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau (**Original, 2024**).

### 6.3. Hydrodiffusion

C'est une modification du processus de l'entraînement par la vapeur d'eau au cours duquel la vapeur d'eau arrive par le haut d'un conteneur d'herbe, permettant ainsi à la vapeur de percoler à travers la matière végétale par gravité. Les vapeurs d'huile et vapeurs d'eau sont ensuite condensées et séparées (**Benabdelkader, 2012**) (**Fig.11**).



**Figure 11** : Schéma du procédé d'hydro diffusion (**Bousbia, 2011**).

#### 6.4. Extraction assistée par micro-onde

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par microondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (Piochon, 2008) (Fig.12).



Figure 12 : Schéma du procédé d'extraction d'HE par microondes (Lucc, 2005).

#### 6.5. Extraction par les solvants

C'est un procédé qui conduit à l'obtention des concrètes, des résinoïdes et des absolues; le matériel végétal frais est par la suite épuisé par des solvants organiques volatils (Da Silva, 2010), ces extraits sont très utilisés en parfumerie (Benabdelkader, 2012).

#### 6.6. Extraction par du 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 (Franchomme, 2001).

#### 6.7. Expression à froid

Quand cette méthode est utilisée on parle d'HE d'expression. On peut aussi retrouver dans la littérature le terme « d'essence » bien qu'il ne soit pas reconnu par la Pharmacopée.

L'expression à froid est la méthode de référence pour obtenir les HE à partir des fruits de plantes du genre *Citrus*. Il s'agit d'une technique très simple.

Le principe est, contrairement à la méthode précédente, de ne pas utiliser de chaleur. Le procédé est mécanique. Le but est de percer, de briser, les « poches à essence », situées au niveau de l'écorce (ou *péricarpe*), en exerçant une pression, et le tout donc sans chauffer. Pour cela on peut utiliser différentes machines mais les plus courantes sont les « pélatrices ». Elles vont rayer l'écorce pour libérer les essences. On passe ensuite de l'eau pour les entrainer et les recueillir, puis on centrifuge puis on décante enfin l'ensemble pour séparer l'HE de la phase aqueuse.

C'est une méthode très simple, et qui a l'avantage de ne pas modifier l'HE, il n'y a pas de transformation chimique du produit. Cependant elle présente l'inconvénient majeur de ne pas s'appliquer à toutes les plantes, mais de se limiter à un seul genre. En effet on obtiendra de cette façon l'HE de citron, de pamplemousse, de mandarine, d'orange ou de bergamote par exemple (Baudoux, 2012).

### 6.8. Extraction par les ultrasons

Le matériel végétal est immergé dans un solvant et soumis à l'action des ultrasons (Fig.13). Les ondes sonores provoquent des vibrations mécaniques dans le milieu à travers une succession de phases d'expansion et de compression. Des bulles se forment ainsi (phénomène de cavitation). Au voisinage des parois cellulaires, ces bulles se dégonflent en produisant des micro-jets ultra-rapides de liquide qui provoquent la destruction de ces parois et entraînent la libération des molécules recherchées dans le milieu. Une étape d'élimination du solvant est nécessaire pour récupérer l'huile essentielle (Assami, 2014).



Figure 13 : Extraction par ultrasons (Assami, 2014).

### 6.9. Extraction par enfleurage

L'enfleurage est une technique qui date de l'antiquité égyptienne. Cette méthode met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Elle consiste à déposer des plantes en particulier les organes fragiles (fleurs d'oranger, de jasmin, pétales de rose, etc.) qui ne supportent pas la chaleur entraînée par la distillation, sur une couche de graisse animale qui se sature en essence. On épuise ensuite le corps gras par l'alcool qui récupère les senteurs et qui sera ensuite évaporé sous vide (**Belaiche, 1979 ; France-Ida, 1996**). Elle dure plusieurs jours le temps que l'huile essentielle soit absorbée par la graisse. C'est une technique assez difficile, qui demande une grande labilité et de moins en moins employée au profit de l'extraction par les solvants, en raison de son faible rendement et de l'importante main d'oeuvre qu'elle nécessite (**Abou Zaid, 1988 ; France- Ida, 1996**). Les huiles essentielles obtenues par enfleurage sont destinées à l'industrie de la parfumerie et non pas à l'usage aromathérapique, car elles ne satisfont pas aux normes d' «huiles essentielles aromatiques à usage thérapeutique » (**Grosjean, 1993**).

## 7. Activités biologiques des huiles essentielles

### 7.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des HEs est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoirLe pouvoir antioxydant des HEs est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir (**Richard, 1992**). Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes de propriétés selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto-catalytique de l'oxydation (Multon. 2002) En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (**Madhavi et Deshpande 1996**).

Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts, etc.) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers, etc.) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation (**Caillet, 2007**).

### 7.2. Activité antibactérienne

Ces dernières années, il y a eu un intérêt croissant pour la recherche et le développement de nouveaux agents antimicrobiens provenant de diverses sources pour lutter contre la résistance microbienne. Par conséquent, une plus grande attention a été accordée au dépistage de l'activité antimicrobienne et à ses méthodes d'évaluation (**Lopes et al., 2020**). Toutes les huiles essentielles testées jusqu'à présent ont montré une certaine activité antimicrobienne. Cette activité varie d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche microbienne testée à l'autre, mais elle est toujours dose-dépendante. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est strictement liée à leur composition chimique. Les constituants et leurs concentrations relatives dans les huiles essentielles ne dépendent pas seulement de l'espèce végétale (**Kalemba et Kunich, 2003**).

Les huiles essentielles ont été étudiées en tant qu'agents antimicrobiens potentiels ces extraits de plantes pourraient non seulement être utilisés pour lutter contre les infections cutanées par exemple, mais également jouer un rôle dans la conservation des aliments en raison de leur activité antimicrobienne combinée à leur propriété antioxydante (**Ramsey et al., 2020**).

### 7.3. Activité antifongique

Les maladies fongiques peuvent avoir différentes conséquences sur les plantes telles que des altérations de leur physiologie, pour cela, différentes huiles essentielles de plantes (et leurs constituants dominants) ont prouvé une activité antifongique contre différents champignons phytopathogènes disant que leurs mécanismes d'action sont inconnus mais peuvent être liés à leur capacité à dissoudre/perturber l'intégrité des membranes et des parois cellulaires des champignons. Comme dans différentes études, les propriétés antifongiques sont basées sur l'inhibition de la croissance mycélienne fongique in vitro (**Alonso-Gato et al., 2021**).

## 8. Facteur influençant la composition chimique d'HE

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories (**Ferdes et Saidia 2019 ; Laib 2010**) :

### 8.1. Facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même

plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques (Ferdes et Saidia, 2019).

## 8.2. Facteurs extrinsèques

Les méthodes d'extraction ont une influence sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première (Laib, 2010).

## 9. Domaine d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour leur utilisation dans plusieurs domaines. Ils sont utilisés en médecine pour traiter diverses maladies telles que les rhumatismes, la fièvre et le diabète, et elles ont également des effets antioxydants, antifongiques et insecticides. Elles sont utilisées en industrie comme arômes pour améliorer la saveur et empêcher l'oxydation des aliments (Irshad *et al.*, 2020).

### 9.1 Huiles essentielles en pharmacie

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière: L'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange, etc.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive. Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques: sirop, goutte, gélules, pommade, etc. (Kesbi 2011).

### 9.2 Huiles essentielles en Parfumerie et cosmétologie.

La parfumerie est le débouché principal des huiles essentielles, concrètes, absolues, et résinoïdes. Dans la réalisation de ces transformations, l'industrie de la parfumerie utilise à côté des constituants issus de la synthèse chimique, des extraits naturels sélectionnés pour leurs qualités olfactives quelquefois jugées irremplaçables pour leur originalité ou leur puissance. A titre d'exemple, l'essence de vétiver, grâce à son odeur agréable, est recherchée en cosmétologie et en parfumerie haut de gamme associée à d'autres essences telles que le santal, le patchouli ou la rose pour lesquelles elle joue le rôle de fixateur naturel. L'huile

essentielle d'ylang-ylang est très employée en cosmétologie, en parfumerie et en savonnerie de luxe. Les huiles essentielles servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, de crèmes, de gels, de pommades, etc.

Il existe au Burkina Faso quelques entreprises qui utilisent des extraits volatils de plantes aromatiques. On peut citer en guise d'illustration PHYCOS à Ouagadougou et CITEC Huilerie à Bobo-Dioulasso. Ces deux entreprises produisent des savons dans lesquels des extraits volatils importés de végétaux sont introduits. Signalons que PHYCOS met sur le marché des produits cosmétiques et des parfums, à base de matière première locale (beurre de karité) et d'extraits volatils aromatiques importés (**Jouhanneau, 1991**).

### **9.3 Huiles essentielles en Industrie Agro-alimentaire**

Certaines plantes sont utilisées brutes (épices et aromates), d'autres le sont sous forme d'huiles essentielles ou de résinoïdes. Tous les secteurs alimentaires en utilisent : boissons alcooliques ou non, confiserie, produits laitiers, produits carnés, soupes, sauces, boulangerie, snacks, la nutrition animale. - Diverses industries : L'industrie chimique est le principal utilisateur des isolats issus des huiles essentielles comme matières premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, exemple : pinènes, sclaréol, linalol, citronellal, citral eugénol, safrol, etc. Ces isolats sont également utilisés en parfumerie. Ces propriétés et caractéristiques des huiles essentielles nous intéressent et nous amènent à étudier une plante endémique Malgache qui est *Cinnamosma fragrans* (**Randrianarivelo, 2010**).

## **10. Conservation**

L'huile essentielle se conserve parfaitement quelques années à l'abri de la chaleur et de la lumière. Pour preuve, on a retrouvé des essences dans des doubles jarres en terre cuite dans les pyramides d'Égypte. Des Bacs de verre teinté sont nécessaires à la bonne conservation des huiles essentielles. Si après un ou deux ans, on n'utilise plus les huiles essentielles en traitement interne, elles peuvent sans inconvénient alimenter les diffuseurs d'arômes. Portons une attention particulière aux huiles essentielles d'agrumes qui s'oxydent plus rapidement que les huiles essentielles de plantes aromatiques et dont la durée de vie est inférieure (**Grosjean, 2015**).

- Le flacon sera conservé à une température variant de 5°C à 35°C ;
- Le flacon sera soit en verre coloré, soit en aluminium (estagnon) ;
- Le flacon sera toujours bien scellé par un bouchon étanche afin d'éviter l'évaporation ;

Dans ces conditions, les HE pures et naturelles se conserveront pendant au moins 5 ans. Les essences de Citrus se conservent un peu moins bien (3 ans) (**Zhiri et Baudoux, 2005**).

### 11. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Certaines HEs sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines. D'autres HEs ont un effet neurotoxique (huiles riche en  $\alpha$ -thujone) ou cancérigènes. C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le saffrole (*Sassafras*), l'estragole (*Artemisia dracuncululus*), la  $\beta$ -asarone (*Acorus calamus*) et le méthyleugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hepatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs. De plus, tout dépend de la dose administrée lors des expériences et bien souvent la dose absorbée par l'animal est loin de correspondre à celle qu'un homme est susceptible d'ingérer par jour (**Piochon, 2008**).

## 1. Objectif

Cette étude vise à déterminer le potentiel de rendement des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et les caractéristiques physicochimiques, d'explorer les propriétés antioxydantes en utilisant la technique suivante : la réduction du piégeage du radical libre DPPH, et d'évaluer l'activité antimicrobienne à l'égard de quelques bactéries par la méthode de diffusion de disque, en vue de valorisations cosmétiques.

Notre travail a été effectué au sein de deux laboratoires, Laboratoire de Biochimie 02 et Laboratoire de Microbiologie 03 de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, Algérie.

## 2. Matériel végétal

Cette étude est réalisée sur la partie aérienne (feuilles) de la plante d'*Eucalyptus globulus*, qui ont été récoltées durant le mois de Mars 2024 de la région de Sidi M'hamed Ben Ali (wilaya de Relizane). Ces parties ont été identifiées, nettoyées et stockées à température ambiante à l'abri de la lumière dans un endroit sec et aéré pendant 2 semaines. Après séchage à l'obscurité, la matière végétale a été réduite en poudre à l'aide d'un broyeur électrique, puis stocké dans des bocaux en verre à l'abri de la lumière pour l'utilisation ultérieure.



**Figure 14** : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* (Originale, 2024)

### 3. Micro-organismes utilisés dans les tests antimicrobiens

Cinq souches bactériennes de référence ont servi à l'étude de l'activité antimicrobienne des HE d'*Eucalyptus globulus*, Ces bactéries ont été sélectionnées en fonction de leur pouvoir pathogène pour l'Homme.

**Tableau 04** : Références des souches bactériennes utilisées dans notre étude.

Souche bactérienne	Forme	Gram	Famille	Code
<i>Escherichia coli</i>	Bacille	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cocci	positif	<i>Micrococcaceae</i>	ATCC43300
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Bacille	négatif	<i>Enterobacteriaceae</i>	ATCC700603
<i>Bacillus cereus</i>	Bâtonnet	positif	<i>Bacillaceae</i>	ATCC10876
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bacille	négatif	<i>Pseudomonadaceae</i>	ATCC27853

### 4. Matériels et produits de laboratoire

En plus du matériel régulièrement utilisé dans le laboratoire (Verrerie, agitateur, etc.) nous avons utilisé un appareillage et des produits chimiques résumés dans le **tableau** suivant :

**Tableau 05** : Produits chimiques et appareils utilisés dans notre étude.

Produits Chimiques	Appareil
<ul style="list-style-type: none"> <li>• DPPH</li> <li>• Quercétrine</li> <li>• Acide ascorbique</li> <li>• Solution de Folin</li> <li>• Chlorure d'aluminium(<math>AlCl_3</math>)</li> <li>• Eau distillée. (<math>H_2O</math>)</li> <li>• Méthanol. (<math>CH_3-OH</math>)</li> <li>• Carbonate de sodium(<math>Na_2CO_3</math>)</li> <li>• Chlorure ferrique <math>FeCl_3</math></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Etuve.</li> <li>• Spectrophotomètre UV-Visible</li> <li>• Balance électronique</li> <li>• Plaque chauffante</li> <li>• Etuve</li> <li>• Bain marie</li> <li>• Autoclave</li> <li>• Réfrigérateur</li> </ul>

### 5. Extraction des huiles essentielles

#### 5.1 Extraction à l'entraînement à la vapeur

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE (**Fig.15**) (**Anonyme, 2007**). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE).

