

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

BADJI MOKHTAR –ANNABA  
UNIVERSITY  
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR  
ANNABA



جامعة باجي مختار  
- عنابة -

Faculté des Sciences  
Département de Biologie

# THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat

**Caractérisation physico-chimique de deux huiles  
essentielles (*Eucalyptus globulus* et *Lavandula angustifolia*) et  
évaluation de leurs activités antifongique, antibactérienne et  
antioxydante**

Option  
Toxicologie Environnementale

Par  
**M. HADJ MOUSSA ABDEL HAKIM**

**DIRECTRICE DE THÈSE : Dr. SBARTAI IBTISSEM Prof. U.B.M. ANNABA**

Devant le jury

<b>PRESIDENTE</b>	:	AMRANI-KIRANE L.	Prof.	U. BADJI MOKHTAR- ANNABA
<b>EXAMINATRICE</b>	:	GRARA N.	Prof.	U. 8 MAI 1945- GUELMA
<b>EXAMINATRICE</b>	:	AZZIZI N.N.	MCA	U. CHADLI BENDJEDID- ELTARF
<b>EXAMINATRICE</b>	:	SAADOU N.	MCA	U. BADJI MOKHTAR- ANNABA

Année universitaire : 2023/2024

*A la mémoire de mes grands-parents.*

*Puisse vos âmes reposer en paix.*

*Que Dieu, le tout-puissant, vous accueille en son vaste paradis.*

## Remerciements

*Tout d'abord, nous rendons grâce à Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, et la force nécessaire pour réaliser ce travail.*

*Je tiens à remercier vivement ma directrice de thèse, le **Professeur Sbartai Ibtissem** d'avoir dirigé ce travail avec beaucoup de compétences. Merci Madame pour votre indéfectible disponibilité, votre rigueur scientifique et la confiance que vous m'avez accordée au cours de l'élaboration de cette thèse. Merci pour votre aide, vos encouragements, merci encore pour votre patience, l'acuité de vos critiques et pour vos conseils éclairés. Enfin, merci Madame d'avoir cru en moi.*

*Mes vifs remerciements vont au **Professeur kirane-Amrani Leila** de l'Université Badji-Mokhtar, Annaba, pour avoir accepté de présider ce jury en donnant ainsi de son temps pour évaluer mon travail.*

*J'exprime mon estime et mes remerciements aux honorables membres de jury, le **Professeur GRARA Nedjoud** de l'université 8 Mai 1945, Guelma ainsi que le **Docteur AZZIZI Nadia Nawel** de l'Université Chadli Ben Djedid El-Tarf, qui m'ont fait l'honneur de juger et examiner ce travail. Je remercie également Docteur **SAADOU Nina** d'avoir accepté de faire partie de ce jury.*

*Je ne saurai exprimer ma reconnaissance au **Professeur Sbartai Hana** pour ses précieuses informations qu'elle m'a prodiguées avec intérêt et compréhension malgré sa charge professionnelle. Je vous serai éternellement reconnaissant pour tout le soutien que vous avez témoigné à mon égard.*

*Je tiens à remercier chaleureusement le **Docteur Benaliouche Fouzia**, Directrice de Institut national de la protection des végétaux (INPV) pour m'avoir accueilli et guidé dans tout ce qui a concerné les différentes activités biologiques des huiles essentielles que j'ai pu réaliser à l'institut.*

*Au Docteur **Benabdallah Amina**, enseignante à l'université d'El-Tarf, pour ses précieux conseils, encouragements et ses qualités humaines, qu'elle trouve ici le témoignage de toute ma gratitude et ma reconnaissance.*

*Ma gratitude à tout le personnel du **laboratoire de Phytochimie de l'Université Chadli Bendjedid (El Tarf)** pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe, où j'ai pu réaliser l'identification et l'isolement des agents pathogènes, ainsi que l'extraction des huiles essentielle, objets de notre étude.*

# *Dédicace*

*À ma famille, pour leur soutien infaillible tout au long de ces années, avec toute ma reconnaissance et mon amour, et spécialement ma très chère mère, le **Professeur Khati Wyllia**, son soutien moral surtout durant les années difficiles de ma vie, elle qui m'a toujours encouragé et motivé afin d'aller jusqu'au bout de mes recherches et aboutir à la soutenance de ma thèse.*

*Je ne saurais terminer sans penser à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

# *Table des Matières*

المخلص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des photos

*Introduction*.....2

## *Partie I : Etat de l'art*

### *Chapitre I : Revue bibliographique sur la pollution par les pesticides*

I. 1. Généralités.....	7
I. 2. Classification des Pesticides.....	8
2.1. Classification en fonction du ravageur.....	8
2.2. Classification chimique.....	9
3. Dispersion des pesticides dans l'environnement.....	9
4. Impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine.....	11
4.1. Effets sur la santé.....	11
4.2. Effets sur l'environnement.....	12
4.3. Faunes et flores.....	12
5. Lutte biologique et état des connaissances.....	13

### *Chapitre II : Huiles essentielles comme solution alternative aux pesticides*

II.1. Composition chimique.....	15
II.2. Propriétés des huiles essentielles.....	18
II.2.1. Activités antimicrobiennes.....	20
a. Activité antibactérienne.....	20
b. Activité antifongique.....	21
II.2.2. Activité antioxydante .....	22

II.3. Domaine d'application des HE.....	23
a) <i>Utilisation en pharmacie</i> .....	23
b) <i>En cosmétologie et parfumerie</i> .....	24
c) <i>L'aromathérapie</i> .....	25
d) <i>Agro-alimentaire</i> .....	25
e) <i>En Agriculture</i> .....	25
II.4. Toxicité des huiles essentielles.....	26
II.4.1. Dermo-causticité.....	26
II.4.2. Photosensibilisation.....	27
II.4.3. Risques allergiques.....	27
II.4.4. Hépatotoxicité.....	28
II.4.5. Néphrotoxicité.....	28
II.4.6. Neurotoxicité et risques abortifs.....	28
II.5. Méthodes d'extraction des Huiles essentielles et d'identification de leurs composés	
II.5.1. Méthodes d'extraction.....	29
A. Extraction par hydro distillation.....	29
B. Extraction par solvants organiques.....	29
C. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	30
II.5.2. Méthodes d'identification des constituants des huiles essentielles.....	30
A. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	30
B. Le couplage Chromatographie phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM).....	31

### Chapitre III. Monographie des plantes étudiées

A. Cas de l'huile essentielle d'Eucalyptus : <i>Eucalyptus globulus</i> .....	
1. Généralités.....	32
2. Position systématique .....	32
3. Description botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	33
4. Huile essentielle de l'Eucalyptus.....	35
5. Propriétés de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> .....	36

a. Propriétés thérapeutiques.....	37
b. Activité antioxydante.....	37
c. Activité insecticide .....	37
B. Cas de l'huile essentielle de Lavande : <i>Lavandula angustifolia</i> .....	
1. Généralités.....	38
2. Position systématique.....	38
3. Description botanique .....	39
4. Usage et propriétés des HE de la lavande.....	40
5. Propriétés médicinales .....	41

