UNIVERSITE KASDI MERBAH - OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques

Année 2014 / 2015

N° d'enregistrement :

THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat

en Biologie

Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus camendulensis* dans la région de Ouargla

Présentée et Soutenue publiquement
Par :

Mehani Mouna

le: 19/05/2015

Devant le jury composé de :

Mme OULD EL HADJ-KHELIL Aminata	**Professeur**	**U.K.M. Ouargla**	**Présidente**
Mr SEGNI Ladjel	**Professeur**	**U.K.M. Ouargla**	**Rapporteur**
Mr DIBBI Ammar	**Professeur**	**U. Hadj Lakhdar Batna**	**Examinateur**
Mr AKKAL Salah	**Professeur**	**U. Mentouri Constantine**	**Examinateur**
Melle SALHI Nasrine	**M.C.A**	**U.K.M. Ouargla**	**Examinateur**
Mr BELBOUKHARI Nasser	**Professeur**	**U. Bechar**	**Examinateur**

مـلـــخـــص

هده الدراسة تهتم بتحليل الخصائص الفيزيوكيميائية للزيت العطري لشجرة الاوكاليبتوس حيث سمحت بالقاء الضوء على نوعية هدا الزيت العطري المتميز بالمعيار الحمضي و المميزات الفيزيوكيميائية المشابهة للمعايير الدولية المتحصل عليها.

دراستنا تهدف الى دراية واسعة حول هده النبتة من خلال معرفة الجزء العطري لها تبين لنا اللون الاصفر و الرائحة الطيبة وطعم مميز لهدا الزيت العطري المتحصل عليه من خلال عملية التقطير حيث ان مردود هده العملية كان 0,99% .

بفضل التحليل الكيميائي عن طريق التحليل الكروماتوغرافي (GC/MS)الدي سمح بتصنيف هدا الزيت على انه دو نوع كيميائي (Benzène, 1-methyl-4) هدا الاخير يتميز بوفرته على العناصر الكيميائية التالية : monoterpèneiques (42.57%) و sesquiterpenic alcollique المفضلة في الاستعمالات العطرية .

ومن جهة اخرى تهدف هده الدراسة الى معرفة تركيبة و خصائص hydrolat حيث له نشاط بيولوجي مختلف بالاضافة الى مراقبة ميكروبيولوجية ضد البكتيريا و الفطريات في وسط جلوزي مغدي .

للحصول على نتائج افضل لعملية استخراج الزيت العطري لنبتة الاوكاليبتوس يحبد ان تقطف الاوراق و تجفف خلال مدة لا تتجاوز اسبوع والا فقدت خصائصها الكمية.

الكلمات الدالة : الاوكاليبتوس, الزيت العطري, نشاط ميكروبيولوجي و كروماتوغرافي.

ABSTRACT

This study focuses on the essential oil of *Eucalyptus camendulensis* control by physico-chemical characteristics allowing to highlight the quality of this oil, is characterized by an acid index and physical and chemical properties similar to those obtained by the literature concerning the essential oils in general.

Our study aimed to better know the Eucalyptus camendulensis through the study of its aromatic fraction (HE-HA). We showed that the essential oil of this species is yellow, with a pleasant smell and a characteristic taste. The yield of essential oil obtained by hydrodistillation of the plant Eucalyptus camendulensis is 0.99%.

Due to its chromatographic profile by (GC / MS) allowed to classify this oil in (Chemotype Benzene, 1-methyl-4- (1-methylethyl) The latter, known for its richness in monoterpèneiques
compounds (42.57%) and sesquiterpenic alcollique, are highly appreciated in perfumery.

The other objective was to study the composition and properties of a secondary product of hydrodistillation, the hydrolat. Its different biological activity. In addition to its antimicrobial and antifungal potential checked on standard germs gelose medium, and in the vapor phase, the oily fraction has an undeniable anti-antimicrobial action.

For better industrial operation, it is therefore necessary to extract the essential oil from the leaves of Eucalyptus camaldulensis after a week of drying after harvest, since the essential oil content is at its maximum. Beyond this period, they lose their essential oils quantitatively.

Key-Words: *Eucalyptus camaldulensis,* Essential Oils, Hydrolat, microbial activity, chromatographic.

RESUME

La présente étude s'intéresse au contrôle d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* par les caractéristiques physico-chimiques qui permet de mettre en évidence la qualité de cette huile, se distingue par un indice d'acide et des propriétés physiques et chimiques comparables à ceux obtenus par la littérature concernant les huiles essentielles d'une façon générale.

Notre étude avait pour but de mieux connaître l'*Eucalyptus camendulensis* à travers l'étude de sa fraction aromatique (EO-HY). Nous avons pu montrer que l'huile essentielle de cette essence est de couleur jaune, avec une odeur agréable et un gout caractéristique. Le rendement en huile essentielle obtenu par l'hydrodistillation de la plante *Eucalyptus camendulensis* est de 0,99%.

De part son profil chromatographique par (GC/MS) a permis de classer cette huile en (Chémotype Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl), Celle-ci, reconnue pour sa richesse en composés monoterpèneiques (42.57%) et Sesquiterpèniques alcollique, sont très appréciées en parfumerie.

L'autre objectif était l'étude de la composition et des propriétés d'un produit secondaire de l'hydrodistillation, l'hydrolat. Son activité biologique différente. Outre ses potentialités antimicrobiennes et antifongiques vérifiées sur des germes standardisés en milieu gélosé et en phase vapeur, la fraction huileuse possède une action anti-antimicrobienne indéniable.

Pour une meilleure exploitation industrielle, il convient donc d'extraire l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* aprés une semaine de séchage après leur récolte, puisque la teneur en huiles essentielles serait à son maximum. Au delà de cette période, elles perdent quantitativement leurs huiles essentielles.

Mots clés : *Eucalyptus camaldulensis*, Huiles essentielles, Hydrolats, activité microbienne, chromatographique.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à :

Mes parents,

Pour vos mains qui ont tant travaillées,
Pour votre cœur qui m'a tant donné
Pour votre sourire qui m'a tant réchauffé,
Pour vos yeux qui furent parfois mouillés,
Pour vous qui m'avez tant aimé.

Pour leurs dévouements, leurs amours, leurs sacrifices et leurs encouragements. Que ce travail soit, pour eux, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse;

Mes sœurs et mon frère

Pour leur soutien moral, Ahlem, Widad, Insaf et Charaf

Toute ma famille

Mehani

Qu'ils trouvent dans ce modeste travail le témoignage de ma profonde reconnaissance et mon plus grand attachement.

Mouna

REMERCIEMENTS

« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »

Sadra Boudjema – Ordre du grand vol

Je le fais, avec humilité et ferveur, au Tout Puissant, le Miséricordieux, pour m'avoir inspiré et donné la patience et l'abnégation de mener à bien ce travail.

Je remercie profondément Monsieur Ladjel Segni, Professeur au département de Génie de procédé à l'université de Kasdi Merbah Ouargla, pour avoir dirigé ce travail et pour l'intérêt constant qu'il a porté à ce sujet et m'avoir guidé tout en me laissant libre dans mes choix. Je suis très honorée d'avoir pu bénéficier de vos remarques éclairées et tiens à vous assurer de mon grand estime et de ma profonde gratitude. Je souhaiterais lui témoigner ici ma sincère reconnaissance pour tous les conseils et les remarques objectives qu'il m'a apporté, de m'avoir accueilli dans l'unité de recherche « chimie verte » avec la plus grande bienveillance. Vos encouragements et votre confiance m'ont guidé tout au long de ce travail. En témoignage de ma profonde gratitude, veuillez trouvez ici mes remerciements les plus sincères.

A notre Présidente du jury, Madame Oueled el Hadj Khellil Amina professeur au département de Biologie université Kasdi Merbah Ouargla. Nous sommes particulièrement honorés de vous avoir vu assurer la Présidence de ce Jury. Veuillez recevoir ici, cher professeur, notre profonde gratitude.

A notre Jury de Thèse,

Mr Akkal Salah, Professeur au département de Chimie, Université Mentouri Constantine. Pour nous avoir fait l'honneur de siéger à notre jury,

Sincères remerciements.

Mr Debbi Ammar, Professeur au département de Chimie Université Hadj Lakhdar Batna. Qu'il nous soit ainsi permis de vous remercier très sincèrement pour avoir spontanément accepté de juger ce travail,

Hommage respectueux.

Mr Belboukhari Nasser, Professeur au département de Chimie Université Bechar Pour nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce travail.

Sincères respectueux.

Je tiens à exprimer également toute ma gratitude à Melle Salhi Nasrine, Maître de conférences au département de Biologie, Université Kasdi merbah Ouargla, Je souhaiterais lui témoigner ici ma sincère reconnaissance pour tous les conseils et les remarques objectives qu'elle m'a apportés, En témoignage de ma profonde gratitude, veuillez trouvez ici mes remerciements les plus sincères.

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé grâce à des nombreuses collaborations. Je ne saurais oublier les personnes qui m'ont aidé et soutenue.

J'adresse également mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail :

- Tous le personnel technique, administratif et corps de recherche ainsi à

Mr Luigi directeur de centre de recherche Génomique en Italie, ainsi, Madame Valerie qui m'avoir accueilli au sein du laboratoire et dans l'unité de recherche avec la plus grande bienveillance, et donné goût à la recherche. Pour m'avoir encadrée durant ce travail et pour l'intérêt que vous y avez porté, Pour votre accompagnement, votre disponibilité et vos précieux conseils, tout au long de mes stages et de ce travail, Veuillez trouver l'expression de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

- Tous le personnel technique, administratif et corps enseignant de la faculté de Génie des procédés et la faculté de biologie et ceux de l'université « Kasdi Merbah » Ouargla.

- Responsable du laboratoire de Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico-chimiques Bab El zouar Alger.

Je ne saurais oublier mes amis pour les innombrables moments forts que nous avons vécus ensemble, nous avons été plus que collègues et amis. Œuvrons pour maintenir cette flamme d'amitié plus vive et grande dans nos vies futures.

A tous ceux qui, de prés ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce document.

Ð' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art
et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur
enseignement.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS

RESUME

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION……..……..……..……..... 01

Chapitre I : **SYNTHESE D'ETUDE**

1. Les plantes et la Médecine.……..……..... 05

1.1. Historique ……..……..... 05

2. Plantes médicinales……..……..…….....…… 06

2.1. Domaines d'application des plantes médicinales…….……. 07

2.1.1. Utilisation en médecines.....……..……..... 07

2.1.2. En Agriculture.....…..…….. 09

2.1.3. En alimentation assaisonnements...……..……. 09

2.1.4. En cosmétiques.....…….. 09

3. Généralité sur les huiles essentielles. .....……..……... 10

3.1. Historiques.....……..…..……. 10

3.2. Définition des huiles essentielles ...……..……...……..…..…..….. 10

3.3. Localisation ou répartition des huiles essentielle..... 12

3.4. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles..... 13

3.4.1. D'ordre naturel …..……..……..... 13

3.4.1.1. Intrinsèque …….....…… 13

3.4.1.2. Extrinsèque .....…….....…… 14

3.4.2. De l'ordre considéré…….....……... 14

3.4.3. De l'ordre technologique……..……..…..……. 15

3.5. Procédés d'obtention des huiles essentielles.....……..……...…… 15

3.5.1. La distillation .....…….……..……..…... 15

3.5.2. Hydrodistillation…….....……..……. 16

3.5.3. Distillation mixte..... 17

3.5.4. Distillation à la vapeur d'eau saturé..... 17

3.5.5. Extraction des huiles essentielles à l'aide des solvants ……...…….. 18

3.5.5.1. Extraction au moyen des solvants volatils.……....…..… 18

3.5.5.2. Extraction par des solvants non volatils....….....…….. 19

3.5.5.2.1. Sans emploi de la chaleur (enfleurage)…..…… 19
3.5.5.2.2. A chaud (la macération)..……..…… 20
3.5.5.3.Extraction par dioxyde de carbone CO_2 liquide supercritique..... 20
3.5.5.4. L'expression..... 21
3.5.5.5. L'extraction au Forane 113.....……....…… 22
3.5.6. Extraction par micro-ondes..... …….....…….. 24
3.6. Composition chimique des huiles essentielles…...…....…….…….. 25
3.6.1. Monoterpènes.....……..……....……..…….. 27
3.6.2. TerpénoÏdes.....…….…..…….. 27
3.6.3. Sesquiterpènes..... 28
3.6.4. Composés odorants.....……..... 28
3.7. Mode de conservation des huiles essentielles.....……..... 28
3.8. Propriétés des huiles essentielles.....……. 29
3.8.1. Propriétés organoleptiques.....……....…....…… 30
3.8.2. Propriétés biologiques des huiles essentielles..... 30
3.8.3. Propriétés antioxydantes.……..... 31
3.9. Rôle écologique des huiles essentielles.....…….……..… 31
3.10. Principales utilisations des huiles essentielles..... 32
3.10.1. En pharmacie..... 32
3.10.2. En parfumerie..... 34
3.10.3. En industries agro-alimentaires..... 34
3.10.4. En diverses industries..... 35
4. Description et domaine d'utilisation d'*Eucalyptus* ……..... 35
4.1. Classification…….....……..……..……. 36
4.2. Domaines d'utilisation..... 37
4.2.1. Les huiles médicinales..... 38
4.2.2. Les huiles industrielles..... 38
4.2.3. Les huiles de la parfumerie et des flaveur..... 39

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

1. Choix et description de station de récolte..... 40

1.1. Situation géographique de site de récolte..... 40

1.2. Géomorphologie, géologie et pédologie..... 41

1.3. Hydrogéologie..... 41

1.4. Synthèse climatique..... 41

1.5. Température..... 41

1.6. Vents..... 42

1.7. Humidité..... 42

1.8. Précipitations..... 43

2. Matériel…….…….....……..……..… 43

2.1. Matériel végétal.....……..…….....……..……...… 43

2.2. Choix du matériel végétal….....……....……..... 44

3. Méthodes……..…….....…..……... 44

3.1. Extraction de l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus…….....…..…… 46

3.1.1. Dispositif d'extraction par hydrodistillation type Clevenger ……..... 46

3.1.2. Dispositif proposé d'extraction par hydrodistillation.....…… 47

3.1.3. Récupération, conditionnement et conservation d'huile essentielle.. 48

3.2. Détermination du rendement…….……... 48

3.3. Détermination de l'effet de séchage sur de la teneur en eau et en huiles essentielles ….....….....…… 49

3.3.1. Effet de séchage sur de la teneur en eau…….....…….……... 49

3.3.2. Effet de séchage sur de la teneur en huiles essentielles…….....…… 49

3.4. Détermination des constantes physico chimiques….....……..... 50

3.4.1. La densité à 20°C (d^{20})…….....…… 50

3.4.2. L'indice de réfraction……..….....…….. 51

3.4.3. Mesure de pH……..….....…….....……..... 52

3.4.3.1. Définition……..…….....…….. 52

3.4.3.2. Méthode de mesure……....…..…….…….....…… 53

3.4.4. Indice d'acide……..……..…….....…….. 53

3.5. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique (HE)….....……. 54

3.5.1. Principe de la Chromatographie (GC/MS)..... 54

3.5.2. Elaboration des profils chromatographiques……..... 56

3.5.2.1. Préparation des échantillons pour essai……..…… 56
3.5.2.2. Conditions opératoires de la GC/MS……..…… 56
3.6. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat..... 57
3.6.1. Souches microbiennes étudiées……..…….....…..... 57
3.6.1.1. Cocci à Gram positif……..…….....…..... 57
3.6.1.1.1. *Enterococcus feacalis*…….....…..…….... 57
3.6.1.2. Bacilles à Gram Négatif……..…….....…..…..…….. 57
3.6.1.2.1. *Escherichia coli*……..….....……..... 57
3.6.1.2.2. *Enterobacter cloaceai*..... 59
3.6.1.2.3. *Klebsiella pneumoniae*…….....…...……..... 59
3.6.1.2.4. *Proteus microsilis*…….....……..... 58
3.6.1.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*…….....……..... 58
3.6.2. Souches fongiques etudiées..... 58
3.6.2.1. *Fusarium sporotrichioide*……..……...…… 58
3.6.2.2. *Fusarium graminearum*……..……...…… 59
3.7. Milieux de culture et Produits actifs…….....……..... 60
3.8. Tests d'activité antibactérienne…….....…..……..……..... 60
3.9. Protocoles d'étude……..…….....……..……..... 61
3.9.1. Technique en milieu solide…….....……..... 61
3.9.1.1. Méthode des aromatogrammes…….....……. 61
3.9.1.1.1. Suivi de l'activité des extraits…….....……..... 61
3.9.2. Méthode de dilution d'agar- agar …….....…….. 61
3.9.2.1. Préparation des dilutions de l'huile essentielle…….....…… 62
3.9.2.1.1. Détermination de CMI (Concentration minimal Inhibitrice)..... 67
3.10. Activité antifongique…….....……....…… 69
3.10.1. Evaluation de la croissance mycélienne…….....…… 70
3.10.2. Détermination de l'indice antifongique….....……..... 71
3.10.3. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)….....… 71

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Extraction de la fraction aromatique d'*Eucalyptus camendulensis*….....…..… 72
3.1.1. Extraction et rendement en huile essentielle……...……..... 72

3.2. Détermination de l'effet de séchage sur la teneur en eau et en huile essentielle..... 73

3.2.1. Effet de séchage sur la teneur en eau…….……..... 73

3.2.2. Effet de séchage sur la teneur en huiles essentielles…….....… 74

3.3. Étude analytique de l'huile essentielle…….....……....……...……..… 76

3.3.1. Caractéristiques organoleptiques…….....……...……..… 76

3.4. Caractéristiques physico-chimiques…….....…… 78

3.5. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique….....…….. 79

3.5.1. Composition chimique de l'huile essentielle…….....……..... 81

3.5.2. Classes biochimiques des composés identifiées dans l'HE..... 85

3.5.3. Composition chimique majoritaire d'huile essentielle..... 88

3.6. Activité antimicrobienne de la fraction aromatique…….....…..... 96

3.6.1. Détermination des CMI……..……..……..... 98

3.6.2. Activité antifongique……..... 102

3.6.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne……..... 102

3.6.2.2. Indice antifongique (IA)..... 105

3.6.2.3. Vitesse de la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum* ……..... 107

CONCLUSION……..... 110

REFERENCES……..……..……..……..... 113

APPENDICES……..……..……..……..... 135

Liste des abréviations, symboles et conventions

AFNOR	Association française de normalisation
ATCC	American Type Culture Collection (catalogue de microorganismes)
cm	Centimètre
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse
°C	Degrés Celsius
g	Gramme
EtOH	Éthanol
ha	Hectare
HA	Hydrolat
HE	Huile essentielle
HD	Hydrodistillation
IA	Indice d'acide
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
IP	Intra péritonéale
IR	Indice de réfraction
Kg	Kilogramme
L/H	Lipophile/Hydrophile
ml	Millilitre
mm	Millimètre
MeOH	Méthanol
m/z	Rapport entre la masse et le nombre de charges élémentaires d'ions (*MS*)

PA	Principe actif
Pa	Pascal
PAM	Plantes Aromatiques et Médicinales
pH	Potentiel d'Hydrogène
Ph.Eur	Pharmacopée Européenne
Qsp	Quantité suffisante pour
s	Seconde

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES, PHOTOS ET TABLEAUX

Figure	*Titre*	*Page*
Figure 1	Montage d'extraction par distillation	16
Figure 2	Montage d'extraction par hydrodistillation	16
Figure 3	Montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau saturé	17
Figure 4	Montage d'extraction par solvants	18
Figure 5	Montage d'extraction par enfleurage	19
Figure 6	Montage d'extraction par macération	20
Figure 7	Montage d'extraction par dioxyde de carbone CO_2 liquide supercritique	21
Figure 8	Montage d'extraction par expression	22
Figure 9	Organisation du procédé d'extraction au Forane 113	23
Figure 10	Montage d'extraction par micro-ondes	24
Figure 11	Structure chimique d'isoprène $(C_5H_8)_n$	25
Figure 12	Structure chimiques de quelques composés d'huile essentielle	26
Figure 13	carte géographique représentative de la région de Ouargla	36
Figure 14	Diagramme général de la procédure expérimentale	46
Figure 15	Montage proposé pour l'extraction d'HE	48
Figure 16	Schéma général d'un GC-MS	57
Figure 18	Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boite de Pétri	64
Figure 19	Réalisation de la gamme de dilution d'HE	70
Figure 20	Évolution de la teneur en eau des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis*	74
Figure 21	Évolution de la teneur en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis* au cours du séchage	76
Figure 22	Classes biochimiques des composés identifiées dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus Camendulensis*	87

Figure 23	compositions chimiques majoritaires d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*	90
Figure 24	Structure chimique des compositions majoritaires d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*	91
Figure 25	Chromatogramme Mélange d'alcanes C_7-C_{28}	93
Figure 26	Chromatogramme Huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*	94
Figure 27	Activité antimicrobienne des HE et HA d'*Eucalyptus camendulensis*	98
Figure 28	Activité antifongique de *Fusarium sporotrichioides*	104
Figure 29	Activité antifongique de *Fusarium graminearum*	105
Figure 30	Indice de la croissance mycélienne	107
Figure 31	vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioide* et *Fusarium graminearum*	108

Photo	***Titre***	***Page***
Photo1	*Eucalyptus camendulensis*	36
Photo 2	Montage d'extraction par hydrodistillation type clevenger	47
Photo 3	Photo de montage proposé pour l'extraction d'HE	49
Photo 4	Densimètre (DMA 35_N).	52
Photo 5	Réfractomètre (Pi)	54
Photo 6	pH mètre (HANNA Hi 4221)	55
Photo 7	Dispositif de mesure d'indice d'acide	56
Photo 8	Milieu culture Muller-Hinton	46
Photo 9	Préparation d'inoculum	65
Photo 10	Ensemencement des souches	66
Photo 11	Dépôt des disques des dilutions	67
Photo 12	Inoculum des disques mycéliens	71
Photo 13	Huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*	78
Photo 14	*Fusarium graminearum*	106
Photo 15	*Fusarium sporotrichioides*	106

Tableau	***Titre***	***Page***
Tableau 1	Caractéristiques des différents micro-organismes	61
Tableau 2	Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés	68
Tableau 3	Caractéristiques organoleptiques	78
Tableau 4	Caractéristiques physico-chimiques de l'HE	79
Tableau 5	Composition chimique d'huile essentielle	82
Tableau 6	Classes biochimiques des composés identifiées dans l'HE	88
Tableau 7	Composés majoritaires d'*Eucalyptus camendulensis*	89
Tableau 8	Activité antimicrobienne des HE et HA d'*Eucalyptus camendulensis*	97
Tableau 9	Intervalles de CMI (concentration minimale inhibitrice)	100

Introduction

Introduction

Il y a environ 500 000 plantes sur terre ; 10 000 d'entre elles environ, possèdent des propriétés médicinales. sont des plus courantes présentées dans l'ordre alphabétique de leur nom latin, sont étudiées dans la partie consacré aux principales plantes médicinales. La plupart de ces plantes sont bien connues et traditionnellement utilisées dans le monde entier, comme la Camomille allemande (*Chamomilla recutita)* ou Gingembre (*Zingiber officinale).*Les autres tel que le Neem (*Azadirachta hindica)*, originaire d'Asie, sont surtout utilisées dans leur région d'origine. La majorité de ces plantes ont fait l'objet de recherche et agissent efficacement sur la santé (ISERIN *et al*., 2001).

Il est reconnu dans le monde scientifique que les produits d'origines naturelles sont une source importante d'agents thérapeutiques des maladies microbiennes qui font un grand nombre de victimes en termes de taux de mortalité (HART *et al.*, 1997), tel que les composés antimicrobiens à partir de plantes peuvent inhiber la croissance bactérienne par des mécanismes différents.

Les plantes médicinales constituent un groupe numériquement vaste de plantes économique importantes. Elles offrent une solution d'alternatif aux médicaments et contiennent des composants actifs résultants de métabolite secondaire produits à partir de métabolisme des nutriments qui sont utilisés par l'homme dans son arsenal thérapeutique. Ces composants actifs se distinguent par plusieurs catégories tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les huiles essentielles et d'autres composées (STARY, 1992; CHERITI *et al.*, 1995 ; PERROTI, 1999).

L'usage thérapeutique des plantes médicinales remonte, en Afrique, aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime. Le papyrus Ebers, un des plus anciens textes médicaux conservés, recense plus de 870 prescriptions et préparations, 700 plantes médicinales, dont la gentiane jaune, l'aloès et le pavot. Il traite des affections bronchiques aux morsures de crocodile. Les techniques médicales mentionnées dans

les différents manuscrits égyptiens constituent les bases de la pratique médicale classique en Grèce, à Rome et dans le monde arabe (PAUL ISERIN *et al*., 2001).

Selon KAABECHE (2007), les potentialités que recèle la Flore d'Algérie (4125 plantes vasculaires réparties en 123 Familles botaniques), dans le domaine de valorisation et de domestication des plantes médicinales sont remarquables. La méthodologie utilisée prend en compte une double approche : d'une part, une approche botanique systématique (les plantes sources d'alcaloïdes qui se développent dans cette partie du territoire Algérien sont identifiées puis classées selon les règles de la taxonomie végétale), dans une seconde étape, les plantes sont classées selon la nature chimique de leurs principales substances bio-synthétisées, enfin, une approche ethnobotanique (reconnaissance des plantes déjà utilisées dans la pharmacopée populaire.

Depuis l'Antiquité, les extraits aromatiques des plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme pour les médicaments et la parfumerie (HEATH, 1981). Les huiles essentielles ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans ces plantes. Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ième siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser.

Mais la tendance actuelle des consommateurs à rechercher une alimentation plus naturelle, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour ces substances (ESSAWI *et al.*, 2000). Depuis deux décennies, des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire. Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As

Safe GRAS), ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration (EL KALAMOUNI *et al*., 2010).

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (SIPAILIENE *et al.*, 2006).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles ont fait l'objet d'un grand nombre de publications à l'échelle internationale. Cependant, la majorité des travaux cités dans ces publications s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles. Les études sur les mécanismes d'action de cette activité sont en nombre peu important. Jusqu'à présent, il n'existe pas d'étude pouvant nous donner une idée claire et précise sur le mode d'action des huiles essentielles. Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire (EL KALAMOUNI *et al*., 2010).

Ce travail fait apparaître des molécules « aromatique bioactive» issues d'une plante à parfum, l'*Eucalyptus camendulensis*. Cette plante est référencée par la médecine traditionnelle (AMES *et al*., 1968; BARRERO *et al*., 2005 ; ZRIRA *et al*., 2005). Ce dernier fait partie d'un long et important axe de recherche dont le but est de valoriser davantage nos ressources locales, notamment l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans plusieurs domaines, parmi les quels la technologie agro-alimentaire, l'amélioration des différentes qualités des aliments ainsi que leur conservation. Dans cet axe, nous continouns le travail sur l'une des plantes aromatiques utilisée, qui est l'*Eucalyptus camendulensis* dont nous continuons toujours à mettre en évidence leurs valeurs ; mais dans notre étude, nous nous sommes intéresées à poursuivre le travail sur cette plante qui a révélé des atouts et des caractéristiques assez intéressantes.

Avec l'intérêt croissant du grand public du « retour à la nature », du bio « manger sain, vivre sain » ceci nous a amené à nous pencher de viser les objectifs suivants :

- Extraction, caractérisation chimique et physique de l'huile essentielle (HE) et de l'hydrolat (HA) d'*Eucalyptus camendulensis* issu de l'agriculture biologique ;

- Détermination de la composition chimique par la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle (HE) d'*Eucalyptus camendulensis*;

- Détermination de chimiotype de l'huile essentielle (HE) d'*Eucalyptus camendulensis*;

- Détermination de l'effet de séchage sur la teneur en eau et sur la teneur en huiles essentielles ;

- Évaluation de l'efficacité antimicrobienne et antifongique de l'huile essentielle et de l'hydrolat *in vitro* vis-à-vis des souches microbiennes et des souches fongiques de référence.

Etude bibliographique

Chapitre I: Etude bibliographique

1. Les plantes et la Médecine

1.1. Historique

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales (NOSTRO *et al*., 2000) et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes, beaucoup cherchent les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr coût élevé de médecine conventionnelle (SCHNAUBELT, 1998).

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av. J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (FOUCHE *et al*., 2000).

Dans les civilisations chinoise, indienne (médecine ayurvédique) ou aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes.Le premier livre de matière médicale, le Shen Nung Ben Cao jing ("Traité des plantes médicinales de l'empereur Shen Nung"), fut rédigé vers 2900 avant J.-C. 4000 ans avant J.-C., les populations babyloniennes et sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner: 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens (FOUCHE *et al*., 2000). Le soin de la peau a commencé 3.000 ans avant naissance du Christ, quand les Egyptiens ont enregistré en forme hiéroglyphique le soin de la peau sur des peintures de mur de temple (DWECK, 2002).

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5esiècle av. J.C.), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs). Théophraste (370-285 av. J.-C.) classe les plantes dans son ouvrage Historia plantarum (FOUCHE *et al*., 2000).

A l'apogée de l'empire arabe (dont les frontières allaient de l'Inde à l'Espagne), tous les documents écrits furent réunis à Bagdad dans la plus grande bibliothèque de l'époque (entre le 7eet 9esiècle). Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie : Abu Bakr al-Razi ou Rhazès (865-925), fut l'un des grand médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivit le "Canon de la médecine". Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et de Montpellier jusqu'aux environs de 1650. Ibn al Baytar (1197-1248) rédigea le très complet Somme des Simples : ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dont un millier étaient connues des auteurs grecs (FOUCHE *et al*., 2000).

2. Plantes médicinales

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses". Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques.

En d'autres termes nous pouvons dire qu'une plante médicinale est une plante dont un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce, possède des vertus curatives lorsqu'il est utilisé à un certain dosage et d'une manière précise. Au Moyen Âge, on parlait de "simples" (DEBUIGNE, 1974).

Dans le Code de la Santé Publique, il n'existe pas de définition légale d'une plante médicinale au sens juridique (MOREAU, 2003). C'est une plante, non

mentionnée en tant que médicinale, qui est en vente libre par les pharmaciens.

2.1. Domaines d'application des plantes médicinales

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : en alimentation, en cosmétologieet en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse (BAHORUN, 1997).

Il y a eu donc un réveil vers un intérêt progressif dans l'utilisation des plantes médicinales dans les pays développés comme dans lespays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles drogues est un choix normal (SCIENTIFIC CORRESPONDENCE, 2003).

2.1.1. Utilisation en médecines

- en tant que médicament pour l'homme ; exemple : en urologie, dermatologie, gastrites aigues, toux, ulcères d'estomac, laxatifs, sommeil et désordres nerveux, (SVOBODA et HAMPSON, 1999).

- systèmes cardiovasculaires, ex : Flavoce est un médicament constitué par la flavone non substitué en combinaison avec la rutine et isoquercetine est utile dans le traitement de l'athérosclérose (NARAYANA *et al*., 2001).

- drogues immunostimulantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires (*Melaleuca alternifolia,Echinacea angustifolia,Chrysantenum parthenium, Achillea millefolium*,...etc.) (SVOBODA et HAMPSON, 1999 ; PEDNEAULT *et al*., 2001 ; AMJAD HOSSAIN, 2005).

- contre le diabète (*Azadirachta indica*) (AMJAD HOSSAIN, 2005).

- les maladies du stress, des activités antioxydantes; tels le thé noir, le thé vert et le cacao sont riches en composé phénoliques, parmi lesquels theaflavine, le resveratrol, le gallate et epigallocathechine procyanidine, trèsétudié en raison de leur rôle en tant qu'agent chemopreventifs basés sur leurs capacités antioxydantes (LEE *et al*., 2003).

- D'excellentes capacités à inhiber les réactions oxydatives ont été mises en évidence pour les huiles essentielles de Romarin, Sauge, Thym, Origan, Sarriette, Clou de girofle, Gingembre et Curcuma (CUVELIER *et al*., 1990, 1992,1996)

- Activité antimicrobienne, antivirale, antiparasitaire: Les produits naturels des plantes depuis des périodes très anciennes ont joué un rôle important dans la découverte de nouveaux agents thérapeutiques ex: laquinine obtenue à partir du quinquina "Cinchona" a été avec succès employée pour traiter le malaria (DASTIDAR *et al*., 2004), l'arbre de thé (*Melaleuca alternifolia*) est renommé pour ses propriétés: antibactériennes, anti-infectieux, antifongiques, antivirales (SVOBODA et HAMPSON, 1999), aussi comme antiviral (*Azadirachta indica*, *Aloe vera*, *Andrographis paniculata*, *Withania somnifera*, *Astragalus membranaceus*, *Curcuma longa*...etc.) (AMJAD HOSSAIN, 2005 ; LYONS et NAMBIAR, 2005) mais aucune plante n'est aussi efficace que les médicaments antirétroviraux pour arrêter la réplication du VIH (LYONS et NAMBIAR, 2005), antibacterienne (*Azadirachta indica*), antifongiques (*Adenocalyma alleaceum*, *Allium ampeloprasum*, *Allium ramosum*, *Allium sativum*,*Tulbaghia violacea*, *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*) (WILSON *et al*., 1997).

2.1.2. En Agriculture

Exemple : l'arbre *Azadirachta indica*,qui se développe dans tout le subcontinent indien, est une des plantes médicinales les plus importantes au Bangladesh, de 12 à 18 mètres de hauteur avec un périmètre atteignant jusqu'à 1,8 à 2,4 mètres. Les huiles de cet arbre ont des utilisations dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes (vers parasites) (AMJAD HOSSAIN, 2005).

2.1.3. En alimentation assaisonnements

(SVOBODA et HAMPSON, 1999 ; PORTER, 2001) et des composés aromatiques (SMALLFIELD, 2001). Les épices et les herbes aromatiques utilisées dans l'alimentation sont pour une bonne part responsables des plaisirs de la table (DELAVEAU, 1987), considérées comme condiments et aromates. La popularité des épices et herbes aromatiques a été et reste très liée à leurs propriétés organoleptiques.

La notion de flaveur des épices et aromates recouvre l'ensemble des perceptions olfacto-gustatives. Cesperceptions résultent de stimuli générés par une multitude de composés organiques dont certains sont volatils et constituent ce qu'on appelle en général l'huile essentielle, les autres non volatils, sont plus particulièrement responsables de la saveur et de la couleur (RICHARD et MULTON, 1992 ; TAKEOKA, 1998 ; BELITZ et GROSCH, 1999).

