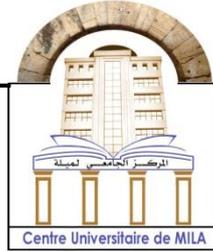


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



N°Ref :.....

Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf- Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie végétale

Thème :

Effet des extraits successifs de déférentes concentrations

méthanoliques sur les activités biologiques

d'*Eucalyptus globulus* labill.

Présenté par :

- **KIHEL Rayane**
- **KHELIFA Soumia**

Devant le jury :

Présidente :	ZARAF A CH.	MCB	Centre universitaire Mila
Examineur :	SAHLI M.	MCB	Centre universitaire Mila
Promoteur :	YAHIA A.	Pr.	Centre universitaire Mila

Année Universitaire : 2022/2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciement

Tout d'abord, louange à «الله» qui nous a donné le courage, nous a guidé sur le droit chemin

Tout au long de ce travail et nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans

Sa miséricorde, ce mémoire n'aurait pas abouti.

Avant de présenter ce travail, nous tenons à remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une

Autre, ont contribué à sa réalisation

*Nous exprimons nos profonds remerciements, nos vives reconnaissances et nos sincères gratitude à **Mr. YAHIA Abdelouhab.**, pour avoir accepté de Nous encadrer et pour ses conseils et ses précieuses orientations pour nous avoir accordée sa confiance, ainsi que le temps qu'il nous à consacrer pour notre travail.*

*Nos remerciements vont également à **Mme. ZARFA. CH.**, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect.*

*Nos remerciements vont également à **Mr. SAHLI. M.**, D'avoir accepté de prendre part au jury chargé d'examiner ce travail. Qu'elle trouve ici l'expression de notre Profond respect.*

*Nous n'oublions pas de remercier infiniment **Mme. AMMARI. S.**, et **Mme. BENSERADJ. W.**, pour nous avoir guidés et aidés à la réalisation de l'activité antibactérienne et qui nous donné les souches bactériennes.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à **Mr. BOUTALAA.S.**, pour les efforts qu'il a déployés pour nous aider et nous guider. Merci pour votre aide précieuse.*

Mes profonds remerciements vont à mes chers parents, pour leur soutien et leur confiance en nous ainsi qu'à nos proches et à tous ceux qui ont servis, de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

À mes très chers parents « **Ghenoudja et Azzeddine** »,

Que j'admire beaucoup, qui m'ont Toujours aidés dans ma vie et qui n'ont cessés de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études, que dieu les garde en bonne santé.

A mon mari **Hossam**,

Je ne vous remercierai jamais assez pour votre compréhension, votre patience, votre tendresse et votre amour. Vous m'avez soutenu et encouragé. Je vous suis sincèrement reconnaissant pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A mon cher fils **Asel** ♥,

La chose la plus douce de ma vie, Les mots d'amour ne suffisent pas pour exprimer à quel point je t'aime, mon petit. Je te souhaite la santé, le bonheur et la réussite. Que ^{Allah} te protège de tous mal.

A mes chères sœurs, chacune en son nom, surtout **Amina**

Merci pour votre soutien et vos encouragements, je vous aime ♥.

A tous mes neveux et nièces, surtout ma petite **Lina**

A tous ma famille et la famille de mon mari

A mes chers amis : **Sara, Loubna et Reukia**.

A mon binôme **Soumia**

Qui est partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

A tous ceux qui m'ont soutenu dans ce travail de près ou de loin, merci

Rayane

Dédicace

Au nom d'Allah, le tout miséricordieux, le très miséricordieux. Les Louanges sont à Allah seigneur de l'univers qui nous a donné la force, la patience, le courage, pour compléter cette modeste recherche.

Mes chers Parents :

*A ma très chère mère **Ghania** ;*

Tu es l'exemple de dévouement qui n pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Et Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver t'accorder santé, longue vie et bonheur.

*A mon père **Cherif** ;*

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est fruit de tes sacrifices qui tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mes sœurs :

***Imene**, Vous êtes le modèle de la sœur aînée plus sage et gentille que nous trouvons dans les moments difficiles.*

***NourElhouda**, que j'ai toujours considérée comme mon soutien et mon modèle dans le cheminement scolaire et dans la vie en général.*

***Abir, Roudeina, Khouloud** j'espère que Dieu vous protégera et réalisera vos rêves.*

*À mon frère **Salah Eddine**,*

Je prie Dieu de te protéger et de t'accorder le succès dans ta vie.

*À ma belle nièce **Djana**,*

Qui a embelli notre famille cette année. Que Dieu te protège de tout mal. Je te souhaite santé, bonheur et réussite.

*A mon binôme **Rayane**,*

Qui est partagée avec moi les moments difficiles pour réaliser ce travail.

Soumia

Table des matières

Remercîment	
Dédicace	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Introduction	1

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'Eucalyptus globulus

I. Généralité sur la famille de Myrtacée	3
I.1. Principales espèces d'Eucalyptus en Algérie	3
I.2. Généralités sur l' <i>Eucalyptus globulus</i>	4
I.2.1. Nom commun <i>E. globulus</i>	4
I.2.2. Historique.....	4
I.2.3. Description botanique	5
I.2.4. Classification	8
I.2.5. Répartition géographique	8
I.2.6. Utilisations traditionnelles	9
I.2.7. Intérêts du genre Eucalyptus	10
I.2.7.1. Croissance très rapide	10
I.2.7.2. Absorption importante de l'humidité	11
I.2.7.3. Dégagement d'huile essentielle.....	11
I.2.7.4. Capacité d'adaptation	12

I.2.8. Conditions de culture de l'eucalyptus 13

Chapitre II : Métabolisme secondaire

II.1. Généralités..... 15

II.2. Classification..... 15

II.2.1. Polyphénols 15

II.2.1.1. Acides phénoliques 16

II.2.1.2. Tanins..... 17

II.2.1.3. Flavonoïdes 18

II.2.1.4. Lignine 19

II.2.1.5. Coumarines 20

II.2.1.6. Saponines 20

II.2.1.7. Anthocyanes..... 20

II.2.2. Alcaloïdes 21

II.2.3. Terpènes et les stérols..... 21

II.2.4. Huiles essentielles 22

II.3. Métabolites secondaires les plus courants chez les Eucalyptus 23

II.4. Rôles des métabolismes secondaires..... 23

Chapitre III : Activités antibactériennes

III.1. Activité antibactérienne 26

III.2. Bactéries..... 26

III.3. Antibiotiques..... 27

III.4. Résistance aux antibiotiques 27

III.5. Culture des bactéries 27

III.6. Classification des bactéries 28

III.7. Principales substances antimicrobiennes 28

III.8. Données générales sur les bactéries testées 29

III.9. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne 30

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.1. Matériel	33
I.1.1. Matériel végétal	33
I.1.2. Réactifs utilisés	33
I.1.3. Souches bactériennes utilisées	33
I.2. Méthodes	33
I.2.1. Préparation d'échantillon	33
I.2.2. Préparation des extraits	34
I.2.3. Screening phytochimique	37
I.2.4. Rendement d'extraction	39
I.2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne.....	39
Préparation des milieux	40

Chapitre II : Résultats et Discussions

II.1. Screening phytochimique.....	48
II.1.1. Résultat	48
II.1.2. Discussion.....	50
II.2. Rendement d'extraction	50
II.2.1. Résultat	50
II.2.2. Discussion.....	51
II.3. Activité antibactérienne des extraits bruts d' <i>E. globulus</i>	51
II.3.1. Résultats	51
II.3.2. Discussion.....	54

Conclusion

Références bibliographique

Annexes

Liste des abréviations

- ° : Degré.
- C : Celsius.
- Secs : seconde
- min : Minute
- h : Heure.
- mg : Milli gramme.
- L : litre.
- ml : Millilitre.
- mm : Millimètre.
- Cm : Centimètre.
- W : Watt.
- HZ : Hertz.
- V : Volume.
- UV : Ultra-Violet.
- µl : Microlitre.
- % : Pourcentage.
- T0 : Dilution 100%.
- C : Concentration.
- C : Carbone.
- T° : Température.
- N° : Numéro.
- T : Témoin.
- BN : Bouillon Nutritif.
- MH : Mueller Hinton.
- GN : Gélose Nutritif.
- SM : Solution mère.
- R : Masse de l'extrait sec.
- M₀ : Masse en gramme du matériel.
- M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- *E.coli* : *Escherichia coli*.

- **S.aureus** : *Staphylocoques aureus*.
- **P.aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa*.
- **B.subtilis** : *Bacillus subtilis*.
- **HCl** : Acide chlorhydrique.
- **MeOH** : Méthanol.
- **NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- **NH₄OH** : Ammoniaque.
- **FeCl₃** : Chlorure ferrique.
- **KOH** : Hydroxyde de potassium.
- **H₂O** : L'eau.
- **Ca** : Calcium.
- **Mg** : Magnésium.
- **E. globulus** : *Eucalyptuse globulus*.
- **DMSO** : Diméthylsulfoxyde.

Liste des figures

Figure 01 : Aire de répartition des myrtacées dans le monde	3
Figure 02 : Photo d'arbre d' <i>E. globulus</i>	5
Figure 03 : Tronc de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	6
Figure 04 : Feuille de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	7
Figure 05 : photographie de fleur de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	7
Figure 06 : photographie de fruit de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	8
Figure 07 : répartition de la production mondiale de pâte à papier en 2016	10
Figure 08 : « Blue haze ».....	12
Figure 09 : Noyau phénols	16
Figure 10 : Acide benzoïque	16
Figure 11 : Acide cinnamique	17
Figure 12 : Structure des tanins hydrolysables A, tanin gallique B	18
Figure 13 : Structure de base des tanins condensés.....	18
Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes	19
Figure 15 : Structure des alcools formant la lignine.....	19
Figure 16 : Structure chimique des acides coumariques	20
Figure 17 : Structure chimique d'un Terpénoïdes	22
Figure 18 : Structure d'une bactérie.....	26
Figure 19 : Feuilles d' <i>E. globulus</i>	34
Figure 20 : Poudre d' <i>E. globulus</i>	34
Figure 21 : Protocole d'extraction par macération des extraits éthanoliques.....	35
Figure 22 : Protocole d'extraction par macération des extraits méthanoliques	37
Figure 23 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH).	40
Figure 24 : Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN).	41
Figure 25 : Préparation de l'eau physiologique.....	41
Figure 26 : Préparation des disques d'aromatogramme.	42
Figure 27 : Stérilisation du matériel à l'autoclave.....	42
Figure 28 : Réactivation des souches bactériennes.	42

Figure 29 : Repiquage des souches bactériennes.	43
Figure 30 : Dilution d'extraits.	43
Figure 31 : Préparation de l'inoculum bactérien.	44
Figure 32 : Coulage de milieux de culture MH.....	44
Figure 33 : Ensemencement bactérienne.	45
Figure 34 : Dépôts des disques et l'injection des extraits.	46

Liste des tableaux

Tableau 01 : Résultats des tests phytochimique des feuilles d' <i>E. globulus</i>	48
Tableau 02 : Récapitulatif regroupant les rendements des extraits des feuilles d' <i>E.globulus</i>	51
Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>S.aureus</i>).....	52
Tableau 04 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>B.subtilis</i>)	53
Tableau 05 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>E.coli</i>)	53
Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (<i>P. aeruginosa</i>).....	54

Résumé

Nous avons mené une étude sur les effets successifs de différentes concentrations métaboliques d'*Eucalyptus globulus* Labill, une plante médicinale appartenant à la famille des Myrtacées, afin d'évaluer ses activités biologiques. Les extraits bruts ont été obtenus par une méthode de macération.

Nos résultats indiquent que des tests de screening phytochimiques ont révélé la présence d'acides phénoliques, tanins, glucosides, saponines, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones libres, coumarines et d'huiles essentielles dans la plante.

Nous avons constaté que l'extrait hydrométhanolique (40%) présentait le rendement le plus élevé, atteignant 23,4%.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, nous avons observé que l'*Eucalyptus globulus* possédait une activité antibactérienne important. La sensibilité des souches bactériennes testées variait en fonction des dilutions des extraits bruts et de la nature bactérienne. Nous avons notamment observé une forte activité contre la souche *B. subtilis* (11-26,50mm). En revanche, une faible activité contre la souche *E.coli* (7,00-14mm).

Mots clés : *Eucalyptus globulus* Labill, extrait bruts, phytochimie, rendement, activité antibactérienne.

ملخص

لقد أجرينا دراسة حول التأثير المتتابع للتراكيز الأيضية المختلفة لنبات *Eucalyptus globulus labill*، وهو نبات طبي ينتمي إلى عائلة الأسيات، من أجل تقييم أنشطته البيولوجية. تم الحصول على المستخلصات الخام بطريقة النقع.

تشير نتائجنا إلى أن اختبارات الفحص الكيميائي النباتي كشفت عن وجود الأحماض الفينولية، العفصيات، الجلوكوزيدات، الصابونيات، الفلافونويدات، القلويدات، الكينونات الحرة، الكومارينات والزيوت الأساسية في النبات. وجدنا أن المستخلص المائي الميثانولي (40%) كان له أعلى عائد حيث بلغ 23,4%.

فيما يتعلق بالنشاط المضاد للبكتيريا، لاحظنا أن الـ *Eucalyptus globulus Labill* يمتلك نشاطا كبيرا مضادا للبكتيريا. اختلفت حساسية السلالات البكتيرية المختبرة حسب تخفيف المستخلصات الخام والطبيعة البكتيرية على وجه الخصوص، لاحظنا نشاطا قويا ضد سلالة *B. subtilis* (26.50-11.00 مم) في المقابل نلاحظ نشاط ضعيف ضد سلالة *E. Coli* (7.00-14.00 مم).

الكلمات المفتاحية هي: *Eucalyptus globulus Labill* ، مستخلص خام، كيمياء نباتية، إنتاجية نشاط مضاد للجراثيم.

Abstract

We conducted a study on the successive effects of different metabolic concentrations of *Eucalyptus globulus* labill, a medicinal plant belonging to the Myrtaceae family, in order to evaluate its biological activities. The crude extracts were obtained by maceration method.

Our results indicate that phytochemical screening tests revealed the presence of phenolic acids, tannins, glucosides, saponins, flavonoids, alkaloids, free quinones, coumarins and essential oils in the plant.

We found that the hydroethanolic extract had the highest yield, reaching 23,4%.

Regarding antibacterial activity, we observed that *Eucalyptus globulus* possessed significant antibacterial activity. The sensitivity of the bacterial strains tested varied according to the dilutions of the crude extracts and the bacterial nature. In particular, we observed strong activity against the *B. subtilis* strain (11-26,5mm). On the other hand, bacterial activity is weak against the *E.coli* strain (7,00-14,00mm).

Keywords: *Eucalyptus globulus* labill, crude extract, phytochemistry, yield, antibacterial activity.

Introduction

Introduction

Pendant de nombreuses années, la médecine traditionnelle a employé les plantes médicinales en tant que remèdes à base de végétaux, pouvant être utilisées entièrement ou sous forme de parties spécifiques, dans un but thérapeutique. Aujourd'hui, il est largement reconnu que ces plantes constituent une importante source de molécules bioactives (**Bruneton, 1993**).

De nos jours, le domaine des plantes médicinales et aromatiques englobe principalement des industries telles que la parfumerie, les cosmétiques, l'agroalimentaire et l'aromathérapie. Cette dernière est une branche de la phytothérapie qui exploite les propriétés médicales des arômes, des essences et des huiles essentielles. Elle fait partie intégrante des médecines naturelles (**Oullai et Chamek, 2018**).

En raison de sa position biogéographique, l'Algérie est reconnue pour sa diversité taxonomique. Sa flore est potentiellement riche, abritant de nombreuses espèces endémiques. De plus, le pays offre un environnement propice au développement de la culture des plantes aromatiques et médicinales (**Chouitah, 2011**).

Plusieurs espèces de la famille des Myrtacées ont été importées en Algérie à des fins d'embellissement ou de reboisement. C'est particulièrement le cas des eucalyptus (**Quézel et Santa, 1963**). Le genre *Eucalyptus* compte au moins 600 espèces réparties à travers le globe (**Hurtel, 2001**). Parmi ces espèces, ils ya : *Eucalyptus citriodora* ; *Eucalyptus camaldulensis* ; *Eucalyptus globulus* Labill.

L'objectif de notre mémoire est de procéder à l'extraction et à l'évaluation des propriétés bioactives de l'*Eucalyptus globulus*, une plante de la famille des Myrtaceae, en recherchant des extraits bruts d'avoir une utilisation thérapeutique. Ainsi, nous avons choisi d'étudier la plante *Eucalyptus globulus* dans le cadre d'une étude phytochimique.

Notre étude se concentre principalement sur les axes suivants :

Dans le premier chapitre, nous avons examiné les références bibliographiques liées ou *Eucalyptus globulus* labill.

Le deuxième chapitre est consacré à la description du matériel et des méthodes utilisés dans notre étude.

Le troisième chapitre présente les résultats expérimentaux obtenus, suivis de leur discussion. Ce chapitre se conclut par une synthèse des résultats.

Partie I :
Synthèse bibliographique

Chapitre I :
Généralités sur l'Eucalyptus
globulus

I. Généralité sur la famille de Myrtacée

La famille des Myrtacées est constituée de plantes dicotylédones, comprenant plus de 5 650 espèces réparties approximativement entre 48 et 134 genres différents. Ces plantes se présentent sous la forme d'arbres et d'arbustes et sont souvent riches en huiles aromatiques (Gevaert et al, 2008).

De nombreuses espèces de cette famille possèdent des propriétés médicinales et sont fréquemment utilisées en médecine traditionnelle.