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide (Raaman, 2006).



**Figure 15 :** Appareil d'entraînement à la vapeur d'eau.

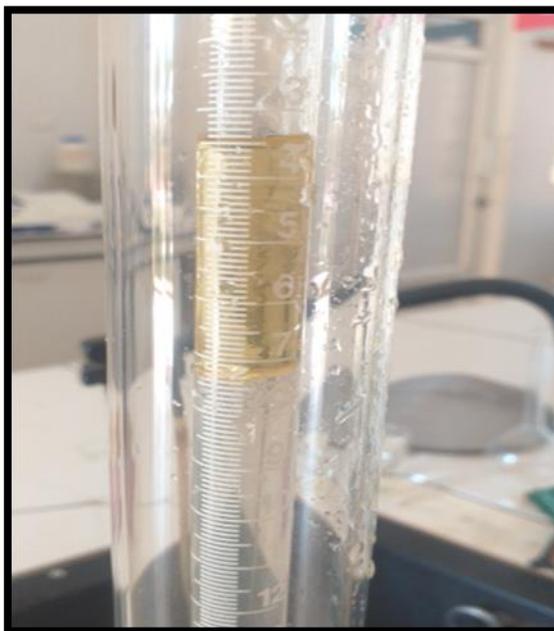
## 5.2. Mode opératoire

La distillation à la vapeur d'eau est le procédé à la fois le plus ancien et celui qui reste le mieux adapté à l'extraction des essences, surtout si elles doivent être utilisées à des fins thérapeutiques, les plantes sont mises dans un alambic, sous l'effet du feu l'eau s'y transforme en vapeur, celle-ci passe à travers les plantes, volatilise et entraîne les molécules aromatiques puis se recondense dans le serpentin réfrigérant. A la sortie de l'alambic un essencier ou vase florentin sépare l'huile essentielle qui flotte à la surface de l'eau de distillation, c'est-à-dire l'hydrolat, de densité supérieure donc d'un poids plus élevé (Bego, 2001).

### 5.2.1. Calcul du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile obtenue et la masse du matériel végétal introduit au début de l'opération.

$$R\% = \frac{\text{poids de l'HE} \times 100}{\text{poids de la plante}}$$



**Figure 16 :** Rendement d'HE.

### **5.2.2 Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle**

Le contrôle de l'huile essentielle se fait par la détermination des paramètres physico-chimiques qui seront utilisées pour décrire l'huile et servir de critères de qualité de l'huile. Les méthodes de détermination des caractéristiques physico-chimiques sont décrites dans le recueil de normes publié par l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 1989).

#### **5.2.2.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation des composés qui permet d'analyser la complexité d'un mélange, Cette technique a été utilisée pour visualiser la séparation des molécules de l'extrait au cours de son fractionnement sur colonne et pour évaluer la complexité des fractions.

#### **• Principe de la préparation de la chromatographique**

- ✓ Introduire l'éluant ou le mélange de solvants. Dans la cuve nous avons mis 4v/4v/2v (méthanol éthanol et l'eau distillé) ;
- ✓ le niveau à environ 1cm du fond de la cuve ;
- ✓ Garnir l'intérieure de la cuve d'un papier filtre imprégné d'éluant et plaqué contre les parois, une ouverture est ménagée dans le filtre pour observer le développement du chromatogramme ;
- ✓ Fermer le récipient (la cuve doit être saturée de vapeur de solvant) ;
- ✓ Activer la plaque pendant 20mn dans l'étuve à 35°C ;

- ✓ Déposer environ 0.5ml de la solution en un point situé à 1cm de l'extrémité inférieure de la plaque, le diamètre de la tache doit être d'environ 2mm ;
- ✓ Sécher à l'aide d'un séchoir ;
- ✓ Placer la plaque dans la cuve en position verticale. ;
- ✓ Refermer le récipient qui ne doit plus être déplacé ;
- ✓ Lorsque le front du solvant se trouve à environ 1cm de l'extrémité supérieure de la plaque, la retirer et marquer cette position ;
- ✓ La plaque est retirée de la cuve et le front de l'éluant est noté au crayon. On fait sécher la plaque la plaque à l'aide d'un séchoir ;
- ✓ Visualisation de la plaque est faite par la méthode physiques (sous une lampe UV par la longueur d'onde : 254 nm).

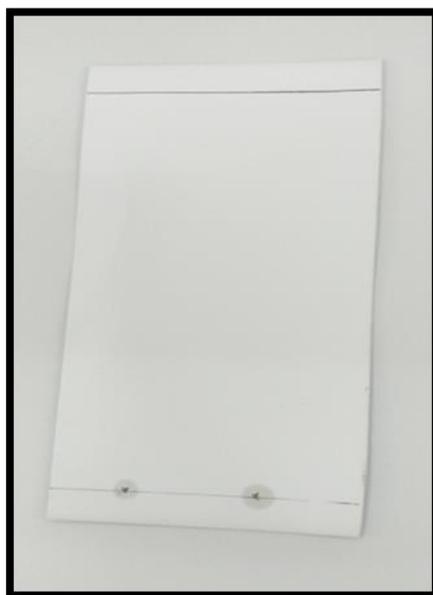
- **Exploitation de la CCM**

La distance parcourue entre la ligne de dépôt et le centre de chaque tâche dans des conditions données (phase fixe et éluant connus), nous permet de calculer le rapport frontal pour chaque tâche selon la relation suivante :

$$R_f = D_1 / D_2$$

**D1:** La distance entre la ligne de dépôt et le centre de la tâche, c'est la distance parcourue par l'espèce chimique ;

**D2:** La distance parcourue par l'éluant dans le même temps ; c'est la distance entre la ligne de dépôt et le front du solvant.



**Figure 17 :** Plaque CCM.

### 5.2.2.2. Indice d'acide

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution éthanol titrée d'hydroxyde de potassium, c'est-à-dire la mesure de l'indice acide réalisée par titrage (Boukhatem *et al.*, 2010).

- **Mode opératoire**

A l'aide d'une balance analytique, on pese 56 mg de KOH puis on les met dans 100 ml d'éthanol, ensuite on agite vigoureusement pour bien homogénéiser. On introduit 1g de l'HE d'*E. globulus* dans un bécher, après on ajoute 10 ml d'éthanol neutralisé et 3 gouttes au maximum d'indicateur, soit la solution de Phénolphtaléine. Ensuite on titre le liquide avec la solution de KOH contenue dans la burette quelques secondes. Le virage de la couleur vire vers le rose, on arrête le titrage et enfin on note le volume de solution de KOH utilisé.

- **Méthode de calcul**

L'indice d'acide (IA) est donné par l'équation suivante :

$$IA = V \cdot 5,61 / m$$

**V** : le volume, en millilitres, de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage ;

**m** : la masse, en grammes, de la prise d'essai.

(Exprimer le résultat à une décimale près).



**Figure 18** : Protocole d'Indice d'acide.

### 5.2.2.3. Détermination du pH

Le pH est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogènes ( $H^+$ ) (connus également sous le nom de protons) présents en solution. Plus souvent, on utilise le pH pour évaluer l'acidité ou la basicité d'une solution. Ce coefficient est utilisé pour déterminer si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7 et basique s'il est supérieur à 7.

- **Mode opératoire**

On a mis des gouttes des HE d'*E. globulus* sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH.



**Figure 19** : Papier indicateur du pH.

## 6. Analyses qualitatives d'huile essentielle

### 6.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique est un moyen pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une huile essentielle donnée.

#### 6.1.1. Caractérisation des Flavonoïdes

1ml d'acide chlorhydrique concentré et quelques gouttes de magnésium sont ajoutés à 100 $\mu$ l de HE dans un tube à essai, La coloration rose-rouge ou jaune, après trois minutes d'incubation à température ambiante, indique la présence des flavonoïdes (**Haddouchi, 2018**).

### 6.1.2. Caractérisation des Tannins

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 100µl d'huile essentielle, 1 à 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> diluée à 1%.

- L'apparition d'une coloration verte foncée ou bleue verte indique la présence des tanins ;
- L'apparition d'une coloration verte foncée indique la présence des tanins catéchiques ;
- L'apparition d'une coloration bleue-verte indique la présence des tanins galliques (**Bentabet Lasгаа, 2015**).

### 6.1.3. Caractérisation des Saponines

Introduire un volume de 100µl d'HE dans un tube à essai et l'ajuster à 4 ml avec de l'eau distillée. Agiter les tubes pendant 15 secondes dans le sens de la longueur puis laisser reposer pendant 15 minutes. Le résultat est positif, si la hauteur de la mousse est supérieure à 1 cm (**Haddouchi, 2018**).

### 6.1.4. Caractérisation des Alcaloïdes

Un millilitre d'acide chlorhydrique à 1 % sont ajoutés à 100µl d'HE, le tout est chauffé au bain-marie, Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc jaunâtre par le réactif de Mayer ou rouge orangé à brun pour le réactif Wagner (**Haddouchi, 2018**).

### 6.1.5. Test des Terpénoïdes

On a ajouté 0,5 ml de chloroforme et 0,7 ml d'acide sulfurique concentré à 100µl. La couleur verte-bleu indique la présence d'hétérosides stéroïdiens, et la couleur verte-violet indique la présence d'hétérosides terpéniques (**Haddouchi, 2018**).

### 6.1.6. Oses et Holosides

En ajoutant 5 ml d'éthanol à 100µl, on obtient un mélange floconneux en présence de mucilages (**Bruneton, 1999**).

## 6.2. Analyses quantitatives d'huile essentielle

### 6.2.1. Dosage des Composés Phénoliques

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode décrite par **Dewanto, (2002)**.

#### • Principe de la méthode

Il est formé en utilisant le réactif « Folin-Ciocalteu », un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, de couleur bleue, pour oxyder les composés

phénoliques en créant un nouveau complexe molybdène-tungstène qui absorbe à 765 nm (Haddouchi, 2018).

- **Technique**

Une prise de 200µl d'HE est mélangée avec 2 ml d'une solution de carbonate de sodium à 7 % fraîchement préparée, le tout est agité par un vortex. Après 5minutes, 100 µl du réactif de Folin-Ciocalteu sont ajoutés au mélange, le tout est laissé pendant 30 minutes à la température ambiante, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à 765 nm (Haddouchi, 2018).

### 6.2.2. Dosage des Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes est faite selon une méthode colorimétrique décrite par (Dewanto *et al.*, 2002)

- **Principe de la méthode**

L'oxydation des flavonoïdes par deux réactifs incolores, le nitrite de sodium et le chlorure d'aluminium, conduit à la création d'un complexe brunâtre capable d'absorber à 460 nm (Haddouchi, 2018).

- **Technique**

Ajouter 100 µl d'HE à 1 ml de solution méthanolique de trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$  à 2%). Le mélange est agité vigoureusement, puis laisser reposer 10 minutes à température ambiante et dans l'obscurité. Réaliser la même opération pour la quercétine à différentes concentrations. La mesure de l'absorbance est effectuée à 460 nm.

## 7. Evaluation des activités biologiques

### 7.1. Activité antioxydante

Parmi les différents travaux qui ont été effectués pour évaluer les effets des HE d'*E. globulus*, la majorité d'entre eux sont focalisés sur ses propriétés antioxydantes.

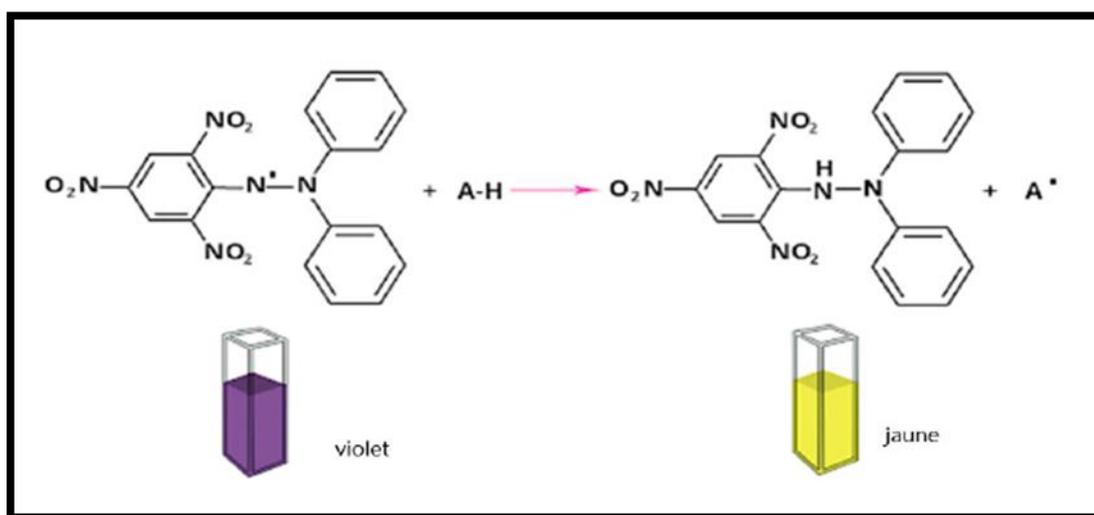
#### 7.1.1. Effet Scavenger du radical DPPH

- **Principe**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (Brand-williams *et al.*, 1995). Il possède un électron qui n'est pas présent sur un atome du pont d'azote, alors qu'il ne produit pas de polymères. Il reste toujours monomère. Cette délocalisation entraîne la couleur bleue, Lorsque la liaison est réduite par une

liaison covalente avec l'électron libre des antioxydants, cette coloration devient plus intense (Fig.20).

