

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض

Faculté Des Sciences de la Nature et de
la Vie et des Sciences de la Terre

Département : Sciences Biologiques



جامعة الجيلالي بونعامة - خميس مليانة

Université Djilali Bounaama

Khemis Miliana

قسم : العلوم البيولوجية

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

THEME

Tests Phytochimiques et activités thérapeutiques de quelques extraits d'*Eucalyptus globulus*.

Réalisé par :

SAFSAF Nadhira

TOUMI Fatima Zahra

Soutenu le 25/06/2025 devant le jury composé de :

Président(e)	M. MOSTEFA SARI Fouzia	MCA	U. Khemis Miliana
Promoteur	Mme KACI Zakia	MCA	U. Khemis Miliana
Co-promoteur	BOUBEKEUR Sihem	Dr	CRD-SAIDAL
Examineur	AFKIR Khadidja	MAA	U. Khemis Miliana

Remerciements

Avant tout, nous remercions ALLAH, Le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la force, le courage et la patience nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice, **Mme M^{me} KACI Zakia**, Maître de Conférences Classe A à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana.

Nous la remercions chaleureusement pour la confiance qu'elle nous a témoignée, pour sa disponibilité, son encadrement rigoureux, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils et son accompagnement tout au long de cette étude. Madame, recevez l'expression de notre sincère respect et de notre profonde reconnaissance.

Nos remerciements vont également à **Mme BOUBEKEUR Sihem**, Docteure en chimie et responsable du département des méthodes au Centre de Recherche et Développement du Groupe SAIDAL, pour avoir assuré la co-direction de ce travail. Sa disponibilité, son expertise et ses conseils avisés nous ont été d'une aide précieuse.

Nous remercions sincèrement les membres du jury pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer notre travail :

Présidente : **Mme. MOSTEFA SARI Fouzia**, Maître de Conférences Classe A à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Examinatrice : **Mme. AFKIR Khadidja**, Maître de Assistant Classe A à l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Nous exprimons également notre reconnaissance à l'ensemble du personnel du Centre de Recherche et Développement SAIDAL (Gué de Constantine – Alger), en particulier à sa Directrice Madame **M^{me} BENCHABANE Hafida**, ainsi qu'à toute l'équipe du laboratoire pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité et leurs contributions enrichissantes.

Nos plus sincères remerciements vont également à Mme **ALAIMIA Mounia** Directrice du Laboratoire de Chimie Analytique, dont le soutien et les encouragements nous ont permis de mener à terme ce travail.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à **Mme HALLI Latifa**, Directrice du Laboratoire des Substances Naturelles, pour nous avoir autorisés à accéder à son laboratoire et à y effectuer les extractions

Nous exprimons notre vive reconnaissance à **Mme BOUCHAREB Sihem**, du laboratoire de microbiologie pour ces conseils précieux et son aide tout au long de la réalisation de ce travail.

Un grand merci s'adresse également aux ingénieurs des laboratoires des facultés SNV et ST de l'Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana pour leurs conseils et leur assistance technique tout au long de ce projet.

Nos remerciements s'étendent à l'ensemble de nos enseignants qui, au fil des années, ont su nous transmettre leur savoir et leur passion pour la science.

Dédicace

Gloire à Dieu qui m'a permis de mener à terme ce travail.

Je dédie ce travail :

À mes chers parents, Djamal et Fatiha :

Votre amour inconditionnel et votre soutien indéfectible ont été le moteur de ma réussite.
Merci pour votre patience, votre sagesse et les nombreux sacrifices consentis.

À mes sœurs, Ahlam et Marwa, et à mes frères, Mohammed et Abdou :

Votre présence constante et vos encouragements m'ont aidée à surmonter les moments difficiles. Merci pour votre affection et votre solidarité.

À mon fiancé, Sid-ahmed :

Merci pour ta compréhension, ta confiance, ta patience et ta tendresse. Tu m'as toujours soutenue et réconfortée. Tu es, et restes, ma plus grande source d'encouragement. Merci d'avoir supporté mon humeur tout au long de ce parcours. Je t'en suis profondément reconnaissante.

À la maman et au papa de mon fiancé :

Votre accueil chaleureux et votre bienveillance m'ont profondément touchée. Merci pour votre soutien et la confiance que vous m'accordez.

À tous les membres de ma grande famille :

Votre amour et votre présence ont illuminé mon chemin. Merci pour votre soutien moral et votre affection.

À Nadhira,

Mon amie et mon binôme, merci pour ta précieuse collaboration, ton amitié fidèle et ton aide inestimable tout au long de ce projet. Notre travail d'équipe a été un véritable succès grâce à toi.

Fatima Zahra

Dédicace

À mon père :

Mon tout premier amour, mon soutien dans les moments de fatigue. Toi qui ne t'es jamais incliné par faiblesse, mais uniquement pour me protéger. Tu as semé sur mon chemin la lumière de ta détermination. Tu resteras à jamais une fierté inébranlable et une prière qui ne sera jamais ignorée.

À ma mère :

Source inépuisable de tendresse, toi qui ne m'as jamais ménagée dans tes prières, ni négligé mon confort. Tu es cette chaleur constante quand le monde devient froid.

À mon frère unique, Osama :

Toi qui as partagé mon fardeau sans que je le demande, qui a été un pilier lorsque tout devenait difficile. Merci d'être mon frère, tout simplement.

À mes sœurs, Rja, Zahra, Zaynab :

Vous avez été pour moi un foyer, un refuge, un soutien. Mes alliées dans les moindres détails. Vous êtes un amour sans égal, une sérénité qui m'apaise.

À ma chère amie et binôme, Fatima Zahra :

Tu as été une présence précieuse dans les moments les plus éprouvants. Grâce à toi, le chemin m'a semblé moins escarpé. Il est temps de te dire merci, du fond du cœur, ma précieuse.

À moi-même :

Toi qui t'es effondrée de fatigue mais relevée avec détermination. Merci de ne pas m'avoir abandonnée, d'avoir tenu bon lorsque tout vacillait. Tu as été ton propre pilier.

Nadhira

Tests Phytochimiques et activités thérapeutiques de quelques extraits d'*Eucalyptus globulus*

Résumé :

Cette étude a pour objectif d'extraire les composés bioactifs et d'évaluer quatre activités biologiques des extraits et de l'huile essentielle des feuilles d'*Eucalyptus globulus* récoltées à Miliana (Aïn Defla). L'huile essentielle a été obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, avec un rendement de 1,43 %. Les extraits polyphénoliques ont été préparés à l'aide de trois méthodes d'extraction (ultrasons, Soxhlet et macération) en utilisant différents solvants, l'extraction éthanolique par Soxhlet ayant donné le rendement le plus élevé (55,08 %). L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) a permis d'identifier 22 composés bioactifs dans l'huile essentielle, dont le 1,8-cinéole est le composé majoritaire (48,82 %). Les évaluations biologiques ont révélé : Une faible activité antioxydante de l'huile essentielle vis-à-vis du radical DPPH, avec une CI_{50} de 0,00917 mg/ml, comparée aux standards (acide ascorbique : 0,00107 mg/ml ; BHA : 0,00124 mg/ml ; BHT : 0,00087 mg/ml). Une activité antimicrobienne des extraits polyphénoliques plus marquée contre les bactéries à Gram positif que Gram négatif, et plus efficace sur les bactéries que sur les champignons, selon la méthode de diffusion sur gélose. Une activité anti-inflammatoire, évaluée par l'inhibition de la dénaturation de l'albumine sérique bovine (BSA), maximale pour l'extrait éthanolique obtenu par Soxhlet (90,92 %), suivi de l'extrait butanolique (80,8 %) ; l'huile essentielle présentant une activité inférieure à celle du diclofénac utilisé comme témoin. Une activité antidiabétique, évaluée par l'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure, dont l'efficacité diminue avec l'augmentation de la concentration en glucose (5, 10 et 25 mM).

Mots clés : *Eucalyptus globulus*, polyphénols, 1,8-cinéole, DPPH, protéines (BSA), antidiabétique. anti-inflammatoire

Phytochemical tests and therapeutic activities of some extracts of *Eucalyptus globulus*

Abstract:

This study aimed to extract bioactive compounds and evaluate four biological activities of extracts and essential oil from *Eucalyptus globulus* leaves harvested in Miliana (Ain Defla). The essential oil was obtained by steam distillation, with a yield of 1.43%. The polyphenolic extracts were prepared using three extraction methods (ultrasonic, Soxhlet, and maceration) using different solvents, with ethanolic Soxhlet extraction yielding the highest (55.08%). Gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) analysis identified 22 bioactive compounds in the essential oil, of which 1,8-cineole was the predominant compound (48.82%). Biological evaluations revealed: A low antioxidant activity of the essential oil against the DPPH radical, with an IC_{50} of 0.00917mg/ml, compared to the standards (ascorbic acid: 0.00107mg/ml; BHA: 0.00124mg/ml; BHT: 0.00087mg/ml). An antimicrobial activity of the polyphenolic extracts more marked against Gram-positive bacteria than Gram-negative, and more effective on bacteria than on fungi, according to the agar diffusion method. An anti-inflammatory activity, evaluated by the inhibition of the denaturation of bovine serum albumin (BSA), maximum for the ethanolic extract obtained by Soxhlet (90.92%), followed by the butanolic extract (80.8%); the essential oil showing a lower activity than that of diclofenac used as a control. Antidiabetic activity, assessed by the inhibition of glucose uptake by yeast cells, the efficacy of which decreases with increasing glucose concentration (5, 10 and 25mM).

Keywords: *Eucalyptus globulus*, polyphenols, 1,8-cineole, DPPH, proteins (BSA), antidiabetic, anti-inflammatory

الاختبارات الكيميائية النباتية والأنشطة العلاجية لبعض مستخلصات شجرة الكينا غلوبولوس

ملخص:

هدفت هذه الدراسة إلى استخلاص مركبات نشطة بيولوجياً وتقييم أربعة أنشطة بيولوجية لمستخلصات وزيت عطري من أوراق شجرة الكينا غلوبولوس المحصودة في مليانة (عين الدفلى). استُخلص الزيت العطري بالتقطير بالبخار، بنسبة عائد بلغت 1.43%. حُضرت المستخلصات متعددة الفينول باستخدام ثلاث طرق استخلاص (الموجات فوق الصوتية، وسوكسلت، والنقع) باستخدام مذيبات مختلفة، حيث حقق استخلاص سوكسلت الإيثانولي أعلى نسبة (55.08%). حدد تحليل كروماتوغرافيا الغاز-مطياف الكتلة 22 (GC/MS) مركباً نشطاً بيولوجياً في الزيت العطري، وكان المركب السائد هو 1,8-سينول (48.82%). أظهرت التقييمات البيولوجية ما يلي: انخفاض نشاط مضاد للأكسدة للزيت العطري ضد جذر DPPH، حيث بلغ IC_{50} 0.00917 ملغ/مل، مقارنةً بالمعايير (حمض الأسكوربيك: 0.00107 ملغ/مل؛ BHA: 0.00124 ملغ/مل؛ BHT: 0.00087 ملغ/مل). كان النشاط المضاد للميكروبات للمستخلصات متعددة الفينول أكثر وضوحاً ضد البكتيريا موجبة الجرام منه سالبة الجرام، وأكثر فعالية على البكتيريا منه على الفطريات، وفقاً لطريقة انتشار الأجار. أما النشاط المضاد للالتهابات، والذي تم تقييمه من خلال تثبيط تحلل ألبومين مصل البقر (BSA)، فقد بلغ ذروته للمستخلص الإيثانولي الذي تم الحصول عليه باستخدام طريقة سوكسلت (90.92%)، يليه المستخلص البوتانولي (80.8%)؛ حيث أظهر الزيت العطري نشاطاً أقل من نشاط ديكلوفيناك المستخدم كعينة ضابطة. النشاط المضاد لمرض السكر، والذي يتم تقييمه من خلال تثبيط امتصاص الجلوكوز بواسطة خلايا الخميرة، وتقل فعاليته مع زيادة تركيز الجلوكوز (5 و 10 و 25 مليمول).

لكلمات المفتاحية: أوكالبتوس غلوبولوس، بوليفينول، 1,8-سينول، DPPH، بروتينات (BSA)، مضاد للسكري، مضاد

للتهابات

	Page
Sommaire	
Remerciements	
Dédicace.	
Résumé	
Introduction	01
Chapitre 01 : Partie bibliographique	
1. Généralités sur les plantes médicinales	04
2. La famille des Myrtaceae	04
3. Eucalyptus globulus	04
3.1. Origine et répartition géographique	04
3.2. Systématique et nomenclature	06
3.3. Description botanique	06
3.4. Exigence pédoclimatique	07
3.5. Composition chimique de la plante	08
4.1. Huiles essentielles	09
4.1.1. Composition chimique	11
4.1.1.1. Composés terpéniques	11
4.1.1.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane	11
4.2. Méthodes d'extractions	11
4.2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	12
4.2.2. Extraction par hydrodistillation	13
4.2.3. Extraction à froid	14
4.2.4. Extraction par solvant organique	14
4.2.5. Extraction assistée par micro-ondes	15
4.2.6. Extraction par fluide à l'états supercritique	16
4.3. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles	16
4.3.1. Propriétés physiques	17
4.3.2. Propriétés chimiques	17
5. Activités biologiques	18
Chapitre 02 : Matériel et Méthode	
1. Matériel utilisé	20
1.1. Matériel biologique	20
1.1.1. Matériel végétal	20
1.1.2. Souches microbiennes testées	20
1.2. Matériel non biologique	21
2. Méthodes	21
2.1. Extraction d'huile essentielle	21
2.2. Détermination de rendement en huile essentielle	22
2.3. Analyse de composition chimique d'huile essentielle par GC/MS	22
2.4. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité)	22
2.5. Extraction des composés actifs	23
2.5.1. Préparation des extraits éthanoliques	23
2.5.1.1. Extraction par sonication	23
2.5.1.2. Extraction par Soxhlet	23
2.5.1.3. Extraction par macération	24
2.5.2. Préparation de l'extrait éthérique	24
2.5.3. Préparation de l'extrait n-butanolique	24
2.6. Détermination de rendement en extraits	25
2.7. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle	25
2.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne in vitro des extraits	26

2.8.1. Protocole expérimentale	26
2.8.1.1. Revivification des souches microbiennes	26
2.8.1.2. Préparation de l'inoculum	27
2.8.1.3. Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes	27
2.8.1.4. Dépôt des disques	28
2.8.1.5. Incubation	28
2.8.1.6. Lecteur des résultats	28
2.9. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro	28
2.10. Evaluation de l'activité antidiabétique in vitro	29
Chapitre 03 : Résultats et discussion	
1. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité)	31
2. Rendements d'extraction	32
3. Résultats d'analyse d'huile essentielle par GC/MS	33
4. Résultats de l'activité antioxydante	34
4.1. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH• (DPPH scavenging activity)	34
4.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH• « <i>Eucalyptus globulus</i> »	35
4.3. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux	36
5. Résultats de l'activité antimicrobienne	37
6. Résultats de l'activité anti-inflammatoire	39
7. Résultats de l'activité antidiabétique	40
Conclusion	46
Références bibliographiques	49

Liste des figures

	Pages
Figure 01	La distribution de l' <i>Eucalyptus globulus</i> en 2000 05
Figure 02	Aspect morphologique de l' <i>Eucalyptus globulus</i> 07
Figure 03	Structure chimique du 1,8-cinéole 08
Figure 04	Schéma simplifié montrant les voies métaboliques secondaires chez les plantes 10
Figure 05	Structures chimiques de certains composants des huiles essentielles 12
Figure 06	Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (EVE) 13
Figure 07	Représentation schématique de l'hydrodistillation 14
Figure 08	Schéma du montage de l'extraction à froid par la méthode de « in-line » 15
Figure 09	Hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite 16
Figure 10	Dispositif expérimentale pour SFE et GAME 17
Figure 11	(A) : Feuilles fraîches. (B) : Feuilles séchées 20
Figure 12	Extracteur semi-pilote 21
Figure 13	Appareil GCMS-TQ8030 22
Figure 14	Appareille d'ultrason 23
Figure 15	Équipement de Soxhlet 24
Figure 16	Les dilutions de l'EGEO 26
Figure 17	Stérilisation des milieux de culture dans l'autoclave..... 27
Figure 18	Incubation des solutions testes d'activité anti-inflammatoire 28
Figure 19	Teneur en eau des feuilles d' <i>E. globulus</i> 31
Figure 20	Profil chromatographique de l'Huile essentielle d' <i>E. globulus</i> 34
Figure 21	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (Huile essentiell des feuilles d' <i>E. globulus</i> 35
Figure 22	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique 35
Figure 23	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHA 36
Figure 24	Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHT 36
Figure 25	L'histogramme illustre le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 5 mM, suite à l'action des extraits 41
Figure 26	L'histogramme illustre le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 10 mM, suite à l'action des extraits..... 42
Figure 27	L'histogramme illustre le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 25 mM, suite à l'action des extraits 43

Liste des tableaux

	Pages
Tableau 01 La classification phylogénétique de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	06
Tableau 02 Composition relative en pourcentage des huiles essentielles de feuilles d'espèces <i>d'eucalyptus</i>	09
Tableau 03 Caractéristiques générales des micro-organismes utilisés	21
Tableau 04 Échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne	28
Tableau 05 Les Rendements des différents extraits des feuilles d' <i>E. globulus</i>	32
Tableau 06 Composition chimique de l'Huile essentielle d' <i>E. globulus</i>	33
Tableau 07 Résultats de l'activité anti-radicalaire en IC50	37
Tableau 08 Diamètre des zones d'inhibition (mm)	37
Tableau 09 Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-inflammatoire des extraits d' <i>E. globulus</i> et le Diclofénac à différentes concentrations	39

Introduction

Introduction

Depuis l'Antiquité, les êtres humains ont toujours eu recours aux plantes pour subvenir à leurs besoins essentiels. Celles-ci ont été exploitées comme sources de médicaments, d'abri, de nourriture, de parfum, de vêtements, de condiments, d'engrais, et ont même contribué au développement des premiers réseaux commerciaux à l'échelle mondiale (Kulu Shuaibu *et al.*, 2025).