## **Partie II. MATERIEL & METHODES**

1. Présentation du site d'échantillonnage « SERAIDI »	
1.1. Echantillonnage.....	44
2. Extraction de l'huile essentielle .....	44
2.1. Description du dispositif d'extraction.....	44
2.2. Détermination de la cinétique et du rendement d'extraction .....	45
3. Caractérisation des huiles essentielles par Chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS).....	45
4. Evaluation des activités biologiques.....	46
4.1. Activité antifongique.....	46
4.1.1. Origine et choix de la souche fongique.....	46
4.1.2. Technique de dilution en milieu solide .....	47
4.1.3. Technique de dilution en milieu liquide .....	48
4.2. Activité antibactérienne.....	49
4.2.1. Origine et choix des souches microbiennes.....	49
4.2.2. Méthode de diffusion sur gélose.....	50
4.3. Pouvoir antioxydant.....	51
4.3.1. Test de piégeage du radical DPPH.....	51

## **Partie III. RESULTATS ET DISCUSSION**

### ***A. L'huile essentielle d'eucalyptus globulus***

1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus et rendement.....55
2. Composition chimique de l'HE extraite de *Euaclyptus globulus*.....56
3. Activités biologiques.....59
  - 3.1. Activité antifongique de l'HE d'eucalyptus.....59
  - 3.2. Activité antibactérienne de l'HE d'eucalyptus.....64
  - 3.3. Pouvoir antioxydant de l'HE d'eucalyptus (Test du DPPH).....66

### ***B. L'huile essentielle de Lavandula angustifolia***

1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de lavande et rendement .....69
2. Composition chimique de l'HE extraite de *Lavandula angustifolia* .....70
3. Activités biologiques.....72
  - 3.1. Activité antifongique de l'HE de *L. angustifolia* .....72
  - 3.2. Activité antibactérienne de l'HE de *L. angustifolia* .....75
  - 3.3. Activité antioxydant de l'HE de *L. angustifolia* (Test du DPPH).....78

## **Partie IV. CONCLUSION & PERSPECTIVES**

## **Partie V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## الملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التركيب الكيميائي لاثنتين من الزيوت العطرية (EO)، أحدهما مستخرج من القمم المزهرة للخزامى الجاف (*Lavandula angustifolia*)، والآخر من أوراق الكينا (*Eucalyptus globulus*) وكلاهما تم جمعهما في بلدية سيرايدي في شمال شرق الجزائر، ومن ناحية أخرى، تقييم إمكاناتها المضادة للأكسدة والمضادة للميكروبات ولا سيما على العامل الممرض للذبول الفيوزاريوم للقمح القاسي (*Fusarium roseum*) وعلى آفة شجرة الزيتون (*Pseudomonas savastanoi*).

كشفت التحليل الكيميائي للزيوتين الأساسيين بواسطة GC/MS عن وجود حوالي عشرين جزيءًا تمثل حوالي 100% من المكون العام للزيوت مع محصول تم الحصول عليه عن طريق التقطير المائي بنسبة 1.58% لزيت الكافور و1.71% للخزامى. يتكون الأوكالبتوس بشكل أساسي من اللينالول الذي يمثل 30.09% من إجمالي الزيت، يليه أكسيد ب-ليناليل (13.93%)، الكافور (12.09%)، 1,8-سينيول = يوكالبيتول (10.95%) والبرغامول (10.03%). تم التعرف على المكونات الأخرى بمحتوى متوسط نسبيًا [إيبوكسيلينالول (8.82%)، بورنيول (5.71%).. إلخ] ومنخفض [ألفا تيربينول (1.11) إلخ]. وبالمثل، يتكون اللافندر بشكل أساسي من اللينالول بنسبة 31.27%، يليه الكافور (16.21%) وأسيئات الليناليل (11.93%).

تقييم النشاط المضاد للفطريات لزيت الكافور وكذلك الخزامى على نمو أفطورة *Fusarium roseum*، تميز بانخفاض عدد خيوط المستعمرة الفطرية كدالة لزيادة الجرعات حيث كان التركيز المثبط الأدنى (MIC) هو 2500 و3000 ميكرو لتر/مل على التوالي، مما يظهر فعالية أفضل للأوكالبتوس EO مقارنة باللافندر. وفي الوقت نفسه، أظهرنا نشاطاً مضاداً للبكتيريا مرتفعاً إلى حد ما لزيت الأوكالبتوس ضد سلالة *Pseudomonas savastanoi* على عكس نشاط الخزامى الذي يكون معتدلاً إلى حد ما.

وأظهرت هذه النتائج إمكانية استخدام هذه الزيوت بمفردها أو مع منتجات أخرى كمبيدات حيوية في مكافحة البيولوجية من أجل الحد من التأثير الضار لمنتجات الصحة النباتية ليس فقط على المزارع ولكن أيضاً على الكائنات غير السامة. كشف اختبار DPPH عن نشاط مضاد للأكسدة معتدل أقل من نشاط فيتامين C ولكنه مع ذلك يظل مرتفعاً جداً، مما يشير إلى استخدامها لاستبدال مضادات الأكسدة الكيميائية في مناطق مختلفة.

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت العطرية ، *Eucalyptus globulus* ، *Lavandula angustifolia* ، التركيب الكيميائي، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للبكتيريا، النشاط المضاد للأكسدة.

## Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier d'une part la composition chimique de deux huiles essentielles (HE), l'une extraite des sommités fleuries de lavande sèches (*Lavandula angustifolia*), l'autre des feuilles d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) récoltées tous deux à la commune de Seraidi dans le Nord-Est Algérien et d'autre part évaluer leurs potentiels antioxydant et antimicrobien notamment sur l'agent pathogène de la Fusariose du Blé dur (*Fusarium roseum*) et sur le ravageur de l'olivier (*Pseudomonas savastanoi*).

L'analyse chimique des deux huiles essentielles par GC/MS a révélé la présence d'une vingtaine de molécules qui représentent environ 100 % de la composante générale des huiles avec un rendement obtenu par hydro-distillation de 1.58% pour l'huile d'eucalyptus et 1.71 % pour la lavande. L'eucalyptus est composée majoritairement par le linalol qui représente 30.09 % de la totalité de l'huile, suivie par le b-Linalyl oxide (13.93%), le Camphre (12.09%), le 1,8-Cineole=eucalyptol (10.95 %) et le Bergamol (10.03%). D'autres constituants ont été identifiés à des teneurs relativement moyennes [Epoxyllinalol (8.82%), Borneol (5.71%)...etc] et faibles [alpha-Terpinol (1.11) etc]. De même, la lavande est composée majoritairement par le Linalol avec 31.27%, suivie par le Camphre (16.21%) et le Linalyl Acetate (11.93%).