L'addition d'un antioxydant à une solution de DPPH (2,2 diphényl-1- pycrylhydrazyl) de couleur mauve foncé conduit à la décoloration de cette dernière (devenant jaune pâle). Cette décoloration est directement proportionnelle à la capacité antioxydante du produit ajouté, On peut observer par spectrophotométrie la diminution de l'absorbance à 517 nm. Ce test est réalisé à température ambiante, ce qui élimine tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles (Popovici *et al.*, 2009).



**Figure 20** : Réaction de test DPPH pour déterminer l'activité antioxydant (Alam *et al.*, 2013).

### • Protocole

#### 1/ Préparation de la solution de DPPH

- ✓ On dissout, dans 100 ml d'éthanol, 0.004ml de DPPH sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante ;
- ✓ On mesure l'absorbance initial de cette solution  $Abs_0$  à 517 nm ;
- ✓ On évalue l'effet antioxydant de l'huile essentielle étudiée : pour conclure cette partie, nous avons préparé une solution test comme suit :
- ✓ On mélange 1 ml de la solution de DPPH avec 980  $\mu$ l d'éthanol et 20  $\mu$ l d'HE dans un tube à essai, on le garde à l'ombre pendant 30 minutes ;
- ✓ On détermine l'absorbance à 517 nm de cette solution ;
- ✓ En obtenant une absorbance de 0.047 pour la solution test, nous pouvons affirmer que l'huile étudiée possède une activité antioxydant notable. De plus, nous pouvons préparer une solution mère 'concentrée' et des solutions filles 'diluées' appropriées de la manière suivante :



Figure 21 : Absorbance de la solution de DPPH.

## 2 /Préparation de la solution mère

Pour cela, 50  $\mu$ l de notre HE est mélangée à 1 ml d'éthanol.

## 3/Préparation des solutions filles

-On prépare des solutions diluées à partir de la solution mère en utilisant différentes concentrations : 10, 20, 30, 40, 50, 70 et 100  $\mu$ l. Ensuite, nous les ajusterons avec de l'éthanol à 1000  $\mu$ l, puis ajoutons 1000  $\mu$ l de la solution de DPPH ;

-On mesure l'absorbance à 517 nm pour chaque solution.

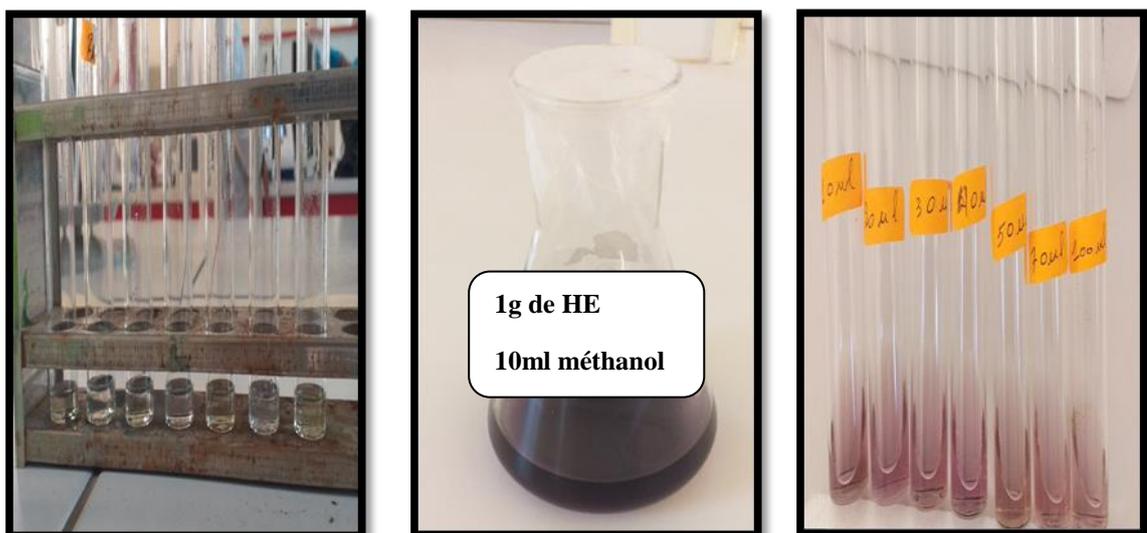


Figure 22 : Protocole de l'activité antioxydante.

Le pourcentage de réduction du radical DPPH• est donné par l'expression suivante:

$$\% \text{Inhibition} = ((\text{Abs M} - \text{Abs H}) / \text{Abs M}) \times 100$$

**Abs M:** Absorbance du control.

**Abs H:** Absorbance d'échantillon.

Les valeurs IC50, qui représentaient la concentration d'HE qui a provoqué 50 % de piégeage, ont été déterminées à partir du tracé du pourcentage d'inhibition par rapport à la concentration.

## 7.2. Activité antimicrobienne

### 7.2.1. Préparation et Choix des milieux de culture

#### 7.2.1.1. Préparation du milieu de culture

On utilise le milieu de culture Muller-Hinton pour effectuer le test antibactérien. Ce milieu de culture est préparé en mélangeant 38g de gélose Muller-Hinton dans un litre d'eau distillée, Faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis autoclaver pendant 15 minutes à 121°C et finalement couler le milieu dans les boites de Pétri (**Amara et al., 2006**).

#### 7.2.1.2. Stérilisation du matériel

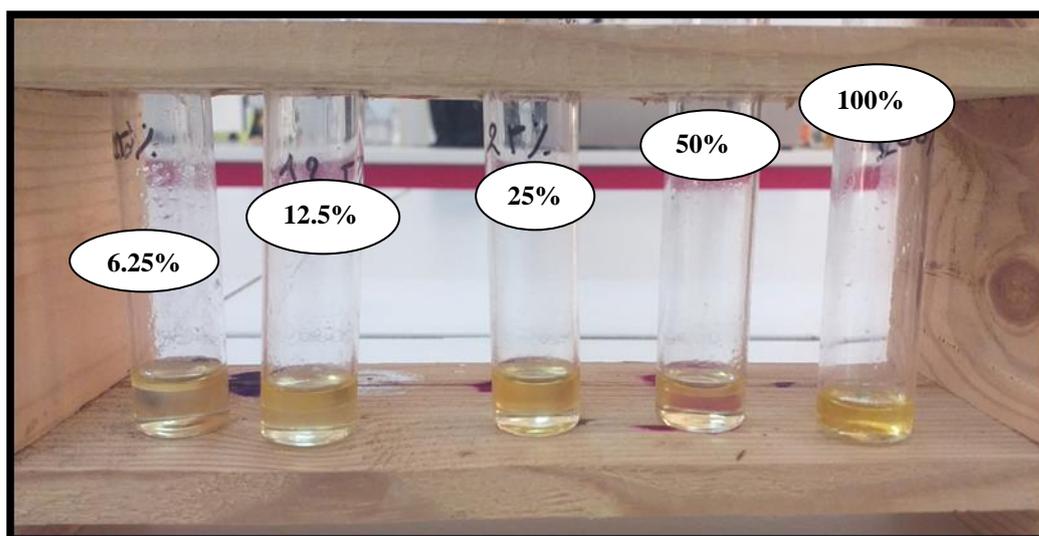
Pour préparer les solutions bactériennes, on a stérilisé, par autoclave, (l'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai et les disques en papier Wattman (6mm de diamètre)), enveloppés dans du papier aluminium, à 121°C pendant 15 minutes.

#### 7.2.1.3. Préparations des dilutions

Les huiles essentielles ont été diluées selon le **Tableau ci-dessous**. Pour pouvoir obtenir différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxyde), sachant que ce dernier n'a aucun pouvoir antibactérien puissant (**Gachkar et al., 2006**). On a utilisé des disques d'antibiotique (Amoxicilline) afin de pouvoir en faire des comparaisons (**Anonyme, 2014**).

**Tableau 06** : Différentes concentrations utilisées pour préparation des dilutions.

Dilution %	Concentration	Quantité
1 <sup>ère</sup>	100% = 3ml	1000 µL HE
2 <sup>ème</sup>	50% = 1.5ml	500µL HE + 500 µL DMSO
3 <sup>ème</sup>	25% = 0.75ml	750µL HE + 250 µL DMSO
4 <sup>ème</sup>	12.5% = 0.375ml	375 µL HE + 625 µL DMSO
5 <sup>ème</sup>	6.25% = 0.1875ml	187.5 µL HE + 812.5 µL DMSO
<b>Témoin</b>	Antibiotique (Amoxicilline)	-

**Figure 23** : Différentes dilutions des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* par DMSO.

#### 7.2.1.4. Préparation de l'inoculum

Après avoir obtenu une culture pure de bactéries sur le milieu d'isolement (gélose nutritive) avec une durée maximale de 24 heures, on procède au raclage de quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques à l'aide d'une pipette pasteur scellée. Ensuite, on verse 10 ml d'eau physiologique stérile dans la pipette pasteur pour qu'elle soit homogène et que la suspension bactérienne ait une opacité équivalente à 0,5 Mc Farland, soit 108 UFC/mL. Ensuite, on dilue pour obtenir un inoculum de 10<sup>6</sup> UFC/ml (Tyagi et Malik, 2011).



Figure 24 : Souches bactériennes étudiées.

### 7.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'effet de l'huile sur les souches testés est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition et en fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible, d'intermédiaire ou résistante, due à la présence d'une compétition entre la croissance de la souche et la diffusion du produit à tester (Sqalli *et al.*, 2007 ; Zerroug *et al.*, 2011).

#### 7.2.2.1. Préparation des disques

On a utilisé le papier Wattman N°6 coupé en disques de 6 mm ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Ces disques ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.



Figure 25 : Disques stériles.

### 7.2.2.2. Ensemencement et dépôt des disques

Nous procédons à l'ensemencement en utilisant l'inondation des boîtes de Pétri. Nous avons versé aseptiquement le milieu de culture gélosé nutritif dans les boîtes de Pétri à raison de 15 ml/boîte (90 mm de diamètre). Après avoir solidifié le milieu de culture, nous avons étalé 1 ml de chaque suspension microbienne à la surface du milieu gélosé en utilisant un écouvillon stérile. Ensuite les boîtes de Pétri sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Des disques d'antibiotique d'Amoxicilline ont été utilisés pour l'évaluation de la sensibilité des microorganismes testés dans ce travail. Cet examen se fait de la même manière avec la méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé, où l'huile est remplacé par les antibiotiques (Leclec *et al.*, 1983 ; Prescott *et al.*, 2007).

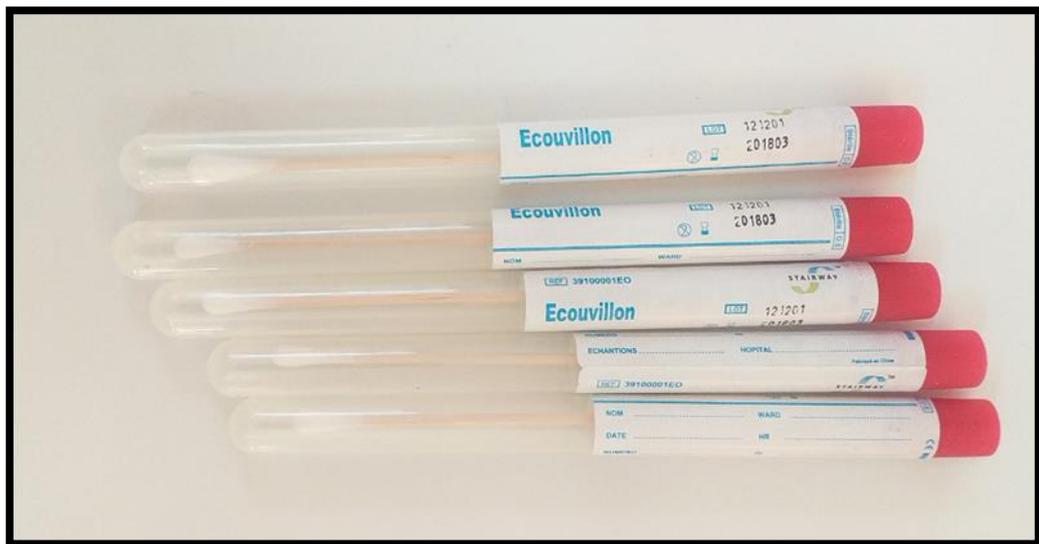
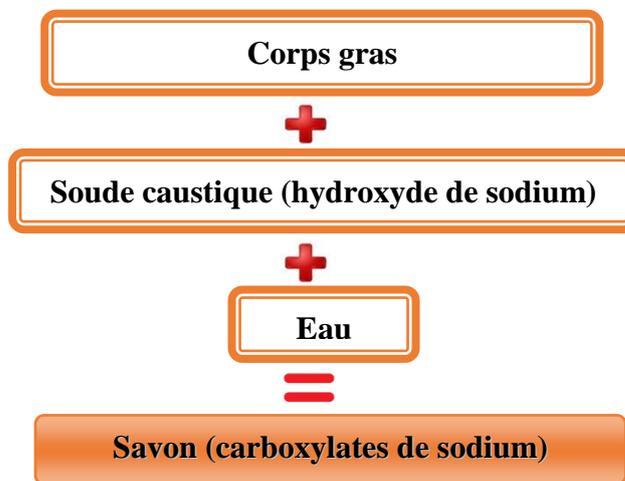


Figure 26 : Ecouvillons stérile.