La famille de myrtacée pousse principalement dans plusieurs régions du monde, telles que l'Australie, l'Amérique tropicale, la région méditerranéenne, l'Afrique subsaharienne, Madagascar, les régions tropicales et tempérées d'Asie, ainsi que les îles du pacifique. On peut citer le genre : *Eucalyptus* (Bruneton, 1999) (figure 01).

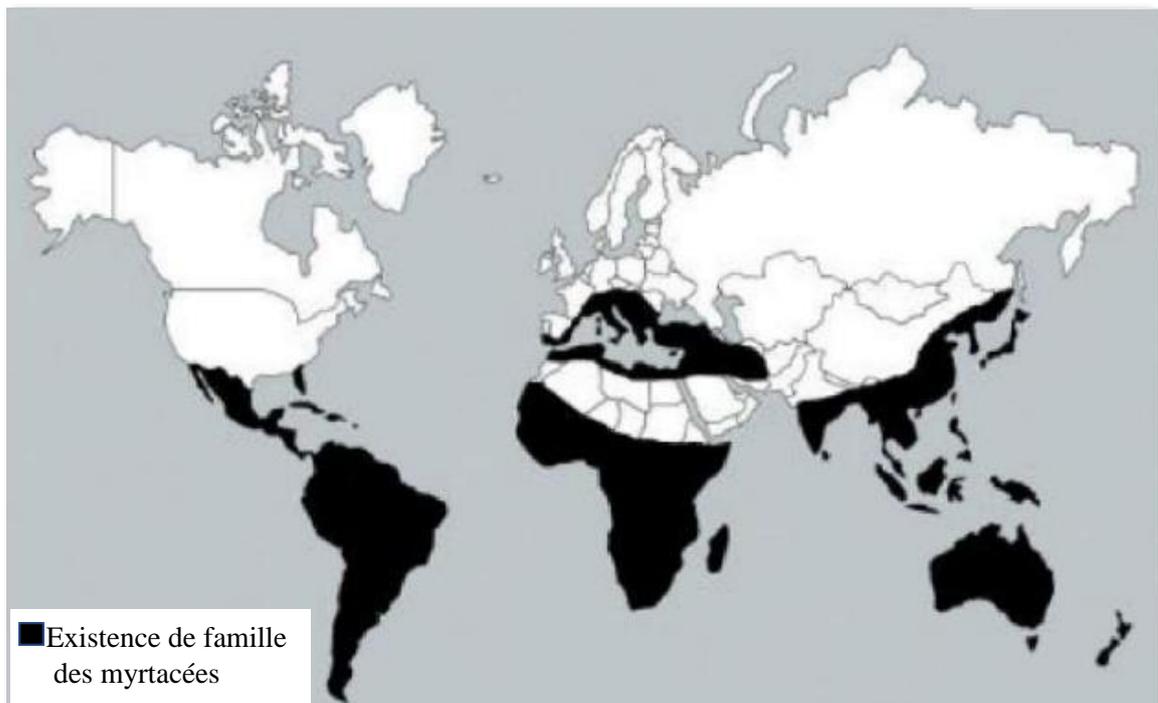


Figure 01 : Aire de répartition des myrtacées dans le monde (Heywood, 1996).

I.1. Principales espèces d'*Eucalyptus* en Algérie

En Australie, il existe plus de 600 espèces d'*Eucalyptus*. Un certain nombre d'entre elles sont cultivées ou essayées en Algérie, d'après ces auteurs Aït Youssef (2006) et Baba Aïssa (1999) sont :

- *Eucalyptus globulus* ou gommier bleu ;

- *Eucalyptus citriodora* son huile essentielle lui procure odeur citronnelle et verveine ;
- *Eucalyptus camaldulensis* ou gommier rouge.

I.2. Généralités sur l'*Eucalyptus globulus*

I.2.1. Nom commun *E. globulus*

- **Nom latin** : *Eucalyptus globulus* Labill.
- **Noms français** : *Eucalyptus globuleux*, gommier bleu, eucalyptus bleu, Arbre à fièvre, eucalyptus commun, eucalyptus officinal.
- **Les noms vernaculaires** : Calitous « le nom le plus connue en Algérie », Calibtus, Kafor. Ces noms sont les plus populaires en Algérie qui sont appelés dans plusieurs différentes régions (Aït Youssef, 2006).

I.2.2. Historique

L'*Eucalyptus globulus*, appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie, a été découvert par le botaniste français La Billardière, naturaliste qui accompagnait l'expédition de l'explorateur français Bruni d'Entrecasteaux en Tasmanie en 1791. En 1792, il lui a donné le nom d'*Eucalyptus globulus* Labill (Orme,2000).

L'espèce a été introduite en Europe pour la première fois en 1804 mais c'est grâce aux efforts de Ramel à son retour d'Australie en 1857, que des plantations ont été créées dans le sud de l'Europe et en Afrique du nord (Orme, 2000).

A peu près à la même date, des eucalyptus (principalement *globulus*) ont été introduits au Portugal, en Californie, en Amérique du nord, au Chili (1823), en Afrique du sud (1828), en Inde (1843), en Argentine (1857), en Egypte et en Andalousie (Orme, 2000).

Dès 1883, Balbino mentionne la présence d'*Eucalyptus globulus* en Europe et indique que les arbres ont été plantés pour la première fois près de Santander en Espagne en 1863. Ces plantules venaient des îles d'Hyères, près de Toulon en France (Orme, 2000).

Les arbres mère de ces plantules provenaient des collectes faites par Labillardière en Tasmanie, puisque à l'époque il n'aurait pas été possible de trouver de graines provenant d'autres collections (Orme, 2000).

Les espèces du genre *Eucalyptus* ont été introduites massivement en Algérie dès le XIXe siècle (dès 1856), en particulier l'*E. globulus* qui est planté aux bordures des routes dans le nord de l'Algérie. Les premiers planteurs étaient des missionnaires d'origine

européenne, ils l'ont exploité dans le but d'assainir les terrains marécageux où pullulaient les anophèles et les moustiques qui sont vecteurs d'une maladie parasitaire endémique : le Paludisme (Aït Youssef, 2006).

I.2.3. Description botanique

Le *E. globulus* ou gommier bleu est un arbre (**Figure02**) sempervirent qui peut croître jusqu'à 30 à 35 m de hauteur dans les régions méditerranéennes (Aït Youssef, 2006), et jusqu'à 100 m dans le milieu naturel (Australie et Tasmanie) (Ghedira *et al.*, 2008).

- **Odeur** : forte, fraîche, balsamique « odeur d'une baume », camphrée.
- **Saveur** : chaude aromatique, un peu amère, suivie d'une sensation de fraîcheur prononcée et agréable.
- **Diamètre** : de 0-80cm à 1 m50.
- **Couleur du bois** : pâle ou légèrement foncé.
- **Densité** : au 2m de 750 à 950, moyenne 890 kg.
- **Biotope** : Très cultivé sur le littoral dans l'air de l'oranger, il préfère les terrains humides. Le but, c'est d'assainir les régions marécageuses. Comme il est planté fréquemment en bordures de routes et forme beaucoup de bois dans la partie nord de pays.
- **Epoque de la floraison** : janvier-avril et septembre-octobre (Menager, 1952).



Figure 02 : Photo d'arbre d'*E. globulus* (photo personnelle, 2023)

❖ **Tronc**

Est lisse et cendré, recouvert d'une écorce qui s'exfolie en long lambeaux (**Ghedira et al., 2008**). Il possède également des anfractuosités contenant une gomme dite « Kito » dont la couleur varie du rouge sang au rouge sombre (**figure 03**) (**Aït Youssef, 2006**).



Figure 03 : Tronc de l'*Eucalyptus globulus* (Photo personnelle, 2023).

❖ **Feuilles**

Sont persistantes et polymorphes selon l'âge du rameau. Les rameaux jeunes possèdent des feuilles larges courtes, opposées, sessiles et disposées horizontalement sur les rameaux(**Figure 04**)(**Babba Aïssa, 1999 ; Ghedira et al., 2008**).

Elles mesurent 10 à 15 cm de long et 4 à 8 cm de large avec un limbe entier qui renferme des nodules sécréteurs visibles par transparence (**Aït Youssef, 2006**).



Figure 04 : Feuille de l'*Eucalyptus globulus* (Photopersonnelle, 2023).

❖ **Fleur**

Est un gros bouton floral qui prend naissance à l'aisselle de la feuille solitaire, de couleur bleu-blanc (Ghedira et al., 2008), elle ressemble schématiquement à une sorte de boîte s'ouvrant par un couvercle, ayant la forme d'une urne quadrangulaire dont les arêtes saillantes correspondent aux quatre sépales. Cette urne à quatre pans, de nature ligneuse, mesure 1 à 1,5 cm de long et a un sommet coiffé d'un couvercle déhiscent formé par les 4 pétales soudées (Aït Youssef, 2006). Ce couvercle se soulève à la floraison laissant apparaître de nombreuses étamines à long filets blanchâtres disposés en bouquets, et se détache à la maturité de la fleur (Figure 05) (Baba Aïssa, 1999 ; Wichtl et Anton., 2003).



Figure 05 : photographie de fleur de l'*Eucalyptus globulus* (Photo personnelle, 2023).

❖ **Fruit**

Est une capsule ligneuse dure et anguleuse, en forme de pyramide quadrangulaire renversée (Aït Youssef, 2006), prenant une teinte marronne à maturité et s'ouvrant légèrement par trois, quatre à cinq fentes (qui dessinent une étoile à son sommet) pour libérer de nombreuses graines sombres (Figure 06) (Ghedira et al., 2008).



Figure 06 : Fruit de l'*Eucalyptus globulus* (Photo personnelle, 2023).

I.2.4. Classification

La systématique d'*E. globulus* selon **Deysson (1979)** est la suivante :

- **Règne :** Végétal
 - **Embranchement :** Spermaphyte
 - **Sous embranchement :** Angiosperme
 - **Classe :** Dicotylédones
 - **Ordre :** Myrtales
 - **Famille :** Myrtaceae (Myrtacée)
 - **Genre :** Eucalyptus
 - **Espèce :** *Eucalyptus globulus*.

I.2.5. Répartition géographique :

L'*Eucalyptus globulus* est une espèce dominante des régions tempérées du monde. (**Hingston, 2002**). Cependant, il est rarement trouvé en vastes peuplements purs, ce qui signifie qu'il est généralement associé à d'autres espèces d'eucalyptus.

L'*Eucalyptus globulus* est originaire du sud-est de l'Australie, mais il est cultivé dans le monde entier en raison de son utilisation dans l'industrie du bois à pâte et du bois (**Zhang et Koubaa, 2011**). En Europe, en Afrique du Sud et en Espagne en particulier, sa culture est

répandue. L'Espagne est le pays qui compte le plus de plantations d'Eucalyptus, couvrant environ 0,6 million d'hectares, (Puig et al., 2019).

❖ En Algérie :

Les eucalyptus ont été introduits en Algérie entre 1856 et 1860, et plusieurs espèces ont donné d'excellents résultats dans les régions subhumides et semi-arides du pays, principalement en dessous de 800 mètres d'altitude et dans des régions recevant plus de 400 mm de précipitations annuelles. En 1965, la superficie des plantations était estimée à 28 200 hectares l'*E. globulus* est rapidement répandu en Algérie entre 1860 et 1870 (Jacques, 1966).

À cette époque, il occupait une surface de 5 855 hectares, dont plus de la moitié se trouvait dans la région Oranaise. Actuellement, des plantations d'eucalyptus longent le littoral d'El-Kala et d'Azzefoun. On peut également trouver cette espèce dans la région de la Mitidja et celle de Hadjout. D'autres régions en Algérie ont également planté des eucalyptus, notamment à Blida, Boumerdes (93 hectares), Relizane, Skikda (2250 hectares), S.Belabas (342 hectares), Sétif (10 ares) et Ataref (1000 hectares) (boukhelfoun, 2012).

I.2.6. Utilisations traditionnelles :

Le baron Ferdinand von Muller, directeur des Jardins botaniques de Melbourne, a fait connaître ses qualités médicinales. Grimbert a signalé que l'eucalyptus était efficace pour assainir les régions marécageuses où il était planté et qu'il purifiait l'atmosphère grâce à son essence volatile. En fait, les plantations d'eucalyptus ont été utilisées pour désinfecter la région d'Alger. Son action antipaludique a été confirmée par la disparition des moustiques en Campanie (Italie), en Sicile, en Sardaigne et au lac Fezara en Algérie. Au XIXe siècle, l'eucalyptus était considéré comme un antipyrétique, un analgésique contre les maux de tête, un antispasmodique et un expectorant. L'écorce était réputée pour ses propriétés antispasmodiques et antipyrétiques (Ghedira et al., 2008 ; Pal Sing et al., 2012). Les feuilles d'*E. globulus* sont traditionnellement utilisées par voie orale et en usage local pour soulager les symptômes du rhume et de la congestion nasale (Bruneton, 1993). Cette huile essentielle présente également des propriétés antirhumatismales, stimulantes et tonifiantes (Dhaked et al., 2018). Elle est utilisée pour traiter les affections des voies respiratoires telles que la tuberculose pulmonaire. C'est un excellent cicatrisant naturel utilisé pour panser les plaies, les brûlures et les leucorrhées (Boulekbache et al., 2011).

I.2.7. Intérêts du genre *Eucalyptus*

I.2.7.1. Croissance très rapide

Dans le passé, nous avons constaté qu'il existe plus de 700 espèces d'eucalyptus, mais seulement une petite dizaine d'entre elles sont exploitées à grande échelle de nos jours. Les eucalyptus sont largement exploités en raison de leur croissance extrêmement rapide (**Burnig et al., 2013**). Grâce à cette caractéristique, les eucalyptus ont rapidement été considérés comme une ressource économique précieuse et sont devenus les arbres feuillus les plus plantés au monde. Ainsi, en 2018, la superficie totale des plantations d'eucalyptus couvrait environ 20 millions d'hectares de terre dans une centaine de pays. Cette caractéristique rend l'utilisation de l'eucalyptus incontournable dans l'industrie, notamment pour la fabrication de pâte à papier. En effet, la demande de l'industrie papetière ne cesse de croître, mais les ressources disponibles sont insuffisantes. Les industries ont donc dû s'adapter pour répondre à cette demande croissante (**Cirad, 2018**).

La solution trouvée a été de planter des forêts d'eucalyptus à croissance très rapide afin d'obtenir une quantité suffisante de bois pour répondre à la demande. Ainsi, des forêts spécifiques ont été créées pour la fabrication de pâte à papier, notamment au Brésil. La Chine occupe actuellement une position dominante sur le marché de la pâte à papier (**Figure07**) (**Copacel, 2017**).

La pâte à papier est désormais produite à partir de plantations de conifères ou d'eucalyptus, en particulier l'*E. globulus* (**Halle, 2008**). Il est donc juste de dire que l'eucalyptus est devenu "l'or vert" de l'industrie papetière.

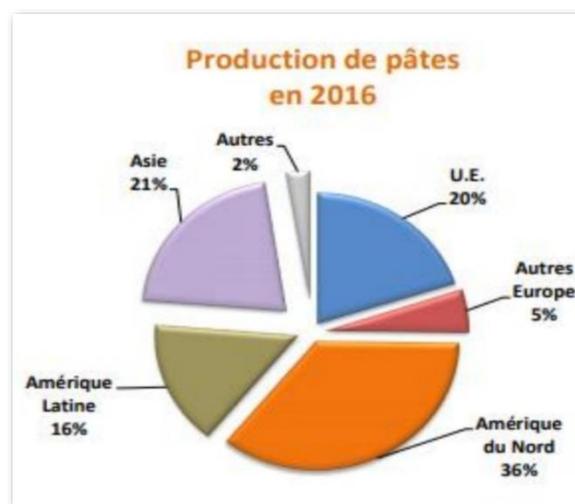


Figure 07 : Répartition de la production mondiale de pâte à papier en 2016 (**copacel, 2017**)

I.2.7.2. Absorption importante de l'humidité

L'introduction des eucalyptus a entraîné une diminution des ressources en eau, car ces arbres ont une forte demande en eau, ce qui peut restreindre, voire empêché, la croissance des plantes indigènes environnantes. L'absence d'ombre et le manque de réserve d'eau dans l'environnement peuvent entraîner la disparition de la flore avoisinante (**Chevalier, 2013**). La plupart des espèces d'eucalyptus possèdent une grande capacité d'absorption de l'eau souterraine, même dans des conditions désertiques (**Harding, 200**).

Cependant, cet inconvénient peut également être considéré comme un avantage. Les eucalyptus ont souvent été plantés dans le but de drainer les zones marécageuses qu'ils colonisent. Ils contribuent ainsi à assainir les zones humides, qui peuvent parfois être insalubres. Le drainage élimine les marécages, supprimant ainsi les gîtes de reproduction des larves de moustiques et contribuant efficacement à réduire les risques de transmission de certaines maladies (**Bertrand, 2007**). Par exemple, des eucalyptus ont été plantés dans les zones marécageuses de Californie (**Brosse, 2000**) et de Madagascar pour lutter contre le paludisme (**Harding, 2005**).

En plus de leur croissance rapide, c'est cette capacité d'absorption de l'eau qui a d'abord valu à ces arbres une reconnaissance mondiale (**Brosse, 2000**).

Cependant, cette capacité à assécher les sols pose de nombreux problèmes, notamment une diminution de la flore environnante, comme mentionné précédemment, ainsi que l'augmentation des risques d'incendie. En effet, pendant les périodes de fortes chaleurs, de nombreux incendies se déclarent dans les forêts d'eucalyptus en raison de la sécheresse accentuée par la diminution de l'eau dans le sol.