L'évaluation de l'activité antifongique de l'huile d'eucalyptus ainsi que de la lavande sur la croissance du mycélium de *Fusarium roseum*, a été marquée par une diminution du nombre de filaments de la colonie fongique en fonction des doses croissantes où la concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 2500 et 3000µl/ml respectivement montrant ainsi une meilleure efficacité de l'HE d'eucalyptus par rapport à la lavande. Parallèlement, nous avons mis en évidence une activité antibactérienne assez élevée de l'huile d'eucalyptus envers la souche de *Pseudomonas savastanoi* contrairement à celle de la lavande qui est plus au moins modérée. Ces résultats ont démontré la capacité de ces huiles à les utiliser seules ou en association avec d'autres produits comme bio-pesticides dans la lutte biologique afin de diminuer l'impact néfaste des produits phytosanitaires non seulement sur les plantations mais aussi sur les organismes non cible. Le test du DPPH quant 'à lui a révélé une activité antioxydant modérée inférieure à celle de la vitamine C mais qui reste néanmoins assez élevée suggérant ainsi leur utilisation pour le remplacement des antioxydants chimiques dans divers domaines.

**Mots clés :** Huiles essentielles, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia*, composition chimique, activité antifongique, activité antibactérienne, activité antioxydant.

## Abstract

The objective of this work is to study on the one hand the chemical composition of two essential oils (EO), one extracted from the flowering tops of dry lavender (*Lavandula angustifolia*), the other from eucalyptus leaves (*Eucalyptus globulus*) both collected in the commune of Seraidi in the North-East of Algeria and on the other hand evaluate their antioxidant and antimicrobial potential in particular on the pathogenic agent of Fusarium wilt of durum wheat (*Fusarium roseum*) and on the pest of olive tree (*Pseudomonas savastanoi*).

The chemical analysis of the two essential oils by GC/MS revealed the presence of around twenty molecules which represent approximately 100% of the general component of the oils with a yield obtained by hydro-distillation of 1.58% for the eucalyptus oil and 1.71% for lavender. Eucalyptus is mainly composed of linalool which represents 30.09% of the total oil, followed by  $\beta$ -Linalyl oxide (13.93%), Camphor (12.09%), 1,8-Cineole=eucalyptol (10.95 %) and Bergamol (10.03%). Other constituents were identified at relatively medium [Epoxylinool (8.82%), Borneol (5.71%)...etc] and low [ $\alpha$ -Terpinol (1.11) etc] contents. Likewise, lavender is mainly composed of Linalool with 31.27%, followed by Camphor (16.21%) and Linalyl Acetate (11.93%).

The evaluation of the antifungal activity of eucalyptus oil as well as lavender on the growth of the mycelium of *Fusarium roseum*, was marked by a decrease in the number of filaments of the fungal colony as a function of increasing doses where the minimum inhibitory concentration (MIC) is 2500 and 3000 $\mu$ l/ml respectively, thus showing better effectiveness of eucalyptus EO compared to lavender. At the same time, we have demonstrated a fairly high antibacterial activity of eucalyptus oil against the strain of *Pseudomonas savastanoi* unlike that of lavender which is more or less moderate.

These results demonstrated the ability of these oils to be used alone or in combination with other products as bio-pesticides in biological control in order to reduce the harmful impact of phytosanitary products not only on plantations but also on organisms non-targets. The DPPH test revealed a moderate antioxidant activity lower than that of vitamin C but which nevertheless remains quite high, thus suggesting their use for replacing chemical antioxidants in various areas.

**Key words:** Essential oil, *Eucalyptus globulus*, *Lavandula angustifolia*, chemical composition, antifungal activity, antibacterial activity, antioxidant activity.

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Processus de diffusion des pesticides dans l'environnement	14
02	Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides	15
03	Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène)	19
04	Exemple de structures de mono et sesquiterpènes	20
05	<i>Eucalyptus globulus</i>	37
06	Fleurs d' <i>Eucalyptus globulus</i>	37
07	Fleurs de lavande	42
08	Localisation géographique de la commune de Seraidi	46
09	Méthode de diffusion sur disque (Bekka, 2009).	45
10	Structure chimique du DPPH• et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant	55
11	Cinétique d'extraction de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	58
12	Profil chromatographique CPG-MS de l'HE d' <i>E. globulus</i> (Abondance en fonction du temps de rétention en minutes).	60
13	Effet de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium roseum</i> (activité antifongique)	63
14	Détermination de l'activité antioxydante de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> comparée à l'acide ascorbique (AA)	70
15	Cinétique d'extraction de l'HE de <i>Lavandula angustifolia</i>	72
16	Chromatogrammes de l'HE de <i>Lavandula angustifolia</i> par CG-SM	74
17	Effet de l'HE de <i>Lavandula angustifolia</i> sur la croissance mycélienne de <i>Fusarium roseum</i> (activité antifongique)	76
18	Détermination de l'activité antioxydante de l'HE <i>Lavandula angustifolia</i> comparée à l'acide ascorbique (AA)	81

## Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	Classification d' <i>Eucalyptus globulus</i>	36
02	Spécifications physico-chimiques de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i>	38
03	Classification de la lavande (Quezel et Santana, 1963)	41
04	Composition chimique de l'HE d' <i>E. globulus</i> analysée par CPG-SM.	61
05	CMI et CMF de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	64
06	Détermination de l'activité antibactérienne de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	67
07	Composés chimiques de l'HE <i>Lavandula angustifolia</i> (par CPG-SM)	75
08	CMI et CMF de l'HE de <i>Lavandula angustifolia</i> sur <i>Fusarium roseum</i>	77
09	Détermination de l'activité antibactérienne de l'HE <i>Lavandula angustifolia</i>	79

## Liste des photos

N°	Titre	Page
01	Représentation de l'hydro distillateur	47
02	Détermination de la CMI et CMF	52
03	Effet de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur la croissance radiale de <i>Fusarium roseum</i> (photo personnelle)	63
04	Détermination de la CMI de l'HE d' <i>Eucalyptus globulus</i>	64
05	Effet de L'HE d' <i>Eucalyptus</i> sur la croissance de <i>Pseudomonas savastanoi</i>	67
06	Effet de l'HE de <i>Lavandula angustifolia</i> sur la croissance radiale de <i>Fusarium roseum</i>	76

# ***INTRODUCTION***

---

Les pesticides représentent, de loin, les xénobiotiques les plus fréquemment déversées dans l'écosystème et les plus couramment employées dans le domaine agricole. Bien qu'ils favorisent l'augmentation de la productivité, ces substances comportent des dangers pour la santé humaine et l'équilibre environnemental. Ces derniers, sont parmi les polluants les plus dangereux, en raison de leur persistance dans l'environnement, leurs mobilités et les conséquences à long terme qu'ils peuvent provoquer sur les organismes vivants en causant de multiples troubles (Akash Sabarwal et *al.*, 2018). En réalité, seule une infime proportion, soit 0,1 %, des pesticides répandus dans les champs parviennent à entrer en contact direct avec les organismes visés. Le reste, soit la grande majorité, se disperse dans l'environnement, polluant l'air, le sol et les réserves d'eau. Cette dispersion entraîne des effets néfastes imprévus sur l'ensemble de l'écosystème (Pimentel, 1995).