## 8. Essai de fabrication des produits bio-cosmétiques

### 8.1. Réalisation d'un Savon bio

Le savon est obtenu par une réaction chimique appelée saponification, selon le schéma suivant (Boué, 2019) :



Différentes méthodes de fabrication du savon existent : la méthode à chaud et la méthode à froid. Quelles que soient la méthode et les conditions, la réaction de saponification est accélérée par la chaleur. Or le mélange (soude/eau) chauffe naturellement, donc quand on mélange les ingrédients à haute température, on obtient plus rapidement un savon dur, qu'on n'a moins besoin de laisser sécher, et on a un meilleur rendement.

#### 8.1.1. Saponification à froid

Le procédé à froid n'utilise pas de source de chaleur, mais plutôt un système permettant de maintenir la température en milieu froid. Ce procédé consiste à ajouter graduellement une solution de soude sur un corps gras en agitant constamment et jusqu'à épuisement complet de la solution, le tout dans un système composé d'un bain de glace ou d'un bain d'eau salée permettant de maintenir la température entre 0 et 40 °C pour des mélanges inférieurs à 15 kg. Au-delà de 15 kg, il faut veiller à maintenir le mélange de corps gras et de solution de soude à température ambiante (entre 24 et 30 °C) (Oden Bella, 2014).

La saponification en elle-même produit de la chaleur, cependant beaucoup moins forte que celle atteinte en saponification à chaud. Lorsque la pâte de savon «prend», c'est-à-dire épaisit, on la met en moule et la réaction se poursuit naturellement. Le savon peut être découpé pendant les quelques jours qui suivent la fabrication. Au-delà, il devient trop dur et cassant. Le savon doit ensuite être conservé pendant 4 à 6 semaines minimum avant d'être utilisé. En effet, l'excès d'humidité doit s'évacuer pour que le savon soit bien solide. Cette phase est appelée la cure. Cette méthode présente plusieurs avantages :

- **Ecologique et facile** : elle ne nécessite pas ou peu de matériel et d'énergie pour chauffer les ingrédients ;
- **Douce et bien plus intéressante** : elle permet de préserver au maximum les propriétés des ingrédients et en particulier de ne pas dégrader les vitamines. Les savons obtenus présentent davantage de bienfaits pour la peau et les cheveux. Enfin, la glycérine est conservée dans le savon : c'est plus doux pour la peau (**Boué, 2019**).

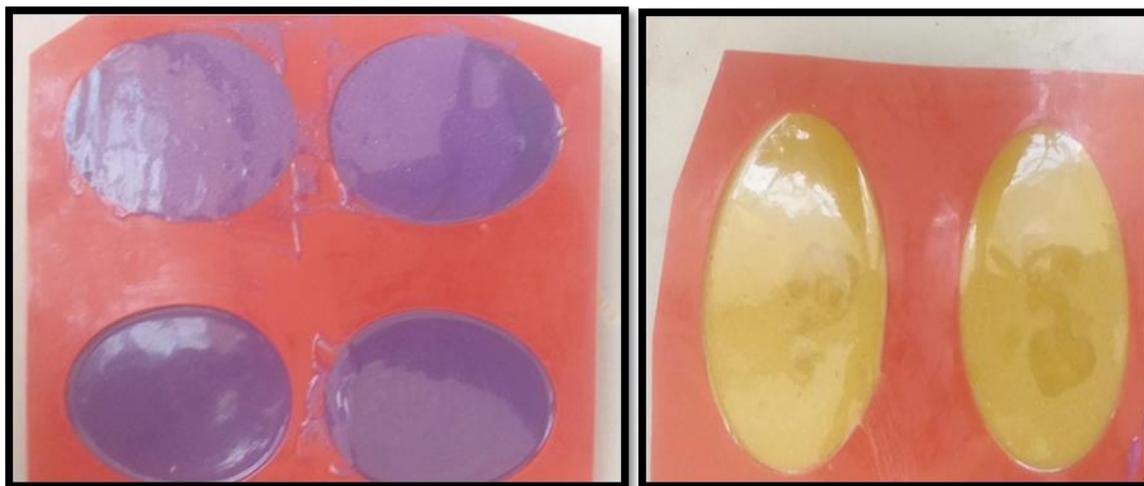
**Tableau 07** : Produits de savon utilisés.

Produits de savon utilisés
HUILE d'olive
SOUDE caustique (NaOH)
Eau
Huile essentielle d'E. globules
Argile blanche
Colorant verte et violet
Huile de sésame
Huile de coco
Beurre de karité

• **Etapas de fabrication du savon**

- ✓ Nettoyer et désinfecter du plan de travail ;
- ✓ Peser 8mg de pastille d'hydroxyde de sodium NaOH pour les mettre dans un récipient en verre ;
- ✓ Dissoudre la totalité des pastilles dans l'eau, tout en agitant avec une spatule ;
- ✓ Dans un autre récipient, Préparer le mélange des huiles (Huile d'olive + Beurre de karité + Huile de coco) et faite le chauffer à une température comprise entre 35-50°C, dans un bain marie que le mélange devient plus homogène ;
- ✓ Ajouter la solution d'hydroxyde de sodium dans les huiles (la différence de température entre les huiles et la solution d'hydroxyde de sodium ne doit pas dépasser 10°C) ;
- ✓ Mélanger à l'aide d'un mixeur les deux phases (eau/NaOH) et les huiles,
- ✓ Ajouter les additifs : l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, l'huile de sésame, l'argile blanche et le colorant vert/violet ;
- ✓ Continuez l'agitation jusqu'à l'apparition de la trace et le mélange devient comme une crème pâtissière, verser le savon dans le moule en silicone (**Fig.27**) ;
- ✓ Après la saponification : couvrir le moule avec papier film ;

- ✓ Laisser durcir le savon durant 48 heures (le temps varie selon la recette) ;
- ✓ Enfin, démouler le savon (la dureté de saponification est 4 à 6 semaines) et le stocker dans un endroit sec et frais.



**Figure 27** : Savon dans le moule.

## **8.2. Formulation d'une crème a base des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus***

La formulation de la crème a été réalisée en respectant les normes d'hygiène et les bonnes pratiques de fabrication (BPF) afin d'obtenir une crème de bonne qualité hygiénique. La phase aqueuse est composée d'ingrédients hydrophiles aux quels des agents humectant ont été ajoutés. Dans la phase huileuse, un mélange d'huile et de cire d'abeille est utilisé pour conférer une consistance agréable et une texture douce à la crème. De plus, des agents émulsifiants et les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* sont incorporés.

### **8.2.1 Composition qualitative d'une crème**

- Principe actif ;
- Phase lipophile;
- Phase hydrophile = emulsion;
- Agent(s) tensioactifs = émulsionnants ;
- Agent(s) épaississant(s) ;
- Agents conservateurs (antioxydant, antimicrobien) ;
- Agents aromatisants et agents colorants (**Ouahab, 2015**).

### 8.2.2. Formulation d'émulsion

L'objectif est de peser les ingrédients de chaque phase dans des récipients distincts. Ces récipients seront ensuite placés dans un bain-marie, à une température d'environ 40°C. Une fois que la phase huileuse, y compris l'émulsifiant, est fondue, il faut incorporer progressivement la phase aqueuse dans la phase aqueuse tout en agitant vigoureusement.

#### • Etapes de fabrication de la crème dermique

- ✓ Préparation de la phase huileuse déposer dans un b cher la quantité appropriée d'huile de sésame et d'huile d'Argan) et émulsifiant (Vitamine B2 (riboflavine)) ;
- ✓ Préparation de la phase aqueuse ;
- ✓ Mise des deux b chers au bain-marie à 35-40°C jusqu'à fusion complète des composés. Ces derniers sont mélangés sous une agitation mécanique rapide (bateur électrique) (**Fig.28**);
- ✓ La phase aqueuse sera versée dans la phase grasse par petites fractions en mélangeant entre chaque adjonction jusqu'au refroidissement ;
- ✓ Après refroidissement et à température ambiante, l'addition de l'huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de la Vitamine E (Tocophérol) et l'acide salicylique végétale, sous une homog n sation continue ;
- ✓ Addition d'un conservateur approprié et autorisé (Cosgard), sera faite pour assurer une conservation de l'émulsion et sa préservation des contaminations microbiennes ;
- ✓ Nous laissons le mélange final au réfrigérateur et on mesure le pH.



**Figure 28** : Crème dermique préparée.

### **8.3. Étude des propriétés du savon et de la crème obtenue**

#### **8.3.1. Détermination du Potentiel Hydrogéné (pH):**

La mesure du pH joue un rôle important pour l'identification et le contrôle des taux d'acidité et l'alcalinité dans l'industrie. La principale préoccupation à propos du savon et de la crème à l'heure actuelle est celle du pH, ce dernier sert à mesurer la concentration d'une solution aqueuse en ions  $H^+$ . Il permet de mesurer le degré d'acidité ou de basicité d'une solution et varie de 0 à 14. Si le pH est :

- Supérieur à 7 la solution est dite basique.
- Egal à 7 la solution est dite neutre.
- Inférieur à 7 la solution est dite acide.

Pour la mesure du pH, on prépare une solution aqueuse par le mouille de 0,5 g de savon/crème synthétisés et 150 ml d'eau distillée neutre  $pH=7$ . L'ensemble est soumis à une agitation constante pendant 2 minutes. Le pH est ensuite déterminé à l'aide d'un pH-mètre.

### **9. Analyse des données**

Les données ont été saisies, traitées et représentées sur des tableaux et des graphes par le logiciel « Microsoft Office Excel 2007 ». L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel WPS Office, les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart-type.

## 1. Détermination du rendement en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

Les rendements des HE extraites après séchage, par entraînement à la vapeur d'eau, à l'échelle de laboratoire de Biochimie 02, à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont été calculés. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{\text{Poids de l'HE} \times 100}{\text{Poids de la plante}}$$

$$R\% = \frac{4 \times 100}{920}$$

$$R\% = 0.43\%$$

Les huiles essentielles obtenues sont 100 % pures, 100 % naturelles. L'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a donné un rendement de 0.43%. Ce résultat est nettement inférieur à celui reporté par **Haddadi et Rabhi (2022)**, qu'ils ont obtenu des résultats de 0.80% et à celui reporté par **Djendli et Bouali (2022)** qui ont obtenus un rendement de 0.87% pour la même plante, mais plus élevé à ceux obtenus par **Boukhatem et al. (2014)** de la région de Blida dont le rendement est estimé 0.2%.

## 2. Caractérisation de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

### 2.1. Caractéristiques organoleptiques

Selon **AFNOR (2000)**, Les critères d'appréciations d'une huile essentielle sont ses propriétés organoleptiques telles que la couleur, l'aspect et l'odeur. La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées. Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé avec ceux de norme AFNOR selon le **Tab.08** et la **Fig.28**.

**Tableau 08:** Caractéristique organoleptiques de l'HE d'*Eucalyptus globulus*.

	Couleur	Odeur	Aspect
<b>HE obtenue</b>	Jaune foncé	Forte odeur (Fraîche et Epicée)	liquide
<b>Normes AFNOR</b>	Jaune	Forte odeur	Liquide



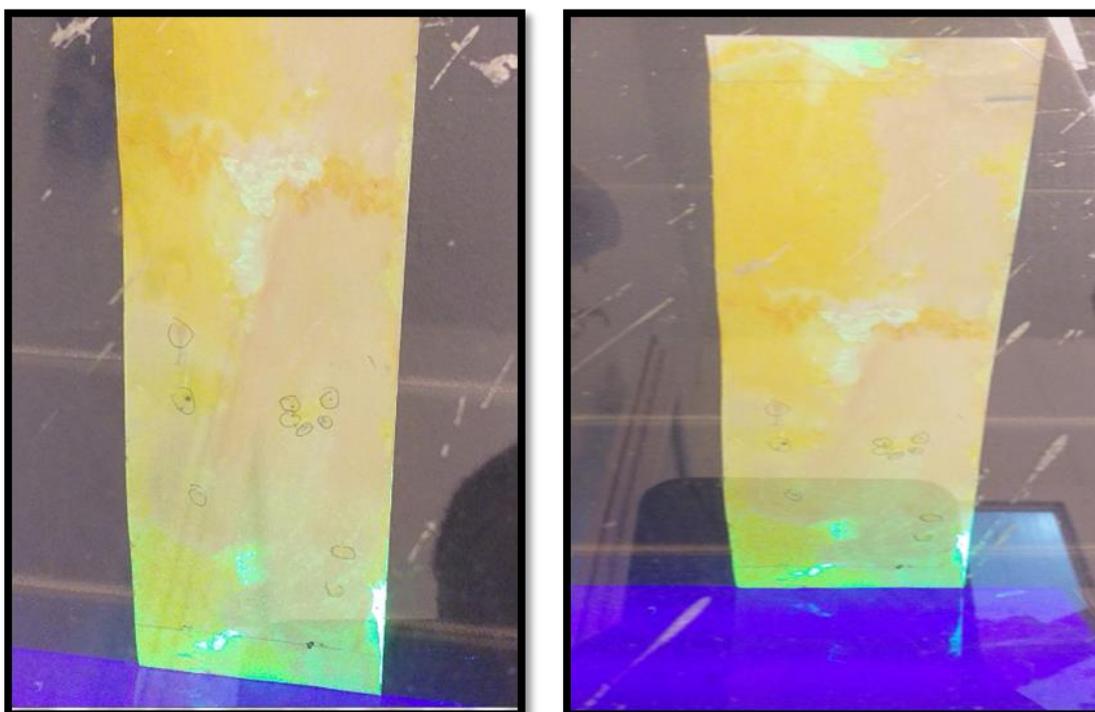
**Figure 29 :** Huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*.

