



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de **MASTER** en Sciences alimentaires

Option : Agroalimentaire et contrôle de qualité

Thème

Activité antioxydante de l'huile essentielle de l'Eucalyptus

présenté par :

- **Salah Siham**
- **Megherbi Ibtissem**

Soutenu le 29 juin 2020 devant le jury composé de :

Président : Melle Ghanemi Fatima Zohra MCB univ.Abou Bekr Belkaid Tlemcen

Encadreur : Mme Seladji Meriem MCB univ.Ahmed Ben Bella Oran 1

Examineur : Mme Dib Hanane MCB univ.Abou Bekr Belkaid Tlemcen

Année universitaire
2019/2020

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions **Allah** qui nous a donné le courage, la force, et la santé pour terminer ce modeste travail.

Nous tenons à remercier, notre encadreur Madame **Seladji M**, maitre de conférences classe B à l'université Ahmed Ben Bella Oran1, pour le privilège et la confiance qu'elle nous accordé durant l'étude pratique, merci d'avoir accepté de diriger ce travail avec compétences, pour sa disponibilité, son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils, madame, sincèrement on vous exprime notre respect et gratitude.

Nous remercions vivement notre enseignante de master **Melle Ghanemi F Z**, maitre de conférences classe B à l'université Aboubekr Belkair-Tlemcen, pour ses encouragements tout au long de nos études , elle a toujours été présente lorsqu'on avait besoin d'elle, merci de nous avoir fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.

Nous tenons également à adresser nos vifs remeriements à **Mme Dib H** ,maitre de conférences classe B à l'Université Abou bekr Belkaid Tlemcen pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier tous les membres du laboratoire des produits naturels « LAPRONA ».

Nos remerciements particuliers s'adressent à tous les enseignants des départements de Biologie et d'Agronomie qui ont contribué à notre formation.

Enfin, un grand merci à toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Merci à tous!

Dédicace

Je commencerai tout d'abord par remercier **Dieu**, le tout puissant, qui m'a accordé la santé et la volonté pour terminer ce travail.

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je ne vous porte ni la gratitude que je vous témoigne pour tous, les sacrifices que vous n'avez jamais cessés, de consentir pour mon instruction et mon bien être pour toi **père** et surtout **ma mère**, mon soutien moral, la source de mes efforts, ma vie, mon bonheur et mon courage celle qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir.

A la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, mon adorable **frère Mohamed**, je dédie ce travail dans le grand plaisir, je le remercie pour ses conseils, son aide et ses encouragements.

J'ai eu la chance d'avoir une famille maternelle de cœur, qui m'avez soutenu grâce à votre présence chaque fois que cela été nécessaire

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études, mes aimables sœurs et amies **Mounia, Kawter, Widad, Soumai, Nihad, Jihan.**

A ma sœur binôme **Ibtissem**, ces lignes ne seront pas suffisantes pour exprimer l'étendue de mes remerciements pour tout le soutien durant ces 2 dernières années dans les bons moments, je lui souhaite une longue vie dans les bras de sa famille.

Toute personne qui me connaît de près ou de loin.



Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, a précieuse offre de Dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Bounouar**.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse, mon adorable mère **Amina**.

A mes frères **Billal, Youssef, Mohamed** et **Hichem**, et à mon fiancé **Ismail**, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encouragé et soutenir tout au long de mes études que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur

A mes belles sœurs **Wafaa** et **Fatima** qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés.

A tous les cousins et surtout ma cousine **Faiza**, merci pour leur amour et leur encouragement.

A ma nièce **Meriem** et mes neveux **Adam** et **Anes** je vous aime trop mes bébés d'amour.

Et aussi mes copine **Selma** et **Nesrine** que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

Sans oublier ma sœur, mon binôme **Siham** pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.

A tous ceux que j'ai oublié, je m'en excuse et je vous remercie aussi. A tous ceux qui ont donné sens et importance à ma vie, je vous aime.



Ibtissem

Résumé

Eucalyptus globulus (Myrtacées) est un arbre largement utilisé en médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés thérapeutiques. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle des feuilles et fruits de cette espèce.

La première partie de notre étude consiste en l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, qui a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle est de l'ordre de $0.83 \pm 0,68$ %.

La deuxième partie de notre travail a porté sur une analyse d'articles qui ont traité la composition chimique et l'activité antioxydante par trois tests différents (le test du piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment du β -carotène et le pouvoir de réduction de fer) de l'huile essentielle d'*E.globulus*.

Pour les résultats de l'analyse chimique, les principaux composants des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont 1,8-cinéole, également appelé eucalyptol (55,29%) et Isovaleraldehyde (10,04%), alors que pour l'huile des fruits de la même espèce, les principaux composants étaient le Globulol (23,6%) et Aromadendrène (19,7%).

Les IC50 trouvés par les différentes équipes sur les huiles essentielles d'*E. globulus*, montrent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une bonne activité antioxydante.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante

Abstract

Eucalyptus globulus (Myrtacées) is a tree widely used in traditional Algerian medicine for its therapeutic properties. The aim of this study is to assess the antioxidant activity of the essential oil of the leaves and fruits of this species.

The first part of our study consists of extracting the essential oil of *Eucalyptus globulus*, which was carried out by hydrodistillation. The essential oil yield is around $0.83 \pm 0.68\%$.

The second part of our work focused on an analysis of articles which treated the chemical composition and the antioxidant activity by three different tests (the DPPH free radical trapping test, the β -carotene bleaching test and the power iron reduction) of *E.globulus* essential oil.

For the results of the chemical analysis, the main components of the leaves of *Eucalyptus globulus* are 1,8-cineole, also called eucalyptol (55.29%) and Isovaleraldehyde (10.04%), while for fruits of the same species, the main components were Globulol (23.6%) and Aromadendrene (19.7%).

The IC50s found by the different teams on essential oils from *E. globulus*, show that the essential oil of *Eucalyptus globulus* has good antioxidant activity.

Key words: *Eucalyptus globulus*, essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity.

ملخص

شجرة الكينا (Myrtaceae) هي شجرة تستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لخصائصها العلاجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري لأوراق هذا النوع وثماره.

يتكون الجزء الأول من دراستنا من استخراج الزيت العطري لكوكب الأوكالبتوس ، والذي تم بواسطة التقطير المائي. عائد الزيت العطري حوالي $0.68 \pm 0.83\%$.

ركز الجزء الثاني من عملنا على تحليل المقالات التي عالجت التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاثة اختبارات مختلفة (اختبار تثبيت الجذور الحرة لـ DPPH ، واختبار التبييض β كاروتين وخفض الحديد) من E.globulus الأساسية نפט.

بالنسبة لنتائج التحليل الكيميائي ، فإن المكونات الرئيسية لأوراق شجرة الكينا هي 1٠8-سينول ، وتسمى أيضاً يوكالبتول (55.29٪) وإيزوفاليرالدهيد (10.04٪) ، بينما بالنسبة للفواكه من نفس النوع ، كانت المكونات الرئيسية غلوبولول (23.6٪) وأرومادينرين (19.7٪).

تظهر IC50s التي عثرت عليها الفرق المختلفة على الزيوت الأساسية من E. globulus ، أن الزيت العطري لكرات الأوكالبتوس له نشاط جيد مضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: كروية الأوكالبتوس ، الزيت العطري ، التقطير المائي ، النشاط المضاد للأكسدة.

Table des matières

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	I
Abstract	II
ملخص	III
Table des matières	IV
Liste des abréviations	VI
Liste des figures	VII
Liste des tableaux	VIII
Introduction	2
Synthèse bibliographique	
Chapitre 1 : Les plantes médicinales	
1. Définition	6
2. L'action des plantes médicinales	6
3. Avantage de la phytothérapie	6
4. Les facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie	7
5. Les éléments actifs des plantes	7
6. Le contrôle de la qualité	12
Chapitre 2 : Les huiles essentielles	
1. Définition	14
2. Activités biologiques des huiles essentielles	14
3. Extraction	
3.1. Principe méthodes d'extraction des huiles essentielles	16
3.2. Les nouvelles techniques d'extraction	20
4. Utilisation des huiles essentielles	21
5. Composition chimique des huiles essentielles	22
6. Toxicité des huiles essentielles	25
7. Contrôle qualité des huiles essentielles	25
Chapitre 3 ; Présentation de la plante étudiée	
1. Origine et définition	27
2. Description botanique	28
3. Classification botanique	29
4. Dénominations internationales.....	30
5. Principaux composants chimiques du genre Eucalyptus	30
6. Utilisations	30
7. Travaux antérieurs	31
Matériel et méthodes	
1. Identification et préparation de l'échantillon	34
2. Extraction de l'huile essentielle de la plante étudiée	34

3. Le rendement	36
4. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles	36
a. Piégeage du radical libre DPPH	37
b. Test de blanchiment du β carotène	39
c. Méthode de la réduction du fer FRAP	40
Résultat et discussion	
1. Rendement en huile essentielle	43
2. Analyse des articles	44
2.1.Composition des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	44
2.2.Activité antioxydante d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	47
Conclusion	57
Références bibliographiques	59

Liste des abréviations

AAI : Indice d'activité antioxydant

AFNOR : L'association Française de Normalisation

ASE : Accelerated Solvent Extraction

BHA : Butylhydroxyanisole

BHT : Butylhydroxytoluène

BPF : Bonne pratique de fabrication

CG-SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrozyl

E : Eucalyptus

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

HE : Huile essentielle

IC50 : Concentration permettant d'inhiber 50% du radical DPPH

INRS-IAF : Institut national de recherche et de sécurité-Institut Armand-Frappier

M : Monoterpènes

OM : Monoterpènes Oxygénés

OS : Sesquiterpènes oxygénés

rpm : rotation per minute

S : Sesquiterpènes

UV-VIS : Ultraviolet-visible

VMHD : Vacuum Microwave hydro Distillation

Liste des figures

Figure 1 : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique.....	7
Figure 2 :Structure de base des flavonoïdes	8
Figure 3 : Structure générales des coumarines.	10
Figure 4 : Exemple d’alcaloïde la morphine	11
Figure 5 : Schéma du montage d’hydro-distillation	17
Figure 6 : Entraînement à la vapeur d’eau	18
Figure 7 : Schéma du procédé d’hydrodiffusion	18
Figure 8 : Structure chimique d’isopène	23
Figure 9 : Structure chimique de quelques composés terpéniques	23
Figure 10 : Structure chimique de quelques composés aromatiques	24
Figure 11 : Photographie des arbres Eucalyptus de région de Tlemcen	27
Figure 12 : Les feuilles d’Eucalyptus globulus	28
Figure 13 : Représente les feuilles, les fleurs et les fruits d’eucalyptus	29
Figure 14 : Schéma général du travail expérimental	33
Figure 15 : Montage d’extraction par hydrodistillation (Clevenger).....	35
Figure 16 : Photographie montrant la séparation de l’huile essentielle par décantation	36
Figure 17 : Structure chimique du DPPH et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant	37
Figure 18 : Activité de piégeage des radicaux libres(%) (A) ,pouvoir réducteur(B)..... et inhibition de la capacité de peroxydation de l’acide linoléique© des extraits d’huiles essentielles des fruits d’E globulus.	49
Figure 19 : Activité d’élimination des radicaux libres(%) de l’huile essentielle de feuilles d’E globulus	50
Figure 20 : Pouvoir réducteur de l’huile essentielle de feuilles d’E globulus	51
Figure 21 : Activité antioxydante de l’huile essentielle de feuilles d’E globulus, BHA et témoin, mesure par le test β -carotène/ acide linoléique	52

Liste des tableaux

Tableau I : Structures de base des principaux flavonoïdes.....	9
Tableau II : Rendement en (%) des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus.....	43
Tableau III : Composition des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'E globulus	44
Tableau IV : Les articles sélectionnés pour l'analyser.....	47
Tableau V : Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle d'eucalyptus mesuré par deux méthodes différentes (valeurs moyennes \pm écart type).....	52

Introduction générale

Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Chacune de ces plantes peut contenir des centaines voire des milliers de métabolites secondaires, ou de principes actifs qui peuvent produire différentes actions physiologiques sur le corps humain (**Edeoga et al., 2005**).

Les huiles essentielles sont l'un des plus importants produits naturels provenant de plantes pour leurs diverses propriétés biologiques à usages médicamenteux (**Elshafie et al., 2015**). Les plantes productrices des huiles essentielles ont été utilisées aussi depuis des milliers d'années. L'exploitation de ces métabolites végétaux a commencé au XIXe siècle, et le plus souvent suivie par la détermination de leur composition chimique et leur activité biologique presque exempte d'effets secondaires (**Shaukat et al., 2013**). Les principaux avantages de phytothérapie semblent être leur efficacité perçue, la faible incidence d'effets indésirables graves et à leur faible coût (**Nguta et al., 2015**).

Ainsi, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments. En outre, les huiles essentielles se sont avérées avoir divers effets pharmacologiques : comme antispasmodique, carminative, hépatoprotecteur, antiviraux, anticancéreux (**Bowles, 2004 ; Lahlou, 2004**) et antioxydants (**Viuda-Martos et al., 2011**).

L'intérêt pour les antioxydants d'origine végétale, à savoir les polyphénols, a considérablement augmenté au cours des 10 dernières années, principalement en raison de leurs propriétés bénéfiques dans plusieurs maladies, notamment les maladies cardiovasculaires, inflammatoires et neurologiques, le cancer, ainsi que pour retarder le vieillissement (**Bastianetto et Quirion, 2002 ; Scalbert et al., 2005 ; Wang et al., 2008**). Le mécanisme d'action généralement accepté de ces composés est que l'activité d'élimination des radicaux libres des polyphénols contribue à réduire le stress oxydatif et à prévenir le développement de maladies (**Huang et al., 2001 , Wang et al., 2008**).

La plante *Eucalyptus globulus* est une plante médicinale connue pour sa richesse en composés bioactifs tels que les huiles essentielles, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins hydrolysables (**Bey-Ould Si Said, 2016 ; Chinnarasu et al., 2015 ; Harkat-Madouri et al., 2015**). En raison de leurs multiples activités biologiques les

huiles essentielles d'*E. globulus* sont utilisées en médecine, en parfumerie et dans l'industrie alimentaire (**Hasegawa et al., 2008 ; Tyagi et Malik, 2011**).

Notre laboratoire et particulièrement notre équipe s'intéresse de très près à la chimie et aux activités biologiques (antioxydantes et antimicrobiennes) des extraits végétaux des plantes soupçonnées médicinales dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des produits naturels. En vue d'apporter une contribution à la connaissance de l'espèce végétale *Eucalyptus globulus*, nous avons effectué ce travail qui a été réalisé en trois parties.

- La première partie concerne l'étude bibliographique.
- La deuxième partie concerne les différentes techniques utilisées dans l'expérimentation, elle englobe : L'extraction de l'huile essentielle de la plante *Eucalyptus globulus* par la méthode de l'hydrodistillation, le rendement en huiles essentielles et l'évaluation de l'activité antioxydante par différents tests (Piégeage du radical libre DPPH, test du blanchiment du β -Carotène et la méthode de la réduction du fer FRAP).
- Dans la troisième partie, nous présentons les résultats, et nous terminons par une conclusion.

Synthèse bibliographique

Chapitre 1

Les plantes médicinales

Définition :

On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Schauenberg et Paris, 2006**).

Les plantes médicinales sont très importantes pour l'élaboration des médicaments et la recherche pharmacologique, car leurs constituants sont utilisés comme des agents thérapeutiques (**Gurib Fakim, 2006**).

Environ 35000 espèces de plantes sont employées dans le monde à des fins thérapeutiques, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains. Les plantes médicinales continuent de répondre à un besoin important malgré l'influence croissante du système sanitaire moderne (**Ahmed, 1995**).

1. L'action des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie ; elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Chevallier, 2001**).

2. Avantage de la phytothérapie :

Certains des avantages de la phytothérapie sont en relation avec les plantes elles même nous citons parmi eux :

- Le degré de la toxicité qui est faible ou absent surtout quand il s'agit de plante comestibles.
- La diversité thérapeutique des plantes : une plante peut traiter plusieurs pathologies par l'utilisation des graines, des racines, des feuilles et des fruits.
- Les autres avantages de la phytothérapie sont, par contre liés aux conditions socioéconomiques, à causes de :

La bonne réputation que se sont forgés les phytothérapeutes tout le long de leur existence. La place forte considérable, qu'occupe la phytothérapie dans la culture populaire. Le coût des plantes médicinales relativement très bas et qui rend leur achat accessible (**Brunton ,1993**).

3. les facteurs de risques spécifiques à la phytothérapie :

Parmi les facteurs de risque spécifiques à la phytothérapie ;

- Mauvaise identification botanique.
- Sélection d'une mauvaise partie de la plante.
- Stockage inapproprié.
- Contamination de la plante par divers agents chimiques, métaux lourds, microorganismes.
- Altération du produit végétal lors du conditionnement.
- Erreur d'étiquetage du produit final(Larrey et Hepatol ,1997).

4. Les éléments actifs des plantes :

➤ Les phénols :

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Figure1)(Wichtl et Anton, 2009).

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin et al., 2001).