2.1.4. En cosmétiques

Produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (PORTER, 2001). Des suppléments diététiques (SMALLFIELD, 2001).

3. Généralité sur les huiles essentielles

3.1. Historiques

Depuis la plus haute antiquité les parfums et les arômes forment parmi les premiers signes de connaissance qui marquent la vie des hommes. Ils furent étroitement associés à la vie spirituelle de l'homme (Egypte- Inde), ainsi qu'à l'histoire de la médecine (Grec, Empire Romains et Empire arabe).

Au début de XVI siècle, Parascelsus von Hohenheim, médecin Suisse considéré comme le père de la pharmacochimie étudié l'extraction de « L'âme » des végétaux sous forme de quintessencie ou cinquième essence dont laquelle on donnera le nom « d'esprit » et puis « d'essences » et finalement « huile essentielle » (BERNARD, 1988). Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (ESSAWI *et al.*, 2000).

3.2. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés aromatiques des plantes, qui sont extraites par distillation par la vapeur ou des solvants (SMALLFIELD, 2001). Pour la 8ème édition de la pharmacopée française (1965), les huiles essentielles (= essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenu dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation. » (BRUNETON, 1993).

La Pharmacopée francaise (edition de 1965) donne une définition officielle des huiles essentielles:

« Produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la

préparation. Pour extraire ces principes volatils, il existe divers procédés. Deux seulement sont utilisables pour la préparation des essences officinales : celui par distillation dans la vapeur d'eau de plantes à essences ou de certains de leurs organes, et celui par expression ».

Depuis la neuviéme édition (1972), la Pharmacopée n'utilise plus que le terme « d'huile essentielle ». En octobre 1987, l'AFNOR (Association Francaise de la Normalisation) propose une autre définition :

« *Produit obtenu à partir d'une matiére première végétale, soit par entrainement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.*».

Cette définition parait encore restrictive car elle exclut de nombreux procédés d'extraction très utilisés sur les marchés de la pharmacie, de l'industrie cosmétique et agroalimentaire. Une définition encore plus large a donc été donnée :

« *Nom générique pour tous les produits lipophiles, volatils, préexistant dans une plante ou une drogue végétale. Une huile essentielle est constituée de nombreuses substances chimiques peu solubles dans l'eau. Dans la plante, celles-ci résultent pour la plupart du métabolisme des terpénes et sont localisées dans des organes ou elles sont biosynthétisées (papilles, cellules et poils, poches, canaux). Les huiles essentielles sont obtenues par distillation a la vapeur, par hydrodistillation (entrainement a la vapeur d'eau) ou encore dans des cas particuliers, par pression mécanique (ex: agrumes) par dissolution dans des lipides (enfleurage pour des organes délicats tels que la fleur de Jasmin) et plus fréquemment maintenant dans*

des gaz supercritiques (dioxyde de carbone). L'extraction par dissolution dans des solvants fournit une fraction chargée de divers constituants liposolubles (cires, hydrocarbures...); aprés élimination du solvant ou du dioxyde de carbone, on obtient une "concrète" que l'on prive des constituants indésirables par refroidissement a la température du réfrigérateur (glacage), suivi de décantation et de filtration. » (BUDAVARI *et al*.,1996).

3.3. Localisation ou répartition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont très répondues dans le règne végétal, on les rencontre surtout dans les phanérogames, mais quelques cryptogames en renferment également.

Dans la plupart des cas, les essences se trouvent toutes formés dans les différents organes, elles sont alors localisées soit dans les glandes des poils sécréteurs, soit dans des réservoirs intracellulaires ayant la forme des canaux (DANIELLE HUARD, 1999).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : feuilles, fleurs, écorces, bois, racines, des rhizomes, fruits et des graines. La synthèse et l'accumulation sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées , souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à l'huile essentielles des Lauraceae ou des Zingiberaceae, poils sécréteurs des Lamiacées, des poches sécrétrices des Myrtaceae ou des Rutaceae, canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (BRUNETON, 1993).

Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'huile essentielle, et les plantes qui manquent de telles structures spécialisées synthétisent et amassent seulement des traces de monoterpènes. En conséquence, la dynamique du développement de ces structures ainsi que le process(s) sécréteur d'huile et le mécanisme(s) ont une incidence directe avec la production de l'huile/ le potentiel du système producteur (SHARMA *et al*., 2003).

Toutes les parties des plantes aromatiques peuvent contenir de l'huile essentielle.

- Fleurs: Oranger, Rose, Lavande ; le bouton floral (Girofle) ou les bractées (Ylang-ylang)
- Feuilles: Eucalyptus, Menthe, Thym, Laurier, Sarriette, Sauge, Aiguilles de pin et sapin
- Organes souterrains, exemples : racines (Vétiver), rhizomes (Gingembre, Acore)
- Fruits: Fenouil, Anis, épicarpes des Citrus
- Graines: Noix de muscade, Coriandre.
- Bois et les écorces: Cannelle, Santal, bois de Rose.

3.4. Facteurs influençant la composition des huiles essentielles

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition dans laquelle, intervient un grand nombre de paramètres, qu'ils soient :

3.4.1. D'ordre naturel

3.4.1.1. Intrinsèque

Génétique, localisation et maturité, en effet au cours d'un cycle végétale, des modifications importantes dans la composition des essences peuvent être relevées. (GARNERO, 1985), cité à titre d'exemple qu'au début de sa maturation, le carvi comporte une forte proportion de terpène dont le taux diminue peu à peu alors que la chaîne carbonique augmente. Les différentes parties de la plante (cas de l'orange amer). Les parties fleuries de la Sauge, par exemple, ont une huile essentielle plus riche en certains terpènes que les feuilles (PERRY *et al*., 1999).

le cycle de la plante (des poussées de biosynthèse engendrent une accumulation plus ou moins importante de certains constituants des chaines métaboliques au cours des saisons, des mois, voire des journées. Le profil chimique de l'huile essentielle de menthe, par exemple, peut étre different au cours de la

joumée (WICHTL *et al*.,1999). Citons également le cas de la Sauge dont l'huile essentielle est plus riche en thuyone (terpène majeur) en automne ou en hiver qu'en été lors de la floraison (PERRY *et al*.,1999).

Le chimiotype (par exemple, la fenchone, terpene proche du camphre, s'accumule dans l'huile essentielle de Fenouil amer, alors que le Fenouil doux offre deux chimiotypes différents: l'un à anéthole, l'autre à estragol, sans pour autant que des caractéres morphologiques différenciés puissent être décelés (WICHTL *et al*.,1999).

3.4.1.2. Extrinsèque

- Facteurs géographiques (altitude, latitude) ;
- Nature du sol ;
- Climat (ensoleillement, température, pluviométrie).

Ces facteurs expliquent les differences de composition en fonction du terrain dans lequel sont cultivées les plantes. En France par exemple, il existe une appellation d'origine controlée pour l'huile essentielle de lavande. Le décret du 24 octobre 1997 fixe toutes les conditions d'obtention de l'huile essentielle de lavande de Haute- Provence. Seules les sommités fleuries de *Lavandula angustifolia* P.Miler sont utilisables. La fonction de ces huiles essentielles dans la plante reste obscure. on pense qu'elles ont un role écologique. Leur role d'inhibiteur de la gennination a été prouvé expérimentalement ainsi que leur role dans la protection contre les prédateurs et l'attraction des pollinisateurs (BRUNETON, I993).

3.4.2. De l'ordre considéré

Ainsi la racine, l'écorce et les feuilles des plantes produisent trois huiles essentielles différentes.

3.4.3. De l'ordre technologique

Lié au mode d'exploitation du matériel végétale, une huile essentielle peut subir de profondes modifications lors de son exploitation. Lors de l'hydrodistillation, plusieurs perturbations peuvent apparaitre en particulier sous l'effet de la température et de la durée d'extraction. La chaleur provoque des phénomènes d'hydrolyses sur les essences fragiles telles que la Rose et le Jasmine. Le temps de distillation reste cependant le facteur déterminant dans la mesure où la cinétique d'extraction de chacun des composants varie selon sa structure et ses propriétés physico-chimique (BERNARD *et al.*, 1988).

3.5. Procédés d'obtention des huiles essentielles

Divers procédés sont actuellement utilisés pour l'extraction des produits aromatiques des végétaux. Selon la technique utilisée, l'extraction des produits permet d'obtenir des huiles essentielles, des pommades, des concrètes, des absolues,des résinoides ou des infusions.

Les principales propriétés physiques mises en œuvre dans les opérations fondamentales d'extraction des matières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- Les dimensions et les formes des particules (BENANELKADER, 2001).

3.5.1. La distillation

Il est communément admis que la vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles. Dans l'industrie des huiles essentielles une terminologie distingue trois types de distillation :

- Distillation à l'eau ou hydrodistillation ;
- Distillation mixte ;
- Distillation à la vapeur.

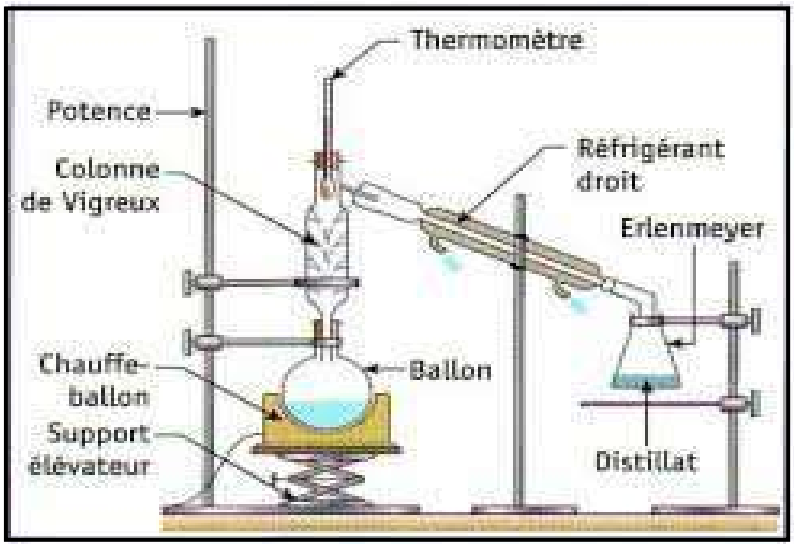


Figure N° 01 : Montage d'extraction par distillation (Elec 1)

3.5.2. Hydrodistillation

Elle consiste a émergé directement la matière végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes sont condensées sur la première surface et les huiles essentielles sont séparées par différences de densité (BRUNETON, 1987).

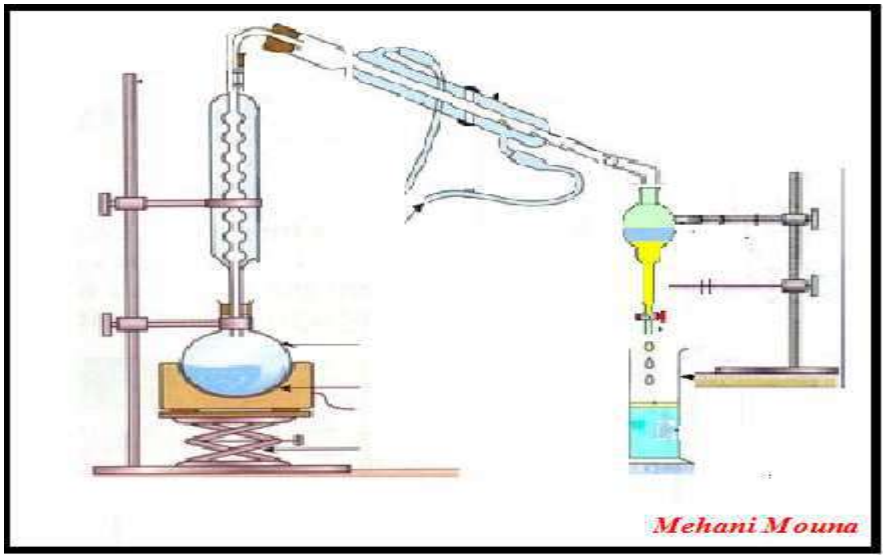


Figure N° 02 : Montage d'extraction par hydrodistillation (Mehani, 2014)

3.5.3. Distillation mixte

La distillation mixte est un processus couplant l'entrainement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Au cours de l'extraction, la matière végétale baignant dans l'eau bouillante est traversée par un courant de vapeur d'eau. Les divers phénomènes d'extraction se trouvent combinés. Il semble que ce procédé à pour principal avantage de diminuer les réactions secondaires subies par l'huile essentielle sous l'action de l'eau acide (VONROCHEMBERG, 1910).

3.5.4. Distillation à la vapeur d'eau saturé

Le végétal est supporté dans l'alambic par une plaque perforée située à une certaine distance au dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau bouillante. Cette méthode est surtout réservée à l'obtention d'huiles essentielles a partir des épices, des plantes aromatiques et médicinales (LAYADI *et al.*, 1999).

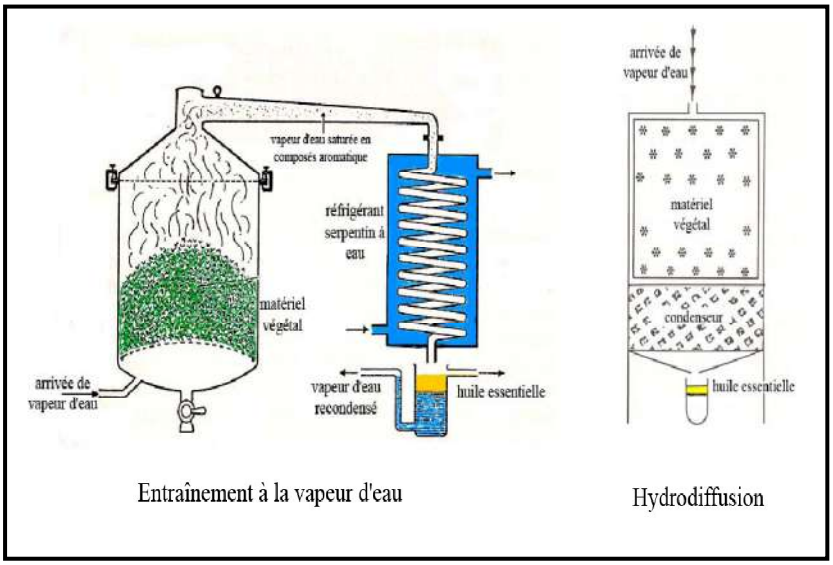


Figure N° 03: Montage d'extraction par distillation à la vapeur d'eau saturé (Elec 2)

3.5.5. Extraction des huiles essentielles à l'aide des solvants

3.5.5.1. Extraction au moyen des solvants volatils

L'extraction par solvant volatil consiste à la mise en contact de la matière végétale, avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles contenus dans la plante. Le solvant évacué, l'opération peut être renouvelée plusieurs fois sur la même charge de matière végétale. Le solvant chargé (miscella) est ensuite évaporé et récupéré. Le produit d'extraction est alors récupéré et peut subir des traitements ultérieurs comme des lavages à l'alcool à 95°, pour obtenir une absolue dont, les caractéristiques olfactives proches de celles du végétal, sont très recherchées (BANTHORPE et CHARWOOD, 1972).

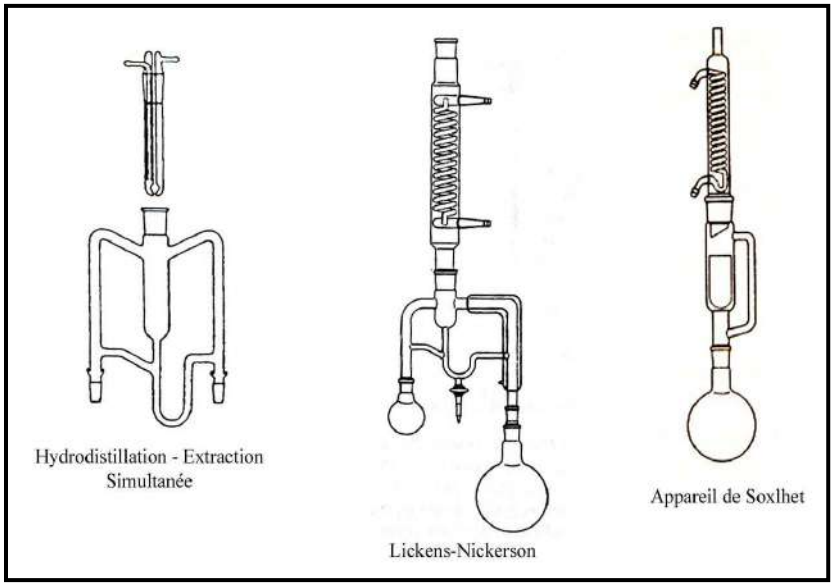


Figure N° 04 : Montage d'extraction par solvants (Elec 3)

3.5.5.2. Extraction par des solvants non volatils

3.5.5.2.1. Sans emploi de la chaleur (enfleurage)

L'enfleurage se base sur la propriété que possède la graisse et les huiles grasse d'absorber et de retenir l'essence ainsi produite.

L'enfleurage de châssis, c'est-à-dire cadre de bois ayant 5 cm de haut et 50 à 80 cm de coté servant de support pour une plaque de verre, sur les deux faces de celle-ci, nous étalons une couche de graisse environ 3mm d'épaisseur, sur ces couches de graisse nous déposons ensuite les pétales des fleurs (enfleuré). Le parfum élaboré par les fleurs (pétale) est alors absorbé, à mesure de sa production, par la matière grasse. Nous laissons les fleurs sue les châssis pendant un temps variable selon leurs espèces (GILDEMEISTER et HOFFMANN, 1912).

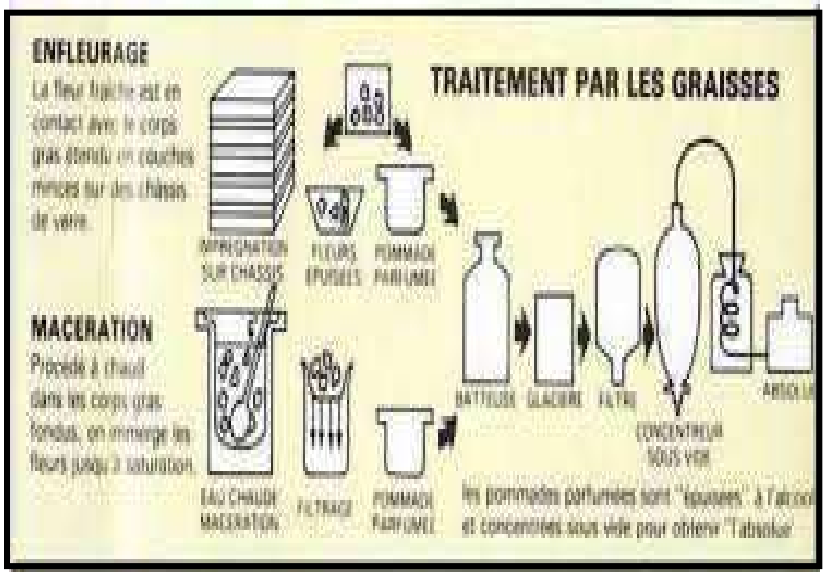


Figure N° 05: Montage d'extraction par enfleurage (Elec 4)

3.5.5.2.2. A chaud (la macération)

A l'inverse de l'enfleurage ou l'extraction se fait à température ambiante, la macération utilise les même graisses mais à chaud, ce qui à pour effet d'augmenter leur pouvoir absorbant. Cette opération a donc l'avantage d'être rapide, de sorte qu'elle s'applique préférentiellement aux fleurs qui cessent leurs activités physiologiques du développement au moment de la cueillette.

L'extraction se fait par immersion de fleur fraichement cueilles et constamment renouvelées, dans un bac de graisse chaude jusqu'à saturation de cette dernière. Un épuisement à l'alcool absolu est généralement effectué sur cette graisse saturée. Ce procédé fut longtemps utilisé pour l'obtention du parfum de rose et de violette, avant l'événement du procédé d'extraction au moyen de solvant volatils (NAVES, 1974).

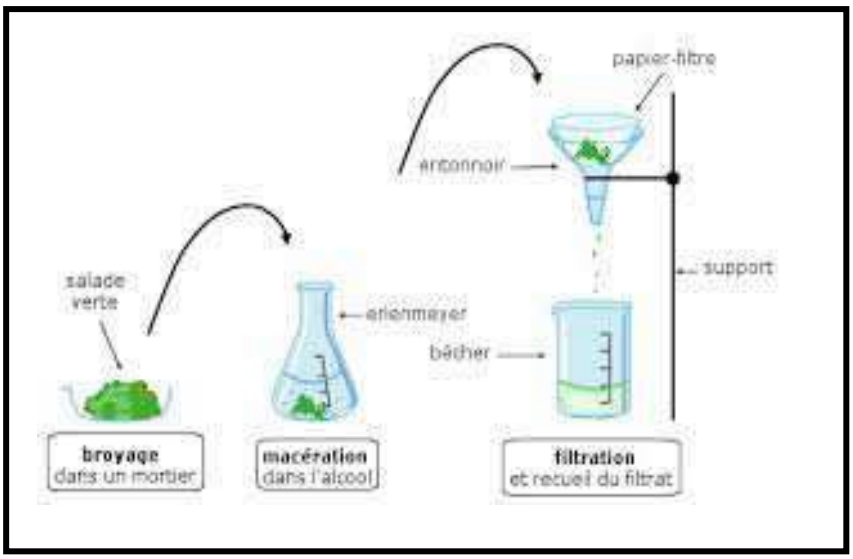


Figure N° 06: Montage d'extraction par macération (Elec 5)

3.5.5.3. Extraction par dioxyde de carbone CO_2 liquide supercritique

L'extraction par le dioxyde de carbone permet d'obtenir un extrait rappelant organoleptiquement très fidèlement la nature. Cela est vraisemblablement du au fait que cette technique évite les phénomènes d'hydrolyse, d'oxydation et de

réarrangements thermiques, les réactions de maillerd, phénomène bien connus qui altèrent la représentation olfactive ou gustative de la plante par modification de la constitution de certains de ses composés, d'autre part ces extraits :

- Sont exempts de toute trace de solvant organique ;
- Peuvent être enrichis en principe actifs caractéristiques ;
- Ces principales caractéristiques fons de l'extraction par le CO_2 un outil particulièrement adapté à l'obtention d'extrait de grande qualité, répondant aux exigences nouvelles tout au consommateur que du législateur (PELLERIN, 1992).

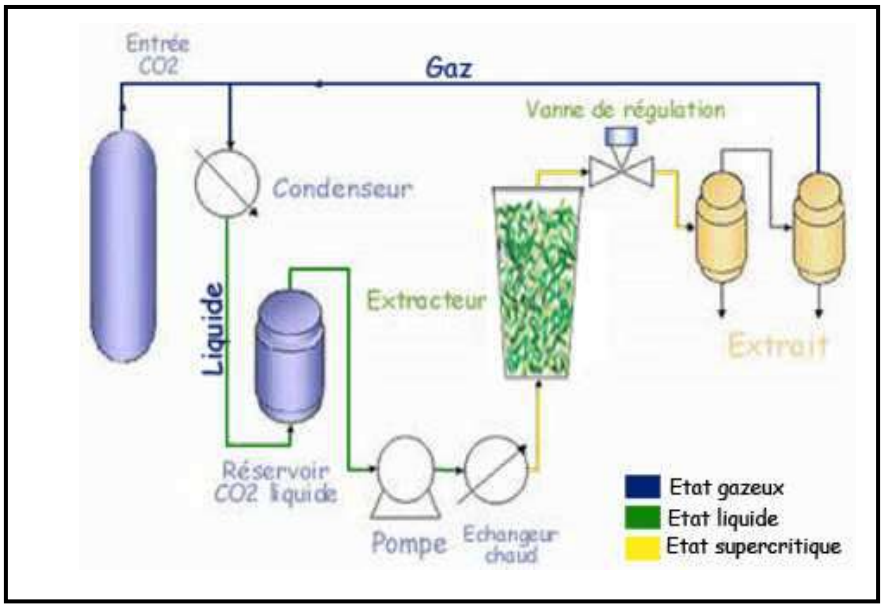


Figure N° 07: Montage d'extraction par dioxyde de carbone CO_2 liquide supercritique (Elec 6)

3.5.5.4. L'expression

L'expression à froid est la plus simple de ces méthodes, classiquement appliquée au écorce d'agrume en présence d'eau, elle permet de recueillir l'huile essentielles surnagent au dessus de la phase aqueuse, par une simple décantation (GIROD-QUILAIN et GRUNDSCHOBRR, 1999).

Dite à l'éponge, lorsque la récupération de l'essence contenue dans les petites cellules oléifères de zest est effectuée manuellement, où les essences machines pour

les quelles, l’éclatement des cellules et la récupération de l’essence sont mécanisées au maximum (PEYRON, 1076).

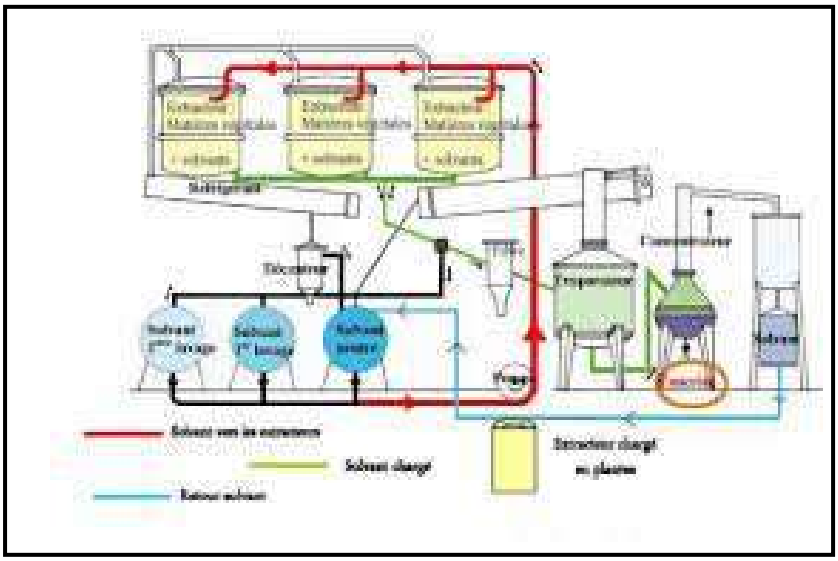


Figure N° 08: Montage d’extraction par expression (Elec 7)

3.5.5.5. L’extraction au Forane 113

Selon BERNARD *et al* (1998), le protocole opératoire de ce procédé d’extraction au Forane 113 est simple dans sont principe (figure n°1), il se décompose en trois étapes :

- L’extraction proprement dit qui permet une double valorisation du végétale en une seule étape ;
- Le recyclage de solvant ;
- La récupération d’huile essentielle.

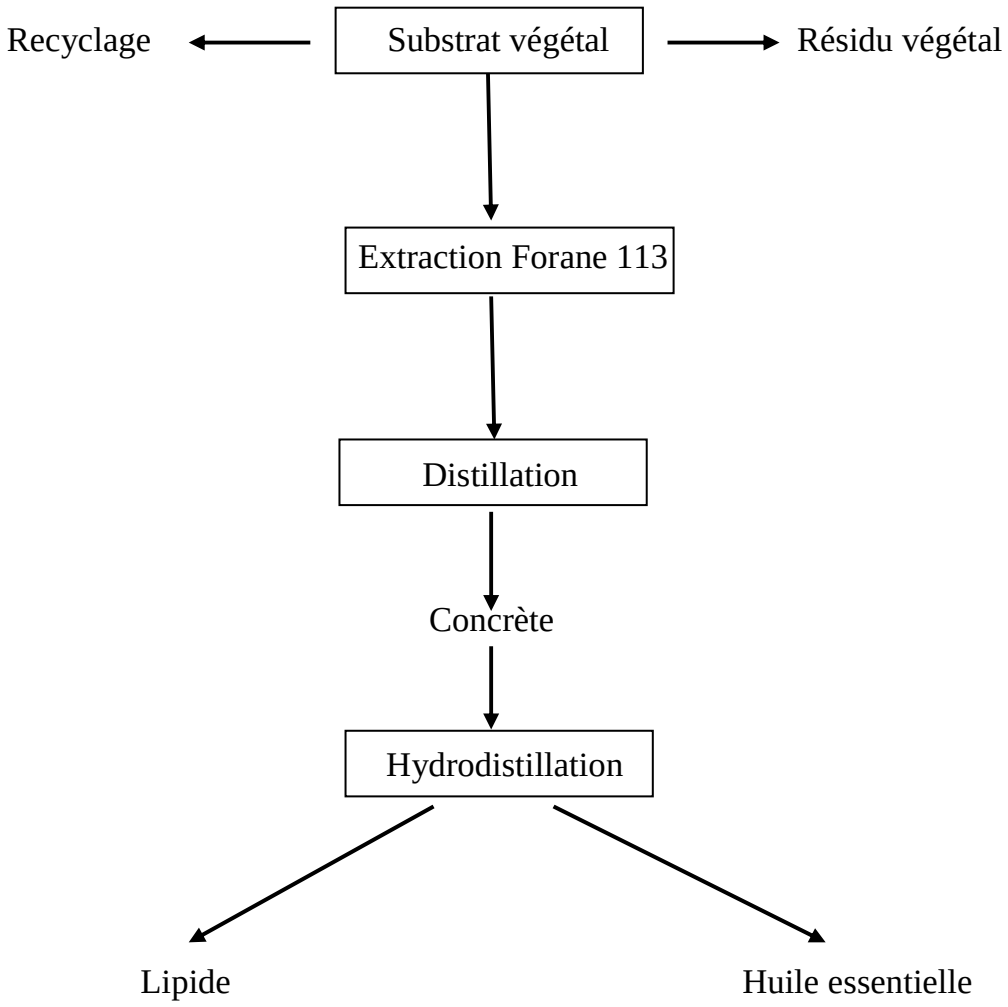


Figure N °09 : Organisation du procédé d'extraction au Forane 113

(BERNARD *et al.*, 1988)

3.5.6. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée (**V**acuum **M**icrowave **H**ydro**D**istillation) (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 fraîche 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 et MOMPON, 1994).

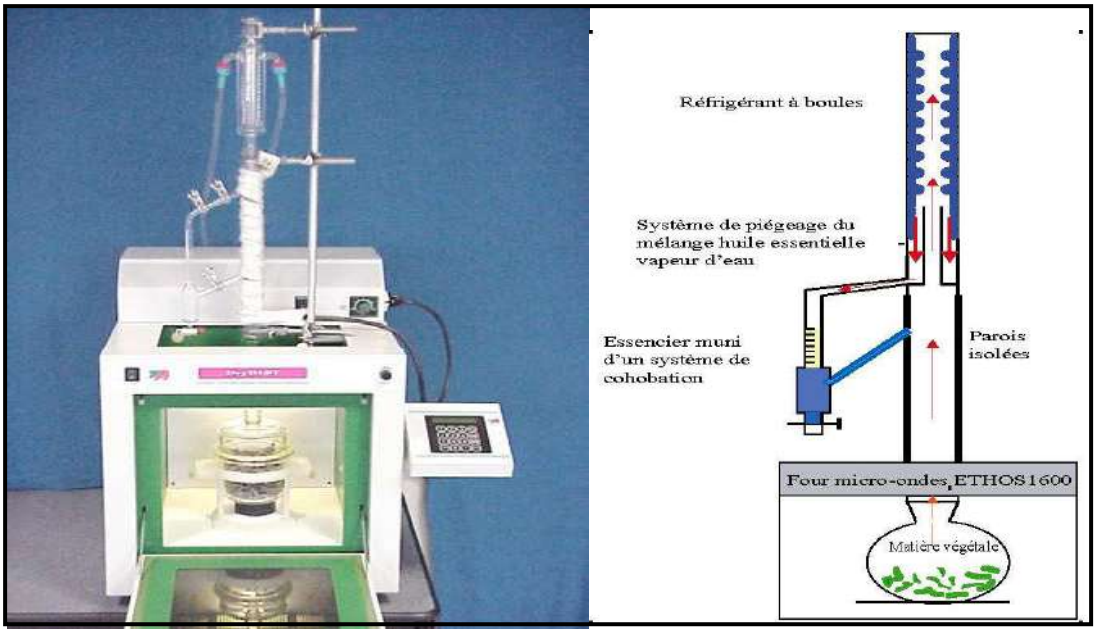


Figure N° 10: Montage d'extraction par micro-ondes (Elec 8)

3.6. Composition chimique des huiles essentielles

Les plantes aromatiques ont la particularité de renfermer au sein de leurs organes sécréteurs, des cellules génératrices de métabolites secondaires où il apparaît clairement comment les molécules très volatiles sont synthétisées à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène) et où les réactions d'addition de ces unités conduisent aux terpènes, sesquiterpènes, diterpènes et leurs produits d'oxydation tels que les alcools, aldéhydes, cétones, éthers et esters terpéniques. L'ensemble de ces produits sont accumulés dans des cellules sécrétrices offrant à la plante une odeur caractéristique (HEINRICH *et al.*, 1983).

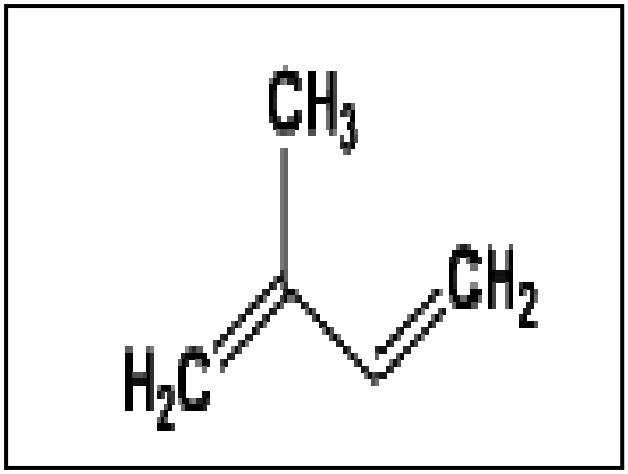


Figure N° 11: Structure chimique d'isoprène $(C_5H_8)_n$

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) reconnue par Wallach dès 1887. Cet isoprène (I) est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Ruzicka et complétée par Lynen *et al* (1958) et Bloch *et al* (1959) (MOHAMMEDI, 2006). Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (II), désigné sous le nom d'isoprèneactif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique ; d'où le nom d'isoprénoïdes sous lequel on les désigne également. Les terpènoïdes sont classés selon le nombre d'unités isoprène en une série de structures homologues : hemiterpènes C_5 (1 unité isoprène), monoterpènes

C_{10} (2 unités isoprènes), sesquiterpènes C_{15} (3 unités isoprènes), diterpènes C_{20} (4 unités isoprènes), triterpènes C_{30} (6 unités isoprène), tetraterpène C_{40} (8 unités isoprène), polyterpènes $(C_5)n$ où n peut être 9-30 (MOHAMMEDI, 2006).