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) définit la médecine traditionnelle comme un ensemble de savoirs, compétences et pratiques fondés sur les théories, croyances et expériences propres aux différentes cultures, utilisés pour maintenir la santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer ou traiter les maladies physiques et mentales (Chashike *et al.*, 2025). Actuellement, près de 80 % de la population mondiale dépend de la médecine traditionnelle pour les soins de santé primaires, ce qui souligne son importance et l'efficacité des traitements phytothérapeutiques (Belkhodia *et al.*, 2022).

Les plantes occupent ainsi une place centrale en médecine traditionnelle, en raison de leur richesse en composés bioactifs tels que les flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes et huiles essentielles, reconnus pour leurs effets thérapeutiques variés (Ventrella et Marinho, 2008 ; Ladoh Yemeda *et al.*, 2014).

L'Algérie, de par sa diversité écologique, possède un patrimoine phytogénétique remarquable. Parmi les espèces médicinales les plus valorisées figure le genre *Eucalyptus*, en particulier *Eucalyptus globulus*. Cette espèce est largement utilisée dans la pharmacopée traditionnelle algérienne, notamment pour le traitement des affections respiratoires comme le rhume et la grippe, grâce aux propriétés thérapeutiques de ses feuilles riches en huiles essentielles. Ces dernières sont réputées pour leurs effets analgésiques, anti-inflammatoires et antipyrétiques. Aujourd'hui, l'huile essentielle d'*E. globulus* (EGEO) connaît également un intérêt croissant dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire, illustrant ainsi la valeur patrimoniale et économique de cette ressource naturelle (Ladoh Yemeda *et al.*, 2014 ; Boukhatem *et al.*, 2014).

L'objectif de notre travail est double :

Dans un premier temps, il s'agit de compléter l'étude réalisée l'année précédente en comparant l'efficacité de l'huile essentielle d'*E. globulus* (EGEO) et de ses extraits, en évaluant leurs activités antioxydantes et antimicrobiennes respectives. Cette comparaison vise à déterminer si l'huile essentielle est plus, moins ou aussi active que les extraits, et à identifier, selon leur composition chimique, la forme la plus efficace.

Introduction

Dans un second temps, nous avons élargi l'étude en explorant l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique de l'EGEO, ainsi que de cinq types d'extraits obtenus par différentes méthodes (trois extraits éthanoliques par sonication, Soxhlet et macération, un extrait butanolique et un extrait éthéré).

Ce travail est structuré en trois chapitres :

Chapitre 1 : Partie bibliographique, abordant les généralités sur les plantes médicinales, les métabolites secondaires, ainsi qu'une présentation de *Eucalyptus globulus* et des différentes activités biologiques associées à ses extraits et à son huile essentielle.

Chapitre 2 : Présentation du matériel et des méthodes, allant de l'extraction de l'huile essentielle à l'analyse de sa composition chimique, en passant par l'évaluation des quatre principales activités biologiques *in vitro* : antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire et antidiabétique.

Chapitre 3 : Présentation et discussion des résultats obtenus.

Enfin, ce mémoire s'achève par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus et propose des perspectives pour de futures recherches.

Chapitre 01

Partie bibliographique

1. Généralités sur les plantes médicinales :

Depuis très longtemps, les plantes médicinales jouent un rôle déterminant dans la préservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages que les médicaments sont souvent dépourvus de (Chevallier, 2001).

Selon la définition de la Pharmacopée Française (11^{ème} édition en vigueur) : « Les plantes médicinales sont des drogues végétales, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Ces dernières peuvent aussi avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques. »

2. La famille des *Myrtaceae* :

La famille des *Myrtaceae*, également connue sous le nom de Myrtacées, est un groupe de plantes dicotylédones (Bruneton, 1999) et l'une des plus importantes, reconnue comme la 8^{ème} plus grande famille de plantes à fleurs (Saber et al., 2024).

Elle fait partie de l'ordre des *Myrtales*, comprend plus de 6 000 espèces d'arbres et d'arbustes réparties dans 144 genres (Abe et al., 2024). Ces espèces se trouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales du monde, avec des centres de diversité majeurs en Amérique du Sud et en Australie (Da Silva Pittarelli et al., 2021), bien que quelques représentants soient également présents en Afrique (Abe et al., 2024).

Les *Myrtaceae* regroupent de nombreux genres de plantes d'une grande importance écologique et économique, présentes à l'échelle mondiale. Parmi celles-ci, on trouve des espèces largement utilisées telles que *Eucalyptus* sp., *Eugenia* sp., *Syzygium* sp., *Psidium* sp., *Pimenta dioica*, *Myrtus* sp., *Myrciaria* sp et *Melaleuca alternifolia* (Saber et al., 2024).

De nombreuses espèces de la famille des *Myrtaceae* sont couramment employées en médecine traditionnelle pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antioxydantes, etc. (Maiolini et al., 2023), ainsi que pour exploiter leur bois, leurs fruits comestibles et comme ingrédient dans divers aliments (Nguyen et al., 2023).

3. *Eucalyptus globulus* :

3.1. Origine et répartition géographique :

L'*Eucalyptus globulus*, également connu sous le nom de Gommier bleu de Tasmanie (Lobstein et al., 2018), est originaire du Sud-Est de l'Australie (Freeman et al., 2007). Il a été découvert en 1792 par le botaniste français Jacques-Julien Houtou de La Billardière (Lobstein et al., 2018).

Ferdinand von Mueller (1825-1896), qui était le directeur du jardin botanique de Melbourne en Australie, a été le premier à décrire l'*E. globulus* (Lobstein *et al.*, 2018).

Répartition dans le monde :

L'*E. globulus* est l'une des espèces d'*eucalyptus* les plus largement cultivées dans le monde (Figure 01), avec une superficie estimée à environ 23 millions d'hectares (Yimam *et al.*, 2024). Sa popularité réside dans sa croissance rapide et sa capacité d'adaptation à divers environnements, ce qui lui permet d'être cultivé dans plusieurs régions subtropicales d'Afrique, d'Asie (notamment en Chine, en Inde et en Indonésie), ainsi qu'en Amérique du Sud, en Europe méridionale et aux États-Unis (Vigo *et al.*, 2024 ; Goetz et Ghedira, 2012).

Au XIXe siècle, des *eucalyptus* ont également été introduits dans des pays comme le Portugal, la Californie, le Chili (1823), l'Afrique du Sud (1828), l'Inde (1843), l'Argentine (1857), ainsi qu'en Égypte et en Andalousie, en Espagne (1874) (Orme, 1990).

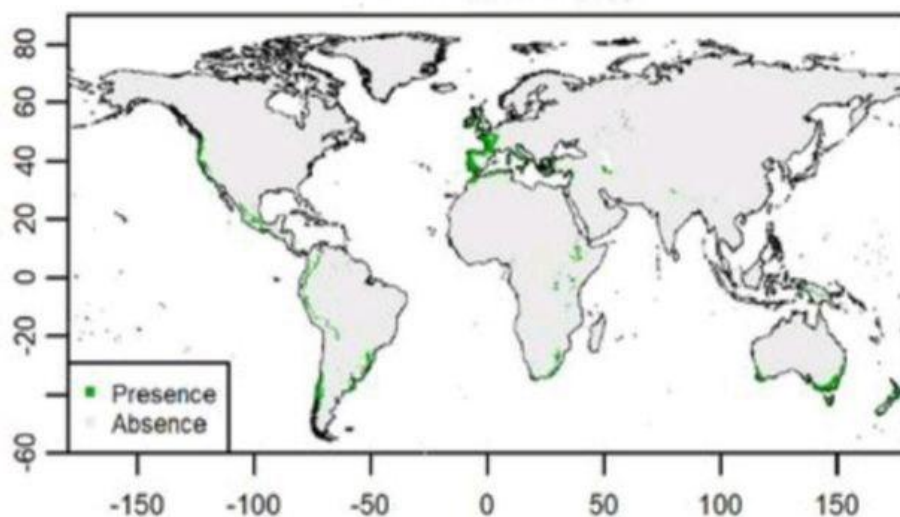


Figure 01 : La distribution de l'*Eucalyptus globulus* en 2000 (Liu et Yang, 2022).

Répartition en Algérie :

Eucalyptus globulus, espèce dominante dans les régions méditerranéennes et subtropicales (Takahashi *et al.*, 2004), a été introduite en Algérie en 1854 par Ramel. Son expansion rapide entre 1860 et 1870 a conduit à la création de vastes plantations couvrant 5 855 hectares, principalement dans la région d'Oran (Boudy, 1955). Cette présence, déjà significative à la fin du XIXe siècle (Jones, 2006), s'est considérablement accrue au cours du XXe siècle, atteignant 30 000 hectares en 1990, puis 39 000 hectares en 1995 (Boulekbache-Makhlouf, 2010). (Jones,

2006), s'est accrue considérablement au cours du XXe siècle, atteignant 30 000 hectares en 1990 et 39 000 hectares en 1995 (Boulekbache-Makhlouf, 2010).

Actuellement, *E. globulus* est largement répandu le long du littoral algérien (El Kala, Azzefoun) ainsi que dans plusieurs régions de l'intérieur du pays, notamment : la Mitidja, Hadjout, Blida, Boumerdès (93 ha), Relizane, Skikda (2 250 ha), Sidi Bel Abbès (342 ha), Sétif (10 ares) et Ataref (1 000 ha) (Foudil-Cherif, 1991).

3.2. Systématique et nomenclature:

Selon l'APG, la classification botanique de l'espèce *Eucalyptus globulus* est la suivante :

Tableau 01 : La classification phylogénétique de l'*Eucalyptus globulus* (APG, 2009)

Règne	<i>Plantae</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Eudicots</i>
Sous-classe	<i>Rosidées</i>
Ordre	<i>Myrtales</i>
Famille	<i>Myrtacées</i>
Genre	<i>Eucalyptus</i>
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i>

Le nom *Eucalyptus* vient du préfixe grec « eu », signifiant « bien » ou « vrai », et de *kalyptos*, signifiant « couvrir », en référence au bouton floral fermé par les pièces soudées du calice et de la corolle, qui protègent la fleur jusqu'à sa floraison (Salehi *et al.*, 2019).

L'eucalyptus est également connu sous les noms d'arbre à la fièvre, gommier bleu en français, et de Kalitûs ou Kalatus en arabe. En anglais, il est désigné par plusieurs noms, notamment : blue gum tree, fever tree, Tasmanian bluegum, blue gum-tree, Southern blue-gum (Goetz et Ghedira, 2012).

En Algérie, le nom vernaculaire le plus courant est Calitouss, suivi des appellations populaires Calibtus et Kafor (Daroui-Mokaddem, 2012).

3.3. Description botanique:

Les eucalyptus (Figure 2a) sont de grands arbres, certains dépassant 100 mètres de hauteur, bien que la majorité des espèces courantes mesurent entre 40 et 50 mètres. D'autres espèces sont plus petites (Traoré *et al.*, 2013).

Le tronc présente une écorce foncée et rugueuse à sa base (Figure 2e).

Eucalyptus globulus possède des feuilles persistantes, coriaces et glabres. Leur morphologie varie selon l'âge des rameaux : les jeunes portent des feuilles larges, courtes et nervurées, tandis que les rameaux plus âgés présentent des feuilles aromatiques, falciformes, longues de 12 à 30cm, étroites, épaisses, pointues, vert foncé, à pétiole court, alternes et pendantes (Figure 2b) (Goetz et Ghedira, 2012).

Les fleurs, de couleur blanc crème, apparaissent à l'aisselle des feuilles (Figures 2b et 2c).

Le fruit est une capsule ligneuse, de grande taille, glauque virant au brun à maturité, dure, anguleuse, verruqueuse, s'ouvrant légèrement par trois à cinq fentes (formant une étoile au sommet) (Figure 2d), pour libérer de nombreuses petites graines sombres (Figure 2f) (Goetz et Ghedira, 2012).



Figure 02 : Aspect morphologique de l'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem *et al*, 2018).

3.4. Exigence pédoclimatique:

L'*Eucalyptus globulus*, arbre à croissance rapide, requiert des quantités importantes d'eau. Il prospère dans des sols profonds, sablo-argileux, humides, et avec un pH de 5 à 7, tout en évitant les sols asphyxiants et très calcaires (Tubiana, 1990 ; Vaughan, 2008).

Il est adapté aux climats chauds, mais reste sensible aux températures inférieures à -5°C . Il tolère une pluviométrie allant de 250 à 2500 mm et se cultive dans la région méditerranéenne jusqu'à 350 mètres d'altitude. Un climat humide est nécessaire pour éviter la brûlure des bords foliaires (Boukhtem *et al.*, 2018 ; Hayat *et al.*, 2015).

3.5. Composition chimique de la plante :

En phytothérapie, on utilise principalement les feuilles matures de l'Eucalyptus (Goetz et Ghédira, 2012). Elles contiennent :

❖ Les huiles essentielles:

L'*E. globulus* est une source majeure d'huile essentielle d'eucalyptus dans le monde (Coppen, 2002). L'huile essentielle extraite de ses feuilles (EGEO) est riche en 1,8-cinéole (ou eucalyptol), représentant entre 49 % et 83 % de la composition (Herchi *et al.*, 2015 ; Kačániová *et al.*, 2024). Ce composé est reconnu pour son parfum caractéristique et ses propriétés thérapeutiques (Duval, 2023).

On y retrouve aussi l' α -pinène (1 % à 26 %), le β -pinène, le limonène et le terpinène (Lobstein *et al.*, 2018).

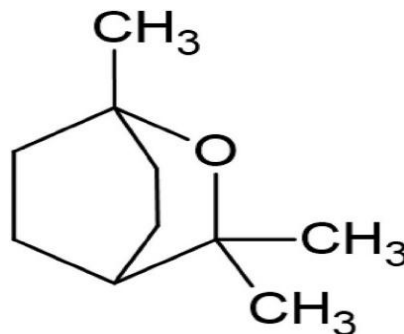


Figure 03 : Structure chimique du 1,8-cinéole (Alves-Silva *et al.*, 2025).

❖ Autres constituants chimiques :

Les feuilles d'*E. globulus* contiennent également des tanins hydrolysables, des flavonoïdes pigmentés, de la leucalptine, de l'alcool cérylique, un diphénol, des proanthocyanidines, des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques (Schauenberget et Paris, 2008 ; Boulekbache-Makhlouf *et al.*, 2010).

Tableau 02 : Composition relative en pourcentage des huiles essentielles de feuilles d'espèces d'*eucalyptus* (Maciel *et al.*, 2010)

Constituants	RI	<i>E. staigeriana</i>	<i>E. citriodora</i>	<i>E. globulus</i>
α -pinène	928	3,27	1,1	4,15
o-Cymène	1021	1,76	–	2,93
(+) Limonène	1025	28,82	–	8,19
1,8-cinéole	1029	5,39	0,8	83,89
α -terpinolène	1081	9,4	–	–
(-) Isopulégol	1145	–	7,3	–
Bêta-citronellal	1149	0,8	71,77	–
Isopulégol	1155	–	4,3	–
β -Citronellol	1223	–	2,9	–
Z-Citral	1235	10,77	–	–
Trans-géranol	1247	4,2	–	–
E-Citral	1265	14,16	–	–
Géranate de méthyle	1317	3,66	–	–
Acétate de géranol	1374	3,86	–	–
Total		86,09	88,17	99,13

(-) signifie non détecter.
Les valeurs en gras servent à mettre en évidence les constituants chimiques présents en pourcentage plus élevé dans l'huile essentielle.

4. Généralité sur les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des composés produits par les plantes à partir de métabolites primaires par des modifications de biosynthèse, telles que la méthylation, la glycosylation et l'hydroxylation (Bhattacharya et Pal, 2025). Bien qu'ils ne soient pas directement impliqués dans la croissance et le développement des plantes, ces composés jouent un rôle essentiel dans la défense des plantes contre les stress biotiques et abiotiques. Parmi les exemples de métabolites secondaires, on trouve les alcaloïdes, les terpénoïdes, les flavonoïdes et les composés phénoliques (Kumar *et al.*, 2025).

La biosynthèse des métabolites secondaires est principalement contrôlée par l'activité transcriptionnelle de cassettes de gènes responsables du codage d'enzymes spécifiques dans les voies concernées des produits souhaités (Bhattacharya et Pal, 2025). Ces métabolites peuvent être synthétisés de manière constitutive ou induits par des signaux environnementaux (Figure 04) tels que l'alimentation par des herbivores ou l'infection par des agents pathogènes (Kumar *et al.*, 2025).