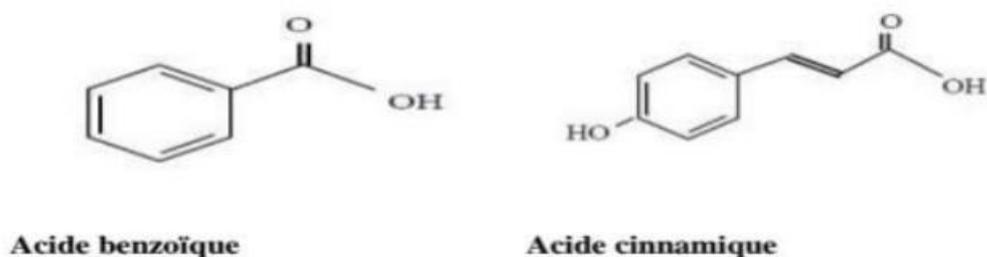


Figure 1 : Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009)

➤ **Les tanins :**

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux (Chevallier, 2001).

Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure (Chevallier, 2001).

➤ **Les flavonoïdes:**

Le terme flavonoïde désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Certains sont des pigments quasi-universels des végétaux. Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont la plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les aurones et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, fleurs et fruits (Nkhili, 2009).

Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituant (groupement hydroxyles libres, méthylés ou glycosylés sur les deux cycles aromatiques A et B et le cycle central C (figure 2).

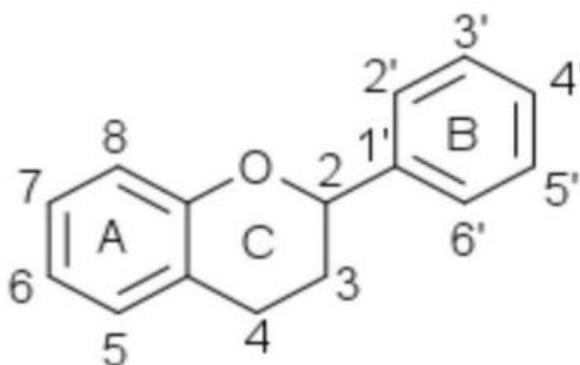
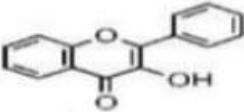
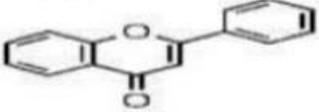
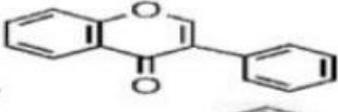
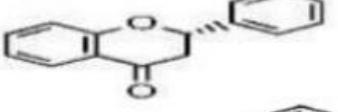
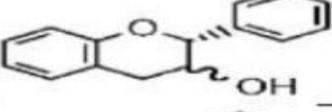
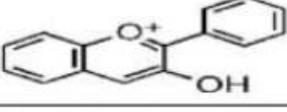


Figure 2 : structure de base des flavonoïdes (Seladji, 2015).

Ils agiraient sur la réduction de l'acide déhydroascorbique via le glutathion à l'encontre duquel ils se comporteraient comme des donneurs d'hydrogène. Plus généralement, les flavonoïdes sont des piègeurs de radicaux libres. Ils réagissent avec ces derniers, en empêchant les dégradations liées à leur intense réactivité au niveau des phospholipides membranaires. Cette capacité antioxydante serait liée à l'affinité pour les radicaux et donc à la structure de flavonoïde : la présence de 2 hydroxyles en ortho sur le noyau B, la conjugaison de noyau B au groupe oxo en 4 via la double liaison en 2,3 sont des éléments favorables. Plusieurs flavonoïdes sont de puissants inhibiteurs de la lipooxygénase et/ou de la cyclooxygénase, ce qui pourrait être en relation directe avec leur capacité à piéger les radicaux libres. Ces propriétés démontrées *in vitro* pourraient expliquer, dans la plupart des cas, les activités anti-inflammatoires et anti-allergiques reconnues par de nombreux auteurs à plusieurs drogues connues pour renfermer les flavonoïdes (Bruneton, 1993).

Tableau I : Structures de base des principaux flavonoïdes (Harbone et Williams, 2000).

Sous classe	Structure
Flavonoles	
Flavones	
Isoflavones	
Flavanones	
Flavan-3-ol	
Anthocyanes	

➤ **Les anthocyanes :**

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanidines (flavonoïdes proches des flavones), qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre. Ces

puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres. Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux(Chevallier, 2001).

➤ **Les coumarines :**

Les coumarines sont une famille de lactones (ou esters cycliques). Elles sont obtenues par cyclisation de dérivés de l'acide cinnamique. Il s'agit en fait d'une estérification entre une fonction alcool d'un groupement phénol et d'une fonction acide (Laurent, 2017).

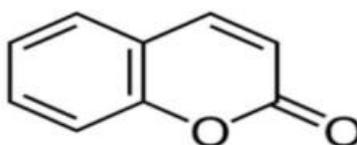


Figure 3 : structure générale des coumarines(Laurant,2017)

Les coumarines sont faiblement entraînaibles à la vapeur d'eau, c'est-à-dire qu'elles sont libérées en fin de distillation. C'est pour cela que le plus souvent on les retrouve à l'état de traces dans les HE. Les essences du genre *Citrus* en contiennent des quantités plus importantes, car elles sont obtenues par expression à froid. On parle alors de furanocoumarines, qui sont des molécules très agréables, apaisantes et décontractantes en diffusion(Laurent, 2017).

➤ **Les alcaloïdes :**

Ce sont des substances végétales azotées possédant des réactions basiques et formant des sels avec les acides. Ils ont généralement une saveur amère lorsqu'ils sont isolés, les alcaloïdes se présentent le plus souvent sous l'aspect de cristaux, insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques. Les alcaloïdes rencontrent généralement dans toutes les parties de la plantes, la teneur d'un végétal en alcaloïdes varies relativement peu avec le climat, et la saison (Figure 4)(Brunton , 1993).

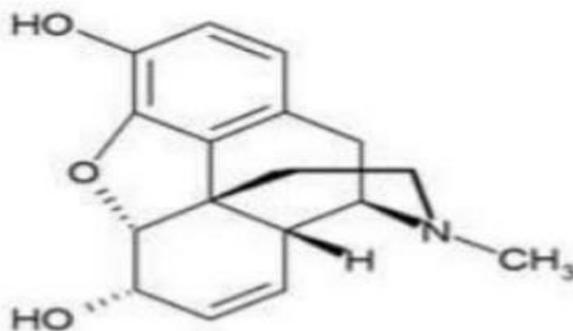


Figure 4 : Exemple d'alcaloïde la morphine (Osbourn et Lanzotti, 2009).

➤ **Composés terpéniques**

• **Saponosides**

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Structuellement, les saponosides peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine : saponosides à génine stéroïdique et saponosides à génine triterpénique (Bruneton, 1999).

• **Huiles essentielles**

La norme **AFNOR NF T 75-006** (Février 1998), a donné la définition suivante d'une huile essentielle : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

➤ **Les vitamines**

Bien qu'elles soient souvent négligées, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines. Le citronnier notamment (*Citrus limon*) contient des doses élevées de vitamine C et la carotte est riche en bêta-carotène (provitamine A). Le cresson de fontaine par exemple, contient des doses élevées de vitamines B1, B2, C et E et de bêta-carotène tandis que l'argousier peut être considéré comme un complément vitaminique et minéral en tant que tel (Chevallier, 2001).

5. Le contrôle de la qualité :

Afin de tirer le meilleur parti des plantes médicinales, il convient de veiller à ce que les herbes et leurs dérivés soient d'excellente qualité. Cela exige qu'elles soient cultivées dans les bonnes conditions, correctement séchées, bien conservées et que leur date limite de consommation soit respectée. Le recours à des plantes de mauvaise qualité est bien souvent une perte de temps et d'argent étant donné que vous n'en tirerez pas tous les bienfaits. S'agissant de plantes médicinales, la qualité prime avant tous (**Chevallier, 2001**).

On ne peut s'attendre à profiter de toute l'efficacité d'un remède naturel si la plante recherchée n'est pas la bonne ou si sa qualité laisse à désirer. Une des raisons pour lesquelles la profession médicale s'est, dans son ensemble, tournée vers les remèdes conventionnels en délaissant les plantes médicinales réside dans la difficulté qu'elle avait à garantir la qualité des soins procurés par les herbes. Si des plantes couramment mises en vente sont d'excellente qualité (**Chevallier, 2001**).

Afin d'obtenir des produits d'excellente qualité, les fabricants de plantes médicinales suivent des procédures de contrôles strictes (appelés « bonne pratiques de fabrication » ou BPF).celles-ci incluent l'obligation de valider les plantes séchées selon les normes établies dans les pharmacopées (ouvrages de référence standard fournissant les caractéristique d'une plante particulière). Le contrôle de la qualité prévoit de fréquentes vérifications répondent bien aux critères requis et qu'elles satisfont à des exigences minimales.les herbes sont inspectées à l'œil nu puis analysées au microscope pour s'assurer que leurs caractères botaniques sont ceux exigés par les pharmacopées. On procède ensuite à des vérifications biochimiques pour contrôler la présence actifs à des teneurs minimales fixées par les pharmacopées et pour s'assurer de l'absence de contamination(**Chevallier, 2001**).

Chapitre 2

Les huiles essentielles

1. Définition :

Les huiles essentielles (essences : huiles volatiles) sont des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Brunton, 1993**).

Ces essences végétales sont largement distribuées dans le règne végétal et n'existent que chez les végétaux supérieurs. En effet, elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Lamiacées (lavande, basilic, menthe...), les Myrtacées (eucalyptus), les Lauracées (cannelle et sassafras...) et les Apiacées (coriandre, cumin, fenouil, persil...) (**Richter, 1993**). Les huiles essentielles se trouvent dans tous les organes de la plante : racines, fruits, graines, fleurs, feuilles, écorces, bois, etc... Elles se forment des cellules spécialisées, le plus souvent, regroupées en canaux ou en poches sécréteuses et elles sont ensuite transportées dans les différentes parties de la plante, lors de la croissance de cette dernière (**Bernard, 1988**).

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leurs propriétés, lorsqu'elles sont exposées au soleil, ou lumière, ou à la chaleur, elles absorbent de grande quantité d'oxygène à l'air en se résinifiant, en même temps leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augment et leur solubilité diminue. Elles doivent être conservées dans des flacons en verre coloré bien fermés, à l'abri de l'air et de la lumière pour une meilleure protection (**Brunton 1993 ; Charpentier et al, 1998 ; Benkada, 1990**).

D'après l'Association Française de Normalisation (**AFNOR, Edition 2000**), a défini les huiles essentielles comme étant : des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux.

2. Activités biologiques des huiles essentielles :

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses composants et non seulement à ses composés majoritaires (**Lahlou, 2004**).

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leur propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses,

cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (**Haddouchi et Benmansour, 2008 ; Ferhat et al., 2009**).

➤ **Activité antimicrobienne :**

Parmi les activités biologiques intéressantes des HE et qui a été abondamment étudiée depuis des années, l'activité antimicrobienne des HE est en fait approuvée et est en pleine exploitation dans différents domaines (**Fernandez et Chemat, 2012**).

La résistance aux antibiotiques est devenue un grave problème de santé publique car elles perdent de leur efficacité et les maladies que l'on croyait éradiquées réapparaissent (**Seladji, 2015**). Les plantes possèdent un système de défense naturel très efficace, qui permet de se protéger efficacement contre de nombreux pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus, nous citerons les huiles essentielles et les extraits qui sont utilisés depuis longtemps pour traiter des pathogènes, et pour améliorer la santé et le bien être (**Jones et Dangl, 2006 ; Gibbons, 2008**).

➤ **Activité antioxydante :**

Un antioxydant est défini comme étant toute substance qui empêche l'oxydation des substrats biologiques (**Boyd et al., 2003**). Ce sont des composés capables de retarder la peroxydation lipidique et permettant le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation d'un produit. L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), l'activité primaire capable de donner des électrons à l'oxygène radicalaire afin qu'ils puissent le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques (**Kohen et Nyska, 2002**).

En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène...etc (**Madhavi et al., 1995**). Les effets antioxydants des huiles essentielles et des extraits de plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Hussain, 2009**).

➤ **Activité antiparasitaire :**

Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites (**Benayad, 2008**), suivis par les alcools monoterpéniques. Certains oxydes comme l'ascaridol sont très spécifiques dans la lutte antiparasitaire et même les cétones ont une activité antiparasitaire mais elle doit se faire avec précaution car ils présentent une certaine neurotoxicité. Cette action est renforcée par l'association cétones/lactones dans l'HE (**Laurent, 2017**).

➤ **Activité antifongique :**

Les infections fongiques sont très fréquentes dans notre société car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension (**Benayad, 2008**).

Les constituants actifs sont : les phénols monoterpéniques et aromatiques, les alcools monoterpéniques, des aldéhydes aromatiques et monoterpéniques, les lactones... Par exemple : *Candida albicans* est sensible aux HE d'Origan, de Cannelle de Ceylan, de Thym vulgaire à thymol. *Pityriasis versicolore* est sensible aux HE de Lemongrass et de l'arbre à thé (**Laurent, 2017**).

➤ **Activité insecticide :**

L'effet insecticide des huiles essentielles par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les déprédateurs des denrées entreposées, de nombreux travaux ont porté sur l'amélioration des formes d'utilisation des plantes qui permettent de renforcer et de rentabiliser leur activité insecticide (**Isman, 2000**).

3. Extraction des huiles essentielles :

3.1. Principe méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Samate, 2001**).

Les principales méthodes d'extraction sont

❖ **Hydrodistillation :**

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée (Lucchesi, 2005).

Au cours de l'hydrodistillation, le matériel végétal est immergé dans l'eau, le mélange hétérogène est bouilli, et l'huile essentielle est volatilisée puis condensée. Etant donné l'insolubilisation dans l'eau de ses principaux composés volatils, l'HE peut être séparée par décantation après refroidissement dans un séparateur de phase (Penchev, 2010).

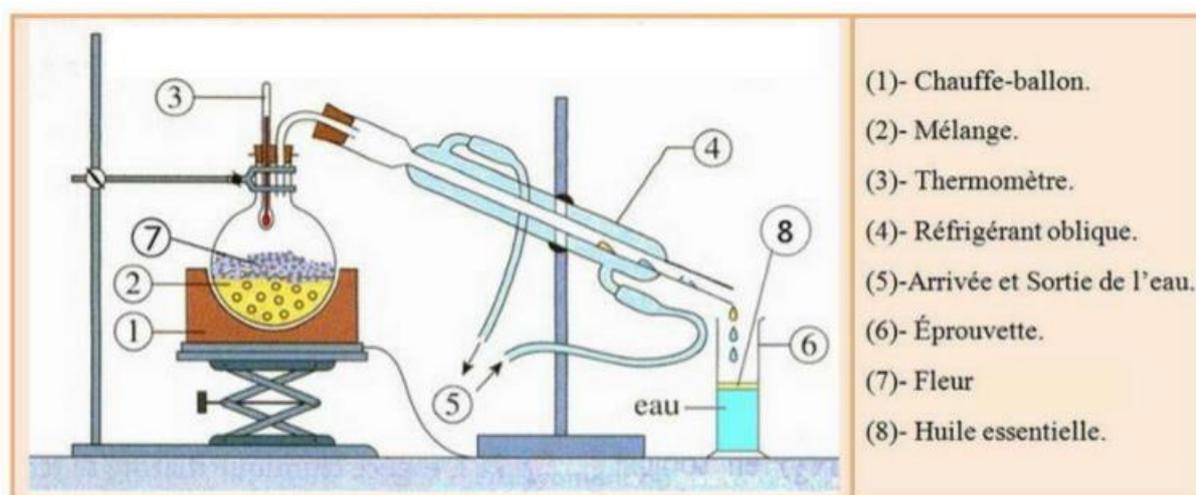


Figure 5 : Schéma du montage d'hydro-distillation (Laurent, 2017)

❖ **L'entraînement à la vapeur d'eau : « vapo-hydrodistillation »**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (Lucchesi, 2005).

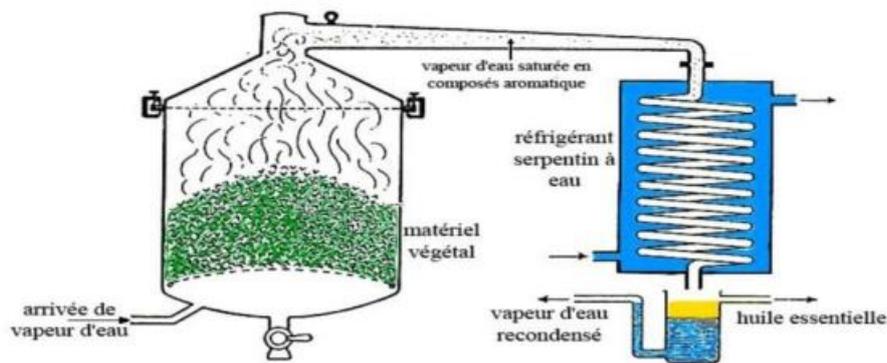


Figure 6 : Entraînement à la vapeur d'eau (Layadi et Souadki, 1999)

❖ L'hydro diffusion :

L'hydro diffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Dans le cas de l'hydro diffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau – huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (Meyer-Warnod, 1984). Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, ce procédé est appelé distillation à la vapeur directe. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie (Roux, 2008).