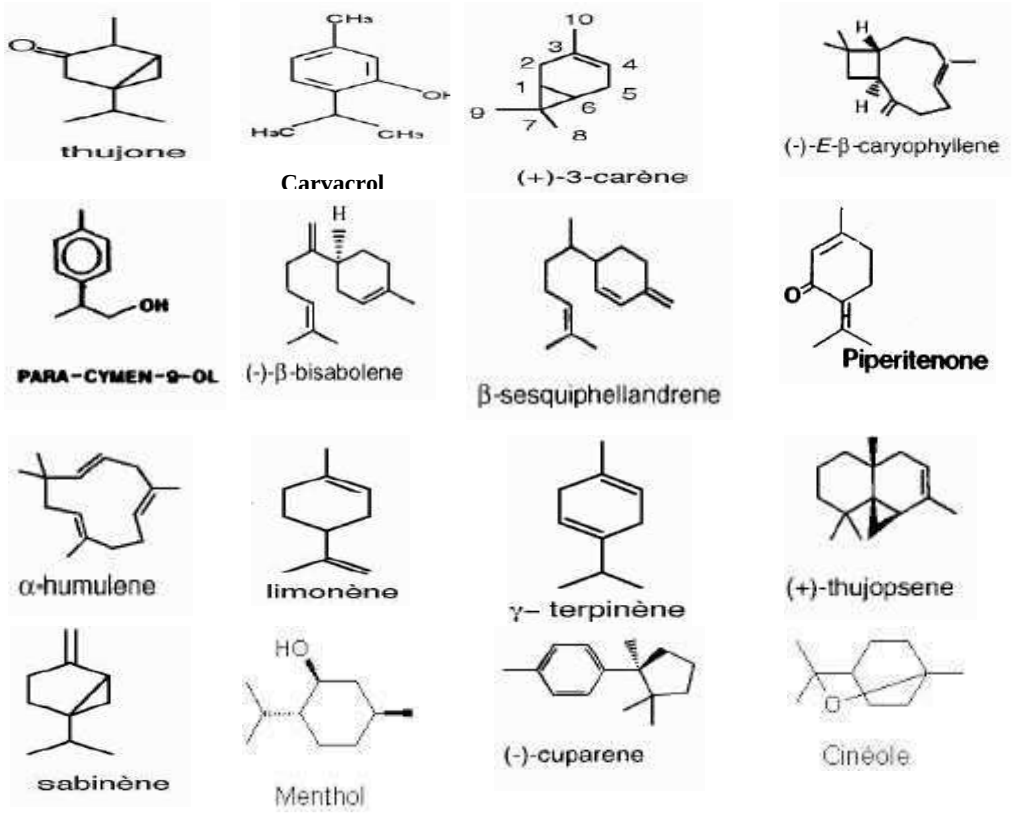


Figure N° 12 : Structure chimiques de quelques composés d'huile essentielle

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe est constituée de deux fractions. La première fraction dite volatile (COV) est présente dans différents organes de la plante selon la famille ; cette fraction est composée de métabolites secondaires qui constituent l'huile essentielle.

La deuxième fraction dite non volatile de la plante, composés organiques non volatils (CONV), est composée essentiellement de coumarines, flavonoïdes (Cisowski, 1985), composés acétyléniques ainsi de lactones sesquiterpéniques phénols ou polyphénols jouant un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante (MOHAMMEDI, 2006)

3.6.1. Monoterpènes

Les carbures sont presque toujours présent. Ils peuvent etre acycliques (myrcène, ocimène...), monocycliques (α et β-terpène, α-cymène) ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphère, sabinène…) constituent parfois plus que de 90% d'huile essentielle, notamment chez les citrus et la famille des térébenthines. La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules fonctionnalisées (BRUNETON, 1993).

- **Alcools, des éthérés oxydes** : bornéole, géraniol, citronillol, menthol et cinéale 1,8 (éther-oxyde) ou eucalyptol ;
- **Phénol** : thymol, cavacrol, eugénol et anéthol ;
- **Aldéhydes** : aldéhyde cuminique, aldéhyde cinnamique, aldéhyde aninsique et citronellal ou citral ;
- **Esters** : acétate de linalyle et acétate de geranyle ;
- **Cétone** : thuyon, carvone et monthon ;
- **Aldéhydes**-phénols : aldéhyde salicylique ou aldéhyde prolocatéchique ;
- **Acides** : acide benzoïque et acide cinnamique ;
- **Lactone** : ligustilide ;
- **Composés sulfurés** : isosulfocyanate.

3.6.2. TerpénoÏdes

Selon GUINARD *et al* (1985), les terpènes sont des dérivés de l'isoprène, d'où le nom d'isoprénoide, sous le quel ils sont parfois désignés selon le nombre d'unités isopréniques qui constituent les isoprénoides (BRUNETON, 1993).

Les monoterpènes (C_{10}), les sesquiterpènes (C_{15}), les diterpènes (C_{20}), les triterpènes (C_{30}) et les tetraterpènes (C_{40}), dans le cas des huiles essentielles, seuls

seront rencontrés ; les terpènes les plus volatiles, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : Monoterpènes et sesquiterpènes (MAZEN, 2002).

3.6.3. Sesquiterpènes

La variation structurale dans cette série est de même nature que dans le cas précédent : carbures, alcools et cétones, étant les plus fréquents (BRUNETON, 1993). Nous trouverons ci-dessous quelques exemples des sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles :

- **Carbures :** β- bisobolène, β-caryoohyllènes et longifolène ;
- **Alcools :** farnésol, carotol, patchoulol et β-santatol ;
- **Cétones :** nootakatone, cis-longipinane-2,7 dione et β-citocone ;
- **Aldéhydes :** sininasale;
- **Esters :** acétate de cédryle.

3.6.4. Composés odorants

Les dérivés phénylpropane (C_6 et C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des Allyles et Propyphénoles, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huilles essentielles d'apiaceae telle que : anéthol, anisaldéhyde, apiol, methyl-chavicol, eugénol, myristicine et asorones cinamaldéhyde. Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants de type « phynilpropanoide » qui empruntent une voie biosynthétique dit shikimate, conduisant essentiellement à la synthèse de la lignine (BERNARD *et al.*, 1988).

3.7. Mode de conservation des huiles essentielles

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend leurs conservation difficile, les possibilités de dégradation sont nombreuses,

facilement objectivées par la mesure des indices (peroxyde, réfraction …), la détermination des caractères physiques (viscosité, miscibilité à l'alcool et pouvoir rotatoire…), l'analyse en chromatographie phase gazeuse : photo isomérisation (E ⟶ Z anéthol). Photo cyclisation (citrals), coupure oxydative de propényl phénols, péroxydation des carbures et de composition en cétones et alcools (limonène), thermo isomération (citrals)… etc. il est possible de limiter ces dégradations (BRUNETON, 1993) :

Utilisation des flacons de faible volume en aluminium, en acier inoxydable ou en verre brun, entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockage à basse température, conservation sous atmosphère d'azote (BRUNETON, 1993).

3.8. Propriétés des huiles essentielles

Nombreux sont les facteurs susceptibles de modifier les essences natives de la plantes qui sont des substances très altérables, elles renferment en effet presque toutes des terpènes et des aldéhydes etc.… Corps souvent oxydables sous l'action de l'air et de la lumière. Ils se résinifient et modifient alors profondément le parfum des essences, leur saveur ainsi que leurs constantes physiques et chimiques, en les rendant par fois inutilisables. Ceux-ci ont induit un besoin normalisation (NAZLI, 2003). Les normes AFNOR (2000), sont en nombre de douze qui concernent principalement :

- Les propriétés organoleptiques : couleur, aspect et odeur ;
- Les caractéristiques physiques : densité, pouvoir rotatoire indice de réfraction, point de congélation et la solubilité dans l'éthanol ;
- Les caractéristiques chimiques : indices d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents Constituants (NAZLI, 2003).

3.8.1. Propriétés organoleptiques

Les huiles essentielles généralement sont incolores mais on trouve quelque une colorées en jaune, en rouge (essence de cannelle), en bleu (huile volatile de camomille) et en vert (huile volatile d'absinthe). Les huiles volatiles donnent leur coloration à une substance particulière qui est l'azulène $C_{15}H_{18}$ de couleur bleu, elles sont divisées en quatre classes (BRUNETON, 1993) :

- Huile incolore : sans azulène ni résine ;
- Huile jaune : avec résine seulement ;
- Huile bleu : avec azulène ;
- Huile verte brune ou jaune verte : contenant de l'azulène en proportion variable.

3.8.2. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (SMALLFIELD, 2001). Elles ont des propriétés antiseptiques pour les poumons (Eucalyptus), dépuratives ou cicatrisantes (Lavande) (CAILLARD, 2003), activité analgésique (Origan, Thym) (SCHWÄMMLE *et al*., 2001).

Terpènes ou terpènoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977 a été signalé que 60% des dérivés des huile essentielle examinés jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide betulinique est de juste un de plusieurs terpènoïdes qui ont montrés une action inhibitrice envers HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (COWAN, 1999).

Le carvacrol et le thymol possède une activité antibactérienne, activité antifongique contre les mycètes phytopathogéne (SCHWÄMMLE *et al*., 2001),

également l’huile essentielle de la Menthe pouliot dont le composé majoritaire est la R (+) Pulégone (82%) est dotée d’un fort pouvoir antifongique contre Pénicilliumet Mucor (BELGHAZI *et al*., 2002).

Le nérolidol, un sesquiterpene actif de la plante de l' Amazon Viola surinamensis possède une activité antimalaria, prouvé par les études de LOPES *et al* (1999), dont l'huile essentielle cause l'inhibition à 100% du développement de l'agent infectieux, cette activité est liée à l'inhibition de la biosynthèse des glycoprotéines.

3.8.3. Propriétés antioxydantes

la capacité antioxydante de l’huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (STEFANOVITS-BANYAI *et al*., 2003).

Le carvacrol est un des composants principaux des huiles essentielles de certaines labiaceae (lamiaceae), comme l’origan, thym dont la teneur peut atteindre jusqu'à 86%. L’activité antioxydante de ces herbes est dû au carvacrol, thymol et un autre phénol (SCHWÄMMLE *et al*., 2001). Ceci a été confirmé par un certain nombre de travaux. JUKIC et MILOS (2005) ont montrés dans une étude portant sur l'huile essentielle de Thymus (*Thymus vulgarae L*.), que les chemotypes phénoliques (thymol et carvacrol) et non phénoliques (linalool) sont capable de réduire le radical 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl, avec un effet plusélevé enregistré pour les chemotypes phénoliques. Ces observation, l'on expliqué par la concentration élevéde thymol et carvacrol dans ces derniers.

3.9. Rôle écologique des huiles essentielles

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (RAI *et al*., 2003).

Réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les

herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (PORTER, 2001). D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (BELAÏCHE, 1979).

Les huiles essentielles vont servir de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement (rôle écologique): attraction des insectes pollinisateurs, action répulsive sur les prédateurs, inhibition de la germination des graines, voire communication entre les végétaux (émission de signaux chimiques signalant la présence d'animaux herbivores par exemple). La présence des huiles essentielles au niveau des racines, des écorces du bois donne à la plante un effet antiseptique vis-à-vis des parasites telluriques (BRUNETON, 1993).

Ces huiles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores (HEINRICH *et al.*, 1983).

3.10. Principales utilisations des huiles essentielles

3.10.1. En pharmacie

L'objectif de la Pharmacopée européenne est de participer à la protection de la santé publique, en élaborant des spécifications communes destinées à tous les professionnels de la santé, et principalement, de veiller à la qualité des médicaments, garantissant ainsi leur qualité pharmaceutiques (WICHTL *et al.*,1999). Il y a 7 huiles essentielles inscrites à la pharmacopée européenne :

- huile essentielle d'anis
- huile essentielle d'eucalyptus
- huile essentielle de clou de girofle
- huile essentielle de fleur d'oranger amer

- huile essentielle de lavande
- huile essentielle de menthe poivrée
- huile essentielle de thym

Leurs propriétés pharmacologiques leurs conférent une utilisation médicale. Les huiles essentielles ont en effet :

- **Pouvoir antiseptique**

Contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures. Citons les huiles essentielles de thym, girofle, lavande, eucalyptus. Le thymol, constituant principal de l'huile essentielle de thym, est 20 fois plus antiseptique que le phénol (BRUNETON, I993). L'huile essentielle de Melaleuca a prouvé cliniquement son action antiseptique, antimicrobienne et antioxydante **(**SALLER *et al*.,1998).

- **Propriétés spasmolytiques et sédatives**

Certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée (BRUNETON, I993).

- **Propriétés irritantes**

de nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées a soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires. En effet, par voie extene, certaines huiles essentielles (ex: oléorésine dans la térébenthine) augmentent la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légere anesthésie locale (BRUNETON, I993).

Ces huiles essentielles constituent également le support de l' aromathérapie traitement des maladies par des essences de plantes.

3.10.2. En parfumerie

C’est le principal débouché des huiles essentielles. La cosmétologie et le secteur des produits d’hygiéne sont aussi consommateurs, meme si le cout élevé des produits naturels conduit a privilégier parfois les produits synthétiques (BRUNETON, I993). Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires ainsi que de nombreux produits d’ambiance comme les liquides pour pots-pourris (RICHARDSON**,** 1999).

On les retrouve aussi dans des preparations pour bains (bains « calmants » ou « relaxants » avec possibilité d’absorption percutanée de ces constituants (BRUNETON, I993). Intégrées aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas dépasser 3 a 4%. Il y a alors possibilité d’absorption percutanée **(**LIS-BALCHIN**,** 1999).

Le menthol, par exemple, trouve une utilisation variée dans des produits tels que les dentifrices, mousses nettoyantes, aliments, cigarettes et des preparations pharmaceutiques orales. La production mondiale de menthe a été estimée à 3500 tonnes en 1984 et est certainement augmentée actuellement. L’huile de menthe poivrée est la troisiérme saveur mondiale, derriere les saveurs vanille et citron (GELAL *et al*.,1999).

3.10.3. En industries agro-alimentaires

Certaines drogues sont utilisées en nature (epices et aromates), d’autres sous forme d’huiles essentielles ou de resinoides dispersés, encapsulés ou complexés. Si la refrigération et d’autres moyens de conservation se sont substitues aux epices pour assurer la conservation des aliments, le developpement de nouvelles pratiques culinaires (plats préparés, surgelés), le gout pour l’exotisme et les qualités gustatives, conduisent a une rapide augmentation de la consommation de ce type de produits. On note leur integration dans : les boissons non alcooliques, les confiseries, les produits laitiers ou carnés, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries, ainsi que la nutrition animale (BRUNETON, I993).

3.10.4. En diverses industries

Ce sont surtout des industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles éssentielles) comme matières premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc... (BRUNETON, I993).

Citons ainsi l'utilisation des isolats linalool, D-limonème dans des shampoings et sprays insecticides pour les chats et les chiens (HOOSER**,** 1990).

L'huile de Melaleuca, issue de la distillation de feuilles d'un arbre Australien, le « Australien tea-tree », a une forte utilisation dans ce pays. Elle est integrée a des produits de lavage et utilisee comme ingredient pour des preparations à but thérapeutique. Traitement d'allergies, piqures d'insectes, boutons, irritations. Elle est incorporée à des désodorisants et des antiparasitaires externes. Elle a démontré des propriétes antibactériennes et antifongiques. Elle est également incorporee a des vaporisateurs pour inhalation et a des produits d'hygiene buccale (KNIGHT *et al*., 1994).

4. Description et domaine d'utilisation d'*Eucalyptus*

Le genre *Eucalyptus* est originaire de Tasmanie en Australie. Il fait partie de la famille des Myrtacées, son nom a pour origine les mots grecs: eu «bien» et kaluptos «couvert». Il fut décrit et baptisé en 1788 par le botaniste français L'HERITIER, après qu'il eut examiné des échantillons d'*Eucalyptus* obliqua, parmi les plantes Australiennes récoltées par NELSON. Dix neuf espèces d'*Eucalyptus* avaient été nommées en 1800 et 28 en 1820. En 1840, 71 espèces d'*Eucalyptus* avaient reçu des noms et 149 en 1890. Depuis lors, des savants botanistes se sont succédés dans la description des espèces d'*Eucalyptus* et W. F. BLAKELY, assistant de MAIDEN, décrivait 500 espèces dont 138 variétés en 1938 (BIGENDAKO, 2004).

Le nombre d'espèces d'*Eucalyptus* introduites dans différents pays est supérieur à 150, moins d'une trentaine sont exploitées de façon significative en plantation et quatre espèces (*E.camaldulensis*, *E. globulus*, *E. tereticornis* et *E.*

grandis) occupaient, à la fin des années quatre-vingts, plus de la moitié des surfaces plantées (ELDRIDGE *et al*., 1993).

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être l'*E.camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment à Reghaia, Bouchaoui et El-Alia dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croissements naturels qui ont donnés des hybrides dont l'Eucalyptus «Algériensis». Dans les années 40 et 50 les Eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi-arides. Dans ce cadre pas moins de 130 espèces ont été plantés sur le territoire national. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'*Eucalyptus* ont concernés notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (INRF, 1996).

Photo N° 01 : *Eucalyptus camendulensis*

4.1. Classification

La classification scientifique réalisée par l'AGP (Angiosperms Phylogeny Groupe) sur le genre *Eucalyptus* a permis de déterminer la systématique suivante (GUIGNARD, 2001).

Règne: Plantae

Sous règne: Angiosperms

Classe: Eudicots

Ordre : Myrtales

Famille: Myrtaceae

Genre: *Eucalyptus*

Espèce: *Eucalyptus camadulensis.*

4.2. Domaines d'utilisation

Les *Eucalyptus* possèdent toute une gamme de mécanismes d'adaptation et ont une croissance rapide, c'est ce qui leur a permis d'être la première espèce ligneuse angiosperme de reboisement industriel dans le monde. Les plantations d'*Eucalyptus* ont connu un développement rapide dans les zones chaudes du globe au cours des dernières décennies (BROWN *et al* ., 1999).

Les feuilles contiennent 0,1-0,4 % d'huile essentielle, dont 77% est cineol Il ya quelques Cuminal, phellandrène, aromadendren (ou aromadendral), et certains valerylaldehyde, le géraniol, le cymène, et phellandral (C.S.I.R. 1948–1976). Les feuilles contiennent 5-11 % de tanin. Le kino contient de l'acide kinotannique de 45% ainsi que kino rouge, un glucoside, le catéchol et pyrocatechol. Les feuilles et les fruits de tester positif pour les flavonoïdes et stérols. L'écorce contient 2.5-16 % de tanin, le bois 2-14 %, et le kino 46,2 à 76,7 (Watt *et al*., 1962).

La vocation de la quasi-totalité de ces plantations est la production de bois. Le bois d'*Eucalyptus* présente des caractéristiques technologiques intéressantes pour la production de pâte à papier (fibres courtes) qui constitue le débouché principal de la majorité des reboisements industriels dans le monde (CAMPINHOS, 1999). Il est également apprécié pour la production de panneaux de particules ou de viscose. Dans les zones périurbaines, de nombreux pays en développement utilisent le bois d'Eucalyptus pour la production du charbon de bois (BOUVET, 1999).

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 huiles essentielles d'*Eucalyptus*, commercialisées dans le monde trouvent des applications diverses en fonction de leurs compositions chimiques.

4.2.1. Les huiles médicinales

Grâce à sa composition chimique et à son principe-actif qui est le 1.8 cinéole, l'HE d'*Eucalyptus* possède des vertus considérables, elle est très recherchée pour son action antiseptique et cicatrisante. Antibiotique naturel, elle est surtout utilisée pour soigner certaines maladies broncho-pulmonaires comme la grippe, la toux, la sinusite, la bronchite et la rhino-pharyngite tandis qu'en dermatologie, on s'en sert pour traiter l'acné, entre autres. Son action est particulièrement remarquable au niveau du poumon par sécrétion d'un mucus antiseptique. Pour ceux qui ont des problèmes de fièvre persistante, c'est un excellent fébrifuge qui a la propriété de faire tomber rapidement la fièvre et de réguler la température du corps. En outre, de nombreuses maladies gastro-intestinales peuvent également être soulagées par l'huile essentielle d'*Eucalyptus* grâce à ses propriétés anti-infectieuses et antibactériennes (CANDY G, 1977).

On lui prête aussi des propriétés balsamique (pour préparer des baumes), hypoglycémiante (pour faire diminuer la concentration en sucre) (MARIE-CLAUDE *et al*., 1992). La qualité médicinale d'une huile essentielle est soumise aux normes définies par les pharmacopées. Dans le cas des HE d'*Eucalyptus*, une teneur supérieure à 70% en 1,8 cinéole ainsi qu'une teneur inférieure ou égale à 0.1% en α et β phéllandrene sont exigées. Il est rapporté comme anesthésique , antiseptique , astringent, le red gum est un remède populaire pour les rhumes , les coliques , la toux , la diarrhée , la dysenterie , l'hémorragie, laryngalgia , laryngite, pharyngite , angine, spasme, trachalgia et blessures (DUCK *et al*., 1981).

4.2.2. Les huiles industrielles

Les huiles essentielles d'*Eucalyptus* riches en phellandréne sont exclusivement utilisées pour parfumer les désinfectants bon marché et les savons liquides industriels. L'α et β pinène sont des composés utilisés dans la manufacture

des peintures et aussi comme peinture à l'huile fine, connue sous le nom de la «térébenthine végétale». Les HE d'*Eucalyptus* riches en cuminal, en phellandral et en cryptone étaient autre fois utilisées dans la fabrication des germicides. Celles riches en pipéritone sont utilisées dans la fabrication d'agents odoriférants (menthol synthétique). La pipéritone est aussi une matière première dans la manufacture des fongicides (thymol synthétique), elle est également utilisée comme additif dans de nombreuses préparations médicinales (BOLAND *et al*., 1991).

4.2.3. Les huiles de la parfumerie et des flaveurs

En parfumerie, l'HE d'*Eucalyptus* entre dans la composition de certaines eaux de Cologne et dans de nombreuses lotions après-rasages. Elle donne un parfum fort agréable aux sachets d'odeur. Le citronellal est surtout utilisé dans la production des parfums de haute gamme. L'*Eucalyptus* staigeriana est exploité pour sa richesse en citral, ce dernier est utilisé dans la composition de la saveur citron (LASSAK, 1988). Certaines espèces d'*Eucalyptus* telles que l'*E.olida* fournissent des HE riches en E-methyl-cinnamate qui est directement exploité comme additif aromatique (CURTIS, 1990). L'α et β pinène sont utilisés dans la synthèse de nombreux dérivés terpéniques,utilisés dans les industries de la parfumerie et des arômes.

Matériels et Méthodes

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

1. Choix et description de station de récolte

Une station d'étude est une circonscription d'étendue quelconque, représentant un ensemble complet et définit des conditions d'existence nécessaires aux espèces qui l'occupent (DAGET et GODRON, 1982). Le choix des stations d'étude est dicté par la nature du milieu, qu'il soit naturel ou anthropisé.

1.1. Situation géographique de station de récolte

La station de récolte est située dans la région de Ouargla, partie Nord-Est du Sahara Septentrional Algérien (5° 19' longitude Est, 31°57' latitude Nord) (ROUVILLOI-BRIGOL, 1975 et DUBOST, 1991). selon ROUVILLOIS-BRIGOL (1975), la région de Ouargla se trouve à une altitude de 157 m. Elle couvre au total une superficie de 163 230 km^2 se située dans la partie Sud- Est de l'Algérie. Elle est limitée: au Nord par les wilayas de Djelfa et Biskra au Sud par Illizi et Tamanrasset àl'Est, par la El Oued et à l'Ouest par Ghardaïa.

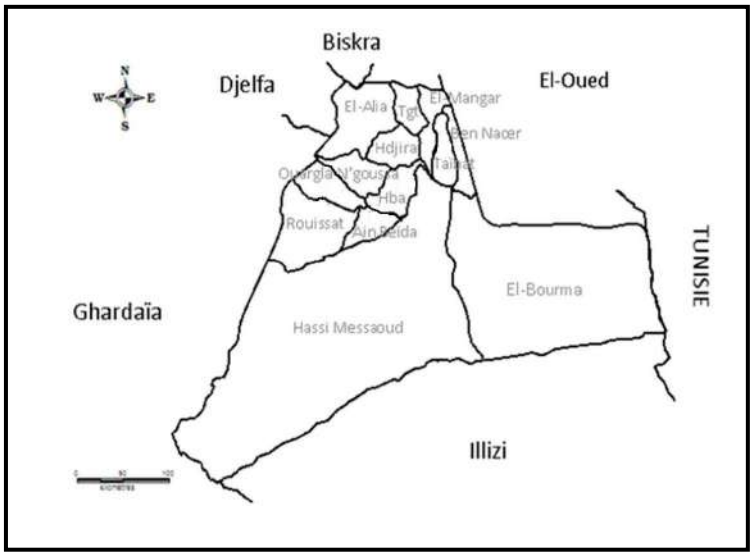


Figure N° 13 : Carte géographique représentative
de la région de Ouargla (Elec 09)

1.2. Géomorphologie, géologie et pédologie

Au Sahara, la couverture pédologique présente une grande hétérogénéité et se compose des classes suivantes : sols minéraux bruts, sols peu évolués, sols halomorphes et sols hydromorphes: la fraction minérale est constituée dans sa quasi-totalité de sable. La fraction organique est très faible (inférieure à 1%) et ne permet pas une bonne agrégation. Ces sols squelettiques sont très stériles car leur rétention en eau est très faible, environ 8% en volume d'eau disponible (DAOUD et *al*., 1994).

1.3. Hydrogéologie

Les formations géologiques de la région de Ouargla contiennent deux grands ensembles de formation aquifère: le continental intercalaire à la base et le complexe terminal au sommet. Une troisième formation d'importance plus modeste s'ajoute aux deux précédentes : La nappe phréatique ou nappe superficielle (IDDER, 1998).

1.4. Synthèse climatique

Le climat joue un rôle fondamental dans la distribution des êtres vivants (FAURIE et *al.*, 1980). Parmi les facteurs climatiques, nous citerons la température, les précipitations, l'humidité relative de l'air, les vents et l'insolation. Le climat d'Ouargla est particulièrement contrasté malgré la latitude relativement septentrionale. Il est caractérisé par une faiblesse des précipitations, une luminosité intense, une forte évaporation et un grand écart des températures avec la sécheresse de l'air (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975).

1.5. Température

La température est importante pour les êtres vivants. Ses variations agissent sur le comportement des différentes espèces. Selon (DAJOZ, 1970), Les limites des aires de répartition sont souvent déterminées par la température qui agit comme un facteur limitant. La région de Ouargla est caractérisée par des températures maximales élevées qui peuvent dépasser 40° C. En 2010, la moyenne des températures du mois le

plus froid est enregistrée en décembre (13,6 °C.), alors que le mois le plus chaud est juillet (36,7 °C.) (TUTIEMPO, 2010).

1.6. Vents

Le vent agit soit directement par une action mécanique sur le sol et les végétaux, soit indirectement en modifiant l'humidité et la température (OZENDA, 1982). D'autre part, le vent a une action indirecte sur les êtres vivants et il joue le rôle de facteur de mortalité vis à vis des oiseaux, des insectes et des végétaux (DAJOZ, 1983).

D'après les données de TUTIEMPO (2010), les vents sont fréquents sur toute l'année 2010 avec une vitesse moyenne annuelle de 14,08 km/h et une vitesse maximale de 20,4 km/h pour Ouargla. Les vents de sable soufflent notamment au printemps, du Nord-Est et du Sud-Ouest (ROUVILLOIS-BRIGOL, 1975).

Les vents soufflent du Nord-Ouest vers le Sud-Est (Dahraoui), particulièrement au printemps. Le vent d'orientation Est-Nord (Bahri), se manifeste de fin Août à mi-Octobre, le plus fréquemment (NAJAH, 1971). Tandis que les vents du sirocco ou (chuhili) apparaissent pendant la période estivale à une direction Sud-Nord et Sud - Ouest, il se manifeste par des chaleurs excessives.

1.7. Humidité

L'humidité relative agit sur la densité des populations en provoquant une diminution du nombre d'individus (DAJOZ, 1983).Certaines espèces sont très sensibles aux variations d'humidité relative. L'air du Sahara est très sec. L'humidité moyenne annuelle est de 43,9 % pour Ouargla, Le taux d'humidité varie d'une saison à une autre. Le maximum d'humidité est enregistré durant le mois de Janvier pour Ouargla est de 51,2% et le minimum au cours du mois de Juillet est de 26,9% à cause des fortes évaporations et des vents chauds durant ce mois.

1.8. Précipitations

Les précipitations constituent un facteur écologique d'importance fondamentale pour le fonctionnement et la répartition des écosystèmes terrestres (RAMADE, 1984). Comme dans la majeure partie des régions sahariennes, les précipitations sont marquées par leur caractère faible et irrégulier (ROUVILLOIS – BRIGOL, 1975).

Des sorties sur terrain ont été préalablement effectuées, pour récolter les feuilles d'arbre adultes choisis au hasard mais située sur le même pied d'arbre, ce site (ITAS) est réputé comme un site favorable pour la croissance de Eucalyptus. En effet, pour le choix de site de récolte nous avons pris en considération la disponibilité et le bon etat de l'espèce végétale.

2. Matériel

2.1. Matériel végétal

Pour la présente étude, il est utilisé comme matériel végétal l'*Eucalyptus camndulensis* récoltés à Ouargla (ITAS). L'âge des arbres est d'environ 32 ans . L'identification de cette essence a été réalisée à l'Institut National de Recherche Forestière de Bainem (INRF) Algerie. Les échantillons de l'essence forestière a été cueillis au printemps, durant les mois Mars et Avril. La récolte a été réalisée le matin, elle concerne seulement les feuillets d'arbre adultes choisis au hasard.

Les feuillets fraichement récoltées sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante du laboratoire de recherche Génie des Procédés à la faculté des sciences de la téchnologies et sciences de la matiére à l'université de Kasdi Merbah Ouargla. Elles sont conservés dans des sacs propres pour éliminer toutes impurtés.

2.2. Choix du matériel végétal

Le matériel ou l'organe végétal choisi dans la présente étude est représenté par les feuilles sèches de l'*Eucalyptus camendulensis*. Parmi les critères de choix de cette plante, figurent leur utilisation déjà dans l'assaisonnement de certains aliments et médicaments (donc non toxiques) d'une part et le manque de travaux de recherche sur les propriétés biologiques en particulier et les propriétés physiques et chimiques de leurs huiles essentielles d'autre part.

3. Méthodes

L'extraction et l'étude physiques et chimiques de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus* ont été réalisées au sein du laboratoire de recherche Génie des Procédés à la faculté des sciences de la technologie et sciences de la matière à l'université de Kasdi Merbah Ouargla. Le laboratoire s'occupe de l'extraction, la caractérisation et l'analyse des huiles essentielles et extraits végétaux des plantes aromatiques ainsi que la détermination de l'activité biologique.

Cependant, l'étude de l'activité biologique a été réalisée au laboratoire de Microbiologie du département des sciences de la vie et de la nature université d'Ouargla. Pour s'assurer du bon déroulement des tests expérimentaux, les essais sont répétés plusieurs fois. En outre, l'activité fongique a été réalisé au sien de laboratoire de centre de recherche en Italie. En revanche, Les analayses chromatographiques en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) ont été effectué au laboratoire de chimie analytique université de Catalonia.