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR. Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, et les huiles fixes, et la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. Ils sont odorants et inflammable. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 (densité de l'eau) et varie en fonction de leur composition chimique. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores ou jaune pâle à température ambiante (Dhifiet *al.*, 2016).

## 2.2. Caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

### 2.2.1. Chromatographie sur une couche mince

Le **tableau** et la **figure** suivants récapitulent les résultats de l'analyse par CCM de l'huile essentielle extraite des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, en mettant l'accent sur les facteurs de rétention (Rf) des constituants chimiques et leur réaction à la lumière UV à 254nm.



**Figure 30:** Résultat du test de CCM.

**Tableau 09 :** Résultat de la CCM.

Nombre de spots	1	2	3	4
Facteur de rétention Rf (cm) A	0.32	0.35	0.37	/
Facteur de rétention Rf (cm) B	0.29	0.30	0.32	0.33

Lors de l'analyse de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* par chromatographie sur couche mince, on constate la présence de plusieurs constituants qui se manifestent sous forme de tâches. En observant les chromatogrammes obtenus, on note :

**A/** La présence de 03 zones distinctes qui sont synonymes de la présence de 03 espèces chimiques majoritaires et d'autres composants chimiques avec des concentrations plus faibles, les composés majoritaires pourraient être : le 1,8-cinéol,  $\alpha$ -pinène et le globulol ;

**B/** La présence de 04 zones distinctes qui sont synonymes de la présence de 04 espèces chimiques majoritaires et d'autres composants chimiques avec des concentrations plus faibles, les composés majoritaires pourraient être : Le 1,8-cinéol,  $\alpha$ -pinène, le globulol et l'Eucalyptol.

### 2.2.2. Indice d'acide

L'indice d'acide est déterminé par de la relation suivante :  $IA = V \ 5,61 / m$

**V** : est le volume, en millilitres, de solution d'hydroxyde de potassium ;

**m** : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.

$$IA = V \ 5,61 / m$$

$$IA = 11 \times 5,61 / 2,8$$

$$IA = 1,42$$



**Figure 31** : Résultat de l'Indice d'acide.

D'après les normes **AFNOR**, l'indice d'acide varie entre 0,84 et 3,74. En comparaison avec celui de notre huile on trouve que l'indice d'acide des huiles essentielles extraites d'*Eucalyptus globulus* est de 1,42. Ce résultat est donc conforme à la norme française AFNOR.

L'indice d'acide est un paramètre qui renseigne sur le taux d'acides libres existant dans une huile essentielle, ce paramètre peut aider à connaître la qualité du produit. Quand l'indice d'acide est faible veut ont dit que l'HE est stable et ne subit pas d'oxydation inquiétante, car en s'oxydant, elle se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide (**Bessedik et Khenfer, 2015**), donc on peut dire que notre huile essentielle est stable.

### 2.2.3. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH a été mesuré à l'aide du papier pH en posant une goutte d'huile essentielle et en comparant avec la gamme de couleur selon le pH.

pH de l'huile essentielle des feuilles : pH = 6 (Fig.31).

Le pH est conforme aux normes AFNOR, où le pH varie entre 4 et 6.



Figure 32 : Résultat de pH.

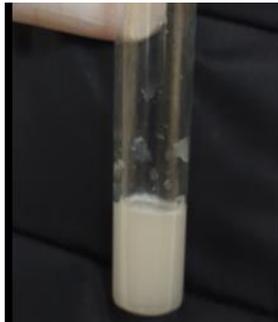
## 2.2. Analyse quantitative de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

### 2.2.1. Screening phytochimique

Le screening phytochimique des HEs a permis qualitativement, la mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires de l'espèce *E. globulus*, dont les résultats sont rassemblés dans le **tableau 10**.

**Tableau 10** : Résultats des tests préliminaires pour certains métabolites secondaires de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*.

Métabolites secondaires	Huile essentielle d' <i>E. globulus</i>	Résultats
Flavonoïdes	++	

<p><b>Tanins</b></p>	<p>+++</p>	
<p><b>Saponines</b></p>	<p>+</p>	
<p><b>Terpénoïdes</b></p>	<p>+++</p>	
<p><b>Alcaloïdes</b></p>	<p>+++</p>	
<p><b>Oses et Holosides</b></p>	<p>-</p>	

(+++): Présence en quantité importante.

(++): Présence en quantité moyenne.

(+): Présence en faible quantité.

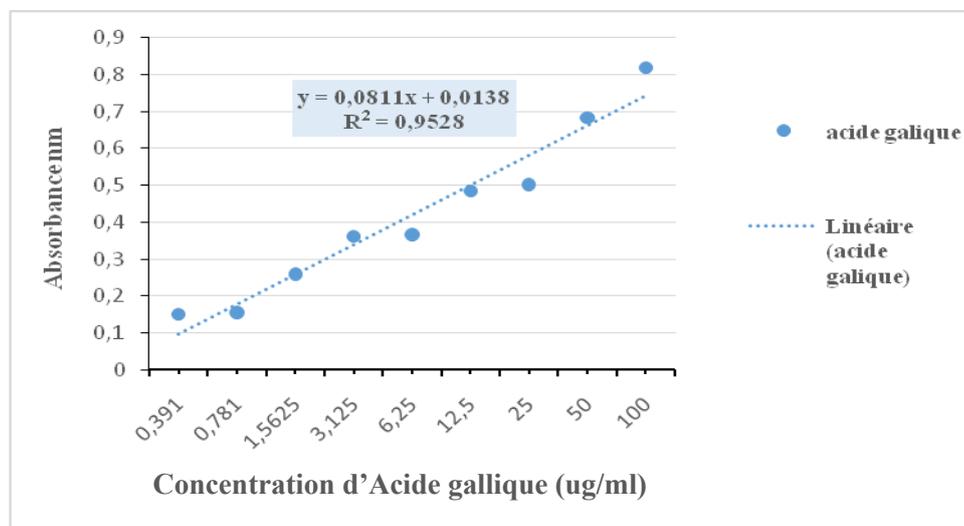
(-): Absence.

Le criblage phytochimique de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* a révélé une présence significative de plusieurs métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les terpènes et les alcaloïdes. Ces résultats sont en accord avec une étude menée par **Belbachir (2019)** sur une espèce d'*Eucalyptus* à Ain Timouchent en Algérie, qui a également observé la présence de ces métabolites. Cependant, les saponosides présents dans notre espèce ne sont pas présents dans l'espèce étudiée par **Belbachir (2019)**. La présence des saponosides dans notre espèce sont en accord avec les travaux de **Shubhreet et al. (2019)** sur l'*Eucalyptus* en Inde, qui ont obtenu des résultats similaires. De plus, cette espèce contient des flavonoïdes et des tanins, que nous avons également identifiés dans notre HE d'*Eucalyptus globulus*. La présence de certaines familles chimiques peut être déterminée, tandis que l'absence d'autres familles chimiques peut être observée. Cette variation dans les résultats peut s'expliquer par plusieurs paramètres, tels que des facteurs biologiques, géographiques ou physicochimiques. Par exemple, l'influence du stade de croissance de la plante, l'organe de la plante étudié, la différence de site de récolte incluant l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, les conditions du sol, la période de récolte, le patrimoine génétique et la méthode d'extraction utilisée. Ces facteurs peuvent influencer la composition chimique des plantes et expliquer les variations observées dans la présence ou l'absence de certaines familles chimiques (**Benini, 2007 ; Bruneton, 1999**).

### 2.3. Analyse quantitative de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

#### 2.3.1. Dosage des polyphénols totaux

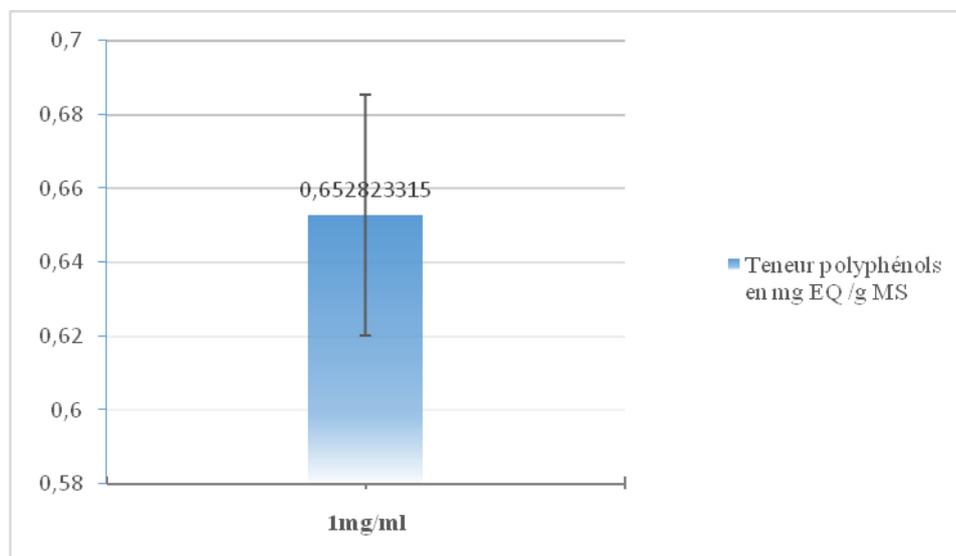
Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé en utilisant la méthode spectrophotométrique. Les résultats obtenus sont exprimés en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'huile essentielle (mg EAG/g HE).



**Figure 33** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

### 2.3.2. Teneur en polyphénols

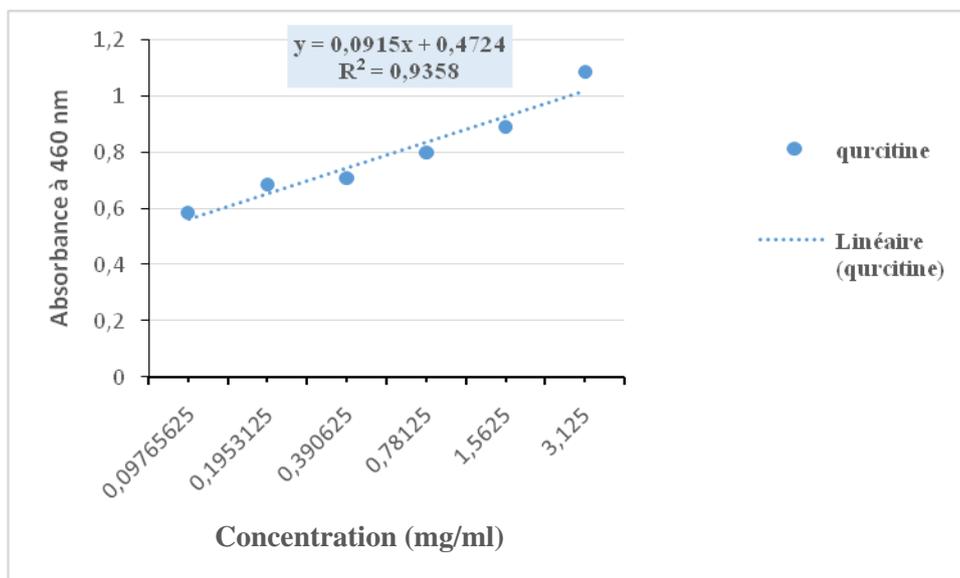
Les teneurs en polyphénols totaux exprimées en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'huile essentielle (mg EAG/g HE) sont représentées dans la **figure** suivante :



**Figure 34** : Teneur des polyphénols totaux en mg EAG/g HE.

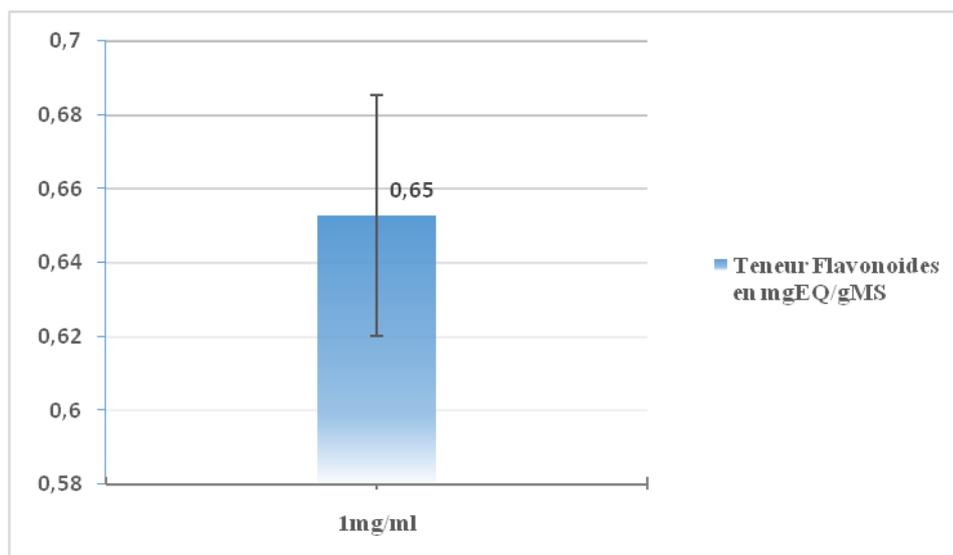
### 3.4. Dosage des Flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes se fait en fonction d'une courbe d'étalonnage réalisée par un flavonoïde standard (la quercétine).