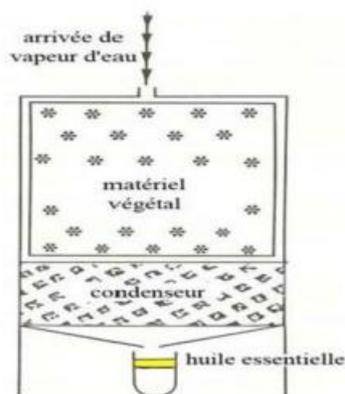


Figure 7 : Schéma du procédé d'hydrodiffusion (Layadi et Souadki, 1999)

❖ L'expression à froid :

Les huiles essentielles sont des produits fragiles pour leur composition en terpènes et aldéhydes, pour cette catégorie de matière première on utilise un procédé différent d'une distillation classique qui est l'expression à froid. Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération de parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois. L'huile essentielle devenu un sous-produit de la production de jus de fruits d'agrumes, dont l'expression de type manuel dite à l'éponge. Cependant, l'utilisation de grandes quantités d'eau dans ce procédé d'extraction peut altérer les qualités d'huile essentielle par dissolution des composés oxygénés, par hydrolyse et par transport de micro-organismes. Autre extraction dite «in line » relativement complexe permet à la fois l'extraction du jus et de l'HE du fruit sans que ces produits soient en contact (**Dugo et Di Giacomo, 2002 ; Mastini et Seilles, 1999**).

❖ L'extraction par solvant :

La méthode de cette extraction est basée sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction se fait dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou en discontinu. Le procédé consiste à épuiser le matériel végétal par un solvant à bas point d'ébullition qui par la suite, sera éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant donne un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extraite par l'alcool. L'extraction par les solvants est très coûteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants. Un autre désavantage de cette extraction par les solvants est leur manque de sélectivité ; de ce fait, de nombreuses substances lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines, etc...) peuvent se retrouver dans le mélange pâteux et imposer une purification ultérieure (**Brian, 1995**).

❖ Enfleurage ou digestion :

L'enfleurage est une méthode très ancienne qui concerne l'extraction des parfums des fleurs. L'extraction se fait à froid ou à chaud en mettant en contact les pétales des fleurs avec un corps gras. Les pétales sont déposés délicatement une à une sur des plaques de verre recouvertes d'une couche mince de graisse et on superpose ces plaques sur des châssis de bois. Les substances volatiles sont absorbées sur la couche de graisse. Au bout de quelques jours, la graisse sera saturée d'essence. On recueille la graisse parfumée et on le fait fondre au

bain marie. Après décantation et filtration, on obtient une pommade florale qui est ensuite épuisée à l'alcool (Seu-Saberno et Blakeway, 1987).

3.2. Les nouvelles techniques d'extraction :

❖ L'extraction par micro-onde

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (Vacuum Microwave Hydro Distillation) (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraiche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (Brian, 1995 ; Mompon, 1994).

❖ L'extraction accélérée par solvant : (Acceleated Solvent Extraction-ASE)

C'est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (20-200°) et des pressions (100-150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : l'absence des échauffements locaux, et la consommation de plus petites quantités de solvants. Ses inconvénients sont liés à son non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles (Penchev, 2010).

❖ Extraction par des solvants supercritiques :

L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique, caractérisé par une température (T_c) et une pression (P_c), les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire ; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide. Leur pouvoir

dissolvant dépend fortement de la température et de la pression. Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone (**Bousbia, 2011**).

4. Utilisation des huiles essentielles :

Les applications des huiles essentielles sont nombreuses, les plus importantes sont leurs utilisations en parfumerie, en cosmétologie, dans l'agro-alimentaire, dans l'industrie pharmaceutique et chimique.

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 quelque fois jugées irremplaçables pour leur originalité ou leur puissance (**Jouhanneau, 1991**). Les huiles essentielles servent aussi en hygiène, en esthétique corporelle sous forme de lotions, d'eaux florales, de crèmes, de gels, de pommades, etc..

Pharmacie :

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, et des essences naturelles. A titre d'exemple, l'huile essentielle d'eucalyptus est largement utilisée en pharmacie pour ses propriétés antiinfectieuses, cicatrisantes, et pour la réparation des tissus (**Holzner, 1977**). L'eucalyptol, l'un des principaux constituants de certaines huiles essentielles d'eucalyptus, est utilisé dans les préparations pharmaceutiques ou il joue le rôle d'antiseptique, de stimulant de l'expectoration dans les bronchiques chroniques, dans le traitement des inflammations du nez et de la gorge.

Les huiles essentielles sont également utilisées pour l'aromatisation des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (**Bruneton, 1993**). Elles constituent également le support d'une thérapeutique particulière : l'aromathérapie.

Industrie agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en agro-alimentaire comme aromates dans les préparations culinaires. Plusieurs secteurs alimentaires sont consommateurs de nombreux arômes de fruits sont utilisés dans les laitages.

- les boissons non alcoolisées font appel aux huiles essentielles d'agrumes, de menthes, etc.
- les plats cuisinés utilisent les plantes aromatiques sous toutes leurs formes : oléorésines et

huiles essentielles mais aussi sous formes fraîche, sèche ou surgelée ; (**Onippam, 1997**) → la charcuterie, les sauces, vinaigres, moutardes font appel à de nombreuses formes de présentation des plantes aromatiques.

→ la liquoristerie utilise largement les huiles essentielles anisées (fenouil, anis, badiane, etc...). Les huiles essentielles sont des concentrés à odeur et saveur très agréables qui présentent une alternative à l'usage des plantes entières, qu'il s'agisse de la menthe, du citron, du thym, du basilic, etc... (**Bruneton, 1993**).

Industrie chimique :

Elle utilise des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles), comme matière première pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc... A titre d'exemple nous pouvons citer l'exploitation industrielle des pinènes à partir de l'essence de térébenthine et de l'eugénol à partir de l'essence de giroflier (**Les actualités économiques, 1996**).

Les huiles essentielles ont également un rôle très important à jouer dans l'assainissement de l'air pollué que l'on respire et qu'elles désodorisent (**Jouhanneau, 1991**).

5. Composition chimique des huiles essentielles

La composition des huiles essentielles peut varier selon l'organe, la nature du sol, les facteurs climatiques, le mode d'extraction (**Benziane Maatallah, 2007**). Si une plante n'est pas séchée aussitôt après récolte ou si le séchage est aléatoire, la plante risque de perdre la totalité de ses huiles essentielles qui sont fortement volatiles (**Aghfir et al., 2006**).

La lumière et la température du jour influent également sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles (**Benziane Maatallah, 2007**).

Ces composés sont des mélanges complexes, contenant de très nombreuses espèces chimiques de différentes origines. On peut les classer en 3 catégories : terpéniques, aromatiques et variés.

a. Terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques. Ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (**Benziane Maatallah, 2007**).

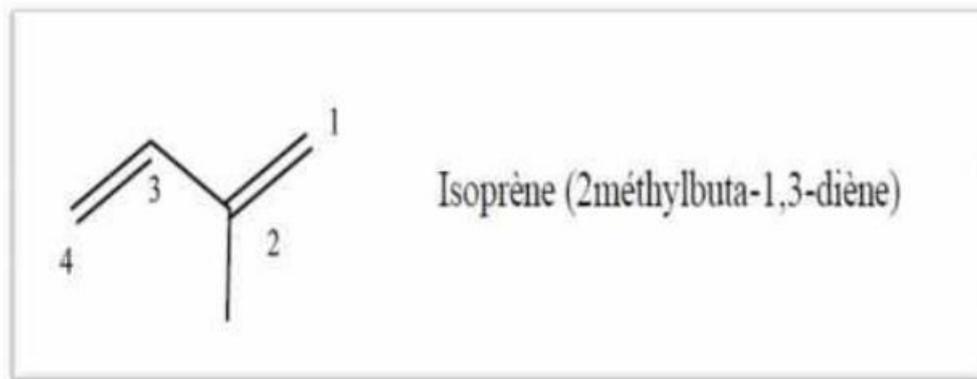


Figure 8 : Structure chimique d'isoprène (C₅H₈)*n* (Ouis, 2015)

Selon le nombre d'unités associées, on distingue : le mono-en(C₁₀) ; les sesqui-en(C₁₅) ; les di-en(C₂₀) ; les tri-en(C₃₀) ; les tétraterpènes en (C₄₀) et les polyterpènes. Ces unités peuvent se lier entre elles par des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyle (Ouis, 2015).

Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent des diterpènes. Les terpènes sont des structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques, ...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques (Ouis, 2015). A titre indicatif, quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes sont représentées dans la figure suivante.

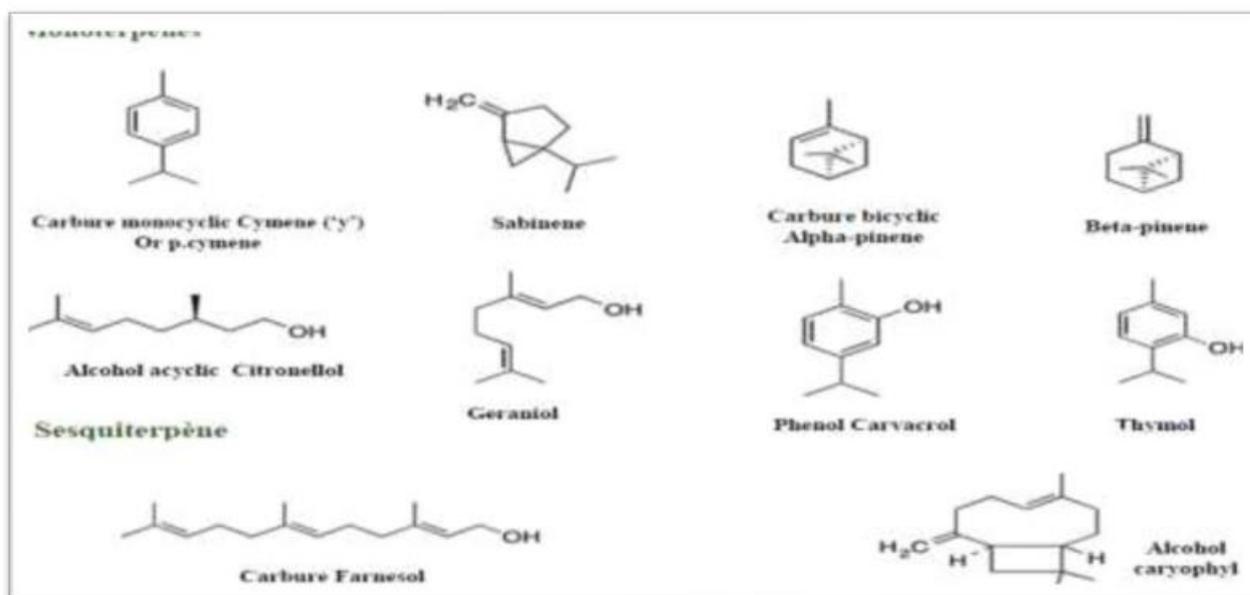


Figure 9 : Structure Chimiques de quelques composés terpéniques (Chibah et Djouher, 2018)

b. Les composés aromatiques :

De manière moins systématique que les terpénoïdes, une autre famille chimique est fréquemment rencontrée parmi les composés volatils. Il s'agit des dérivés du phénylpropane C₆-C₃. Ce sont très souvent des allyle- et propénylphénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.: anéthole, anisaldéhyde, apiole, méthylchavicol...) mais aussi de celles de girofle, de la muscade, des cannelles, etc. (eugénol, myristicine, asarones, cinnamaldéhydes, ...) (Bruneton, 1993).

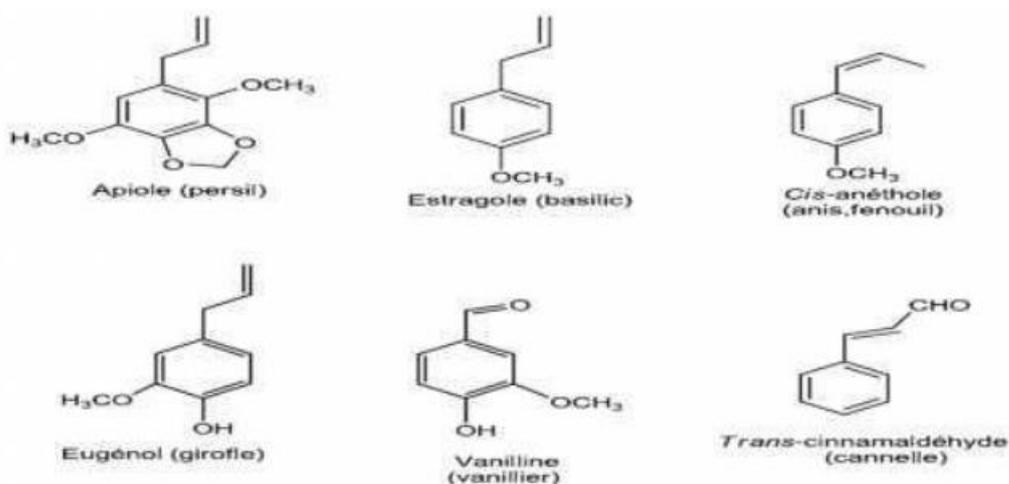


Figure10 : Structure Chimique de quelques composés aromatiques (Chibah et Djouher,2018)

c. Composés d'origines diverses :

De faibles quantités de composés acycliques non terpéniques et de poids moléculaires peu élevés peuvent se retrouver dans certaines huiles essentielles (alcools, aldéhydes, cétones, etc...) (Samate, 2002).

Parmi les essences naturelles, on peut distinguer des essences qu'on pourrait qualifier de simples (riches en un composé prépondérant), de complexes (ne possédant aucun composé prépondérant) et tous les cas intermédiaires sont possibles. L'un des exemples typiques d'une essence simple est celui de l'essence de girofle qui contient au moins 80 % d'eugénol et de petites quantités d'autres produits. Le cas extrême de complexité peut être illustré par l'essence de vétiver qui contient une centaine de composants dont les vétivones (alpha et bêta) et le khusimol (Jouhanneau, 1991).

6. Toxicité des huiles essentielles :

Les études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent présenter une certaine toxicité. Cependant celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise (**Degryse et al., 2008**). Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre d'utilisation. Les huiles ne seront toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées (**Degryse et al., 2008**).

Selon **Englebin (2011)**, les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quel que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée. Il faut également savoir qu'une période trop prolongée provoque l'inversion des effets et/ou l'apparition d'effets secondaires indésirables.

7. Contrôle qualité des huiles essentielles :

Le contrôle des huiles essentielles s'effectue par différents essais, comme la miscibilité à l'éthanol et certaines mesures physiques : indice de réfraction, pouvoir rotatoire et densité relative. La couleur et l'odeur sont aussi des paramètres importants. La meilleure carte d'identité quantitative et qualitative d'une huile essentielle reste cependant le profil chromatographie en phase gazeuse. Il permet de connaître très exactement la composition chimique et de rechercher d'éventuelles traces de produits indésirables tels des pesticides ou des produits chimiques ajoutés (**Pibiri, 2006**).

Chapitre 3 Présentation de la plante étudiée

1. Origine et définition :

L'*Eucalyptus globulus* est un arbre aromatique et médicinal originaire de l'Australie. Cet arbre appartient à la famille des Myrtacées. Il mesure entre 25 et 35 m. Dans des conditions favorables, il peut atteindre une hauteur plus importante. Son bois est rouge et son tronc est recouvert d'une écorce lisse et grise, ses feuilles sont plates et brillantes, en forme de faucille. Au printemps ses fleurs apparaissent blanchâtres (**Jammot, 2015**).

L'Eucalyptus a été introduit en Algérie en 1854, il s'étend dans des régions les plus sèches (quasi désertiques) jusqu'aux côtes humides (**Beloued, 1998**).

Il est apte à résister au froid et à croître sur des sols secs, siliceux calcaires, humides ou argileux, salés ou non, près ou loin de la mer (**Merrouche et al., 2016**).



Figure11 : photographie des arbres d'Eucalyptus de la région de Tlemcen

2. Description botanique :

➤ Les feuilles :

La plupart des Eucalyptus ont des feuilles persistantes, mais quelques espèces tropicales perdent leurs feuilles à la fin de la saison sèche. Comme les autres membres de la famille des Myrtacées, les feuilles d'Eucalyptus sont couvertes de glandes à huile. L'abondante production d'huile est une caractéristique importante de ce genre. Les feuilles, bleutées, ont une curieuse caractéristique : sur les jeunes arbres, elles sont opposées, sessiles, ovales et glauques, et quand l'arbre grandit, elles deviennent alternes, pétiolées, très allongées, parfois un peu courbées comme des lames de faux, et d'un vert luisant. Les deux types de feuillage cohabitent dans les mêmes forêts, donnant l'impression qu'elles sont constituées d'arbres différents (Kesbi, 2011).



Figure 12 : Les feuilles d'Eucalyptus globulus

➤ Les fleurs :

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

➤ **Les fruits :**

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 (Goetz et Ghedira, 2012).



Figures 13 : Les feuilles, les fleurs et les fruits de l'Eucalyptus

➤ **Les racines :**

La plupart des eucalyptus possède également des organes de sauvegarde souterrains appelés lignotubers. Ces derniers se présentent sous forme de renflements à la base du collet racinaire ; ce sont des massifs cellulaires indifférenciés contenant des réserves glucidiques comme l'amidon (Kesbi, 2011).