I.2.7.3. Dégagement d'huile essentielle

Nous avons récemment constaté que la chaleur combinée à l'assèchement des sols causé par les eucalyptus peut provoquer des incendies de forêt. Cependant, il existe une autre conséquence de la chaleur : le phénomène appelé "Blue haze" (**Figure 08**) (brume bleue en français). En raison de la chaleur, les eucalyptus libèrent des vapeurs d'huiles essentielles dans l'atmosphère, créant ainsi ce spectre bleu qui est hautement inflammable. Ainsi, lorsque l'atmosphère est saturée en vapeurs d'huiles essentielles d'eucalyptus, les feux de brousse peuvent facilement se déclencher, et parfois les arbres explosent (**Unesco, 2007**).

La chaîne de montagnes Greater Blue Mountains, située dans l'État de Nouvelle-Galles du Sud, dans le sud-est de l'Australie, tire d'ailleurs son nom de cette brume bleue. Cette

région des Montagnes Bleues abrite une grande diversité d'espèces et d'écosystèmes, avec 152 familles de plantes, 484 genres et environ 1 500 espèces. On y trouve notamment plus de 100 espèces de la famille des Myrtacées, plus de 100 espèces de la famille des Fabacées et plus de 70 espèces de la famille des protéacées. Les eucalyptus présents dans cette région représentent 13% du total mondial. Grâce à cette diversité d'espèces, la région des Montagnes Bleues a été inscrite au patrimoine mondial de l'UNESCO en l'an 2000. Elle est ainsi devenue la quatrième région de Nouvelle-Galles du Sud à recevoir cette distinction. La région s'étend sur 1,03 million d'hectares et est principalement recouverte de forêts d'eucalyptus (Unesco, 2007).

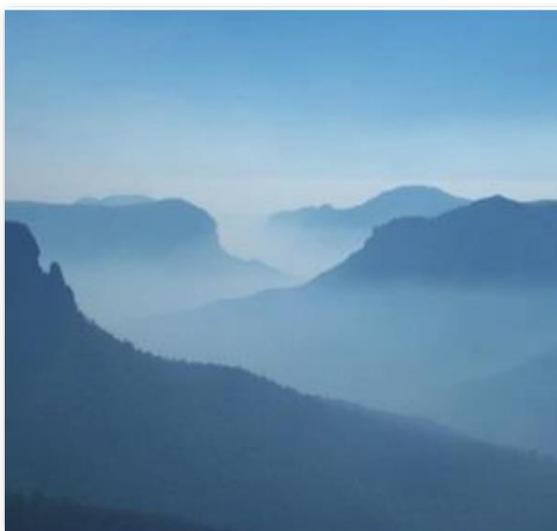


Figure 08 : Blue haze (Woods, 2019)

I.2.7.4. Capacité d'adaptation

Nous avons précédemment constaté que les eucalyptus possèdent une remarquable capacité d'adaptation, pouvant prospérer aussi bien dans des climats froids que chauds. Il est intéressant de noter qu'ils ont également développé une stratégie pour maintenir leur espèce malgré les feux de forêt.

Les incendies sont fréquents dans les forêts d'eucalyptus, car ces arbres ont la particularité d'assécher les sols et d'émettre une vapeur d'huile essentielle inflammable. De plus, ils produisent une grande quantité de déchets inflammables.

Chaque été, des dizaines de milliers d'hectares d'eucalyptus partent ainsi en fumée, principalement en raison de la monoculture de cette espèce qui est riche en essence. Par conséquent, l'emblème de la Tasmanie peut se transformer, à cause de l'activité humaine, en un arbre synonyme de désolation et de désertification (Bertrand, 2007).

Cependant, pour faire face à ce problème, les eucalyptus se sont adaptés aux feux périodiques afin de survivre. Ils possèdent des bourgeons de réserve situés sous leur écorce, qui peuvent rapidement donner naissance à de nouvelles pousses (Unesco, 2007).

De plus, les fruits des eucalyptus sont résistants à la chaleur et ne libèrent leurs graines qu'après avoir été brûlés et lorsque l'incendie est passé. Ainsi, après un feu de forêt, les cendres compensent l'appauvrissement des sols en nutriments, favorisant ainsi la dispersion des graines sur des sols enrichis par les cendres. Cela permet aux eucalyptus de repeupler les forêts (Unesco, 2007). Comme le phénix, l'eucalyptus peut renaître de ses cendres.

I.2.8. Conditions de culture de l'eucalyptus

-Rusticité : La plupart des eucalyptus ne tolèrent pas des températures inférieures à -3/5°C. Cependant, la résistance au froid peut varier selon les espèces. Elle dépend également de la provenance de l'arbre, de la durée du froid, de l'âge et de l'état général de l'arbre, ainsi que des caractéristiques du sol (Baid, 2018)

D'E. *globulus*, par exemple, peut supporter des températures moyennes maximales du mois le plus chaud entre 18 et 23°C, des températures moyennes minimales du mois le plus froid de 4°C, et des périodes de gel jusqu'à 7°C. Il peut résister à des gelées pendant 0 à 5 jours (FAO, 1982).

-Exposition : L'eucalyptus préfère une exposition en plein soleil, avec un espace suffisant pour permettre son plein développement (Baid, 2018). Il peut supporter des vents modérés et des embruns occasionnels (Rahmane et al., 2016)

-Sol et pluies : L'eucalyptus est adaptable à la sécheresse et à différents types de sols. Cependant, il ne tolère pas la présence de calcaire actif dans le sol, ce qui entraîne une chlorose des feuilles. Il ne tolère pas non plus les sols hydromorphes, qui sont régulièrement saturés d'eau (Baid, 2018).

L'E. *globulus* peut résister à des pluies d'hiver à pluies uniformes, avec un total de 500 à 1500 mm de précipitations. Il peut également survivre dans des saisons sèches peu sévères jusqu'à 3 mois (FAO, 1982)

Il est important de noter que ces informations s'appliquent principalement à l'E. *globulus* et peuvent varier selon les espèces d'eucalyptus.

Chapitre II :
Métabolisme secondaire

II.1. Généralités

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques complexes synthétisées par les plantes autotrophes (**Boudjouref, 2008**). Ils se caractérisent par leur faible concentration dans les tissus végétaux, représentant généralement quelques pour cent du carbone total (si l'on exclut la lignine de cette catégorie) (**Newman et Gragg, 2012**). De plus, ils n'exercent pas de fonction directe dans les activités fondamentales de la plante (**Guignard, 1996**). On recense plus de 200 000 métabolites secondaires classifiés selon leur structure chimique. Ces composés varient en fonction des espèces et, bien que leurs rôles restent encore mal connus, il est clair qu'ils interviennent dans les interactions entre la plante et les organismes vivants qui l'entourent. Ils jouent probablement un rôle essentiel dans la coévolution des plantes avec leur environnement biologique. Ces différentes interactions ont conduit à une extrême diversification des composés secondaires (**Buchanan, 2001**).

II.2. Classification

Les métabolites secondaires peuvent être classés en trois grandes catégories : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes englobe une grande diversité de composés qui possèdent une large gamme d'activités biologiques chez l'homme. Ils ont une grande valeur économique, notamment dans l'industrie pharmaceutique et cosmétique (**Peeking et al., 1987**).

II.2.1. Polyphénols

Les polyphénols sont des composés phénoliques qui constituent une famille de molécules largement répandues dans le règne végétal. Cela signifie qu'ils ne jouent pas de rôle direct dans les fonctions fondamentales de l'organisme végétal, telles que la croissance ou la reproduction (**Yusuf, 2006**).

Le terme "composés phénoliques" désigne un vaste ensemble de substances qui possèdent un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles (**Waksmundzka et Sherma, 2001**). Ils sont solubles dans la solution de carbonate de sodium. Sur le plan chimique, ils sont réactifs et peuvent former des liaisons hydrogène ou chélater des métaux dans le cas des O-dihydroxyphénols (catéchol). De plus, ils sont sensibles à l'oxydation (**Gorham, 1977**).

- **Structure chimique** : La structure chimique des polyphénols est similaire pour tous les composés phénoliques. Ils sont classés en différents groupes en fonction du nombre de cycles

aromatiques qu'ils contiennent et des substitutions qui les relient (Figure 09) (Manallah, 2012).

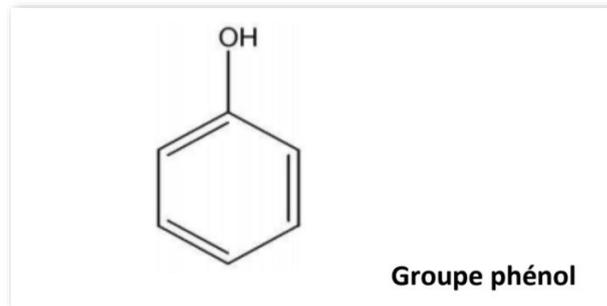


Figure 09 : Noyau phénols (Herzi, 2013).

II.2.1.1. Acides phénoliques

Egalement connus sous le nom d'acides phénols, sont des composés qui possèdent à la fois une fonction acide et des groupes phénoliques. Ils sont incolores et relativement rares dans la nature (Haslam, 1994). On peut les diviser en deux classes principales : les dérivés de l'acide benzoïque, également appelés acides hydroxycinnamiques, et les dérivés de l'acide cinnamique, connus sous le nom d'acides hydroxybenzoïques (Pandey et Rizvi, 2009).

✓ Acide phénols dérivés l'acide benzoïque

Sont des composés hydroxybenzoïques qui présentent une structure générale de base de type (C6-C1) (Figure 10). Ces molécules sont souvent présentes sous forme d'esters ou de glycosides. Parmi les dérivés les plus courants, on trouve l'acide salicylique et l'acide gallique (Bruneton, 1999).

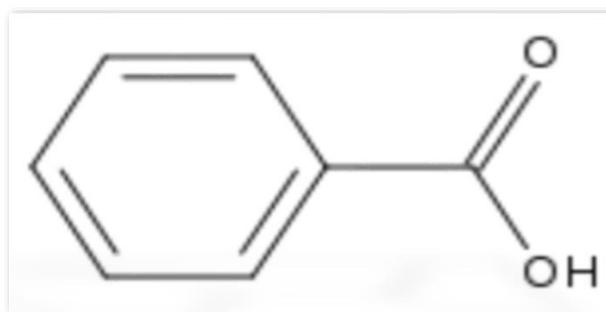


Figure 10 : Acide benzoïque (Pawlowska et al, 2006)

✓ Acides phénols dérivés de l'acide cinnamique

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique, sont fréquemment estérifiés. Parmi les plus courants, on retrouve l'acide cinnamique(**Figure 11**), l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide p-coumarique et l'acide synaptique (**Haslam, 1994**).

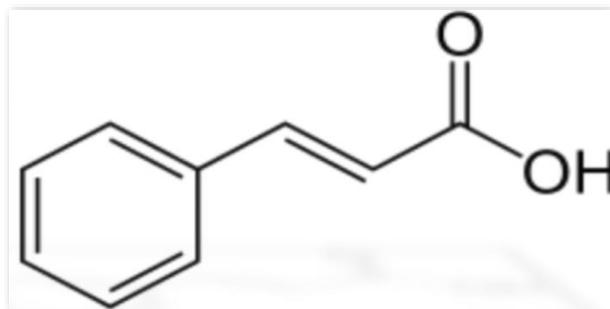


Figure 11 : Acide cinnamique (**Gorham, 1977**)

II.2.1.2. Tanins

Sont des substances amorphes présentes dans de nombreux végétaux. Ils possèdent diverses propriétés telles que des effets antiseptiques, antibiotiques, anti-inflammatoires, anti-diarrhéiques, hémostatiques et vasoconstricteurs (ce qui réduit le calibre des vaisseaux sanguins) (**Delille, 2013**). Ils confèrent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles, les rendant ainsi impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail (**Eberhard et al, 2005**).

Sur le plan structural, les tanins peuvent être classés en deux catégories principales : les tanins hydrolysables et les tanins condensés :

- ❖ **Tanins hydrolysables** : Les tanins hydrolysables sont des polyesters de glucides et d'acides phénoliques. Ils peuvent être décomposés par hydrolyse chimique ou enzymatique en oses (unités de glucides) et en acides phénoliques(**Figures 12**).
- ❖ **Tanins condensés** : Les tanins condensés sont des polymères flavanoliques complexes qui résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-ols et/ou des flavan-3,4-diols. Ils ne contiennent pas de sucres dans leur structure et ne peuvent être hydrolysés qu'en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation (**Amarowicz et Janiak, 2019**). Structure des tanins hydrolysables (**figure 13**).

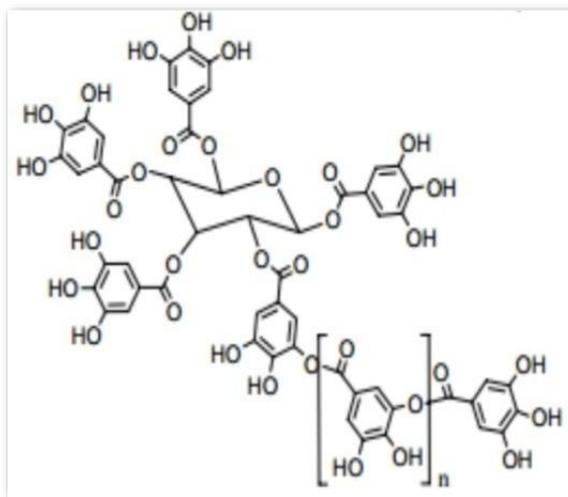


Figure 12 : Structure des tanins hydrolysables (Muanda, 2010).

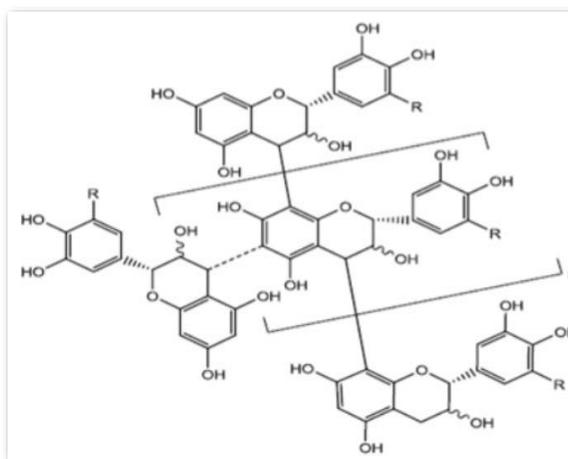


Figure 13 : Structure de base des tanins condensés (Muanda, 2010).

II.2.1.3. Flavonoïdes

Le terme "flavonoïdes" vient du latin "flavus", qui signifie jaune. Les flavonoïdes sont des pigments présents dans diverses plantes. Cette classe de composés comprend des molécules responsables de la coloration jaune, d'autres qui donnent des couleurs variées (bleu, violet, etc.), et certaines qui sont incolores. Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus abondants (Chira *et al.*, 2008), et environ 4000 flavonoïdes ont été identifiés jusqu'à présent (Heim *et al.*, 2002).

Dans les plantes, les flavonoïdes jouent différents rôles en tant que métabolites secondaires. Ils participent aux processus de défense contre les rayons ultraviolets, stimulent la formation de nodules de fixation de l'azote et renforcent la résistance aux maladies (Chira *et al.*, 2008 ; Marais *et al.*, 2006).

Les flavonoïdes se caractérisent par une structure moléculaire en forme de C6-C3-C6 (Marais *et al.*, 2006 ; Pietta, 2000), composée de deux cycles aromatiques A et B reliés par un hétérocycle C contenant de l'oxygène (figure 14) (Balasundram *et al.*, 2006). Le noyau A provient de la voie acétate-malonate, tandis que le noyau B et le pont à 3 carbones sont produits par la voie de l'acide shikimique (Chira *et al.*, 2008).

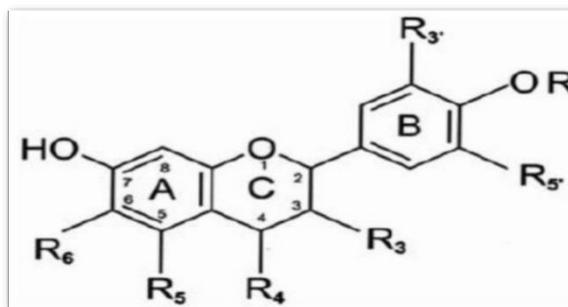


Figure 14 : Structure de base des flavonoïdes (Lovegrove *et al.*, 2017)

II.2.1.4. Lignine

La lignine est formée de manière aléatoire par la polycondensation et la déshydrogénation enzymatique de trois alcools phénylpropénoïques en configuration trans, à savoir l'alcool coumarylique, l'alcool sinapylique et l'alcool coniférylique. Ces trois alcools sont regroupés sous le terme général de monolignols. Les précurseurs de ces monolignols, appelés acides hydroxycinnamiques (ou alcools phénylpropénoïques) (Figure 15), sont produits dans le réticulum endoplasmique des cellules en cours de lignification à partir de la phénylalanine. La phénylalanine est désaminée en cinnamate, qui est ensuite hydroxylé, méthylé et réduit en alcool au niveau de la fonction carboxyle (Gellerstedt et Henriksson, 2008).

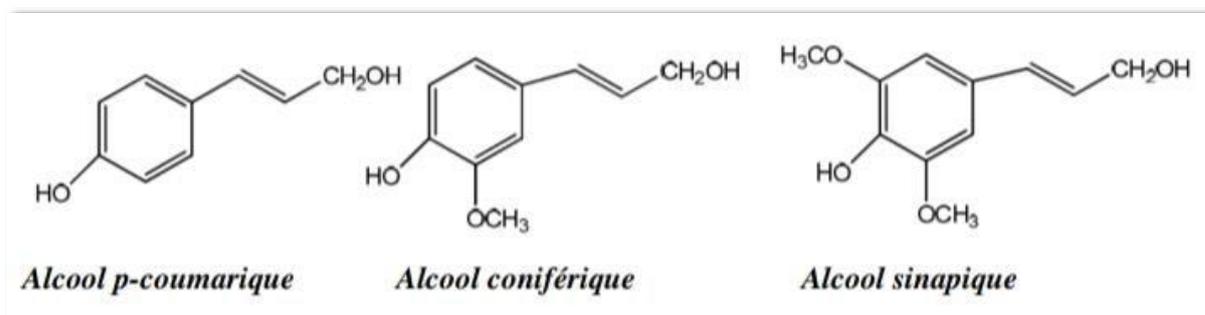


Figure 15 : Structure des alcools formant la lignine (Ghnimi, 2015).