En raison des bénéfices qu'elle procure en termes de productivité économique ainsi que d'amélioration de la santé et du bien-être humain, l'utilisation de ces produits phytosanitaires s'est rapidement répandue à l'échelle mondiale. Cependant, l'usage intensif de ces dernières, parfois associé à un non-respect des doses recommandées, en restreignent l'efficacité. Par conséquent, l'exploration de substituts aux produits chimiques via l'utilisation de composés naturels se présente comme une solution évidente pour atténuer les effets néfastes des divers ravageurs. Parmi ces alternatives, les huiles essentielles se démarquent comme une piste particulièrement prometteuse.

Appréciées depuis les temps anciens et actuellement validées par la science, les huiles essentielles, sont des extraits naturels puissants provenant des plantes, offrant une efficacité remarquable aussi bien pour la santé que pour la beauté et le bien-être. Elles sont caractérisées par un ensemble d'activités biologiques parmi lesquelles on peut citer brièvement l'activité antimicrobienne (Burt, 2004), antioxydante (Benabdallah et *al.*, 2016), anti-inflammatoire (Martins et *al.*, 2008 ; Sousa et *al.*, 2008), analgésique (Bakkali et *al.*, 2008) et anticancéreuse (Carnescchi et *al.*, 2004) et autres. Grace à leurs combinaison, de nouvelles synergies aromatiques offrant des

avantages et des caractéristiques répondant à des besoins spécifiques et ciblés deviennent envisageable, tels que le renforcement du système immunitaire, la relaxation, la stimulation, le soulagement des douleurs articulaires et musculaires ...etc.

Un vif engouement s'est manifesté pour les huiles essentielles obtenues à partir de plantes aromatiques, qui possèdent des propriétés antimicrobiennes contre les microorganismes pathogènes. (Alzoreky et Nakahava, 2003). De nombreuses recherches ont été menées depuis longtemps pour évaluer l'efficacité antiseptique des huiles essentielles. En 1881, Koch a expérimenté l'action bactéricide de l'huile essentielle de térébenthine sur les spores de charbon, tandis que Chamberland (1887) a examiné l'efficacité des essences d'origan, de cannelle et de girofle contre les bactéries du genre *Bacillus*. En 1919, Bonnaure a enquêté sur le pouvoir antiseptique des lavandes. Cependant, il existe une variation dans l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, car elles semblent plus dirigées envers les champignons que contre les bactéries, et elles sont nettement plus efficaces contre les bactéries à Gram positif que contre celles à Gram négatif.

Plusieurs recherches ont déjà mis en exergue l'efficacité de l'utilisation des HE comme bio-pesticide et ont montré que leur activité antimicrobienne dépendait de la nature de leurs composés chimiques. Par exemple, l'HE de sarriette des montagnes a révélé être toxique sur l'agent pathogène de la tavelure du pommier (Mazoyer, 2016) ce qui est lié aux composés phénoliques majoritaires (Carvacrol et thymol) présent dans cette huile (Ahmad et *al.*, 2011). De même, l'HE de *Thymus vulgaris*, riche en linalool et monoterpènes oxygénés, possède une forte activité bio-fongicide vis-à-vis du même champignon inhibant ainsi complètement la croissance mycélienne (Benaliouche et *al.*, 2021) et dans certaines études l'activité antifongique est supérieure à la CI50 (Vital et *al.*, 2018).

Grace à sa position géographique, l'Algérie abrite une flore abondante et variée qui engendre naturellement un grand nombre de plantes médicinales et aromatiques. Malgré cela, l'exploitation des huiles essentielles et des plantes aromatiques, ainsi que

les échanges commerciaux dans ce domaine, demeurent très limités. En effet il reste beaucoup à accomplir pour développer ce secteur, en débutant par l'identification précise de ces richesses. Par ailleurs, la Direction Générale des Forêts (DGF) a lancé récemment, une étude visant à évaluer les ressources nationales en plantes aromatiques et médicinales, en collaboration avec des centres de recherche. L'Algérie est ainsi absente sur le marché international des HE et même au niveau local car ces ressources ne sont pas exploitées étant donné qu'elles ne sont pas connues. En effet, selon la direction générale des forêts, sur les 3000 variétés de plantes aromatiques seulement 600 sont utilisées (Agroligne, 2019). L'Algérie est donc loin d'une exploitation optimale de ses ressources biologiques ce qui aurait pourtant pu améliorer les revenus des populations rurales via la transformation de ces ressources en huiles essentielles ou en aromates (Agroligne, 2019).

C'est dans cette optique que notre étude a été entreprise où il s'agit de réaliser une caractérisation physico-chimique de deux huiles essentielles extraites des plantes : *Eucalyptus globulus* et *Lavandula angustifolia* qui sont largement distribuées en Algérie, et plus précisément récoltées dans la région de Séraïdi (Nord-Est Algérien) et tester ainsi leurs différentes activités biologiques (antifongiques, antioxydantes et antibactérienne) dans le but de les utiliser dans la lutte biologique en tant que bio-pesticide. Les huiles essentielles extraites des plantes choisies pour cette étude ont fait l'objet de plusieurs recherches antérieures.

Ces investigations ont révélé une importante diversité dans leur composition chimique, influencée par divers facteurs tels que la période de récolte, la partie de la plante utilisée lors de l'extraction de l'huile, ainsi que le lieu de récolte. Cette constatation a suscité notre intérêt pour ces espèces qui se développent dans notre région où il devient essentiel de comprendre leurs principes actifs pour évaluer leur efficacité, leur mode d'action et les effets secondaires potentiels.

Le présent tapuscrit est divisé en plusieurs parties :

- ✓ Partie I : Etat de l'art où il s'agit d'une synthèse de tous les travaux antérieurs concernant les deux huiles eucalyptus et lavande, en passant par quelques définitions et rappels sur les plantes elles-mêmes.
- ✓ Partie II : il s'agit de la partie matériel et méthodes où nous avons étaler toutes les méthodes et techniques utilisées dans cette étude.
- ✓ Partie III : il s'agit de relater les résultats obtenus et discussion après manipulation ainsi que leurs comparaisons avec les travaux antérieurs.
- ✓ Partie IV : une conclusion générale qui viendra synthétiser tous le travail réalisé durant cette période.
- ✓ Partie V : Références bibliographiques.