3. Classification botanique :

La systématique de l'*E. globuluse* est la suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphyta

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe : Magnoliopsida /Dicotylédones

Sous /Classe : Rosidées

Ordre : Myrtalea

Famille : Myrtacées

Genre : Eucalyptus

Espèce : *Eucalyptus globulus*(METRO, 1970).

4. Dénominations internationales :

Français : eucalyptus, arbre de la fièvre, gommier bleu.

Anglais : blue gum tree ; Allemand : Eukalyptus blatter;

Arabe : Kalitus, Kalatus (Ghidira et al., 2008).

5. Principaux Composants chimiques du genre Eucalyptus

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

6. Utilisations :

Traditionnellement, l'Eucalyptus est un antiinfectieux et antiseptique des voies respiratoires, il est utilisé dans le traitement de l'infection aigue et chronique des voies respiratoires supérieures ou inférieures. Il est également conseillé pour le traitement de la toux, de bronchites, des gripes et des affections pulmonaires, ce qui rend cette plante efficace pour soigner les rhumes et les maux de gorge. (Iserin, 2007).

L'HE d'Eucalyptus a des propriétés expectorantes et fluidifiantes du mucus, elle a aussi des propriétés, antimicrobiennes, antifongiques et antivirales (Bruneton, 1993).

Au XIXe siècle, on utilisait l'HE pour aseptiser les cathéters urinaux dans les hôpitaux anglais. De nombreuses préparations pharmaceutiques destinées aux diverses affections des voies respiratoires (Vicks Vaporub, par exemple). De nos jours, elle entre dans la fabrication de rince-bouche (Listerine, par exemple) et de dentifrices ; les produits et les solvants

endodontiques utilisés en dentisterie comprenant de l'huile de plusieurs plantes entre autres l'huile de clou de girofle et d'Eucalyptus. (Goldestein et Epstein, 2000).

7. Travaux antérieurs :

Beaucoup de travaux ont montré que l'huile essentielle d'*E. globules* a une activité antimicrobienne contre les bactéries gram-négatives, ainsi que contre les bactéries gram-positives. (Raho et Benali, 2020 ; Salem et al., 2018 ; Maciel quattrin et al., 2017 ; Luis et al., 2016).

Aussi des études ont montré que L'huile essentielle des feuilles d'*E. Globulus* , étant un composé antibactérien important, peut donc avoir une application potentielle pour la formulation pharmaceutique, comme le dentifrice et le rince-bouche. (Harkat-Medouri et al., 2015).

Les travaux de Topiar et al. (2010), ont montré que les extraits d'*E. globulus* ont une activité insecticide.

Hafsa et al. (2016), ont déterminé que les films comestibles fabriqués à partir de chitosane et d'huile essentielle d'*E. globulus* offrent de nouvelles façons d'améliorer la sécurité microbienne et la durée de conservation des aliments

D'autres études ont montré que des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont un bon candidat pour l'isolation thermique et les matériaux insonorisant qui auront un faible impact sur l'environnement sans danger pour les êtres humains. (Ali et al., 2020).

Des études ont prouvé Que les huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* pourraient être des candidats pour de futurs agents antifongiques respectueux de l'environnement, contrôlant la maladie précoce de la brûlure de la tomate et minimisant les risques et les dangers pour l'environnement (Zorzi Tomazon et al., 2017).

Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au sein du Laboratoire de recherche LAPRONA. Le travail concerne l'extraction, et l'activité antioxydante des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus globulus*.

Dans le but d'atteindre les objectifs que nous nous sommes fixés, nous avons suivi le plan de travail suivant :

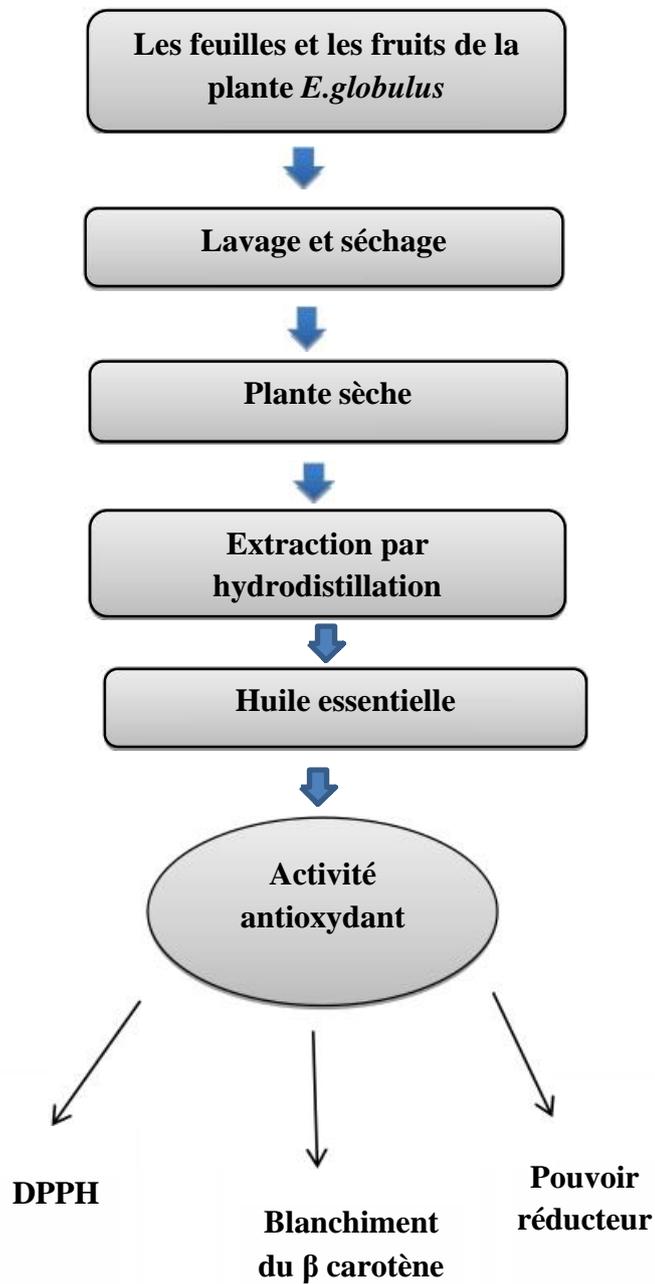


Figure14 : Schéma général du travail expérimental

1. Identification et préparation de l'échantillon :

L'identification de l'espèce a été effectuée par Docteur MEDJATI N, membre du Laboratoire d'Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels, Université de Tlemcen, Faculté des SNV-STU.

Les fruits et les feuilles de la plante Eucalyptus ont été récoltés au mois de Février de l'année 2020 dans la zone de Chetouane-Wilaya de Tlemcen.

Les échantillons sont lavés et séchés à l'ombre et à température ambiante pendant une dizaine jours.

2. Extraction de l'huile essentielle de la plante étudiée :

Matériel utilisé :

- Balance de précision
- Chauffe ballon
- Ampoule à décanter
- Réfrigérant
- Ballon bi-colle de 2L
- Bécher
- Potence
- Flacons
- Eau distillé
- Matière végétale sèche

Méthode :

La méthode d'extraction des huiles essentielles utilisée au cours de notre expérimentation est l'hydrodistillation (**Figure15**).



Figure 15: Montage d'extraction par hydrodistillation (photo 2020)

L'opération consiste à immerger une quantité de la masse végétale dans un ballon bi-colle de 2L contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans remplir complètement le ballon (le contenu du ballon ne doit pas dépasser les trois tiers) pour éviter les débordements au cours de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition durant 3 heures à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs d'eau chargées de l'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. Par la suite, l'huile qui flotte à la surface de l'eau de distillation est récupérée dans un tube. Une fois remplis, le tube est fermé et couvert avec du papier aluminium pour éviter toute altération de l'huile. La conservation se fait à 4° jusqu'à son analyse (**Figure 16**).



Figure 16 : photographie montrant la séparation de l'huile essentielle par décantation.

3. Le rendement (R) :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du végétal à traiter (**Carré, 1953**).

Le rendement exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$R (\%) = (m / m_0) \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle exprimé en %.

m : Masse en grammes de l'huile essentielle.

m₀ : Masse en grammes du matériel végétale sèche à traiter.

4. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles :

L'activité antioxydant de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a été évaluée par trois méthodes qui sont :

- Le test du piégeage du radical libre DPPH°

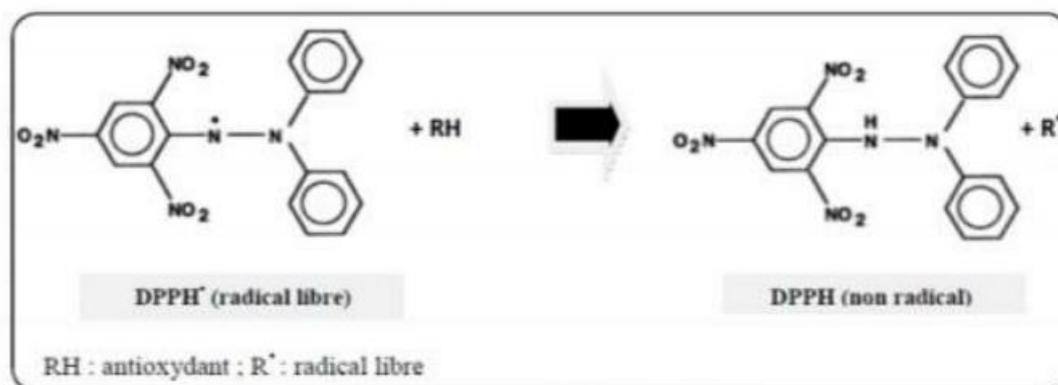
- Le test de blanchiment du β -carotène
- Le test de la réduction de fer

a. Piégeage du radical libre DPPH

Cette méthode est basée sur la réduction d'un radical libre très stable : le 2,2'- Diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) en présence d'un antioxydant donneur. Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène.

La réduction du radical libre (DPPH) par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence d'un donneur d'hydrogène (**Labioud, 2016**).

Le DPPH est initialement violet, il se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie, Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques (**Molyneux, 2004**).



DPPH[•] (Violet)

DPPH-H (Jaune)

Figure 17 : structure chimique du DPPH[•] et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.

La mesure de la décroissance de la coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC₅₀, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue, généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC₅₀). Le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox ou vitamine C (**Bouhaddouda, 2016**).

Procédure expérimentale :

La méthode appliquée est celle de **Tappel et Mellors, (1996)**. Elle consiste à dissoudre 2 mg de DPPH dans 50 ml d'éthanol. Deux millilitres de cette solution sont additionnés à 100 µl de la solution méthanolique contenant de l'huile essentielle à différentes concentrations.

Après 30 min à température ambiante et dans l'obscurité, l'absorbance a été mesurée par le spectrophotomètre à 517 nm. Pour chaque dilution, un blanc est préparé à partir de 2 ml de méthanol additionnée à 100 µl d'extrait.

Un contrôle négatif est composé de 2 ml du DPPH et de 100 µl de méthanol. L'antioxydant de référence (acide ascorbique) a été préparé par la même méthode.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = [A_0 - A / A_0] \times 100$$

A₀ : Absorbance du contrôle ;

A : Absorbance de l'échantillon ;

Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH.

L'indice de l'activité antioxydante (AAI) est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{AAI} = \text{concentration finale de DPPH (\mu\text{g/ml})} / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/ml}).$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suit :

AAI < 0.5 → faible activité antioxydante ;

1 > AAI > 0.5 → activité antioxydante modérée ;

2 > AAI > 1 → forte activité antioxydante ;

AAI > 2 → très forte activité antioxydante.

b. Test de blanchiment du β -carotène :

Ce test a été sélectionné pour déterminer l'activité antioxydante car il permet d'évaluer la capacité des huiles essentielles à inhiber la peroxydation lipidique et il est également utile car il se fait en émulsion, de manière similaire à ce que l'on trouve dans l'industrie alimentaire (**Cruz et al., 2001**).

Le β -carotène est physiologiquement un composé important reconnu par sa forte activité biologique. Dans l'industrie agro-alimentaire, il est utilisé dans les boissons comme un agent de coloration et sa décoloration indique la réduction de qualité de ces produits (**Belyagoubi-Benhamou et al., 2012**).

Cependant, dans le test du blanchiment du β -carotène, la présence des 11 paires de doubles liaisons rend le β -carotène extrêmement sensible aux radicaux libres dérivés d'hydroperoxydes (**Belyagoubi-Benhamou et al., 2012**).

Le β -carotène subit une décoloration rapide en l'absence d'antioxydant. Cela est dû à l'oxydation couplée du β -carotène et de l'acide linoléique, qui génère des radicaux libres (**Sarikurkcu et al., 2009**).

Le radical libre d'acide linoléique formé lors de l'abstraction d'un atome d'hydrogène de l'un de son groupe méthylène diallylique attaque les molécules de β -carotène hautement insaturées (**Sarikurkcu et al., 2009**).

En conséquence, le β -carotène est oxydé et décomposé en partie ; par la suite, le système perd son chromophore qui donne la couleur orange caractéristique, qui est contrôlée par spectrophotométrie (**Sarikurkcu et al., 2009**).

La présence des antioxydants comme les polyphénols réduisent l'ampleur de la destruction du β -carotène en neutralisant les hydroperoxydes et d'autres espèces radicalaires formées à l'intérieur de ce système (**Belyagoubi-Benhamou et al., 2012**).

Procédure expérimentale :

La capacité des huiles essentielles à inhiber la décoloration du β -carotène a été déterminée selon **Koleva et al, (2002)**, 2 mg de β -carotène ont été dissout dans 20 ml de chloroforme et 4 ml de cette solution ont été ajoutés à de l'acide linoléique (40 mg) et du Tween 40 (400 mg).

Le chloroforme a été évaporé sous vide à 40°C et on ajoute 100 ml d'eau oxygénée. Une émulsion a été obtenue par agitation vigoureuse.

Des aliquotes de cette émulsion (150 µl) ont été réparties dans une microplaque à 96 puits en présence de (10 µl) des extraits méthanoliques à différentes concentrations. Deux répétitions ont été préparées pour chaque concentration.

La microplaque est ensuite incubée à 50 °C pendant 120 min, et l'absorbance a été mesurée (à T=0 et T=120 mn) à 470 nm en utilisant un lecteur de microplaque.

A des fins comparatives deux antioxydants standards sont utilisés : l'acide gallique et le Trolox. L'activité de l'extrait est calculée par rapport à celles du contrôle (sans extrait). On détermine le pourcentage d'inhibition de la décoloration du β-carotène en utilisant la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition du } \beta\text{-carotène (en\%)} = [(S - A_{120}) / (A_0 - A_{120}) \times 100]$$

Où :

A₀ : absorbance du contrôle à 0 mn.

A₁₂₀ : absorbance du contrôle à 0 mn 120 min.

S : absorbance de l'échantillon à 120 min.

c. Méthode de la réduction du fer FRAP (Ferric reducing antioxidant power) :

L'activité réductrice du fer de notre huile essentielle est déterminée selon la méthode décrite par **Oyaizu (1986)**, basée sur la réduction du Fe₃₊ présent dans le complexe K₃Fe(CN)₆ en Fe₂₊.

- 1 ml de l'extrait de l'huile essentielle à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium K₃Fe(CN)₆ à 1% (m/v).
- L'ensemble est incubé au bain marie à 50 °C pendant 20 minutes ensuite ;
- 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction ;
- Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes ;

Matériel et méthodes

- 2,5 ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre).

A des fins comparatives, deux antioxydants standards sont utilisés : l'acide ascorbique et le BHA.

Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés (**Hubert, 2006**).

Résultat et discussion

1. Rendement en huile essentielle :

Pour calculer le rendement de l'huile essentielle de l'espèce étudiée *Eucalyptus globulus*, on a fait trois extractions des feuilles et des fruits d'*Eucalyptus globulus* (extraction 1 : 60g de matière végétale) (extraction 2 : 100g de matière végétale) et (extraction 3 : 220g) avec une quantité suffisante d'eau distillée dans un hydro-distillateur type Clevenger. Après extraction on a obtenu 0.5g, 0.7g, 1,5g d'huiles essentielle de couleur jaune claire avec une odeur agréable et un rendement de $0.83\pm 0.68\%$ (**Tableau II**).

Tableau II : Rendement en (%) des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*

Extraction	Masse d'HE (g)	Rendement (%)
1	0.5	0.83
2	0.7	0.7
3	1.5	0.68

Le rendement d'extraction des huiles essentielles est de 0.83 ± 0.68 , cette valeur est largement inférieure à celles rapportées par la littérature, allant de 2.5 ± 0.1 (**Harkat-Madour et al., 2015**) à 3.1% (**Bey-Ould Si Said et al., 2016**).

Par ailleurs, notre résultat de rendement est supérieur à celui trouvé par **Joshi, 2012** avec un rendement en huile essentielle de l'ordre de 0.3%

Le rendement obtenu est légèrement inférieur comparés aux rendements en huiles essentielles rapportés pour les autres espèces d'*Eucalyptus*. Le rendement le plus élevé a été obtenu pour *E. cinerea* et *E. sideroxylon* (3%), suivie par *E. lehmani* (2,8%), tandis qu'*E. astrengens* a donné le rendement le plus bas à savoir 1,2% (**Sebei et al., 2015**).