Le schéma général adopté pour la réalisation de ce travail est résumé par la figure N° 14 ci-dessous:

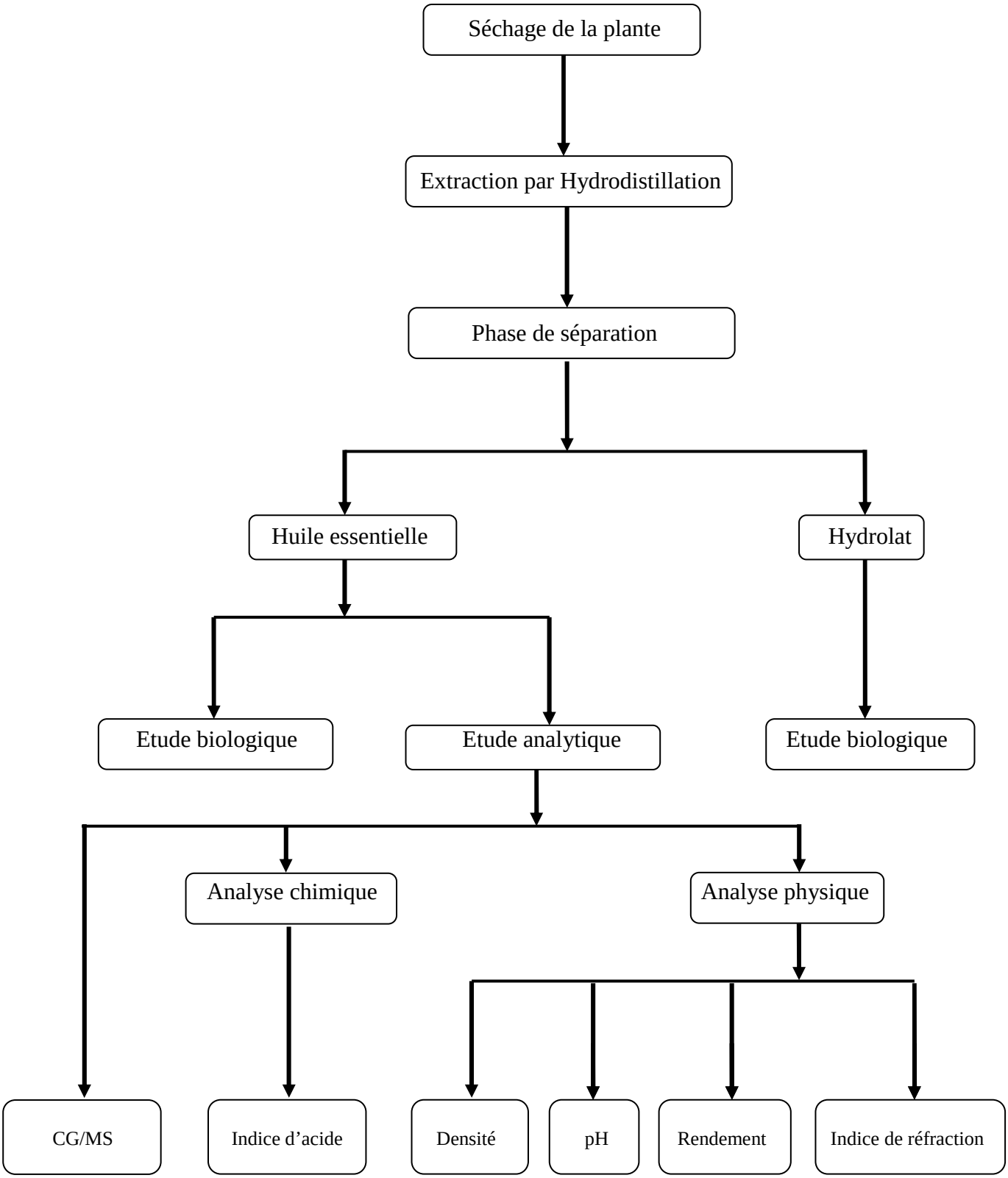


Figure N° 14 : Diagramme général de la procédure expérimentale

3.1. Extraction d'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus

3.1.1. Dispositif d'extraction par hydrodistillation type Clevenger

L'extraction de l'huile essentielle (HE) des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis* au laboratoire de recherche Génie des Procédés a été faite par un hydrodistillateur de type Clevenger (1928). Il est constitué d'un chauffe ballon, un ballon de capacité de 2 L où l'on place le matériel végétal et de l'eau, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement de ballon une ampoule à décanter qui reçoit les extraits de la distillation et d'un thermomètre pour contrôler la température et éviter le surchauffage (figure N° 3).

Photo N° 02 : Montage d'extraction par hydrodistillation type clevenger

3.1.2. Dispositif proposé d’extraction par hydrodistillation

Pour la présente étude, nous avons adopté un montage par hydrodistillation proposé pour extraire une grande quantitie d’huile essentielle qui a été constitué par une cocotte à minute en aluminium de 15 L de capacité, de 25 cm de diamètre et de 22 cm de hauteur où l’on place 700 g de matériel végétal et de 4 L d’eau; il est placé sur un chauffage à gaz naturel, et surmonté d'un "chapiteau" qui le relie au condenseur. Ce dernier est formé d'un serpentin de cuivre plongé dans un bac de refroidissement où circule de l'eau fraîche en permanence, l’ensemble est porté à ébullition après 15 min, les vapeurs chargées d’huile essentielle traversant le tube de cuivre (condenseur) se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, en fin de décantation on obtient deux phase (huile essentielle + hydrolat) , l’eau et l’huile se séparent par différence de densité (Figure N°).

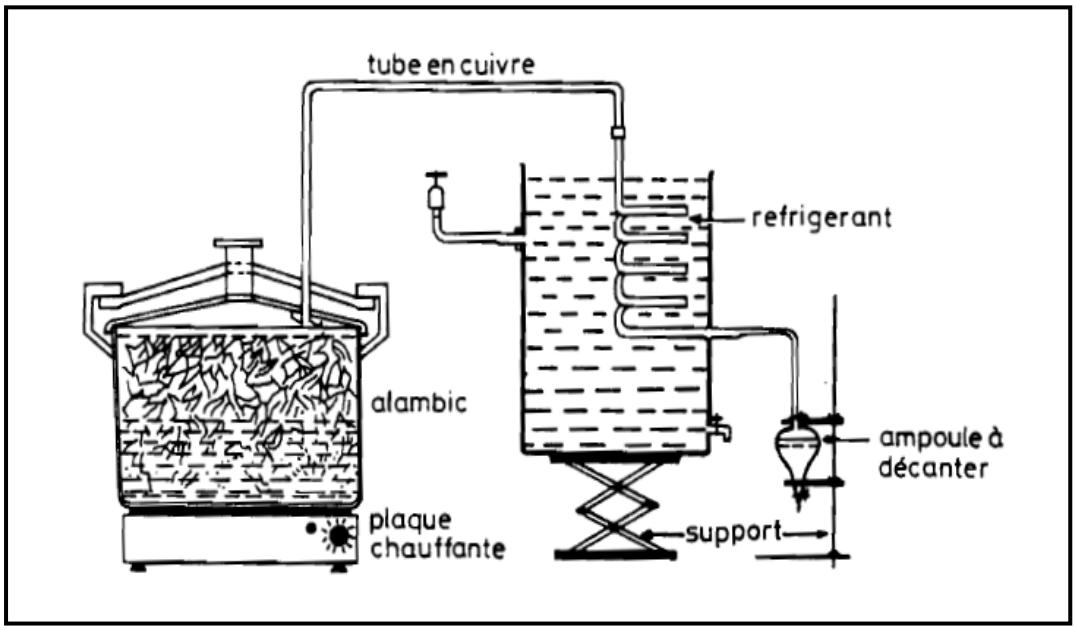


Figure N° 15 : Montage proposé pour l’extraction d’HE

3.1.3. Récupération, conditionnement et conservation d'huile essentielle

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables (BURT, 2004). C'est pour l'huile essentielle d'Eucalyptus est conditionnée dans un flacon en verre fumé, hermétiquement fermé pour éviter tout risque d'altération d'huile essentielle par la lumière et l'oxygène de l'air. Les flacons sont conservés à une température de 4°C jusqu'à l'utilisation de cette huile essentielle pour différentes analyses.

3.2. Détermination du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (m HE) et la masse de la matière végétale utilisée (m_O M). Il est donné par la formule suivante :

$$\mathbf{Rt(\%)= (m\ HE\ /\ m_O\ M\ vs)\ X\ 100}$$

R : Rendement en huile essentielle

m HE : masse d'Huile Essentielle

m_0 M vs : masse de Matière végétal sèche

3.3. Détermination de l'effet de séchage sur la teneur en eau et en huiles essentielles

3.3.1. Effet de séchage sur la teneur en eau

Afin de déterminer la teneur en eau (taux d'humidité) de chaque lot, une quantité de feuilles fraîches de masse M_f = 100 g ± 0,01g a été séchée dans une étuve à 105 °C pendant 24 heures (jusqu'à un poids constant). La masse des feuilles séchées (Ms) a été déterminée à l'aide d'une balance précise à 0,01g et la teneur en eau est donnée par la formule ci-dessous**:**

$$T_{Eau} = \frac{M_f - M_s}{M_f} \times 100$$

3.3.2. Effet de séchage sur la teneur en huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée journalièrement par hydrodistillation de 100g d'échantillons, dans un appareil de type Clevenger (Clevenger, 1928). La distillation dure trois heures après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur. L'huile essentielle a été stockée à 4°C à l'obscurité.

La teneur en huile essentielle, exprimée en ml du distillat par 100 g de matière sèche, est exprimée par la relation suivante :

$$T_{HE} = (V / M_S \times 100) \pm (\Delta V / M_S \times 100)$$

$\mathbf{T_{HE}}$: Teneur en huiles essentielles

V : Volume d'huiles essentielles recueilli (ml)

ΔV : Erreur sur la lecture

Ms : Masse végétale sèche (g)

3.4. Détermination des constantes physico chimiques

Les constantes physico chimiques déterminent la nature d'huiles et le degré de pureté, on les nomme les constantes d'huiles (CHABANNE *et al*., 2001 ; DJEBILI *et al*., 2006 et SOUNDOUSS, 1998) et qui sont :

3.4.1. La densité à 20°C (d^{20})

C'est le rapport du poids d'un certain volume d'huile au poids du même volume d'eau distillée à la température 20°C.

On pèse 2 ml d'huile essentielle étudiée à l'aide d'un pycnomètre taré d'un densimètre électronique type DMA35N marque Anton Paar.

$$\mathbf{d^{20} = d\theta + (\theta - 20) \times 0{,}00068}$$

dθ : Densité à température ambiante

θ : Température ambiante

d^{20} : Densité à 20°C

0,00068 : Variation de la densité quand la température varie de 1°C.

Photo N° 04 : Densimètre (DMA 35_N).

3.4.2. L'indice de réfraction (I.R) (ISO 280 : 1999 (75-112) (AFNOR., 2000)

Il s'agit du rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et celle dans le milieu étudié, ainsi l'indice de réfraction est une fonction de la longueur d'onde de la lumière incidente et de la température. L'appareil qui sert à mesurer l'indice de réfraction des liquides est le réfractomètre d'Abbe qui a un usage assez recommandé.

Pour calculer l'indice de réfraction η^{20}_{D}, on applique la formule suivante :

$$Ir = \eta^{20}_{D} = \eta^{\theta}_{D} + (\theta - 20) \times 0{,}00045$$

η^{20}_{D} : Indice de réfraction à une température à 20°C ;
η^{θ}_{D} **:** Indice de réfraction à une température θ ;
θ : Température à la quelle la substance soit liquide ;
D **:** Raie de Sodium (de longueur d'onde 589,6mm) ;
0,00045 : Variation d'indice de réfraction quand la température varie de 1°C.

Photo N° 05 : Réfractomètre (Pi).

3.4.3. Mesure de pH

3.4.3.1. Définition

pH l'abréviation de potentiel d'hydrogène, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H^+) (Appelés aussi couramment protons) en solution.

Plus couramment, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre : elle est acide si son pH est inférieur à 7, neutre s'il est égal à 7, basique s'il est supérieur à 7 (MOHAMDI, 2006).

3.4.3.2. Méthode de mesure

Les mesures ont été effectuées à l'aide d'un pH-mètre.

Photo N° 06 : pH mètre (HANNA Hi 4221).

3.4.4. Indice d'acide (I.A) (NF ISO 1242 :1999 (T 75-103) (AFNOR, 2000)

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile. A 0,2 g d'huile dissoute dans 10 ml d'hexane, on ajoute 2 à 3 gouttes de phénophtaléine. La solution ainsi obtenue est tirée par une solution de KOH (0,01N) dans l'éthanol jusqu'à l'apparition d'une coloration rose Pâle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. L'indice d'acide est calculé par la formule suivante (CHABANNE *et al*., 2001):

$$Ia = N.V.56,1/m$$

N : Normalité de KOH ;

V : Volume en millilitre de la solution de KOH utilisé ;

m : masse en gramme de la prise d'essai ;

56,1 : Masse molaire de KOH.

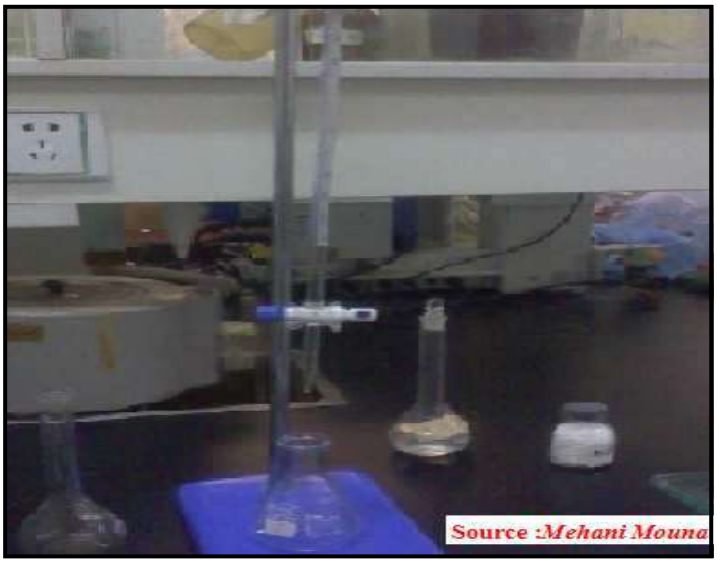


Photo N° 07 : Dispositif de mesure d'indice d'acide

3.5. Analyses de la composition chimique de l'huile essentielle par GC/MS

Les analyses de la composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse pour la détermination de leur composition chimique et l'identification de leur chimiotype.

3.5.1. Principe de la Chromatographie phase gazeuse - Spectrométrie de masse

En chromatographie en phase gazeuse (CPG), l'échantillion est vaporisé et injecté au sommet de la colonne, l'élution est assuré par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile (LAVERDIERE *et al*., 1999).

Le principe de séparation repose sur une différence de répartition des composés d'un mélange entre deux phases, la phase stationnaire (imprégné dans la colonne). Les composants du mélange injecté dans la colonne sont poussés dans celle-ci par le gaz vecteur interagissent différement avec la phase stationnaire et de ce fait leur progression dans la colonne ne se fera pas à la même vitesse. Ce phénomène d'interaction provoque ainsi la séparation des constituants du mélange. Un système de détection adéquate en sortie de colonne permet de créer un signal qui est enregistré sous forme de ″ pics chromatographiques ″.

En soumettant une HE à la GC/MS, nous déclenchons un processus à plusieurs étapes :

- ionisation des molécules qui se volatilisent sous l'effet de la haute température ;

- accélération des ions formés qui se dirigent vers le dispositif de séparation ;

- traitement du signal de sortie de l'appareil ce qui conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports m/z.

La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « banques de données » de référence permet son identification (DE MAACK *et al*., 1997).

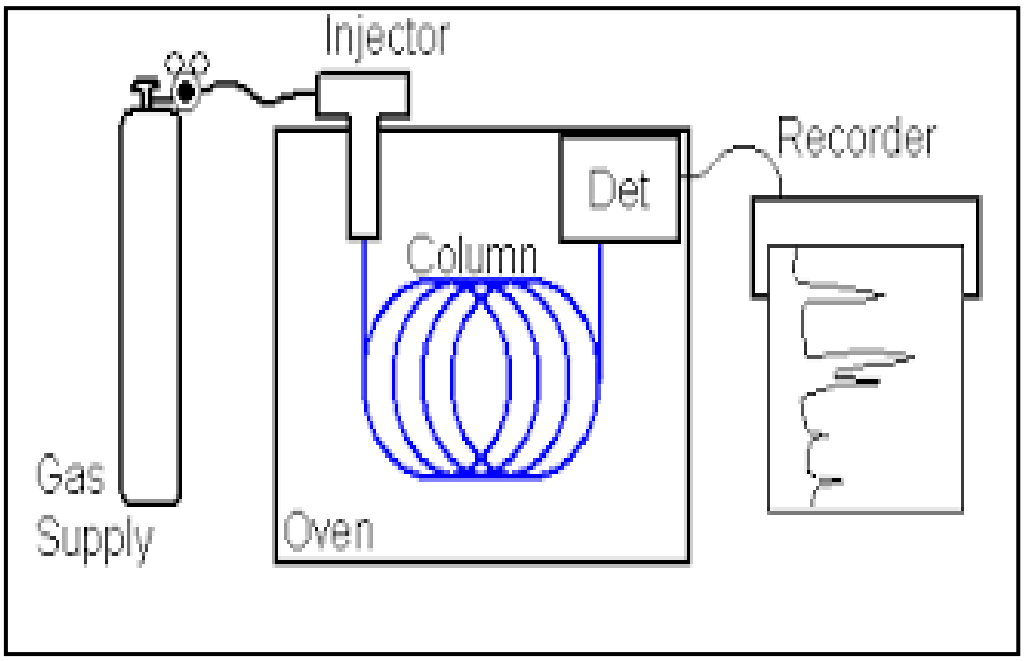


Figure N° 16: Schéma général d'un GC/MS

3.5.2. Elaboration des profils chromatographiques (NF ISO 11024-1 : 1999)

(AFNOR, 2000)

3.5.2.1. Préparation des échantillons pour essai

Une quantité de 0.2µl d'HE est prélevée et injectée dans l'appareillage pour déclencher les procédures d'analyse.

3.5.2.2. Conditions opératoires de la GC/ MS

Les analyses chromatographiques des HE ont été effectuées sur un CPG type HP (Agilent technologies) 6800 plus couplé avec un SM (Agilent technologies) MSD 5973).

La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire hp-5 MS (30 m x 0,25 mm), épaisseur film 0,25 µm. La température de la colonne est programmée de 50 à 250 °C à raison de 4 °C.min^{-1}.

Le gaz vecteur est l'hélium pureté N6 dont le débit GV est fixé à 0,5 $ml.min^{-1}$. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse *NIST 98* et piloté par un logiciel « *HP ChemStation* ». Ceci permettra l'identification des constituants aromatiques de l'HE.

3.6. Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'hydrolat

3.6.1. Souches microbiennes étudiées

Les souches microbiennes utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations humaines, et proviennent du laboratoire de microbiologie de l'hôpital Mohamed Boudiaf Ouargla (Algérie). Ces bactéries font partie de deux groupes des microorganismes, qui sont des microorganismes pathogènes et des microorganismes contaminants. Dans notre travail nous avons retenu les espèces suivantes :

3.6.1.1. Cocci Gram positif

3.6.1.1.1. *Enterococcus feacalis*

Bactérie commensale à Gram positif de la famille Enterococcaceae, il se trouve dans le tube digestif humains et d'autre mammifères, causer des infections mortelles chez l'homme et le singe, particulièrement dans un environnement hospitalier. Elle peut aussi déclencher des inflammations chroniques de l'intestin (Net1).

3.6.1.2. Bacilles à Gram Négatif

3.6.1.2.1. *Escherichia coli*

Bacille à Gram négatif apparentant à la famille des Entérobactériaceae (HART et SHARAS, 2002), hôte normale du tube digestif de l'homme et des animaux (CHAKOU *et al.*, 2007), responsable des infections urinaires, septicémie méningite du nourrisson, de plaies opératoires et gastro-entirétes (HART et SHARAS, 2002).

3.6.1.2.2. *Enterobacter cloaceai*

Bacilles à gram négatif de famille Entérobactériaceae, mobile, non sporulés présent dans l'environnement mails il est aussi commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal, responsable de l'infection urinaire, bactériémie, infection respiratoire, suppurations diverse et l'infection tissulaire après une plaie souillée par de la terre, il est souvent associé à *Bacillus cereus* (DANIELLE CLAVE, 2011).

3.6.1.2.3. *Klebsiella pneumoniae*

Genre de bactérie, non mobiles de famille Entérobactériaceae, capsulés avec des colonies à aspect de muqueuses (GARBONNELLE *et al.*, 1987). Elle se trouve dans les matières fécales de l'homme et de l'animal, elle provoque les bronchites, broncho-pneumonies, pleurésies, infection urinaire et septicémie (NATHALIE, 2006).

3.6.1.2.4. *Proteus microsilis*

Bacilles à gram négatif, mobiles de famille Entérobactériaceae, trouvant dans le sol, l'eau d'égouts et font partie de la flore fécale normale provoquent des infections urinaires, plaies, méningites et septicémie (BEERNESH *et al.*, 1996).

3.6.1.2.5. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une Bacille à gram négatif, mobile à ciliature polaire monotriche, caractérisé par la pigmentation bleu, vert, sporule à température optimale 30 à 43°C repandue dans la nature, il vit dans l'eau et sur le sol. Nous le trouvons aussi dans l'environnement hospitalier, surtout dans les endroits humides : siphon de lavabos, savons liquides, humidificateur, solutions d'antiseptiques (chlorhexidine chlorure de benzelkonium et cétrimide).

Pseudomonas aeruginosa fait partie de la flore de transit de l'homme, nous le trouvons dans le tube digestif et plus rarement dans la saline (FAUCHERE et AVRIL, 2002). Elle peut provoquer des infections, parfois sèvres chez les sujets dont les défenses sont amoindries. Elle peut provoquer des infections urinaires, bronchiques (AUCIEL et VILDE, 2005). Responsable d'infections cutanées (impétigo,

furoncles…etc.), d'infection de la sphère ORL (sinusites, otites… etc.) et infection divers (DELARRAS, 2007).

Les souches bactériennes sont des lots de l'ATCC (American Type Culture Collection). Leurs caractéristiques sont regroupées dans le tableau n°01 comme suit :

Tableau N° 01 : caractéristiques des différents micro-organismes

Souches testes	Gram	ATCC
Proteus microsilis	Bacille G^-	ATCC49452
Enterococcus feacalis	Cocci G+	ATCC29212
Enterobacter cloaceai	Bacille G^-	ATCC13047
Klebsiella pneumoniae	Bacille G^-	ATCC700603
Pseudomonas aeruginosa	Bacille G^-	ATCC27853
Escherichia coli	Bacille G^-	ATCC25922

ATCC : American Type Culture Collection

3.6.2. Souches fongiques etudiées

Les souches fongiques utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans les contaminations, et proviennent du laboratoire de l'Institue de l'Entomologie et Pathologie végétale, Université Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza, Italy. Dans notre travail nous avons retenu les espèces suivantes :

3.6.2.1. *Fusarium sporotrichioide*

C’est une souche fongique de la famille Hypocreaceae productrice de mycotoxine caractérisé par la présence des Mycélium aérien, Sporodochia et des Chlamydospores (ANONYME, 2008).

Le *Fusarium sporotrichioide* est très répandue sur les plantes et dans le sol dans les régions froides et fraîches du monde (KULIK *et al*., 2004), peuvent infecter les épis, les tiges et les racines du maïs du semis à la récolte. Entraînent des pertes de rendement et contaminent la récolte avec des substances toxiques (DORN *et al*., 2007).

3.6.2.2. *Fusarium graminearum*

Le nom de Fusarium vient de fusus latin, qui signifie une broche, Fusarium est un grand genre de champignons filamenteux largement distribués dans le sol et en association avec des plantes. La plupart des espèces sont saprobes inoffensives, et sont membres relativement abondantes de la communauté microbienne du sol. Certaines espèces produisent des mycotoxines dans les cultures de céréales qui peuvent affecter la santé humaine et animale si elles entrent dans la chaîne alimentaire. Les principales toxines produites par ces espèces de Fusarium sont les fumonisines et les trichothécènes.

Le genre comprend un certain nombre d'espèces pathogènes des plantes économiquement importantes. *Fusarium graminearum* infecte couramment orge s'il ya pluie en fin de saison. Qu'il est de l'impact économique de l'industrie de brassicole, ainsi que l'orge fourragère. La contamination de Fusarium dans l'orge peut se provoquer en épi, et les contaminations extrêmes, de l'orge peut apparaître rose (BREWING).

3.7. Milieux de culture et Produits actifs

Nous avons utilisé le milieu de Mueller Hinton (gélose riche en composés d'infusion de viande de bœuf, hydrolysat acide de caséine et amidon de mais) pour les bactéries, et avec le milieu de pomme de terre dextrose agar PDA (pomme de terre, glucose, agar et eau distillé) pour les levures. Ensuite verser aseptiquement (devant le bec benzène) une couche de 10 ml dans les boites de pétri, laissé refroidir sur la paillasse.

Lors de nos essais, nous avons testé aussi bien l'activité antimicrobienne de l'HE que celle de l'HA de l'*Eucalyptus camendulensis*.

3.8. Tests d'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'Eucalyptus est réalisée d'abord par la méthode de diffusion des disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Les concentrations minimales inhibitrice (CMI) sont estimées par la méthode de dilution d'agar. Cette méthode nous permet également de savoir la nature de l'activité antibactérienne d'huile essentielle (bactériostatique ou bactéricide).

3.9. Protocoles d'étude

3.9.1. Technique en milieu solide

3.9.1.1. Méthode des aromatogrammes

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme (SATRANI *et al*., 2007 ; BENLILALI *et al*., 1986). Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes (PIBIRI, 2005).

Cette méthode consiste à mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne de l'extrait des plantes recensé, en présence des germes tests. Des

disques absorbants stériles, imprégnés d'une quantité d'extrait et disposés sur une gélose inoculée avec les souches. La diffusion de l'extrait dans la gélose permet de suivre l'inhibition et la croissance des germes qui se traduira par une zone claire autour de disque dite zone d'inhibition.

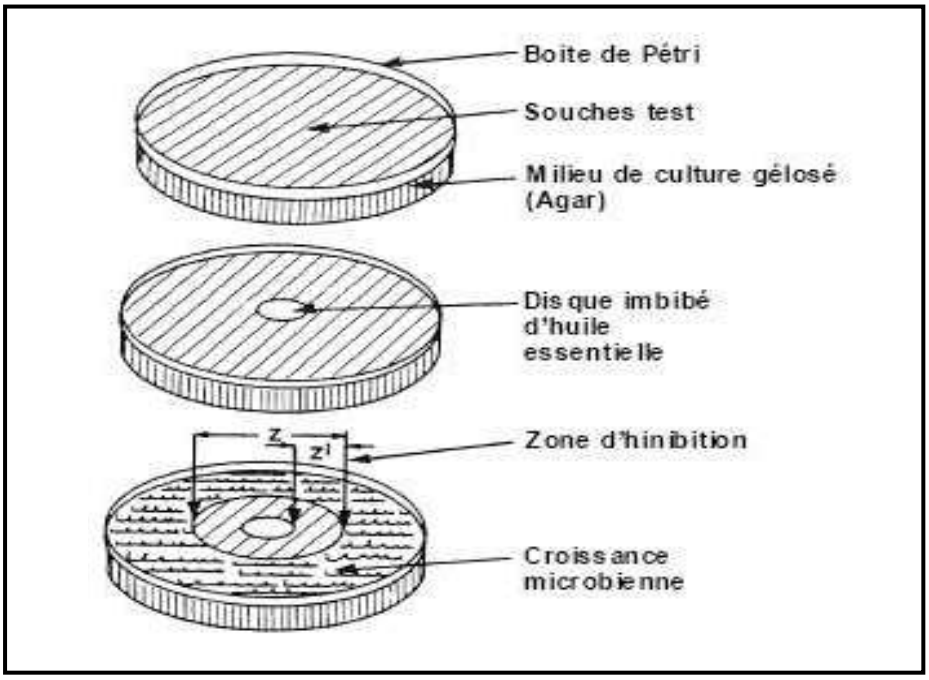


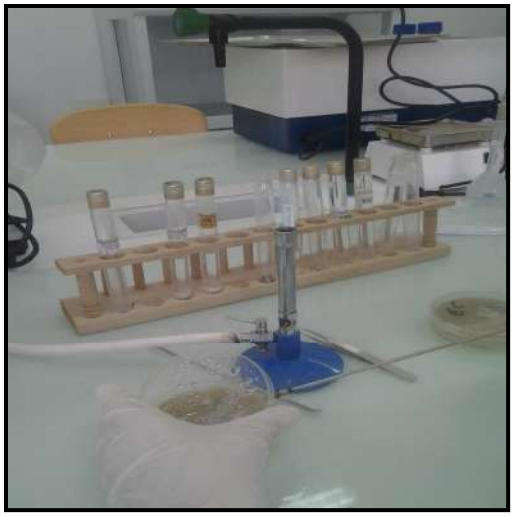
Figure N° 17 : Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boite de Pétri (PIBIRI, 2005).

3.9.1.1.1. Suivi de l'activité des extraits

Photo N° 08: Milieu culture Muller-Hinton

- **Préparation de l'inoculum**

A partir d'une culture jeune, en prélevant 3 à 5 colonies pures bien isolées de chaque espèce étudie qui sont diluées dans 9 ml à 10 ml d'eau physiologique stérile. L'enrichissement dure pendant 2 à 3 heures.



A : Prélèvement des colonies.

B: Déchargement dans l'eau physiologique

C : L'enrichissement

Photo N° 09 : Préparation d'inoculum

- **Préparation des disques**

Pour la réalisation de l'antibiogramme, les disques sont faits à partir du papier Wathman n°3, ce dernier a été découpé en disque blanc de 6 mm. Après leur stérilisation au four pasteur pendants 20 mn à 160°C, les disques ont été imprégnés dans les solutions préparées auparavant. Ensuite, ils ont été placés dans des boites de pétri.

- **Ensemencement**

A l'aide d'une micropipette nous prélevons 1 à 2 ml de Chaque suspension , contenant des colonies bacteriennes étalé en uniforme en nappe sur la surface de la boite contenant la gélose solidifiée (Muller Hinton), l'excés du liquide et aspiré à l'aide d'une pipette pasteur et rejeté dans un bac d'eau de javel. Les boites ainsi ensemencées ont été mises à sécher pendant 15 mn à 37°C.

Photo N° 10 : Ensemencement des souches

- **Dépôt des disques**

A l'aide d'une pince stérile, nous prélevons les disques qui sont imbibés avec l'extrait brut de la plante jusqu'à imprégnation total du disque. Les disques ainsi traités sont déposés sur la face de la gélose Muller Hinton inoculée en les appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile, laissons diffuser, puis incuber à 37°C à l'étuve pendant 24 heures pour les bactéries et 48 heures pour les levures.

Photo N° 11: Dépôt des disques des dilutions

- **Expression des résultats**

La mesure du diamètre des halos d'inhibition est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité (tableau N° 02) (LIS-BALCHIN *et al*., 1998).

Tableau N° 02: Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.

(LIS-BALCHIN *et al*., 1998)

Diamètres de la zone d'inhibition	**nscriptionTra**	**Sensibilité du germe**
0	0	Résistant
0,5 cm	±	Peu sensible
1 cm	+	Sensible
2 à 3 cm	++	Assez sensible
> 3 cm	+++	Très sensible

Pour chaque boite la mesure de la zone d'inhibition indique la sensibilité de ces germes, nous avons deux actions proposées à se produire :

- Soit une action bactéricide (fongicide) ou nous ne remarquons aucune croissance microbienne autour des disques ;

- Soit une action bactériostatique (fongistatique), dont il y'a des zones d'inhibition autour des disques disposés sur la surface de milieu de culture.

Pour confirmer les résultats, nous réalisons trois répétitions pour chaque boite, le diluant utilisés durant les différentes étapes de ce Protocol expérimental peut confondre nos résultats (peut avoir un effet sur la croissance des microorganismes), pour cela nous procédons à réaliser un témoin négatif. S'il est négatif ça veut dire que toute zone d'inhibition apparente est attribuée à l'extrait appliqué avec certitude.

Les bactéries montrant une sensibilité à l'huile essentielle sont sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (DERWICH *et al*., 2010).

3.9.2. Méthode de dilution d'agar

Cette technique donne un intervalle de valeurs des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches qui présenteront une sensibilité. Cette technique est économique puisque elle nous permet de tester plusieurs souches bactériennes dans la même boîte. Pour déterminer ces concentrations de l'huile essentielle d'Eucalyptus, nous avons employé la méthode de dilution d'agar rapportée par HAMMER *et al*. (1999) et MAYACHIEW & DEVAHASTIN (2008).

3.9.2.1. Préparation des dilutions d'huile essentielle

Pour pouvoir obtenir différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles d'Eucalyptus, nous l'avons diluée dans le DMSO (diméthylsulfoxide). Ce choix a été fait, parce que, le DMSO est le solvant préférable pour la majorité des auteurs, notamment, GACHKAR *et al* (2006) qui ont prouvé que le DMSO n'a aucun pouvoir antibactérien puissant.

3.9.2.1.1. Détermination de CMI (Concentration minimal Inhibitrice)

C'est une méthode de référence pour mesurer l'activité d'une huile essentielle, vis-à-vis d'une souche bactérienne donnée, consiste à déterminer dans des conditions bien standardisées (de milieu et d'incubation), la concentration minimale d'antibiotique capable d'inhiber la croissance bactérienne. Pour ce faire se réalise une gamme de dilution soit en milieu liquide soit en milieu solide dont : 6.75, 3.375, 1.687, 0.843, 0.421, 0.210, 0.105 et 0.0525 ug/ml. Les différentes dilutions sont ensemencées avec la bactérie étudiée et peut déterminer après 18 heures d'incubation, où se situe la CMI (NAUCIEL *et al*, 2005).

- Lorsque la CMI est basse et très inférieure à la concentration d'antibiotique qu'on obtient chez les patients avec les posologies usuelles, c'est-à-dire CMI est inférieur à la concentration critique inférieure, nous considérons que la bactérie est sensible à l'antibiotique.

- Au contraire, lorsque la CMI est égal ou supérieur à concentrations obtenues chez les patients, c'est-à-dire la CMI est supérieur à la concentration critique supérieure, nous considérons que la bactérie est résistante (NAUCIEL *et al*, 2005).

- La bactérie est dite intermédiaire si la CMI est comprise entre la concentration critique supérieure et la concentration critique inférieure (JOFFIN, 2001).

La détermination de la CMI n'est utilisée en pratique que pour des cas particuliers. En routine nous utilisons une méthode plus approximative, l'antibiogramme (NAUCIEL *et al.*, 2005).

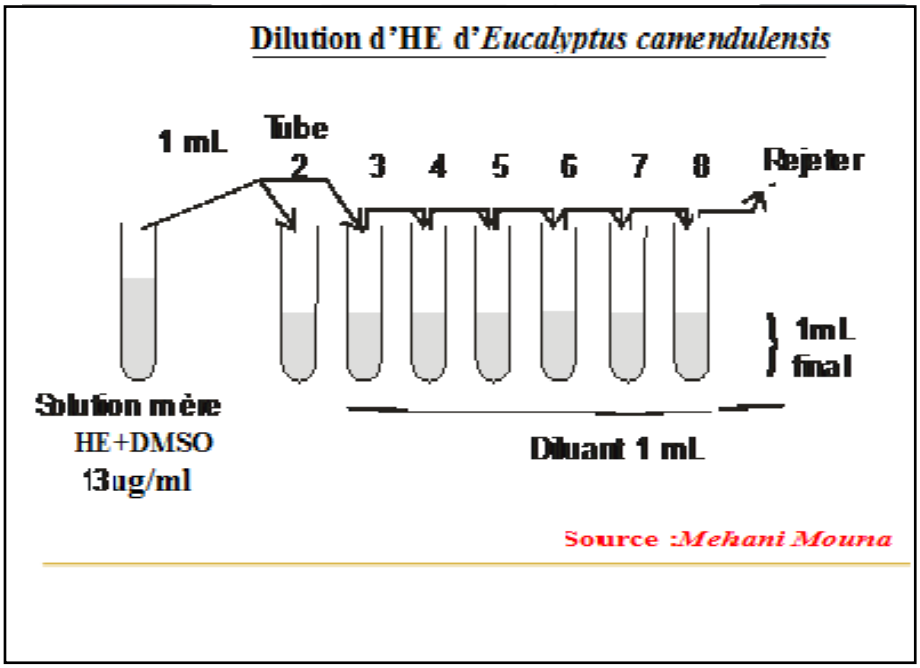


Figure N° 18 : Réalisation de la gamme de dilution d'HE

3.10. Activité antifongique

Pour la réalisation de l'activité antifongique on a adopté la méthode de contact direct. Pour préparer les différentes concentrations on a prélevé des différentes concentrations d'huile essentielle (HE) d'Eucalyptus à savoir (50, 10, 5, 2.5, 1.25, µl) et ajuster a 20 ml par PDA puis on agite pendant 5 minute pour homogèneser le milieu de PDA avec l'huile essentielle.