# ***PARTIE I. ETAT DE L'ART***

---

## **Chapitre I. Revue bibliographique sur la pollution par les pesticides**

### **1. Généralités**

Le terme "pesticide" englobe plusieurs définitions, notamment les "Produits phytosanitaires", les "produits phytopharmaceutiques" et les "biocides". Ces substances, qu'elles soient naturelles ou artificielles, sont utilisées pour prévenir, contrôler ou éliminer des organismes considérés comme indésirables ou nuisibles, qu'il s'agisse de micro-organismes, d'animaux ou de végétaux. Leur utilisation ne se limite pas à l'agriculture, mais s'étend également aux domaines de l'hygiène, de la santé publique, de la santé animale et des traitements de surfaces autres qu'agricoles. **(Aubertot et al., 2005 In : Belaid, 2020).**

L'utilisation massive de pesticides est étroitement liée à l'industrialisation, à l'avènement des nouvelles technologies, à la croissance démographique, à l'évolution de l'agriculture et à la nécessité d'améliorer les rendements pour répondre aux besoins nutritionnels croissants. **(Zhang and Liu, 2017).** Selon les données de l'Institut National de Protection des Végétaux (INPV), plus de 480 produits chimiques destinés à la protection des cultures sont répertoriés en Algérie, et les autorités algériennes utilisent couramment l'expression "produits phytosanitaires à usage agricole" pour désigner les pesticides. Ces substances sont parmi les polluants les plus préoccupants pour l'environnement en raison de leur stabilité, de leur capacité à se déplacer dans l'environnement, ainsi que de leurs effets à long terme sur les organismes vivants. La dispersion des pesticides affecte l'ensemble des milieux naturels tels que le sol, l'eau et l'air, mais le sol demeure un compartiment crucial car une proportion importante des pesticides utilisés lors du traitement des cultures finit par s'y retrouver, soit par une application directe soit par le ruissellement depuis les feuilles des plantes. **(Carvet, 2005, In : Ayad-Mokhtari, 2012).**

## 2. Classification des Pesticides

Il y a une vaste gamme de pesticides, et leur classification peut se faire en fonction du type d'organisme nuisible qu'ils ciblent, de leurs propriétés chimiques ou de la manière et de la durée pendant lesquelles ils agissent. (Calvet *et al.*, 2005 ; Lachambre et Fisson, 2007 ; Frery *et al.*, 2010).

Ils possèdent une toxicité envers les insectes et, dans une moindre mesure, envers les organismes aquatiques et les mammifères. C'est pourquoi ils sont souvent catégorisés en fonction des organismes visés et/ou de la manière dont ils sont utilisés. (Steeve *et al.*, 2013).

### 2.1. Classification en fonction du ravageur

Ce classement est basé sur la catégorie des organismes nuisibles et parasites à gérer. Il y a principalement trois grandes familles d'activités (Mrabet, 2006).

- **Les Herbicides** : Ils sont les plus couramment employés à l'échelle mondiale en termes de quantité et en superficie ; leur fonction est d'éliminer les plantes indésirables des champs cultivés.
- **Les Insecticides** : Il s'agit des tout premiers produits phytosanitaires employés dans le but d'éliminer les insectes indésirables et nuisibles.
- **Les Fongicides** : Ces substances aident à combattre les affections cryptogamiques responsables de dommages sérieux aux plantes cultivées. (Margoum, 2010).

En plus de ces trois principales catégories, on peut également mentionner d'autres types, tels que les produits *taupicides* utilisés contre les taupes, les *acaricides* qui visent les acariens, les *rodenticides* conçus pour éliminer les rongeurs, les *nématocides* ciblant les nématodes et les vers, les *molluscicides* destinés à combattre les mollusques, comme les limaces et les escargots, ainsi que les *corvicides* utilisés contre les corbeaux et d'autres oiseaux nuisibles aux cultures.

## 2.2. Classification chimique

Le classement s'effectue selon la composition chimique de la substance active. Trois catégories sont identifiées : les pesticides d'origine organique, organo-métallique et inorganique. (Calvet *et al.*, 2005).

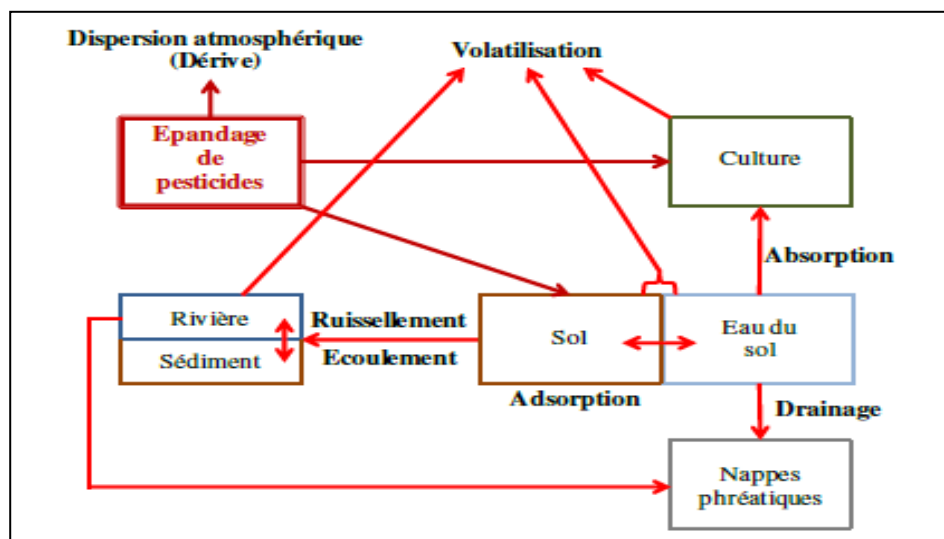
- **Pesticides Organiques** : Ils sont composés d'une structure en carbone. Les catégories principales comprennent les composés organophosphorés, organochlorés, pyréthriinoïdes, carbamates, triazines et urées substituées.
- **Pesticides organo-métalliques** : Il s'agit d'un complexe entre un métal et un composé carboné, principalement utilisés comme fongicides. Leur emploi conduit fréquemment à des effets néfastes sur l'environnement, avec une accumulation dans les sols de substances très toxiques comme le plomb, l'arsenic et le mercure. (Boland *et al.*, 2004).
- **Pesticides inorganiques** : Ils proviennent de substances minérales stables dans leur environnement naturel, comme le soufre et le cuivre. Ce dernier est largement utilisé comme agent antifongique, généralement sous la forme de sulfate de cuivre, comme la Bouillie bordelaise. (Komárek *et al.*, 2010).
- **Bio-pesticides** : Eléments organiques qui substituent les pesticides artificiels. Elles englobent des entités vivantes ou dérivent de composés moléculaires naturels, incluant parfois des bactéries, des moisissures, des nématodes, et d'autres organismes similaires.