L'environnement, l'agronomie, l'âge, le génotype et la géo climatique, tous ces facteurs peuvent affecter la teneur totale en huiles essentielles des plantes. De plus, la méthode et les conditions d'extraction peuvent influencer le pourcentage de récupération (**Bagheri et al., 2014**).

Vue les circonstances liées à la pandémie de la Covid 19, on n'a pas pu aller plus loin dans la partie pratique de notre travail. Cependant, nous avons effectué une analyse d'articles qui ont traité l'activité antioxydante de l'espèce *Eucalyptus globulus*.

2. Analyse des articles :

2.1. Compositions des huiles essentielles d'eucalyptus globulus :

D'après l'article 1 (Bey-Ould Si Said et al., 2016) et l'article 2 (Harkat-Madouri et al., 2015) , la détermination de la composition chimique des huiles essentielles a été effectuée par l'analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CG/SM) sur la même plante *Eucalyptus globulus*, de même origine géographique, par contre l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation est faite sur différentes parties de la plante, la première est basée sur les fruits et la deuxième sur les feuilles . La comparaison entre la composition des deux huiles est présentée dans le tableau III

Tableau III : Composition des HE des feuilles et des fruits d'*E. globulus*

Composants	Article 1	Article 2
	HE des fruits <i>d'Eucalyptus globulus</i>	HE des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>
Monoterpènes Hydrocarbonés (MH)		
α – pinène	3,8 (%)	4,61 (%)
β – pinène	0,1	0,07
β – myrcène	0,2	-
α – phellandrène	1,9	-
α – terpinène	0,2	-
Limonène	0,3	-
o – Ocymène	0,5	1,83
γ – Terinène	0,2	-
Total M	7,2	6,51
Monoterpènes Oxygénés (OM)		
Eucalyptol(1,8-cineole)	19,8	55,29
Isovaleraldehyde	2,4	10,04
2-pentanone-4-hydroxyl-4-methyl	0,9	1,69
4-terpinéol	0,4	0,70
L-Pinocarvone	-	0,10
α—Terpineol	0,2	5,46
Crypton	-	3,10
Cuminal	-	0,42
E-Neral	-	0,63

Résultat et discussion

Phelandral	-	0,10
Piperitone	-	0,25
ρ – cymenol	-	0,45
Cis- Sabinol	0,1	-
Carvenone	0,1	-
Total (OM)	23,9	78,23
Total (MH+OM)	31,1	84,74
Sesquiterpènes (S)		
β – gurjunène	0,4	-
β – humulène	0,2	-
α – gurjunène	1,4	-
Aromadendrène	19,7	0,02
Allo-Aromadendrène	2,5	0,04
γ – gurjunène	0,5	-
Ledène	3,1	0,28
β –Selinène	0,2	-
β – cadinène	0,7	-
Total S	28,7	0,34
Sesquiterpènes oxygénés (OS)		
Epiglobulol	6,4	0,21
Globulol	23,6	2,96
Eudesmol	2,1	0,08
δ cadinol	0,2	-
β – caryophyllene-oxide	-	0,14
Spathulenol	-	7,44
Caryophyllene-oxide	-	1,66
Total OS	32,2	13,39
Total(S+OS)	60,9	13,73
Total	92 (%)	98,47 (%)

HE : Huile Essentielle MH : Monoterpènes hydrocarbonés OM : Monoterpènes oxygénés
S : Sesquiterpènes OS : Sesquiterpènes oxygénés

L'analyse CG/SM des deux huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* a permis de détecter 28 composés dans l'HE des fruits représentant 92% de la composition totale (**Tableau III**) et 26 composés dans l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, résultant en une identification de 98,47% de la composition totale de l'huile.

On a trouvé des valeurs approximatives en ce qui concerne les monoterpènes hydrocarbonés 7,2% dans l'huile des fruits et 5,61% dans l'huile des feuilles.

Les huiles essentielles des feuilles sont riches en sesquiterpènes et sesquiterpènes oxygénés et celles des fruits en monoterpènes oxygénés.

Les principaux composants des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont 1,8-cinéole, également appelé eucalyptol(55,29), Isovaleraldehyde(10,04), α -Terpineol(5,46), α -pinene(4,61), o-Ocymene(1,83), 2-pentanone-4-hydroxyl-4-methyl(1,69) ,4-terpinéol(0,70).

Pour l'huile des fruits d'*E. globulus*, les principaux composants étaient le Globulol(23,6), Aromadendrene(19,7), Epiglobulol(6,4), Ledene(3,1), Allo-aromadendrene(2,5), Eudesmol(2,1), β -pinène(0,1).

Par ailleurs, on constate l'absence de quelques composés monoterpènes dans l'HE des feuilles tels que β -myrcène, α -phellandrène, α -terpinène, limonène et γ -terpinène, et quelques composés sesquiterpènes comme β -gurjunène, β -humulène, α -gurjunène, γ -gurjunène, β -selinène, β -cadinène.

Pour les composés monoterpènes oxygénés, on note l'absence de L-pinocarvone, crypton, cuminal, E-neral, phelandral, piperitone et ρ -cymenol dans l'HE des fruits et cis-sabinol, carvenone dans l'HE des feuilles.

Concernant les composés sesquiterpènes oxygénés, on remarque l'absence de β -caryophyllène-oxide, spathulenol, caryophyllène-oxide dans l'huile des fruits et le composant δ -cadinol dans les huiles essentielles des feuilles.

La composition des huiles essentielles est dépendante de facteurs environnementaux tels que le climat, la température, les nutriments (Akin et al., 2010), du processus d'extraction (Recoquillay et al., 2009), mais aussi de la différenciation héréditaire des espèces en forme physiologiques distinctes (Zrira et al., 1994).

2.2. Activité antioxydante de l'huile essentielle d'*E. globulus* :

Dans cette partie de notre étude, nous avons sélectionné quatre articles qui ont traité l'activité antioxydante des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* (TableauIV).

Tableau IV : les articles sélectionnés pour l'analyse

		Article 1	Article 2	Article 3	Article 4
		Bey-Ould Si Said et al	Harkat-Madouri et al	Luis et al	Mishra et al
Date		2016	2015	2016	2010
Titre		Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of Eucalyptus globulus fruits	Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of Eucalyptus globulus from Algeria	Chemical composition, antioxidant, antibacteriel and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils	Phytochemical Screening and Antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus leaf
L'origine d' <i>E.globulus</i>		Bejaia	Bejaia	Espagne	France
Méthode d'activité antioxydant		DPPH β – carotène Pouvoir réducteur	DPPH β - carotène Pouvoir réducteur	DPPH β - carotène	DPPH
IC 50	DPPH	27.0 ± 0.2(mg/ml)	33.33 ± 0.55(mg/ml)	2.90 ± 0.35(mg/ml)	33.72 (µg / ml)
	β carotène	32.8 ± 1.8(mg/ml)	6.753 ± 0.30(mg/ml)	2.72 ± 0.01(mg/ml)	-
	Pouvoir réducteur	4.9 ± 0.2(mg/ml)	115.39 ± 1.45(mg/ml)	-	-
BHA	DPPH	0.05 ± 0.0(mg/ml)	0.033 ± 0.002(mg/ml)	-	-
	β-carotène	0.5 ± 0.2(mg/ml)	0.455 ± 0.19(mg/ml)	-	-
	Pouvoir réducteur	0.03 ± 0.0(mg/ml)	0.048 ± 0.015(mg/ml)	-	-
BHT		-	-	3.58 ± 0.02(mg/ml)	-

D'après l'article 1 de (Bey-Ould Si Said et al., 2016), L' activité antioxydante a été comparée à celle d'un étalon Butylhydroxyanisole (BHA) et évaluée par trois tests différents, à savoir le test DPPH , le test du pouvoir réducteur (FRAP) et la méthode β-carotène / acide linoléique.

Comme le montrent **la figure 18**, à propos de l'inhibition du radical DPPH, le pouvoir réducteur et l'inhibition des activités de peroxydation lipidique des huiles essentielles des fruits d' *E. globulus* , respectivement, dépendent de la concentration de l'huile essentielle.

Et selon le **tableau IV** , les valeurs IC₅₀ des huiles essentielles des trois tests de l'activité antioxydante ($27,0 \pm 0,2$; $32,8 \pm 1,8$ et $4,9 \pm 0,2$ mg /ml , respectivement) sont significativement plus élevées que celles du standard BHA ($0,05 \pm 0,0$; $0,03 \pm 0,0$; $0,5 \pm 0,2$ mg /ml , respectivement). En d'autres termes, l'activité des huiles essentielles testées est inférieure à celle de l'antioxydant de synthèse BHA.

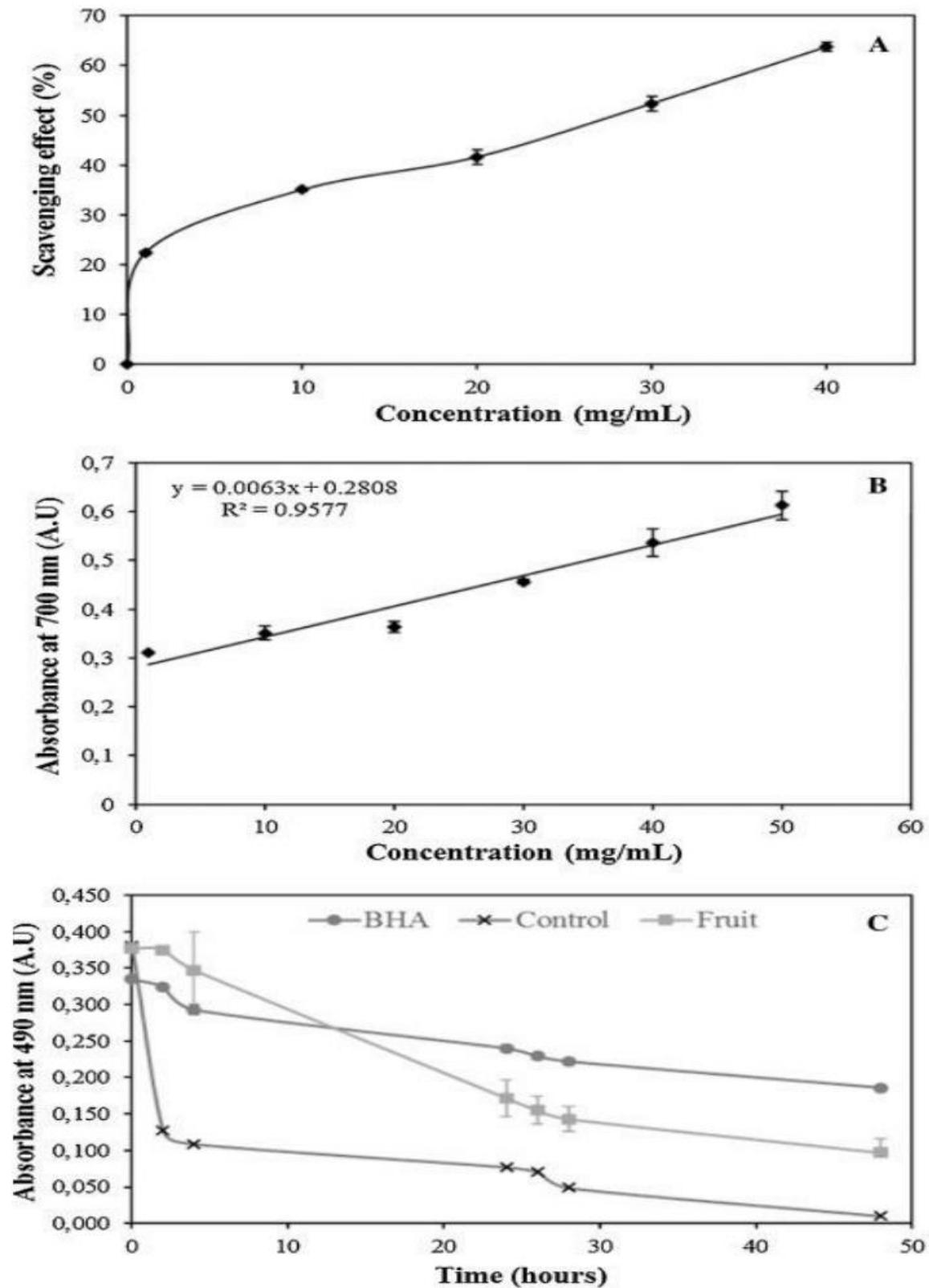


Figure 18 : Activité de piégeage des radicaux libres (%) (A), pouvoir réducteur (B) et inhibition de la capacité de peroxydation de l'acide linoléique (C) des extraits de l'huile essentielle des fruits d' *E. globulus* (Bey-Ould Si Said et al., 2016)

Pour l'article 2 (Harkat-Madouri et al., 2015), La figure 19 montre le résultat de l'effet piégeant sur le radical libre DPPH° des huiles essentielles des feuilles d' *E. globulus* . Comme nous pouvons le voir, la capacité de piégeage du radical libre DPPH des huiles testées a augmenté par l'augmentation de la quantité d'échantillon, le pourcentage d'inhibition varie de 11,72% à 60,63% selon les concentrations testées.

L'activité des huiles testées (tableauIV) est inférieure ($IC_{50} = 33.33 \pm 055$ mg / mL) à celle de la BHA standard ($IC_{50} = 0.033 \pm 0.002$ mg / ml).

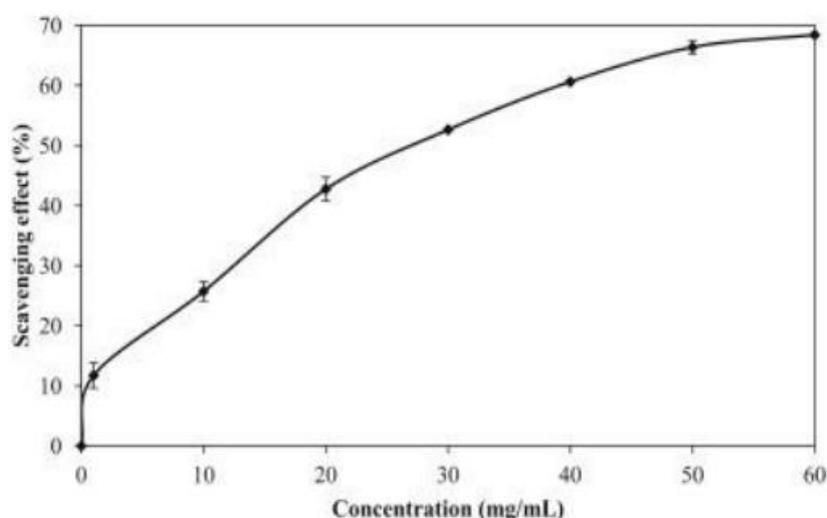


Figure 19 : Activité d'élimination des radicaux libres (%) de l'huile essentielle des feuilles d'*E. globulus*. (Harkat-Madouri et al., 2015)

Concernant l'activité du pouvoir réducteur (Ferric reducing assay : FRAP), les résultats sont présentés sur la figure suivante, l'activité augmente avec l'augmentation des concentrations.

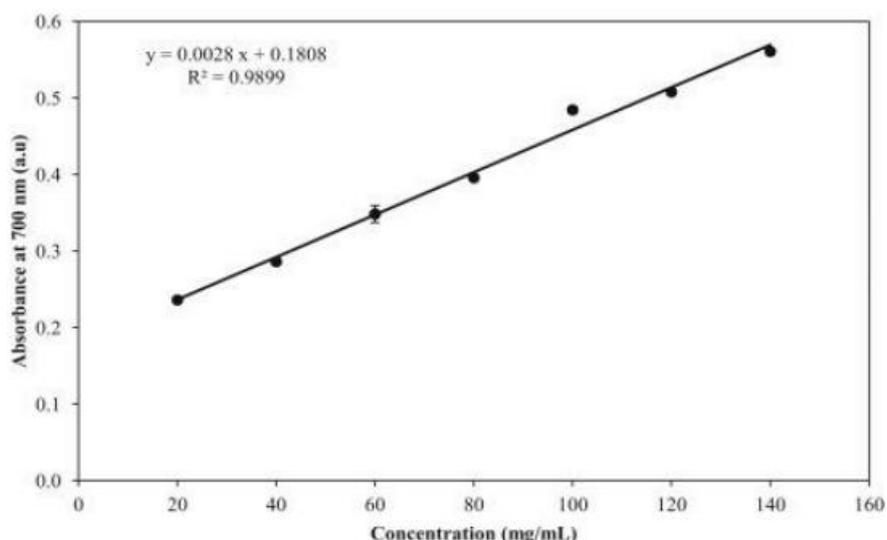


Figure 20 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de feuilles d'*E. globulus* (Harkat-Madouri et al., 2015)

Les valeurs IC_{50} sont représentées dans le **tableau IV**, la valeur du standard BHA (0.048 ± 0.015 mg / ml) est significativement inférieure à celle des huiles testées (115.39 ± 1.45 mg / ml).

Cette activité est faible par rapport à celle rapportée dans la littérature ($48 \mu\text{g} / \text{ml}$) (**Noumi et al., 2011**), cette différence peut s'expliquer par le fait que ces chercheurs ont utilisé des huiles essentielles commerciales plutôt que naturelles.