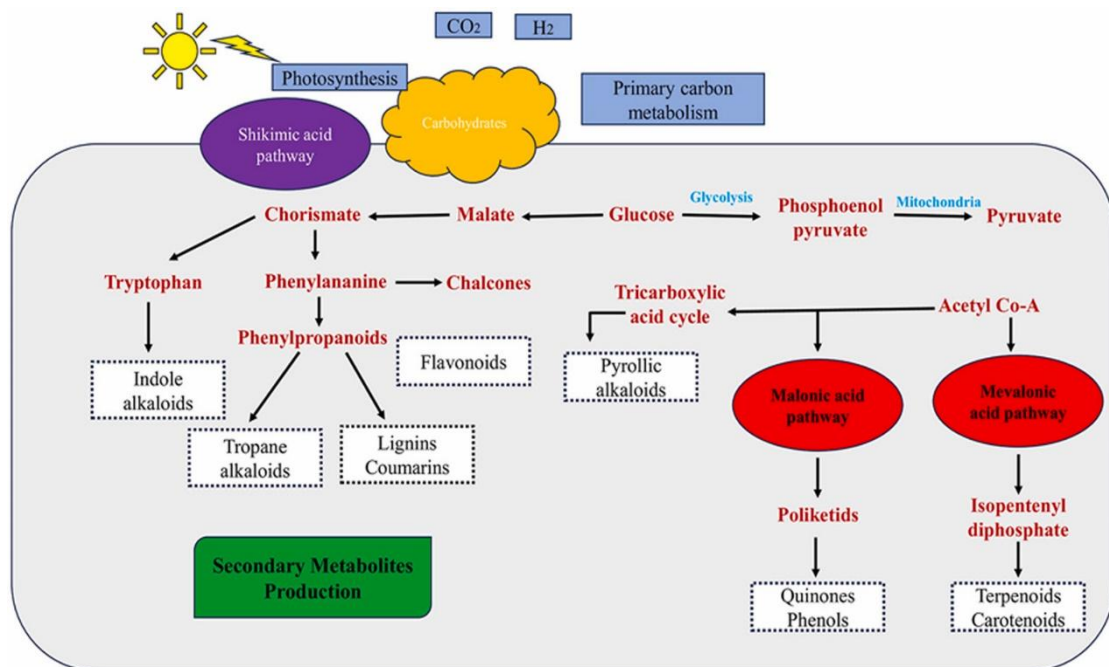


Figure 04 : Schéma simplifié montrant les voies métaboliques secondaires chez les plantes (Kumar *et al.*, 2025).

Les métabolites secondaires des plantes se classifient en trois groupes selon leur origine biosynthétique :

- Les composés phénoliques, qui sont des molécules aromatiques, comptent environ 4500 membres. Parmi eux, on trouve des substances telles que les tanins, les coumarines, la lignine et les flavonoïdes (Hopkins, 2003 ; Roland et Roland, 2001).
- Les alcaloïdes constituent les principaux éléments du métabolisme secondaire, avec environ 12 000 types identifiés jusqu'à présent. On peut citer des exemples comme la morphine, la codéine, la quinine, la scopolamine, l'atropine, la vinblastine et la nicotine (Hopkins, 2003 ; Roland et Roland, 2001).
- Les terpènes représentent la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22 000 molécules répertoriées. Ce groupe inclut les hormones végétales, les

pigments, les stérols, les hétérosides ainsi qu'une grande variété d'huiles essentielles (Hopkins, 2003 ; Roland et Roland, 2001).

4.1. Huiles essentielles

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'huiles volatiles ou étherées, sont des liquides aromatiques huileux provenant de diverses parties des plantes. La composition chimique de ces huiles, même chez une même espèce végétale, peut varier en fonction des saisons de récolte ainsi que des différentes régions géographiques d'où elles proviennent (Burt, 2004).

4.1.1. Composition chimique :

4.1.1.1. Composés terpéniques :

Les terpènes, qui constituent la plus grande famille de produits végétaux naturels avec plus de 30 000 membres (Dubey *et al.*, 2003), sont des substances chimiques responsables des utilisations médicinales, culinaires et parfumantes des plantes aromatiques et médicinales (Dorman et Deans, 2000). Ils représentent également 90 % des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

Les terpènes proviennent de l'assemblage de plusieurs unités de base à cinq carbones (C5) appelées isoprènes (Bakkali *et al.*, 2008), et peuvent être classés selon plusieurs critères (Figure 05) :

Selon la série homologue du nombre d'unités isoprène :

Hémiterpènes C5 (1 unité isoprène), Monoterpènes C10 (2 unités isoprène), Sesquiterpènes C15 (3 unités isoprène), Diterpènes C20 (4 unités isoprène), Triterpènes C30 (6 unités isoprène), Tétraterpènes C40 (8 unités isoprène), Polyterpènes (C5)_n où « n » peut être compris entre 9 000 et 30 000 (Dubey *et al.*, 2003).

Selon leur structure :

Linéaire (farnésène, farnésol), Monocyclique (humulène, zingibérène), Bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène), Tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol) (Bakkali *et al.*, 2008).

Selon leur fonction : Alcools (géraniol, linalol), Esters (acétate de linalyle), Aldéhydes (citral, citronellal), Cétones (menthone, camphre, thuyone), Éthers-oxydes (cinéole), Glucosides (cadinènes, logifolène) (Soković *et al.*, 2007).

Les principaux terpènes présents dans les huiles essentielles sont les monoterpènes (C10) et les sesquiterpènes (C15) (Bakkali *et al.*, 2008).

4.1.1.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Les composés phénoliques se distinguent généralement par la présence d'un groupement hydroxyle attaché à un cycle phényle (Bouyahya *et al.*, 2017 ; Kalemba *et al.*, 2003).

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins courants dans les huiles essentielles que les terpènes. Parmi ces composés (Figure 05), on peut citer :

L'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (présents dans l'huile essentielle de cannelle),

L'eugénol (trouvé dans l'huile essentielle de girofle),

L'anéthol et l'aldéhyde anisique (présents dans les huiles essentielles de badiane, d'anis et de fenouil),

Sans oublier le safrole (présent dans l'huile essentielle de saffras) (Couic-Marinier et Lobstein, 2013).

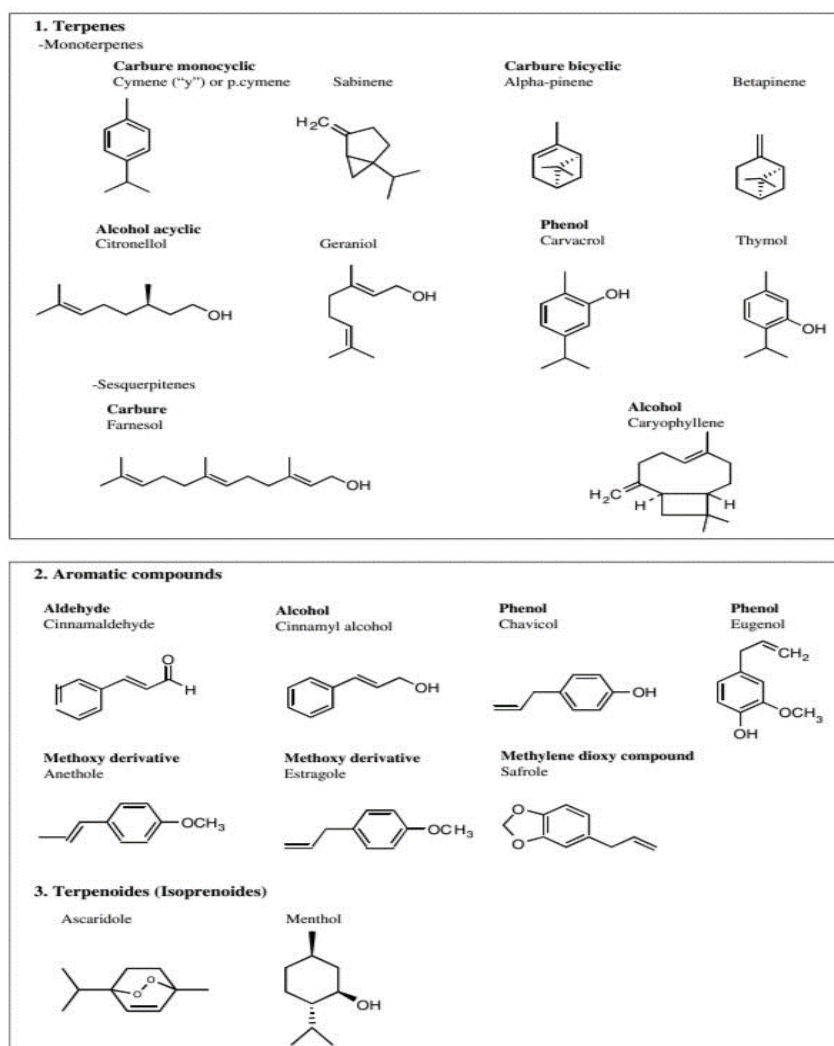


Figure 05 : structures chimiques de certains composants des huiles essentielles (Bakkali *et al.*, 2008).

4.1.2. Méthodes d'extractions :

L'extraction d'une huile essentielle (HE) est une opération à la fois complexe et délicate. Elle a pour objectif de capturer et de recueillir les composés les plus volatils, subtils et fragiles produits par la plante, tout en préservant leur qualité (Lahlou, 2004).

Les principales techniques utilisées pour extraire les huiles essentielles des plantes sont :

4.1.2.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

L'extraction à la vapeur est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour obtenir des huiles essentielles (Figure 06). Dans ce procédé, le matériau végétal est exposé à un courant de vapeur, sans qu'il soit nécessaire de le macérer au préalable. Les vapeurs, riches en composés volatils, sont ensuite condensées puis décantées dans un essencier, ce qui permet de séparer une phase aqueuse (l'hydrolat) d'une phase organique (l'huile essentielle).

En évitant tout contact direct entre l'eau et la matière végétale, ainsi qu'entre l'eau et les molécules aromatiques, cette méthode préserve la qualité de l'huile en minimisant les risques d'hydrolyse ou de dégradation. L'HE obtenue présente ainsi un parfum plus subtil, et le processus de distillation, régulier et rapide, permet de recueillir des notes de tête particulièrement riches en esters (Boukhatem *et al.*, 2019).

Les fractions « de tête », très volatiles et composées de molécules légères, sont généralement récoltées en premier. Environ une demi-heure d'extraction suffit pour récupérer 95 % des composés volatils, ce qui est adéquat pour les besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme dans le cas de la lavande. Toutefois, pour une utilisation en aromathérapie, il est nécessaire de prolonger le processus afin d'extraire l'ensemble des composants aromatiques volatils (Masango, 2005 ; Gavahian et Chu, 2018).

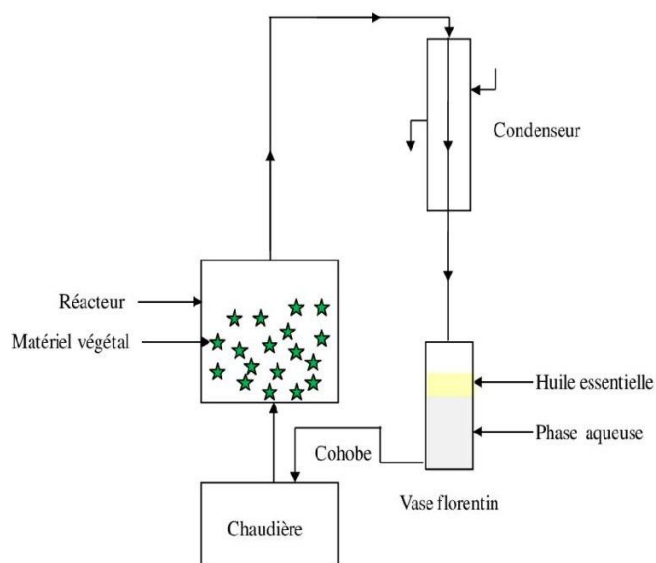


Figure 06 : Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (EVE)

(Boukhatem *et al.*, 2019)

4.1.2.2. Extraction par hydrodistillation:

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau, puis à chauffer l'ensemble jusqu'à ébullition (Figure 07). Ce procédé est généralement réalisé à pression atmosphérique et peut être effectué avec ou sans recyclage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Toutefois, cette méthode présente certains inconvénients, notamment en raison de l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau bouillante. Certains organes végétaux, comme les fleurs, sont trop délicats pour supporter un traitement par entraînement à la vapeur ou par hydrodistillation.

La sensibilité des composants des huiles essentielles fait que la composition du produit final obtenu par hydrodistillation diffère souvent de celle du mélange initial présent dans les organes sécréteurs des plantes. En outre, cette technique présente plusieurs limitations : un chauffage prolongé et intense peut détériorer certains tissus végétaux et altérer des molécules aromatiques. De plus, l'eau, l'acidité et la température peuvent provoquer l'hydrolyse des esters, ainsi que des phénomènes de réarrangement, d'isomérisation, de racémisation et/ou d'oxydation. Ces transformations expliquent les variations significatives observées dans la composition des huiles essentielles (Boukhatem *et al.*, 2019).

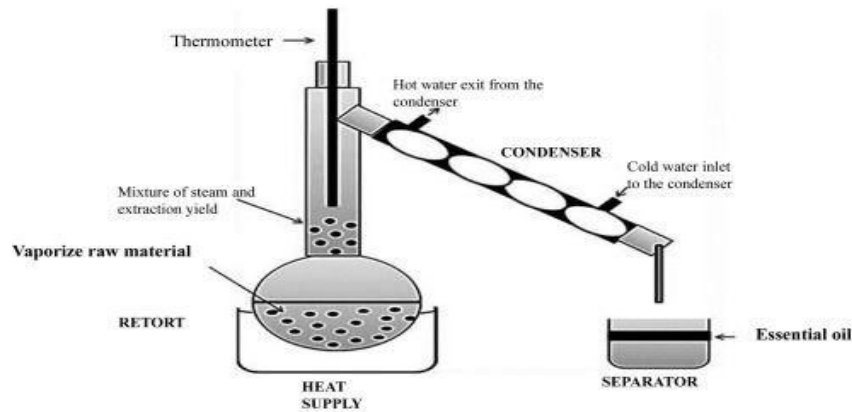


Figure 07 : Représentation schématique de l'hydrodistillation (Oreopoulou *et al.*, 2019)

4.1.2.3. Extraction à froid :

La méthode d'extraction des essences volatiles des péricarpes d'agrumes repose sur un traitement mécanique qui déchire les fruits (Figure 08). Cette technique consiste à rompre ou à dilacérer les parois des sacs oléifères situés dans le mésocarpe, juste sous l'écorce, afin de recueillir leur contenu sans l'altérer. Pendant longtemps, l'extraction des essences de Citrus s'effectuait manuellement, mais la mécanisation et l'industrialisation de cette méthode n'ont débuté qu'au début du XXe siècle. Ces évolutions visaient à réduire les coûts de production et à améliorer les rendements face à une demande croissante.

Les systèmes modernes, tels que le procédé « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire simultanément le jus et l'essence des fruits tout en évitant tout contact entre les deux. Ainsi, l'expression à froid est devenue la méthode privilégiée pour l'extraction de ces essences, la distillation n'étant plus adaptée. En effet, cette dernière tend à produire des huiles de moindre qualité en raison d'une forte concentration en aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur (Belsito *et al.*, 2007 ; Ferhat *et al.*, 2016).

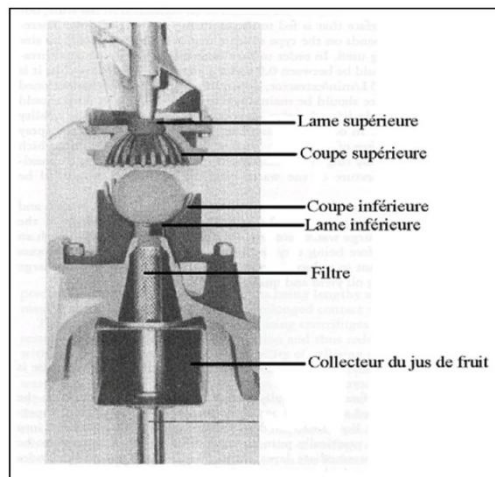


Figure 08 : Schéma du montage de l'extraction à froid par la méthode de « in-line » (Dugo et Giacomo, 2002).

4.1.2.4. Extraction par solvant organique:

La méthode d'extraction dite « classique » par solvant consiste à placer la matière végétale à traiter dans un extracteur, en présence d'un solvant volatil. Par le biais de lavages successifs, le solvant s'imprègne des molécules aromatiques, puis est dirigé vers un concentrateur où il est distillé à pression atmosphérique. Bien que l'utilisation de solvants organiques volatils soit limitée en raison de leur coût, de préoccupations liées à la sécurité et à la toxicité, ainsi que des réglementations environnementales, cette technique offre généralement des rendements supérieurs à ceux de la distillation et permet d'éviter les effets hydrolysants de la vapeur d'eau (Boukhatem *et al.*, 2019).

Parmi les solvants les plus couramment utilisés figurent l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, tandis que le dichlorométhane et l'acétone sont moins fréquemment employés. Le solvant sélectionné doit non seulement être autorisé par la réglementation, mais aussi présenter une bonne stabilité vis-à-vis de la chaleur, de la lumière et de l'oxygène. Il est également préférable qu'il ait une température d'ébullition relativement basse, afin de faciliter son élimination, et qu'il ne réagisse pas chimiquement avec les extraits. L'extraction est généralement réalisée à l'aide d'un appareil de Soxhlet. Ces solvants, dotés d'un pouvoir d'extraction supérieur à celui de l'eau, permettent d'obtenir des extraits riches non seulement en composés volatils, mais aussi en composés non volatils tels que les cires, pigments, et acides gras, entre autres (Boukhatem *et al.*, 2019).

4.1.2.5. Extraction assistée par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes émerge comme une méthode innovante et en pleine expansion. La technique SFME (Solvent-Free Microwave Extraction) combine efficacement le chauffage par micro-ondes avec une distillation à sec. Elle consiste à placer la matière végétale dans un réacteur situé à l'intérieur d'un four à micro-ondes, sans ajout d'eau ni de solvant. Le chauffage de l'eau naturellement contenue dans les tissus végétaux provoque une dilatation cellulaire, entraînant la rupture des glandes et réservoirs oléifères. Les huiles essentielles ainsi libérées s'évaporent conjointement avec la vapeur d'eau issue de la plante (Wang *et al.*, 2006). Les huiles essentielles obtenues par ce procédé présentent une teneur plus élevée en composés oxygénés et des caractéristiques olfactives plus marquées, alors que la proportion de monoterpènes est généralement plus faible (Ferhat *et al.*, 2006 ; Golmakani *et al.*, 2008).