II.2.1.5. Coumarines

Les coumarines sont formées à partir des acides hydroxy cinnamiques par une réaction de cyclisation interne de leur chaîne latérale. Elles jouent souvent un rôle écologique ou biologique et se trouvent dans la nature sous forme libre ou associée à des sucres (Cowan, 1999).

Lacoumarine désigne aussi la classe des composés phénoliques dérivés de cette dernière molécule, la 2H-1-benzopyrane-2-one (Figure 16). Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthyles ou être engagés dans des liaisons hétérosides. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal (Iserin, 2001). Les coumarines sont responsables de l'odeur distinctive du foin (Cowan, 1999).

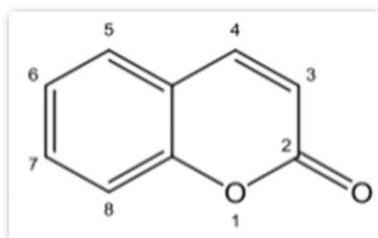


Figure 16 : Structure chimique des acides coumariques (Macheix et al., 2005).

- a) **Coumarines simples :** Ce sont celles qui ont des substituants dans le cycle benzénique. Elles peuvent être des dérivés hydroxylés, méthoxylés, alkylés, alcoxylés et glycosylés de la molécule mère.
- b) **Coumarines complexes :** ils se constituent d'un noyau furane ou pyrane associé au noyau benzo- α -pyrone, la prénylation est à l'origine des coumarines polycycliques (Cohen, 1979).

II.2.1.6. Saponines

Le terme saponosides (saponines) est dérivé de mot savon, les saponosides produisent de la mousse en contact avec l'eau. Sont des molécules de forme hétérosidique. Ils se divisent en saponosides à gène tri terpénique et stéroïdien (Bruneton, 1999). Ils ont un goût amer et acre (Hopkins, 2003).

II.2.1.7. Anthocyanes

Les anthocyanes sont présents uniquement sous forme d'hétérosides appelés anthocyanosides, on les trouve dans les racines, tiges, feuilles et graines. Leur structure de base est caractérisée par un noyau « flavon » généralement glucosylé en position C₃.

Les pigments anthocyaniques qui colorent les fleurs, les fruits et parfois les feuilles, proche des flavonoïdes sur le plan de l'origine, de la structure et des propriétés pharmacologiques (Catieret, 2007).

II.2.2. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont un groupe de composés azotés, hétérocycliques et doué de propriétés physiologiques prononcées même à faible dose (Zenk et Juenger, 2007). Leurs noms se terminent toujours par «-ine». Ils présentent des réactions communes de précipitation par lesquelles, Ils sont détectés (capacité de se combiner avec des métaux). Représentant un groupe fascinant de produits naturels, ils constituent l'un des plus grands groupes de près de 10000 à 12000 structures (Stöckigt et al., 2002)

On peut citer les alcaloïdes selon leur biogénèse et la position de l'azote, en trois classes (Beddou, 2015) :

- Alcaloïdes vrais.
- Pseudo-alcaloïdes.
- Proto-alcaloïdes.

II.2.3. Terpènes et les stérols

a) Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure, soit cyclique soit à chaîne Ouverte : leur formule brute est $(C_5H_X)_n$ dont le x est variable en fonction du degré D'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs de (1-8) sauf dans les Polyterpènes où il peut atteindre plus de 100 (caoutchouc). La molécule de base est L'isoprène de formule C_5H_8 . Le terme terpenoïde désigne un ensemble de Substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.)(Figure 17) (Malecky,2005).Ces composés sont majoritairement d'origine végétale. Ils sont synthétisés par les plantes, les organismes marins, les champignons et même par les animaux (Benaissa,2011).

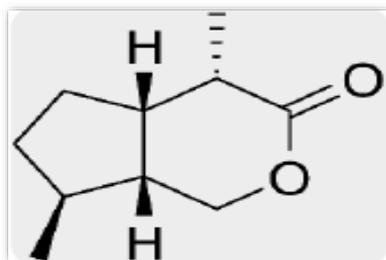


Figure 17 : Structure chimique d'un Terpénoïdes (Fettah, 2019).

Selon **Hernandez-ochoa, 2005**, Ils sont subdivisés selon le nombre d'entités isoprènes en :

-**Monoterpènes** : formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$).

-**Sesquiterpènes** : formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$).

-**Diterpènes** : formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$).

-**Tétraterpènes** : formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.

-**Polyterpènes** : formés de $(C_5H_8)_n$, ou, (n de 9 à 30).

b) Stérols

Les stérols ont une structure chimique similaire à celle du cholestérol, ce qui leur permet de tromper l'organisme et de limiter l'absorption du cholestérol de l'intestin dans le sang. Ce sont des substances naturelles stéroïdiennes qui ont un noyau polycyclique avec une fonction alcool (**Bruneton, 1993**).

Pour plusieurs biochimistes, les « stérols constituent une catégorie à part entière incluant les stéroïdes, ainsi que cinq autres sous-classes (**Fahy et al., 2005**) :

- **Les stérols et dérivés** : cholestérol, phytostérol et stérides.
- **Les stéroïdes** : œstrogènes, androgènes, gluco- et minéralocorticoïdes.
- **Les sécostéroïdes** : vitconjugués
- **Les stéroïdes conjugués.**
- **Les hopanoïdes.**

II.2.4. Huiles essentielles

Ce sont des substances odorantes, liquides, volatiles à température ambiante, hydrophobes, souvent colorées, totalement solubles dans l'alcool, ce type des huiles s'oppose

aux huiles fixes qui sont des lipides par leur volatilité et leur composition chimique (Baudoux, 2000). Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits (Burt, 2004), mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres.

Les huiles essentielles sont utilisées dans le domaine pharmaceutique, alimentaire, cosmétique..., néanmoins, une seule huile peut avoir plusieurs utilisations à la fois (Bekkali *et al.*, 2008).

II.3. Métabolites secondaires les plus courants chez les Eucalyptus

La recherche bibliographique réalisée sur cet axe montre que la majorité, sinon la totalité des études phytochimiques effectuées sur un nombre important d'espèces de la famille des myrtacées (principalement *E globulus*) certifie la richesse en métabolites secondaires tels que :

- ❖ les flavonoïdes (Eckhard, 2000),
- ❖ les huiles essentielles (Ogunwande, 2005) ;
- ❖ les terpénoïdes (.Michael, 2003).

II.4. Rôles des métabolismes secondaires

Les métabolites secondaires revêtent une grande importance, notamment dans leur réponse face aux contraintes biotiques et abiotiques auxquelles ils peuvent être soumis, tels que les variations de température, la sécheresse, la salinité, les radiations, les herbivores, les infections pathogènes, ainsi que dans leur rôle de défense contre les attaques d'organismes compétitifs tels que les bactéries, les champignons, les insectes, les animaux et les autres plantes (Costa *et al.*, 2013). Cependant, le rôle écologique le plus important est lié à la fonction reproductrice qui garantit le succès évolutif de toutes les espèces vivantes, les pigments et les composés volatils de ces métabolites peuvent attirer les pollinisateurs et ainsi favoriser la dispersion des graines et la fécondation (Iriti, 2013).

Ces molécules jouent un rôle majeur au niveau de la croissance des végétaux et dans la lutte contre des agents pathogènes et des infections. Ils sont importants, non seulement en raison de leur rôle dans la défense contre la prédation par les micro-organismes comme les insectes et les herbivores mais aussi pour leurs propriétés biologiques comme antioxydant, antimicrobien et anti-cancérigènes ainsi leurs effets thérapeutiques contre plusieurs maladies à savoir l'hypertension, le diabète et l'obésité (Aires *et al.*, 2013). Certains, composés commères

terpènes, donnent aux plantes leurs odeurs, d'autres comme les quinones et des tanins sont responsables de pigments végétaux. De nombreux composés sont également responsables de la saveur de la plante par exemple les terpènes du piment (**Cowan, 1999**).

Chapitre III :
Activités antibactériennes

III.1. Activité antibactérienne

Les infections bactériennes sont provoquées par divers micro-organismes et représentent la source des maladies les plus graves et des épidémies les plus répandues. De nombreux médicaments antibactériens sont développés pour les traiter, mais leur utilisation excessive conduit à l'émergence de la résistance multiple aux antibiotiques (Yala *et al.*, 2001).

III.2. Bactéries

Ce sont des procaryotes : leur ADN est contenu dans un seul chromosome qui n'est pas contenu dans le noyau (Figure 18). Les trois formes de base trouvées dans le sol sont les cocci (sphériques ou ovales), les bacilles et les bactéries spiralées. Les bactéries se reproduisent par division cellulaire, c'est-à-dire qu'une cellule se divise en deux et produit deux cellules qui se divisent, donc en (Jeff et Wayne, 2008)



Figure 18 : Structure d'une bactérie (Heart et hears, 2006)

1-Capsule.	6-Grains de réserves	11-Membrane cytoplasmique
2-Chromatophore.	7-Flagelle	12-ADN plasmidique
3-Mésosome.	8-Vacuole à gaz	13-paroi
4-ADN Chromosomique.	9-Pili	
5-pigments.	10-Ribosome	

III.3. Antibiotiques

Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique, d'origine microbienne ou chimique, qui a la capacité d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes en utilisant un mécanisme particulier qui agit sur les processus vitaux de ces germes (**Gogny et al., 2001**). Afin d'être efficace, un antibiotique doit être capable de pénétrer dans la bactérie ciblée sans être détruit ni altéré, se lier à une cible spécifique et perturber la physiologie de la bactérie (**Ogwara, 1981**).

III.4. Résistance aux antibiotiques

Entre la fin des années 1940 et les années 1970, de nombreuses molécules antibiotiques, qu'elles soient d'origine naturelle ou synthétique, ont été découvertes. Les premiers traitements anti-infectieux ont connu un succès remarquable, ce qui a conduit à penser que le problème des maladies infectieuses était résolu de manière définitive. Cependant, cet enthousiasme a été rapidement tempéré par l'apparition des premières résistances bactériennes aux antibiotiques. Les bactéries ont montré leur capacité à s'adapter et à développer des mécanismes de résistance face à chaque nouvel antibiotique utilisé en thérapie (**Ploy et al., 2000**). Ces résistances peuvent être spécifiques à un ou quelques antibiotiques de structure similaire, mais ces dernières années ont également été marquées par l'émergence de mécanismes de résistance croisée affectant des médicaments aux structures et modes d'action différents. De nos jours, nous sommes confrontés à l'apparition de véritables "super bactéries" résistantes à tous les antibiotiques potentiellement efficaces (**Ploy et al., 2000**).

III.5. Culture des bactéries

Pour cultiver des bactéries, il est courant d'utiliser des milieux complexes contenant des extraits ou des hydrolysats enzymatiques de viande. Ces milieux peuvent être sous forme liquide (bouillons) ou solide.

La solidification des milieux solides est obtenue en ajoutant de l'agar, un extrait d'algues qui fond lorsqu'il est porté à ébullition et se solidifie à des températures inférieures à 40°C.

Dans un milieu liquide, les bactéries se dispersent librement et leur multiplication entraîne une turbidité généralement homogène. Sur un milieu solide, lorsque la quantité de bactéries est faible, chaque bactérie peut se multiplier sur place pour former un amas de bactéries visible à l'œil nu, appelé une colonie. Si la densité bactérienne est trop élevée dans

l'échantillonensemencé, les colonies se fusionnent et forment une nappe continue. L'utilisation de milieux solides permet ainsi de dénombrer les bactéries viables présentes dans un échantillon (Nauciel et Vildé, 2005).

III.6. Classification des bactéries

Les bactéries sont classées de différentes manières (larry, 2022) :

- **Noms scientifiques** : Les bactéries, comme les autres êtres vivants, sont classées en genre (selon la présence de caractéristiques communes) et en espèces. Le nom scientifique est composé du genre et de l'espèce (par exemple, *Clostridium botulinum*). Au sein d'une espèce, il peut y avoir plusieurs souches qui diffèrent par leur matériel génétique et leurs composants chimiques. Certains médicaments et vaccins peuvent être efficaces contre certaines souches uniquement.
- **Coloration** : Les bactéries peuvent être classées selon leur coloration après avoir été traitées avec des colorants chimiques. La coloration de Gram est une méthode de coloration couramment utilisée. Les bactéries qui prennent une coloration bleue sont appelées Gram positives, tandis que celles qui prennent une coloration rouge sont appelées Gram négatives. Cette différence de coloration est due à des différences dans les parois cellulaires des bactéries. Les bactéries Gram positives et Gram négatives sont responsables de différents types d'infections et sont sensibles à différents types d'antibiotiques. Il existe de nombreuses autres méthodes de coloration en plus de la coloration de Gram.
- **Formes** : Les bactéries peuvent être classées en trois formes de base : coques (forme sphérique), bacilles (forme de bâtonnets) et spirochètes (forme de spirale ou d'hélice).
- **Besoin en oxygène** : Les bactéries sont classées selon leurs besoins en oxygène pour vivre et se multiplier. Les bactéries qui ont besoin d'oxygène sont appelées aérobies, celles qui n'en ont pas besoin sont appelées anaérobies. Les bactéries aéro-anaérobies facultatives peuvent vivre et se multiplier avec ou sans oxygène.
- **Caractéristiques génétiques** : Des examens spécialisés permettent de déterminer les différences au niveau des caractéristiques génétiques (génotype) des bactéries.

III.7. Principales substances antimicrobiennes

Les substances antimicrobiennes sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, par :

- L'environnement (**Meyer et Deiana, 1988**).
- La nature du microorganisme
- L'agent antimicrobien.

III.8. Données générales sur les bactéries testées

➤ *Pseudomonas aeruginosa*

Ces bactéries sont des bacilles Gram négatif, de forme non sporulée, aérobies et mobiles grâce à la présence de 1 à 2 flagelles. Elles synthétisent deux principaux types de pigments pyocyanine : bleue phénazine, pyoverdine: jaune vert. Ces bactéries sont résistantes à plusieurs antibiotiques (**Percival et al., 2004**). *Pseudomonas aeruginosa* est responsable de 16% des cas de pneumonie nosocomiale, 12% des infections urinaires et 8% des infections suites aux blessures chirurgicales. (**Van Delden et Iglewski, 1998**)

➤ *Bacillus subtilis*

Les bacilles appartenant au groupe *Bacillus subtilis* sont de grande taille (> 1,0 µm) et ont une coloration de Gram positive. Ils sont généralement mobiles grâce à une ciliature péritriche et se distinguent des autres *Bacillus* par leur capacité à croître en anaérobiose. Les espèces sporulées sont courantes dans la nature et sont souvent isolées du sol, de la poussière ou de la surface des plantes, ce qui favorise leur propagation dans les aliments. Certaines espèces peuvent également infecter des mammifères et/ou des insectes (**Kunst et al., 1997**).

➤ *Escherichia coli*

E.coli est un bacille à gram négatif (**Berche et al., 1988**), de forme non sporulée, de type anaérobie facultative, généralement mobile grâce aux flagelles, sa longueur varie de 2 à 6 µm, alors que sa largeur est de 1,1 à 1,5 µm (**Steven et al., 2004**).

Le genre *Escherichia* comprend plusieurs espèces, mais seule la souche *E.coli* est potentiellement pathogène pour l'homme. *E.coli* est l'espèce bactérienne la plus étudiée pour des travaux de physiologie et de génétique. Elle est la bactérie la plus courante dans la flore intestinale aérobie, où elle aide à empêcher la croissance d'espèces bactériennes nuisibles. *E.coli* colonise le tube digestif dès les premières heures après la naissance et sa capacité de se diviser rapidement lui permet de rester la bactérie dominante tout au long de la vie de l'individu. Sa présence dans l'eau, le sol ou les aliments témoigne d'une contamination fécale et rend l'eau ou les aliments impropres à la consommation(**Cristian et al.,2008**).

➤ *Staphylocoques aureus*

S. aureus est une bactérie à Gram positif qui mesure de 0,5 à 1 µm de diamètre, ne sporule pas, est immobile, aéro-anaérobie facultatif et possède une catalase et une coagulase. Elle est l'espèce type du genre *Staphylococcus*, parfois appelée staphylocoque doré, et produit de nombreuses toxines. Ces toxines sont produites par certains *S. aureus* portant les gènes correspondants et sont responsables d'épidémies liées à cette bactérie (**Buyser et Sutra, 2005**).

III.9. Méthodes d'étude de l'activité antibactérienne

Il y a 3 méthodes différentes ont été utilisées pour la détermination de l'activité antimicrobienne, in vitro :

- ✚ Une méthode de diffusion en disque dans un milieu gélosé
- ✚ Une méthode de dilution (méthode de micro-dilution en bouillon pour les bactéries) (**Haddouchi et al., 2016**).
- ✚ Antibiogramme.

Partie II :
Etude expérimentale

Chapitre I :
Matériel et méthodes

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau des laboratoires pédagogiques du Centre Universitaire **Abdelhafid BOUSSOUF-Mila**, comporte quelques aspects d'ordre techniques concernant l'étude phytochimiques, l'évaluation du rendement d'extraction et l'activité antibactérienne des extraits bruts méthanolique des feuilles d'*E.globulus*.

I.1. Matériel :

I.1.1. Matériel végétal

Les feuilles d'*E.globulus* qui ont fait l'objet de cette étude, sont récoltés durant le mois de Février 2023 dans la région Rahbat wilaya de Mila. Elles sont conservées loin d'humidité jusqu'à utilisation.