L'inhibition de l'activité de peroxydation lipidique a été testée par le test de blanchiment du β -carotène (**figure 21**), l'activité des huiles s'est révélée être dépendante de la dose. Sa valeur IC_{50} (6.75 ± 0.39 mg / ml) était significativement (**tableau IV**) supérieure à celle du BHA (0.455 ± 0.19 mg / ml).

Cette valeur est également supérieure à celle des huiles essentielles commercialisées des feuilles d' *E.globulus* (0.048 mg / ml) (**Noumi et al., 2011**).

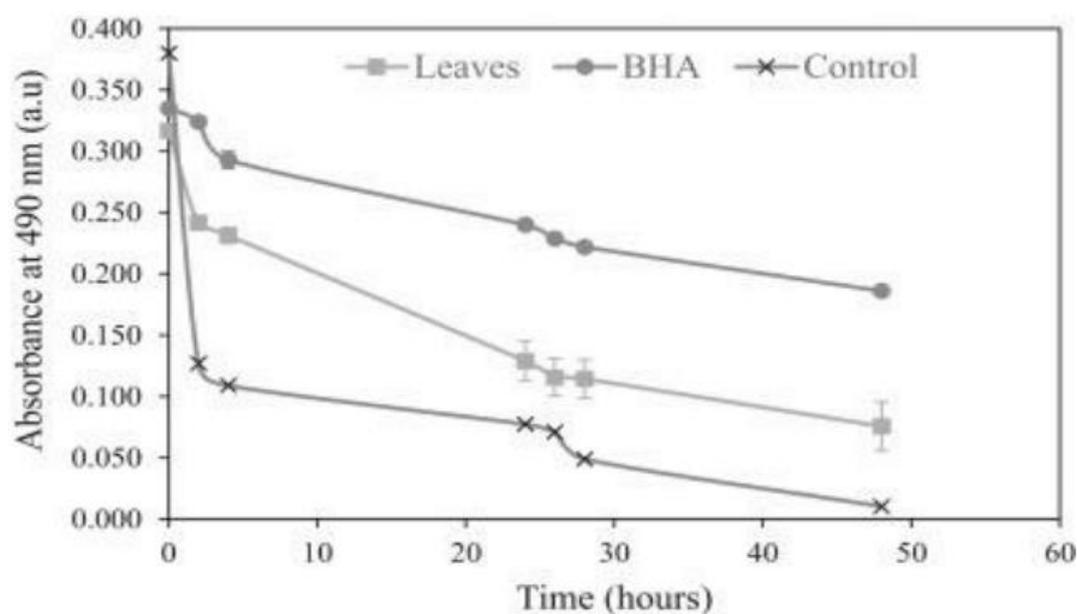


Figure 21 : Activité antioxydante de l'huile essentielle des feuilles d' *E. globulus* , BHA et témoin, mesurée par le test β -carotène / acide linoléique (Harkat-Madouri et al., 2015).

Comparée à l'effet piégeant DPPH et au pouvoir réducteur, l'huile essentielle d'*E. globulus* des feuilles est plus active sur l'inhibition de la peroxydation lipidique, probablement en raison de la spécificité élevée du test pour les composés lipophiles.

Dans le travail de (Luis et al., 2015) (article3), l'activité antioxydante des huiles essentielles d'Eucalyptus a été déterminée par deux tests différents, à savoir le test du piégeage du radical libre DPPH et le test du blanchiment du β -carotène.

Tableau V : Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle d'eucalyptus mesurées par deux méthodes différentes (valeurs moyennes \pm écart type) (Luis et al., 2015)

Méthode	Paramètres	Eucalyptus globulus (v/v)	Eucalyptus radiata (v/v)	Acide gallique (w/v)	Quercétine (w/v)	BHT (w/v)
Test de DPPH	IC ₅₀ (%)	2.90 \pm 0.35	4.56 \pm 0,70	0.22 \pm 0,01	0.43 \pm 0.04	-
	AAI	1.74 \pm 0,35	1.11 \pm 0.21	22.77 \pm 0,25	12.17 \pm 1,71	-
	Activité	Fort	Fort	Très fort	Très fort	-
Test de blanchiment β -carotène	IC ₅₀ (%)	2,72 \pm 0,01	6,54 \pm 0,05	-	-	0,02 \pm 3,58

En ce qui concerne les valeurs IC₅₀ (**tableau V**) du test DPPH, il est possible de conclure que l'huile essentielle d'*E. globulus* a une activité antioxydante plus prononcée que l'huile *E. radiata*, car sa valeur IC₅₀ est inférieure à celle d'*E. Radiata*.

Les deux huiles essentielles d'Eucalyptus ont présenté une forte activité antioxydante, si l'on considère ses valeurs d'AAI.

Horvathova et al. (2014), Ont rapporté précédemment que le 1,8-cinéole présentait divers degrés de pouvoir réducteur, de récupération des radicaux, de chélation, en plus de la capacité de protection de l'ADN. Le limonène est également le principal constituant d'autres huiles essentielles avec une activité antioxydante remarquable (**Amiri, 2012**).

Ainsi, on pourrait rappeler que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'Eucalyptus étudiés par (**Luis et al., 2015**) est principalement due à la présence de ses principaux composés, à savoir le 1,8-cinéole (*E. globulus*) et le limonène (*E. radiata*).

Dans le test de blanchiment du β -carotène, le **tableau V** répertorie les résultats obtenus avec cette méthode et il est possible d'observer que pour l'*E. globulus* l'huile présente une IC₅₀ inférieure à celle du BHT (Butylhydroxytoluène), qui est un indicateur de la grande capacité de cette huile à inhiber la peroxydation lipidique, encore mieux que le BHT.

Il s'agit d'un résultat très prometteur pour la conservation des aliments, car les effets secondaires indésirables des antioxydants synthétiques sont largement connus, à savoir les lésions hépatiques ou la cancérogenèse (**Xu et al., 2009**).

L'activité antioxydante de l'huile *E. radiata* est également inférieure à l'activité de l'huile *E. globulus*, de manière similaire à ce qui avait déjà été trouvé dans le test DPPH.

Ces observations permettent de conclure que le 1,8-cinéole possède de plus grandes propriétés de piégeage des radicaux libres et d'inhibition de la peroxydation lipidique que le limonène, les principaux composés des deux huiles. Néanmoins, il est important de

mentionner que la présence d'effets synergiques pourrait conduire à l'amélioration des propriétés antioxydantes des composés isolés.

Mishra et al 2010 (Article 4) : L'activité antioxydante de l'huile d'eucalyptus a été effectuée par DPPH, ils ont obtenu une valeur IC₅₀ d'huile d'Eucalyptus de 33.72 µg / ml et donc c'est la plus efficace en comparaison avec celles de **Bey-Ould Si Said et al., 2016** et **Harkat-Madouri et al., 2015** et **Luis et al., 2015**.

D'après les résultats des études de (**Bey-Ould Si Said et al., 2016**) et (**Harkat-Madouri et al., 2015**) nous pouvons conclure que l'activité antioxydante des huiles essentielles des fruits d'*E. globulus* est plus efficace que celle des feuilles dans les mêmes conditions.

Et aussi l'activité antioxydante des huiles essentielles des feuilles et des petites branches d'*E. globulus* originaire d'Espagne est plus efficace que celles des HE des feuilles et des fruits d'*E. globulus* de Bejaia (Algérie).

Les résultats des 3 articles (**Harkat-Madouri et al., 2015 ; Bey-Ould Si Said et al., 2016 ; Luis et al., 2015**) sont différents de ceux des HE hydrodistillées des feuilles indiennes d'*E. Citriodora* (IC₅₀=0.01 ± 0.008mg/ml) (**Singh et al., 2012**).

La différence constatée entre tous les résultats obtenus dans ces études sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de la plante *E. globulus*, peut être due à la différence des mécanismes impliqués dans les techniques d'extractions, des conditions de stockage et des conditions d'extractions expérimentales et les dosages appliqués pour évaluer les différents tests.

La faible activité des huiles testées par **Harkat-Madouri et al, 2015** peut s'expliquer par l'abondance des composés inefficaces. En effet, l'huile testée est riche en composés monohydroxylés comme le 1,8-Cinéole, qui n'est pas capable de chélater les ions ferreux (**AidiWannes et al., 2010**).

AidiWannes et al. (2010) et **MĎzami et al. (2013)**, ont rapporté que les huiles essentielles contenant des composés monoterpéniques supérieurs sont inefficaces. Terpènes tels que L'α-pinène, le β-pinène, le limonène, le β-myrcène, le sabinène et le terpinolène sont connus pour avoir de bonnes propriétés antioxydantes. Cependant, selon le mécanisme

impliqué dans leur action, certains d'entre eux peuvent présenter de faibles activités antioxydantes (**Martins et al., 2014**).

La faible activité de l'huile essentielle d'*E. globulus* peut également s'expliquer par la dégradation des composés bioactifs lors de leur extraction par hydrodistillation. En effet, l'hydrodistillation peut entraîner la dégradation thermique, l'hydrolyse et la solubilisation des composés bioactifs dans l'eau, modifiant ainsi leur capacité antioxydante.

De plus, l'eau utilisée en hydrodistillation rend plusieurs antioxydants instables ou les dégrade par action enzymatique dans le matériel végétal humide. En effet, lors de l'hydrodistillation, les échantillons étaient généralement extraits dans de l'eau bouillante sur une longue période de temps, ce qui peut entraîner une décomposition thermique des composés cibles thermolabiles d' *E. globulus* et ainsi abaisser l'activité antioxydante de l'extrait (**Bagheri et al., 2014**).

Conclusion

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'utilisation des huiles essentielles des plantes dans les industries pharmaceutiques et alimentaires implique la détermination de leur composition et leurs activités biologiques, afin de les utiliser pour rehausser le goût des aliments et la conservation grâce aux effets antimicrobiens et antioxydants de certains de leurs constituants. Ces agents naturels viennent réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques qui présentent des effets néfastes sur la santé. En effet, l'utilisation des antioxydants synthétiques tels que l'hydroxytoluène butilé (BHT), ainsi que l'hydroxyanisole butilé (BHA) est suspectée à long terme d'effets mutagènes et cancérigènes.

L'objectif de notre travail consiste à faire l'extraction et tester l'activité antioxydante sur de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* de la région de Tlemcen.

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles et fruits d'*Eucalyptus globulus* a été réalisé par hydrodistillation qui reste une méthode simple et efficace, et donne un rendement intéressant. Le calcul de rendement maximal en huile essentielle de notre plante nous a révélé une valeur de $0.83 \pm 0,68$ %.

Suite aux événements liés à la Covid19, nous n'avons pas pu achever notre travail, qui devait porter sur l'activité antioxydante. Cependant on a analysé des articles sur l'activité antioxydante de la même espèce, réalisée par trois tests différents, à savoir le test du piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment du β -carotène et le pouvoir de réduction de fer (FRAP).

D'après les résultats des IC_{50} trouvés par différentes équipes sur les huiles essentielles d'*E. globulus*, nous concluons que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une bonne activité antioxydante, ce qui indique qu'elle pourrait être un agent antioxydant et conservateur très promoteur pour l'industrie alimentaire, capable d'empêcher l'oxydation des aliments. Pour plus d'efficacité, de nombreuses perspectives sont envisagées :

- Il faut une analyse chimique de notre huile essentielle, Afin d'identifier les composés responsables de ses activités biologiques
- Tester les activités antioxydantes et élargir le panel des activités biologiques (antimicrobienne, antiinflammatoire...)

Références bibliographiques

AFNOR, EDITION. ; (2000).

Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471
P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles

Aghfir M., et coll. ;(2006).

Etude de la faisabilité de conservation par séchage solaire convectif des feuilles de
Romarin. II^{ème} Symposium International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales.
Marrakech.

Ahmed F. A. ;(1995)

Plantes médicinales et aromatiques dans le monde arabe. L'agriculture et la fabrication de
plantes médicinales dans le monde arabe. Institution arabe pour les études et publication, p :
2-22.

**AidiWannes W.,Mhamdi B.,Sriti J.,Ben Jemia M.,Ouchikh O., Hamdaoui G.,Kchouk M
E., Marzouk B. ;(2010).**

Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle
(*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower
Food Chem. Toxicol., 48, pp. 1362-1370

Akin M., Aktum A., Nostro A.; (2010).

Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis*
Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. African Journal of
Biotechnology Vol. 9 (4), pp. 531-535, 25 ISSN 1684– 5315 © 2010 Academic Journal.

**Ali M.,Alabdulkarem A.,Nuhait A.,Al-Salem K.,Jannace G.,Almuzaiqer R.,Al-turki
A.,Al-Ajlan F.,Al-Mosabi Y.,Al-Sulaimi A. ;(2020).**

Thermal and acoustic characteristics of novel thermal insulating materials made of *Eucalyptus*
Globulus leaves and wheat straw fibers. Journal of Building Engineering 32.

Amiri H. ;(2012).

Volatile constituent and antioxidant activity of flowers, stems and leaves of *Nasturtium*
officinale
R. Br. Nat. Prod. Res., 26 , pp. 109-115

Baba -Aissa F. ;(2000).

Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales
d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition: Librairie moderne – Rouiba: P101.

Bagheri H., Bin Abdul Manap M Y., Solati Z. ;(2014).

Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO₂ extraction
and hydro-distillation. Talanta 121, 220–228

Bastianetto S., Quirion R. ;(2002).

Natural extracts as possible protective agents of brain aging Neurobiol. Aging, 23, pp. 891-
897.

Beloued A. ; (1998).

Plantes médicinales d'Algérie. 2^{ème} Edition. Office des publications universitaires (Ed).
Alger, 274p.

Belyagoubi Benhamou N. ;(2012).

Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat en Biologie Université Abou Bakr Belkaïd-Tlemcen

Benayad N. ;(2008).

Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V-Agdal. Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair. Département de Chimie. Faculté des Sciences de Rabat.P61.

Benkada. ;(1990).

Isolation des huiles essentielles de la menthe suaveolens, de la région de Tlemcen et leur analyse par différentes méthodes chromatographique mise en évidence du composé majoritaire « la pulégone », Thèse Magister. Université Tlemcen.

Benziane Maatallah M. ;(2007).

Screening phytochimique de la plante Ruta Montan. Extraction de l'huile essentielle et de la rutine. Activité antioxydante de la plante. Thèse pour l'obtention du diplôme de Magister en chimie organique. Université d'Oran ES-SENIA.

Bernard T., Perineau F., Bravo O., Delmas M et Gaset A. ;(1988).

Informations chimie.n°298,179.

Bey-Ould Si Said Z., Haddadi-Guemghar H., Boulekbache-Makhlouf L, Rigou P., Remini H., Adjaoud A., Khoudja N K., Madani K. ;(2015).

Essential oils composition antibacterial and antioxydant activities of hydrodistilled extract of eucalyptus globulus fruits ; Industrial corps and product 89 ,167-175.

Bouhaddouda N. ;(2016).

Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium.Thèse de doctorat en Biochimie appliquée.Université Badji Mokhtar - Annaba

Bousbia N. ;(2011).

Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydant a partir de produits naturels et de coproduits agro-alimentaires. Thèse de doctorat en Chimie. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse et de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P16.

Bowles EJ. ;(2004).

The chemistry of aromatherapeutic oils. 3rd Ed. Crow's Nest, NSW: Allen & Unwin Academic.

Boyd B C., Ford C., Koepke Michael K., Gary E., Horn S., McAnelley C. ;(2003).

Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. GlycoScience et Nutrition, 4(6): p. 7.

Brain M L. ;(1995).

The isolation of aromatic materials from plants products, R, J. Reynolds Tobacco Company, Wiston-Salem (USA), p.57-148.

Brunton J. ;(1993).

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales ; édition Technique et documentation Lavoisier, Paris.

Bruneton J. ;(1993).

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques Et Documentation, 2ème Ed. Lavoisier. Paris-France

Bruneton J. ;(2009).

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème édition Technique et documentation. Paris, 1288.

Carré P. ;(1953).

Précis de technologie et de chimie industrielle.Tome3.Ed.Ballière J.B et fils.France.Paris.

Charpentier. ;(1998),

Guide de préparateur pharmacie, Ed, Masson, Paris France ; pp1068-1071,1242,

Chevallier A; (2000).

Larousse Encyclopédie des plantes médicinales identification préparation soins 2ème Ed.

Chibah S., Djouaher F. ;(2018).

Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Mémoire pour l'obtention d'un diplôme de Master en chimie pharmaceutique. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana.(Photo)

Chinnarasu C., Montes A., Fernandez-Ponce M., Casas L., Mantell C., Pereyra C., Ossa E M., Pattabhi S. ;(2015).

Natural antioxidant fine particles recovery from Eucalyptus globulus leaves using supercritical carbon dioxide assisted processes J. Supercrit. Fluids, 101, pp. 161-169.

Cruz J.M., Domínguez J M., Domínguez H., Parajó J C. ;(2001).

Antioxidant and antimicrobial effects of extracts from hydrolysates of lignocellulosic materials J. Agric. Food Chem., 49, pp. 2459-2464

Degryse A., Delpla I., Voinier M. ;(2008).

Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, atelier santé environnement.

Daroui-Mokaddem H. ;(2012).