L'un des principaux avantages de cette méthode est sa capacité à réduire considérablement le temps d'extraction tout en améliorant les rendements (Boukhatem *et al.*, 2019).

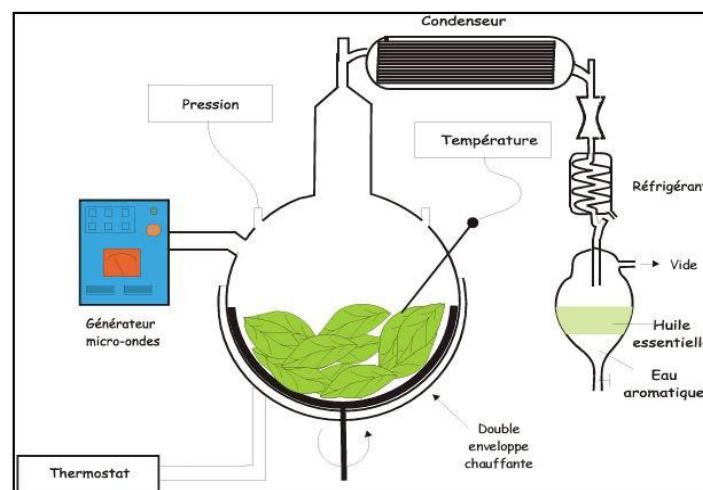


Figure 09 : hydrodistillation assistée par micro-ondes sous pression réduite (Mengal *et al.*, 1993).

4.1.2.6. Extraction par fluide à l'états supercritique :

La technique d'extraction par fluide supercritique, communément appelée SFE (Figure 10), se distingue par l'utilisation de solvants dans un état supercritique, c'est-à-dire soumis à des conditions de température et de pression où le solvant adopte des caractéristiques intermédiaires entre les phases liquide et gazeuse. Cet état confère au solvant des propriétés physico-chimiques particulières, notamment un pouvoir de solvatation accru.

Bien que plusieurs solvants puissent être utilisés, environ 90 % des extractions par SFE sont réalisées avec du dioxyde de carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques : le CO₂

présente des températures et des pressions critiques relativement basses, il est non toxique, disponible en haute pureté à un coût abordable, et s'élimine facilement de l'extrait final (Leszczynska, 2007).

La SFE est également considérée comme une méthode « verte », car elle nécessite peu ou pas de solvant organique et s'avère nettement plus rapide que les techniques traditionnelles. Les compositions chimiques des huiles essentielles obtenues par cette méthode peuvent différer, tant qualitativement que quantitativement, de celles issues de l'hydrodistillation (Gomes *et al.*, 2007 ; Peterson *et al.*, 2006 ; Pereira *et al.*, 2010).

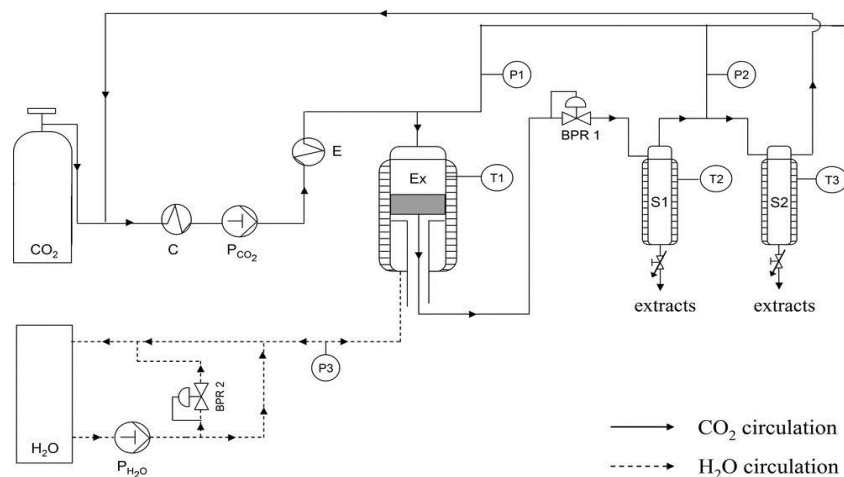


Figure 10 : Dispositif expérimentale pour SFE et GAME (Rombaut *et al.*, 2014).

(BPR : Vanne de régulation de contre-pression, C : condenseur, E : échangeur de chaleur, EX : extracteur, S1/S2 : séparateurs 1 et 2, P : capteur de pression, P_{CO2}/ P_{H2O} : pompe CO₂/ H₂O, T : capteur de température).

4.1.3. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles :

Bien que les huiles essentielles (HEs) présentent des compositions variables, elles partagent un ensemble de propriétés physico-chimiques caractéristiques :

4.1.3.1. Propriétés physiques :

- ✓ Les HEs sont des liquides à température ambiante, d'odeur aromatique intense, généralement incolores ou jaune pâle, à l'exception de certaines (Bruneton, 1999).
- ✓ Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, et elles sont entraînaibles à la vapeur d'eau (Dhifi *et al.*, 2016).
- ✓ Elles présentent un indice de réfraction souvent élevé et possèdent un pouvoir rotatoire (Noudogbessi *et al.*, 2008).
- ✓ Elles s'évaporent facilement à température ambiante.

- ✓ Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100 °C, variant de 160 à 240 °C selon leur poids moléculaire (Bruneton, 1999).
- ✓ Elles s'oxydent facilement à la lumière et, en absorbant de l'oxygène, se résinifient. Ces phénomènes modifient leur odeur, augmentent leur point d'ébullition et diminuent leur solubilité (Bruneton, 1999).

4.1.3.2. Propriétés chimiques :

- ✓ Les HEs renferment des centaines de molécules chimiques responsables de leurs propriétés, notamment des terpénoïdes, à l'origine de leurs arômes (Mahboub *et al.*, 2019).
- ✓ La majorité des composants sont des terpènes volatils, dérivés de la condensation d'unités isopréniques (Chouhan *et al.*, 2017).
- ✓ Elles contiennent également des composés aromatiques issus du phénylpropane (Couic-Marinier & Lobstein, 2013).
- ✓ Ces substances sont liposolubles, ce qui signifie qu'elles se dissolvent facilement dans des solvants organiques courants (Dhifi *et al.*, 2016).
- ✓ Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes et les émulsifiants, mais peu solubles dans l'eau (Dhifi *et al.*, 2016).

5. Activités biologiques :

Eucalyptus globulus présente un potentiel pharmacologique important, tant par son huile essentielle (HE) que par ses extraits (Harkat-Madouri *et al.*, 2015).

L'HE, riche en 1,8-cinéole (Lobstein *et al.*, 2018), possède un large spectre d'activités biologiques : antimicrobienne, antioxydante, analgésique, cicatrisante, insecticide et herbicide (Batish *et al.*, 2008 ; Kačániová *et al.*, 2024). Quant aux extraits, riches en dérivés glycosidiques phénoliques (Lima *et al.*, 2025), ils se distinguent par leurs propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et antihyperglycémiantes (Santo *et al.*, 2025 ; Gilles *et al.*, 2010). De nombreuses études ont mis en évidence les activités biologiques des huiles essentielles et des extraits d'*E. globulus* à savoir l'activité antimicrobienne, l'activité antioxydante, l'activité anti-inflammatoire, l'activité cicatrisante, l'activité pesticide et l'activité antidiabétique.

Chapitre 02

Matériel et Méthode

1. Matériel utilisé:

1.1 Matériel biologique :

1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude se compose de feuilles fraîches et sèches d'*Eucalyptus globulus*.

La récolte des feuilles a été effectuée manuellement début février 2025 dans la région de Miliana, wilaya d'Aïn-Defla. Un total de dix kilogrammes de feuilles d'*E. globulus* a été récolté le même jour :

- Cinq kilogrammes ont été placés dans des sacs en carton pour extraire l'huile essentielle à partir de feuilles fraîches dès le lendemain matin.
- Les cinq autres kilogrammes ont été séchés durant 15 jours à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité, dans un endroit sec et aéré. Les feuilles séchées ont ensuite été broyées à l'aide d'un moulin électrique afin d'accroître la surface de contact avec les solvants. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal hermétique en acier inoxydable, opaque, jusqu'à son utilisation pour l'extraction des composés.



(A)

(B)

Figure 11 : (A) : Feuilles fraîches. (B) : Feuilles séchées (photo original, 2025)

1.1.2. Souches microbiennes testées :

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits d'*E. globulus*, six souches microbiennes ont été retenues : quatre espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) et deux levures (*Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*).

Les souches microbiennes sont disponibles au niveau du Centre de Recherche et de Développement de Groupe SAIDAL, où elles sont conservées dans des conditions spécifiques.

Tableau 03 : Caractéristiques générales des micro-organismes utilisés (Pharmacopée Européenne, 2020).

Nome de l'espèce	Famille	Type de Gram	Référence
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	+	ATCC 6538
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	+	ATCC 6633
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	-	ATCC 8739
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	-	ATCC 9027
<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	/	ATCC 10231
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	/	ATCC 9763

1.2. Matériel non biologique :

Le matériel non biologique employé englobe divers réactifs, produits chimiques, équipements et verrerie, utilisés tout au long de l'expérimentation.

2. Méthodes :

2.1. Extraction d'huile essentielle :

L'huile essentielle d'*E. globulus* a été extraite de feuilles fraîches par entraînement à la vapeur d'eau à l'aide d'un extracteur semi-pilote en acier inoxydable (100 % INOX) (figure 12). Cinq kilogrammes de feuilles fraîches ont été placés dans un panier perforé à l'intérieur de la cuve de distillation. L'eau, chauffée à ébullition dans la chaudière, génère de la vapeur traversant les feuilles pour en extraire les composés volatils. La vapeur condensée est recueillie dans un condenseur, où elle se sépare en deux phases distinctes deux phases : l'hydrolat (phase aqueuse) et l'huile essentielle (phase huileuse). L'opération a duré 4 heures, permettant d'obtenir l'EGEO (*Eucalyptus globulus* Essential Oil).



Figure 12 : Extracteur semi-pilote (Photo originale, 2025).

L'EGEO, étant volatile, a été conditionnée dans des flacons en verre opaques, hermétiques, conservées à 4 °C à l'abri de la lumière, conformément à Burt (2004).

2.2. Détermination de rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle (RHE) est calculé par la formule :

$$R(HE)(\%) = \frac{M_{HE}}{M_{MV}} \times 100$$

M_{HE} : masse d'huile essentielle (en g)

M_{MV} : masse de matière végétale utilisée (en g)

2.3. Analyse de composition chimique d'huile essentielle par GC/MS :

La composition chimique de l'EGEO a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) à l'aide d'un GCMS-TQ8030 équipé d'une colonne Hp- 5MS (0,25 mm × 30 m, film = 0,25 μm). Le programme thermique a couru de 40°C (1 min) à 250 °C à 3 °C/min. L'hexane a servi de gaz vecteur (1 mL/min, 49,5 kPa). Le temps total d'analyse était de 48 min, injecteur et détecteur à 250 °C. La source d'ions était à 200 °C, balayage de 45 à 400 m/z. L'identification qualitative des composés s'est faite à partir des spectres de masse et des aires relatives des pics chromatographiques.



Figure 13 : Appareil GCMS-TQ8030 (Photo originale, 2025).

2.4. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité) :

Pour évaluer la perte en eau, un échantillon de 1 g de feuilles a été séché dans une étuve à 100–105 °C pendant 2 heures (Pharmacopée européenne, 2020).

La teneur en eau est calculée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100$$

H (%) : La teneur en eau (humidité).

m1 : La masse de l'échantillon avant séchage en g.

m2 : La masse de l'échantillon après séchage en g.

La matière sèche (MS) est obtenue comme suit :

$$MS\% = 100 - H\%$$

2.5. Extraction des composés actifs :

2.5.1. Préparation des extraits éthanoliques :

2.5.1.1. Extraction par sonication :

L'extraction par ultrasons est effectuée en utilisant des ondes ultrasonores de haute puissance et de basse fréquence (Figure 14), qui sont appliquées à un mélange de matière végétale et de solvant. Plus précisément, 20g de poudre de matériel végétale sont immergés dans 200 mL d'éthanol et soumis à un traitement ultrasonique pendant 1 h (Momchey *et al.*, 2020).



Figure 14 : Appareille d'ultrason (Photo originale, 2025).

Après filtration sur papier filtre, l'extrait est transféré dans un ballon préalablement pesé et le solvant est évaporé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif jusqu'à ce qu'il soit complètement éliminé, le résidu sec obtenu est ensuite reconstitué dans du méthanol.

2.5.1.2. Extraction par Soxhlet :

Dans cette étude, 30 g de poudre de matériel végétal est placé à l'intérieur d'une cartouche et 300 mL d'éthanol est versé dans un ballon qui par la suite est chauffé à la température correspondant au point d'ébullition du solvant.

Lors de l'ébullition, le solvant s'évapore et se condense, puis s'égoutte sur la cartouche. Ce cycle se répète plusieurs fois, permettant au solvant de dissoudre les composés actifs de plante broyée et de les renvoyer dans le ballon. La méthode se poursuit jusqu'à ce que le matériel végétal dans la cartouche soit épuisé, ce qui est démontré par le fait que le solvant d'extraction devient clair.

Une fois le processus d'extraction terminé, l'extrait obtenu est transféré dans un ballon préalablement pesé. Il est ensuite concentré par l'évaporation sous pression à l'aide d'un évaporateur rotatif, jusqu'à l'élimination complète du solvant. Le résidu sec obtenu est reconstitué dans de méthanol (Alara *et al.*, 2019).



Figure 15 : Équipement de Soxhlet (Photo originale, 2025).

2.5.1.3. Extraction par macération :

La méthode de macération utilisée dans cette étude est relativement simple : 10 g de matière végétale ont été placés dans un erlenmeyer et mélangés avec 100 mL d'éthanol. Ce mélange a été laissé au repos sans agitation pendant 24 h. Par la suite, la solution a été filtrée à l'aide d'un papier filtre placé dans un entonnoir, permettant de récupérer environ 80 % de la solution. Les 20 % restants ont subi une nouvelle macération en ajoutant 100 mL d'éthanol, et le processus a été répété. Ce cycle a été effectué quotidiennement pendant trois jours consécutifs. Le troisième jour, l'ensemble de la solution a été filtré. Le filtrat est versé dans un ballon de poids connu et placé dans un évaporateur rotatif pour éliminer l'éthanol, le résidu sec

est récupéré dans de méthanol afin d'obtenir l'extrait éthanolique final par macération (Osmić *et al.*, 2019).

2.5.2. Préparation de l'extrait éthérique :

La méthode utilisée repose sur une hydrolyse acide (HCl 2N) visant à rompre les liaisons C-O-C des hétérosides, suivie d'une extraction avec de l'éther diéthylique.

Pour cela, 04g de la poudre végétale sont mélangés avec 320 mL d'acide chlorhydrique 2N dans un erlenmeyer à une température basse. Ce mélange est ensuite chauffé au bain-marie à une température stable de 40°C pendant 40 min. Après refroidissement, la solution est soumise à trois extraction successives avec 50 mL d'éther d'éthylique.

A chacun de ces trois extractions est collectée une phase étherée supérieure de couleur vert-jaune contient des flavones, des flavonols et des acides phénoliques. Cette phase organique est ensuite évaporée à sec sous hotte, le résidu sec est dissous dans du méthanol (Baggio *et al.*, 2007).

2.5.3. Préparation de l'extrait n-butanolique :

L'extraction de l'extrait butanolique commence par la macération de 4g de poudre de plante dans 400 mL d'une solution d'alcool à 70% pendant 48 h. Le filtrat obtenu après macération a ensuite été concentré sous vide à 40°C à l'aide d'un évaporateur rotatif, on obtient donc une solution concentrée qui a été reconstituée par l'ajout de 100 mL d'eau distillée bouillante et 100 mL de n-butanol.

La solution résultat est ensuite séchée à nouveau à l'évaporateur rotatif à 40°C jusqu'à obtention d'un résidu sec. Enfin ce résidu est récupéré et dissous dans de méthanol (Souza *et al.*, 2009).

2.6. Détermination de rendement en extraits :

Le calcul du rendement des extraits de plante obtenu, il est en pourcentage du rapport entre la masse d'extrait obtenue après extraction et la masse totale de la plante utilisée :

$$Y\% = \left(\frac{W - W_0}{W_t} \right) \times 100$$

W : Poids du ballon après évaporation et récupération de l'extraits.

W₀ : Poids du ballon vide.

W_t : Poids de plante après élimination de l'humidité :

$$W_t = WFV \times (1 - H)$$

WFV : W de la plante fraîche = 4g.

H : Taux d'humidité.

2.7. Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle :

L'activité antioxydante de l'EGEO a été réalisée en utilisant la méthode de piégeage du radical libre 2,2 diphényle-picrylhydrazol DPPH selon le protocole décrit par Archana *et al.*, (2005) et Himed *et al.*, (2016) avec modification :

Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 04mg de DPPH dans 100ml de méthanol dans une fiole jaugée en verre ambré, puis le mélange à agiter pendant 30 min. Ensuite, 10mg d'acide ascorbique, BHA et BHT ont été pesés et utilisée comme standard. L'EGEO et les témoins ont été testés à différentes concentrations, pour chacune des dilutions ont été effectuées en prélevant 01ml de l'EGOE dans 10ml de méthanol. Ce processus a été répété pour 05 fioles jaugées (Figure 17). De chaque dilution, 01ml a été mélangé à 01ml de solution DPPH, puis incubé à l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le passage de la couleur violette au jaune indique la réduction du radical DPPH en DPPH-H, traduisant l'activité antioxydante de solution testée.