I.1.2. Réactifs utilisés :

a) Réactif de Wagner

La solution est composée de 1,27g d'Iode et 2g d'Iodure de potassium dissous dans 75ml d'eau distillée. Le mélange est dilué avec de l'eau jusqu'à ce que la solution atteigne un volume total de 100ml.

b) Réactif de Liqueur de Fehling.

I.1.3. Souches bactériennes utilisées

Pour tester la capacité antibactérienne des extraits de la plante, 4 souches microbiennes ont été utilisées :

- ✓ Deux Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
- ✓ Deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853.

Que nous avons reçu de MMe **AMMARI S.** et MMe **BENSERADJ W.**

Toutes les souches bactériennes utilisées dans l'étude ont été maintenues à 4°C sur un Milieu agar nutritif.

I.2. Méthodes :

I.2.1. Préparation d'échantillon

Ont été effectués deux opérations de prétraitement des feuilles d'*E.globulus*(**figure 19**) pour faciliter l'extraction des extraits bruts à partir de ces méthodes : séchage et broyage.

✓ Séchage

Immédiatement après avoir obtenu le matériel végétal, les feuilles ont été lavées à l'eau du robinet et débarrassées de toutes impuretés. Ensuite, elles ont été séchées à température ambiante dans un endroit ombragé, aéré et sec pendant cinq jours.



Figure 19 : Feuilles d'*E.globulus* (photo personnelle ,2023).

✓ Broyage

Il est important que cette étape soit effectuée avec précision et sans altération pour obtenir une poudre végétale fine et homogène (**figure 20**). Les feuilles séchées sont broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à ce qu'elles deviennent une poudre. La poudre est tamisée et stockée à l'abri de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation.



Figure 20 : Poudre d'*E.globulus* (photo personnelle ,2023).

I.2.2. Préparation des extraits :

a) Principe

L'extraction joue un rôle crucial dans l'analyse et l'identification des molécules bioactives. Dans le cas des produits naturels, l'extraction se fait généralement selon le procédé

solide-liquide. Jusqu'à présent, une méthode traditionnelle appelée macération était largement employée et considérée comme la technique préférée pour extraire les composés naturels.

b) Préparation de l'extrait éthanolique

Selon la méthode décrite par (Abaza *et al.*, 2007), L'extrait éthanolique a été préparé en ajoutant 100 ml d'éthanol/eau (70%/30%) à 5 g de poudre en obscurité, à température ambiante, avec agitation à une vitesse de 100 Hz continue pendant 24 heures. Ensuite, on a filtré le mélange sur un papier filtre pour obtenir un filtrat. Cette opération a été répétée trois fois, et le filtrat de ces trois cycles a été évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur à 60°C.

L'extraction est représenté indique dans le schéma suivants (Figure 21) :

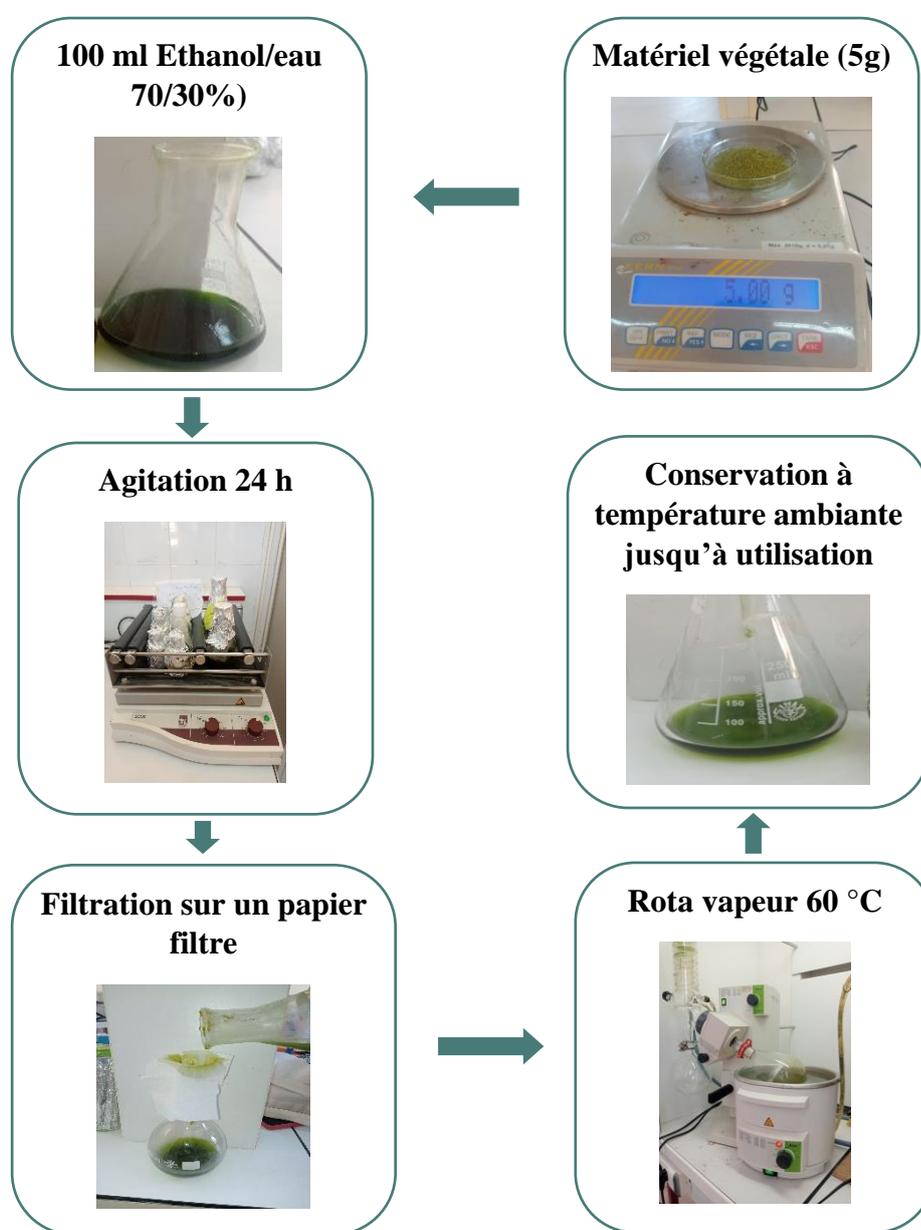


Figure 21 : étapes d'extraction par macération des extraits éthanoliques (Abaza *et al.*, 2007).

c) Préparation de l'extrait méthanolique

Principe

La macération est une méthode simple d'extraction solide/liquide. Elle implique la mise en contact du matériel végétal avec un solvant, à température ambiante et à l'obscurité pendant une durée déterminée. Cette méthode d'extraction a été réalisée en suivant le protocole décrit par (Adil *et al.*, 2012)(Figure 22) :

- Dans un Erlenmeyer, 5g de la poudre est ajouté au 100ml du méthanol à 40% et met sous agitation mécanique pendant 24h.
- Après on fait une filtration sur un papier filtre pour obtenir un filtrat. La même opération est répétée cinq fois (cinq cycles).
- Le filtrat des cinq cycles est évaporé à une petite quantité à l'aide d'un rota vapeur.
- L'extrait obtenu est mis dans une boîte de pétré en verre dans l'étuve jusqu'à séchage pondant 24h, puis conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

La même opération est répétée avec les autres concentrations du méthanol (60%, 80%, 100% méthanol).

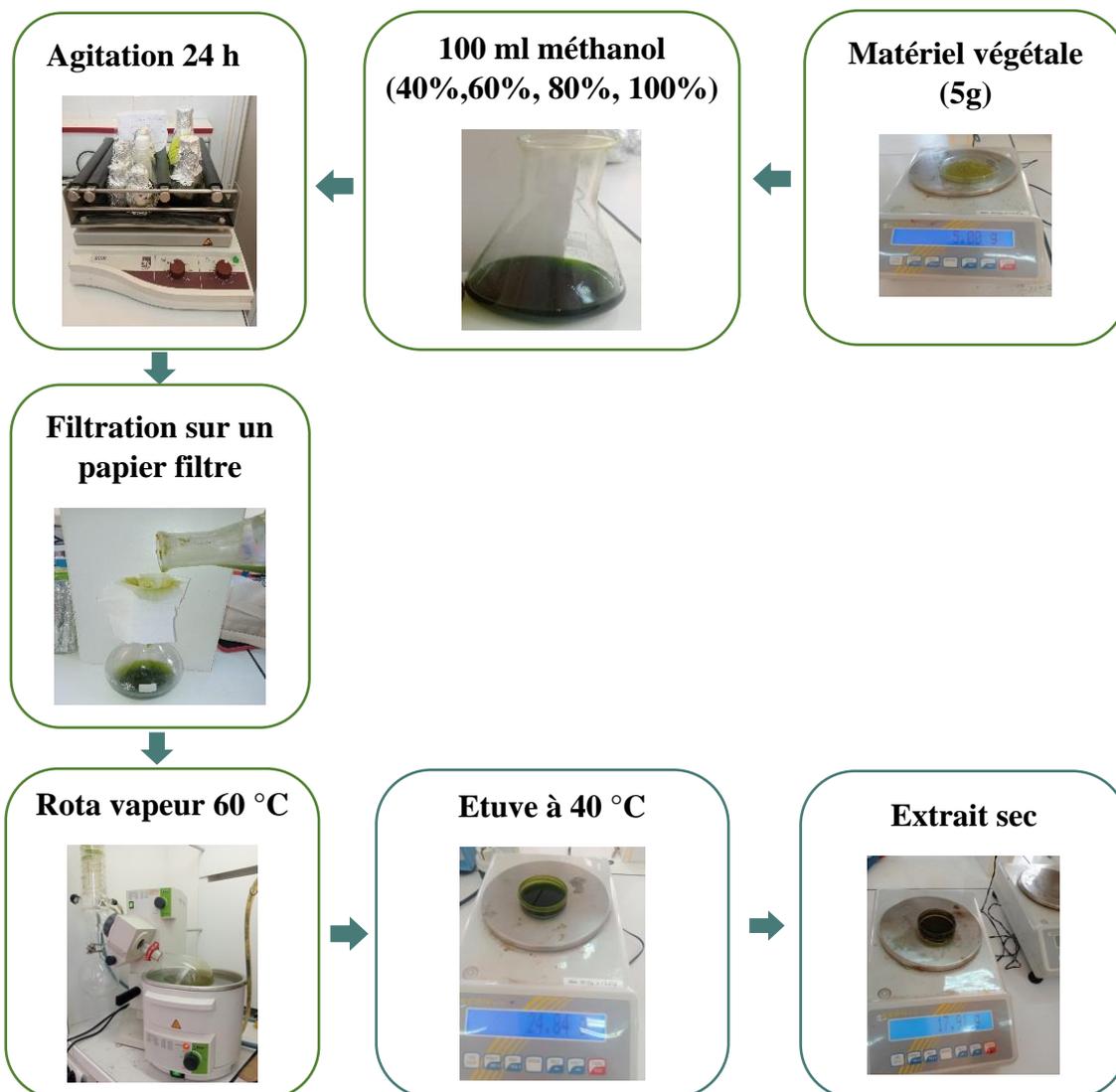


Figure 22 : étapes d'extraction par macération des extraits méthanoliques (Adil *et al.*, 2012).

I.2.3. Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques sont des tests qualitatifs qui permettent de mettre en évidence et de caractériser les différents groupes chimiques contenus dans les extraits végétaux. Ils se basent sur des réactions de coloration et/ou de précipitation, et des observations sous lampe UV peuvent également être utiles. Pour détecter les métabolites secondaires, la méthode de réaction en tubes a été utilisée. Les résultats sont classés comme suit :

- ✓ Réaction (absence) : -
- ✓ Réaction (présence) : +

a) Recherche des tanins

Pour détecter la présence de tanins, on ajoute 1 ml de l'extrait éthanolique, 1 ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. Si une coloration vert foncé ou bleu-vert apparaît, cela indique la présence de tanins (**Trease et Evans, 1987**).

b) Recherche des flavonoïdes

On trempe 10 g de la poudre dans 150 ml d'acide chlorhydrique à 2 % pendant 24 heures, puis on filtre et on procède aux tests suivants : on ajoute des gouttes de KOH dilué à 2 ml du filtrat. Si une couleur jaune apparaît, cela prouve la présence de flavonoïdes (**Benwqhi, 2001 ; Chaouch, 2001**).

c) Recherche des substances poly phénoliques

Pour caractériser les polyphénols, on ajoute une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2 % à 2 ml de l'extrait. Si une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée apparaît, cela est exprimé la présence de polyphénols (**Békro et al., 2007**).

d) Recherche des saponines

Pour détecter la présence de saponines, on ajoute 2 ml de l'extrait à analyser et 2 ml d'eau distillée chaude dans un tube à essai. On agite le mélange pendant 15 secondes et on le laisse reposer pendant 15 minutes. Si une mousse d'une hauteur supérieure à 1 cm apparaît, ceci est mentionné la présence de saponines (**Harborne, 1998**).

e) Recherche des quinones libres

On ajoute quelques gouttes de NaOH à 1 % à un volume de notre extrait. Si une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet apparaît, on mentionne ceci par la présence de quinones libres (**Oloyede, 2005**).

f) Recherche des composés réducteurs (glycosides)

Pour détecter ces molécules, on chauffe un mélange composé de 2 ml d'extrait, 2 ml d'eau distillée et quelque goutte de liqueur de Fehling à 90°C dans un bain-marie. Si un test est positif, un précipité rouge brique se forme (**Trease et Evans, 1987**).

g) Recherche des alcaloïdes

Nous avons filtré un mélange composé de 2 g de poudre végétale et de 40 ml de HCl dilué à 1 % après une macération sous agitation pendant 2 heures. Pour détecter la présence d'alcaloïdes, on ajoute quelques gouttes de réactif de Wagner à 5 ml de filtrat dans un tube à

essai. Si une couleur marronne apparaît, cela indique la présence d'alcaloïdes (Benzahi, 2001 ; Chaouch, 2001).

h) Recherche des coumarines

Pour détecter les coumarines, nous avons dissous le résidu de chaque extrait dans 2 ml d'eau distillée chaude. Ensuite, nous avons partagé le mélange dans deux tubes. Nous avons ajouté 0,5 ml de NH₄OH à 25 % à l'un des tubes, puis prélevé quelques gouttes de chaque tube et les avons déposées sur un papier filtre. Nous avons observé le papier filtre sous U.V. à 366 nm. Nous avons observé une fluorescence intense pour le tube contenant le NH₄OH (Bruneton, 1999).

i) Recherche des huiles

La présence des huiles est mise en évidence en ajoutant, 10g de la poudre dans la cartouche du soxhlet et 250ml éthanol dans la boule, après 30mn si on observe une couche mince huileuse transparente sur les parois de la verrerie, indique la présence d'huile, après le mélange est évaporé à sec à l'aide d'un rota vapeur pour éliminer le solvant et la récupération de l'huile (Trease et Evans, 1987).

Nous avons testé l'extrait éthanoliques D'E *globulus* préparé précédemment.

I.2.4. Rendement d'extraction

Le rendement d'extraction (%) est calculé par la formule suivante :

$$R\% = M/M^0 \times 100$$

R (%) = Masse de l'extrait sec.

M⁰ : Masse en gramme du matériel.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant (Harborne, 1998 et Chaouche, 2014).

I.2.5. Évaluation de l'activité antibactérienne

Principe

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de plantes, nous avons réalisé une culture bactérienne sur un milieu gélose nutritive en présence de disques imbibés d'extrait de plante. Si les extraits ont une activité antibactérienne, nous observerons une zone d'inhibition autour du disque due à la diffusion des échantillons dans le milieu (Bauer et al., 1966). Le diamètre de la zone d'inhibition est proportionnel à l'activité bactériostatique de l'extrait sur

la souche testée. Plus le diamètre est grand, plus la souche est dite sensible (Ofeogbu et al., 2013).

Nous avons testé tous les extraits méthanoliques D'E globulus préparés précédemment.

Souches bactériennes testées

Le support microbien est composé de souches ATCC :

- ✓ Deux Bactéries à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
- ✓ Deux bactéries à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Préparation des milieux

Selon (Bauer et al., 1966), ont décrit les méthodes suivantes pour la préparation des milieux :

❖ Préparation de milieu Mueller Hinton (MH)

Pour préparer le milieu Mueller Hinton (MH), vous devez introduire 38g de MH dans un erlenmeyer avec 1000ml d'eau distillée.

Ensuite, vous devez semer le mélange sous agitation continue à une température élevée sur une plaque chauffante jusqu'à ce qu'il bouille.

Enfin, vous pouvez diviser le milieu dans des flacons en verre (Figure 23).



Figure 23 : Préparation de milieu Mueller Hinton (MH) (photo personnel 2023).

❖ Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN)

Le bouillon nutritif est employé pour évaluer la vitalité des bactéries et pour réactiver et entretenir les souches bactériennes. En ajoutant 13g de BN à 1L d'eau distillée et en agitant

pendant quelques minutes jusqu'à dissolution complète, la solution sera ensuite répartie dans des tubes en verre à l'aide d'une pipette (**figure.24**).

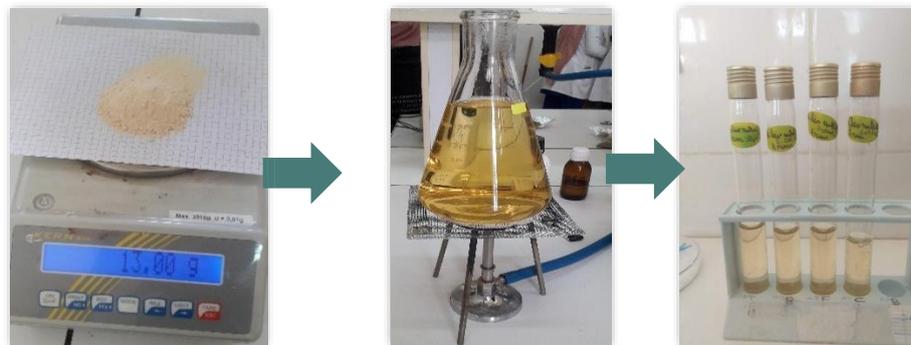


Figure 24 : Préparation de milieu Bouillon Nutritif (BN) (**photo personnel 2023**).