## 3. Dispersion des pesticides dans l'environnement

Les pesticides sont utilisés de façon préventive pour repousser ou réduire les impacts des organismes nuisibles. Malgré leur interdiction dans plusieurs nations en raison de leur capacité à causer des mutations génétiques et des cancers, ces produits chimiques et leurs dérivés sont encore présents dans l'environnement, surtout dans les sols et les sédiments, du fait de leur persistance et de leurs caractéristiques lipophiles. (Tor *et al.*, 2006).

La dispersion atmosphérique, également appelée dérive, survient directement pendant l'épandage lorsqu'une partie des molécules ne parviennent pas à atteindre leurs cible et sont emportée par le vent hors de la zone cultivée. La volatilisation, se produit après que le produit ait été déposé à la surface du sol ou des plantes. À ce stade, le produit est emporté soit par l'évaporation de l'eau, soit par l'action du vent s'il est adsorbé sur des particules du sol pouvant être elles-mêmes entraînées. (Rial- Otero et al., 2003 ; Serra, 2015).

L'eau demeure le principal catalyseur des transferts, que ce soit par ruissellement en sub-surface ou par un drainage profond en direction des nappes phréatiques. Les pesticides ainsi déplacés peuvent soit être emportés avec les particules érodées auxquelles ils sont adsorbés, soit dissous directement dans l'eau. (López-Blanco et al., 2005). Au sol, la libération de composés issus des granulats constitue l'un des principaux mécanismes qui impactent la manière dont les pesticides se propagent et évoluent. (López-Pérez et al., 2006).



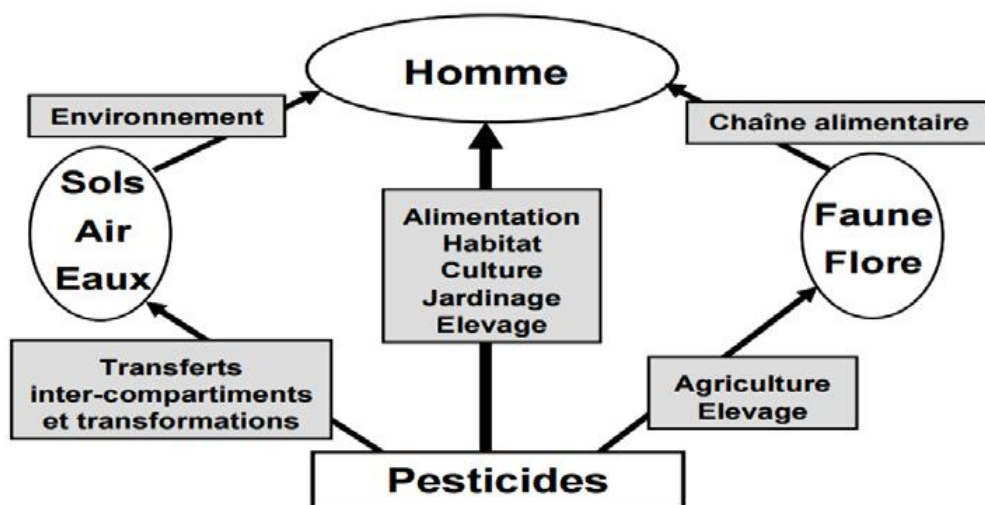
*Figure 1. Processus de diffusion des pesticides dans l'environnement (Arias-Estévez et al., 2008)*

## 4. Impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine

### 4.1. Effets sur la santé

De nombreux produits chimiques utilisés comme pesticides agissent comme perturbateurs endocriniens. Leur nocivité ne se restreint pas aux seules cibles visées pour l'élimination. Ces substances ont des effets toxiques sur les êtres humains et causent de multiples dommages à l'environnement. Les éléments résultant de leur décomposition, que ce soient des substances ou des composés moléculaires, peuvent se propager dans l'air, le sol, les eaux, les sédiments, et même se retrouver dans la chaîne alimentaire. Leur déplacement entre ces divers compartiments environnementaux représente un risque variable mais potentiellement significatif pour la santé et les écosystèmes, engendrant des conséquences à court et long terme.

**L'intoxication aiguë** liée à une exposition intense sur une courte période, présentant des risques tels que des empoisonnements, des problèmes cutanés ou des atteintes oculaires. **L'intoxication chronique** quant à elle est liée à une durée prolongée mais à des doses moindres, associée à diverses maladies telles que l'asthme, le diabète, différents types de cancer, l'infertilité, des anomalies congénitales et divers troubles neurologiques comme la maladie d'Alzheimer, de Parkinson et l'autisme (Anses, 2016). La représentation schématique ci-dessous illustre les différentes façons dont les pesticides peuvent affecter l'homme par exposition.



*Figure 2. Modes d'exposition de l'homme et des milieux aux pesticides (Merhi, 2008)*

## **4.2. Effets sur l'environnement**

Les pesticides, conjointement avec la perte d'habitats et le changement climatique, jouent un rôle majeur dans l'impact sur la diversité biologique. Les conséquences de l'emploi des pesticides se manifestent principalement à court terme, engendrant une intoxication directe ou indirecte des êtres vivants, une diminution de la disponibilité de nourriture (comme les insectes et les graines d'adventices), ainsi que des effets néfastes non létale sur la reproduction et le comportement...

Ainsi ils pourraient provoquer des perturbations et déséquilibre sur les écosystèmes en impactant entre autres les populations d'abeilles, les insectes bénéfiques (qui incluent les prédateurs de certains organismes nuisibles), les rongeurs, les oiseaux et les poissons. (**Mahmoud I. et al., 2016**).

## **4.3 Faunes et flores**

Les conséquences de l'introduction d'un pesticide dans un écosystème peuvent se manifester à diverses échelles biologiques : au niveau des individus et des populations, des groupes d'espèces et des communautés, ainsi que sur l'écosystème dans sa globalité. (**INRA, 2005**). Ils peuvent causer des réactions toxiques à court terme chez les organismes directement exposés, ou engendrer des conséquences à long terme en altérant l'environnement et les interactions au sein de la chaîne alimentaire. (**Isering, 2010**). Les pesticides utilisés en agriculture, ont la capacité de diminuer la présence des mauvaises herbes, pourtant essentielles comme source alimentaire pour diverses espèces. Les herbicides ont le pouvoir de modifier les milieux naturels en altérant la configuration des plantes, ce qui peut éventuellement entraîner un déclin des populations (**Boatmane et al., 2007**). De même, les fongicides éliminent une proportion significative des populations de champignons qui jouent un rôle crucial dans l'alimentation des plantes.