Le pourcentage d'inhibition est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

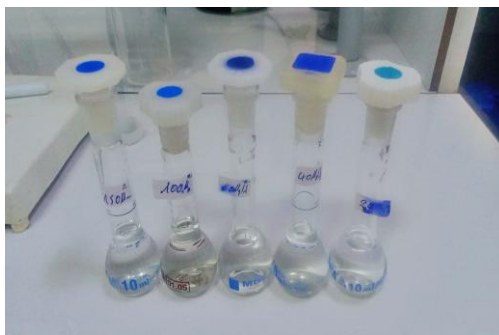


Figure 16 : Les dilutions de l'EGEO (Photo originale, 2025).

2.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne in vitro des extraits :

La mise en évidence du pouvoir antimicrobienne in vitro des extraits éthanoliques (ultrason, Soxhlet et macération) et butanolique a été réalisé par L'aromatogramme (méthode de diffusion sur gélose), en utilisant un principe similaire à celui de l'antibiogramme, mais en remplaçant l'antibiotique par nos extraits.

Des disques stériles de cellulose de 9 mm, imprégnés dans chaque des 5 extraits, sont déposés sur une gélose solidifiée dans une boîte de Petri, préalablement ensemencée avec 10^8 UFC/ml du micro-organisme ciblé. Après incubation, l'efficacité antimicrobienne de les extraits éthanoliques et butanoliques est déterminée en mesurant le diamètre du halo d'inhibition formé autour du disque absorbant. L'objectif de cette méthode est de quantifier le pouvoir antimicrobien des extraits sur la souche testée (Pharmacopée Européenne, 2020).

2.8.1. Protocole expérimentale :

2.8.1.1. Revivification des souches microbiennes :

Pour obtenir une culture jeune et pure, quelques colonies de souches conservées sont transférées à la surface d'une gélose solidifiée dans des boîtes de Petri. La gélose Mueller-Hinton (MH) est choisie pour les bactéries, tandis que la gélose Sabouraud (SAB) est réservée aux levures. Après ensemencement, les boîtes sont incubées à $35\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 24 h pour les bactéries, et à $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ pendant 48 h pour les levures, conformément à la Pharmacopée Européenne, (2020).

L'objectif de cette étape est d'assurer la revitalisation des souches pour garantir des cultures jeunes et exemptes de contamination.



Figure 17 : Stérilisation des milieux de culture dans l'autoclave (Photo originale, 2025).

2.8.1.2. Préparation de l'inoculum :

Pour préparer l'inoculum microbien, on commence par préparer des tubes stériles contenant 5 mL de sérum physiologique stérile. Ensuite, on prélève 3 à 5 colonies identiques et bien isolées de bactéries ou de levures à l'aide d'une anse stérile, puis on les ajoute dans le tube pour obtenir une suspension microbienne. Le tube est agité doucement pendant quelques secondes afin d'homogénéiser la suspension.

On mesure ensuite la densité optique (DO) de chaque suspension à l'aide d'un spectrophotomètre à 620 nm, la DO doit être comprise entre 0,22 et 0,32 pour les bactéries et entre 2 et 3 pour les levures, ce qui correspond à une concentration de 10^7 à 10^8 UFC/ml. Si la concentration est trop faible, on ajoute de la culture, si elle est trop élevée, on complète avec du sérum physiologique stérile. Enfin, l'inoculum doit être utilisé dans les 30 min suivant sa préparation pour garantir une croissance microbienne optimale (Pharmacopée Européenne, 2020).

2.8.1.3. Préparation des milieux de culture avec des suspensions microbiennes :

Pour la préparation de première couche, les milieux gélosés MH et SAB sont d'abord liquéfiés au bain-marie à 95 °C . Ensuite, une première couche de 15 mL est répartie de façon

aseptique dans chaque boîte de Petri, avec trois répétitions pour chaque souche. Les boîtes sont ensuite laissées à température ambiante pour permettre au milieu de refroidir et de se solidifier (Pharmacopée Européenne, 2020).

Pour préparer la deuxième couche, Les milieux gélosés MH et SAB sont à nouveau fondue au bain-marie à 95°C et laissées refroidir à 45°C. Ensuite, 50 mL de MH et 50 mL de SAB sont versés dans des flacons en verre stériles. Les milieux de culture sontensemencés avec 200 µL de la suspension dans chaque flacon qui sont agités manuellement, puis 5 mL de chaque milieuensemencé sont rapidement transférés en deuxième couche sur la surface des boîtes de Petri contenant déjà la première couche de gélose. Le milieu est rapidement étalé par rotation de la boîte pour obtenir une surface uniforme. Enfin, il est laissé se solidifier sur la paillasse (Pharmacopée Européenne, 2020).

2.8.1.4. Dépôt des disques :

Une fois le milieu solidifié, les disques absorbés et saturés des extraits testés sont placés sur la surface de la gélose et les boîtes de Petri sont laissées 30 min pour permettre la diffusion de les extraits de se répandre puis sont dirigées vers l'incubation (Pharmacopée Européenne, 2020).

2.8.1.5. Incubation :

Les boîtes de Petri sont placées en incubation à 35 °C (± 2 °C) durant 24 h pour favoriser la croissance bactérienne, tandis que pour les levures, l'incubation se fait à 25 °C (± 2 °C) pendant 48 h, conformément aux recommandations de la Pharmacopée Européenne (2020).

2.8.1.6. Lecteur des résultats :

Après l'incubation, la sensibilité des micro-organismes à les extraits se manifeste par l'apparition d'une zone claire sans croissance autour des disques (zone d'inhibition), mesurée en mm :

- Présence d'une zone claire autour du disque : présence d'activité inhibitrice.
- Absence de zone claire autour du disque : absence d'activité inhibitrice.

Selon Vaquero *et al.*, (2007), l'activité antimicrobienne est répartie en quatre groupes en fonction du diamètre des zones d'inhibition (Tableau 04) :

Tableau 04 : Échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne (Vaquero *et al.*,2007).

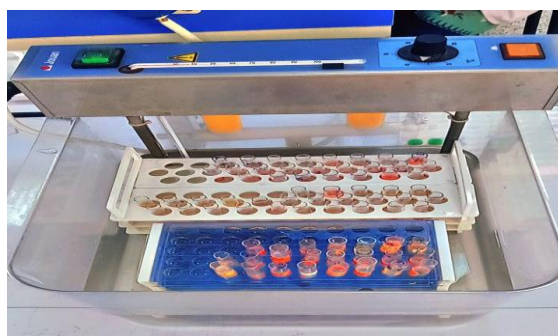
Diamètre de la zone d'inhibition	Pouvoir antimicrobien
$\geq 28\text{mm}$	Fortement inhibiteur
$16\text{mm} \leq \text{diameter} \leq 28\text{mm}$	Modérément inhibiteur
$10\text{mm} \leq \text{diameter} \leq 16\text{mm}$	Légèrement inhibiteur
$< 10\text{mm}$	Non inhibiteur

2.9. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

La méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA) utilisée s'inspire de celle présentée par Williams *et al.*, (2008) ainsi que ceux de Fetni et Bertella (2020). On mélange 0,05 ml des différentes concentrations (100, 200 et 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de l'EOEG ainsi que des 4 extraits et du diclofénac standard avec 0,45 mL de BSA à 1% (p/v) et 2,5 mL de solution saline tamponnée au phosphate (pH 6,4). Après une incubation à 37°C pendant 20 min, la température est augmentée à 50°C pour 20 min supplémentaires (Figure 21). L'absorbance est ensuite mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible. Le contrôle correspond à une dénaturation totale des protéines (100%).

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de la BSA est calculé par rapport au contrôle selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition de la dénaturation} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

**Figure 18 :** Incubation des solutions testes d'activité anti-inflammatoire (Photo originale, 2025)**2.10. Evaluation de l'activité antidiabétique in vitro :**

La technique est menée selon la méthode d'inhibition d'absorption du glucose par les cellules de levure décrite par Nair *et al.*, (2013) et Cheurfa *et al.*, (2020). Une quantité de 1 g de levure de boulangerie commerciale (*Saccharomyces cerevisiae*) a été purifiée par centrifugation (4200 rpm/min, 5 min) dans 100 mL d'eau distillée, jusqu'à ce que le surnageant

devienne limpide. Une suspension de levure à 10 % (v/v) a ensuite été réalisée dans de l'eau distillée. Différentes doses d'extraits végétaux (25 à 200 µg/mL) ont été ajoutées à 10 mL de solutions de glucose (5, 10 et 25 mM), puis incubées à 37 °C pendant 10 minutes. Par la suite, 50 µL de la suspension de levure ont été incorporés, suivis d'un vortex et d'une incubation supplémentaire à 37 °C pendant 1 heure. Après cette étape, les échantillons ont été centrifugés à nouveau (4200 rpm/min, 5 min) et le glucose a été estimé dans le surnageant par le réactif d'anthrone après incubation au bain-marie à 100°C. La metformine a servi de référence comme antidiabétique. L'absorbance a été mesurée à 620 nm, chaque expérience étant réalisée en triplicat.

Le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition de l'absorption} = [(\text{Abs test} - \text{Abs contrôle}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

Chapitre 03 :

Résultats et discussion

1. Détermination de la teneur en eau (Taux d'humidité)

$$H(\%) = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1} \right) \times 100$$

$$MS\% = 100 - H\%$$

Taux d'humidité

$$H\% = \frac{1.0709 - 1.0064}{1.0709} \times 100 = 6.02\%$$

Matière sèche

$$MS\% = 100 - 6.02 = 93.98\%$$

Les plantes fraîches contiennent entre 60 et 80% d'eau. Pour une conservation optimale, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10% (Paris et Moyse, 1965). Dans cette étude, la méthode pondérale a mesuré la quantité d'eau dans la poudre de feuilles sèches en déterminant la perte de masse après séchage. Les résultats ont montré une teneur en eau de 6,02%. Cette faible teneur en eau permet une meilleure conservation à long terme, tandis qu'une humidité supérieure à 10% favorise la croissance de microorganismes tels que bactéries, levures et moisissures.

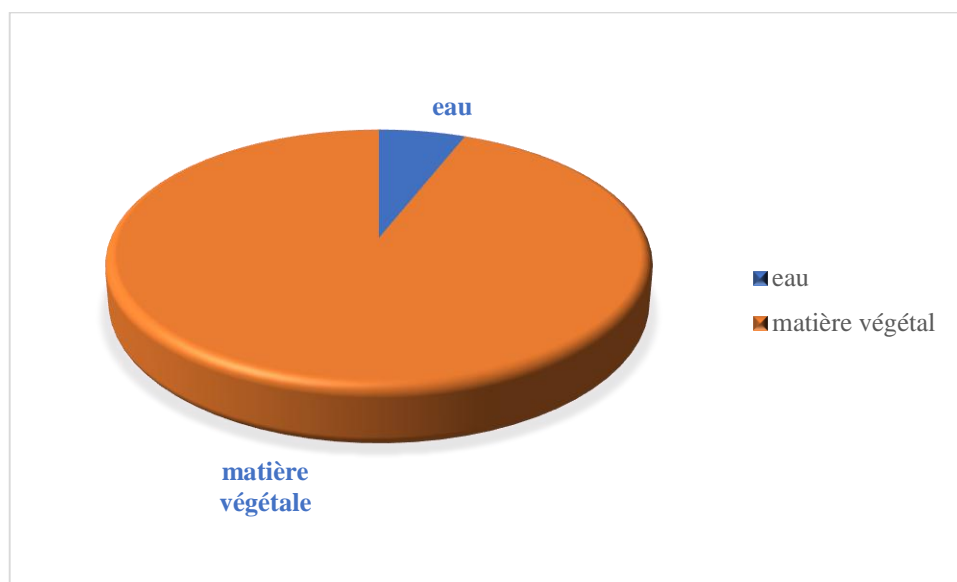


Figure 19 : Teneur en eau des feuilles d'*E. globulus*

2. Rendements d'extraction :

Les rendements en extrait sec et l'HE sont regroupés dans le Tableau 05.

Tableau 05 : Les Rendements des différents extraits des feuilles d'*E. globulus*

Extraits	Rendement (%)
Butanolique	14,75
Ethéré	3,33
Ethanolique (macération)	34,37
Ethanolique (ultrason)	14,16
Ethanolique (soxhlet)	55,08
Huile essentielle	0,2

Le rendement d'HE extrait des feuilles fraîches d'*E. globulus* était de 0,2%, ce qui est proche de 0,19% rapportés par Ngo *et al.* (2020). Cependant, ce rendement reste nettement inférieur à ceux rapportés par Naranio-Voteri *et al.* (2025), qui variaient entre 2-2,3% ainsi qu'à celui de Subramnian *et al.* (2012) estimé à 2%.

Ces différences s'expliquent par de nombreux facteurs comme la saison de récolte, la maturité des feuilles, les conditions climatiques, la nature du sol, mais aussi les paramètres techniques d'extraction (température, humidité, appareil utilisé, pression, durée de distillation) qui influencent fortement le rendement final (Laib, 2012). D'ailleurs, Emara et Shalaby (2011) ont montré que la structure des canaux sécrétoires de l'huile peut évoluer selon la saison.

Pour extraire les composés bioactifs des feuilles séchées d'*Eucalyptus globulus*, nous avons testé différentes techniques utilisant l'éthanol (sonication, Soxhlet, macération), ainsi que des extractions au butanol et à l'éther. Les rendements obtenus étaient très variables, allant de 3,33 % à 55,08 %. L'extraction éthanolique par Soxhlet a permis d'obtenir la quantité la plus importante d'extrait (55,08 %), suivie par la macération éthanolique (34,37 %). À l'inverse, l'extraction à l'éther a donné le rendement le plus faible (3,33 %), tandis que les méthodes par sonication et au butanol ont donné des résultats similaires (14,16 % et 14,75 %).

La comparaison de nos résultats avec ceux de Kihel et Khelifa (2023), qui ont rapporté un rendement de 23,4 % pour un extrait méthanolique (composé de 40 % de méthanol et 60 % d'eau), souligne la variabilité des rendements d'extraction en fonction du solvant utilisé et de la méthode appliquée.

Cependant, nos résultats ont montré que l'extrait éthanolique par Soxhlet d'*E. globulus* présentait un rendement élevé de 55,08 %. Selon la littérature consultée, tant le méthanol que

l'éthanol sont largement reconnus comme des solvants efficaces pour l'extraction des composés phénoliques, en raison de leur polarité et de leur capacité à solubiliser et récupérer efficacement les substances actives des plantes (Sultana *et al.*, 2014). Ainsi, l'extrait éthanolique par Soxhlet d'*E. globulus* s'avère particulièrement performant pour extraire une quantité significative de métabolites secondaires (Mohamed *et al.*, 2013).

3. Résultats d'analyse d'huile essentielle par GC/MS :

L'analyse du spectre chromatographique de l'huile essentielle (Figure 20) obtenue par GC/MS révèle que l'EOEG contient 22 composés, représentant 96,57 % de la masse totale, comme illustré dans le tableau ci-dessous :

Tableau 06 : Composition chimique de l'Huile essentielle d'*E. globulus*.

Temps de rétention (min)	Composés		Pourcentage (%)
	Nome chimique	Type de terpène	
7,235	α -pinène	Monoterpènes non oxygénés	4,27
9,860	γ -terpinène	Monoterpènes non oxygénés	25,07
10,098	1,8-cinéole	Monoterpènes oxygénés	48,82
10,522	p-cymène	Monoterpènes non oxygénés	0,05
10,853	Sabrerol	Monoterpènes oxygénés	0,03
11,628	D-limonène	Monoterpènes non oxygénés	3,99
12,619	Trans-pinocarveol	Monoterpènes oxygénés	1,08
13,595	Terpinen-4-ol	Monoterpènes oxygénés	0,83
13,851	dihydrocarvéol	Monoterpènes oxygénés	0,77
13,890	α -térpinéol	Monoterpènes oxygénés	1,08
14,890	Ethanone	N'est pas un terpène	0,23
16,070	Phellandral	Monoterpènes oxygénés	0,91
16,621	Carvacrol	Monoterpènes oxygénés	3,87
17,802	α -térpiny acétate	Monoterpènes oxygénés	1,12
18,832	m-cymène	Monoterpènes non oxygénés	0,57
19,998	β -pinène	Monoterpènes non oxygénés	1,38
20,498	sabinène	Monoterpènes non oxygénés	0,65
23,060	Spathuléol	Sesquiterpènes oxygénés	0,04
23,192	aromadendrène	Sesquiterpènes non oxygénés	0,20
24,543	β - Ocimene	Monoterpènes non oxygénés	0,61
25,804	α - Cubébine	Sesquiterpènes non oxygénés	0,43
27,836	Globulol	Sesquiterpènes oxygénés	0,57

La composition chimique de l'EGEO est principalement constituée de monoterpènes (oxygénés et non oxygénés) ainsi que de sesquiterpènes (oxygénés et non oxygénés).

Selon le tableau 06, l'EGEO présente trois composés majeurs : le 1,8-cinéole (48,82 %), le γ -terpinène (25,07 %) et l' α -pinène (4,27 %), des résultats en accord avec ceux rapportés par Almas et al. (2021).

Ces données sont également très proches de celles obtenues par Flores *et al.* (2025), qui ont montré que l'eucalyptol était le composé prédominant dans l'EOEG avec un taux de 51 %.