❖ Préparation de l'eau physiologique

On prépare l'eau physiologique en dissolvant 0,9 g de NaCl dans 100 ml d'eau distillée. On agite le mélange pendant quelques minutes, puis on le répartit dans des tubes en verre à vesse, (**Bauer et al., 1966**) (**Figure.25**)



Figure 25 : Préparation de l'eau physiologique (**photo personnel 2023**).

Préparation des disques d'aromatogramme

Des disques de 6 mm de diamètre sont découpés à partir d'une feuille de papier Wattman N°3. Ensuite, ces disques sont placés dans un tube en verre à vesse, stérilisés à l'autoclave, et conservés jusqu'à leur utilisation ultérieure (**Figure 26**).

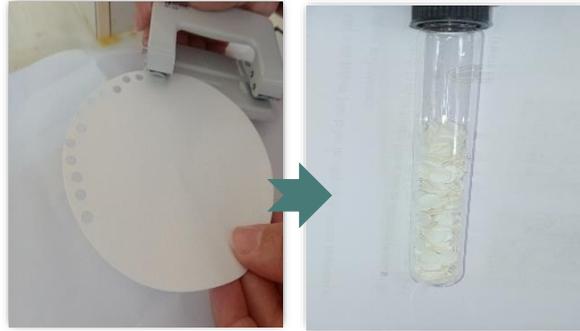


Figure 26 : Préparation des disques d'aromatogramme (photo personnel 2023).

Stérilisation du matériel

Le milieu de culture MH, l'eau physiologique, le BN, les tubes à vesse et les disques préparés (ainsi que les pinces et les embouts enrobés de papier aluminium) ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes (figure 27).



Figure 27 : Stérilisation du matériel à l'autoclave (photo personnel 2023).

Réactivation des souches bactériennes

Les souches bactériennes ont été réactivées dans un BN et incubées à 37°C pendant 24h(Figure 28).



Figure 28 : Réactivation des souches bactériennes.

Repiquage des souches bactériennes

Pour favoriser une croissance rapide et obtenir des colonies bactériennes distinctes, les différentes souches ont été transférées sur un milieu nutritif en utilisant la méthode des stries sur une boîte de Pétri. En utilisant une anse de platine stérile, les souches ont été déposées sur la gélose et ensuite incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Cette étape a permis de préparer l'inoculum bactérien nécessaire (**Figure 29**).

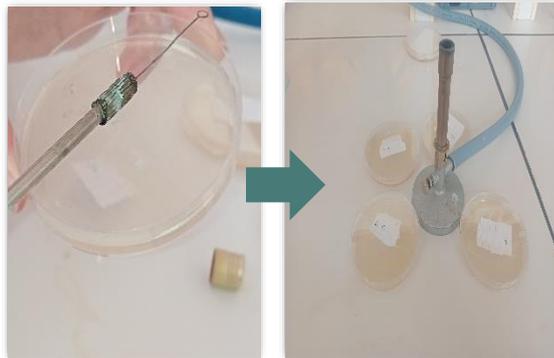


Figure 29 : Repiquage des souches bactériennes (photo personnel 2023).

Dilution d'extraits

Les dilutions des extraits sont réalisées à analyses selon les étapes suivantes :

- SM : 100mg d'extrait avec 1ml de DMSO.
- T $\frac{1}{2}$: 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de DMSO.
- T $\frac{1}{4}$: 0.5ml d'extrait de T $\frac{1}{2}$ avec 0.5ml de DMSO.
- T $\frac{1}{8}$: 0.5ml d'extrait de T $\frac{1}{4}$ avec 0.5ml de DMSO.



Figure 30 : Dilution d'extraits (photo personnel 2023).

Préparation de l'inoculum bactérien

- ✓ Après avoir désinfecté la zone de travail avec de l'eau de Javel.

- ✓ Nous avons utilisé l'anse de platine pour prélever quelques colonies bactériennes bien isolées et identiques de chaque souche à tester.
- ✓ Ces colonies ont ensuite été transférées dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9% et homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- ✓ On mesuré la densité optique de la suspension bactérienne à une longueur d'onde de 625 nm, obtenant une lecture de 0,08 à 0,10.
- ✓ Il est important de semer l'inoculum dans les quelques minutes suivant sa préparation (Younsi et al., 2010)(Figure 31).



Figure 31 : Préparation de l'inoculum bactérien (photo personnel 2023).

Coulage de milieux de culture MH

Afin de garantir une stérilisation optimale jusqu'à la solidification, nous plaçons le milieu de culture (MH) stérilisé par autoclave dans des boîtes de Pétri, situées à environ 4 mm du bec de benzène (figure 32).

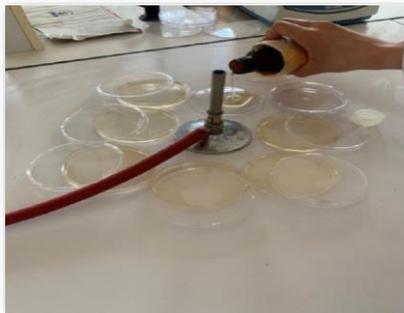


Figure 32 : Coulage de milieux de culture MH

Ensemencement bactérienne

Après la préparation et l'identification des boîtes de Pétri, nous avons effectué l'inoculation des bactéries dans un milieu stérile en présence de bec benzène. L'inoculation a été réalisée en utilisant un écouvillon sur les boîtes de Pétri. Voici les étapes de l'inoculation :

- ✓ Immerger un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✓ Essorer fermement l'écouvillon en le pressant contre la paroi interne du tube tout en le tournant, afin d'éliminer l'excès de liquide.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur toute la surface gélosée sèche de haut en bas, en effectuant des stries serrées.
- ✓ Répéter cette opération trois fois en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois.
- ✓ Terminer l'inoculation en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✓ Recharger l'écouvillon à chaque fois si l'on souhaite ensemercer plusieurs boîtes de Pétri avec la même souche. (Bendahou et al., 2007) (Figure.33).

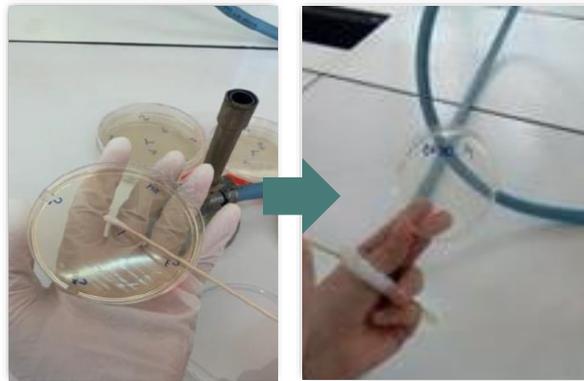


Figure 33 : Ensemencement bactérienne (photo personnel 2023).

Dépôts des disques et l'injection des extraits

- Les disques de papier Wattman de 6 mm de diamètre sont délicatement placés sur la surface de la gélose MH préalablement ensemencée avec les souches testées, en utilisant une pince stérilisée au bec benzène.
- Ensuite, 10 μ l de chaque dilution des extraits méthanoliques (SM / C $\frac{1}{2}$ / C $\frac{1}{4}$ / C $\frac{1}{8}$) sont ajoutés sur les disques à l'aide d'une micro pipette (Figure).
- Enfin, les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures. Il est crucial de stériliser la zone de travail et le matériel avant, après et pendant le processus en utilisant de l'eau de javel concentrée, en particulier près du bec benzène.

La stérilisation est une étape essentielle pour obtenir des résultats fiables et éviter toute contamination.

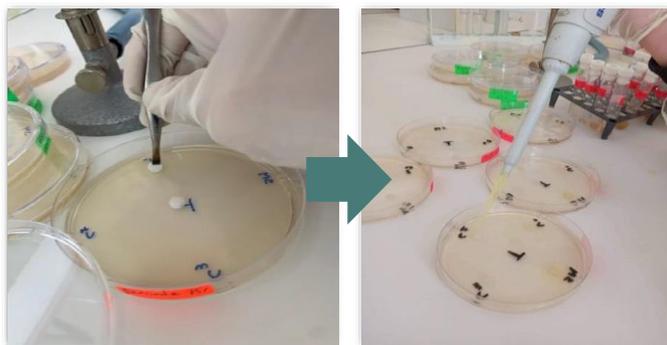


Figure 34 : Dépôts des disques et l'injection des extraits (photo personnel 2023).

Lecture

L'effet des extraits se manifeste par l'apparition d'une zone transparente autour du disque, ce qui indique l'absence de croissance bactérienne.

La lecture consiste à mesurer le diamètre (en mm) de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle (pied à coulisse).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition, en prenant en compte le diamètre du disque de papier (6 mm). Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible (**Boudjouref, 2011**).

Chapitre II :
Résultats et Discussions

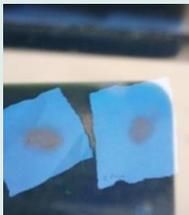
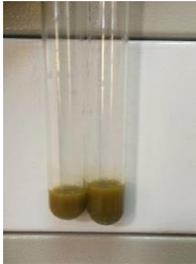
II.1. Screening phytochimique

II.1.1. Résultat

Le screening phytochimique des extraits hydroéthanolique et a permis qualitativement, la mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires de l'espèce *E.globulus* dont les résultats sont rassemblés dans le tableau 01.

Tableau 01 : Résultats des tests phytochimique des feuilles d'*E. globulus*.

Test	Résultat	Description des résultats	Photo
Test des tanins	+++	Le test des tanins a révélé un résultat fortement positif, signalé par l'observation d'une coloration vert foncé.	
Test d'acide phénolique	+++	Nous avons observé une couleur verte foncée dans l'extrait d' <i>E. globulus</i> , ce qui indique la présence de substances phénolique.	
Test des flavonoïdes	+++	Le test des flavonoïdes a révélé un résultat fortement positif, signalé par l'observation d'une coloration jaune.	
Test des alcaloïdes	+	L'observation d'une couleur marron de l'extrait d' <i>E. globulus</i> est un indicateur de la présence d'alcaloïde.	

<p>Test de saponosides</p>	<p>++</p>	<p>Présence de la mousse dans l'extrait d'<i>E. globulus</i> indique la présence de saponines.</p>	
<p>Test de quinones</p>	<p>+++</p>	<p>Présence d'une coloration jaune dans l'extrait d'<i>E. globulus</i> peut effectivement suggérer la présence des quinones.</p>	
<p>Test de coumarines</p>	<p>+</p>	<p>On a remarqué la présence des fluorescences dans l'extrait d'<i>E. globulus</i> qui indique la présence des coumarines.</p>	
<p>Test des glycosides</p>	<p>+</p>	<p>La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de glycosides dans l'extrait d'<i>E. globulus</i>.</p>	
<p>Test d'huile essentielle</p>	<p>+++</p>	<p>Une couche mince d'huile transparente est visible sur les parois de la verrerie, accompagnée d'une odeur très forte.</p>	 <p style="text-align: center;">↓</p> 

(+++): Test fortement positif.

(++): Test positif

(+): Test faiblement positif.

II.1.2. Discussion

Le criblage phytochimique de l'espèce *Eucalyptus globulus* a révélé une présence significative de plusieurs métabolites secondaires, notamment les alcaloïdes, les saponosides, les tanins, les polyphénols, les flavonoïdes et les huiles essentielles.

Les alcaloïdes, les tanins, les flavonoïdes et les composés réducteurs sont présents dans notre extrait, mais en quantités variables. Ces résultats sont en accord avec une étude menée par **Belbachir en 2019** sur une espèce d'Eucalyptus à Ain Timouchent en Algérie, qui a également observé la présence de ces métabolites. Cependant, les saponosides présents dans notre espèce ne sont pas présents dans l'espèce étudiée par (**Belbachir, 2019**). La présence des saponosides dans notre espèce sont en accord avec les travaux de **Shubhreet et al., En 2019** sur l'Eucalyptus en Inde, qui ont obtenu des résultats similaires. De plus, cette espèce contient des flavonoïdes et des tanins, que nous avons également identifiés dans notre plante.

La présence de certaines familles chimiques peut être déterminée, tandis que l'absence d'autres familles chimiques peut être observée. Cette variation dans les résultats peut s'expliquer par plusieurs paramètres, tels que des facteurs biologiques, géographiques ou physicochimiques. Par exemple, l'influence du stade de croissance de la plante, l'organe de la plante étudié, la différence de site de récolte incluant l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, les conditions du sol, la période de récolte, le patrimoine génétique et la méthode d'extraction utilisée. Ces facteurs peuvent influencer la composition chimique des plantes et expliquer les variations observées dans la présence ou l'absence de certaines familles chimiques (**Benini, 2007 ; Bruneton, 1999**).

II.2. Rendement d'extraction :

II.2.1. Résultat

Dans cette étude, nous avons préparé des extraits bruts à partir des feuilles d'*E. globulus*. En utilisant la méthode de macération dans le méthanol (extraits méthanoliques). Nous avons déterminé les rendements d'extraction de nos extraits obtenus après évaporation par rapport au matériel végétal sec. Les résultats sont présentés dans le tableau 02 :

Tableau 02 : Récapitulatif regroupant les rendements des extraits des feuilles d'*E. globulus*.

Matériel végétal	Extraits	Rendement /g	Pourcentage /%
Feuille d' <i>E.globulus</i>	Méthanolique 100%	0,99	19,8
	Méthanol /eau 80%20%	1,05	21
	Méthanol /eau 60%40%	1,11	22,2
	Méthanol /eau 40%60%	1,17	23,4

II.2.2. Discussion

Il existe différentes méthodes d'extraction qui sont particulièrement adaptées à l'extraction des extraits bruts parmi lesquelles on a choisi la méthode qui a été réalisée par (Chaouche, 2014).

Les extraits préparés à partir de notre échantillon ont produit des rendements variant de 19,8 à 23,4%. Nous avons observé que le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'extrait méthanolique (40%), tandis que le rendement diminuait proportionnellement à la concentration de MeOH.

Selon les résultats obtenus, l'extrait méthanolique de l'*Eucalyptus globulus* a affiché un rendement élevé de 23,4 %. D'après la littérature consultée, le méthanol est généralement considéré comme un solvant efficace pour l'extraction des composés phénoliques en raison de sa polarité et de sa capacité à solubiliser et à récupérer de manière optimale les composants actifs des plantes (Sultana et al., 2014). Par conséquent, l'extrait méthanolique d'*E. globulus* présente un rendement significatif en libérant la majorité des métabolites secondaires (Mohamed et al., 2013).

II.3. Activité antibactérienne des extraits bruts d'*E. globulus* :

II.3.1. Résultats

L'activité antibactérienne des extraits d'*E. globulus* est testée vis-à-vis de quatre souches bactériennes (deux à Gram positif : *S. aureus* et *B. subtilis*, et deux à Gram négatif : *E. coli* et *P. aeruginosa*) par la méthode de diffusion sur disque.

Selon le tableau 03 est observé que l'extrait méthanolique des feuilles d'*E. globulus* présente un pouvoir antibactérien très élevé contre la souche *S. aureus*. La sensibilité de la

souche bactérienne *S. aureus* se traduit par une zone d'inhibition de (25,00 mm) avec la solution mère à une concentration de 100%. Ensuite, on observe une zone d'inhibition de (23 mm) avec l'extrait à une concentration de 80%, suivie d'une zone de (20,45 mm) avec l'extrait à une concentration de 60%. L'extrait le moins sensible est celui à une concentration de 40%, avec une zone d'inhibition de (17mm).

Concernant les autres dilutions C1/2, C1/4 et C1/8, on remarque un bon pouvoir antibactérien avec des zones d'inhibition variant entre (13,00 et 24,00 mm).

Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*S.aureus*).

Souche Bactérienne	Zone d'inhibition mm				
	D	40 %	60%	80%	100%
<i>S.aureus</i>	T	0	0	0	0
	SM	17	20,45	23	25
	C1/2	16	18	22	24
	C1/4	14,5	17,5	20,5	21,5
	C1/8	13	14	16	19

Selon le tableau 04 La zone d'inhibition la plus significative est toujours observée avec la solution mère de l'extrait de concentration méthalonique à 100%, montrant une zone de (26,50 mm). Ensuite, l'extrait de concentration à 80% présente une zone de (22,50 mm), suivi par l'extrait à 60% avec une zone de (20,50 mm). L'extrait de concentration à 40% présente une activité antibactérienne moins marquée, avec une zone de (16,50 mm). Les dilutions restantes, C1/2, C1/4 et C1/8, ont montré une activité antibactérienne significative avec des zones d'inhibition variant entre (11 et 25,45 mm), à l'exception de l'extrait à 40% qui a montré une activité plus faible (11,00-16,50 mm).

Tableau 04 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*B.subtilis*).

Souche Bactérienne	Zone d'inhibition mm				
	D	40 %	60%	80%	100%
<i>B.subtilis</i>	T	0	0	0	0
	SM	16,5	20,5	22,5	26,5
	C1/2	15	19,5	21,5	25,45
	C1/4	13	18	19	21,5
	C1/8	11	13,5	15	18,5

En se référant au tableau 05, une faible activité antibactérienne est observée avec l'extrait méthanolique des feuilles d'*E. globulus*. Contre la souche *E. coli*. Le diamètre de la zone d'inhibition résultant de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique varie entre (7,00 et 14,00 mm). La zone d'inhibition la plus importante est obtenue avec la solution mère de l'extrait à une concentration de 100%, montrant une zone de (14,00 mm), suivie par l'extrait à une concentration de 80% avec une zone d'inhibition de (12,50 mm), puis l'extrait à une concentration de 60% avec une zone de (11,00 mm). L'extrait à une concentration de 40% présente une faible activité antibactérienne (10,5 mm). Pour les autres dilutions C1/2, C1/4 et C1/8, une activité antibactérienne très faible est observée avec des zones d'inhibition variant entre (7,00 et 13,00 mm).