5 ml de mélange (PDA + HE+ Tween a 0,5%) a été coulé dans des boites de Pétri, Après le refroidissement et la solidification de ce mélange sur la paillasse des disques mycélien de diamètre de 5mm de diamètre issue de la marge d'une culture âgée de *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum* ont été prélevée avec un emporte pièce et inoculé au centre de chaque boite (1disque/boite) (Photo N° 10). Chaque concentration est répéter trois fois. Les boites sont incubées dans l'obscurité à température de 20 ± 2oC ; Les témoins (PDA+ Fusarium et PDA+ Tween a 0,5%+ Fusarium) sont réalisés dans les mêmes conditions sans huile essentielles et les mesures sont prélevées après 72 h d'incubation (TERZI *et al*., 2014).

Photo N° 12: Inoculum des disques mycéliens

3.10.1. Evaluation de la croissance mycélienne

La croissance mycélienne a été évaluée toutes les 24 heures en mesurant la moyenne de trois diamètres perpendiculaires passant par le milieu de la rondelle. Cette lecture est toujours réalisée en comparaison avec les cultures témoins qu'ils ont démarré le même jour et dans les mêmes conditions. Toute pousse même légère de champignon sera considéré comme action négative c'est à dire que l'huile essentielle en question n'est pas inhibitrice vis-à-vis de la croissance fongique (TERZI *et al*., 2014).

3.10.2. Détermination de l'indice antifongique

Aprés l'incubation en tenant compte de la croissance de témoin, on calcule l'indice antifongique qui est déterminé par la formule suivante (CHANG *et al*., 1999):

$$\mathbf{IA = (1\text{-}Da/Db) \times 100}$$

Da: diamètre de la zone de croissance de l'essai.

Db: diamètre de la zone de croissance du témoin.

3.10.3. Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VC)

$$\mathbf{VC = [D1/Te1]+[(D2\text{-}D1) / Te2]+ [(D3\text{-}D2) / Te3]+\ldots + [(Dn\text{-}Dn\text{-}1) / Ten]}$$

D: Diamètre de la zone de croissance du chaque jour.

Te: Jour d'incubation.

Résultats et Discussions

Chapitre III : Résultats et discussions

3.1. Extraction de la fraction aromatique d'*Eucalyptus camendulensis*

3.1.1. Extraction et rendement en huile essentielle

L'hydrodistillation de la partie aérienne de plante fraîche a été réalisée avec le dispositif de Clevenger. Le rendement moyen en HE est de 0,99 %. Ainsi et pour chaque extraction, nous avons pu récupérer une quantité de 0,99 ml d'HE pour 100 g de matière végétale séche.

Cependant, ce rendement en HE est relativement élevé comparé à ceux rapportés par BAALOUIAMER en 1985 (0,8 - 0,7 %).

En Algérie, le rendement en HE peut varier d'une région à l'autre selon les facteurs pédoclimatiques. Une étude de BOUFERKAS en 1996 a rapporté un taux de (0,68-0,21%) en HE extraite des plantes cultivées dans la plaine de Mitidja. Ce taux est très en dessous du rendement obtenu au cours de nos extractions. Ceci peut être lié aux influences pédologiques (texture, composition, porosité et pH du sol).

D'un autre côté, certains auteurs SINGH *et al* en 1989, PARAKASH *et al* en 1972, NAKASHIMA en 1985 et ZRIRA *et al* en 1992 ont obtenu un rendement légèrement supérieur au notre qui est respectivement : 2,51, 2,83, 3,8 et 2,12%. Ceci peut, éventuellement, être attribué à un déficit en amendements minéraux. Ces derniers contribuent à l'augmentation de la masse végétale et à la quantité d'HE extraite.

En résumé, plusieurs études ont confirmé que les fluctuations observées dans le rendement en HE peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à l'imbrication d'une multitude de facteurs (biotique et abiotique). Parmi ces facteurs, nous pouvons citer la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents, apport des engrais organiques et/ou minéraux) et aux méthodes d'extraction. Ce dernier exerce une influence directe chez les espèces végétales.

3.2. Détermination de l'effet de séchage sur la teneur en eau et en huiles essentielles

3.2.1. Effet de séchage sur la teneur en eau

Cette étude nous a permis de suivre et d'évaluer l'effet de la durée de séchage sur la teneur en eau des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis*. Elle est présentée dans la figure N° 20.

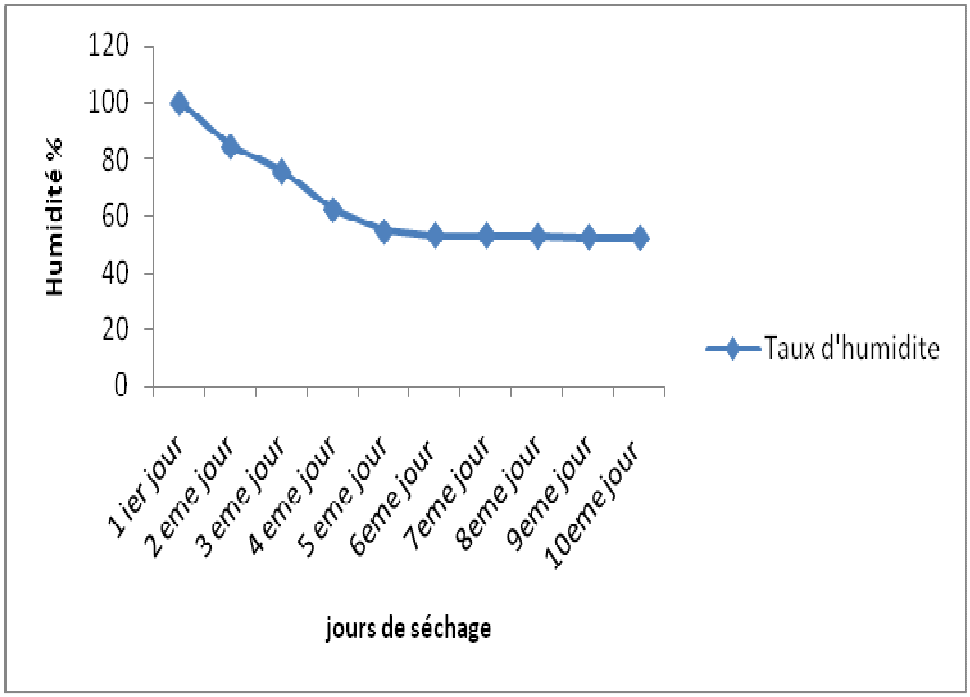


Figure N° 20 : Évolution de la teneur en eau des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis*

Au cours du séchage L'analyse de la figure n°20 montre qu'au cours de séchage, la teneur en eau diminue progressivement puis devient pratiquement constante pratiquement constant à la fin de la période de séchage. Ainsi, elle passe pour le séchage de 100 à 0,006 %. Sur ce graphique on reconnaît deux phases :

- La phase I : du début du séchage jusqu'au cinquième jour;

- La phase II : du cinquième jour jusqu'au dixième jour.

Le niveau d'humidité souhaitable pour que la concentration en huiles essentielles soit à son maximum, Il serait d'environ 10 %.

3.2.2. Effet de séchage sur la teneur en huiles essentielles

Les résultats obtenus de l'évolution de la teneur en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis* au cours du séchage sont présentés dans la figure N° 21.

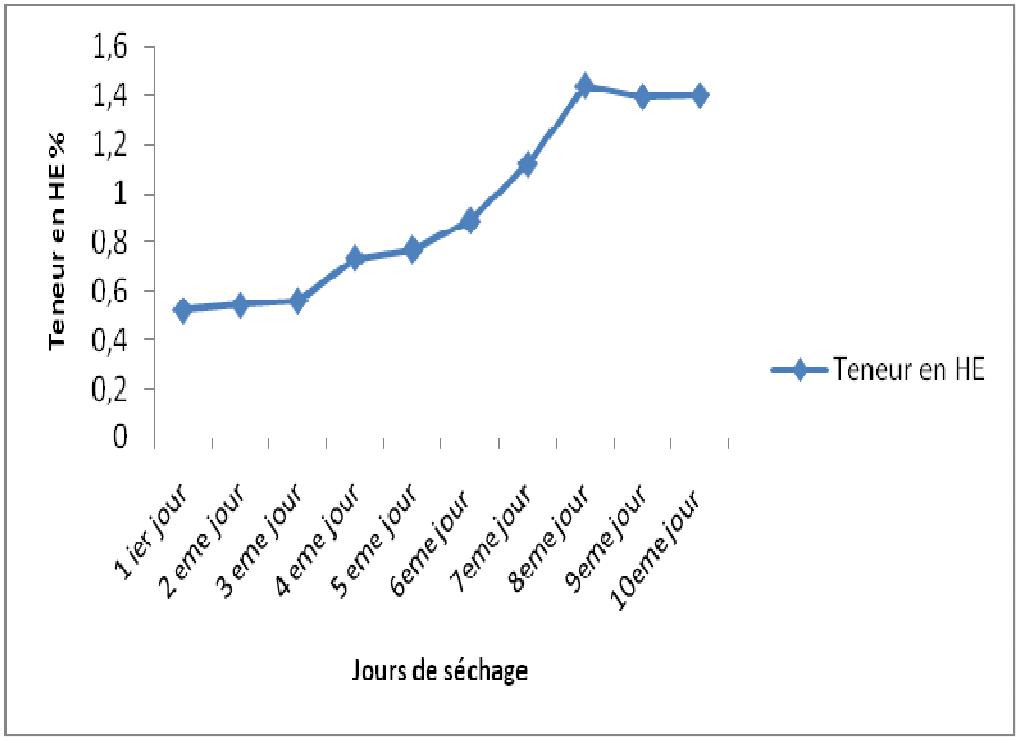


Figure N° 21 : Évolution de la teneur en huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camendulensis* au cours du séchage

La figure N° 21 représente la variation de la teneur en huiles essentielles en fonction du temps du séchage. La concentration en huiles essentielles augmente en fonction des jours de séchage, puis elle chute pour tendre à se stabiliser à la fin du séchage. L'augmentation de la teneur en huiles essentielles pendant les premiers jours de séchage est proportionnelle à la diminution du taux d'humidité.

Le maximum de la teneur en huiles essentielles est obtenu au huitième jour, dont la valeur enregistrée est de 1,43 % ± 0,01 %. Nous constatons donc que le rendement en huiles essentielles varie avec la durée de séchage.

La variation de la teneur en huiles essentielles des feuilles de *Eucalyptus camendulensis* avant la distillation en fonction de la duré de séchage est similaire à ce qui a été trouvé pour plusieurs autres espèces aromatiques, telles que l'*Eucalyptus camaldulensis* (ZRIRA *et al*., 1992), la verveine (EDDAAOUIRI *et al*., 1993), l'ammivisnaga (ISMAILI ALAOUI *et al*., 1995) et le romarin (ELAMRANI *et al*., 1995).

L'augmentation de la concentration en huiles essentielles exprimée en poids de matière sèche pendant les premiers jours de séchage s'expliquerait par une activité physiologique importante.

La biosynthèse des huiles essentielles continue et s'accélère après la récolte du matériel végétal en réponse au stress hydrique. Sa diminution après sept et neuf jours respectivement de séchage serait due à la réduction ou l'arrêt de l'activité enzymatique causant la mort des cellules suite à une forte déshydratation.

Les résultats concernant l'effet du séchage sur la qualité chimique des huiles essentielles des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* sont comparables avec ceux trouvés pour l'*Eucalyptus camaldulensis* du Maroc.

Pour une exploitation industrielle, il convient donc d'extraire l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* environ une semaine après leur récolte, puisque la teneur en huiles essentielles est à son maximum. Au delà de cette période, elles perdent quantitativement leurs huiles essentielles.

3.3. Étude analytique de l’huile essentielle

3.3.1. Caractéristiques organoleptiques

L’huile essentielle obtenue par hydrodistillation du matériel végétal d’*Eucalyptus camendulensis* est de couleur jaune. Elle présente une odeur très forte, pénétrante et prononcée fraîche, caractéristique de l'eucalyptol (1,8-cinéole). Quand à l’HA, d’aspect transparent, il a une odeur moins prononcée.

Photo N° **13:** Huile essentielle d’*Eucalyptus camendulensis*

Les paramètres organoleptiques de l’HE sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (Tableau N° 03).

Tableau N° 03 : Caractéristiques organoleptiques

Caractéristiques organoleptiques	***Aspect***	***Couleur***	***Odeur***
L'AFNOR	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins Eucalyptolée selon l'origine
Huile essentielle étudiée	Liquide, limpide	Jaune claire	Fraîche Eucalyptolée

3.4. Caractéristiques physico-chimiques

Les constantes physico-chimiques de l'HE ont été déterminées selon des méthodes normalisées. Les résultats de ces mesures sont regroupés dans le tableau suivant N° 04.

Tableau N° 04: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE.

	Paramètres physico-chimiques			
	Indice d'Acide	Densité à 20°C	Indice de Réfraction à 20°C	pH
Résultats obtenus	1,176	0.9035	1.4769	6
Normes AFNOR	0.84 - 3.74	0,9060 - 0,9250	1,460 - 1,4760	4 – 6

Nous remarquons que les paramètres physico-chimiques de l'HE sont en accord avec qui sont mentionnés par les normes.

Pour les constantes chimiques, l'indice d'acide (IA) donne une idée sur le taux d'acides libres (KANKO *et al*., 2004). Un IA inférieur à 2 est une preuve de bonne conservation de l'HE, Cet indice est certes dans les normes, Inversement a un IA demeure relativement élevé.

L'indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés (KOBA *et al*., 2003). Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé ce qui est le cas de l'HE de notre étude.

Plusieurs études ont démontré que les paramètres physico-chimiques des HE sont influencés par les conditions édaphiques et climatiques, selon SINGH *et al* en 1989, ont montré que l'indice d'acide pour l'Eucalyptus (Inde) à des valeurs plus faible que ceux calculé dans ce travail qui est de : 0,09. Par contre les autre indices sont en conformité aux normes, dont : la densité à 20°C est de 0,9642 et l'indice de réfraction enregistre une valeur de 1,4648.

En revanche, BOUFERKAS *et al* en 1996, ont enregistré une valeur d'indice d'acide élevée a celle des normes qui de 4,2075. Par contre, ont obtenu des valeurs des indices physiques (densité, indice de réfraction) qui se situent dans l'intervalle des valeurs obtenues dans les normes, qui sont respectivement : 0,9245 et 1,4911.

Vu le nombre important de paramètres pouvant intervenir dans la composition de huile essentielle, qu'il soit d'ordre naturel, ayant une origine intrinsèque (génétique, localisation etc.…), ou extrinsèque (sol, climat, etc...) ou d'ordre technologique, c'est-à-dire lié au mode d'extraction. Les rendements et les indices physico-chimiques ne sont qu'une première caractérisation des essences Algériennes et une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser l'HE. Il sera primordial de déterminer le profil chromatographique de l'HE.

3.5. Analyses chromatographiques de la fraction aromatique

Les analayses chromatographiques en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) ont été effectué au laboratoire de chimie analytique université de Catalonia sont extraites de la plante *Eucalyptus camendulensis* dans des conditions opératoires suivantes :

- **Injecteur**

  Température : 250°C

  Mode d'injection : Split

  Volume injecté : 0,2µl

- **Colonne**

  Type : hp-5MS

  Dimension : long 30 m, D int 0,25 mm, épaisseur film 0,25µm

  Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane.

  Température du four : 50°C pendant 8 mn, polier 2°C/mn jusqu'a 250°C.

  Gaz vecteur (GV) : Hélium pureté : N 6

  Débit Gaz vecteur (GV) : 0,5 ml/min

- **Détecteur de masse**

  Mode d'analyse : Scan (de34 à 450)

Solvant utilisé : Heptane

Délai du solvant : 3min

Température de l'interface : 280°C

Type d'ionisation : impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôle

Température du Quadripôle : 150°C

Température de la source : 230°C

3.5.1. Composition chimique d'huile essentielle

Les résultats de l'analyse par GC/MS de la Composition chimique d'huile essentielle d'*Eucalytus camendulensis* sont présentés dans le tableau suivant N° 05.

TableauN° 05 : Composition chimique d'huile essentielle

N°	TR	Quantité (%)	Composés	CAS
01	14.12	0.38	2,4(10)- thujadien	000000-00-0
02	14.72	0.03	Verbenene	000000-00-0
03	16.17	0.46	Sabinene	003387-41-5
04	16.29	0.23	Bicyclo[3.1.1]heptane	018172-67-3
05	17.64	0.71	Beta-myrcene	000123-35-3
06	18.45	0.82	1-phellandrene	000099-83-2
07	18.84	0.21	Delta.3-carene	013466-78-9
08	19.40	0.44	Alpha.terpinene	000099-86-5
09	22.04	0.09	1,3,6-octatriene	003779-61-1
10	22.71	0.70	Gamma-terpinene	000099-85-4
11	23.36	0.03	Trans sabinene hydrate	017699-16-0
12	23.63	0.02	6-hydroxy-hexan-2-one	000000-00-0
13	24.80	0.21	Alpha-terpinolene	000586-62-9
14	24.93	0.17	Benzene,1-methyl-4(1methylethen)	026444-18-8
15	25.68	0.03	Alloocimene	000673-84-7
16	26.06	0.83	1,6-octadien-3-ol	000078-70-6
17	26.25	0.03	1-methoxy3(2hydroxyethyl)nonane	000000-00-0
18	26.33	0.07	Phytol	000150-86-7
19	26.70	0.06	Cyclohexene	001453-24-3
20	26.93	0.26	Beta-thujone	000471-15-8
21	27.41	0.58	p-menth-2-en-1-ol	000000-00-0

23	27.64	0.13	2,3,3-trimethyl-3-cyclopentene	000000-00-0
24	28.23	0.04	Cyclobutene	003642-14-6
25	28.59	0.19	Cyclohexene	003983-08-2
26	28.62	0.03	Cyclohexene	003983-08-2
27	28.82	0.69	1-terpineol	000586-82-3
28	29.33	0.55	Cyclohexanol	004621-04-9
29	29.47	0.35	Cyclobutane	001528-22-9
30	29.80	0.08	Benzenemethanol	000100-51-6
31	30.01	0.27	4- isopropylcyclohexanone	005432-85-9
32	30.26	0.11	Bicyclo[2,2,1]heptan-3-one	016812-40-1
33	30.70	0.13	2,4- hexadiene	000764-13-6
34	30.99	0.11	2,4- hexadiene	000764-13-6
35	31.20	0.08	2,6-dimethyl-1,3,6-heptatriene	000928-67-6
36	32.92	0.28	2-cyclohexen-1-ol	016721-38-3
37	33.36	0.09	Bicyclo[3,1,0] hexan-3-ol	003310-02-9
38	33.81	0.30	Piperitol isomer II	000000-00-0
39	34.13	0.15	Acetic acid	000103-09-3
40	34.78	0.06	Trans-carveol	001197-07-5
41	35.43	0.04	bicyclo[5,1,0]octane	054166-47-1
42	36.29	0.37	Phenol,4-(1-methylethyl)-	000099-89-8
43	36.58	0.07	Phenol,3-(1-methylethyl)	000618-45-1
44	36.95	0.36	2-Cyclohexen-1-one	000089-81-6
45	37.68	0.05	8-Acetyl-3,3-epoxymethano-6,6,7tr	091186-43-5
46	38.95	0.17	Alpha-Thujenal	000000-00-0

47	39.80	0.58	Benzenmethanol	000536-60-7
48	40.04	0.20	Benzenmethanol,4(1-methylethyl)	000536-60-7
49	40.44	0.09	Phenol,5-methyl-2-(1methylethyl)	000089-83-8
50	41.36	0.11	4-Hydroxy-3-methylacetophenone	000876-02-8
51	42.46	0.10	2-Amino-4-methyl-3-pyridinol	000000-00-0
52	42.62	0.03	1H-Indene	056324-70-0
53	43.30	0.06	Bicyclo[2.2.1]hept-2-ene	000464-17-5
54	44.40	0.04	LAVANDULYL ACETATE	025905-14-0
55	45.66	0.03	2,6- Octadien-1-ol	016409-44-2
56	45.91	0.06	Beta-elemene	000515-13-9
57	47.55	0.08	Trans-caryophyllene	000087-44-5
58	48.53	0.13	Gamma-Elemene	003242-08-8
59	48.76	0.10	1H-Cycloprop[e]azulene	000489-39-4
60	49.71	0.05	DEHYDROAROMADENDRENE	000000-00-0
61	50.13	0.45	1H-Cycloprop[e]azulene	025246-27-9
62	51.39	0.06	Germacrene D	023986-74-5
63	51.68	0.03	Ledene	021747-46-6
64	51.87	0.37	Naphthalene	021693-54-9
65	52.13	0.14	1H-Indole,2,3-dihydro-1,3,3-trime	000118-12-7
66	52.34	0.16	Bicyclogermacrene	100762-46-7
66	53.99	0.03	Delta- Cadinene	000483-76-1
67	54.30	0.10	1,3- Benzodioxole	000607-91-0
68	55.01	0.02	(3E,5E,8Z)-3,7,11-Trimethyl-1,3,5 Globulol	073368-16-8
69	55.68	0.02	Humulen	000000-00-0

70	55.89	0.35	Germacrene B (CAS)	015423-57-1
71	56.27	0.47	Alloaromadendrene	025246-27-9
72	56.55	0.14	Ledene	021747-46-6
73	56.85	0.09	(Z)-4-2’,6’,6’-Trimethyl-2’-cycloh	093175-79-2
74	57.02	0.12	(+)-trans- Isolimonene	005113-87-1
75	57.83	0.84	(+) spathulenol	077171-55-2
76	58.45	0.43	Veridiflorol	000552-02-3
77	58.66	0.33	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol	006750-60-3
78	58.93	0.71	Ledol	000577-27-5
79	59.31	0.74	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol	006750-60-3
80	59.55	0.05	2,6,9,11- Dodecatetraenal	017909-77-2
81	59.56	0.08	Cyclohexane	000515-13-9
82	59.90	0.10	1- cycloheptene	000000-00-0
83	60.26	0.18	1 S-CIS-CALAMENENE	000483-77-2
84	60.38	0.02	Isocaryophyllen	000118-65-0
85	60.82	0.38	Isospayhulenol	000000-00-0
86	60.96	0.24	Alpha-Amorphene	023515-88-0
87	61.40	0.34	3,4-Nonadien-6-yne	061227-88-1
88	61.69	0.62	t-Muurolol	019912-62-0
89	62.11	0.24	7-amino-3-methylpyrimido(4,5-c)pyr	074482-47-6
90	62.52	0.33	Ledene	021747-46-6
91	65.08	0.15	5.alpha-Hydroxy-4.alpha.,8,10,11-isospathulenol	000000-00-0
92	65.34	0.09	Pentacyclo	000000-00-0
93	66.50	0.06	Ledene oxide- (II)	000000-00-0

94	67.13	0.47	Lepidozenal	074033-93-5
95	67.53	0.09	Megastigma-4,6(Z),8 (E) –triene	051468-85-0
96	74.22	0.03	Trans-2-methyl-5-(1-methylethenyl)	099495-37-1

Au total, 120 composés ont été identifiés dans l'huile essentielle de *Eucalyptus camendulensis* ce qui correspond à un pourcentage de 94,179 % par rapport à l'ensemble des constituants isolés.

3.5.2. Classes biochimiques des composés identifiées dans l'HE

Les résultats de l'analyse de differentes classes biochimiques identifiant dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* par la chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) sont présentés dans le graphe suivant N° 22.

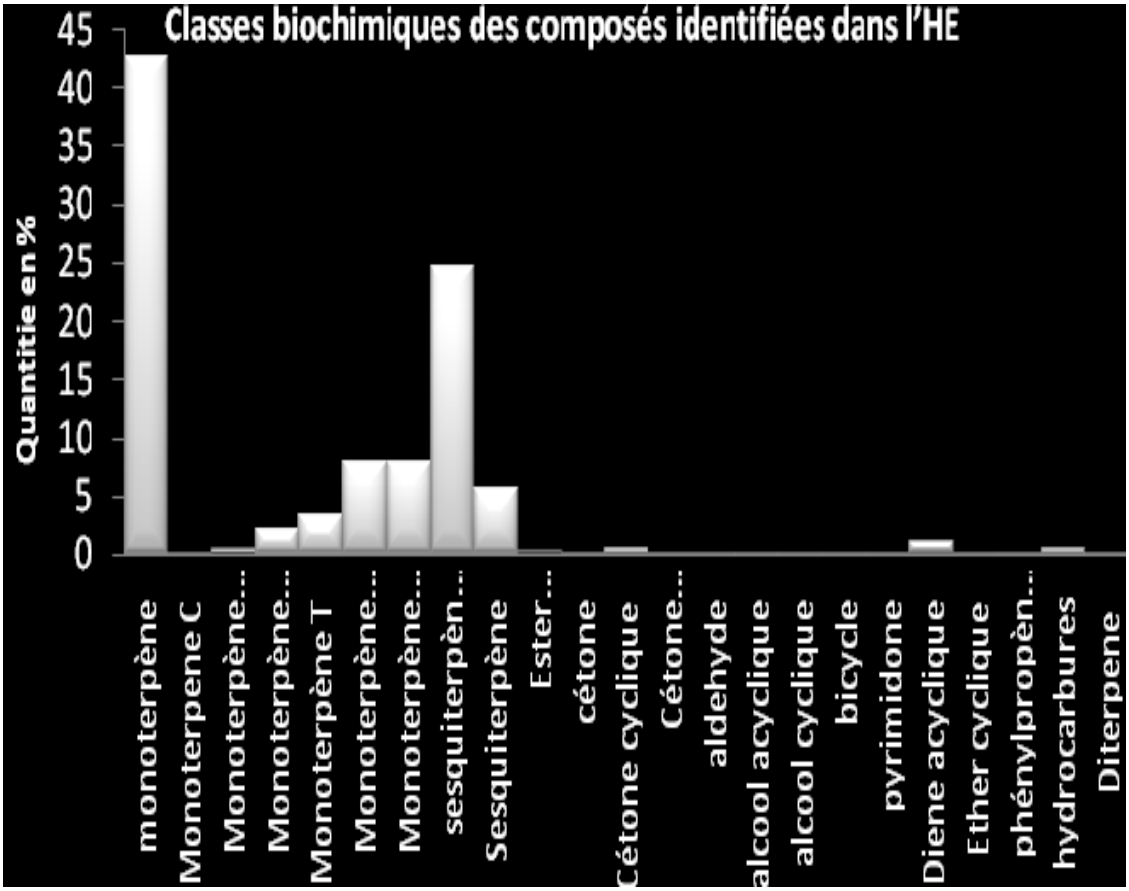


Figure N ° **22 :** Classes biochimiques des composés identifiées dans l'huile essentielle d'*Eucalyptus Camendulensis*

Les résultats de l'analyse par CG/SM de differentes classes biochimiques identifiantes de l'HE d'*Eucalyptus camendulensis* sont présentés dans le tableau suivant N° 6 Les composés majoritaires sont listés suivant l'ordre de prédominance.

Tableau N° 06: Classes biochimiques des composés identifiées dans l'HE.

Classes chimiques	Quantities (%)
Monoterpène	42.57
Sesquiterpène alcollique	24.69
Monoterpène Alcoolique	7.83
Ether	4.13
Monoterpène cétonique	3.35
Monoterpène aldehyde	2.18
Diene acyclique	1.08
Hydrocarbures aromatiques polycycliques	0.45
Ether cyclique	0.13
Diterpene	0.07
Phénylpropènes	0.10
Pyrimidone	0.10
Aldehyde	0.13
Alcool	0.07
Cétone	0.11
Cétone acyclique	0.02

D'aprés le graphe N° 22 et le tableau N° 06 qui représente les classes biochimiques nous constatons que l'huile essentielle d'Eucalyptus camendulensis est composée essentiellement de monoterpène (43%). Les Sesquiterpène alcollique forment un pool à moins de 25% suivis des Monoterpène Alcoolique (7%). Les Sesquiterpène sont à un taux assez important (6%).

Enfin, les composés minoritaires appartiennent à la famille des Phénylpropènes, Ether cyclique, Pyrimidone, Alcool acyclique, alcool cyclique, Aldehyde, Ester carboxylique et Cétone.

3.5.3. Composition chimique majoritaire d'huile essentielle

Les résultats de l'analyse par GC/MS de la Composition chimique majoritaire d'huile essentielle d'*Eucalytus camendulensis* sont présentés dans le tableau N°07. Les composés majoritaires sont listés suivant l'ordre de prédominance.

Tableau N° 07 : Composés majoritaires d'*Eucalyptus camendulensis*

N°	TR	Quantité (%)	Composés	Formule	Cas
01	12.94	1.24	Thujene	$C_{10}H_{16}$	002867-05-2
02	13.42	2.73	Alfa- pinene	$C_{10}H_{16}$	000080-56-8
03	20.42	9.91	Benzene,1-methyl-2-(1-methylethyl)	$C_{10}H_{14}$	000527-84-4
04	20.89	19.96	Benzene,1-methyl-2-(1-methylethyl)	$C_{10}H_{14}$	000527-84-4
05	21.02	4.36	Sabinene, Bicyclo[3,1,0]hexan	$C_{10}H_{16}$	003387-41-5
06	21.09	1.77	1,8-cineole	$C_{10}H_{18}O$	000470-82-6
07	31.67	3.02	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-m	$C_{10}H_{18}O$	020126-76-5
08	32.47	4.13	2-cyclohexen-1-one, 4-(1-methyleth	$C_9H_{14}O$	000500-02-7
09	32.72	1.19	Alpha. TERPINEOL	$C_{10}H_{18}O$	000098-55-5
10	36.15	2.88	Benzaldehyde, 4-(1- methylethyl)	$C_{10}H_{12}O$	000122-03-2
11	38.44	1.96	PHELLANDRAL	$C_{10}H_{16}O$	023963-70-4
12	40.94	1.03	Phenol, 2-methyl-5-(1- methylethyl)	$C_{10}H_{14}O$	000499-75-2
13	57.66	6.22	(-)- spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
14	57.76	2.17	(-)- Allospathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
15	57.80	1.04	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
16	57.89	1.41	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2

17	57.95	2.03	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
18	57.99	1.34	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
19	58.04	1.73	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
20	58.11	3.28	(+) spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	077171-55-2
21	58.24	1.50	Bicyclo[7,2,0]undec-4-ene	$C_{15}H_{24}$	000118-65-0
23	66.05	1.34	LONGIPINOCARVONE	$C_{15}H_{22}O$	000000-00-0

Les compositions chimiques majoritaires de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* est représenté dans le graphe suivant N° 23

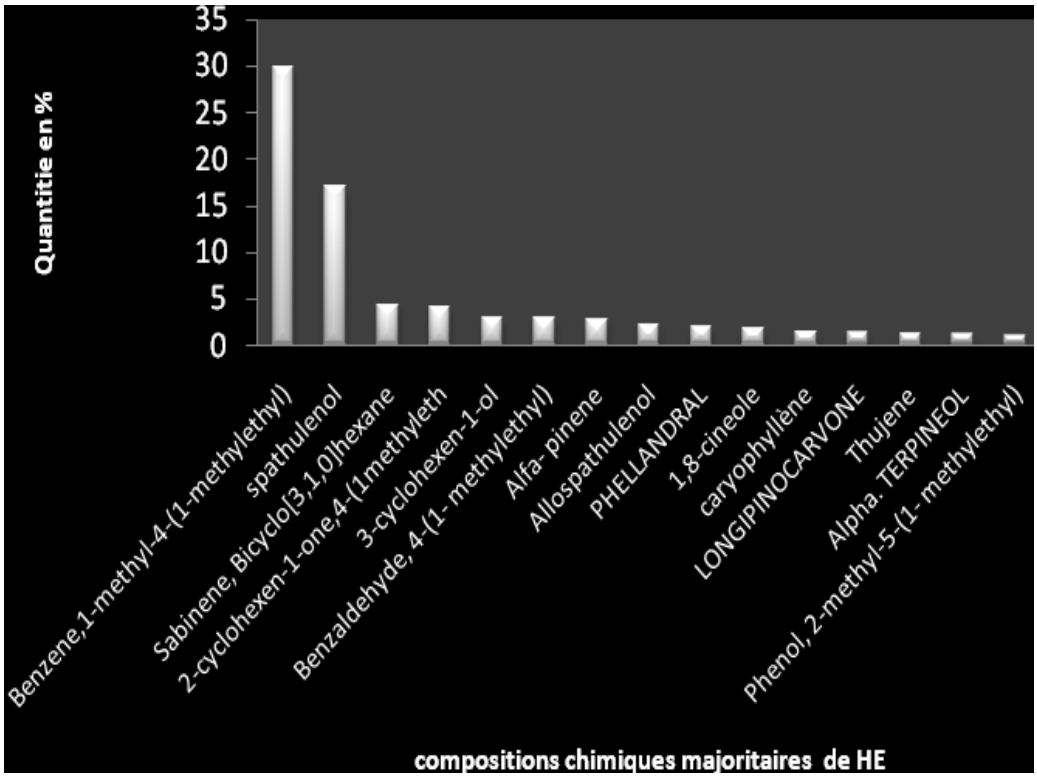


Figure N° 23 : compositions chimiques majoritaires d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*

Le Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl) apparaît comme le constituant majoritaire de l'HE (19.96%), suivi du (+) spathulenol (17,05%), du Sabinene,

Bicyclo [3,1,0] hexane (4.36%), du 2-cyclohexen-1-one,4-(1methyleth (4.13%) et de 3-cyclohexen-1-ol (3.02). Par contre le 1,8-cineole représente un taux de 1.77%.