Etude phytochimique et biologique des espèces Eucalyptus globulus (Myrtaceae), Smyrniolus olusatrum (Apiaceae), Asteriscus maritimus et Chrysanthemum trifurcatum (Asteraceae). Thèse de doctorat en biochimie. Université de BADJI MOKHTAR-ANNABA.

Dugo G. Di Giacomo A. ;(2002).

The genus Citrus.Taylor & Francis Publishing.London.

Edeoga H.O., Okwu D.E., Mbaebie B.O. ;(2005).

Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African Journal of Biotechnology, 4 : 685-688.

Elshafie H.S., Mancini E., Sakr S., De martino L.,Mattia C A.,De Feo V.,Camele I.;(2015).

Antifungal Activity of Some Constituents of *Origanum vulgare* L. Essential Oil against Postharvest Disease of Peach Fruit. Journal of Medicinal Food.18(8):929-934

Englebin M.;(2011).

Essences et huiles essentielles :précaution d'emplois et conseils d'utilisation. Centre de formation en aromathérapie.

Ferhat M., Kadi I., LahouaouA. ;(2009).

Recherche de substances bioactives de l'espèce *Centaurea microcarpa* Coss et Dur. Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie(DES).Université Mohamed Boudiaf-M'sila.Faculte des sciences et des sciences de l'ingeniorat.Departement de biologie.

Fernandez X., Chemat F. ;(2012).

La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert-Paris, 217p227

Ghedira K.,Goetz P.,Le jeune R. ;(2008).

Eucalyptus globulus labill, monographie médicalisé Phytothérapie 6 :197-200

Gurib Fakim A. ;(2006).

Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow.Molecular Aspects of Medicine, 27:1-93.

Gibbons S.; (2008).

Phytochemicals For Bacterial Resistance-Strengths, Weaknesses And Opportunities. *Planta Med*, 74 (6) : 594-602.

Goetz P., Ghedira K.;(2012).

Phytoterapie infectieuse, Springer Verlag, France , Paris, P 272

Goldstein H B., Epstein B J.;(2000).

La dentisterie non conventionnelle : Partie 4, les pratiques et les produits dentaires conventionnels. J Can. Dent. Assoc.; 66: 564- 568.

Haddouchi F., Benmansour A.;(2008).

Huiles essentielles, utilisation et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. Les technologiques de laboratoire N°8.

Hafsa J.,Smach M A.,Ben Khedher M R.,Cherfeddine B.,Limem K.,Majdoub H.,Rouatbi S. ;(2016).

Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan films containing *Eucalyptus globulus* essential oil.LWT-Food Science and Technology.Volume68,p 356-364.

Harborne J. B., Williams C. A.;(2000).

Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481–504.

Harkat-Madouri L., Boudria A., Mdadani K., Bey-Ould Si Said Z., Rigou P., Grenier D., Allalou H., Remini H., Adjaoud A., Boulekbache-Makhlouf L. ;(2015)

Chemical composition antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Industrial Crops and Products* 78 p148-153.

Hasegawa T., Takano F., Takata T., Niiyama M., Ohta T.;(2008).

Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globulus* *Phytochemistry*, 69, pp. 747-753

Holzner G.; (1977).

P.C.A., 15, p. 67- 79

Horvathova E., Navarova J., Galova E., Sevcovicova A., Chodakova L., Snahnicanov., Melusova M., Kozics K., Slamenova D.;(2014).

Assessment of antioxidative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol, carvacrol, thymol, borneol, eucalyptol) of plants and intact *Rosmarinus officinalis* oil. *J. Agric. Food Chem.*, 62, pp. 6632-6639

Huang Y L., Chen C C., Chen Y. ;(2001).

Identification and quantification of major polyphenols in grape seed *J. Nat. Prod.*, 64 , pp. 903-906

Hubert J., (2006).

Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaines. Thèse de doctorat en qualité et sécurité des aliments. Institut national polytechnique. Université de Toulouse

Hussain A I.;(2009).

Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae. Thèse de Doctorat, University of Agriculture, Faisalabad.

Iserin P. ;(2007).

Larousse des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. Ed Larousse Paris.

Iserin P., Masson M., Restellini J P., Ybert E., De laage de meus A., Moulard F., Zha E., De la roque R., De la roque O., Vican P., Deesalle-Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botre A. ;(2001).

Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2^{ème} édition de VUEF, Hong Kong: 335

Isman M.B. ;(2000).

Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection.*, N° 19. pp 603-608

Jammot M. ;(2015).

Plants médicinales : herbario. Madrid. Libsa. 180 P

Jones J D G., Dangl J.L. ;(2006).

The plant immune system. *Nature*, Vol 444: 323-329

Joshi R K.;(2012).

Aroma Profile Of Eucalyptus Globulus : collected from North West kARNATAKA INDIA
Scientific world.vol 10,89-90.

Jouhanneau D G. ;(1991).

La médecine des plantes aromatiques: Phyto-aromathérapie et les huiles essentielles de l'océan indien, Azalées Editions, St Denis, 153 p.

Kesbi A. ;(2011).

Etude 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, 2011.

Kohen R., Nyska A. ;(2002).

Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods of their quantification. *Toxicol Pathol*, 30 (6): 620-50

Koleva I I., Van-Beek T A., Linssen J P H., De Groot A., Evstatieva L N.; (2002).

Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods. *Phytochem Anal.* 13(1) : 8-17

Labiod R. ;(2016).

Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de doctorat en Biochimie appliquée. Université Badji Mokhtar-Annaba.

Lahlou M. ;(2004).

Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phyto therapy Reseach*, 18, pp: 435-448

Lahlou M. ;(2004).

Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour.Fragr. J.* 19, 159–165.

Larrey D., Hepatol J. ;(1997).

Hepatotoxicity of herbal remedies, *Journal of Hepatology*, vol26,pp : 47-51

Laurent J. ;(2017)

Les coumarines conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat en Science Pharmaceutiques Universités Paul Sabatier Toulouse III

Layadi ., Souadki .;(1999).

Contribution à l'étude des huiles essentielles de deux plantes ; *Ocimum basilicum* L et *Santolinchama ecyparissus*. Thèse d'ingénieur en agronomie. Institut national agronomique El-Harrach.

Les actualités économiques. ;(1996).

Huile essentielle : une production mondiale de 45000 tonnes. Parfums Cosmétiques Actualités, 127, p.26-30.

Lucchesi M E. ;(2005).

Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse présentée en vue de l'obtention de grade de docteur en chimie. Université de la Réunion. France.

Luis A.,Duarte A.,Gominho J., Domingues F.,Duarte A P.(2016).

Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of Eucalyptus globulus and Eucalyptus radiata essential oils. Industrial Crops and Products 79 274–282.

Maciel quadrin P M.,Verdi C M., de Souza M E., de Godoi S N., Klein B., Gundel A., Wagner R., de Almeida Vaucher R., Ourique A F., Santos R C V. ;(2017).

Antimicrobial and Antibiofilm Activities of Nanoemulsions Containing Eucalyptus globulus oil Against Pseudomonas Aeruginosa and Candida spp Microbial Pathogenesis .v112, p230-242

Madhav D., Deshpande S., Salunkhe D K. ;(1995).

Food antioxidants: Technological: Toxicological and health perspectives. RC Press

Martins M D R.,Arantes S., Candeias F., Tinoco M T.,Cruz-Morais J.:(2014).

Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of Schinus molle L. essential oils J. Ethnopharmacol., 151, pp. 485-492

Mastini M C., Seiller M. ;(1999).

Actifs et additifs en cosmétologie. Editions Tec & Doc. Paris.

Maurice N. ;(1997).

L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris.

Mayer-Warnod B. ;(1984).

Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils. Perfumer & Flavorist, 9, 93-103.

MĐzami A.,Sokovi M D.,Novakovic M.,JadraninRistic M S.,Těšević D.,Marina P.:(2013).

Composition, antifungal and antioxidant properties of Hyssopus officinalis L. subsp. pilifer (Pant.) Murb. Essential oil and deodorized extracts J. Ind. Crops. Prod., 51, pp. 401-407

Merrouche A., Touati H., Zemmar K.:(2016).

Etude préliminaire de l'activité insecticide des extraits des plantes (Eucalyptus globulus, Myrtus communis et Nerium oleander) à l'égard d'une espèce de moustique Culex pipiens. Mémoire pour l'obtention du diplôme Master en biologie, évolution et contrôle de population d'insectes. Université des Frères Mentouri Constantine P70.

Metro A. ;(1970).

Les eucalyptus dans le monde méditerranéen. Ed. Masson et Cie. Paris. p513

Mishra A k., Sahu N.,Mishra A.,Ghish A K., Jha S., Chattopadhyay .;(2010).

Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf.Pharmacognosy Journal.Vol2.

Molyneux P.:(2004).

The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 26(2): 211-219

Mompon B.:(1994).

Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction ; CO2 Micro-ondes, Ultrasons, Nouveaux solvants , 4^{ème} rencontres internationales de Nyons. 149-166

Nguta J M., Appiah-Opong R., Nyarko A K.,Yeboah-Manu D., Addo P G.A. ;(2015).

Medicinal plants used to treat TB in Ghana. International Journal of Mycobacteriology.4:116-23.

Nkhili E. ;(2009).

Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du fer et du cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse. France.

Noumi E., Snoussi M.,Hajlaoui H.,Trabelsi N.,Ksouri R.,Valentin E.,Bakhrouf A.:(2011).

Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of Melaleuca alternifolia (tea tree) and Eucalyptus globulus essential oils against oral Candida species
J. Med. Plant Res., 5, pp. 4147-4156

Onippam, ;(1997).

Huiles essentielles et plantes aromatiques : bilan en demi-teinte, Aromes. Ingrédients Additifs, 8, p.23-26.

Osbourn A.,Lanzoth E V.:(2009).

Plant-derived Naturels Products synthesis, function and application. Édition SPRINGER, New York: 11-35.

Ouis N. ;(2015).

Etude chimique et biologiques des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse présenté en vue de l'obtention du grade de docteur en chimie organique. Université d'Oran 1.

Oyaizu M. ; (1986).

Studies on products of browning Reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from Glucosamine.
Japanese J. of Nutrition, 44 : 307–315..

Penchev P I. ;(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. Thèse de Doctorat en: Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. P 9, P17, P19.

Pibiri M C. ;(2006).

Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat. Ecole polytechnique fédérale de lausanne.161p.

Raho G B., Benali M.;(2012).

Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles d'Eucalyptus globulus contre Escherichia coli et Staphylococcus. Journal Asiepacifique de la biomédecine tropicale Volume 2, numéro 9, p739-742.

Recoquillay F. ; (2009).

L'intérêt des huiles essentielles. 9ème Journée Productions porcines et avicoles.p59

Richter G.;(1993).

Métabolisme des végétaux, Physiologie et Biochimie.Presses polytechniques et universitaires, Romandes, 292.

Roux R.;(2008).

Conseil en aromathérapie.2ème Edition, pro-officia, p.187.Their main components upon Cryptococcus neoformans.Mycopathologia.128 :p 151-153.

Salem N.,Kefi S.,Tabben O.,Ayed A.,Jallouli S.,Feres N.,Hammami M.,Khammassi S.,Hrigua I.,Nefsi S.,Sghaier A.,Liman F.,Elkahoui S. ;(2018).

Variation in chemical composition of Eucalyptus globulus essential oil under phenological stages and evidence of synergism with antimicrobial standards. Industrial Crops & Products 124, p115-125.

Samate Abdoul D. ;(2002).

Composition chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : valorisation. Thèse doctorat en chimie organique. Université d'Ouagadougou. Burkina Faso.

Sarikurku C., Arisoy K., Tepe B., Cakir A., Abali G., Mete E. ;(2009).

Studies on the antioxidant activity of essential oil and different solvent extracts of Vitex agnus-castus L fruits from Turkey Food Chem. Toxicol., 47, pp. 2479-2483

Scalbert A., Johnson I T., Saltmarsh M. ;(2005).

Polyphenols: antioxidants and beyond .Am J Clin Nutr, 81 ,pp. 215-217

Schauenberg P., Paris F. ;(2006).

Guide des plantes médicinales, Analyse, description et utilisation de 400 plantes. DELACHAUX et NIESTLE

Sebei k., Sakouhi F., Herchi W., Khouja M L., Boukhchina S. ;(2015).

Chemical composition and antibacterial activities of seven Eucalyptus species essential oils leaves . Biological Research , 48:7.

Seladji M. ; (2015).

Etude phytochimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat en biologie cellulaire et biochimie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.

Seu-Saberni M., Blakeway J. ;(1984).

Le moussin de chêne, une base de la parfumerie, Pour la science. Edition Française de Scientific American.

Singh H P., Kaur S., Negi K., Kumari S., Saini V., Batish D R., Kohli K R.:(2012).

Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus citriodora (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents
LWT- Food Sci. Technol., 48, pp. 237-241

Shaukat K., Ghazala H.R., Hina Y.:(2013).

Medicinal importance of *Holoptela integrifolia* (Roxb.) Planch - its biological and pharmacological activities. Natural Products.Chemistry & Research. 2(1):1-4.

Tappel A., Moller L. ; (1996).

Glutathion Peroxidase and other Selenoproteinler. Ed. VAN Nostrand Co. New York.

Topiar M.,Sajfrtova M.,Pavela R.,Machalova Z.:(2015).

Comparison of fractionation techniques of CO₂ extracts from Eucalyptus globulus-Composition and insecticidal activiy.Journal of Supercritical Fluids Volume97, p202-210.

Tyagi A K., Malik A.; (2011).

Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptusglobulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms Food Chem., 126, pp. 228-235

Viuda Martos M., Mohamady MA., Fernández López J., Abd El Razik KA., Omer EA., Pérez Alvarez JA., Sendra E.:(2011).

In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. Food Control. 22: 1715-1722.

Wang H., Zhao M.,Yang B., Jiang Y.,Rao G. ;(2008)

Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities Food Chem., 107, pp. 1399-1406

Wichtl M., Anton R. ;(2009).

Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Édition LAVOISIR, Paris: 38, 41.

Xu W.,Zhang F.,Luo Y.,Ma L.,Kou X.,Huang K. ;(2009).

Antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide purified from *Pteridium aquilinum* Carbohydr. Res., 344, pp. 217-222.

Références bibliographiques

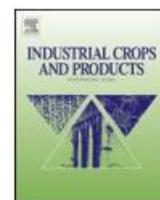
ZorziTomazoni E.,Pauletti G F.,Ribeuro R S.,Moura S., Schawambach J. ;(2017).

In vitro and in vivo activity of essential oils extrated from Eucalyptus staigeriana,Eucalyptus globulus and Cinnamomum camphora against Alternaria solani Sorauer causing early blight in tomato.Scientia Horticulturae Volume 223,p72-77.

Zrira S.,El khiran F., Benjlal B. ;(1994).

Huiles essentielles de six espèces xérophytes d'Eucalyptus: effet du milieu sur les rendements et la composition-chimique. Actes Inst. Agron. Veto (Maroc), Vol. 14 (1): 5 – 9.

Annexe



Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits

Zakia Bey-Ould Si Said ^a, Hayate Haddadi-Guemghar ^a, Lila Boulekbache-Makhlouf ^{a,*}, Peggy Rigou ^b, Hocine Remini ^a, Abdennour Adjaoud ^a, Nabyla Khaled Khoudja ^{a,c}, Khodir Madani ^a

^aLaboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie, et Scientométrie (L3BS), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algérie

^bINRA, UMR 1083 Sciences pour l'œnologie, Montpellier, France

^cFaculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université de Tizi-Ouzou, 15000 Tizi-Ouzou, Algérie

article info

Article history:

Received 23 December 2015

Received in revised form 8 May 2016

Accepted 9 May 2016

Available online 19 May 2016

Keywords:

Eucalyptus globulus

Fruits

Essential oils

GC/MS analysis

Antioxidant activity

Antibacterial activity

abstract

Aromatic plants and their essential oils have been used since antiquity in flavor and fragrances, as condiments or spices, in medicines, as antimicrobial/insecticidal agents, and to protect stored products. The present study was undertaken: to determine (:) the chemical composition of essential oils extract from *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*) fruits, using Gas-Chromatography coupled with Mass Spectrometry (GC/MS) method, to examine their antioxidant activity (DPPH[•], reducing power and lipid peroxidation inhibition assays) compared to that of Butylated hydroxyanisole (BHA) standard, and to estimate their antibacterial effects against reference pathogenic strains: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *Listeria innocua* (*L. innocua*), *Escherichia coli* (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), compared to that of two antibiotics (tetracycline and gentamicin). Twenty eight volatile compounds were identified, with the predominance of sesquiterpenes and oxygenated sesquiterpenes compounds (61.2%). The results of the antioxidant activities (DPPH scavenging activity, reducing power and inhibition of lipid peroxidation activity) of essential oils extract revealed weak activities with IC₅₀ values of

27.0 ± 0.2 , 27.0 ± 0.2 mg mL⁻¹, 32.9 ± 1.8 mg mL⁻¹ and 4.9 ± 0.2 mg mL⁻¹, respectively; as compared to those of Butylated hydroxyanisole (BHA) standard that were about 0.05 ± 0.0 mg mL⁻¹, 0.03 ± 0.0 mg mL⁻¹ and 0.5 ± 0.2 mg mL⁻¹, respectively. The antibacterial activity shows an inhibition effect of essential oils extracts against all the tested bacteria with MIC of 3 and 4 mg mL⁻¹. A bactericidal effect is observed, with MBC varying between 3.6 and 9.0 mg mL⁻¹, which demonstrates the sensibility of all tested bacteria to the essential oils of *E. globulus* fruits.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

In the light of scientific development, the medicinal properties of plants have reached a great interest, due to their pharmacological activities, low toxicity and economic viability (Auddy et al., 2003). These studies have focused on the benefits of phytochemicals extracted from plants and their impact on human health. Natural additives from plants can be compounds, groups of compounds or essential oils. More recently, food industry's interest in natural compounds for direct addition or to be used in synergy with other compounds has been increasing. Several studies report direct

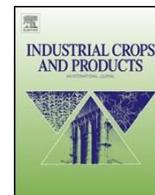
addition of aromatic plants essential oils and extracts to foodstuffs to exert an antimicrobial or antioxidant effect (Costa et al., 2015).