## **5. Lutte biologique et état des connaissances**

En agriculture biologique, il existe un sérieux déficit en ce qui concerne la garantie d'une protection adéquate contre les maladies fongiques et les ravageurs. Cette lacune constitue un obstacle majeur pour les producteurs (tavelure du poirier et du pommier, les monilioses du pêcher et de l'abricotier, carpocapse des pommes). Cet enjeu entrave considérablement le développement global de l'agriculture biologique. Les règles régissant les produits phytosanitaires cherchent à simplifier l'approbation des produits phytosanitaires à base d'extraits de plantes, des virus, ainsi que des micro et macroorganismes. En complément des méthodes classiques de lutte biologique contre les ravageurs, telles que la lutte inondative ou par conservation, l'utilisation de l'aromathérapie (qui fait partie de la phytothérapie et implique l'usage des huiles essentielles) représente une piste prometteuse pour protéger les vergers biologiques, notamment contre les maladies cryptogamiques.

Les méthodes alternatives à l'utilisation d'insecticides biologiques comme la phytothérapie ou l'isothérapie, n'ont pas fait l'objet de nombreux essais *in vivo*. Les connaissances sur l'effet de ces préparations sont essentiellement empiriques. De nombreuses recherches et expériences ont été menées dans les secteurs médical et vétérinaire, et elles ont déjà produit des résultats prometteurs. On observe une mise en pratique croissante de ces découvertes, notamment dans les environnements hospitaliers ou vétérinaires, comme l'utilisation des huiles essentielles pour traiter les mammites chez les ruminants. Malgré cela, l'application de l'aromathérapie en agriculture reste largement sous-développée, même si les huiles essentielles ont déjà prouvé leur efficacité antifongique sur certains champignons, comme c'est le cas avec la fumagine.

Diverses recherches ont démontré les différentes capacités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, notamment leur effet antifongique (**Soliman et Badaea, 2002**), antibactérien (**Magina et al., 2009**), antioxydant (**Bouzouita, 2008**), et insecticide (**Cheng et al., 2009**). Ces propriétés suggèrent que les huiles essentielles

pourraient être utilisées comme agents de préservation des aliments. De nombreuses études ont ainsi indiqué que les extraits de certaines plantes aromatiques peuvent inhiber la croissance et la toxinogénèse de diverses bactéries et champignons responsables d'infections alimentaires (**Amarti et al., 2010**).

## **Chapitre II. Huiles essentielles comme solution alternative aux pesticides**

L'histoire de l'aromathérapie se découpe en quatre périodes distinctes où la compréhension des plantes aromatiques et de leurs usages s'est progressivement affinée. Initialement, les plantes contenant des essences étaient employées directement, qu'elles soient intégrées à l'alimentation, macérées, infusées ou décoctées, sans lien établi entre leurs propriétés thérapeutiques et leur parfum caractéristique. Lorsque l'intérêt thérapeutique des composants odorants a été envisagé, les méthodes d'utilisation ont évolué vers la combustion, la macération ou l'infusion dans des huiles végétales. Par la suite, l'avènement de la distillation a ouvert la voie à l'extraction des substances odorantes, donnant ainsi naissance au concept d'« huile essentielle (HE) ».

Les huiles essentielles sont définies comme des **mélanges naturels complexes** de métabolites secondaires volatils, isolées via l'hydro-distillation ou par expression mécanique (**Kalembe, 2003**). Elles proviennent de diverses parties végétales telles que les feuilles, graines, bourgeons, fleurs, brindilles, écorces, bois, racines, tiges ou fruits (**Burt, 2004**), ainsi que des gommés émanant des troncs d'arbres. De nouvelles techniques visant à accroître le rendement de production ont été développées, notamment l'extraction par dioxyde de carbone liquide à basse température et haute pression (**Santoyo et al., 2005**), ainsi que l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (**Kimbaris et al., 2006**).

## II.1. Composition chimique

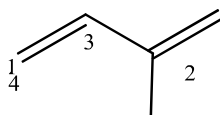
Les caractéristiques chimiques de nombreuses huiles essentielles ont été décrites, et elles présentent des variations dues à divers facteurs tels que le stade de croissance des plantes, les parties de la plante récoltées, le moment et le lieu de la récolte (**Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004 ; Boti et al., 2006, Oussou et al., 2009**). Pour analyser leur composition chimique, on utilise généralement la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Salzer, 1977**). Au sein d'une même espèce végétale, l'huile essentielle peut présenter une composition chimique différente, ce qui conduit à l'existence de races chimiques ou de chémotypes (**Daouda, 2014**).

Les éléments constitutifs présents dans les huiles essentielles peuvent être regroupés en deux catégories en fonction de la façon dont ils sont produits : les **terpénoïdes** et les **phénylpropanoïdes** (**Buchanan et al., 2000**). La diversité structurelle est plus marquée dans la classe des terpénoïdes. Parmi les 25 000 terpénoïdes identifiés en tant que métabolites secondaires, ils proviennent tous du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate.

Les composés chimiques les plus efficaces incluent les **phénols** tels que le thymol, le carvacrol et l'eugénol, ainsi que les alcools tels que l' $\alpha$ -terpinéol, le terpinène-4-ol et le linalool. De plus, les aldéhydes, les cétones et, plus rarement, les terpènes sont également impliqués (**Cosentino et al., 1999 ; Dorman & Deans, 2000**). Les alcools ont généralement un effet en dénaturant les protéines, en agissant comme solvants ou en favorisant la déshydratation. Par ailleurs, les aldéhydes peuvent déclencher des transferts d'électrons et interagir avec des composés vitaux pour les bactéries, comme les protéines et les acides nucléiques (**Dorman & Deans, 2000**). Les huiles essentielles se composent d'un mélange de composants relevant de trois catégories distinctes : les terpènes, les composés aromatiques et d'autres variétés de composés.