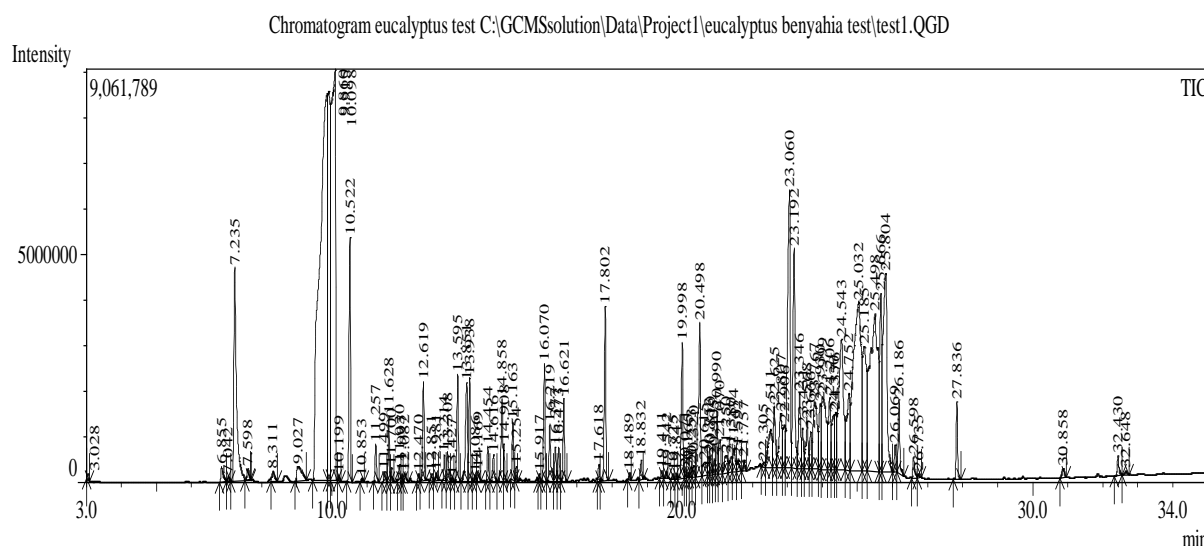


Figure 20 : Profil chromatographique de l'Huile essentielle d'*E. globulus*.

4. Résultats de l'activité antioxydante :

4.1. Analyse de la capacité antioxydante par le piégeage du radical libre 2,2 diphényle-1-picrylhydrazyl DPPH• (DPPH scavenging activity) :

Dans cette expérience, le radical DPPH• réagit avec le radical H• extrait de l'antioxydant AH. En conséquence, le radical DPPH• perd sa couleur violette et son absorbance à 517 nm, se transformant en DPPH-H de couleur jaunâtre.

Au cours de cet essai, le radical DPPH• réagit en capturant un radical H• provenant de l'antioxydant AH. Ce processus entraîne une perte de couleur violette et son absorbance à 517 nm du radical DPPH•, le transformant en une forme jaunâtre appelée DPPH-H

4.2. Mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH• « *Eucalyptus globulus* »

Les figures 21, 22, 23 et 24 ci-dessous représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'HE.

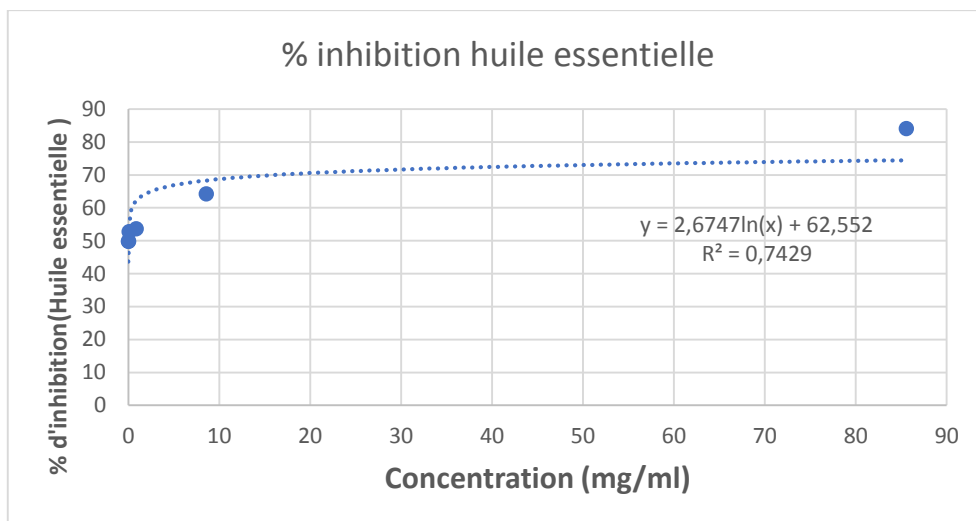


Figure 21 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration (Huile essentielle) des feuilles d'*E. globulus*

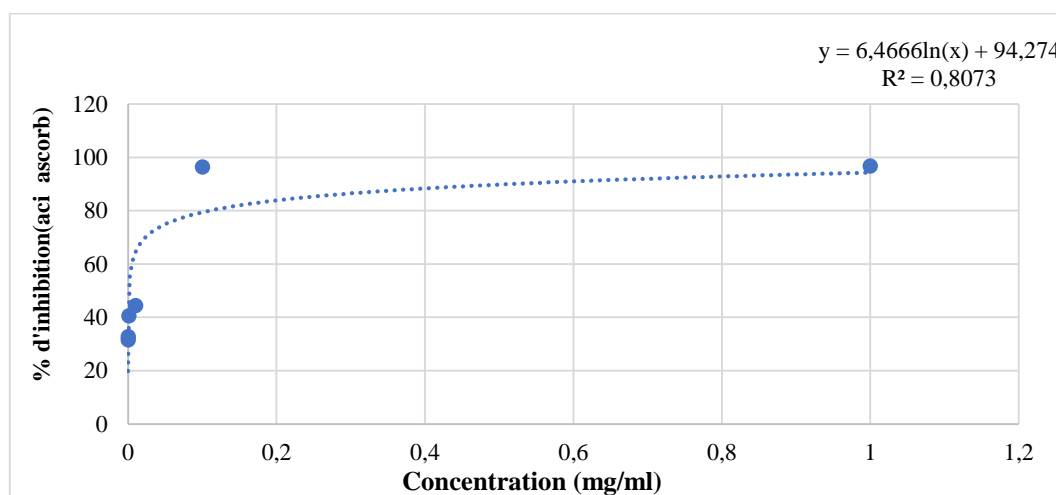


Figure 22 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'acide ascorbique

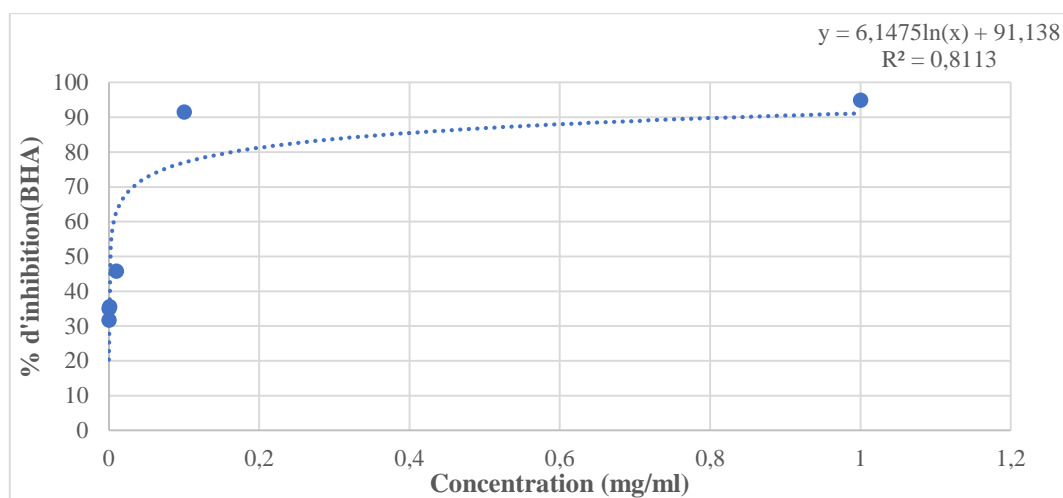


Figure 23 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHA

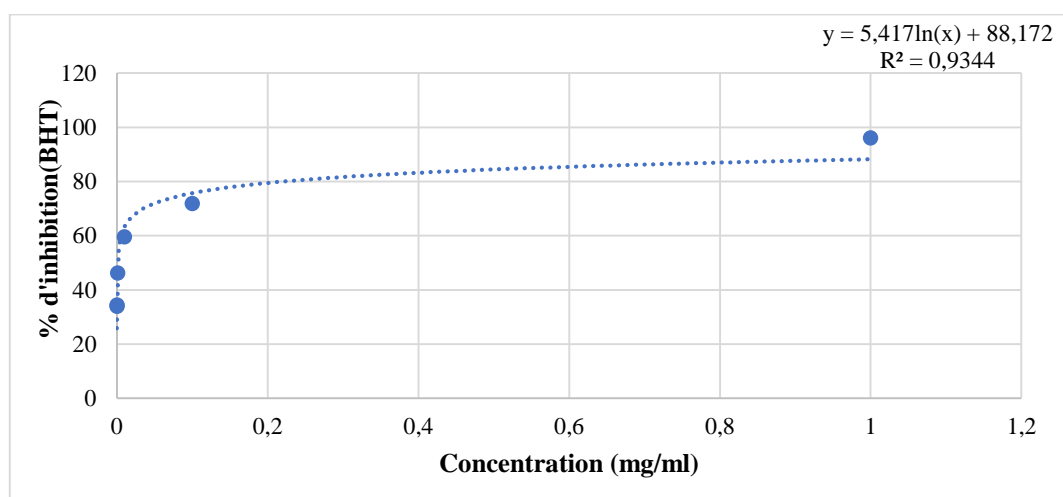


Figure 24 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration du BHT

4.3. Détermination de la concentration inhibitrice de 50% des radicaux :

L'IC50 est un indicateur d'efficacité antioxydante, représentant la concentration nécessaire pour réduire de 50% les radicaux libres. Une IC50 faible indique une activité antioxydante élevée. Les IC50 sont calculées à partir des pourcentages de réduction en fonction des concentrations des extraits testés.

Les résultats de l'activité anti-radicalaire, exprimés en IC₅₀, sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 07 : Résultats de l'activité anti-radicalaire en IC₅₀.

Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)
HE	0,00917
Acide ascorbique	0,00107
BHA	0,00124
BHT	0,00087

Les résultats de cette étude montrent que l'huile essentielle d'*E. globulus* présente une activité antioxydante importantes, avec une CI₅₀ de 0,00917 mg/mL. Cette activité est supérieure à celles de l'acide ascorbique, BHA et BHT pris comme antioxydantes de références. D'après Hennebelle (2004), les polyphénols peuvent interagir avec des radicaux libres, provoquant la peroxydation ou l'autoxydation des lipides. Leur rôle principal semble être la capture de ces radicaux, comme l'ont observé Babu et al. (2006).

De plus, La faible activité antioxydante de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* pourrait s'expliquer selon Akolade *et al.* (2012) par l'absence de composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol.

5. Résultats de l'activité antimicrobienne :

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont répertoriés dans le tableau n° 08 :

Tableau 08 : Diamètre des zones d'inhibition (mm)

Nom de Souche	Extraits				
	éthéré (mm)	Butanolique (mm)	Éthanolique « Macération » (mm)	Éthanolique « Soxhlet » (mm)	Éthanolique « Ultrason » (mm)
<i>B. subtilis</i>	10,67	15,33	15,33	13,67	10,83
<i>P. aeruginosa</i>	10,67	11,33	12,67	14	11,33
<i>E. coli</i>	11,50	12,33	11,00	10,17	13,67
<i>S. aureus</i>	12,33	11,67	21,67	21,67	20,33
<i>S. cerevisiae</i>	10,67	13,33	14	14	13,67
<i>C. albicans</i>	12,33	14,50	16,33	11,67	13,67

Le tableau 08 montre que tous les extraits ont démontré différents degrés d'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positif et les Gram-négatif ainsi que les levures (le teste de solvant utilisé est négative). Une zone d'inhibition supérieure à 10 mm est considérée comme une bonne activité antibactérienne (Abdallah, 2014).

L'effet antibactérien de l'*Eucalyptus globulus* est observé sur différentes souches bactériennes Gram positives et Gram négatives. Ceci est dû à la présence de flavonoïdes, métabolites secondaires connus pour leur activité antibactérienne.

La présence d'une zone d'inhibition très marquée autour des extraits testés permet de noter une activité relativement significative contre les staphylocoques Gram + et les pseudomonas Gram-.

Le diamètre de la zone d'inhibition varie de 10 à 21mm et varie d'une bactérie à l'autre, ainsi que d'un extrait à l'autre. Cette différence d'activité antibactérienne explique les différences de composition chimique.

Les résultats de ce test montrent que les extraits d'*Eucalyptus globulus* présentent une activité antibactérienne potentielle contre quelques micro-organismes (bactéries testées).

Pour les composés phénoliques, *B. subtilis* et *Staphylococcus aureus* sont les bactéries les plus affectées. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les bactéries à Gram positif présentent des caractéristiques structurelles qui les rendent plus sensibles à ces extraits.

L'extrait éthanolique obtenu par les 03 méthodes, ont révélé la plus forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre d'inhibition relativement similaire dépassant 20 mm. Nous avons également constaté que l'extrait butanolique, l'extrait éthanolique obtenu par ultrason et l'extrait éthéré présentaient la plus faible activité antibactérienne sur *P. aeruginosa*.

En ce qui concerne les levures utilisées dans cette étude, nous avons détecté une réduction de la croissance des champignons avec d'inhibition moins que les bactéries testés (zones d'inhibitions entre 10 et 16 mm), ce qui nous permet de conclure que cette plante, *E. globulus*, est principalement bactéricide et fongicide.

D'autres chercheurs, Babayi *et al.* (2004), ont signalé l'absence de zone inhibitrice chez *Candida albicans* à l'aide d'un extrait brut méthanolique de feuilles d'*Eucalyptus camaldulensis*. Leurs recherches montrent également que leurs extraits inhibaient la croissance de *B. subtilis* et *S. aureus*, mais étaient incapables d'inhiber la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de Takahashi obtenus en 2004 révèlent également que l'extrait aqueux des feuilles d'*E. robusta* possède une activité antimicrobienne, ce qui concorde avec les résultats confirmés dans la littérature de Vitta *et al.* (2020).

6. Résultats de l'activité anti-inflammatoire :

Dans le but d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des extraits et l'HE d'*E. globulus*, nous avons suivi la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA). Les valeurs de l'absorbance obtenues en 660 nm pour les échantillons sont transformées en pourcentages d'inhibition de la dénaturation des protéines BSA, les quels sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 09 : Pourcentage d'inhibition de l'activité anti-inflammatoire des extraits d'*E. globulus* et le Diclofénac à différentes concentrations.

[C] (µg/ml)	% d'inhibition					
	Diclofenac	HE	Extrait. butanolique	Ethanolique. Ultason	Ethanolique Soxhlet	Ethanolique Macération
[C01] : 100	39,04	6,1	71,98	40,34	72,5	23,22
[C02] : 200	44,49	6,87	74,84	46,3	89,36	56,42
[C03] : 500	68,35	22,18	80,8	48,38	90,92	68,35

L'analyse des résultats résumés dans le tableau (09) montre que l'extrait éthanolique obtenu par Soxhlet (éth. So) présente la meilleure activité anti-inflammatoire (72,5% à 100 µg/ml et jusqu'à 90,92% à 500 µg/ml), dépassant même le diclofénac à toutes les concentrations testées, ce qui indique un fort potentiel de ce mode d'extraction. Les extraits butanoliques et éthanoliques par macération affichent également une bonne efficacité, surtout à forte dose, tandis que l'HE et l'extrait éthanolique par ultrasons sont nettement moins actifs.

Donc, tous les extraits montrent un effet dose-dépendant, confirmant que l'augmentation de la concentration améliore l'activité anti-inflammatoire, et que le choix du

solvant et de la méthode d'extraction influence fortement l'efficacité des extraits d'*E. globulus*.

D'après Mirke *et al.* (2020), l'extrait de plante d'*E. globulus*, utilisé à une concentration élevée de 1 000 µg/mL, a atteint le taux d'inhibition le plus important dans le test BSA in vitro (97,28 %). Ceci est cohérent avec notre résultat obtenu avec tous les extrais à la concentration de 500 µg/mL, donc plus la concentration augmente, plus l'inhibition est forte, surtout pour les extraits éthanoliques et butanoliques, ce qui suggère que ces procédés d'extraction concentrent mieux les composés actifs anti-inflammatoires.

En ce qui concerne l'EGEO, ses résultats étaient plus faibles par rapport à ceux enregistrés avec le diclofénac en tant que produit de référence. Le pourcentage d'inhibition de la dégradation maximale au plus haut niveau de concentration de l'HE (500 µg/mL) était de 22,18 %. Cela est attribué au taux de dilution de l'HE. Ces résultats soutiennent ceux obtenus par Belkhodja *et al.* (2021), qui a montré dans ses études que l'utilisation de l'EGEO sans dilution a donné un pourcentage d'inhibition de la dégradation de protéine (BSA) atteignant 66,03 %.