Tableau 05 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*E.coli*).

Souche Bactérienne	Zone d'inhibition mm				
	D	40 %	60%	80%	100%
<i>E.coli</i>	T	0	0	0	0
	SM	10,5	11	12,5	14
	C1/2	9	10	11	13
	C1/4	8	9	9,5	10,5
	C1/8	7	8,5	9	9,45

À partir du tableau 06, une activité antibactérienne modérée de l'extrait méthanolique des feuilles d'*Eucalyptus globulus* contre la souche *P. aeruginosa* est observée. Le diamètre de la zone d'inhibition résultant de l'activité antibactérienne de l'extrait méthanolique varie entre (10,00 et 17,00 mm). La meilleure activité antibactérienne est obtenue avec la solution mère à une concentration de 100%, montrant une zone d'inhibition de (17,00 mm), suivie par l'extrait à une concentration de 80% avec une zone d'inhibition de (15,50 mm), puis l'extrait à une concentration de 60% avec une zone de (14,00 mm). L'extrait à une concentration de 40% présente une activité antibactérienne moins importante (13,00 mm). Pour les autres dilutions C1/2, C1/4 et C1/8, une faible activité antibactérienne est observée avec des zones d'inhibition variant entre (10,00 et 17,00 mm).

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques (*P. aeruginosa*).

Souche Bactérienne	Zone d'inhibition mm				
	D	40 %	60%	80%	100%
<i>P. aeruginosa</i>	T	0	0	0	0
	SM	13	14	15,5	17
	C1/2	12	13,45	14	16
	C1/4	11,5	12	12,5	13,5
	C1/8	10	11,5	11	12

II.3.2. Discussion

Les résultats de l'étude sont évalués après une période d'incubation de 24 heures. L'évaluation est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition exprimés en millimètres. Les diamètres des zones d'inhibition sont obtenus à partir de la méthode de diffusion en milieu solide, en soustrayant le diamètre du disque. Selon les souches et en fonction de différentes concentrations.

Selon (Rodríguez Vaquero *et al.*, 2007), le méthanol utilisé pour dissoudre les extraits n'a pas montré d'effet antibactérien sur les souches testées. Cette constatation est en accord avec les résultats obtenus par (Al-Zoreky, 2009).

B.subtilis est une bactérie à Gram+, elle est très sensible à l'extrait des feuilles d'*E globulus*. Avec diamètre des zones d'inhibition entre (11-26,50mm).

S.aureus est une bactérie à Gram+, elle est sensible à l'extrait de Feuilles d'*E globulus*. Avec diamètre des zones d'inhibition entre (13,00-17,00mm).

P.aeruginosa est une bactérie à Gram-, elle est moins sensible à l'extrait des feuilles d'*E globulus*. Avec de diamètre des zones d'inhibition entre (10,00-17,00mm).

E.coli est une bactérie à Gram-, elle est à une très faible sensibilité à l'extrait des feuilles d'*E globulus*. Avec de diamètre des zones d'inhibition entre (7,00- 14,00mm).

Les résultats obtenus concordent avec ceux de l'étude menée par **(Raho et Benali, 2008)**, qui mettaient en évidence la sensibilité de *S. aureus* et la résistance de *P. aeruginosa* à l'extrait des feuilles d'*Eucalyptus globulus*. L'utilisation de la méthode de diffusion des disques a révélé que l'effet antibactérien des extraits de cette plante médicinale varie d'une souche à une autre. Les bactéries *E. coli* et *P. aeruginosa* se sont révélées les plus résistantes, tandis que *S. aureus* et *B. subtilis* étaient les plus sensibles. Ces résultats sont en accord avec plusieurs études antérieures portant sur les extraits de plantes médicinales, qui ont montré que les bactéries à Gram négatif présentent une forte résistance aux extraits de plantes par rapport aux bactéries à Gram positif **(Arias et al., 2004 ; Khan et al., 2009 ; Oliveira et al., 2008)**.

Conclusion

Conclusion

L'espèce *Eucalyptus globulus* Labill., appartenant à la famille des myrtacées, est largement connue pour ses feuilles aromatiques et est utilisée depuis longtemps comme plante médicinale. L'objectif de cette étude était d'évaluer la présence de substances bioactives, le rendement d'extraction et l'activité antibactérienne d'*Eucalyptus globulus*.

Les tests phytochimiques ont révélés la présence de diverses substances bioactives dans les feuilles d'*Eucalyptus globulus*, telles que des polyphénols, flavonoïdes, saponines, alcaloïdes, tanins, quinones, glycosides et des coumarines. Ces composés sont largement utilisés dans la médecine traditionnelle, la parfumerie, les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Les résultats de l'extraction à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus* ont montrés un rendement de 23,4% pour les extraits bruts hydrométhanoliques (40%). Dans cette étude, il a été démontré que la macération au méthanol est une bonne technique d'extraction.

L'activité antibactérienne de l'extrait hydrométhanolique d'*Eucalyptus globulus* a été évaluée par la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé, également appelée aromatochrome. Les résultats ont montré que les souches de *B. subtilis* présentaient un diamètre de zone d'inhibition variant entre 11 et 26,5 mm, suivies de *S. aureus* avec un diamètre variant entre 13,00 et 25,00 mm, puis *P. aeruginosa* avec un diamètre de 10,00 à 17,00 mm, et enfin *E. coli* avec un diamètre de 7,00 à 14,00 mm. Cependant, les résultats indiquent que les quatre souches bactériennes étudiées, à la fois Gram-positives et Gram-négatives, sont résistantes à l'extrait testé. Ces résultats encourageants suggèrent que *Eucalyptus globulus* Labill. Pourrait être une source potentielle de molécules bioactives à des fins thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- Abaza L., Taamalli A., Nsir H., et Zarrouk M., (2007). Olive tree (*Olea europaea* L) Leaves: Importance and advances in the analysis of phenolic compounds. *Antioxidants*, 4(4), Pp: 682-698.
- Adil M., Sultana B., Babar T., Bashir A., Amjad M., ET Hassan Q., (2012). Investigation On the antioxidant activity of leaves, fruit and stem bark of Dhraik (*Melia azedarach*). *European J ApplSci*, 4, Pp: 47-51.
- Al-Zoreky N.S (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134 .Pp: 244-248.
- Ali-dellile L., (2013). Les plantes médicinales d'Algérie. Berti Edition Alger, Pp: 6-11
- Amarowicz R., Janiak M. (2019). Hydrolysable Tannins. *Encyclopedia of Food Chemistry*, Pp: 337-343
- Aires A., Marques E., Carvalho R., Rosa E. A. S. and Saavedra M. J. (2013). Evaluation of Biological Value and Appraisal of Polyphenols and Glucosinolates from Organic Baby leafsalads as Antioxidants and Antimicrobials against important Human Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 18: Pp: 4651- 4668.
- Arias, E., Gomez, D., Cudmani, N., Vattoune, A., Isla, I. (2004). Antibacterial activity of ethanolic and aqueous extracts of acacia aroma Gill. *Life Science*, 75.Pp : 191-202.
- Aït youssef M. (2006). *Eucalyptus globulus* L. In «Plante Médicinale de Kabylie », Ed : Paris, Pp : 126-130.

B

- Baba Aïssa F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles : flore d'Algérie et du Maghreb. Plus de 800 plantes de la flore d'Algérie et du Maghreb, ainsi que des substances végétales D'Afrique, d'Orient et d'Occident. Ed. : Librairie Moderne –Rouïba, Pp : 101.
- Baid S. « Etude de l'effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivé au Maroc par ACP ». Mémoire de Master .Université de Fès (Maroc), 2018.

- Balasundram N. ; Kalyana S. and Samman S. (2006). Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products: Antioxidant activity, occurrence and potential uses. *FoodChemistry*, 99, Pp : 191–203.
- Baudoux, D. (2000) *L'aromathérapie : se soigner par les huiles essentielles*. Edition Atlantica.
- Bauer A. W, Kirby W. M, Sheris J. C. an Turck M., (1966) .Antibiotic susceptibility Testing by a standardized single disc method.”*AM. J. Clin. Pathol* Vol 45.Pp :493-496.
- Beddou F, (2015). Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes *Rumex vesicarius* L. et *Anvillea radiata* Coss. & Dur. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid.Tlemcen, Algérie.
- Benaissa O., (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d'espèces de la Famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. Activité Biologique, Thèse Doctorat, université Mentouri Constantine. Pp : 63.
- Bekkali F, Averbeck L, (2008). “Review MI-Biological effects of essential oils AReview Food and Chemical Toxicology “: Vol 46: Pp: 446-475.
- Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H and Ehilé E.E., (2007). Etude Ethnobotanique et Screening phytochimique de *Caesalpinia benthiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpinaceae). *Rev. Sci. Nat*, 4 (2) : Pp : 217-225.
- Belbachir,kh.A. (2019)Etude phytochimique et l'Activité Antioxydante de la plante *Eucalyptus camaldulensis*, Mémoire de Master, Université de Ain Temouchent.
- Benini C. (2007) Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles Essentielles aux Comores. Mémoire d'Ingénieur. Université Gembloux.
- Benwqhi K., (2001). Contribution à l'étude des flavonoïdes dans la plante cynodon *Dactylon* L chiendent, mémoire de magister. Université d'Ouargla. Pp : 15 – 17.
- Benzahi K, (2001). Contribution à l'étude des flavonoides dans la Plante cynodn *Dactylon*L (chindent), mémoire de Magister. Université d'Ouargla, Pp : 15-17.
- Boudjouref M., (2011). Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits D'*Artemisiacampestris* L. Thèse de Magister en Biochimie. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie. Pp : 99.
- Bertrand B. *L'herbier boisé : histoires et légendes des arbres et arbustes*. Plume de carotte. 2007. P : 195.

- Bouakaz, I., (2006). Etude phytochimique de la plante *Genista Microcephala* .Mémoire de magister, Batna.
- Boukhelfoun L (2012), Extraction des composés actifs chez *eucalyptus globulus*, mémoire Magister, université Saad Dahleb Blida, 104 P.
- Boulekbatche-Mekhlouf L. (2011). Activités biologiques et caractérisation des polyphénols Extraits d'une plante médicinale de la région de Bejaia : *Eucalyptus globulus*. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaire. Université de Bejaia. p12.
- Bottine D.E., (2011). *Bacillus cereus*, a Volatile Human Pathogen. Rev. April clin. Microbiol, 23(2), Pp : 382-398.
- Brosse J. Larousse des arbres et des arbustes. Larousse. Paris ; 2000.P : 576.
- Buchanan, R. (2001) cours de métabolisme secondaire.
- Burnie G, Forrester S, Greig D, Guest S. Botanica : encyclopédie de botanique et d'horticulture, plus de 1000 plantes du monde entier. HF Ullmann Editions. 2013. 1024 p
- Buyser M. L., Sutra L. (2005). *Staphylococcus aureus*. In : Federighi M. Bactériologie alimentaire – Compendium d'hygiène des aliments. Economica, Paris, Pp: 25-51.
- Bruneton J., 1999. Pharmacognosy Phytochemistry medical plants Lavoisier publishing, USA, New York 2 : a upplagan s. Pp : 555-558.
- Bruneton J, (1993). Phytochimie et plantes médicinales ; Paris, Pharmacognosie 2 édition, Techniques et documentation, Lavoisier, Pp : 200-274.
- Brut, S. (2004) Essential oil: their antibacterial properties and potential applications in foods. International Journal of Food and Microbiology. 94, Pp : 223-253.

C

- Cateau E, King L, Vallauri D. Plantations industrielles d'arbres à croissance rapide. 2018. 24 p.
- Catier O. and Roux D. (2007). Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie : Cahiers du Préparateur en pharmacie. 3^{ème} ed. France : Wolters Kluwer.
- Chaouch N., (2001). Etude des Alcaloïdes dans la coloquinte *colocynthis vulgaris* (L) Schrad (cucurbitacées) Région de Oued N'sa (wilaya de Ouargla), mémoire de magister ; Université de Ouargla. P 44.

Chaouche T. (2014). Contribution à l'étude des activités antioxydantes et Antimicrobienne des extraits de quelques plantes médicinales. Doctorat. Biochimie. Université Abou-Bakr-Benlkaid, Tlemcen. P 121.

Chevalier A. Larousse des plantes médicinales. Larousse. 2013. 336 p.

Chira K. ; Suh J.-H. et Teissède P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6, Pp : 75-82.

Chouitah, O., 2011 : Composition chimique et activité antibactérienne des huiles Essentielles des feuilles de Glycyrrhizaglabra. Thèse de doctorat. Faculté des sciences. Université d'Oran.

Cirad. Eucalyptus 2018 : gestionnaires de plantations et chercheurs s'organisent face au changement climatique [Internet]. 2018 [cité 20 mars 2020]. Disponible sur : <https://www.cirad.fr/actualites/toutes-lesactualites/communiques-de-presse/2018/eucalyptus-2018-gestionnaires-de-plantations-et-chercheursface-au-changement-climatique>

Cohen A. J., (1979). Critical review of the toxicology of coumarin with special Reference to interspecies differences in metabolism and hepatotoxic response and their Significance to man. » *Food and Cosmetics Toxicology* 17(3);Pp: 277-289.

Copacel. Rapport statistique 2017 de l'industrie papetière française [Internet]. 2018 [cité 11 nov 2019] .Disponible sur : http://www.copacel.fr/media/document/fichier/rapport-statistique-2017_1.pdf

Costa F., Yendo A .C. A., Fleck J. D., Gosmann G. and Fett-Neto A. G. (2013). Accumulation of a Bioactive Triterpene Saponin Fraction of *Quillaja brasiliensis* Leaves is Associated with Abiotic and Biotic Stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 6 : Pp : 56-62.

Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews* 12(4): Pp: 564 – 582.

CristianCarip et Al. (2008). Microbiologie hygiène-bases microbiologiques de la Diététique. P : 79.

D

Delille L., (2007). Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, P : 122.

Deysson G. (1979). Systématique .Tome II : Organisation et classification des plantes Vasculaires. Ed.: Enseignement supérieurs, ISBN: 2-7181-3514-X, Pp: 378-382.

Dhakad AK, Pandey VV, Beg S, Rawat JM, Singh A. Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: a review: Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil. *J Sci Food Agric.* (2018); 98 (3) Pp: 833-848.

E

Eberhard T, Robert A, Annelise L., (2005). *Plantes aromatique, épice aromates, Condiments et huiles essentielles.* Tec et Doc. Lavoisier. Paris France extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.

Eckhard, W., Rüdiger, W., Marion, D., Günter, L., Stevens, J.F. (2000), *Phytochemistry* 55, Pp : 965-970.

Erlund. (2004). *Nut. Res.* p24, 851-74.

Elmeskini, M. K. (2011). *Etude épidémiologique des infections à Pseudomonas aeruginosa.* Thèse de Doctorat Université Mohamed V- Rabat, P : 4.

F

Fabre, M.C., Genin, A., Merigoux, J., et Moget, E. (1992). *Herboristerie Familiale ,Des Recettes Simples Avec Des Plantes Simples Pour Résoudre Les Problèmes Simples.*

Fahy E., Subramaniam S., Brown H.A., Glass C.K., Merrill A.H. Jr., Murphy R.C., Raetz C.R., Russell D.W., Seyama Y., Shaw W., Shimizu T., Spener F., van Meer G., VanNieuwenhze M.S., White S.H., Witztum J.L., Dennis E.A., (2005). A Comprehensive classification system for lipids, *J Lipid Res.*, vol. 46(5), Pp: 839-861.

FAO 1982. « Les eucalyptus dans les reboisements ». *Collection FAO : Forêts N.1*, 92-5-200570-61954 .

Fettah A, *Etude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydant – antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous espèce Thymoides de la region Beni Souik, Biskra.* Thèse de doctorat en chimie .Université Mohamed Khidre – Biskra- 2019 ; Pp : 13-16.

Fisher, K., et Philip, C. (2008). Potential Antimicrobial Uses of Essential Oils in Food: Is Citrus the Answer? *Trends in Food Science & Technology* 19 (2008) 156-164. Fleuriet, A. (1982). *Thèse Doc. Etat, Montpellier*

G

Gellerstedt, G., and Henriksson, G. (2008). Lignins: major sources, structure and properties (Amsterdam, the Netherlands: Elsevier.

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

Ghnimi W. (2015). Etude phytochimique des extraits de deux euphobiacées : Ricinus communis et Jatropha. Evaluation de leur propriété anti-oxydante et de leur action inhibitrice sur l'activité de l'acétylcholinestérase (Thèse de doctorat). Université de Lorraine.

Gorham J., 1977- Lunularic acid and related compounds in liverworts,algManallah, A . (2012)Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de la pulpe d'olive Olea europaea L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. UniversitéFerhat Abbas- sétif, 87p.

Govaerts R., Sobral M., Ashton P., Barrie F., Holst B.K., Landrum L.R, Matsumoto K.,Mazine F.F., Nic Lughadha E., Proença C., Soares-Silva L.H., Wilson P.G, Lucas E.J. (2008) World Checklist of Myrtaceae. Kew Publishing, Royal Botanic Gardens, Kew.

Grattapaglia D., vaillancourt R,E,, shepherd m,, thumma B,R,, foleyw,,kulheimc Potts B,M,, myburga,a, (2012), progress in myrtaceae genetics and genomics :Eucalytus as the pivotalgenus,tree genetics genomes ,8 : Pp: 463–508.