**Figure 35** : Courbe d'étalonnage de la Quercétine.

Les teneurs en flavonoïdes d'huile essentielle sont exprimées en mg EQ/g MS, Les résultats obtenus sont élucidés dans la **figure** suivante :



**Figure 36:** Teneur des flavonoïdes en mg EQ/g MS.

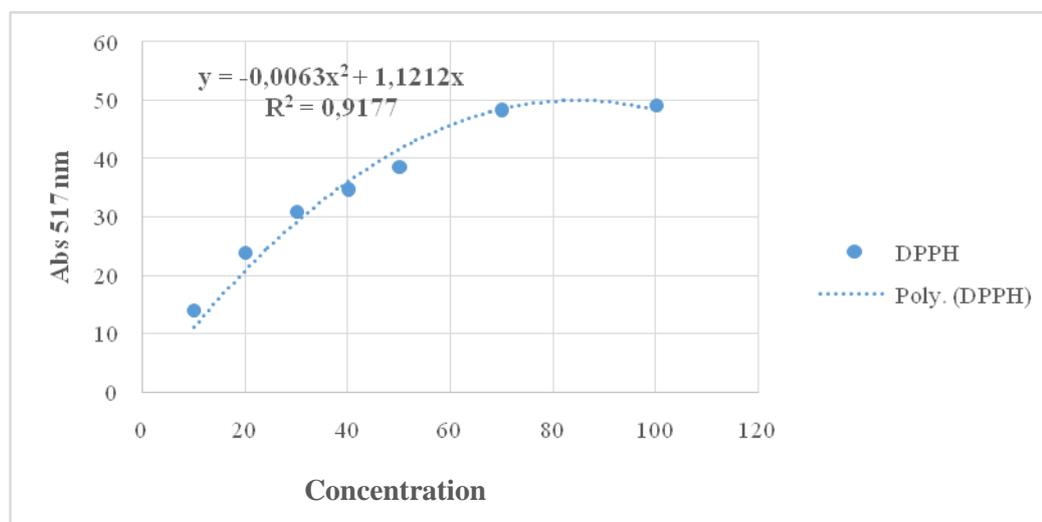
#### 4. Analyse de l'activité biologique

##### 4.1. Activité antioxydante

##### 4.1.1. Effet Scavenger du radical DPPH

Le radical DPPH• est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Bozin *et al.*, 2008). L'utilisation de ce test pour l'évaluation de l'activité antioxydante est avantageuse ou préférable puisque c'est un radical plus stable que les radicaux hydroxyles ou superoxydes.

Les résultats obtenus de l'activité antioxydante d'huile essentielle de plant étudiée sont représentés dans la **Figure** suivante :



**Figure 37:** Pourcentage de piégeage du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations d'HE d'*Eucalyptus globulus*.

L'allure exponentielle de courbe, signifie l'existence d'une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du radical libre et la concentration de l'échantillon dans le milieu réactionnel.

**Tableau 11:** Valeurs des IC50 d'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus*.

Échantillon	I <sub>max</sub> (mg/ml)	IC 50 (mg/ml)
HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	49±0.1	89±0.641

Les valeurs des IC50 déterminées graphiquement en mg/ml sont regroupées dans le **tableau 11**. L'activité antioxydante est inversement proportionnelle à l'IC50, c'est-à-dire plus la valeur d'IC50 est faible, plus l'activité antioxydante est importante.

Commençant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH, d'après les résultats obtenu, on peut constater que l'huile essentielle d'*E. globulus* est actif avec une concentration de 89 mg/ml pour piéger 50% du radical libre DPPH. **Singh et al. (2012)** ont trouvé une valeur d'IC50 de 425±6,79µg/ml, ces valeurs d'IC50 suggèrent un potentiel antioxydant élevé et dépendant de l'altitude des huiles essentielles des feuilles d'*E. globulus*.

#### 4.2. Activité antibactérienne

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de la mesure du diamètre des zones d'inhibition. Les résultats montrent que la présence d'HE exerce des effets variables sur la croissance des cinq bactéries testées. L'effet antibactérien, de l'huile essentielle des feuilles d'*E. globulus* testée, s'est révélé fort intéressant. En effet, l'échelle des valeurs de la CMI établie, a permis de distinguer la sensibilité des quatre agents pathogènes à la présence de l'HE. Cette sensibilité s'est manifestée par de faibles zones d'inhibition (inférieure à 20mm) quel que soit la concentration d'huile essentielle utilisée, les valeurs des diamètres des zones d'inhibitions des HE sont traduites selon le tableau suivant :

**Tableau 12** : Diamètres des zones d'inhibition de différentes dilutions d'HE huiles essentielles des feuilles d'*E. globulus*.

Souches Bactériennes  Dilutions	Gram négatif			Gram positif	
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>
<b>100%</b>	-	+	++	++	++
<b>50%</b>	-	+	++	+	++
<b>25%</b>	-	+	++	++	++
<b>12.5%</b>	-	+++	+	++	++
<b>6.25%</b>	+	+++	++	+	++
<b>Antibiotique</b>	-	+	++	+	+

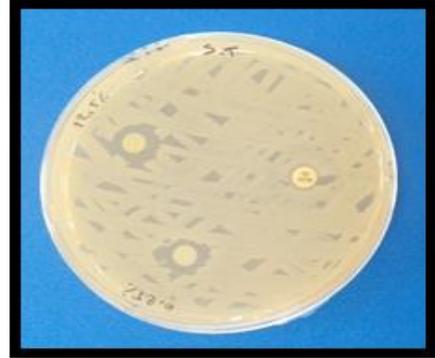
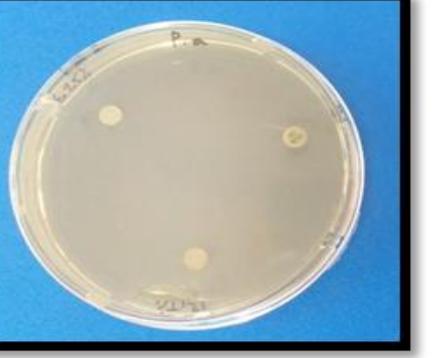
Les résultats sont exprimés selon quatre niveaux d'activité (Billerbeck, 2007)

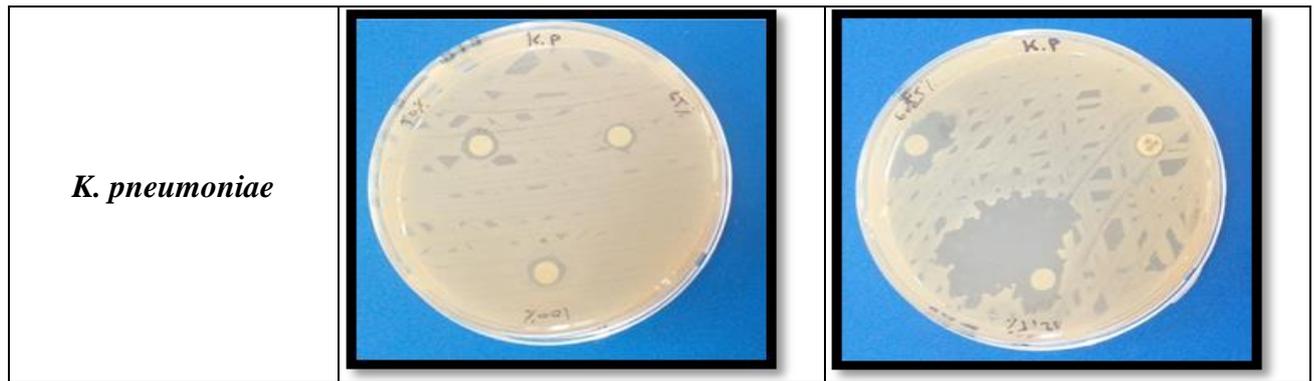
- Plus résistant (-) : **0**
- Résistant (+) : **1cm – 0,7cm**
- Intermédiaire (++) : **2cm – 1cm**
- Sensible (+++) : **3.5cm – 2cm**

Dans le **tableau** ci-dessous, sont montrées les zones d'inhibition de la croissance bactérienne causées par l'HE des feuilles d'*E. globulus*. L'analyse a révélé des différences significatives de la sensibilité des différentes bactéries pour l'HE. Le classement établi par l'analyse de la bactérie la plus sensible à la plus résistante est le suivant:

*K. pneumoniae* > *S. aureus* = *B. cereus* = *E. coli* > *P. aeruginosa*.

**Tableau 13** : Zones d'inhibition d'HE des feuilles d'*E. globulus* sur *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*.

<p><i>S. aureus</i></p>		
<p><i>E. coli</i></p>		
<p><i>P. aeruginosa</i></p>		
<p><i>B. cereus</i></p>		



Les diamètres des zones d'inhibition, nous permis de classer les espèces bactériennes en fonction de leur sensibilité à l'huile essentielle testée (**Dris, 2020**). Ces résultats, s'accordent avec ceux de **Raho et al. (2008)**, sur la résistance de *P. aeruginosa* vis à vis des HEs, ces auteurs ont expliqué la résistance de *P. aeruginosa* par sa forte capacité de métaboliser un large spectre de composés organiques, ce qui favorise leur utilisation dans la bioremediation. *P. aeruginosa* est connu pour sa forte résistance intrinsèque contre de nombreux antibiotiques due à la restriction de sa membrane extérieure même pour les produits synthétiques (**Elaissi et al., 2011**).

Dans le cas des bactéries à coloration de Gram positif, *S. aureus* et *B. cereus* s'est avéré plus sensible avec un diamètre d'inhibition maximale de 1,4cm. Ces résultats sont en accord avec une étude menée par **Pattnaik et al. (1997)**.

*E. coli*, décèlent une sensibilité vis-à-vis aux différentes concentrations testées (100, 50, 25, 12.5 et 6.25 mg/ml) avec des zones d'inhibition qui varient entre 1-2cm. Ces résultats concordent avec ceux trouvés par **Natália et al. (2023)**.

Nous constatons aussi que *Klebsiella pneumoniae* est la souche le plus sensible parmi les souches testées, avec des zones d'inhibition importante à la concentration 12.5% d'HE, ce qui a été confirmé par les résultats trouvés par **Merzougui et Ait (2023)**.

De nombreux chercheurs ont étudié les propriétés antibactériennes des huiles essentielles et la polarité différente des extraits de plantes brutes contre une variété de souches bactériennes. Ils ont constaté que les huiles essentielles avaient un fort effet antibactérien sur les souches bactériennes contre lesquelles ils ont été testés. Ce travail de recherche montre de grandes activités antibactériennes contre les Gram négatif et Gram positif similaires. Les résultats de cette étude sont comparables à ceux de la littérature précédente (**Said et al., 2023**).

D'après ces résultats on peut dire que l'effet antibactérien obtenu par l'HE d'*E. globulus* est important que celle obtenus par l'Antibiotique testé chez la plus part des bacteries à gram positif et négatif.

## 5. Fabrication des produits biocosmétiques

### 5.1. Savon bio

Les résultats obtenus montrent que la consistance du Savon obtenu est sèche avec une texture dure. L'aspect en général est acceptable avec une bonne odeur.



**Figure 38** : Savon après fabrication.

### 5.2. Crème

Les résultats obtenus montrent que la crème hydratante est homogène, sa texture est assez épaisse, mais se distribue de façon très facile dans la peau et pénètre rapidement, laissant un léger parfum.



**Figure 39** : Crème dermique après fabrication.

### 5.3. Propriétés de savon et crème

Les résultats obtenus pour la couleur et le test de potentiel hydrogéné (pH), de notre savon et crème, sont présentés dans le **tableau** ci-dessous :

**Tableau 14** : Potentiel hydrogéné (pH) pour certains types du savon.

Produits Bio	pH après fabrication	pH après 4 semaines et 24h	Couleur
Savon		7	- Violet - Violet
Crème		5	- blanche

Le tableau ci-dessus montre que la valeur de pH de notre savon est de 7 à qui est un pH neutre. Le pH obtenu est conformes à la norme des savons qui est fixée dans un intervalle de 7 à 10.5, donc notre produit est bon.

Une peau normale a un pH d'environ 6,5. La peau humaine a un pH relativement acide. Lors de l'usage d'un savon de toilette, l'acidité de l'épiderme est perturbée (**Adjibi, 2021**). Théoriquement, il apparait logique de croire que le savon soit irritant pour la peau. Pourtant, nous utilisons tous régulièrement le savon. En effet, après savonnage, les glandes sébacées se chargent en quelques minutes de réguler le pH de la peau en le ramenant à sa valeur initiale (**Bennama, 2016**).

La présente étude nous a permis d'évaluer l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'une plante médicinale de la région de Sidi M'hamed Ben Ali (wilaya de Relizane), qui est l'*Eucalyptus globulus* sur cinq souches bactériennes, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les HEs peuvent même être utilisées comme aromatisant grâce à leur propriété odorante, ce qui leur permet de remplacer les additifs, surtout que ces derniers sont pour la plupart d'origine synthétique, et leurs conséquences sur la santé publiques sont néfastes. L'extraction des HE d'*E. globulus*, qui a été réalisée par l'entraînement à la vapeur a donné un rendement de 0,43%.

L'analyse phytochimique met en évidence la présence de tanins, de saponines, d'alcaloïdes, de flavonoïdes et de terpénoides, mais en l'absence totale d'oses et d'holosides. En outre, l'analyse quantitative des polyphénols totaux à l'aide du réactif de Folin-Ciocalteu a permis d'extraire des teneurs significatives des polyphénols totaux à l'ordre de 0.652 mg EAG/g. L'analyse quantitative des flavonoïdes par la méthode  $AlCl_3$  a révélé que l'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus* contient une faible quantité de flavonoïdes (0.65 mg EQ/g).

En revanche, L'activité antioxydante d'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* étudiée, est évaluée par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus ont montré que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est douée d'un pouvoir antioxydant très important avec une IC50 de  $89 \pm 5.11$  mg/ml.

Cependant, D'après les résultats obtenus ont montré un effet antibactérien sur toutes les souches bactériennes testées avec les différentes concentrations : 100mg, 50mg, 25mg, 12.5mg et 6.25mg sauf pour la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* résistantes.