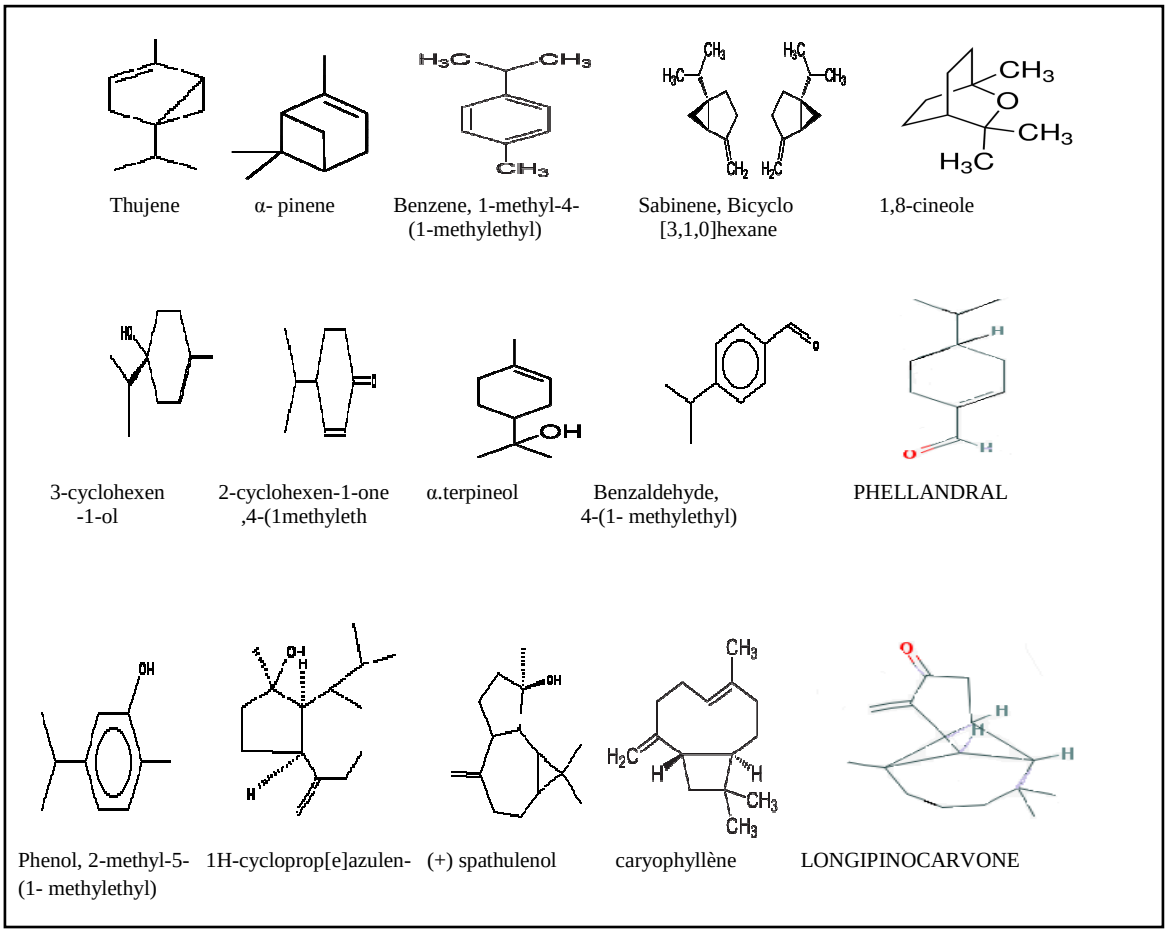


Figure N° 24: Structure chimique des compositions majoritaires d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*

Cette HE est composé essentiellement de monoterpène (42.57%). Les Sesquiterpène alcollique forment un pool à moins de 24.69% suivis des Monoterpène Alcoolique (7.83%) puis les sesquiterpène (5.69 %). Les Ether sont à un taux assez important (4.13%) mais constituées uniquement de 2-cyclohexen-1-one, 4-(1-methyleth. Le monoterpène cétonique représente un taux de (3.35%), en outre les Monoterpène aldehyde (2.18%).

Enfin, les composés minoritaires appartiennent à la famille des Ester carboxylique, Cétone, aldéhydes et alcools, Pyrimidone, Phénylpropènes, hydrocarbures et Diterpene.

Le profil chromatographique de la plante aromatique étudiée (graphe 3.6) montre que son HE possède tous les constituants nécessaires pour faire d'elle un "chémotype Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl)". L'HE est marquée par un taux de Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl) plus important.

Les chromatographes suivants (Figure 11.12) permettent de constater les différences entre les différentes compositions chimiques de l'HE d'*Eucalyptus camendulensis*.

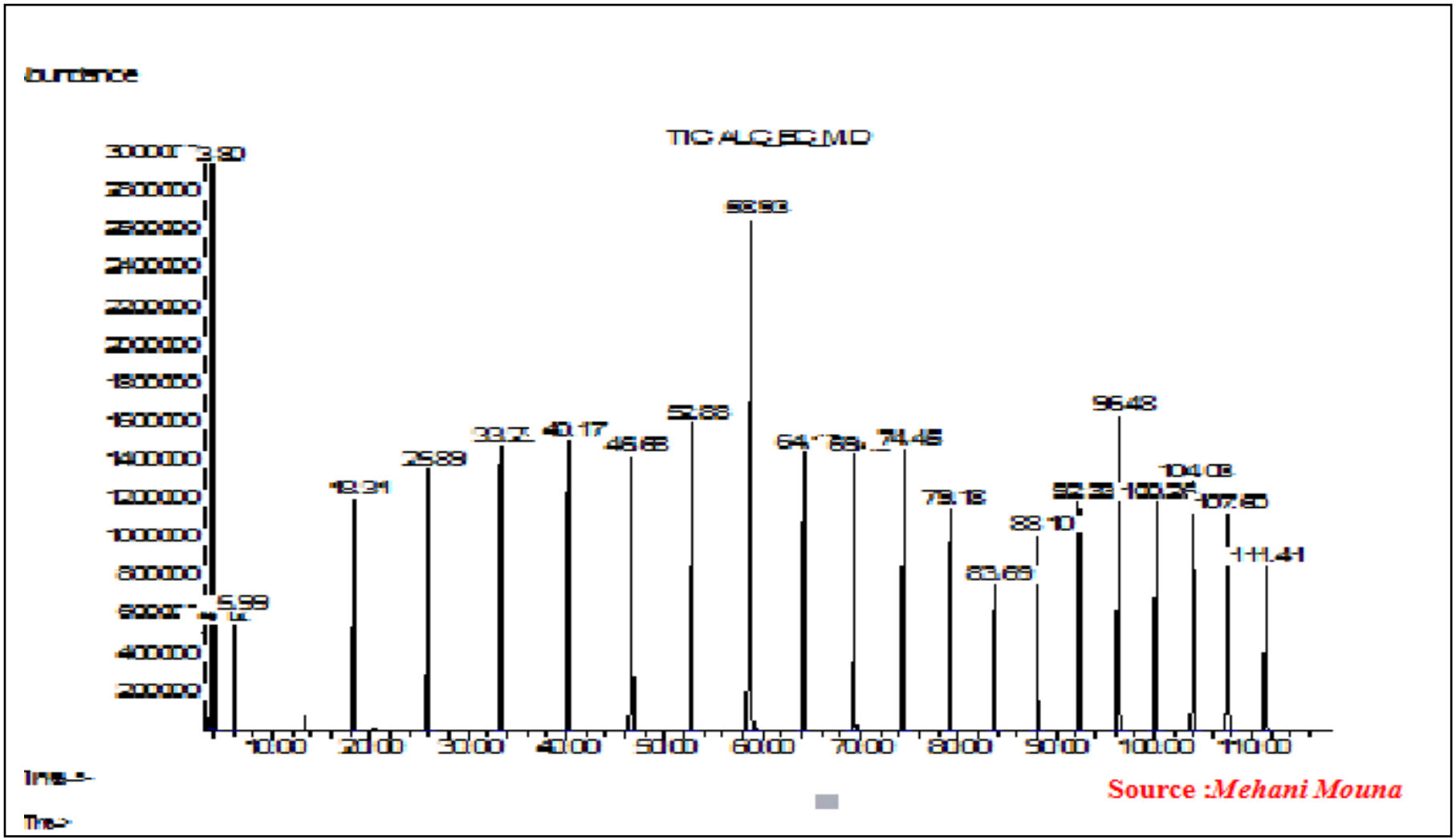


Figure N° 25: Chromatogramme Mélange d'alcanes C_7-C_{28}

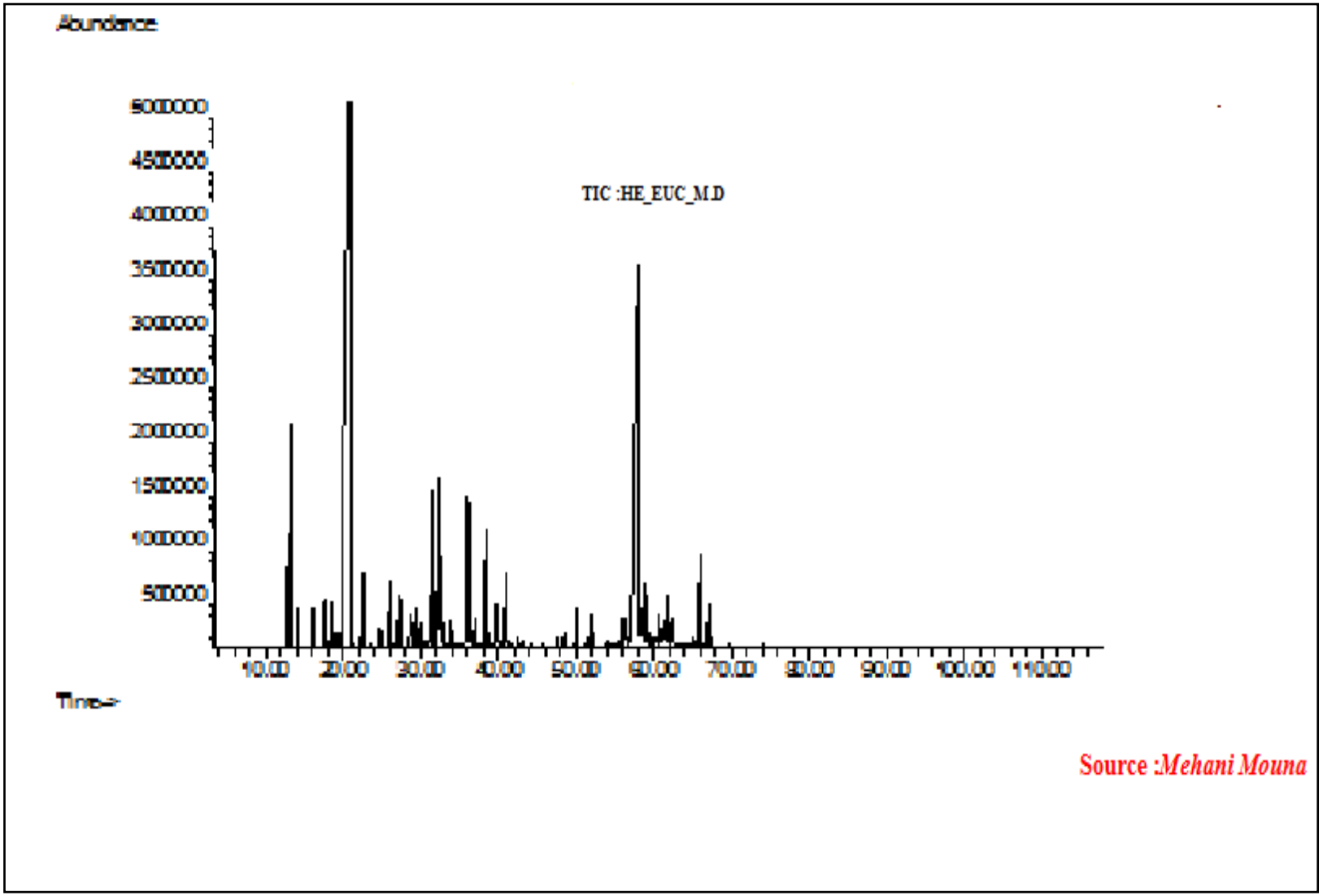


Figure N° 26: Chromatogramme Huile essentielle d'Eucalyptus camendulensis

Les compositions chimiques des huiles de feuilles de diverses Espèces d'eucalyptus ont été signalées par SINGH *et al* (2000), Le composant principal était 1,8 cinéole, mais un principal contributeur à la bioactivité est le α-terpinéol, qui présente une activité de huit fois supérieures à 1,8 cinéole contre S. aureus. Le 1,8-cinéole n'avait pas été déclarée en tant que principe actif dans d'autres huiles d'Eucalyptus (INOUYE *et al*., 2001).

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Ben MARZOUG *et al* (2011) qui ont examiné la composition chimique des huiles essentielles d'Eucalyptus collectées de la region du Sud de la Tunisie. Ils ont trouvé 83 constituants avec une prédominance de γ-eudesmol (25%), Spathulenol (16.1%), p-cymene (10.6%), 1,8-cineole (8.7%), p-cymen-8-ol (4.4%), cis-sabinol (4.2%), p-cymen-7-ol (4.0%) and verbenone (3.7%). Avec une dominance des sesqueterpéniques (44.3%) et la présence des monoterpènes (28.7%).

BEN MERZOUG *et al* (2011) ont comparé La composition chimique de l'huile essentielle de feuilles d'*Eucalyptus* cultivées dans le Sud de la Tunisie et recueillies en automne avec l'Eucalyptus collectés en Mars 2007 (Printemps). Ils ont noté une importante variation. α-pinène (21,8%), le 1,8-cinéole (41,2%), trans-pinocarveol (5,7%), le p-cymène (3,3%), limonène (3,1%) et γ-eudesmol (5,3%) étaient les principaux composés de feuilles de l'automne collection de Eucalyptus, tandis que les principaux composés de feuilles ressort adultes étaient spathulenol (16,1%) et γ-eudesmol (15,0%). Le pourcentage d'α-pinène et le 1,8-cinéol contenu dans les feuilles adultes de Eucalyptus était inférieur à celui des feuilles collectées en Octobre 2007. Spathulenol n'a pas été trouvé dans l'huile essentielle d'Eucalyptus. récolté en automne. En outre, le pourcentage de γ-eudesmol (5,3%) contenu dans l'huile essentielle de feuilles *E. oleosa* recueilli en Octobre 2007 est inférieur aux feuilles adultes.

Par contre ELAISSI *et al* (2007), ont noté que la composition chimique d'Eucalyptus cultivé dans le centre de la Tunisie est prédominante par 1,8-cineole (26.1%), α-Pinène (12.3%) et limonène (12.1%).

L'huile essentielle d'Eucalyptus de l'Ouest de l'Australie a été rapportée par BARTON *et al* (1989), ont trouvé qu'ils contiennent le α-pinène (2%), le p-cymène (2,5%), le 1,8-cinéole (75,5%). Une différence remarquable à également été trouvée entre notre travail et celui de Barton *et al*.

L'huile essentielle d'Eucalyptus Australien a montré un pourcentage plus élevé de monoterpènes oxygénés, principalement en raison de la proportion importante de 1,8-cinéole (75,5%). Sesquiterpènes oxygénés sont prédominants dans l'huile essentielle, en raison des proportions remarquables de spathulenol (16,1%) et γ-eudesmol (15,0%).

D'après ces résultats, on remarque que la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Eucalyptus camendulensis* cultivée à Ouargla est différente de celle obtenue dans de nombreux travaux sur la même espèce dans les différentes régions dans le monde, avec une prédominance des composés monoterpéniques dans la plupart des cas mais à des proportions différentes.

Ces différences qualitatives et quantitatives dans la composition chimique des huiles essentielles peuvent être attribuées à plusieurs facteurs tels que la situation géographique, les effets climatiques des plantes, la saison de la récolte, de la nature du sol, de l'âge des parties de plantes (jeunes ou adultes), l'état du matériel végétal utilisé (fraîches ou séchées), la partie de la plante utilisée, le temps de collecte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction.

Par ailleurs, SILOU *et al* (2002) et ROGER *et al* (2007), travaillant respectivement sur les feuilles d'*Eucalyptus citriodora* et les feuilles d'*Ocimum basilicum* L., ont rapporté que le séchage a nettement influencé la composition chimique des huiles essentielles de ces espèces surtout les composés majoritaires.

3.6. Activité antimicrobienne de la fraction aromatique

L'étude du pouvoir antibactérien des extraits d'*Eucalyptus camadulensis* par la méthode de diffusion sur gélose ou la méthode du disque absorbant. La mesure du diamètre des zones d'inhibition y compris le disque (6 mm) permettent de déterminer cette activité antimicrobienne de cette plante in vitro.

Tableau N° 08: Activité antimicrobienne des HE et HA d'*Eucalyptus camendulensis*

Souches microbiennes	Aromatogramme HE (cm)	Aromatogramme HA (cm)
Proteus microsilis	1,3	1,2
Enterococcus feacalis	1,4	0,83
Enterobacter cloaceai	1,55	0,97
Klebsiella pneumoniae	0,8	0,9
Pseudomonas aeruginosa	0,55	1,1
Escherichia coli	1,45	0,73

La figure suivante N° 27 indique les résultats issus de l'activité antimicrobienne de l'HE et de l'HA (méthode classique de diffusion) de la plante Eucalyptus sur les souches bactériennes *Proteus microsilis, Enterococcus feacalis, Enterobacter cloaceai, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

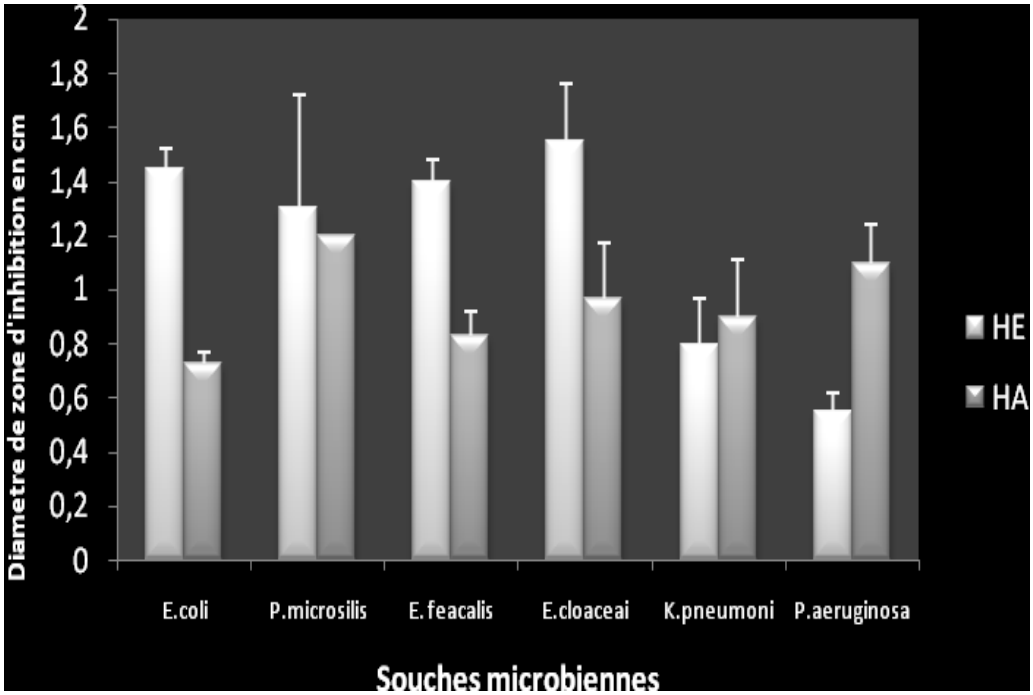


Figure N° 27 : Activité antimicrobienne des HE et HA

d'*Eucalyptus camendulensis*

L'HE présente *in vitro* une activité inhibitrice sur les germes testés. Cependant, les microorganismes étudiés n'ont pas manifesté de la même sensibilité vis-à-vis de l'HA.

En prenant en considération les diamètres d'inhibition, l'HE est active sur *E.coli, P.microsilis, E. feacalis* et *E.cloaceai* avec respectivement une surface d'inhibition de 1,45, 1,3, 1,4 et 1,55 cm. Au contraire, elle est moins active vis-à-vis de *K.pneumoni* et *P.aeruginosa* (0,8 et 0,55 cm).

Au contraire chez *P.aeruginosa* et *P.microsilis* ont montré une sensibilité vis à vis de l'HA avec des valeurs égale à 1,1 et 1,2 cm. En outre, *E.coli*, *E.feacalis*, *E.cloaceai* et *K.pneumoni* marquent des valeurs proches avec une zone d'inhibition respectivement égale à 0,73, 0,83, 0,97 et 0,9 cm et ces huiles essentielles n'ont pas une grande action inhibitrice sur les souches (peu sensible) sur d'*Eucalyptus*.

Des résultats similaires ont été rapportés par ALITONOU *et al* (2004). Ils montrent que l'huile essentielle d'*Eucalyptus tereticornis* Sm.a, un assez large pouvoir inhibiteur à l'égard des micro-organismes étudiés; aussi SOHOUNHLOUE *et al* (1999) ont montré que les huiles essentielles de *Clausena anisata*, *Eucalyptus camadulensis* et *Ocimum basilicum* ont une activité biologique sur les micro-organismes.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par : KESBI *et al* en 2011 qui a démontré que L'Eucalyptus est doué d'une activité biologique efficace sur les microorganismes.

3.6.1. Détermination des CMI

Avant d'utiliser une molécule antibactérienne comme conservateur dans un aliment, la concentration minimale inhibitrice (CMI) doit être estimée. Il est intolérable quand les doses antibactériennes efficaces dépassent les niveaux acceptables organoleptiques. Par conséquent, ces concentrations sont mesurées dans le but de définir les frontières de l'acceptabilité sensorielle et l'efficacité antibactérienne des huile essentielle (TIWARI *et al*., 2009).

Malgré l'existence des zones d'inhibition, relativement sensible, nos résultats prouvent l'existence d'activité antibactérienne contre les six souches testés, qui sont des microbes pathogènes impliqués dans les intoxications alimentaires. Donc, il est intéressant d'estimer les CMI.

Les valeurs de CMI de l'huile essentielle extraite d'Eucalyptus sont déterminées par la méthode de dilution d'agar, elles sont présentées dans le tableau suivant N°09.

Tableau N° 09 : Intervalles de CMI (concentration minimale inhibitrice)

Les souches utilisées	**CMI**
Enterobacter cloaceai	0.210 < CMI < 0.421 ug/ml
Proteus microsilis	1.687 < CMI < 3.375 ug/ml
Enterococcus faecalis	0.105 < CMI < 0.525 ug/ml
Klebseilla pneumoni	0.421 < CMI < 0.843 ug/ml
Escherichia coli	CMI < 0 .0525 ug/ml

D'après ces résultats, on constate que plus la concentration de l'huile essentielle augmente plus le développement des germes s'affaiblit, tel que le montre le cas de la concentration de 3,375 ug/ml d'huile essentielle d'Eucalyptus, ou la souche *Proteus microsilis* est presque la seul qui a pu se développer dans cette concentration. Par contre les autres souches pour cette concentration de 3,375ug/ml on remarque que ont été inhibé par cette huile essentielle.

Enfin pour le cas de la concentration 6,75 ug/ml, on ne remarque aucun développement des germes car cette concentration est trop élevée par rapport autres concentrations.

Nous constatons que *Enterococcus faecalis* est une bactérie plus sensibles, avec un intervalle de CMI égale à 0.105 < CMI < 0.525 ug/ml. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à G^+ possèdent des dispositifs structuraux qui sont plus susceptibles aux huiles essentielles (ABDUL RAHMAN *et al*., 2010).

Dans la présente étude, les bactéries à Gram négatif *Proteus microsilis* se sont avérées les plus résistantes, elles montrent des valeurs de CMI trop élevées équivalentes à 3.375 ug/ml. Plusieurs travaux notamment ceux de OUATTARA *et al*. (1997); HAMMER *et al*. (1999); DE BILLERBECK *et al*., (2002); SOUZA *et al*. (2006a); AHMAD *et al*. (2006b); AGAOGLU *et al*. (2007); DERWICH *et al*. (2010) et BAR *et al*. (2010) ont confirmé la grande résistante des bactéries G^- par rapport aux G^+. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatiles de l''huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G^- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (INOUYE *et al*., 2001; BAGAMBOULA *et al*., 2004 ; UPADHYAY *et al*., 2010).

E. coli ATCC 25922 s'est avérée sensible par la méthode de dilution, malgré qu'elle est Gram négatif. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries G^- et G^+ (DORMAN et DEANS, 2000) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèque et extrinsèque (LAHLOU, 2004). Il est connu aussi que les espèces bactériennes n'ont pas également la même sensibilité vis-à-vis d'un agent antibactérien.

De même dans une population bactérienne, il peut exister des différences individuelles de sensibilité. Ainsi, l'action antibactérienne est parfois partielle et après une diminution du nombre de bactéries, il y'a une reprise de la croissance bactérienne.

La plus petite CMI de l'huile essentielle d'Eucalyptus est celle constatée chez E. coli ATCC 25922 (0.0525 µg/ml).

Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l'activité antibactérienne est en fonction de la bactérie, ce qui confirme que le type de microorganismes est un paramètre important déterminant l'activité antibactérienne.

Nos résultats concordent avec ceux de plusieurs auteurs notamment FRIEDMAN *et al*. (2002), LO CANTORE *et al*. (2004) et AGAOGLU *et al*. (2007) qui ont trouvé une faible activité. En revanche, ils s'opposent aux résultats de SINGH *et al*. (2002); OZKAN *et al*. (2003); DADALIOGLU et EVRENDILEK (2004) qui ont démontré une activité considérable contre *Escherichia coli*.

Comme contrôle négatif, le DMSO n'a pas affecté la croissance des souches bactériennes aux concentrations utilisées dans cette étude, comme le montre la figure 10. Ces résultats sont comparable avec ceux obtenus par GACHKAR *et al* (2006).

Les interactions entre les agents émulsifiants et dissolvants (Tween 80 et DMSO), et les constituants des huiles essentielles représentent un facteur important pour la mesure de leur activité antimicrobienne car elles peuvent diminuer l'activité antimicrobienne.

D'ORES et DEJA, ces résultats et autres travaux (LIS-BALCHIN *et al*., 1996) laissent entrevoir la réalité de l'action anti infectieuse de la fraction aromatique.

La majorité des travaux s'arrêtent au niveau de la mise en évidence de l'activité antimicrobienne des HE. Les études sur les mécanismes d'action sont en nombre peu important.

L’activité antimicrobienne de l’HE est due principalement à son profil chimique. Ce dernier est caractérisé par une forte teneur en Le Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl) apparaît comme le constituant majoritaire de l'HE, suivi du (+) spathulenol, du Sabinene, Bicyclo [3,1,0] hexane (19.96, 17,05 % et 4.36 % respectivement). Ces monoterpènes et sesquiterpène sont réputés pour avoir une grande action antibactérienne.

L’ensemble des composées chimiques présentes dans l’HE augmente l’activité bactéricide du cette huile contre *E. coli*, *P.microsilis*, *E. feacalis* et *E.cloaceai* en agissant en synergie.

D’après DURAFFOURD *et al* (2002), il est cependant probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette façon, la valeur d’une HE tient à son « totum », c’est à dire à l’intégralité de ses composants.

En résumé, l’activité biologique d’une HE est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires ont un effet synergique entre leurs constituants.

3.6.2. Activité antifongique

3.6.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne

L’activité antifongique est révélée par l’absence ou la présence de la croissance mycélienne. Les résultats de diamètre de l’activité antifongique d’huile essentielle d’*Eucalyptus camendulensis* sont présentés dans le graphe n°13. Elles varient entre 13 et 55 mm (y compris le diamètre de disque) chez le *Fusarium sporotrichioides* et pour le *Fusarium graminearum* la croissance mycélienne est variée entre 11 et 55 mm.

Le Graphe N° 28 indique la Croissance mycélienne (mm) de *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum* en fonction du temps d'incubation et la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis*.

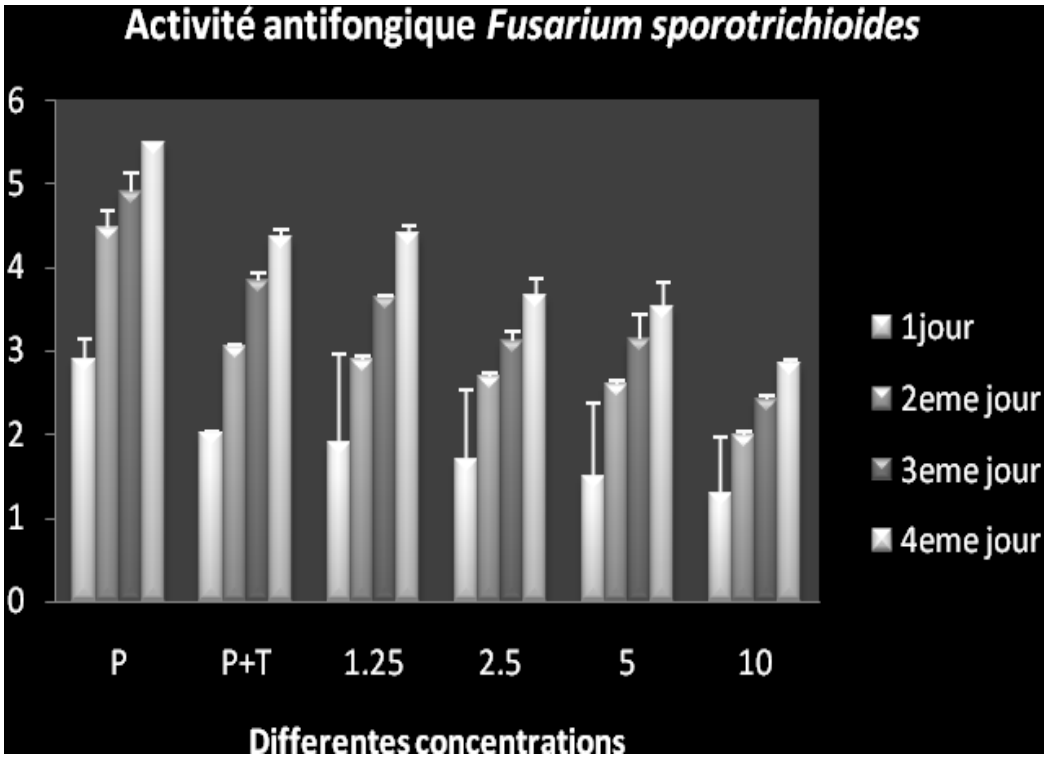


Figure N° 28 : Activité antifongique de *Fusarium sporotrichioides*.

Avec les différentes concentrations d'huile essentielle extraite d'Eucalyptus, on observe que la croissance mycélienne est remarquable après 72 h pour le témoin et les différentes concentrations d'huile essentielle d'Eucalyptus a savoir 1.25, 2.5, 5 et 10 µl par contre à 25 µl on observe aucune croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichioides*.

D'aprés le graphe N° 28 on remarque qu'il y a une augmentation de la croissance mycélienne avec le temps d'incubation à l'exception la concentration 25 µl qu'elle ne présente aucune croissance mycélienne. Par revanche, une diminution de la

croissance mycélenne avec l'augmentation de la concentration en huile essentielle d'Eucalyptus.

D'aprés le graphe N° 29 qui représente l'activité antifonguique de *Fusarium graminearum* en fonction du temps d'incubation et la concentration de huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* on remarque qu'il y a une augmentation de la croissance mycélienne avec le temps d'incubation a l'exception la concentration 50µl/20 ml de PDA qu'elle ne présente aucune croissance mycélienne de *Fusarium graminearum*.

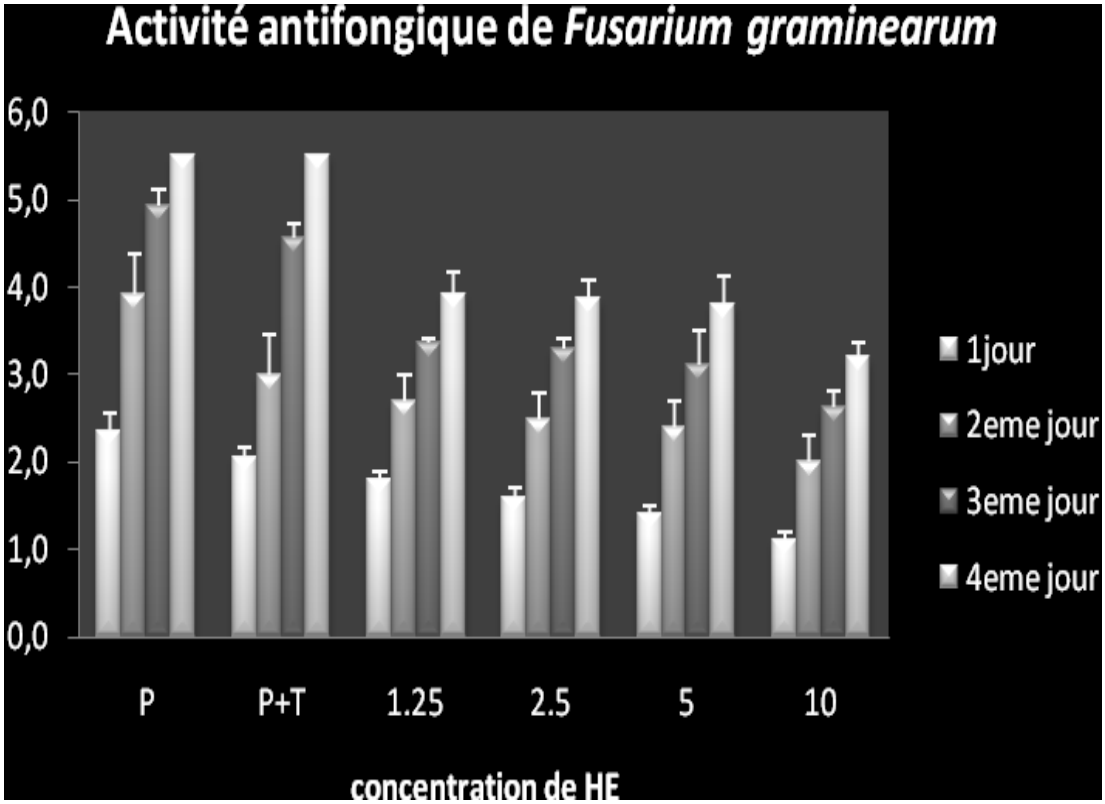


Figure N° 29 : Activité antifongique de *Fusarium graminearum*

En outre, une diminution de la croissance mycélenne de *Fusarium graminearum* avec l'augmentation de la concentration en huile essentielle d'Eucalyptus.