7. Résultats de l'activité antidiabétique :

Cette étude a porté sur une culture de levures exposée à différentes concentrations de glucose : 5mM, 10 mM et 25 mM. Diverses doses d'HE, extrait butanoliques et extraits éthanolique obtenus par ultrasons, Soxlhet et macération ont été testées afin d'évaluer leur capacité à inhiber l'absorption du glucose par les cellules de levures. Les résultats obtenus figurent dans les graphiques 25, 26 et 27 :

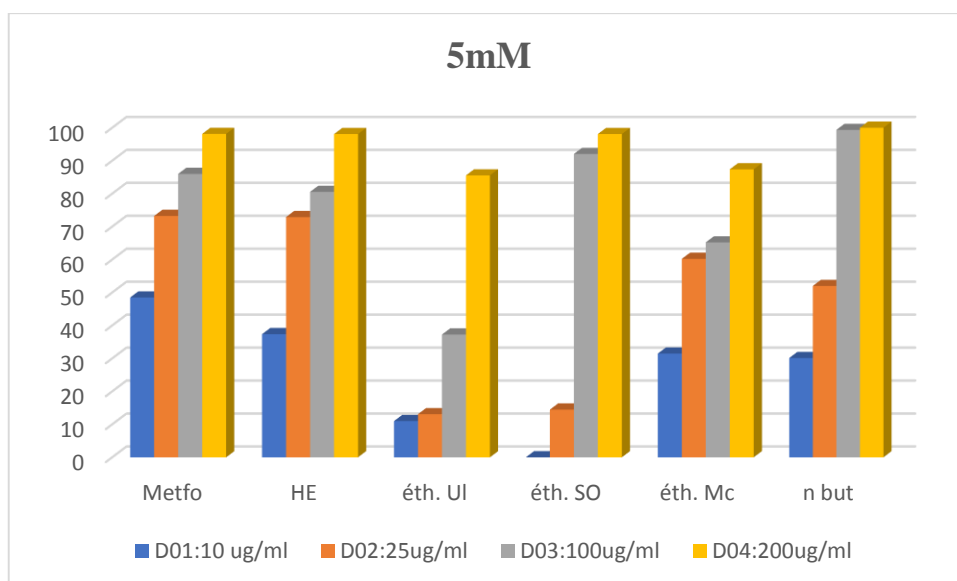


Figure 25 : L'histogramme illustre le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 5 mM, suite à l'action des extraits.

En utilisant une concentration de 5mM de glucose (Figure 26), un effet significatif a été observé dans l'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure. Tous les doses des extraits et de l'HE ont montré des résultats conformes à l'effet du médicament Metformine comme produit de référence. Les résultats étaient particulièrement marqués avec la dose de 200 $\mu\text{g/ml}$ pour l'HE et l'extrait SO, enregistrant une efficacité atteignant respectivement 98,09 % et 98,08% similaire à celle de Metformine avec la dose (200 $\mu\text{g/ml}$; 98,13%).

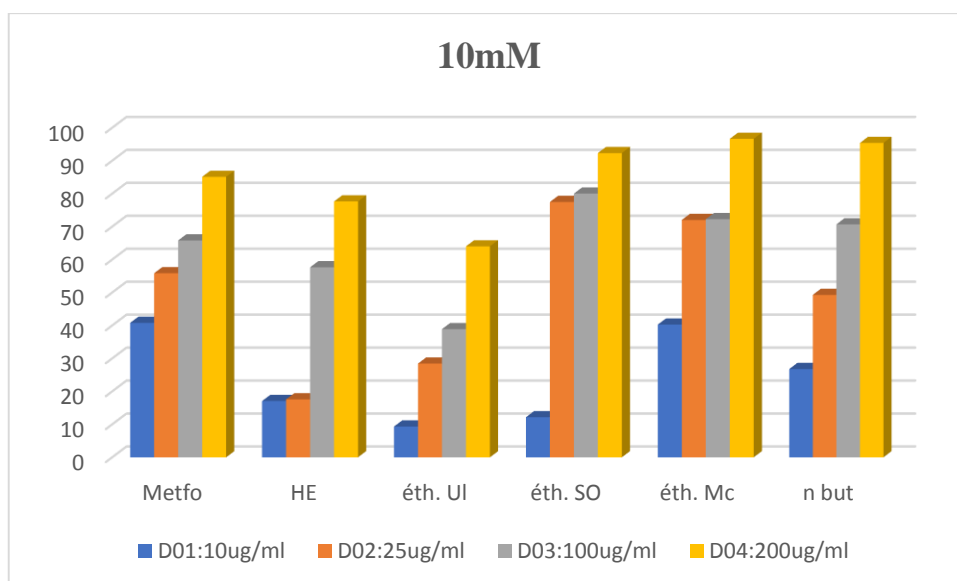


Figure 26 : L'histogramme illustre le pourcentage d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 10 mM, suite à l'action des extraits.

A travers la Figure 27, avec une concentration de 10mM de glucose, tous les extraits montrent une efficacité à inhiber l'absorption du glucose par les cellules, mais avec des pourcentages (%) variables selon les concentrations des extraits. Les pourcentages d'inhibition des extraits butanoliques et éthanologiques obtenus par Soxhlet et macération surpassent ceux enregistrés pour les mêmes concentrations de Metformine dans les doses suivantes (25 ; 100 ; 200 $\mu\text{g/ml}$). En revanche, les extraits éthanologiques ultrasoniques et ceux obtenus par HE présentent une efficacité inférieure, avec des valeurs d'inhibition plus faibles que celles des autres extraits.

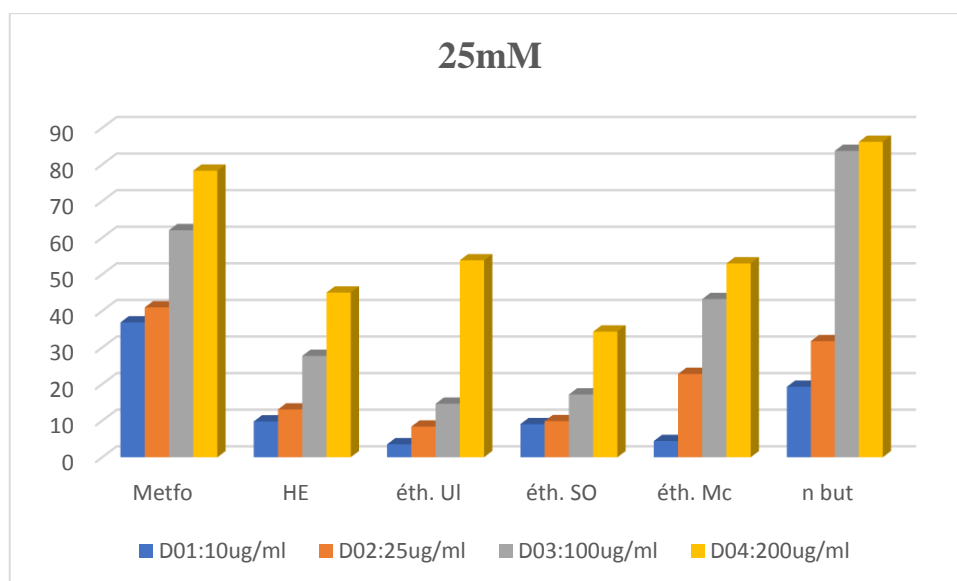


Figure 27 : L’histogramme illustre le pourcentage d’inhibition de l’absorption du glucose par les cellules de levure exposées à une concentration initiale de 25 mM, suite à l’action des extraits.

Les histogrammes dans la figure 28 indiquent une diminution des pourcentages d’inhibition de l’absorption dans tous les extraits et l’HE avec une augmentation de la concentration de glucose dans le milieu (25 mM). Cependant, l’extrait butanolique montre des taux d’inhibition à deux concentrations, 100 et 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, variant entre 83,72 % et 86,19 % respectivement, ce qui dépasse les taux enregistrés avec la Metformine (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$: 62,04% et 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$: 78,29%).

Les extraits végétaux sont souvent riches en composés phénoliques, qui sont reconnus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes. Ces composés jouent un rôle crucial dans la modulation de divers aspects des maladies métaboliques, notamment la peroxydation lipidique, qui est impliquée dans le diabète. Il est important de noter que le type et la quantité de ces composés dans un extrait dépendent du solvant utilisé pour l’extraction. Par exemple, Les résultats de Bello *et al.* (2021) montrent que l’extrait éthanolique des feuilles d’*Eucalyptus globulus*, obtenu par Soxhlet, présente d’excellentes propriétés antidiabétiques in vitro. En effet, cette étude met en évidence l’efficacité de cet extrait dans la modulation des paramètres lipidiques, ce qui est crucial dans le contexte du diabète. De plus, les travaux d’Eidi *et al.* (2009) corroborent ces résultats en démontrant que l’administration orale d’extrait alcoolique d’eucalyptus entraîne une réduction significative des triglycérides et du cholestérol sériques chez les rats diabétiques.

Selon Bnouham *et al.* (2006), l'extrait butanolique d'*E. globulus* administré à des souris diabétiques traitées à la streptozotocine, a démontré une réduction significative de l'hyperglycémie. Cette réduction suggère que l'*E. globulus* exerce une action anti-hyperglycémiant, probablement par des mécanismes pancréatiques et extra-pancréatiques. Ces résultats viennent soutenir nos propres observations concernant l'activité antidiabétique de l'extrait butanolique.

De plus, les activités antidiabétiques des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* se comparent favorablement aux normes établies dans l'étude de Usman *et al.* (2020). Cela suggère que ces huiles essentielles pourraient représenter une alternative prometteuse aux médicaments de synthèse, en contribuant à améliorer le stress oxydatif et à gérer le diabète de type 2.

Conclusion

En conclusion, les plantes médicinales occupent depuis longtemps une place essentielle dans les médecines traditionnelle et moderne, en raison de la richesse de leurs composés actifs et de leurs diverses propriétés thérapeutiques.

Dans le cadre de nos travaux portant sur les feuilles d'*E globulus* de la région de Miliana (Aïn Defla), nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle ainsi qu'à l'obtention d'extraits par différentes méthodes (éthanolique, butanolique et étherique), en vue d'évaluer leur efficacité à travers quatre activités biologiques majeures. Les résultats ont révélé que l'extrait éthanolique obtenu par Soxhlet présentait le rendement le plus élevé (55,08 %), tandis que l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur d'eau a affiché un rendement de 1,43 %. Par ailleurs, l'analyse par GC/MS a permis d'identifier 22 composés actifs, dont le principal est l'eucalyptol (1,8-cinéole), représentant 48,82 % de la composition totale.

En termes d'activité biologique, l'huile essentielle a présenté une faible capacité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH ($CI_{50} = 0,00917$ mg/ml), inférieure à celle des antioxydants de référence (acide ascorbique, BHA et BHT). L'activité antimicrobienne, évaluée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé, a montré que les extraits testés exercent un effet plus marqué sur les bactéries à Gram positif (*S. aureus* et *B. subtilis*) que sur les bactéries à Gram négatif (*E. coli* et *P aeruginosa*), avec une activité modérée contre les levures (*C. albicans* et *S cerevisiae*).

L'activité anti-inflammatoire, évaluée par la méthode d'inhibition de la dénaturation des protéines (BSA), a révélé des taux d'inhibition élevés pour l'extrait éthanolique obtenu par Soxhlet (90,92 %) et pour l'extrait butanolique (80,80 %). En revanche, l'huile essentielle a montré une activité plus faible (22,18 % à 500 µg/mL), nettement inférieure à celle du diclofénac, utilisé comme référence.

Concernant l'activité antidiabétique, évaluée par la méthode d'inhibition de l'absorption du glucose par les cellules de *Saccharomyces cerevisiae*, les extraits ont démontré une certaine efficacité, bien que celle-ci diminue avec l'augmentation de la concentration en glucose (5, 10 et 25 mM).

Au vu de l'ensemble des résultats, *E globulus* apparaît comme une source prometteuse de composés bioactifs, présentant un intérêt potentiel dans les domaines thérapeutique et pharmaceutique. Ces données encouragent à poursuivre les investigations scientifiques et à élargir les études à d'autres plantes médicinales locales. Il serait également pertinent de concentrer les recherches futures sur les applications cliniques de ces extraits, en vue de développer des traitements naturels efficaces et sûrs contre certaines maladies chroniques.

Cette étude contribue à renforcer la recherche sur les plantes médicinales en Algérie et à promouvoir leur intégration dans la médecine moderne.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

01. Abdallah, M., Benoliel, C., Drider, D., Dhulster, P et Chihib, NE. (2014). Formation et persistance de biofilms sur des surfaces abiotiques en milieu alimentaire et médical. *Archives of microbiology*. 196 (7) : 453-472.
02. Abe, C.M., Bondezan, L.C., Thadeo, M & Mourão, K. S. M. (2024). Hypodermis or multiple epidermis: Leaf ontogenesis in nine species of subfamily Myrtoideae (Myrtaceae). *Flora*. 319: 152598.
03. Akolade, J. O., Olajide, O. O., Afolayan, M. O., Akande, S. A., Idowu, D. I & Orishadipe, A. T. (2012). Chemical composition, antioxidant and cytotoxic effects of *Eucalyptus globulus* grown in north-central Nigeria. *Journal of Natural Product and Plant Resources*. 2 (1): 1–8.
04. Alara, OR, Abdurahman, NH, Ukaegbu, CI & Kabbashi, NA. (2019). Extraction et caractérisation de composés bioactifs dans l'extrait éthanolique de feuilles de *Vernonia amygdalina* en comparant les techniques d'extraction Soxhlet et assistée par micro-ondes. *Journal of Taibah University for Science*. 13 (1): 414-422.
05. Almas, I., Innocent, E., Machumi, F et Kisinza, W. (2021). Composition chimique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus maculata* cultivés en Tanzanie. *Scientifique Africain*. 12 : e00758.
06. Alves-Silva, J. M., Zuzarte, M., Marques, C., Rodrigues, T., Barbeitos, J., Caetano, R., Baptista, R., Salgueiro, L & Girão, H. (2025). 1,8-Cineole reduces pulmonary vascular remodelling in pulmonary arterial hypertension by restoring intercellular communication and inhibiting angiogenesis. *Phytomedicine*. 137: 156334.
07. Archana, B., Dasgupta, N & De, B. (2005). In vitro study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem*. 90 : 727-733.
08. Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J. I & Ijah, U. J. J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camalctulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms.
09. Babu, PVA., Sabitha, K. E et Shyamaladevi, C. S. (2006). Effet thérapeutique de l'extrait de thé vert sur le stress oxydatif dans l'aorte et le cœur de rats diabétiques à la streptozotocine. *Interactions chimico-biologiques*. 162 (2): 114-120.

10. Baggio, J., Lima, AD, Mancini Filho, J et Fett, R. (2007). Identification des acides phénoliques dans la poussière de café (*Coffea arabica* L.) et de son activité antioxydante. *Journal italien des sciences alimentaires/Rivista Italiana di Scienza degli Alimenti*. 19 (2).
11. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D & Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oils-A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 446-475.
12. Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecol Management*. 256(12): 2166-2174.
13. Belkhodja, H., Meddah, B., Sidelarbi, K., Bouhadi, D., Medjadel, B & Brakna, A. (2022). In vitro and in vivo anti-inflammatory potential of Eucalyptus globulus essential oil. *Journal of Applied Biological Science*. 16 (1): 80-88.
14. Bello, M., Jiddah-kazeem, B., Fatoki, T. H., Ibukun, E. O & Akinmoladun, A. C. (2021). Antioxidant property of Eucalyptus globulus Labill. Extracts and inhibitory activities on carbohydrate metabolizing enzymes related to type-2 diabetes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 36 :102111.
15. Belsito, E. L., Carbone, C., Di Gioia, M. L., Leggio, A., Liguori, A., Perri, F & Viscomi, M. C. (2007). Comparison of the volatile constituents in cold-pressed bergamot oil and a volatile oil isolated by vacuum distillation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55(19): 7847-7851.
16. Bhattacharya, S & Pal, S. (2025). Review on elucidating the relationship between abiotic stress and biosynthesis of secondary metabolites in medicinal plants. *Next search*. 100320.
17. Bnouham, M., Ziyat, A., Mekhfi, H., Tahri, A & Legssyer, A. (2006). Medicinal plants with potential antidiabetic activity- A review of ten years of herbal medicine research (1990-2000). *Int J Diabetes & Metabolisme* (2006). 14: 1-25.
18. Boudy, P., 1955. Economie forestière nord-africaine. Tome 4 : Description forestière de l'Algérie et de la Tunisie. *Larose*, Paris. Pp: 483.
19. Boukhatem, M. N., Ferhat, A et Kameli, A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Agrobiologia*. 9 (2): 1653-1659.
20. Boukhtem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A., Mekarnia, M. 2018. Eucalyptus globulus (Labill) : un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*. 16(1), 203-214.

21. Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Kerkadi, W & Sadok Bouziane, M. (2014). Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. *International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy*. 17(3): 303-315.
22. Boulekbache-Makhlouf, L., Meudec, E., Chibane, M., Mazauric, J.P, Slimani, S., Henry, M., Cheynier, V & Madani, K. (2010). Analyse par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse à barrette de diodes de composés phénoliques dans les fruits d'*Eucalyptus globulus* cultivés en Algérie. *Revue de chimie agricole et alimentaire*. 58 (24) : 12615-12624.
23. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosy: Phytochemistry and Medical Plants. 2^{ème} éd. *Lavoisier Publishing*. New York, USA. Pp : 555-558.
24. Burt. S. (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-A review. *International Journal of Food Microbiology*. 94 : 223-253.
25. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*. 16(1): 173-183.
26. Chashike, A., Shibru, S., Gebre, T & Uncha, A. (2025). Ethnobotanical study of traditional medicinal plants and associated indigenous knowledge in Melokoza District, southern Ethiopia. *Trees, forests and people*. 20 : 100849.
27. Cheurfa, M., Achouche, M., Azouzi, A & Mariod A, A. (2020). Antioxidant and anti-diabetic activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) leaves extracts. *Foods and Raw Materials*. 8(2).
28. Chevallier, A. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} éd. *Larousse*. France. Pp : 335.
29. Chouhan, S., Sharma, K., &Guleria, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils—Present Status and Future Perspectives. *Medicines*. 4(3): 58.
30. Coppen, J. J. W. (2002). *Eucalyptus: The genus Eucalyptus*. 1st ed. Taylor & Francis. London, Angleterre. Pp : 449.
31. Couic-Marinier, F et Lobstein, A. (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*. 52(525) : 22-25.