Enfin, ces résultats restent préliminaires et ouvrent de nouvelles perspectives pour notre travail. Ces perspectives incluent la possibilité de tester d'autres méthodes d'extraction et d'évaluer leur impact sur la composition chimique et les propriétés biologiques. Nous prévoyons également de compléter notre étude sur l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles étudiées avec d'autres tests pour confirmer nos résultats. De plus, nous avons l'intention de mener une étude *In Vivo* en administrant par voie orale ces huiles essentielles à des souris afin d'évaluer leur toxicité. Enfin, nous envisageons de tester l'activité antivirale de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, qui semble présenter des propriétés antivirales prometteuses.

A travers ce modeste travail, nous espérons avoir contribué à la valorisation d'*Eucalyptus globulus* comme plante médicinale traditionnelle, largement utilisée dans le monde.

## Références bibliographiques

- 📖 Aastha, B., June 11, 2022. *bleedgreenfoundation*. [En ligne]. Available at: <https://bleedgreenfoundation.com/list-of-natural-food-preservatives/>
- 📖 Aboutique dusafran, 2013. *aboutiquedusafran*. [En ligne]. Available at: <https://laboutique.dusafran.com/43-nos-sirops>
- 📖 AFNOR, 1989. (*Association Française de Normalisation*) *les Huiles Essentielles*.. France: Edition AFNOR, 2000..
- 📖 Afssaps, Novembre 2005. *Spectres d'activité antimicrobienne*, s.l.: s.n.
- 📖 Aït youssef M. 2006. Eucalyptus globulus L. In «Plante Médicinale de Kabylie», Ed.: Paris, pp: 126-130.
- 📖 Akolade, J. O. A. et al., 2010. Chemical composition antioxidant and cytotoxic effects of Eucalyptus globulus grown in north-central Nigeria .. *Nat. Prod. Plant Resour.*, 2012., pp. 1 - 8.
- 📖 Alain, S., s.d. 2004. Le sel dans les industries alimentaires. *12\_02\_2004*, p. 7.
- 📖 Alam, M. N., Bristi, N. J. & Rafiquzzaman, M., 2013. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm*, pp. 143-152.
- 📖 Almas, I., Innocent, E., Machumi, F. & Kisinza, W., 2021. Chemical Composition of Essential Oils from Eucalyptus gbulus and Eucalyptus maculata Grown in Tanzania.. *Sci. Afr.*
- 📖 Alonso-Gato, M., Astray, G., Mejuto, J. C. & Simal-Gandara, J., 2021. Essential Oils as Antimicrobials in Crop Protection.. *Antibiotics*, pp. 10- 34..
- 📖 Altheaprovence, 2017. *Altheaprovence*. [En ligne]. Available at: <https://www.altheaprovence.com/confection-dun-sirop/>.
- 📖 Amrane, K., 2011. étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla.. *mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de master en génie des procédés*,.
- 📖 Anonyme, 2013. *unacademy*. [En ligne]. Available at: <https://unacademy.com/content/kerala-psc/study-material/food-microbiology/natural-food-preservation/>
- 📖 Anonyme, 2019a. *Les additifs alimentaires*. université frères Mentouri constantires: s.n.
- 📖 Anonyme, 2019b. *Tisanella*. [En ligne]. Available at: <https://www.tisanella.com/plantes-unitaires-simples/26-badiane.html>
- 📖 Anton R., B. M. e. W. M., 2003. *Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*.. Paris: Cachan, France: Editions Tech & Doc; Editions.
- 📖 Arul Amuthan A,2012., 27 March 2012. Evaluation of diuretic activity of Amaranthus spinosus Linn. aqueous extract in Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 424-427.
- 📖 Assami., K., 2014. « Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du Carum carvi L. d'Algérie ».. *Thèse de Doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (Algérie)*.

## Références bibliographiques

- 📖 Baid., S., 2015. Etude de l'effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivé au Maroc par ACP. *Mémoire de Master Université de Fès (Maroc)*.
- 📖 Baudoux D., 2012. L'aromathérapie - Se soigner par les huiles essentielles. *Amyris*.
- 📖 Belbachir KH.A. 2019. Etude phytochimique et l'Activité Antioxydante de la plante Eucalyptus camaldulensis, Mémoire de Master, Université de Ain Temouchent.
- 📖 Ben Seddik, K., 2021. L'effet de méthode d'extraction sur la production d'huiles essentielles à partir de citrus aurantium (région de Ghardaïa)..
- 📖 Benabdelkader., T., 2012. Biodiversité, Bio activité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Aillées, Lavandula stoechas Sensu Lato, un Complexe d'espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique.. *Thèse de doctorat en Biologie et Ecophysiologie Végétale de l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et de l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France.*, pp. P10,25.
- 📖 Benini C. 2007. Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles Essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingénieur. Université Gembloux.
- 📖 BentabetLasgaa, N., 2015. Étude phytochimique et évaluation des activités biologiques de deux plantes Fredoliaaretioides et echiumvulgare de l'ouest algérien.. *Thèse de doctorat ( www.phytojournal.com/archives/2017/vol6issue2/.../6-1-53-637)*, pp. 20-21.
- 📖 Bentham, G.2017. *Plants of the World Online. Board of Trustees of the Royal Botanic Garden. Kew: s.n.*
- 📖 Bessedik M., Khenfer B. 2015. « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus et Thymus algeriensis contre quelques champignons phytopathogènes des palmes du palmier dattier (Phoenix dactylifera L) ». Mémoire de Master. Université de Ouargla (Algérie), 2015.
- 📖 Bey Ould Si Said, Z., 2014. Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus.. *Mémoire : Alimentation et Technologie Alimentaire. Bejaïa*, p. 109 P..
- 📖 Billerbeck, D. V.-G., 2007. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytotherapie*.
- 📖 Biosynth, 18 November 2023. *Biosynth Ltd.* [En ligne]. Available at: <https://www.biosynth.com/p/FB102690/17666-25-0-veratrine-hcl>
- 📖 Bohlmann J., K. C. ..., 2008. Terpenoid biomaterials. *Plants Journal*, pp. 54, pp. 656–69.
- 📖 Bokobana, E. M., 2014. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. [En ligne] Available at: [https://www.researchgate.net/publication/269998276\\_Insecticidal\\_Activities\\_ofOcimum\\_canu\\_m\\_Sims\\_Essential\\_Oil\\_on\\_Termites\\_Macrotermes\\_subhyalinus\\_Rambur\\_Isoptera\\_Termitidae?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7InBhZ2UiOiJwdWJsaWNhdGlvbiIsInByZXZpb3VzUGFnZSI6bnVsbH19](https://www.researchgate.net/publication/269998276_Insecticidal_Activities_ofOcimum_canu_m_Sims_Essential_Oil_on_Termites_Macrotermes_subhyalinus_Rambur_Isoptera_Termitidae?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7InBhZ2UiOiJwdWJsaWNhdGlvbiIsInByZXZpb3VzUGFnZSI6bnVsbH19)

## Références bibliographiques

- 📖 Boué, A., 2019. Do It Nature SAVONS. *Recettes à faire soi-même*, pp. 6 - 9.
- 📖 Boukhatem, M. N., Said, H. M. & SAIDI Fairouz et HAKIM Yahia, 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie).. *Artice de l'Unité de recherche en Biotechnologies Végétales, Département de Biologie, Université Saad Dahleb de Blida, Algérie.*, pp. p. 37-45..
- 📖 Boukhatem, M., 2017. *Eucalyptus globulus* (Labill.) : un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*.. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3>.: s.n.
- 📖 Boukhatem, M.N ., Ferhat, M.A ., Kameli, A .,Kerkedi, W ., Sadok Bouziane , M ., Saidi, F 2014. Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *Int Lett of Chem, Phys and Astron* (en ligne) , 17(3) : 303-15, 315 P. disponible sur :[file:///C:/Users/samir/Downloads/Quality\\_assessment\\_of\\_the\\_essential.pdf](file:///C:/Users/samir/Downloads/Quality_assessment_of_the_essential.pdf)
- 📖 Bousbia., N., 2011. extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydant a partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires.. *Thèse de doctorat en Chimie de l'université d'Avignon et des pays de Vaucluse et de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique.*, p. P16.
- 📖 Bouyahya A., B. Y. T. A., 2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, pp. pp.1-11.
- 📖 Bruneton J., 1999. *Pharmacognosy Phytochemistry medical plants* Lavoisie publishing, USA, New York 2 : a up plagans. pp : 555-558.
- 📖 Bruneton., J., 1987. *Elément de Phytochimie et Pharmacognosie*.. Paris: Ed. Tech. Et Doc. Ed Lavoisier.
- 📖 Bruneton., J., 1993. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Paris: Lavoisier. 623p.
- 📖 Caillet., S. e. L. M., 2007. Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.. *INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA)*, pp. 1 - 8.
- 📖 Candy G., 1977. Investigation into Chemical Composition and potentiel of selected number of a Rhodesian eucalyptus Unpublished Thesis,. *Univ of Rhodesia Dept of Pharmacy*..
- 📖 Cerasoli, S., 2016. *Eucalyptus globulus* and other eucalypts in Europe. *European Atlas of Forest Tree Species*, p. 91.
- 📖 Chaudhary, S. R. 2017. Progress on Azadirachta indica Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Frontiers in Plant Science*, 8 May.
- 📖 Clark, A. M., 1996. Natural products as a resource for new drugs. *Pharm*.
- 📖 CLSI, C., 2014. methods for dillution antimicrobial succceptibility tests for bacteria that grew aerobically.. *approved standard, national committee for clinical laboratery standard*., pp. Wayne, Pa, USA 9th edition.
- 📖 Colleaux, M., 2018. *Je crée mes cosmétiques à base d'huiles essentielles*. s.l.:s.n.
- 📖 Couic-Marinier F., L. A., 2013. Composition chimique des huiles essentielles.. *Actualités pharmaceutiques*., pp. 525, pp.22-25.

## Références bibliographiques

- 📖 Cristina, P., Ilonka, S. & Tylkowski, B., 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de génie industriel.*, pp. 25-39.
- 📖 Da Silva, f., 2010. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL.. *Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré -Nancy*, pp. p17,10,p18.
- 📖 De Vincenzi M., 2002. Constituents of aromatic plants. *eucalyptol. Fitoterapia.*, pp. 73(3): 269-275..
- 📖 Dewanto, V., Wu, K. & Adom, K., 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity.. *Agric Food Chem*, pp. 30-50.
- 📖 Djendli, s. & Bouali, l., 2022. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante médicinale «Eucalyptus globulus ». *Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master*, p. 40.
- 📖 Dokosi, O. B., 1998. *Herbs of Ghana*, Ghana: Ghana Universities Press.
- 📖 Dr ph, B., 2001. *les huiles essentielles*. france: jakin.
- 📖 Dubey VS., B. R. L. R., 2003. An overview of the non mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *Journal of Bioscience*, pp. 28, pp. 637–46..
- 📖 Ecosostenibile, 2004. *un mondo*. [En ligne]. Available at: <https://antropocene.it/en/2023/02/13/veratridine/>
- 📖 Edition., E. M. S., 2009. Cooperative On Phytotherapy. *European Scientific*.
- 📖 El haib., A., 2011. Valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytique.. *These de doctorat en Chimie organique et catalyse. Université de Toulouse III.France.*, pp. p 5,6 ,7.
- 📖 Elaissi, A. et al., 2011. Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species essential oils. *food Chemistry*.
- 📖 Elkassouani, N., 2013. *Les produits cosmétiques pour les soins du visage.*. s.l.:s.n.
- 📖 équilibrée, G. d. l., 2008. *vidal*. [En ligne]. Available at: <https://www.vidal.fr/sante /nutrition /choisir-preparer-aliments/conservation-aliments.html>
- 📖 Européenne, P., 2007. Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM). *Strasbourg, France*.
- 📖 Fabiyi, O., A, A. O. & Olatunji, G. A., 2020. Toxicity effect of Eucalyptus globulus on *Pratylenchus*. *Agric*, p. 36.
- 📖 Farah, H., Tarik, M. C. & Halla, N., 2018. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie* (<https://www.researchgate.net/publication/333871569>), pp. 3 - 4.
- 📖 Fassihi, R., 1991. Preservation of Medicines against Microbial Contamination., *S.A.Block*, p. pp. 871.

## Références bibliographiques

- 📖 Ferdes, I. & Saidia, N., 2019. « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. Et d'*Origanum floribundum* Munby. Sur des agents d'otomycoses : Cas d'*Aspergillus niger* ». *Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie)*.
- 📖 Festy, D., 2017. *Ma bible des huiles essentielles*. s.l., éditions Leduc.s.
- 📖 Franchomme, P. J. R. P. D., 2001. L'aromathérapie exactement Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.. *Édition Roger Jollois*.
- 📖 Futura, 2009. *Futura*. [En ligne] Available at: <https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-plante-medicinale-11529/>.
- 📖 Gorvel, D. J.-P., May 2018. Characterization of essential oil from *Ocimum gratissimum* leaves: Antibacterial and mode of action against selected gastroenteritis pathogens. *Microbial Pathogenesis*, Volume 118, pp. 290-300.
- 📖 Grosjean, N., 2013. *Le grand livre de l'aromathérapie*. Paris : Groupe Eyrolle; [www.editions-eyrolles.com](http://www.editions-eyrolles.com).
- 📖 Grosjean, N., 2015. *les huiles essentielles*. Paris: Deuxième édition.
- 📖 H., R., 2004. « Etude des huiles essentielles de *Cedrelopsis grevei*. Caractérisation–identification des constituants, activités biologiques ». *Thèse de Doctorat.université d'Antananarivo*.
- 📖 Haddadi, K. & Rabhi, H., 2022. Extraction des huiles essentielles de *Syzygium aromaticum* d'*Eucalyptus globulus*: antioxydante et antibactérienne vis-à-vis de deux pathogènes de l'homme.. *MEMOIRE De fin d'études*.
- 📖 Hardel, D. & Sahoo, L., 2011. Phytochemical and Pharmacological of *Eucalyptus globulus*. *Ayurveda Pharm*, pp. 2, 1527–1530.
- 📖 Hare, J. D., January 18, 1996. "Purification and Quantitative Analysis of Veratridine and Cevadine by HPLC". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. , pp. 149-150.
- 📖 Harkat-Madour, L. et al., 2015. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products* (<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.015>).
- 📖 Henn, T. a. R. W., 1989. *landscapeipm.tamu.edu*. [En ligne] Available at: <https://landscapeipm.tamu.edu/types-of-pest-control/chemical-control/organic/botanical/>
- 📖 Hill, A.F. O. S., 1996. *Hills Economic Botany*. *Tata McGraw-Hill Publishing Company*, pp. 588-590.
- 📖 Homeo MD 2013. [En ligne] Available at: <https://www.drhomeo.com/medecine/sabadilla-officinalis-homeopathic-medicine-its-use-indications-and-dosage/>
- 📖 Huete, A., 2012. *livre*. s.l.:s.n.
- 📖 Ivan, A., 2001. *Plants medicinal of the words*. *springer science*, p. P41.
- 📖 Jacovelli A. P. 2002. Cultivation and production of eucalypts in Africa With special reference to the leaf oils. In «*Eucalyptus The Genus Eucalyptus*», Ed.: Taylor and Francis, ISBN: 041527879-1.