Photo N° 14: *Fusarium graminearum*

Photo N°15: *Fusarium sporotrichioides*

3.6.2.2. Indice antifongiques (IA)

L'indice antifongique est la concentration qui inhibe 50% la croissance mycélienne le graphe suivant N° 30 présente l'indice fongique en fonction de la concentration d'huile essentielle d'*Eucalyptus*.

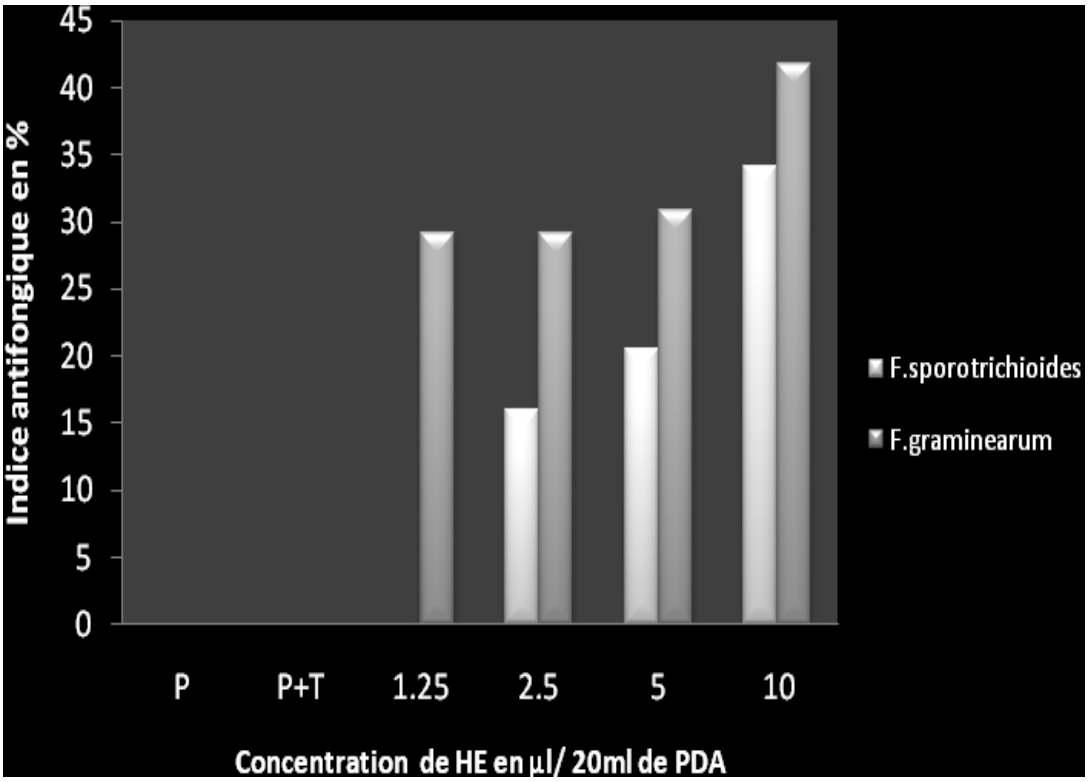


Figure N° 30: Indice de la croissance mycélienne

Selon le graphe N° 30, on remarque que toutes les concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* appliquées ont empêché partiellement la croissance des souches fongiques testées.

L'indice antifongique est augmenté avec l'augmentation de la concentration d'huile Essentielle d'Eucalyptus, variée entre 0 % et 34,09 % chez *Fusarium sporotrichioides* et entre 29,09% et 41,81% chez *Fusarium graminearum* qu'il a été remarquée par l'application d'une concentration de d'huile essentielle de 10 µl/20 ml de PDA.

3.6.2.3. Vitesse de la croissance mycélienne de *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum*

La vitesse de la croissance mycélienne des deux espèces fongiques à savoir *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum* en fonction de la concentration d'huile essentielle d'Eucalyptus camendulensis est présentée dans le graphe N° 31 suivant :

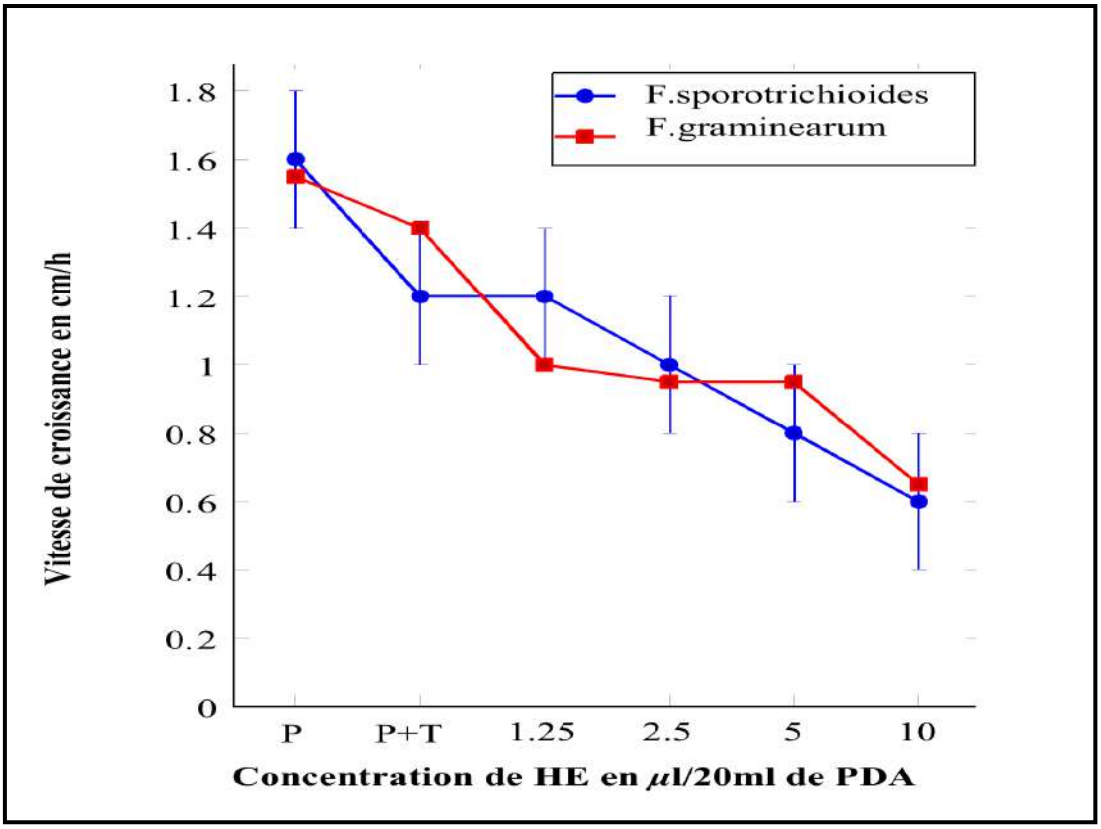


Figure N° 31: vitesse de la croissance mycélienne du *Fusarium sporotrichioide* et *Fusarium graminearum*

Selon Les résultats de la figure N° 31 on observe une diminution de la vitesse de la croissance mycélienne par l'augmentation de la concentration d'huile essentielle d'Eucalyptus chez les deux espèces fongiques *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum*.

Dont, La plus haute vitesse de croissance mycélienne est registrer à 0% en absence d'huile essentielle d'Eucalyptus avec une vitesse de 1,5 cm/jour chez *Fusarium sporotrichioides* et de l'ordre de 1,47 cm/jour chez *Fusarium graminearum* puis la vitesse se décroitre avec l'augmentation de la concentration de huile essentielle d'*Eucalyptus* jusqu'à l'inhibition partielle (0,8cm/jour chez les deux espèces fongiques) dont la concentration de huile essentielle est de 10 µl/ 20 ml de PDA.

La technique de contact direct consiste à mettre en contact l'huile essentielle et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. L'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis du champignon *Fusarium sporotrichioides* et *Fusarium graminearum*, les diamètres , la vitesse et l'indice antifongique de la croissance de mycélium diminue à chaque fois qu'on augmente la concentration d' huile essentielle jusqu'à la non germination du disque atteinte au CMI (50 µl/ 20 ml de PDA) cela est confirmé par les travaux de (GACEM, 2011) sur l'extraits méthanolique et aqueux appliquer sur *Aspergillus fumigatus*.

L'étude de l'effet inhibiteur d'huile essentiel d'*Artimesia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* par KOLAI *et al* (2012) montré que l'activité antifongique est due uniquement aux substances renfermées dans les extrais de l'huile essentiel d'*Artimesia herba alba*.

La difficulté de développer une molécule antifongique est liée, d'une part à l'ultrastructure de la cellule fongique qui présente trois barrières: la paroi cellulaire chitineuse, les ergostérols membranaires et le noyau eucaryote (CHAMI, 2005) et d'autre part, les molécules antifongiques elles-mêmes qui peuvent engendrer des résistances (PRASAD *et al*., 2004).

Le pouvoir antifongique d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique (DUKE, 2009) tels que: le myristicine, le curcumène, le caryophyllene, l'élemicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à

différentes proportions. De même CHU et KEMPER (2001) signalent que le pouvoir antifongique d'huile essentielle du *Lavandula stoechas* est lié aux: β-pinène, p-cimène, 1,8 cinèole et α-pinène. Les composés majoritaires ou mineurs peuvent augmenter l'activité antifongique.

L'activité antifongique d'huile essentielle, peut être expliquée par l'effet synergique entre les différents composés d'huile essentielle. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle (GIORDANI *et al*., 2008).

Les concentrations d'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* appliquées ont empêché, partiellement (1,25 à 10 µl / 20 ml de PDA) ou complètement (50 µl/ 20 ml de PDA) la croissance de souche, ces résultats sont comparable à ceux de URIBE *et al* en (1985) qui ont énoncé que les faibles concentrations en huile essentielle de certains Citrus ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules altérée tandis que des fortes concentrations en huile essentielle provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où la mort cellulaire ou l'inhibition totale.

Conclusion

CONCLUSION

Un grand nombre des plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques.

La recherche de nouvelles plantes aromatiques à caractère thérapeutique a surtout servi a montré le bien fondé de leurs utilisations par les tradipraticiens. Elle a démontré aussi que notre pays recèle une biomasse végétale riche et variée. Celle-ci constitue une source incommensurable pour l'élaboration et la mise au point de nouvelles molécules actives à visé thérapeutique.

L'utilisation des formulations volatiles à base des plantes aromatiques et médicinales peut présenter des nombreux avantages par rapport aux produits de synthèses actuels.

Le contrôle de l'huile essentielle par les caractéristiques physiques et chimiques permet de mettre en évidence la qualité de cette huile, se distingue par un indice d'acide et des propriétés physiques et chimiques comparables à ceux obtenus par la littérature concernant les huiles essentielles d'une façon générale. Les réultats de notre travail nous permis de s'assurer de la pureté de cette huile essentielle. La bonne mescibilité de cette huile esentielle montre la possibilité de l'utiliser dans la préparation pharmaceutique.

Notre étude avait pour but de mieux connaître l'*Eucalyptus camendulensis* à travers l'étude de sa fraction aromatique (HE-HA). Nous avons pu montrer que l'huile essentielle de cette essence est de couleur jaune, avec une odeur agréable et un gout caractéristique. Le rendement en huile essentielle obtenu par l'hydrodistillation de plante est important, comparé avec le rendement en huiles essentielles d'autre plantes.

De part son profil chromatographique (Chémotype Benzene,1-methyl-4-(1-methylethyl), l'huile essentielle extraite par hydrodistillation possède des propriétés organoleptiques très appréciées en parfumerie.

L’autre objectif était l'étude de la composition et des propriétés d’un produit secondaire de l'hydrodistillation, l'hydrolat. Son activité biologique différente.

Outre ses potentialités antimicrobiennes et antifongiques vérifiées sur des germes standardisés en milieu gélosé et en phase vapeur, la fraction aromatique possède une action anti-antimicrobienne indéniable. De ce fait, elle pourra être proposée, éventuellement, comme un principe actif de choix dans le traitement local des inflammations.

Pour une meilleure exploitation industrielle, il convient donc d'extraire l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis* aprés une semaine de séchage après leur récolte, puisque la teneur en huiles essentielles serait à son maximum. Au delà de cette période, elles perdent quantitativement leurs huiles essentielles.

Au niveau économique, cette étude a permis de valoriser cette plante à parfum et de trouver de nouvelles applications dans plusieurs secteurs de pointe comme la pharmacopée. Les résultats de cette recherche pourraient avoir, à moyen terme, une incidence sur le développement durable du pays.

En somme, les potentialités d’*Eucalyptus camendulensis* étant à peine entrevues. Elles ouvrent d'intéressantes perspectives de recherche pour les années à venir. C’est aux biotechnologies végétales que leurs incombe la mission de mener des études supplémentaires afin de compléter le développement phytopharmaceutique.

En perspective, il serait intéressant, lors des hydrodistillations, de récupérer l'hydrolat et d’analyser sa composition et son potentiel pharmacologique. N’ayant pas fait l’objet d’études scientifiques approfondies, ces eaux aromatiques constituent un créneau de recherche intéressant et d'approfondir les investigations phytochimiques et biologiques sur ces plantes, notamment la purification et l’identification via l’étude photochimique et les analyses spectrales des extraits obtenus afin d'isoler les molécules responsables des activités antimicrobiennes, ce qui permettra d'élargir l'arsenal thérapeutique des médicaments à base des plantes et s’intéréssé à la relation intime qui lie la structure chimique et l’activité des huiles essentielles qui constitue le fondement de l’aromathérapie scientifique et doit etre étudier dans d’autre travaux, tel

que l’application pratique dans l’industrie alimentaire pour réduire les impacts indésirables et de prolonger la durée de conservation. Ainsi des études complémentaires pourront être envisagées dans plusieurs domaines, dont, la composition chimique des résidus d’hydrodistillation devrait être caractérisée pour connaître les composés responsables de l’activité antioxydante de la plante.

nous recommandons les populations à une utilisation raisonnable des plantes médicinales, car un usage abusif des ces plantes conduira sans doute à des effets secondaires néfastes pour la santé humaine.

Il existe dans la nature des ressources insoupçonnées qui seront les solutions de demain, et c’est l’affaire de tous de les préserver. Nous terminerons en rappelant que, malgré ces progrès en matière de médicaments à base de plantes, il reste à l’homme beaucoup à découvrir sur ce sujet. Le philosophe français Jean- Jacques Rousseau l’a d’ailleurs si bien écrit dans son ouvrage inachevé intitulé *Les rêveries du promeneur solitaire* : "*Les plantes semblent avoir été semées avec profusion sur la terre, comme les étoiles dans le ciel, pour inviter l'homme par l'attrait du plaisir et de la curiosité à l'étude de la nature*".

Références bibliographiques

Références bibliographiques

ABDUL RAHMAN M.S., THANGARAJ S., SALIQUE S.M., KHAN K.F. et NATHEER S.E., 2010. Antimicrobial and biochemical analysis of some spices extract against food spoilage pathogens. Internet Journal of Food Safety,Vol.12, pp.71-75.

AHMAD I., AQIL F. AND OWAIS M., 2006a. Modern phytomedicine : Turning medicinal plants into drugs. Ed. WILEY-VCHVerlag GmbH &Co. KGaA, Weinheim, 405p.

AFNOR., 1986. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.

AFNOR., 1987. Association Française de Normalisation, Détermination des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles.

AFNOR., 2000. Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse ». AFNOR, Paris, 440 p.

AGAOGLU S., DOSTBIL N. et ALEMDAR S., 2007. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry.Bull Vet Inst Pulawy 51, pp.53-57.

ALITONOU G., GUY, Félicien Avlessi., Valentin Wotto D., EDWIGE A., DANGOU J., et DOMINIQUE SOHOUNHLOUE C.K., 2004. Composition chimique,proprieties antimicrobiennes et activités Sur les tiques de l'huile essentielles d'Eucalyptus tereticornis Sm . C. R. Chimie 7**.**

Amjad Hossain M., 2005. Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the Development of Pharmaceutical Products from Medicinal Plants. Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR). 10, 59-63.

ANONYME., 2008. Toutes céréales, détection et identification des espèces de fusarium spp. Et microdochium nivale sur grains de cereales par isolement mycologique semi sélectif et étude microbiologique. p : 28.

ASE D., MINE K., FATIH S., HUSNU C et GULENDAM T., 2005. In vitro antimicrobial activity and chemical composition of some Satureja essential oil. In presse.

BABA AISSA F., 1991. Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'orient et d'occident), Edition EDAS-Librairie Modernes- Rouiba (Algérie), p. 45.

BAGAMBOULA C.F., UYTTENDAELE M., et DEBEVERE J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and S. flexneri. Food Microbiology 21: pp. 33-42.

BAHORUN T., 1997. Substances Naturelles Actives: La Flore Mauricienne, Une Source D'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit.Mauritius.

BANTHORPE D.V et CHARWOOD B.V., 1972. Chemistry of terpenes and terpenoides, Ed. A.A. Newman ; Acadimic press, london and N. York ; 1972. Pp337-374.

BARI M.A., ISLAM W., KHAN A.R., et MANDAL A., 2010. Antibacterial and antifungal activity of Solanum torvum (Solanaceae). Int. J. Agric. Biol., 12: pp. 386-390.

BARTON A.F.M., TJANDRA J et NICHOLAS P.G., 1989. Chemical evaluation of volatile oils in Eucalyptus species. J. Agr. Food Chem. 1989, 37, 1253-1257.

BEERNESH BUTTIAUX R., et TACQUET A., 1996. Manuel de techniques bactériologiques. 2éme Ed. Paris, p572.

BELAÏCHE P., 1979. Traité de Phytothérapie et d'Aromathérapie. Tome I. l'Aromathérapie. Ed. Maloine S.A. Paris.

BELGHAZI L., LAHLOU N., ALAOUI ISMAILI M., ABOUSAOUIRIA T., HABTI N., TANTAOUI IRAKI A., TALBI M., BLAGHEN M. ET FELLAT-ZARROUCK K., 2002. Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot. Test antifongique. Congrès de Biochimie. Casablanca. Biochimie et Santé, 38-40.

BELITZ ET GROSCH, 1999 BELITZ H. D. ET GROSCH W., 1999. Food chemistry. Second edition. Spriger- Verlag. Berlin Heidelberg. 992 p.

BELOUED A., 2005. Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger,p124.

BENANELKADER T., 2001. Contribution à l'étude phytochimique et biologique de « DROFT » (Artemisia campestrisl) (huile essentielle et lactones sesquiterpeniques) thèse de magistère.

BENJILALI B., TANTAOUI-ELARKI A., et ISMAILI-ALAOUI M., 1986. « Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé ». Plant. Méd. Phytothér. 20, pp: 155-167.

BEN MARZOUG H., MEHREZ R., LEBRIHI A., MATHIEU F., COUDERC F., ABDERRABA M., Khouja M et BOUAJILA J., 2011. *Eucalyptus oleosa* Essential Oils: Chemical Composition and Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Oils from Different Plant Parts (Stems, Leaves, Flowers and Fruits). J. molecules. ISSN 1420-3049

BERNARD T., PERIAU F., BRAV O., DELMAS M. et GASET A., 1988. Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information chimie. Brewing Microbiology, 3rd edition. Priest and Campbell, ISBN 0-306-47288-0.

BIGENDAKO M J., 2004. Identification et Zonage des *Eucalyptus Globulus* au Rwanda, Chemonics International Inc., projet ADAR, aoûtt, page 01.

BOLAND D J., BROPHY J J., HOUSE A.P.N., 1991. Eucalyptus leaf oils use, chemistry, distillation and marketing ACIAR/CSIRO INKATA PRESS Melbourne. Sydney page 08-page15.

BOUFERKAS F., TOUABET A., et FOUDIL Y., 1996. Extraction et analyse des essences de trois espèces d'Eucalyptus Algérien et l'etude de comportement chromatographique de deux pomymères synthetiques. Theses d'ingénieur d'application chimie industrielle, université des sciences et de la technologie Houari Boumedienne. Alger, Algérie, p38.

BOUVET J M., 1999. Les plantations d'eucalyptus. Evolutions récentes et perspectives.Le Flamboyant, 49, 4-14.

BROWN A G., NAMBIAR E K S., COSSALTER C., 1999. Plantations in the tropics –their role,extent and nature. In : Management of soil, nutrient and water in tropical plantations forests. Eds E.K.S. Nambiar et A.G. Brown, ACIAR Monograph No43,1-19.

BRIAN M.L., 1995. The isolation of aromatic materials from plant products, R.J. Reynolds Tobacco Company, Winston- Salem(USA) , p.57-148.

BRUNETON J.**, 1987.** « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales » 1 iére éditions.

BRUNETON J., 1993. Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

BUDAVARI S., O'NEIL MJ., SMITH A., 1996. The Merk Index — Twelfth edition, whitehouse Station : Merk and Co, INC, , 2350p.

BURT S.A., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potentiel applications in foods-a rewiew International. J. Food Microbiol, 94 :pp223-253.

CAILLARD J., 2003. Les plantes, des usines chimiques en miniature. Dossier de ressources documentaires. CRDP Midi-Pyrénées. 6p.

CAMPINHOS E., 1999. Sustainable plantations of high-yield Eucalyptus trees for production of fiber : the Aracruz case. NewForests, 17, 129-143.

CANDY G., 1977. Investigation into Chemical Composition and potentiel of a selected number of Rhodesian eucalyptus Unpublished Thesis, Univ of Rhodesia, Dept of Pharmacy.

CHABANNE A., BOYER J., MICHELLON R., et SEGUY L., 2001. Impacts des couvertures végétales sur la production de *Pelargonium x Asperum* et sur la biologie du sol (macrofaune) à l'Ile de La Réunion. World Congress on Conservation Agriculture Madrid, 1-5 October, 35p.

CHAMI F., 2005. Evaluation in vitro de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composes majoritaires in vivo application dans la prophylaxie et le traitement de la Candidose Vaginale sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, p266.

CHANG S.T., WANG S.Y., WU C.L., SU Y.C., et KUO Y.H., 1999. Antifungal compounds in the ethyl acetate soluble fraction of the extractives of Taiwania (Taiwania cryptomerioides Hayata) heartwood. Holzforschung , pp:53-487-490.

CHEVALLIER A., 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, préparation, soins. Edition Larousse, Paris, pp 10, 16, 288, 291, 292, 293, 295 et 296.

CHU J., KEMPER K. J., 2001. Lavender (Lavan du lassp). Long wood Herbal task.Force , p32.

CISOWSKI W., 1985. Flavonoid compounds in *Myrrhis odorata* (L.) Scop." *Herba Polonica, 31*: 13-19.

CLEVENGER J .F., 1928. Determination of volatile oil. J .Ann. Pharm. Assoc. 17(4) 346-351.

CONNER D., et BEUCHAT l.R ., 1984. Sensitivity of heart-stressed yeasts to essential oil plants. Appl environ. Microbial. 47 :229-233.

COWAN M. M., 1999. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews. 12 (4), 564–582.

C.S.I.R. 1948–1976. (Council of Scientific and Industrial Research). The wealth of India..11 vols. New Delhi.

CURTIS A., SOUTHWELL IA., et STIFF IA., 1990. Eucalyptus, a new source of cinnamate J. Essential Oil Res 2, 105-110.

CUVELIER. M.E., BERSET. C et RICHARD. H., 1990. Use of new test foe determining, comparative antioxydant activity of BHA, BHT α and γ- tocophérol and from rosmary and sauge. Sci. Aliments. 10 :797-806.

CUVELIER M-E., RICHARD H., ET BERSET C., 1996. Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosmary. J.am.oil Chem. Soc. 73, 645-652.

DADALIOGLU I. et EVRENDILEK G.A., 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (Origanum minutiflorum), bay laurel (Laurus nobilis), Spanish lavender (Lavandula stoechas L.) and fennel (Foeniculum vulgarei Mill.) on common foodborne pathogens. J. Agric. Food Chem., 52: pp.8255-8260.

DAGET P., et GODRON M., 1982. Analyse fréquentielle de l'écologie des espèces dans les communautés. Ed. Masson, Paris, 163 p.

DAJOZ R., 1970. Précis d'écologie. Ed. DOUNOD, Paris, 357p.

DAJOZ R., 1983. Précis d'écologie. Ed. DOUNOD, Paris, 503p.

DANIELLE CLAVE., 2011. Fiche Technique Bacteriologie: *Enterobacter cloacae***.** Laboratoire de Bactériologie Hygiène Toulouse. pp1-2.

DANIELLE HUARD., 1999. Les huiles essentielles, l'aromathérapie. Canada : Quebec :195p**.**

DASTIDAR S.G., MANNA A., KUMAR K A., MAZUMDAR K., DUTTA N.K., CHAKRABATARY A.N., MOTOHASHI N., et SHIRATAKI Y., 2004. Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. International Journal of AntimicribialAgents. 23, 99-102.

DAOUD Y., et HALITIM A., 1994. Irrigation et salinisation au Sahara Algérien, *Sécheresse* vol. 5, n°3: 151-160.

DE BILLERBECK V.G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P., 2002. « Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles ». HYGIENES - 2002 - Vol X – n°3, pp : 248-251.

DEBUIGNE G., 1974. *Larousse des plantes qui guérissent*, Ed. Larousse.

DELAVEAU P., 1987. Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. Albin Michel Editeur. 372 p.

DJEBILI K et HADJOUREGA G., 2006. Extraction, caractérisation et étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de géranium rosat et de santoline. Mémoire de fin d'études, Département de biologie, université de Blida, pp : 15-55.

DE MAACK F et SABLIER M., 1997. Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. P 2614, Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation.

DERWICH E., BENZIANE Z et BOUKIR A., 2009. Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of Laurus nobilis from Morocco. Aust. J. Basic et Appl. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, pp: 3818-3824. Dorman et Deans.

DORN D., FORRER H.R. et VOGELGSANG S., 2007. Fusariose du maïs en Suisse: inventaire des espèces de Fusarium et mycotoxines 1 Station de recherche Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Reckenholzstrasse, Zurich , pp191, 8046 Zurich.

DUBOST D., 1991. Écologie, aménagement et développement agricole des oasis algériennes. Thèse. Doct. Univ. Géo et Amén. Univ François Rablais. Tours. 290p.

DUKE J.A., et WAIN K.K., 1981. Medicinal plants of the world. Computer index with more than 85,000 entries. 3 vols.

DUKE A.J., 2009. Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars-Ngri, Belsville Agricultural research center.

DURAFFOURD C., 2002. lapraz JC. « Traité de phytothérapie clinique ». Elsevier Masson, Paris, , pp : 115-138.

DWECK A. C., 2002. Herbal Medicine for the Skin. Their Chemistry and Effects on Skin and Mucous Membranes. Personal Care Magazine. 3(2),19-21.

ELAISSIl A., MEDINI H., CHRAIEF I., MARZOUK H., BANNOUR F., FARHAT F., BEN SALAH M., CHEMLI R., et KHOUJA M.L., 2007. Contribution to the qualitative and quantitative study of eleven Eucalyptus species essential oil harvested of Hajeb's Layoun arboreta (Tunisia). Rev. Arid Areas 2007, 1, 173-178.

ELAMRANI A., ZRIRA M.M., ISMAILI-ALAOUI., BELANGER A., BERRADA M., et BENJILALI B., 1997. Effet du séchage sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle de romarin du Maroc (Rosmarinus officinalis L.). In Actes du colloque «Plantes aromatiques et médicinales et leurs huiles essentielles ».Eds. Benjillali B., Ettalibi M., IsmailiAlaoui M. M., et Zrira S., 161-168.

ELDRIDGE K., DAVIDSON J., HARWOOD C., VAN WYCK G., 1993. Eucalypt domestication and breeding. Clarendon Press, Oxford, 288 p.

EL HADJ YEHYA., 2003. Les plantes et la phtothyrapie. Ed el motawasit, byeout, lebanon. p : 144.

EL KALAMOUNI C., RAYNAUD C., et TALOU T., 2010. "Design of an Artificial Crushing Finger Device for Rapid Evaluation of Essential Oils from Aromatic plants leaves." *Expression of Multidisciplinary Flavour Science, Ed. Imre Blank, Matthias Wüst, Chahan Yeretzian*: 525-528.

ESSAWI T., et SROUR M., 2000. "Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity." *Journal Of Ethnopharmacology, 70*: 343-349.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 1999. 3rd ed. Suppl. 2000. Strasbourg, Council of Europe.

FAUCHERE J., et AVRIL J., 2002. Bactériologie générale et médicale. Elleipses Edition Marketing, ISBN : 2- 7298, 0747-0.

FAURIE C., FERRA C., et MEDORI P., 1980. *Ecologie*. Ed. Baillére, Paris, 168p.

FET V., 2000- Family Scorpionidae Latreille, 1802. pp 427-486. In "Catalog of the Scorpions of the world (1758-1998)", Fet V., Sissom W.D., Lowe G. & Braunwalder M.E. eds., NY *Entomol. Soc*., 690pp.

FRIEDMAN M., HENIKA P.R., et MANDRELL R.E., 2002. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against Campylobacter jejuni, Escherichia coli, Listeria monocytogenes, and Salmonella enterica. Journal of Food Protection, Vol. 65, No. 10, pp.1545-1560.

FORT G., 1976. Guide de traitement par les plantes médicinales et phytocosmetologie. Paris. Ed. Heures de France Vol. 01, 13p.

FOUCHE J. G., MARQUET A. ET HAMBUCKERS A., 2000. Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman.

GACEM MA., 2011. Contribution à l'étude de l'activité antifongique et antimycotoxinogéne des extraits méthanolique et aqueux des graines de citrullus colocynthis sur la croissance d e quelque moisissure d'altération de blé stoké. Magister, Université Kasdi Merbah Ouargla,p147.

GACHKAR L., YADEGARI D., REZAEI M.B., TAGHIZADEH M., ASTANEH S.A., et RASOOLI I., 2007. Chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils. Food Chem., 102: pp.898-904.

GARBONNELLE., DENS F., MARMONIER A., PINON G., et VARGUES R., 1987. Bactériologie médicale Techniques usuelles. SIMEP, Paris. Fran.

GARNERO J., 1991. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles, Paris, France, pp.2-20.

GELAL A., JACOB P., YU L., BENOWITZ N.L., 1999. Disposition kinetics and effects of menthol -Clin Pharmacol Ther . vol 66, 128-135.

GILDEMEISTER E., et HOFFMANN FR., 1912. Les huiles essentielles. Edition paris : maison chimmel et cie, p 729.

GIORDANI R., HADEF Y., et KALOUSTIAN J., 2008. Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. Fitoterapia ,79 : pp199-203.

GIROD-QUILAIN I., et GRUNDSCHOBRR F., 1999. Les aromes alimentaires réalités perspectives. In :Ind. Alim. Agr. 18 :72-79.

GUINARD J.L., Cosson L., et Henry L., 1985. Abrégé de phytochimie. Masson, Paris, 224 p.

GUIGNARD J L., 2001. Abrégé Botanique Systématique Moléculaire 12 Eds Révisée.MASSON.

HAMMER K. A., CARSON C. F., et RILEY T. V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. Journal of Applied Microbiology Vol. 86, Issue 6: pp.985-990.

HART T., et SHEARS P., 2002. Atlas de poche de Microbiologie Flammarion Médecine Sciences. Paris, p213.

HEATH, H.B., 1981. Source book of flavours." *Ed. Springer, 1st edition*.

HEINRICH G., SCHULTZE W., PFAB I., ET BOETTGER M., 1983. The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*." *Physiologie Vegetale, 21* : 257-268.

HOOSER S.B., 1990. D-limonene, linalool, and crude citrus oil extracts - Veterinary Clinics of North America : Small Animal Practice — March, Vol 20, No 2, 383-385.

IDDER T., 1998. La dégradation de l'environnement urbain liée aux excédents hydrique au Sahara Algérienne. Impact des rejets d'origine agricole et urbaine et techniques de remédiation proposée. L'exemple de Ouargla. Thèse, Doc. Université d'Angers, 20p.

INOUYE S., TSURUOKA T., UCHIDA K., et YAMAGUCHI H., 2001. Microbiol. Immunol., 43, pp.201–208. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. WILEY-VCHVerlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE FORESTIERE., 1996. «La forêt Algérienne» éditer par–Bainem-Alger février -mars page10.

ISERIN P., MASSON M., et RESLELLINI J., 2001. La rousse encyclopédie des plantes médicinales. 2 ème édition. Paris. 335p.

ISMAÏLI-ALAOUI MY M., ZRIRA S., BELANGER A., et BENJILALI B., 1995. Les huiles essentielles d'Ammi visnaga L. Communication au congrès International «Plantes aromatiques et huiles essentielles. Maroc 95» RAbat (Maroc).

JOFFIN J., et LEYRAL G., 2001. Microbiologie technique. 3éme édition. 312p.

JUKIC M., et MILOS M., 2005. Catalytic Oxidation and Antioxidant Properties of Thyme Essential Oils (Thymus vulgarae L.). Croatica Chemica Acta. 78 (1), 105-110. 90.

KANKO C., SAWALIHO BE., KONE S., KOUKOUA G., N'GUESSAN YT., 2004. « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus* ». Comptes rendus Chimie 7; 1039–1042.

KESBI A., et LADJEL S., 2011. Étude des propriétés physico chimiques et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* dans la région d'Ouargla.

KNIGHT M.J., HANSEN S.R., BUCK W.B., 1994. Toxicity of Melaleuca oil and related essential oils applied topically on dogs and cats — Vet human toxical — April - Vol 3 6, No 2, 139-I42.

KOBA K., SANDA K., RAYNAUD C., MANDIN D., MILLET J., et CHAUMONT JP., 2003. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L, *C. nardus* L et *C. schoenanthus*. Journal de Mycologie Médicale, Vol 13, N° 4 - décembre, pp : 175-180.