32. Da Silva Pittarelli, B. F., Mourão, K. S. M., & Thadeo, M. (2021). Pericarp development in *Campomanesia Ruiz & Pav.* (Myrtaceae) species and systematic implications for the genus. *Flora*. 282 : 151885.
33. Daroui-Mokaddem, H. (2012). Noms Vernaculaires des Plantes en Algérie : Cas de l'Eucalyptus. *Journal des Études Linguistiques et Culturelles*. 22(1) : 45-59.
34. Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*. 3(4): 25.
35. Dorman H. J. D & Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 88: 308-316.
36. Dubey V.S., Bhalla R & Luthra R. (2003). An overview of the non-mevalonate pathway for terpenoid biosynthesis in plants. *J. Biosci.* 28 (5): 637-646.
37. Dugo, G & Giacomo, Di. (2002). The genus Citrus. 1st ed. *Taylor & Francis*. London. Pp : 641.
38. Duval, A. 2023. Tout savoir sur l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus (Eucalyptus globulus). *Aroma-passion*. <https://aroma-passion.fr>
39. Eidi, A., Eidi, M., Givianrad, MH, et Abaspour, N. (2009). Effets hypolipémiants de l'extrait alcoolique de feuilles d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus* Labill.) sur des rats diabétiques et non diabétiques. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*. 8 : 13.
40. Emara, S & Shalaby, A. E. (2011). Seasonal variation of fixed and volatile oil percentage of four *Eucalyptus* spp. related to lamina anatomy. *African Journal of Plant Science*. 5(6) : 353-9.
40. Ferhat, M. A., Boukhatem, M. N., Hazzit, M & Chemat, F. (2016). Rapid extraction of volatile compounds from Citrus fruits using a microwave dry distillation. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*. 8(3): 753-781.
41. Ferhat, MA, Meklati, BY, Smadja, J & Chemat, F. (2006). Un appareil Clevenger à micro-ondes amélioré pour la distillation des huiles essentielles d'écorces d'orange. *Journal of Chromaty A*. 1112 (1-2): 121-126.

42. Fetni, S & Bertella, N. (2020). Etude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de *Rosa canina* L.(Rosacées). *Nutrition & Santé*. 9(2) : 117-125.
43. Flores, M et Poveda, J. (2025). Contrôle efficace de l'antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) dans les tomates après récolte sous différentes températures de stockage en utilisant des huiles essentielles d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et de citronnelle (*Cymbopogon citratus*). *Biosciences alimentaires*. 69 : 106993.
44. Foudil-Cherif, Y. (1991). Etude comparative des Huiles Essentielles Algériennes d'Eucalyptus (Mémoire de Magister, Algérie).
45. Freeman, J.S., Marques, C.M., Carocha, V., Borralho, N., Potts, B.M & Vaillancourt, R.E. (2007). Origins and diversity of the Portuguese Landrace of *Eucalyptus globulus*. *Annals of Forest Science*. 64(6): 639-647.
46. Gavahian, M & Chu, Y. H. (2018). Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 50: 34-41.
47. Gilles, M., Zhao, J., Min, A & Agboola, S. (2010). Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species: *Food Chemistry*. 119(2) : P 731–737.
48. Goetz, P et Ghedira, K. (2012). *Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae) : *Eucalyptus* in Phytothérapie anti-infectieuse. *Springer*. Paris. Pp: 271-279.
49. Golmakani, M. T & Rezaei, K. (2008). Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydro-distillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food Chemistry*. 109(4): 925-930.
50. Gomes, P. B., Mata, V. G & Rodrigues, A. E. (2007). Production of rose geranium oil using supercritical fluid extraction. *Supercritical Fluids*. 41(1) : 50-60.
51. Harkat-Madouri, L., Boudria, A., Madani, Kh., Bey-Ould Si Said, Z., Rigou, P., Grenier, D., Allalou, H., Remini, H., Adjaoud, A & Boulekbache-Makhlouf, L. (2015). Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Crops and industrial products*. 78: 148-153.
52. Hayat, U., Jilani, MI., Rehman, R & Nadeem, F. (2015). Une revue sur l'*Eucalyptus globulus*: une nouvelle perspective en thérapeutique. *Int. J. Chem. Biochem. Sci*. 8: 85-91.

53. Hennebelle, T., Sahpaz, S et Bailleul, F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 2 : 3-6.
54. Herchi W., Sebei K., Sakouhi F., Khouja M. L & Boukhchina S. (2015). Chemical composition and antibacterial activities of seven Eucalyptus species essential oils leaves. *Biological research*.48(1): 7-38.
55. Himed, L., Merniz, S et Barkat, M. (2016). Évaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de Citrus limon (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation. *Revue Algérienne des Produits Naturels*. 4 (1) : 252-260.
56. Hopkins, W.G. (2003). Physiologie végétale. 2éme éd. *De Boeck Université*. Paris. Pp: 267-281.
57. Jones, T. H., Steane, D. A., Jones, R. C., Pilbeam, D., Vaillancourt, R. E & Potts, B. M. (2006). Effects of domestication on genetic diversity in Eucalyptus globulus. *Forest Ecology and Management*. 234 (1-3): 78-84.
58. Kačániová, M., Čmiková, N., Vukovic, N. L., de Zhaojun, B., Bianchi, A., Garzoli, S., Ben Saad, R., Ben Hsouna, A., Elizondo, J. H & Vukic, M. D. (2024). Eucalyptus globulus essential oil as food preservative: chemical composition, antimicrobial (in vitro and in situ), antibiofilm and insecticidal potential. *South African Journal of Botany*. 175: 228-240.
59. Kalembe, D & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10 (10): 813-829.
60. Kihel, R & Khelifa, S. (2023). Effet des extraits successifs de déférentes concentrations méthanoliques sur les activités biologiques d'Eucalyptus globulus labill. 51.
61. Kulu Shuaibu, H., Kankara, U. M., Muhammad, A. N., Gusau, M. B., Garba, N. N., Kolo, M. T & Khandaker, M. U. (2025). Natural radioactivity and radiological risks in certain medicinal plants consumed in northern Niger. *Radiation Physics and Chemistry*. 234: 112785.
62. Kumar, P., Kumar, D., Pal, S & Singh, S. (2025). Plant secondary metabolites in defense against phytopathogens: mechanisms, biosynthesis and applications. *Physiological and molecular plant pathology*. 138: 102639.
63. Ladoh Yemeda, C. F., Dibang, S. D., Nyegue, M. A., Djembissi Talla, R. P., Lente Ndjakou, B., Mpondo Mpondo, E., Yinyang, J & Wansi, J. D. (2014). Antioxidant activity of methanolic

- extracts of *Phragmanthera capitata* (Loranthaceae) harvested from *Citrus sinensis*. *Journal of Applied Biosciences*. 84 :7636–7643.
64. Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18(6) : 435-448.
65. Laib, I. (2012). Etude des activités antioxydant et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technologie*. (7) : 44-52.
66. Leszczynska, D. (2007). Management de l'innovation dans l'industrie aromatique : Cas des PME de la région de Grasse. *Harmattan*. Paris, France. Pp :453.
67. Lima, L., Pereira, A. I., Vaz, C. B., Ferreira, O., Dias, M. I., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Barros, L & Carocho, M. (2025). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of *Eucalyptus globulus* leaves reveals strong antioxidant and antimicrobial properties. *Chimie alimentaire*. 479 : 143755.
68. Liu, M., et Yang, L. (2022). Expansion vers le nord de la végétation adaptée aux incendies dans le contexte du réchauffement climatique. *Environmental Research Letters*, 17 (2), 024008.
69. Lobstein, A., Couic-Marinier, F et Koziol, N. (2018). Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. *Actualités Pharmaceutiques*. 57 (573) : 59-61.
70. Maciel, M. V., Morais, S. M., Bevilaqua, C. ML., Silva, R. A., Barros, R. S., Sousa, R. N., Sousa, L. C., Brito, E. S & Souza-Neto, M. A. (2010). Chemical composition of *Eucalyptus spp.* essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. *Veterinary parasitology*. 167(1): 1-7.
71. Mahboub, N., Slimani, N., Ben Nadji, S., Bouzeguag, C., Kadri, M et Khelil, A. (2019). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique des huiles essentielles à partir de *Cymbopogon schoenanthus* dans la region de ghardaïa. *Revue des BioRessources*. 9(2) : 21-34.
72. Maiolini, T.C.S., Nicácio, K.D.J., Rosa, W., Miranda, D.D.O., Santos, M.F.C., Bueno, P.C.P., Lago, J.H.G., Sartorelli, P., Dias, D.F., Chagas de Paula, D.A and Soares, M. G. (2023). Potential anti-inflammatory biomarkers from Myrtaceae essential oils revealed by untargeted metabolomics. *Natural Product Research*. 1-8.
73. Masango, P. (2005). Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production*. 13(8): 833-839.

74. Mengal, P., Behn, D., Bellido Gil, M & Mompon, B. (1993). VMHD : extraction d'huile essentielle par micro-ondes. *Parfums, cosmétiques, arômes*. (114) : 66-67.
75. Mirke, NB, Shelke, PS, Malavdkar, PR & Jagtap, PN (2020). Essai in vitro d'inhibition de la dénaturation des protéines d'Eucalyptus globulus et de Glycine max pour une activité anti-inflammatoire potentielle. *Innovations en produits pharmaceutiques et pharmacothérapie*. 8(2) : 28.
76. 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): e60269.
77. Momchev, P., Ciganović, P., Jug, M., Marguí, E., Jablan, J & Zovko Končić, M. (2020). Comparison of maceration and ultrasonication for green extraction of phenolic acids from *Echinacea purpurea* aerial parts. *Molecules*. 25(21) : 5142.
78. Nair, S. S., Kavrekar, V & Mishra, A. (2013). Evaluation of in vitro anti diabetic activity of selected plant extracts. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*. 2(4) :12–19.
79. Naranio-Voteri, A. J., Javega Cometto, M., Caverzan, M., Champarini, L. G., Zunino, M. P., Abburra, R. E., Herenu, C. B et Crespo, R. (2025). Assessing the neuroprotective potential of Eucalyptus globulus essential oil in a 6-hydroxydopamine rat model of Parkinson's disease. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*. 14: 100584.
80. Ngo, T. C. Q., Tran, T. H & Le, X. T. (2020). Effets des paramètres d'influence sur l'extraction d'huile essentielle de feuilles d'Eucalyptus globulus par la méthode d'hydrodistillation. *Série de conférences IOP: Science et Ingénierie des matériaux*. 991(1): 012126.
81. Nguyen, H.D., Vu, M.T., & Do, H.D.K. (2023). The complete chloroplast genome of *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. (Myrtales: Myrtaceae). *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*. 16(2): 267-271.
82. Noudogbessi, J. P., Kossou, D & Sohounhloué, D. C. (2008). Composition chimique et propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Pimenta racemosa* (Miller) et de *Chromolaena odorata* (L. Robinson) acclimatées au Bénin. *Journal de la Société ouest-africaine de chimie*. 26 : 11-19.

83. Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D & Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: overview of methods and effect of extraction parameters. *Polyphenols in plants*. 243-259.
84. Orme, R.K. (1990). Provenance d'Eucalyptus globulus. *Food and Agriculture Organization*. <https://www.fao.org>
85. Osmić, S., Begić, S., Mičić, V., Petrović, Z & Avdić, G. (2019). Effect of solvent and extraction conditions on antioxidative activity of sage (*salvia officinalis* L.) extracts obtained by maceration. *Technologica Acta: Scientific/professional journal of chemistry and technology*. 11(2) : 1-8.
86. Paris, M & Moyse, H. (1965). Matière médicinale I. *Masson*. Paris.
87. Pereira, C. G & Meireles, M. A. A. (2010). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. *Food and Bioprocess Technology*. 3(3): 340-372.
88. Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M & Hirose, T. (2006). Extraction of essential oil from geranium (*Pelargonium graveolens*) with supercritical carbon dioxide. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 81(2): 167-172.
89. Pharmacopée Européenne ; 2020 10th Edition ; Manuel microbiologique Merck; validation des techniques d'analyses microbiologique 10/04/2014. Protocole ACM Pharma. Identification et entretien des souches microbiennes. Sidal. Ver: 09 P2/33. Ref: MO. SP-GDC.LCQ03.
90. Roland, J.C et Roland, F. (2001). Atlas de biologie végétale (T. 2) : Organisation des plantes à fleurs. *Académie d'Agriculture de France*. 87 (2) : 217-218.
91. Rombaut, N., Savoie, R., Thomasset, B., Bélliard, T., Castello, J., Van Hecke, É & Lanoisellé, J. L. (2014). Grape seed oil extraction: Interest of supercritical fluid extraction and gas-assisted mechanical extraction for enhancing polyphenol co-extraction in oil. *Comptes Rendus. Chimie*. 17(3): 284-292.
92. Saber, F.R., Munekata, P.E.S., Rizwan, K., El-Nashar, H.A.S., Fahmy, N.M., Aly, S.H., El-Shazly, M., Bouyahya, A et Lorenzo, J.Mo. (2024). Famille Myrtaceae : Le trésor caché dans la composition complexe/diversifiée. *Food Sci Nutr*. 64(19) : 6737-6755.
93. Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A., Trombetta, D., Ezzat, S. M., Salem, M. A., Zayed, A., Castillo, C. M. S., Emamzadeh Yazdi,

- S., Sen, S., Acharya, K., Sharopov, F & Martins, N. (2019). Overview of the chemical constituents of the genus Eucalyptus, their biological activities and their beneficial effects on health. *Trends in Food Science and Technology*. 91: 609-624.
94. Santos, J., Freitas, B., Fernandes, R. A., Escobra-Avello, D., Gomes, T., Magalhães, P., Magalhães, F. D., Martins, J. M & Carvalho, L. H. (2025). Ultrasonically assisted water extraction from Eucalyptus globulus leaves and branches to obtain natural textile dyes with antioxidant properties. *Crops and industrial products*. 228: 120885.
95. Schauenberg, P et Paris, F. (2008). Guide des plantes médicinales. *espagne*. Pp: 295-296.
96. Sokovi, M., Marin, P.D., Brki, D & Van Griensven, L. J. L. D. (2007). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Food*. 1(1): 1-7.
97. Souza, ET., de Queiroz, AC., Miranda, GECD., Lorenzo, VP., da Silva, EF., Freire-Dias, TL., Melo, G. M. A. Santos, B. V. O., Chaves, M. C. O & Alexandre-Moreira, MS (2009). Activités antinociceptives de l'extrait et des phases méthanoliques bruts, n-butanolique, chloroformique et acétate d'éthyle de *Caulerpa racemosa* (Caulerpaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 19 : 115-120.
98. Subramanian, P. A., Gebrekidan, A & Nigussie, K. (2012). Yield, Contents and Chemical Composition Variation in the Essential oils of Different Eucalyptus globules trees from Tigray, Northern Ethiopia. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. 17(11).
99. Sultana, B., Anwar, F., Mushtaq, M., Aslam, M & Ijaz, S. (2014). In vitro antimutagenic, antioxidant activities and total phenolics of clove (*Syzygium aromaticum* L.) seed extracts. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 27(4).
100. Takahashi, T., Kokubo, R et Sakaino, M. (2004). Antimicrobial activities of eucalyptus leaf extracts and flavonoids from *Eucalyptus maculata*. *Lett. Appl. Microbiol*. 39: 60-64.
101. Traore, N., Sidib, L., Bouare, S., Harama, D., Somboro, A., Fofana, B., Diallo, D., Figueredo, G et Chalchat, J. C. (2013). Activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Eucalyptus citriodora* Hook et *Eucalyptus houseana* W.Fitzg.ex Maiden. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 7(2): 800-804.
102. Tubiana, J. (1990). L'eucalyptus en Ethiopie. *Paideuma*. 36(1): 329-333.

103. Usman, L. A., Oguntoy, O. S et Insmael, R. O. (2020). Effet de la variation saisonnière sur la composition chimique, les potentiels antidiabétiques et antioxydants de l'huile essentielle de feuilles d'*Eucalyptus globulus* L. *Journal des plantes à huiles essentielles*. 23(6): 1314-1323.
104. Vaquero R. M. J., Alberto M. R & Manca, M. C (2007). Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18(5): 587-593.
105. Vaughan, G. (2008). *Eucalyptus globulus* Labill. *Ressources végétales de l'Afrique tropicale*. 7 (Partie 1).
106. Ventrella, M.C & Marinho, C.R. (2008): Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves. *Revista Brasil. Bot.* 31(3): 457-467.
107. Vigo, C.N., Oclocho-Garcia, F.E., Trigos, D.I., & Oliva-Cruz, M. (2024). Influence of *Eucalyptus globulus* plantations on soil characteristics at different altitudinal levels. *Trees, Forests and People*. 18(1): 100677.
108. Vitta, Y., Figueroa, M., Calderon, M & Ciangherotti, C. (2020). Synthesis of iron nanoparticles from aqueous extract of *Eucalyptus robusta* Sm and evaluation of antioxidant and antimicrobial activity. *Materials science for energy technologies*. 3: 97-103.
109. Wang, Z., Ding, L., Li, T., Zhou, X., Wang, L., Zhang, H & He, H. (2006). Improved solvent free microwave extraction of essential oil from dried *Cuminum cyminum* L. And *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Journal of Chromatography A*. 1102(1-2): 11-17.
110. Williams, L. A. D., O'connar, A., Latore, L., Dennis, O., Ringer, S., Whittaker, J. A., Conrad, J., Vogler, B., Rosner, H & Kraus, W. (2008). The in vitro anti-denaturation effects induced by natural products and non-steroidal compounds in heat treated (immunogenic) bovine serum albumin is proposed as a screening assay for the detection of anti-inflammatory compounds, without the use of animals, in the early stages of the drug discovery process. *West Indian Medical Journal*. 57(4):327.
111. Yimam, A., Mekuriaw, A., Assefa, D & Bewket, W. (2024). Modélisation de la distribution spatiale d'*Eucalyptus globulus* dans le bassin supérieur du Nil Bleu à l'aide de données multispectrales Sentinel-2 et environnementales. *Heliyon*. 10 (19).