## Références bibliographiques

- 📖 Jacovelli, A. P., 2002. Cultivation and production of eucalypts in Africa With special reference to the leaf oils. In «Eucalyptus The Genus Eucalyptus». , Ed.: Taylor and Francis, ISBN: 041527879-1..
- 📖 Jouhanneau, D., 1991. La médecine des plantes aromatiques: Phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan indien.. *Azalées Editions, St Denis*, p. 153 .
- 📖 Kalemba, D. & Kunich, A., 2003. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oils.. *Current Medicinal Chemistry*, pp. 10: 813-829..
- 📖 Kesbi, A., 2011. Étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. *mémoire de master en génie des procédés. Ouargla : Universite Kasdi Marbah*, p. 44.
- 📖 Khalid Z. Masoodi 1, I. A. 1. 2020 . Botanicals from the Himalayas with anticancer potential: an emphasis on the Kashmir Himalayas. *Biodiversity and Biomedicine*, pp. 189-234.
- 📖 Kim J.P.; Lee I.-K.; Yun B.-S.; Chung S.-H.; Shim G.-S.; Koshino H. and Yoo I.- D. 2001. Ellagic acid rhamnosides from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. *Phytochemistry*, 57, pp: 587-591.
- 📖 Kim, J. P. et al., 2001. Ellagic acid rhamnosides from the stem bark of *Eucalyptus globulus*.. *Phytochemistry*, 57., pp. pp: 587-591.
- 📖 Koziol, N., 2015. Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. *Sciences pharmaceutiques.*, p. 69.
- 📖 Kuntze, 1891. *Phrygana*. [En ligne]. Available at: <https://phrygana.eu/Flora/Solanaceae/Capsicum-frutescens/Capsicum-frutescens.html>
- 📖 Kurihara, F. A. S., 2021. *thase*. s.l.:s.n.
- 📖 Laib, I. , 2010. « Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs ». *Mémoire de Master. Université de Mentouri Constantine (Algérie)*..
- 📖 Lamara., M., 2012. Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L) Parl et de *Filipendula hexapetala* Gibb. *Mémoire de Magister Université de Sétif (Algérie)*..
- 📖 Lambert, J., 2023. *diffusons la science*. [En ligne] Available at: <https://diffusonslascience.fr/pourquoi-le-vinaigre-est-il-utilise-dans-la-conservation-des-aliments/A>
- 📖 Letellier, H., 2013. *Les additifs alimentaires*. paris: s.n.
- 📖 Ling F, W. 2012. *ffects of aqueous extract of Capsicum frutescens (Solanaceae)*. s.l.:s.n.
- 📖 Mabi.fr, s.d. *mabi*. [En ligne] Available at: <https://www.mabi.fr/fr/domaines-application/termite/>
- 📖 Madhavi., D. & Deshpande, S. e. S. D., 1996. Food Antioxidants Technological, Toxicological, and Health Perspectives. *Marcel Dekker, Inc. New york*, p. 65.

## Références bibliographiques

- 📖 Makhlouf, H., 2002. Les huiles essentielles de romarin et de clou de girofle : approche analytique et activité antioxydante sur une huile alimentaire. *Mémoire ingénieur, I.N.A.Alger*), p. 82p..
- 📖 Manel Ouerfelli, Ms. J. A., 2019. *Effect of Neem (Azadirachta indica L.) on Lipid Oxidation in Raw Chilled Beef Patties*. s.l.:s.n.
- 📖 Marlène, A., Guillaume, A., Laurent, D. & Sylvain, G., 2006. Comité de l'antibiogramme. *Société Française de Microbiologie*.
- 📖 Masso., 2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles précaution d'emploi.. p. 33.
- 📖 Merzougui, N. & Ait, y. A., 2023. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus sur quelques souches bactéries pathogène. *Mémoire Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master Option : Microbiologie appliquée*.
- 📖 Mishra A K, S. 2010. Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf. *Pharmacognosy Journal*, pp. 16 P25-28.
- 📖 Mohamed, M. A. Mai 2019. *Les conservateurs en pharmacie*. s.l.:Université de blida 1.
- 📖 Morigane, 2007. Grimoire des Plantes.. *Édition Histoire Ebook*, pp. 71- 115.
- 📖 Moudachirou M, 1999. Chemical composition of essential oils of Eucalyptus from Benin. *Essent. Oil Res-11*, pp. 109-118..
- 📖 Moujahid, A. et al., 2004. Activités antibactérienne et antifongique des extraits d'algues marines d'origine marocaine.. *Biologie et santé*., pp. Biologie et santé 299- 305..
- 📖 Moutier, L., 2018. *Les substances à risque dans les produits cosmétiques*. s.l.:s.n.
- 📖 Muhammad I ftikhar Ahmad, N. A. 2021. Phytochemical and pharmacological profile of Eucalyptus globulus. *globalscientific*, pp. v9, 2320-9186.
- 📖 Multon., J., 2002. Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaire.. *Paris, Lavoisier*, pp. 207-231.
- 📖 Myrtea-formations, 2014. *myrtea*. [En ligne] Available at: <https://www.myrtea-formations.com/index.php?mod=aromatheque&rubrique=P&act=fiche&ind=289>
- 📖 N'Guessan, Y., 2007. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. [En ligne] Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2008.10643662> [Accès le 12 mar 2013].
- 📖 Natália, C. m. et al., 2023. Chemical Composition and Biological Activities of Eucalyptus globulus Essential Oil. *plants*.
- 📖 Oden Bella Martial Gervais 2014. Technique améliorée de fabrication artisanale de savons et détergents, page 11 ; 24.
- 📖 Oussou, K. R. et al., 2010. Etude Chimique Bio-Guidée de l'huile Essentielle de Ocimum Gratissimum.. *journal casanova*, 40(1), pp. 50-59..

## Références bibliographiques

- 📖 Oussou, K.R., Yolou, S. F., Tue, Bi B., Kanko, C., Boti, J.B., Ahibo, C. 2010. Etude Chimique Bio-Guidée de l'huile Essentielle de Ocimum Gratissimum, journal casanova, 40(1) :50-59.
- 📖 P, B., 1952. Guide du forestier en Afrique, du Maroc, de Tunisie. Ed librairie agricole. Horticole forestier et Ménagère, Paris,. p. 496p.
- 📖 P.I., P., 2010. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.. *These de Doctorat en: Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse.*, pp. P 9 ,P17,P19.
- 📖 Patil V, A. & Nitave S, A., 2014. Eucalyptus Globulus: A Divine Medical Herb. *Pharm Pharm Sci*, pp. 3(6), 559-567..
- 📖 Pattnaik, S., Subramanyam, V., Bapaji, M. & Kole, C. R., 1997. Antibacterial and antifungal activity of aromatic constituents of essential oils.. *Microbios.*
- 📖 Pereira S., F. S. & Neto P.,, 2005. Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of Eucalyptus globulus grown in Portugal. *Flavour and fragrance journal flavour fragr.*, p. 20: 407-409.
- 📖 picturethisai, s.d. [En ligne]. Available at: <https://www.picturethisai.com /fr/wiki/Amaranthus spinosus.html>
- 📖 Piochon, M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne:composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse.. *Thèse de doctorat en ressources renouvelables.Universite du Quebec.*, pp. 7 - 11 - 17 - 20.
- 📖 Piochon., M., 2008. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne:composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse.. *Thèse de doctorat en ressources renouvelables.Universite du Quebec.*, pp. P7,11,17,20.
- 📖 Plainfosse, H., 2020. *Thèse De Doctorat.*
- 📖 Press, A. T. 1992. *Neem*. [Art] (wash-ington, DC, USA.).
- 📖 Quézel, P. e. S. S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales.. *Tome*, pp. 2, p 637..
- 📖 Raaman, N., 2006. Phytochemical techniques.. *New India Publishing, New Delhi, Inde.*
- 📖 Raho, B., Ghalem, M. & Benali, M., 2008. Antibacterial activity of leaf essential oils of Eucalyptus globulus and Eucalyptus camaldulensis. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, pp. 212 - 2015.
- 📖 Ramsey, J. & T., 2020. Essential Oils and Health. pp. p.291-305..
- 📖 Randrianarivelo, R., 2010. Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de madagascar « cinnamosma fragrans » alternative aux antibiotiques en crevetticulture. *these Docteur ès science de la vi de l'Université d'Antananarivo " biochimie (biotechnologie - Microbiologie) "*, pp. 20 - 21.

## Références bibliographiques

- 📖 Ray J., G. P. A. B., 2015. Approach of Eucalyptus Globulus plant for human Health Safety and *plant Sci.*, pp. 1(1), 1-10..
- 📖 Retrieved, 2021-08-12.. *Plants of the World Online*. [En ligne] Available at: [a b "Ocimum americanum L. | Plants of the World Online | Kew Science"](#)
- 📖 Richard., f., 1992. Manuel des corps gras. *Lavoisier, Tec. Doc*, pp. 1228-1242..
- 📖 Said, N. S. et al., 08 December 2023. Bioactive, antioxidant and antimicrobial properties of chemically fingerprinted essential oils extracted from Eucalyptus globulus: in-vitro and in-silico investigations. *frontiers chemistry*, pp. 7 - 8.
- 📖 Schnebelen, A. M. B. e. J.-C., 2012. *Huiles essentielles*. Paris: Éditions First.
- 📖 Scott I.M., K. N., 2000. *The toxicity of à neem insecticide to populations of culicidae and other aquatic invertebrates as assessed in situ microcosms*. Bénin: Bénin, UAC.
- 📖 Shubhreet Kaur, Dr. Saurabh Gupta, Priyae Brath Gautam. 2019. Phytochemical analysis of Eucalyptus leaves extract. *Journal of Pharmacognosy and Photochemistry*; 8(1): Pp: 2442-2446.
- 📖 Silva, J. et al., 2003. Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Essential. *J. Ethnopharmacol.*, pp. 89, 277–283..
- 📖 Song A., W. Y. L. Y., 2009. Study on the chemical constituents of the essential oil of. *Traditional Medicines*, p. 4 (4)PP.
- 📖 Soufiane, M., 2020/2021. *Enquête sur l'impact de la consommation des conservateurs alimentaires sur la santé humaine*. s.l.:université de telmcen.
- 📖 Taste, 2015. *taste*. [En ligne] Available at: <https://www.12taste.com/fr/1-2-taste-blogs/common-natural-food-preservatives-used-in-food-processing/>
- 📖 Techno-science, 2020. *techno-science*. [En ligne] Available at: [https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Capsaicine-page-2.html#ref\\_5](https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Capsaicine-page-2.html#ref_5)
- 📖 Teisseire, P., 1991. Chimie des substances odorantes. *Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France*, p. p480..
- 📖 Tesche, S. e. M. F., 2008. The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis.. *Arch. Otorhinolaryngo.*
- 📖 Tlili, A. H. B., 2017. Etude analytique comparative et caractérisation de l'huile essentielle des différentes parties d'Ocimum basilicum L cultivées sous climat aride. *Mémoire de master, Université de Ouargla (Algérie)*..
- 📖 Tyagi, A. & Malik, A., 2011. Antimicrobial potential and chemical composition of Eucalyptus globulus oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.. *Food Chemistry*, p. 228–235.
- 📖 Vankar, P. S., Tiwari, V. & Srivastava, J., 2006. Extracts of stem bark of Eucalyptus globules as food dye with antioxidant properties.. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 5., pp. pp: 1664-1668.

## *Références bibliographiques*

- 📖 Vigo, E., Cepeda, A., Perez-Fernandez, R. & Gualillo, O., 2004. In-vitro anti-inflammatory effect of Eucalyptus globulus and Thymus vulgaris.. *Pharm. Pharmacol.*, pp. 257 - 263.
- 📖 Vilela, G. R. D., 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from Eucalyptus. *Stored Products Research.*, p. pp. 108-111..
- 📖 W.E., F., 1911. Eucalyptus Oil Poisoning. *British Medical Journal*, pp. 359-360.
- 📖 Willemse, s.d. [En ligne] Available at: <https://www.willemsefrance.fr/blogs/nos-guides-de-jardinage/eucalyptus-globulus-caracteristiques-et-utilisations>
- 📖 Zakia, M. B., 2014. Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale Eucalyptus globulus. *Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister.*
- 📖 Zelles, T., 2009. "Mechanism of the persistent sodium current activator veratridine-evoked Ca<sup>2+</sup>elevation: implication for epilepsy". *Journal of Neurochemistry.*
- 📖 Zhiri., D. A. & Baudoux, D., 2005. *Huiles essentielles chémotypées*. Française: Ar.Ma.Thérapie Scientifique.