KOLAI N., SAIAH F., et BOUDIA A., 2012. Effet inhibiteur in vitro d'huile essentielle d'*Artimisia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum*, F.sp. radicis-lycopersici. INSSN 2170-1318.

KUBECZKA K.H., BARTSCH A., et ULLMANN I., 1982. Recent studies on essential oils of Apiaceae." *Aetherische Oele, Ergeb. Int. Arbeitstag.*: 158-187.

KULIK T., FORDOŃSK G., PSZCZÓŁKOWSKA A., PŁODZIEŃ K., et ŁAPIŃSKI M., 2004. Development of PCR assay based on ITS2 r DNA polymorphism for the detection and differentiation of Fusaruim sporotrichioides. FEMS Microbiol. Lett,239: pp 181-186.

LAHLOU., 2004. Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. Phytotherapy Research, 18, p: 435-448.

LAROUSSE MEDICINALE., 2007. Ed. larousse. Paris :17, 303,327,948, 1085 p.

LASSAK E V., 1988. The Australian eucalyptus Oil Industry? Past and Present, Chemistry in Australia 55, 396-406.

LAVERDIERE F., HOLSTEIN A., THIEBAUT L., MALLEE R., GRAVEJAT G., DESCLOZEAUX B., 1999. Les principales methodes d'analyse. Dossier couplage. Centre sciencesdes processus industriels et naturel (SPIN). 51p.

LAYADI et SOUADKI., 1999. Contribution à l'étude des huiles essentielles de deux plantes : *Ocium basilicum* L. et *Santolina chamaecyparissus* L. thèse d'ingénieur en agronomie institu national agronomique el harach.

LEE K.W., KIM Y.J., LEE H.J., et LEE C.Y., 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food Chem. 51, 7292-7295.

LIS-BALCHIN M., DEANS SG., et EAGLESHAM E., 1998. Relationship between the bioactivity and chemical composition of commercial plant essential oils. Flav. Fragr. J., 13: 98–104.

LIS-BALCHIN M., DEANS SG., 1996. Antimicrobial effects of hydrophylic extracts of *Pelargonium* species (Geraniaceae). Lett. Appl. Microbiol., 23: 205-7.

LIS-BALCHINM., 1999. Possible health and safety problems in the use of novel plant essential oils and extracts in aromatherapy — The Journal ofT he Royal Society for the Promotion of Health — December — Vol 119, N0 4, 240-243.

LO CANTORE P., IACOBELLIS N.S., DE MARCO A., CAPASSO F., et SENATORE F., 2004. Antibacterial activity of Coriandrum sativum L. and Foeniculum vulgare Miller var. vulgare (Miller) essential oils. J. Agric. Food Chem., 52: pp.7862-7866.

LYONS L., et NAMBIAR D., 2005. Un guide pratique des plantes médicinales pour les personnes vivant avec le VIH. CATIE. 60p.

MARIE-CLAUDE F., AIME G., JACQUES M., ÉLISABETH M., 1992. HERBORISTERIE FAMILIALE page 53 OCTOBRE.

MAYACHIEW P., ET DEVAHASTIN S., 2008. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology41; pp. 1153-1159.

MAZEN K., EL TAMER., 2002. Molecular Regulation of plant monoterpene biosynthesis in relation to frangrance. Prof Schirift wageningen university. ISBN. 90-5808-752-2.

MOHAMDI Z., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, magistère Université Abou Bakar Bel Kaid Tlemcen, p105.

MOMPON B. 1994. Quel avenir commercial pour les produits obtenus par les nouvelles technologies d'extraction: CO_2, Micro-ondes, ultrasons, nouveaux solvants, 4 Ième rencontre internationale de Nyons, p. 149-166.

MOREAU B., 2003. maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie,.

NAJAH A., 1971. *Le Souf des oasis*. Ed. Maison livres, Alger, 174p.

NAKASHIMA T., 1985. Essential oil in some species of Eucalyptus growing in the PARANA state acclimate.

NATHALIE VERBEKE., 2006. L'Aromathérapie comme alternative crédible a l'antibiothérapie. Préparatrice en pharmacie, p20.

NARAYANA K. R., REDDY M. S., CHALUVADI M. R. et KRISHNA D. R., 2001. Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. Indian Journal of Pharmacology. 33, 2-16.

NAVES Y.R., 1974. Technologie des parfums naturelle, Ed masson. Paris. P326.

NAUCIEL C., et VILDE J., 2005. Bactériologie médicale. 2éme édition.Masson, Paris. ISBN : 2-294-01858-3.

NAZLI NACER-BEY., 2003. Etude des huiles essentielles (essence végétale) de quelle que plante Algérienne : caractérisation chimique et valorisation agronomique. Thèse de magistère en agronomie INA. 129p.

NOSTRO A., GERMANO M. P., D'ANGELO V., MARINO A. ET CANNATELLI M.A., 2000. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Lettres en microbiologie appliquée. 30 (5), p379.

OUATTARA B., SIMARD R.E., HOLLEY R.A., PIETTE G.J.P., et BEGIN A., 1997. Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. Int. J. Food Microbiol, 37, pp.155-162.

OZENDA P., 1982- Flore du Sahara. Ed. Centre Nationale des Recherches Scientifique, Paris, 39p.

OZKAN G., SAGDIC O., et OZCAN M., 2003. Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. Food Sci. Techn. Int., 9 : pp.85–58.

PARAKASH S., et SINHA G.K., 1972. Chemical study of essential oil extracted from the fruits of Ind perfum. 16, 5-10.

PEDNEAULT K., LEONHART S., ANGERS P., GOSSELIN A., RAMPUTH A., ARNASON J. T. ET DORAIS M., 2001. Influence de la Culture Hydroponique de Quelques Plantes Médicinales sur la Croissance et la Concentration en Composés Secondaires des Organes Végétaux. Texte de conférence - 5ième Colloque sur les produits naturels d'origine végétale. Université Laval, Qc, Canada. 2p.

PELLERIN P., 1992. Méthode d’extraction par le dioxyde de carbone. IN : arome alimentaire, p 242-255.

PERRY N.B., ANDERSON R.E., BRENNAN NJ., 1999. Essential oils from dalmatiansage (Salvia officinalis I.) : variation among individuals, plant parts, seasons, and sites — J Agric Food Chem —, May, 47(5), 2048-54.

PEYRON L., 2000. « Aspect international du marché des plantes aromatiques et médicinales ». Actes Journée Réflexion Plantes Arom. Méd. Casablanca, 16 Nov., pp : 17-25.

PIBIRI M.C., 2005. « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles ». Thèse de doctorat ès sciences, école polytechnique fédérale de Lausanne. pp : 19-55.

PORTER N., 2001. Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39.

PRASAD R., et KAPOOR K., 2004. Multidrug resistance in yeast Candida. Int. Rev. Cytol, 242 :pp215-248.

PROVOST M., 1991. Des plantes qui guérissent. Ed. Bibliothèque QUEBECOISE, Québec, 13-15 p.

RAI M. K., ACHARYA D. ET WADEGAONKAR P., 2003. Plant derived-antimycotics: Potential of Asteraceous plants, In: Plant-derived antimycotics:Current Trends and Future prospects, Haworth press, N-York, Londin, Oxford. 165-185.

RAMADE F., 1984. *Eléments d'écologie-écologie fondamentale-*. Ed. Dunod. Paris, 397p.

RICHARD H. ET MULTON J.L., 1992. Les arômes alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. 438 p.

RICHARDSON J.A., 1999. Potpourri hazards in cats — Toxicology Brief December.

ROGER H., NEBIE CH., BELANGER A., et SIB.FAUSTIN S.S., 2007. Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* L. Vol. 1, n° 2, juillet - décembre, Science et technique, Sciences appliquées et technologies.

ROUVILOIS-BRIGOL M., 1975. Le pays de Ouargla (Sahara Algérien). Variation et organisation d'un espace rural en milieu désertique. Ed. Publ. Dépar. Géol. Univ. Sorbonne. Paris. Tome 2.316p.

SALLER R., BERGER T., REICHLING J., 1998. Pharmaceutical and Medicinal Aspects of Australian Tea Tree Oil ~ Phytomedicine , v01 5(6), 489-495.

SATRANI B., FOUGRACH H., BOURKHISS B., BOUSTA D., et TALBI M., 2007. « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus* ». Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146, pp : 85-96.

SCHNAUBELT K., 1998. Advanced Aromatherapy. Vermont:Healing Arts Press. Scientific Correspondence. (2003) Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85 (1), 30-34.

SCHWÄMMLE B., WINKELHAUSEN E., KUZMANOVA S., et STEINER W., 2001. Isolation of Carvacrol Assimilating Microorganisms. Biotechnol. 39 (4), 341-345.

SHARMA S., SANGWAN N. S., et SANGWAN R. S., 2003. Developmental process of essential oil glandular trichome collapsing in menthol mint. Current Science. 84 (4-25), 544-550.

SILOU T., TATY-LOUMBOU F., et CHALCHAT C., 2002. Etude de l'effet du séchage solaire sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles d'Eucalyptus citriodora. Ann. Fals. Exp. Chim., n° 960. 287-301.

SINGH A.K., NAGUI A.A., et BBHATTACHARYA A.K., 1989. Chemical constituant of essential oils in different Eucalyptus grown in Kumaon hills (Ramikhet) INDIA. Herba Hung 28, 3, 55-58.

SINGH R., CHANDRA R., BOSE M., et LUTHRA PM., 2000. Antibacterial activity of Curcuma longa rhizome extract on pathogenic bacteria. Curr. Sci. 83(6): 737-740.

SIPAILIENE, A., VENSKUTONIS, P.R., BARANAUSKIENE, R. ET SARKINAS, A., 2006. Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils." *Journal of Essential Oil Research, 18*: 698-703.

SMALLFIELD B., 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45,4p.

STEFANOVITS-BANYAI É., TULOK M H., HEGEDOS A., RENNER C., et VARGA I.S., 2003. Antioxidant effect of various rosemary (Rosmarinus officinalis L.) clones. Acta Biologica Szegediensis. 47 (1-4), 111-113.

SOHOUNHLOUE.D.K, AGBAKA.A., DOCKIMO. E.B, DJOSSOU.L., et FOUABI K., 1999. J. SOC.Ouest Afr.chim.8.87.

SOUNDOUSS C., 1998. « Les essences de Géranium : Influences pédoclimatique et saisonnière sur les essences Marocaines : Classification par les méthodes d'analyse de données ». Thèse de doctorat en Sciences, Université Aix en Provence, Marseille, 3p. (n^{o}: 98 AIX3 0076).

SOUZA E.L., STAMFORD T.L.M., et LIMA E.O., 2006a. Sensitivity of spoiling and pathogen foodrelated bacteria to Origanum vulgare L. (lamiaceae) essential oil. Brazilian Journal of Microbiology37: pp.527-532.

STEFANOVITS-BANYAI É., TULOK M. H., HEGEDOS A., RENNER C., et VARGA I. S., 2003. Antioxidant effect of various rosemary (Rosmarinus officinalis L.) clones. Acta Biologica Szegediensis. 47 (1-4), 111-113.

SVOBODA K.P., et HAMPSON J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

TAKEOKA G., 1998. Flavor chemistry of vegetables. In Flavor chemistry. Thirty years of progress. Teranishi R. et al. (Ed.). Cluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 287-304.

TERZI V., TUMINO G., STANCA A.M., MORCIA C. 2014. Reducing the incidence of cereal head infection and mycotoxins in small grain cereal species. *Journal of Cereal Science, 59*, 284-293.

THURZOV L., 1978. Les plantes saintes qui possent autour de nous, Eddition Elsevier, 266p.

TIWARI B.K., VALDRAMIDIS V.P., O'DONNELL C.P., MUTHUKUMARAPPAN K., BOURKE P., et CULLEN P. J., 2009. Application of natural antimicrobials for food preservation. J. Agric. Food Chem. 57, pp.5987–6000.

UPADHYAY R.K., DWIVEDI P., et AHMAD S., 2010. Screening of antibacterial activity of six plants essential oils against pathogenic bacterial strains. Asian Journal of Medical Sciences 2 (3): pp.152-158.

URIBES., RAMIREZ T., PENA A., 1985. Effects of B. pinene on yeast membrane functions. Journal of Bacteriology, pp1195-1200.

VERDRAGER J., 1978. Ces médicaments qui nous viennent des plantes. 1 Edition, Paris, édition Maloine S. A, 233p.

VONROCHEMBERG C., 1910. Theorie der gewinning and trennung der atherishen ol durch destillation. Selbot-verlag Von Shimmel : p 432.

WATT J.M., et BREYER-BRANDWIJK M.G., 1962. The medicinal and poisonous plants of southern and eastern Africa. 2nd ed. E.&S. Livingstone, Ltd., Edinburgh and London.

WICHTL M., ANTON R.,1999. Plantes thérapeutiques —, Technique et Documentation, Paris.

WILSON C. L., SOLAR J. M., EL GHAOUTH A., et WISNIEWSKI M E., 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against Botrytis cinerea. Plant Dis. 81, 204-210.

ZRIRA S., 1992. Les huiles essentielles d'Eucalyptus du Maroc. Facteurs influençant la productivité et la qualité de ces essences, investigation sur les possibilités d'exploiter l'E camaldulensis pour la production d'huile essentielle d'Eucalyptus à cinéole. Thèse de doctorat ès sciences Agronomiques, Institut Agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc.

Référence électronique

Net 1: "River Red Gum". *Eucalyptus camaldulensis var. obtusa*. Centre for PlantBiodiversityResearch.2006.http://chabg.gov.au/cpbr/cdkeys/euclid3/euclidsample/html/Eucalyptus_camaldulensis_var._obtusa.htm. Retrieved 6/12/2008.

Net 2: HYPERLINK http : //fr.wikipedia.org/wiki/ Enterococcus_faecalis.

ENCARTA, 2004.com

Tutiempo, 2010- http://www.tutiempo.net

APPENDICES

APPENDICE A

► Appareillage, verrerie et consommables

B1. Liste des appareillages :

- Balance de précision (SCALTEC SBC 31)
- Plaque chauffante
- Chauffe ballon
- Bain marie
- Évaporateur rotatif (Stuart RE300)
- Autoclave
- Etuve bactériologique (25°C, 35°C, 42°C)
- Loupe binoculaire avec caméra
- Microscope photonique avec caméra
- Centrifugeuse de paillasse
- Chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse
- Hydrodistillateur type Clevenger
- pH-mètre
- Rampe de filtration à 6 postes (Sartorius ; type SM 16824)
- Réfractomètre d'Abbe de précision 3T (Références 94110)

B2. Liste de la verrerie et consommables

- Béchers : 100 ml, 250 ml, 500 ml
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml
- Ballon à fond plat à col rodé
- Ampoules à décanter
- Tubes à essai
- Pipettes graduées stériles
- Burette 20 ml
- Pinces
- Anse de platine
- Lames en verre et lamelles
- Écouvillons Stériles
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Disques d'antibiogramme Stériles de 0,9cm de diamètre (Sensi-DiscTM)
- Spatule inox
- Pipettes Pasteurs
- Lames de rasoir
- Papier filtre WHATMAN
- Seringues (1ml, 5 ml)
- Bec bunsen
- Compte-gouttes

APPENDICE B

► Milieux de culture utilisés :

- Milieu de Muller Hinton
- Milieu de PDA
- Eau physiologique

► Liste des solutions et réactifs utilisés :

- Eau distillée
- Ethanol 95° et 70°
- Hydroxyde de potassium (KOH) : 0,02 mol/l et 0,5 mol/l
- Acide chlorhydrique (HCl) : 0,5 mol/l
- Myristate d'isopropyle
- Rouge de phénol : 0,4 g/l
- Eau distillée

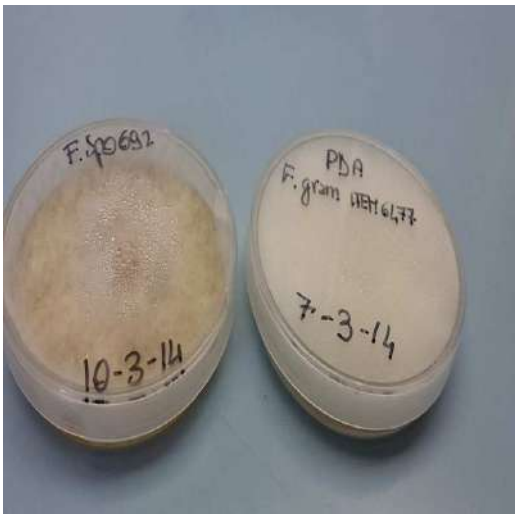
APPENDICE C

► Photos de quelques appareils et tests biologiques :

Séparation d'huile essentille

Huile essentielle (gauche) et hydrolat

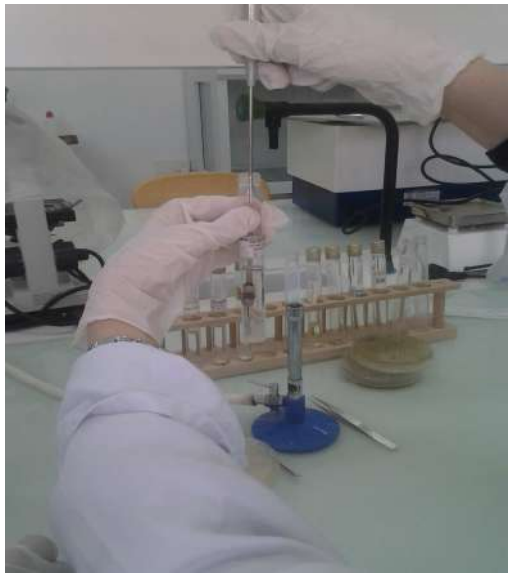
d'*Eucalyptus camendulensis*



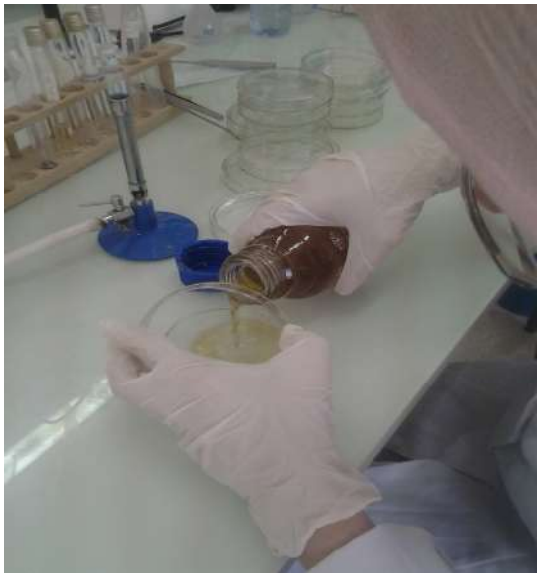
Deux espèces fongiques

Appareil GC/MS

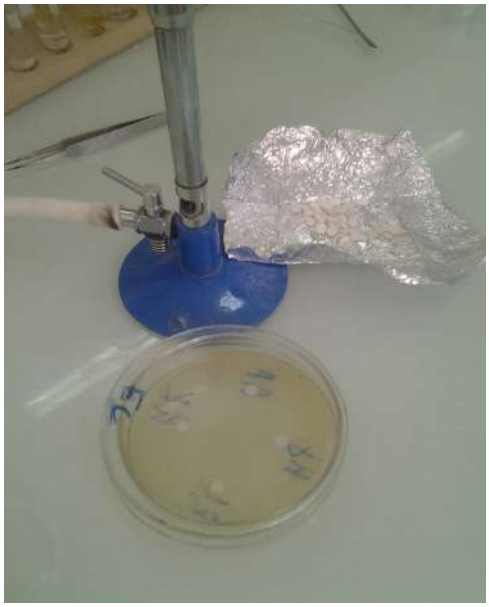
Aromatogramme de l'huile essentielle d'*Eucalyptus camendulensis* sur quelques
souches bactériennes et fongiques.



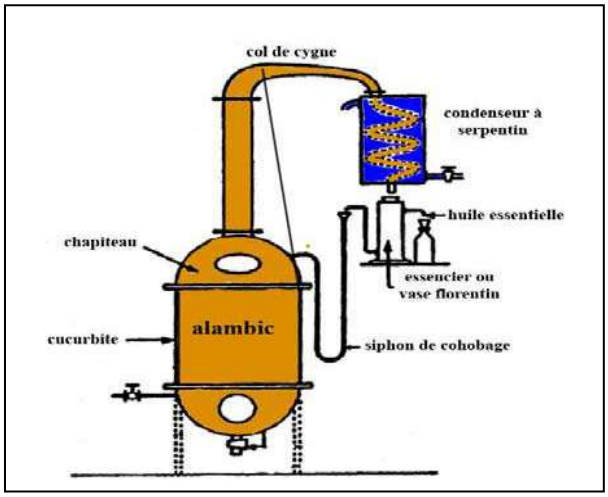
Préparation de l’inoculum



Boite pétri coulée en milieu de culture



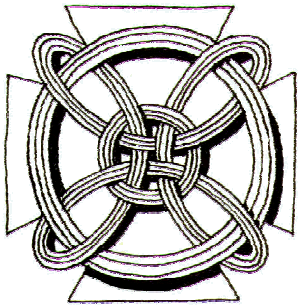
Dépôt des disques



Hydrodistillation traditionnelle.

Hydrodistillateur par clyvenger

APPENDICE D



APPENDICE F

► LEXIQUE

ABSOLUE : Les essences absolues sont obtenues à partir de concrètes ou de résinoïdes. Pour éliminer les cires, on dilue la concrète dans de l'alcool puis on glace le mélange pour séparer les cires des huiles essentielles. Ces dernières sont ensuite concentrées par distillation sous pression réduite afin d'éliminer l'alcool. Les essences absolues ainsi obtenues sont des matières de grande richesse pour composer les parfums.

ACCORD : Effet obtenu par le mélange de deux ou plusieurs matières premières ou notes simples. La qualité de l'accord dépend de l'équilibre des proportions et de leur volatilité.

ALAMBIC : Appareil utilisé pour la distillation composé d'une cuve dans laquelle on chauffe de l'eau sous des grilles où les matières à parfum sont disposées. Un col de cygne surmonte cette cuve et conduit la vapeur d'eau chargée des molécules parfumées vers un condenseur (réfrigérateur) où elle sera liquéfiée. L'eau et les huiles essentielles se séparent par différence de densité dans un récipient nommé *vase florentin*.

ALDÉHYDES : Produits de synthèse donnant au parfum un puissant pouvoir de diffusion.

AMBRÉ : Se dit d'un parfum à note douce, vanillé ou poudré.

ANOSMIE : Absence d'odorat.

AROMATIQUE : Caractérise une odeur agréable provenant de certaines espèces végétales.

BASE : Structure olfactive élémentaire. Elle constitue un élément préfabriqué facilitant le travail du créateur dans l'élaboration d'un parfum.

BAUME : Substance résineuse et odorante que secrètent certains végétaux.

BOUQUET : Senteurs rassemblées en une seule.

CHROMATOGRAPHIE : Technique de séparation des différents constituants chimiques des matières premières parfumées.

COMPOSITION : Mélange de produits naturels ou synthétiques. Désigne aussi le produit obtenu à l'issue du travail de création.

CONCENTRÉ : Produit de la composition réalisée par le "nez" et qui sera ensuite plus ou moins dilué dans un produit comme l'alcool selon la formule souhaitée (parfum, eau de parfum, eau de toilette…).

CONCENTRER: Accroître l'effet des éléments odorants d'un parfum .

CONCRÈTE : Produit solide ou semi-solide obtenu en distillant des matières parfumées naturelles par des solvants volatils.

COSMÉTIQUE : Produits de toilette, de soins, de beauté destinés à nettoyer, soigner, à entretenir et à embellir les parties externes du corps humain.

CONTRETYPE : Plagiat ou reproduction d'une composition de parfumerie.

DIFFUSION : Propagation d'une odeur dans l'atmosphère.

DILUER : Diminuer la concentration d'un produit odorant en ajoutant par exemple de l'alcool.

DISSOUDRE: Introduire dans un liquide des éléments solubles d'un produit solide ou semi-solide pour élaborer une solution.

DISTILLATION : Procédé traditionnel d'entraînement par la vapeur d'eau des principes odorants de certaines matières premières (hydrodistillation). On obtient ainsi des huiles essentielles.

DISTILLATION MOLÉCULAIRE : C'est une distillation fractionnée sous vide, avec solvant approprié, permettant d'isoler la partie intéressante d'une essence.

DOMINANTE : Caractéristique de la note la plus perceptible sur le plan olfactif dans une composition. Ex : une note florale à dominante jasmin.

DOSER : Déterminer, en cours de création, les plus justes proportions des différents constituants d'un mélange pour obtenir le meilleur accord olfactif.

EAU DE ROSE : Eau qui a servi à la distillation de la fleur de rose.

EFFLUVE: (nom masculin). Odeur qui se dégage spontanément d'une composition.

EMBAUMER : Dégager une odeur balsamique.

ENFLEURAGE : Méthode ancienne d'extraction à froid des produits floraux, mise au point à Grasse, utilisant la propriété qu'ont certaines graisses d'absorber et de retenir les éléments odorants. Cette méthode était déjà connue dans l'antiquité grecque pour la fabrication des baumes et des pommades odorants. Par la suite, ces graisses parfumées ou pommades furent ensuite lavées à l'alcool pour donner les absolues de pommade.

ESSENCE : Synonyme d'huile essentielle.

ÉVAPORATION: Passage de l'état liquide à l'état gazeux, s'accompagnant d'un dégagement odorant ; la vitesse de l'évaporation dépend du caractère plus ou moins volatil de la substance considérée.

EXPRESSION : Technique d'extraction des huiles essentielles en pressant à froid, par exemple, les zestes des agrumes.

EXTRAIT: Élément parfumé isolé parmi plusieurs constituants par distillation, dissolution, expression, enfleurage etc. Jus et huile essentielle sont ensuite séparés par centrifugation.

FAMILLE : Les parfums ont été classés par les professionnels en sept familles différenciées.

FORMULE : Proportion avec très grande précision de la composition d'un parfum. Elle est connue du seul parfumeur. Comme le dépôt d'un brevet d'invention pour un parfum ne peut encore être effectué, les contrefacteurs ont encore un champ relativement libre. La formule se doit d'être d'une grande confidentialité.

FRACTIONNER : Séparer par distillation les parties de volatilité différente d'une huile essentielle.

FRAGRANCE : Odeur plaisante que dégage un produit parfumé.

GALBANUM : Gomme résine tirée de la plante du même nom.

GAMME : Organisation thématique des odeurs par rapport à une classification olfactive commune à la profession. Désigne aussi l'ensemble des matières premières dont dispose le "nez".

HALÉNÉE : Bouffée de parfum.

HEAD SPACE : Cloche de verre placée sur un élément naturel (feuille, fleur, fruit) et parcourue par un gaz neutre qui va se charger des molécules odorantes qui

caractérisent le parfum du végétal choisi. Le "nez artificiel" permettra d'analyser ensuite le gaz chargé et déterminera la carte d'identité moléculaire de la fragrance du végétal laissé dans son environnement et étudié à l'heure choisie par le spécialiste.

Homéopathie : trouve son origine dans l'utilisation de plantes fraiches servant à la préparation de teintures méres par macération dans de l'alcool et constituant des souches homéopathiques. Des souches d'origine animale ou minérale sont également.

HUILE ESSENTIELLE (ou Essence) : Désigne les produits aromatiques et volatils extraits des végétaux, soit par distillation, soit par expression.

INFUSION : Opération consistant à mettre en contact prolongé, pour six mois au minimum, une matière première solide ou pâteuse, dans de l'alcool éthylique afin d'en dissoudre à froid les principes essentiels. Ex : infusion de musc, d'ambre, de civette, de castoréum, de mousse de chêne, etc.

JUS : Terme désignant la solution alcoolique d'un concentré de parfum.

LIGNE : Ensemble des produits dérivés d'une même fragrance, de l'extrait à l'eau de toilette et commercialisés sous la même appellation.

MACÉRATION : Opération qui consiste à laisser en contact prolongé, de quelques jours à quelques mois, le concentré dans de l'alcool.

MATIÈRES PREMIÈRES : Éléments simples d'une formule de parfumerie.

MOUILLETTE (ou TOUCHE) : Lamelle de papier absorbant utilisée pour tester les parfums en très petite quantité. En les utilisant, le public peut aussi apprécier le parfum commercialisé.

MYRRHE : Gomme résine au parfum capiteux issue du basalmier, originaire d'Abyssinie.

NÉROLI : Nom de l'huile essentielle de la fleur d'oranger amer. Vient du nom de la duchesse Flavio Orsini, princesse de Néroli.

NOTE : Caractéristique de l'odeur d'une matières parfumée. Pour exemple, :note florale, note chyprée, note ambrée.

NOTES : De tête, de cœur, de fond, elles caractérisent la volatilité d'un parfum.

ONGUENT : Autrefois synonyme de parfum. Aujourd'hui, sorte de pommade.

ORGUE À PARFUM : Meuble regroupant des centaines d'échantillons d'huiles essentielles autrefois utilisées par les créateurs.

OSMOLOGIE : Science des odeurs.

PHARMACOPEE EUROPEENNE : un recueil de normes communes, à l'échelle européenne, destinées au contrôle de la qualité des médicaments à usage humain ou vétérinaire et des substances qui entrent dans leur composition.

PALETTE : Ensemble de matières premières fréquemment utilisé par un créateur.

PARFUM : Aboutissement du travail de création d'un parfumeur créateur. Le parfum (ou extrait) désigne également le produit le plus concentré d'une ligne.

PARFUMEUR-CREATEUR : Compositeur chargé de la création du parfum.

Phylothérapie : Utilise des plantes médicinales en l'état, des préparations galéniques qui en résultent et des médicaments à base de plantes.

PRODUIT NATUREL : Produit existant dans la nature, d'origine végétale ou animale.

PRODUIT DE SYNTHÈSE : Produit obtenu par réaction chimique de corps qui peuvent être eux-mêmes issus d'essences naturelles ou d'autres matières sans rapport apparent avec la parfumerie.

PYRAMIDFE OLFACTIVE : Éventail de la volatilité des parfums classé en "notes de tête" légères et très volatiles, fraîches comme les hespéridés, en "notes de cœur", moins volatiles plus voluptueuses, souvent de la classe des florales, enfin les "notes de fond" plus lourdes et plus tenaces, à senteurs animales ou épicées.

RECTIFIER : Par distillation, débarrasser de ses impuretés une matière première.

RÉSINE : Exsudation solidifiée qui survient chez certains végétaux.

RÉSINOÏDE : Produit résineux obtenu par le traitement aux solvants volatils de certains baumes, gommes, résines ou parties sèches de produits naturels. Généralement utilisé comme élément de la note de fond.

SILLAGE : Senteur laissée après le passage d'une personne portant parfum.

SPECTROMÉTRIE : Méthode de mesure et d'analyse physique complémentaire de la chromatographie pour étudier et contrôler des éléments utilisés en parfumerie.

TEINTURE : Infusion.

TOTUM : Ensemble des constituants de la plante supposés actifs, agissant en synergie et par complémentarité pour moduler, modérer ou renforcer l'activité de la drogue.

VÉTIVER : Plante de l'Inde aux racines très odorantes. L'essence de vétiver provient des racines séchées. Peut constituer la note de fond de certains parfums féminins.

VIRÉ : Se dit d'un parfum lorsque son odeur et sa couleur originelles se sont désagréablement dégradées à la suite d'actions physiques ou chimiques provoquées par l'air (oxydation), la lumière, la chaleur ou le vieillissement.

APPENDICE G

► *Listes des communications nationaux*

- Communication affichée « lutte antimicrobienne par les huiles essentielles de plante médicinale Algérienne *Mentha rotundifolia* » Colloque national sur la santé végétale et environnement, le 03 et 04 Mai 2011, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Mascara.

- Communication affichée « Antimicrobial effect of essential oils of the plant *Mentha rotundifolia* on some pathogenic bacteria » 2ème journée d'étude sur l 'écosystème saharien, 24 Mai 2011, Institue des Sciences de la Nature et de la Vie, Centre Universitaire de Ghardaia.

- Communication orale « Antimicrobial effect of essential oils of the plant *trigonilla foncnum* on some pathogenic bacteria » SIPAM, 2012 Ouargla.

► *Listes des communications internationaux*

- Communication orale « De la plante à la pratique thérapeutique » 4 ème Symposium International sur les Plante Aromatiques et Médicinales –SIPAM 4-12 et 13 Mai 2011, FST- Mohammedia, Maroc.

- Communication affichée « Antimicrobial effect of essential oils of the plant *Eucalyptus gomphociphala* on some pathogenic bacteria », Work Shop on Biotechnologie Industrial, 20 et 21 Juillet, Centre de Conférence, Université de Caire Egypte.

- Communication orale « Antimicrobial effect of essential oils of the plant *Eucalyptus camendulensis* on some pathogenic bacteria » International conference on Biology, Environment and Chemistry (ICBE 2011) ,28 et 30 Decembre 2011, Dubai.

- Communication orale « Jordanie « Antibacterial activity of Essential oil of a medicinal Plant *Scinus molle* » The 3 rd International symposium on Medicinal plants, Their Cultivation and Aspcets of uses, 21 et 23 Novembre 2012, Petra, Jordan

- Communication orale « Antimicrobial Effect of Essential oil of Plant *Trigonella focnum greacum* on some Bacteria Pathogens » International conference on agricultural,Biotechnologie, Biological and Biosystems Engineering (ICABBBE 2012), International Scientific Research and Experimental Development, 22 et 23 Aout, Paris, France.

- Communication orale « Antimicrobial Effect of Essential oil of Plant *Eucalyptus* on some Bacteria Pathogens » International conference on Agricultural,Biotechnologie, Biological and Biosystems Engineering (ICABBBE 2013), International Scientific Research and Experimental Development, 29 et 30 Aout, Paris, France.

- Communication orale « Antimicrobial Effect of Essential Oil of Plant *Schinus molle* on Some Bacteria Pathogens » International conference on Bioscience Engineering and Technology (ICBET 2013), International Scientific Research and Experimental Development 05 et 06 December, Istanbul, Turkey.

- Communication orale «Antibacterial and Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camendulensis* on a Few Bacteria and Fungi » International conference on Agroforestry and food Security (ICAFS 2014) International Scientific Research and Experimental Development 18 et 19 Aout, Baecelone, Spain.