H

Hallé F. Aux origines des plantes, tome 1. Fayard. 2008. 682 - 675 p.

Harborne J B., Williams C A., (1998). Anthocyanins and other flavonoids. Natural Product Reports18: Pp: 310-333.

Harding J. Bienfaits des herbes et des plantes - un guide pour la culture et l'utilisation des herbesaromatiques et des plantes médicinales. Parragon. 2005. 256 p

Haslam E. (1994). Natural polyphenols (vegatable tannins): Gallic Acid metabolism .Nat. Prod. p11, 41-66

Heim K. E.; Tagliaferro A. R. and Bobilya D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, Metabolism and structure –activity relationships. Journal of Nutritional Biochemistry 13,pp: 572-584.

Hernandez-Ochoa L.R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par Combine «Solvant/ Actif». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechniques de Toulouse.

Herzi, N. (2013).Extraction et purification de substances naturelles : comparaison.

HeywoodV,H,(1996), flowering plants of the world, B,T, batsford, itd, london,cité.

Hingston, A. B. (2002). Pollination ecology of Eucalyptus globulus subsp. globulus and Eucalyptus nitens (Myrtaceae). January 295.

Hopkins W. G., (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier SA, Paris. P : 514.

Hurtel, J.M. (2001). Phytothérapie, plantes médicinales, aromathérapie, huiles essentielles. Del 'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles (Doctoral dissertation , INPT.(t. p96, 67– 202

I

Iriti M. (2013). Plant Neurobiology, a Fascinating Perspective in the Field of Research on Plant Secondary Metabolites. International Journal Molecules Sciences, 14(6) : Pp : 10819-10821.

Iserin P, (2001). Larousse encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparations, soins. Larousse, Paris.

J

JACQUES GREC, 1966. L'érisson, la défence, et la restauration des sols, le reboisement en Algérie, Alger. Pp :275-281.

Jeff, L. et Wayne, L. (2008). Collaboré avec les bactéries et autre micro-organismes .Ed .Du Rouergue .205p..

K

KiBakkali F., Averbek S., Averbek D., Idaomar M. (2008) Biological effects of essential Oils. Food Chemical Toxicology.46.Pp: 446-475.

Kunst, F.N., Ogasawara et al., (1997). »The complete genome sequence of the gram Positive bacterium Bacillus subtilis. « Nature, 390(6657), 249-56.

L

Larry M. Bush, MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University
Revue/Révision complète août 2022.
<https://www.msmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-bact%C3%A9riennes-pr%C3%A9sensation/pr%C3%A9sensation-des-bact%C3%A9ries>.

Luís, A. A., Duarte, A., Gominho, B. J., Domingues, A. F et Paula-Duarte, A. (2016). Chemical Composition, Antioxidant, Antibacterial and Anti-Quorum Sensing Activities of Eucalyptus Globulus and Eucalyptus, Radiata Essential Oils. Industrial Crops and Products, 79:274-283.

J. A., Stainer, A., & Hobbs, D. A. (2017). Role of flavonoids and nitrates in cardiovascular health. Proceedings of the Nutrition Society, 13 Product. 79:274-283.

M

Macheix J J, Fleuriet A, et Jay-Allemand C.H., (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne, 190 p. ISBN : 2-88074-625-6.

Malecky, M. (2005). Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir Le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de L'Environnement, Agro Paris Tech. P 9, 13-19, 20, 27.

Manallah, A. (2012). Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols de lapulpe d'olive *Olea europaea* L. Pour obtenir le Diplôme de magister, Option : Biochimie Appliquée. Université Ferhat Abbas- sétif, 87p.

Marais J. P. J.; Deavours B., Dixon R. A. and Ferreira D. (2006). The Stereochemistry of Flavonoids. In » The Science of Flavonoids « ISBN-13: 978-0387-28821-5, Pp: 1-46

Menager H. (1952). Les Eucalyptus dans le Gharb (Maroc occidental). Journal d'agriculture Traditionnelle et de botanique appliquée. Pp : 321-322.

Meyer A, Deiana J., (1988). Cours de microbiologie générale. Doin éditeurs, paris. P 201.

Mohamed A A., Ali S I., El-Baz F K. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of crude extracts and essential oils of *Syzygium cumini* leaves. *Plos one*, 8(4), Pp: 60-69.

Muanda, F. N. (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques (Doctoral dissertation, Thèse De Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, Pp : 55-86.

N

Newman D.J., CRAGG G.M., 2012 – Natural Products as Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J. Nat. Prod.* Vol. (75): 311-335.

Nauciel, Vildé., (2005). *Bactériologie medicinale of Food Microbiology*, 56(1): 3-12.

O

Ofegolbn, O., Anytam, J. and Onuwa, O.P., (2013). The effect of extraction protocol on the phytochemical and antimicrobial activities of *Lantana camara* leaf extract found within a local environment. *Journal of Basic and Applied Chemistry*, 3(1), Pp: 5-10.

Ogunwande, I.A., Olawore, N.O., Ekundayo, O., Walker, T.M., Schmidt, J.M., Setzer, W.N. (2005), Michael, F.R., Southwell, I.A. (2003), *Phytochemistry* 62, Pp: 683-689.

Oloyede OI., (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. *Pak J Nutr* ; 4. Pp : 379 -381.

Oullali. L et Chamek. C. (2018). Contribution à l'Etude Ethno pharmacognosique des Plantes Médicinales Utilisées pour le Traitement des Affections de l'Appareil Digestif en Kabylie. Mémoire de fin d'étude, Université Mouloud Mammeri, Faculté de Médecine, Tizi Ouzou, Algérie.

Orme R., « Provenance d'*Eucalyptus globulus* », Ed, Hobart, Tasmanie, (2000), Pp : 10-12.

P

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

Pandey KB ET Rizvi SI., 2009- Plant polyphenols as dietary antioxidants in human

Health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Vol. 2(5): Pp: 270 – 278.

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

Peeking A., PICAND B., HACENE K., LOKIEC F., GUERIN P., 1987-Oligimères

procyanidoliques (Endotélon) et système lymphatique. Artères et Veines. Publications médicales AGCF. Vol. (6): 512-513 Peeking A., PICAND B., HACENE K., LOKIEC F., GUERIN P., 1987-Oligimères.

Percival S., Chalmers R., Embrey M., Hunter P., Sellwood J. et Wynjones P., (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Edition: Elsevier Academic Press, Amsterdam. P: 480.

Pietta P.-G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *J.Nat.Prod.*, 63, pp: 1035-1042.

Ploy, M.C., Lambert, T., Gassama, A., et Denis, F., (2000). Place des intégrons dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques. *Annales de Biologie Clinique*. 58(4), Pp : 439-44.

Puig, C. G., Revilla, P., Barreal, M. E., Reigosa, M. J., et Pedrol, N. (2019). On the suitability of *Eucalyptus globulus* green manure for field weed control. *Crop Protection*, 121(February), 57–65.

Q

Ogawara, H. (1981). Antibiotic resistance in pathogenic and producing bacteria with special reference to betalactam antibiotics. *Microbial. Rev.*45(4), Pp : 591-619.

Quézel, P et Santa, S. (1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques Méridionales. Tome 2, p 637.

R

Rahmane F, Bentboula F. « Comparaison des maladies de deux espèces d'*Eucalyptus* (*Eucalyptus camaldulensis* et *Eucalyptus globulus*) dans la région de Medjez Amar (Guelma) » Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), 2016.

Raho, B., Ghalem, M., ET Benali, M. (2008). Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(10): 211-215p. ISSN 1996-0816.

S

Shubhreet Kaur, Dr. Saurabh Gupta and Priyae Brath Gautam. (2019). Phytochemical analysis of *Eucalyptus* leaves extract. *Journal of Pharmacognosy and Photochemistry*; 8(1): Pp: 2442-2446.

Spichiger R.-E. ; Savolainen V.V. ; Figeat M. et Jeanmonod D. (2002). Botanique Systématique des plantes à fleurs. Une approche phylogénétique nouvelles des Angiospermes des régions tempérées et tropicales. ISBN: 2-88074-502-0, Pp: 288.

Sultana B., Anwar F., Mushtaq M., Aslam M., Ijaz S. (2015). In vitro antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum* L.) seed extracts. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 27(4), Pp: 893-899.

Steane, D. A., Conod, N., Jones, R. C., Vaillancourt, R. E., et Potts, B. M. (2006). A comparative analysis of population structure of a forest tree, *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), using microsatellite markers and quantitative traits. *Tree Genetics and Genomes*, 2(1), 30–38

Steven P., Rachel C., Martha E., Paul H., Jane S., and Peter W.J., (2004). *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. Pp: 71-132.

Stöckigt J., Sheludk Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H. and Stöckigt D, (2002). High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic-electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected Alkaloid groups. *Journal of Chromatography A*, 967(1), Pp: 85-113.

T

Tesche, S., et Metternich, F. (2008). The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis. Results of a double blind, randomised, controlled trial. *Arch. Otorhinolaryngo*.

Trease E et Evans W.C., (1987). *Pharmacognosy Billiaire*. Ed. Tindall London. 13:P:6162.

U

Unesco. Coup de chaleur sur les forêts australiennes. Vol. 5. Planète SCIENCE. 2007. 4 p .
Unesco. Région des montagnes Bleues [Internet]. 2014 [cité 11 nov 2019]. Disponible sur :

<https://whc.unesco.org/fr/list/917>

V

Van Delden C. et Iglewski B.H., (1998). Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas Aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Diseases*. 4;pp: 551-560.

W

Waksmundzka-Hajnos, M., Sharma, J. (2001). High Performance liquid Chromatography in phytochemical science. *Chromatographic Science Series*, 477-478.ar

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

Waksmundzka-Hajnos, M., Sharma, J. (2001). High Performance liquid Chromatography in phytochemical science. *Chromatographic Science Series*, Pp: 477-478.

Y

Younsi Y., Meledjem S., Naidja K., (2010). Extraction et évaluation expérimentale in Vitro de l'activité antibactérienne des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire De fin d'études pour l'obtention du diplôme des Etudes supérieures en Biologie. Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, Université de Jijel, P : 29.

Yusuf, Y. (2006). Trends Food Sci. Tech. p17, 64-71.

Yala D, Merad A S, Mohamedi D and Ouar Korich M N .Classification et mode d'action des antibiotiques. Médecine du Maghreb, n° 91. (2001).

Z

Zenk M.H., Juenger M, (2007). Evolution and status of the phytochemistry of Nitrogenous compounds. Phytochemistry, 68, (22-24), Pp : 2757-2772.

Zhang, S. et Koubaa, A. (2009). Les résineux de l'Est du Canada : écologie forestière , Caractéristiques, transformation et usages. Dans FPinnovations (dir.) ,Publication spéciale SP-526E Pp. 1-28.

Annexes

Annexes

Annexe 01 : Matériel de laboratoire

➤ Appareillage



Soxhlet



Spectrophotometre



Micro-onde



Etuve



Rota Vapeur



Autoclave



Vortex



Chambre UV



Bec benzène



Plaque chauffante



Balance



Agitateur magnétique



Balance de précision

Bain marie



Agitateur mécanique

Verreries, matériel en plastique et produits chimiques :

Verreries et matériel en plastique	Produits chimiques
- Anse de platine	- Acide chlorhydrique (HCl)
- Béchers	- Chloroforme
- Biotes de pétri en verre	- Chlorure de ferrique (FeCl ₃)
- Burette graduée	- Ethanol C ₂ H ₆ O
- Compte-gouttes	- Hydroxyde de potassium (KOH)
- Écouvillon	- Hydroxyde de sodium (NaOH)
- Embouts	- Hydroxyde l'ammonium (NH ₄ OH)
- Entonnoir	- L'eau distillée
- Eprouvette	- L'eau physiologie

<ul style="list-style-type: none"> - Erlenmeyer - Fioles - Flacons (250ml) - Flacons en verre ambré - Micro pipette (1000 µl, 200 µl) - Papier aluminium - Papier filtre (0.45µm) - Parafilm - Pince - Pipettes - Pipettes graduée - Porte tube à essai - Portoirs -pied à coulisse - Spatule - Tube en plastiques citrates - Tubes à essai - Tubes secs à bouchons - Verres de montre 	<ul style="list-style-type: none"> - Liqueur de Fehling - Méthanol
---	--

Annexe 02 : Réactifs utilisés pour le screening phytochimique.

➤ Réactif de Wagner

Iode.....	1.27 g.
Iodure de potassium.....	2 g.
Eau distillée.....	75 ml.

➤ Réactif de Liqueur de Fehling

Annexe 03 : Préparation des solutions pour les extraits bruts.

➤ Ethanol 70%

Ethanol	70 ml.
Eau distillé.....	30 ml.

➤ **Méthanol 40%**

Méthanol.....40 ml.

Eau distillé.....60ml.

➤ **Méthanol 60%**

Méthanol60 ml.

Eau distillé.....40 ml.

➤ **Méthanol 80%**

Méthanol80 ml.

Eau distillé.....20ml.

➤ **Méthanol 100%**

Méthanol100ml.

Annexe 04 : Préparation des milieux d' isolements pour la réalisation d' activitéantibactérienne.➤ **Mueller Hinton (MH)**

MH.....38g.

Eau distillée.....1000ml.

➤ **Bouillon Nutritif (BN)**

BN.....13g.

Eau distillé1L.

➤ **Gélose Nutritif**

GN.....28g.

Eau distillé1L

➤ **L' eau physiologique**

NaCl0.9g.

Eau distillée.....100 ml.

Annexe 05 : Diamètres des zones d' inhibition des différents extraits méthanoliques.

Tableau 01 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *B.subtilis*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm											
		40%			60%			80%			100%		
<i>B.subtilis</i>	T	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	S M	16	16.5	17	20.5	19.5	21.5	22.5	19.5	25.5	27	26.5	26
	C _{1/2}	15	16	14	19.5	20	20.5	19.5	21.5	23.5	25.45	25	25.9
	C _{1/4}	11	13	15	16	18	20	18.5	19.5	19	20	19	21
	C _{1/8}	10.55	11.45	11	14	14.5	13.5	12	15	18	18.5	19.5	19

Tableau 02 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *S.aureus*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm											
		40%			60%			80%			100%		
<i>S.aureus</i>	T	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	S M	17	17	17	20.45	22.45	18.45	23	25	21	24	26	25
	C _{1/2}	18	16	20	19	20	18	22.5	22	23	26	24	22
	C _{1/4}	14	14.5	15	19.5	17.5	15.5	19	22	20.5	21.5	20.5	21
	C _{1/8}	15	11	13	17	11	14	16	18	14	19	18	20

Tableau 03 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques de *P.aeruginosa*.

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm											
		40%			60%			80%			100%		
<i>P.aeruginosa</i>	T	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	S M	12	13	14	15	13	14	16.5	15.5	17.5	18.5	16.5	17
	C 1/2	12	11.5	12.5	11.45	13.45	15.45	14	12	16	14.5	16	17.5
	C 1/4	9.5	11.5	13.5	12	12	12	12	12.5	13	11.5	13.5	15.5
	C 1/8	9.55	10.45	10	11	11.5	12	11	12	10	11	13	12

Tableau 04 : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits méthanoliques d'*E.coli*

Souche Bactérienne	D	Zone d'inhibition mm											
		40%			60%			80%			100%		
<i>E.coli</i>	T	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
	S M	9.5	10.5	11.5	11	13	9	14.5	12.5	10.5	15	14	13
	C 1/2	10	8	9	7.5	10	12.5	11	11	12	12.5	13.5	13
	C 1/4	8	10	6	10	8	9	8.5	9.5	10.5	7.5	10.5	13.5
	C 1/8	6.5	7.5	7	8.5	8	9	9	9	9	11.45	9.45	7.45

Annexe 06 : Rendements d'extraits méthanoliques

Matériel végétal	Extraits	Rendement / g R1	Rendement /g R2	Rendement /g R3
Feuille d'<i>E.globulus</i>	Méthanolique100%	0,99	1	0,98
	Méthanol /eau 80%20%	1,05	1	1,1
	Méthanol /eau 60%40%	1,11	1	1,22
	Méthanol /eau 40%60%	1,17	1	1,34

-KIHHEL Rayane

Date de Soutenance : -/06/2023

- KHELIFA Soumia

Thème :

Effet des extraits successifs de déférentes concentrations méthanoliques surles activités biologiques d'*Eucalyptus globulus* labill.

Résumé

Nous avons mené une étude sur les effets successifs de différentes concentrations métaboliques d'*Eucalyptus globulus* Labill, une plante médicinale appartenant à la famille des Myrtacées, afin d'évaluer ses activités biologiques. Les extraits ont été obtenus par une méthode de macération.

Nos résultats indiquent que des tests de screening phytochimiques ont révélé la présence d'acides phénoliques, tanins, glucosides, saponines, flavonoïdes, alcaloïdes, quinones libres, coumarines et d'huiles essentielles dans la plante.

Nous avons constaté que l'extrait hydroéthanolique présentait le rendement le plus élevé, atteignant 23,4%.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, nous avons observé que l'*Eucalyptus globulus* possédait une activité antibactérienne significative. La sensibilité des souches bactériennes testées variait en fonction des dilutions des extraits bruts et de la nature bactérienne. Nous avons notamment observé une forte activité contre la souche *B.subtilis* (11-26,50mm). En revanche, une faible activité contre la souche *E.coli* (7,00-14mm).

Mots clés : *Eucalyptus globulus* Labill, extrait bruts, phytochimie, rendement, activité antibactérienne.

Devant le jury :

Présidente :	ZARAF A CH.	MAB	Centre Universitaire Mila
Examinatrice :	SAHLI M.	MAB	Centre Universitaire Mila
Promoteur :	YAHIA A.	Pr	Centre Universitaire Mila