Among natural compounds, essential oils from aromatic and medicinal plants have shown biological activities and receive particular attention due to their radical scavenging properties (de Sousa Barros et al., 2015). Herbal substances are used against free radicals which are related to several pathologies such as cancer and neurodegenerative diseases. They are also involved in the deterioration of the organoleptic and hygienic quality of food (Hale et al., 2008).

Another problem affecting public health is the emergence of antibiotic resistance, following their massive use (De Billerbeck, 2007). This led to the strong demand of consumer for new antibiotics against pathogens (Fisher and Phillips, 2008) and has

* Corresponding author.

E-mail address: lilaboulekbachemakhlouf@yahoo.fr (L. Boulekbache-Makhlouf).



Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria

Lila Harkat-Madouri^{a,b}, Boudria Asma^a, Khodir Madani^a, Zakia Bey-Ould Si Said^a, Peggy Rigou^c, Daniel Grenier^d, Hanane Allalou^a, Hocine Remini^a, Abdennour Adjaoud^a, Lila Boulekbache-Makhlouf^{a,*}

^a Laboratoire de Biomathématiques, Biophysique, Biochimie, et Scientométrie (L3BS), Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Bejaia, 06000 Bejaia, Algeria

^b Faculté des Sciences Biologiques, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Alger, Algeria

^c INRA, UMR 1083 Sciences pour l'oéologie, Montpellier, France

^d Groupe de Recherche en Écologie Buccale (GREB), Faculté de Médecine Dentaire, Université Laval, Québec, Québec, Canada

article info

Article history:

Received 13 July 2015

Received in revised form 7 October 2015

Accepted 7 October 2015

Available online 16 November 2015

Keywords:

Eucalyptus globulus

Essential oil GC/MS

analysis

Antibacterial activity

Antioxidant capacity

abstract

Essential oils are known for their use in various fields such as cosmetic, pharmaceutical and food industries. The aim of this work is to investigate the chemical composition of essential oils from *Eucalyptus globulus* leaves (*E. globulus*) by gas-chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) method, and to evaluate their antioxidant capacity (DPPH radical scavenging effect, reducing power, and inhibition of lipid peroxidation activity) as well as their antibacterial activity, against periodontopathogenic and cariogenic bacterial species, using microdilution method in 96-well microplates. In total, 26 compounds were identified with the predominance of oxygenated monoterpenes (78.58%); 1,8-Cineole (55.29%), Spathulenol (7.44%) and α -Terpineol (5.46%) being the main components. The analyzed oils exhibited a weak antioxidant capacity, but a marked antibacterial activity against Gram negative bacteria, mainly for *F. nucleatum* ATCC 25586 (MIC = 1.14 mg/mL) and *P. gingivalis* ATCC33277 (MIC = 0.28 mg/mL). Therefore, *E. globulus* essential oils may have a potential therapeutic application for the treatment of periodontal diseases.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

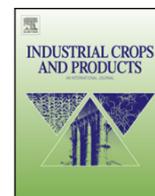
Eucalyptus globulus belongs to the family of Myrtaceae which is indigenous to Australia. It was introduced to Algeria in 1854 by Ramel (Boulekbache-Makhlouf et al., 2010), where it is now widely distributed. Essential oils of *E. globulus* contain more than 20 compounds with a prevalence of 1,8-Cineole (Batish et al., 2008; Boukhatem et al., 2014; Goldbeck et al., 2014; Maciel et al., 2010). The limitation on the use of synthetic antioxidants and the increase interest for natural non-toxic antioxidants has spawned numerous studies on the antioxidant potential of essential oils. Essential oils of plants are a mixture of various components such as monoterpenes, sesqui-terpenes, alcohols, esters, aldehydes and ketones, which are involved in the defense of the plant against pests, herbivores, fungi, and bacteria (Batish et al., 2008). Furthermore, essential oils and aromatic plants are known for their multiple uses in flavor and fragrance, as preservatives, and as

antimicrobials (Bakkali et al., 2008). Due to the toxicological effect of the synthetic products, renewed efforts were provided in respect of the use of essential oils as natural antioxidants and preservatives in the food processing, food supplement production and pharmaceutical industry (Wei and Shibamoto, 2007).

The essential oils of *Eucalyptus* species are widely used in the world, the United States Food and Drug Authority considered them as safe and non-toxic, even the Council of Europe has approved the use of eucalyptus oils as flavoring agent in foods (Batish et al., 2008). Consequently, a growing interest has been given to their use in the scientific research field and industry as a natural food additive, drugs and cosmetics. (Goldbeck et al., 2014; Ishnava et al., 2013). Several studies investigated the antioxidant potential of essential oils from various *Eucalyptus* species such as *E. polyanthemosa*, *E. perriniana*, and *E. camaldulensis* (Barra et al., 2010; Lee and Shibamoto, 2001; Singh et al., 2012). Singh et al. (2012) have reported a strong antioxidant activity of decaying and fresh leaves of *E. tereticornis* against DPPH, OH[•] and O₂ radicals. However, Barra et al. (2010) have reported a moderate DPPH scavenging activity for oils extracted from aerial parts of *E. camaldulensis* and *E. radiata*. *Eucalyptus* leaves are rich sources of essential oils, flavonoids

* Corresponding author. Fax: +213 34 21 47 62.

E-mail address: lilaboulekbachemakhlouf@yahoo.fr (L. Boulekbache-Makhlouf).



Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils



Ângelo Luís^a, Andreia Duarte^a, Jorge Gominho^b, Fernanda Domingues^a, Ana Paula Duarte^a,

^a CICS-UBI, Health Sciences Research Centre, University of Beira Interior, Av. Infante D. Henrique, 6200-506 Covilhã, Portugal

^b CEF-ISA, Centro de Estudos Florestais, Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

article info

Article history:

Received 25 June 2015

Received in revised form 26 October 2015

Accepted 30 October 2015 Available online 21 November 2015

Keywords:

Essential oils

Eucalyptus globulus

Eucalyptus radiata

Antioxidant

Antimicrobial

Anti-quorum sensing

abstract

The interest in plant polyphenol antioxidants has increased remarkably over the last decade mostly because of their protective effects against different diseases, including cardiovascular, inflammatory and neurological diseases, cancer as well as for retarding aging. Many naturally occurring polyphenols found in plants and spices have also been shown to possess antimicrobial properties and could serve as a source of antimicrobial agents. *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* are well known species that provide essential oils. These oils are in great demand in the market, since they find a vast array of applications. The present study was performed to evaluate some bioactivities of the essential oils from *E. globulus* and *E. radiata*, namely their antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing properties. Moreover, its chemical composition was assessed and the potential synergistic activity with conventional antibiotics against *Acinetobacter baumannii* strains was also evaluated. The major component of the *E. globulus* oil was 1,8-cineole, also known as eucalyptol (63.81%), and in the *E. radiata* oil, the principal component was limonene (68.51%). It was possible to conclude that both eucalypt essential oils presented relevant radical scavenging properties and also had the capacity to inhibit the lipid peroxidation. The *E. globulus* oil antioxidant properties stand out when compared to the *E. radiata* oil. The *E. radiata* oil had a more pronounced antibacterial activity than *E. globulus* oil. The studied eucalypt essential oils can act as potential improving agents of antibiotics against *A. baumannii*, considering the synergic effect obtained between these oils and conventional antibiotics. Both eucalypt essential oils now studied can inhibit the quorum sensing phenomena, inhibiting quorum sensing-regulated violacein pigment production in bacteria without interfering with their growth.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The interest in antioxidants from plants, namely polyphenols, has increased extremely over the last 10 years, mostly because of their benefic properties in several diseases, including cardiovascular, inflammatory and neurological diseases, cancer, as well as for retarding aging (Asgary et al., 2014; Bastianetto and Quirion, 2002; Gomes de Melo et al., 2012; Lu and Foo, 1997; Scalbert et al., 2005; Wang et al., 2008). The generally accepted mechanism of action of these compounds is that free radical-scavenging activity of polyphenols contributes to reduce the oxidative stress and

to prevent the development of diseases (Huang et al., 2001; Wang et al., 2008).

Many plant and spices polyphenols, which naturally occurs, have also shown to have antimicrobial properties and could act as a source of antimicrobial agents (Kotzekidou et al., 2008; Luís et al., 2014a). The antimicrobial properties of plant extracts and essential oils (EOs) has been widely investigated against several human pathogenic microorganisms (Luís et al., 2014c; Andrade et al., 2014; Silva et al., 2011). Furthermore, the multidrug-resistant bacteria has coming out and it represents a challenge to treat the infections, which creates a true need to search for new substances with antimicrobial properties that can replace the conventional antibiotics to fight these microorganisms (Andrade et al., 2014). The emergence of resistance of Gram-negative strains (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*) has been broadly recognized (Mulyaningsih et al.,

Corresponding author. Fax: +351 275 329 099. E-mail address: apcd@ubi.pt (A.P. Duarte).

Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf

Arun K Mishra ^{1,2*}, Neelum Sahu ¹, Amrita Mishra ¹, Aashoke K. Ghosh ¹,
Shivesh Jha ³, Pronobesh Chattopadhyay ⁴

¹Central facility of Instrumentation, IFTM Pharmacy College, Moradabad 244001. ²Institute of Pharmaceutical Science & Research Centre, Bhagwant University, Ajmer 305004. ³Department of Pharmaceutical Sciences, Birla Institute of Technology, Ranchi-835215.

⁴Defence research laboratory, DRDO, Tezpur-Assam

Abstract

barks, roots, fruits, buds, leaves and other parts of plant are considered as source of essential aromatic oils to cure several ailments. the antioxidant property has been shown to be important in recovery from several diseases. the essential oil extracted from eucalyptus leaves was tested for phytochemical analysis and antioxidant activities. the eucalyptus oil extracted from the leaves of *Eucalyptus globulus* family Myrtaceae was screened for the presence of phytochemicals and their effect on 2, 2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl radical (DPPH) and Nitric oxide free radical. Phytochemical screening of the plants showed the presence of flavonoids, terpenoids, saponins and reducing sugars. *Eucalyptus globulus* is not having any cardiac glycosides and anthraquinones. the free radical scavenging activity of the different concentrations of the leaf oil (10, 20, 40, 60 and 80% (v/v) in DMsO) of *E. globulus* increased in a concentration dependent fashion. In DPPH method, the oil in 80% (v/v) concentration exhibited $79.55 \pm 0.82\%$. In nitric oxide radical scavenging assay method, it was found that 80% (v/v) concentration exhibited $81.54 \pm 0.94\%$ inhibition. It was concluded that leaf oil is potent inhibition of free radicals.

Key words: eucalyptus globules, Antioxidants, DPPH, NO, Free radical.

INTRODUCTION

Free radicals are atoms or groups of atoms with an odd (unpaired) number of electrons and can be formed when oxygen interacts with certain molecules. Once formed these highly reactive radicals can start a chain reaction. The chief danger of free radical is that when they react with important cellular components such as DNA, or the cell membrane, the cell functions poorly or die. To prevent free radical damage the body has a defense system of antioxidants.^[3-4] Antioxidants are intimately involved in the prevention of cellular damage thus inhibits the common pathway for cancer, aging and a variety of diseases.^[5-6] In order to prevent this cellular damage, apart from body natural defense system, some herbal extracts/oils/formulations has been proved as important antioxidant agents.^[7-9]

Several researchers have shown that aromatic and medicinal plants are sources of diverse nutrient and non nutrient molecules, many of which can cure several ailments as pain, pyrexia, hypertension, kidney stone and sunburn diseases.^[10-12] In traditional books of Ayurveda, the eucalyptus oil has been strongly recommended for antimalarial action, antiseptic action, antispasmodic, antiviral, astringent, balsamic, decongestant, deodorant, depurative, diuretic, expectorant, febrifuge, hypoglycaemic and rubefacient stimulant action.^[13-14] The literature survey revealed that eucalyptus oil antioxidant activity has not been proved scientifically, so the phytochemical investigation and antioxidant properties were subjected for evaluation. It is also used as a stimulant and antiseptic gargle and if locally applied, it impairs sensibility.^[15-16]

E. globulus is a large tree attaining a height of 300 ft. or more, with a clean straight bole under forest conditions, but often tending to branch freely when grown in the open. Leaves on juvenile shoots are opposite, sessile, cordate-ovate and covered with a bluish white bloom.^[17] The adult leaves are alternate, lanceolate, 6-12 inch long and 1-2 inch broad.^[18] Stems of the seedlings and coppice shoots are quadrangular. Flowers are in cymose panicles.^[19] The

*Address for correspondence:
Email: arun_azam@rediffmail.com

DOI: ****

Résumé

Eucalyptus globulus (Myrtacées) est un arbre largement utilisé en médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés thérapeutiques. Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle des feuilles et fruits de cette espèce.

La première partie de notre étude consiste en l'extraction de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*, qui a été réalisé par hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle est de l'ordre de 0.83 ± 0.68 %.

La deuxième partie de notre travail a porté sur une analyse d'articles qui ont traité la composition chimique et l'activité antioxydante par trois tests différents (le test du piégeage du radical libre DPPH, le test de blanchiment du β -carotène et le pouvoir de réduction de fer) de l'huile essentielle d'*E.globulus*.

Pour les résultats de l'analyse chimique, les principaux composants des feuilles d'*Eucalyptus globulus* sont 1,8-cinéole, également appelé eucalyptol (55,29%) et Isovaleraldehyde (10,04%), alors que pour l'huile des fruits de la même espèce, les principaux composants étaient le Globulol (23,6%) et Aromadendrene (19,7%).

Les IC50 trouvés par les différentes équipes sur les huiles essentielles d'*E. globulus*, montrent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède une bonne activité antioxydante.

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, huile essentielle, hydrodistillation, activité antioxydante

Abstract

Eucalyptus globulus (Myrtacées) is a tree widely used in traditional Algerian medicine for its therapeutic properties. The aim of this study is to assess the antioxidant activity of the essential oil of the leaves and fruits of this species.

The first part of our study consists of extracting the essential oil of *Eucalyptus globulus*, which was carried out by hydrodistillation. The essential oil yield is around 0.83 ± 0.68 %.

The second part of our work focused on an analysis of articles which treated the chemical composition and the antioxidant activity by three different tests (the DPPH free radical trapping test, the β -carotene bleaching test and the power iron reduction) of *E.globulus* essential oil.

For the results of the chemical analysis, the main components of the leaves of *Eucalyptus globulus* are 1,8-cineole, also called eucalyptol (55.29%) and Isovaleraldehyde (10.04%), while for fruits of the same species, the main components were Globulol (23.6%) and Aromadendrene (19.7%).

The IC50s found by the different teams on essential oils from *E. globulus*, show that the essential oil of *Eucalyptus globulus* has good antioxidant activity.

Key words: *Eucalyptus globulus*, essential oil, hydrodistillation, antioxidant activity.

ملخص

شجرة الكينا (Myrtaceae) هي شجرة تستخدم على نطاق واسع في الطب الجزائري التقليدي لخصائصها العلاجية. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري لأوراق هذا النوع وثماره.

يتكون الجزء الأول من دراستنا من استخراج الزيت العطري لكوكب الأوكالبتوس ، والذي تم بواسطة التقطير المائي. عائد الزيت العطري ركز الجزء الثاني من عملنا على تحليل المقالات التي عالجت التركيب الكيميائي والنشاط المضاد للأكسدة من خلال ثلاثة اختبارات مختلفة (اختبار تثبيت الجذور الحرة لـ DPPH ، واختبار التبييض β كاروتين وخفض الحديد) من *E.globulus* الأساسية نطف.

بالنسبة لنتائج التحليل الكيميائي ، فإن المكونات الرئيسية لأوراق شجرة الكينا هي 1,8-سينول ، وتسمى أيضاً يوكالبيتول (55.29%) وإيزوفاليرالدهيد (10.04%) ، بينما بالنسبة للفواكه من نفس النوع ، كانت المكونات الرئيسية غلوبولول (23.6%) وأرومادينرين (19.7%). تظهر IC50s التي عثرت عليها الفرق المختلفة على الزيوت الأساسية من *E. globulus* ، أن الزيت العطري لكرات الأوكالبتوس له نشاط جيد مضاد للأكسدة.

الكلمات المفتاحية: كروية الأوكالبتوس ، الزيت العطري ، التقطير المائي ، النشاط المضاد للأكسدة.