### a. Terpènes

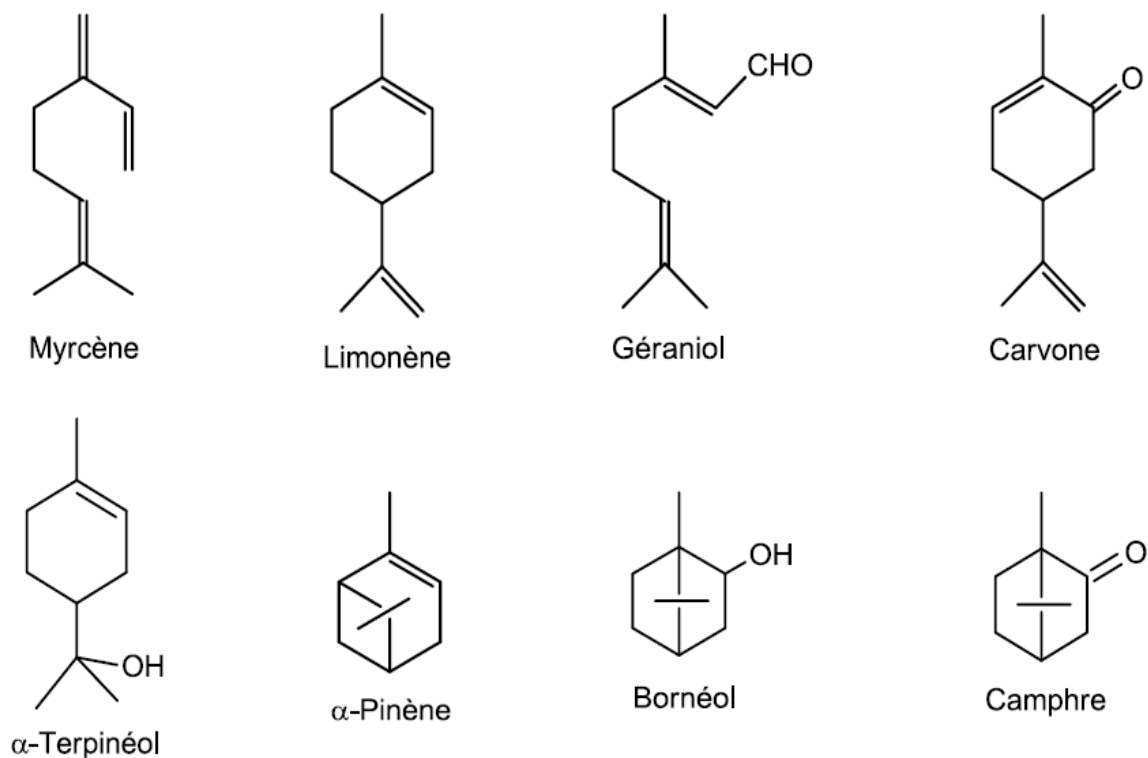
Les terpènes sont des composés hydrocarbonés constitués en combinant deux ou plusieurs unités isopréniques, formant ainsi des polymères de l'isoprène, représentés par la formule chimique brute  $(C_5H_8)_n$ .



*Figure 3. Isoprène (2méthylbuta-1,3-diène)*

Selon le nombre d'unités associées, différents types de terpènes sont identifiables : les monoterpènes en  $(C_{10})$  ; les sesquiterpènes en  $(C_{15})$  ; les diterpènes en  $(C_{20})$  ; les triterpènes en  $(C_{30})$  ; les tétraterpènes en  $(C_{40})$  et les polyterpènes.

Les huiles essentielles sont principalement composées de monoterpènes et de sesquiterpènes, avec peu de présence de diterpènes. Les terpènes affichent une grande diversité de structures, qu'elles soient acycliques, monocycliques ou bicycliques, et renferment la plupart des fonctions chimiques des composés organiques. Pour illustrer, la figure 4 représente quelques structures de monoterpènes et de sesquiterpènes à titre indicatif.



*Figure 4. Exemple de structures de mono et sesquiterpènes*

### b. Composés d'origine variée

En général, les mélanges de diverses origines et de faible poids moléculaire qui peuvent être extraits lors de l'hydrodistillation se composent principalement d'hydrocarbures aliphatiques linéaires ou ramifiés, comportant une variété de fonctions chimiques.

Pour illustrer, on peut mentionner :

- ❖ L'heptane et les paraffines retrouvés dans l'essence de camomille.
- ❖ Des acides en  $C_3$  et  $C_{10}$ .
- ❖ Des esters principalement présents dans les fruits : comme l'acétate de butyle dans les pommes, et l'acétate d'isoamyle dans les bananes.
- ❖ Des aldéhydes tels que l'octanal et le décanal provenant des agrumes.
- ❖ Des alcools comme le 1-octèn-3-ol contenu dans l'essence de lavande.

**Remarque** : Il est important de noter que plusieurs éléments variés peuvent affecter à la fois la qualité et la composition chimique des huiles essentielles. Parmi ces éléments, on compte l'origine géographique et botanique, les conditions climatiques, la qualité du sol, l'emplacement géographique des zones de production, les méthodes agricoles utilisées, ainsi que les procédés et les conditions employés pour l'extraction et la préservation (telles que le séchage et le stockage). (Boukhatem, 2014).

## **II.2. Propriétés des huiles essentielles**

Le rôle physiologique des huiles chez les plantes reste encore largement méconnu. Cependant, en raison de la grande variété de molécules qu'elles renferment, ces huiles possèdent une gamme étendue de fonctions et de propriétés biologiques diverses (Valnet, 1984). Ces propriétés sont attribuées à la présence d'une multitude de composés métaboliques secondaires. Ces derniers sont impliqués dans la protection contre les parasites pathogènes. On identifie différents groupes de ces composés, tels que les phénols (simples phénols, acides phénoliques, quinones, flavonoïdes, flavones, flavonols, tannins et coumarines), les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polypeptides.

Les huiles essentielles offrent une vaste gamme de vertus thérapeutiques. La majorité de leurs composants présentent une action antimicrobienne, ce qui explique leur utilisation en tant qu'agents antiseptiques. D'autres ont des effets bénéfiques pour la digestion, agissent comme antispasmodiques, ont des propriétés sédatives ou favorisent la cicatrisation, entre autres. Ces diverses capacités sont principalement attribuables aux éléments terpéniques qui les composent.

En outre, plusieurs huiles essentielles démontrent une efficacité contre divers types de douleurs et sont largement utilisées pour traiter les problèmes inflammatoires liés aux articulations. Des études ont indiqué un effet anti-inflammatoire pour des huiles essentielles telles que celles de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni* et *Protium grandifolium* (Siani *et al.*, 1999). Des recherches plus récentes ont identifié

des propriétés d'inhibition de la lipoxygénase L-1 du soja, qui est un modèle de la lipoxygénase humaine (5-LO) impliquée dans les processus inflammatoires, pour les huiles essentielles de *Chromoleana odorata* et de *Mikania cordata* (Bedi et al., 2004). De plus, une étude ultérieure a révélé que les huiles essentielles de *Chromoleana odorata* avaient un effet positif sur la fonction de la Cyclooxygénase de la Prostaglandine H-synthétase (Bedi et al., 2010). Enfin, ces mêmes auteurs ont observé des activités inhibitrices sur la cyclooxygénase pour les huiles essentielles de *Cymbopogon giganteus*, *Ocimum gratissimum* et *Eucalyptus citriodora* (Bedi et al., 2003). Ces huiles essentielles ont également été reconnues pour leur capacité à stimuler et à renforcer les défenses immunitaires chez l'individu (De Sousa et al., 2004). Dans cette perspective, les huiles essentielles aromatiques sont considérées comme cytophylactiques, c'est-à-dire qu'elles protègent les cellules vivantes.

D'autre part, certaines huiles essentielles ont des propriétés anti-tumorales et sont utilisées dans la prévention de certains types de cancers (Mbarek et al., 2007). Par exemple, l'huile essentielle extraite des graines de *Nigella sativa* présente une activité cytotoxique in vitro contre diverses lignées tumorales. Dans des études in vivo, cette huile limite la croissance des métastases hépatiques et retarde la progression des tumeurs chez les souris ayant développé la tumeur P815 (Mbarek et al., 2007). De plus, l'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est avérée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, notamment les cellules leucémiques HL-60 et K562 (De Sousa et al., 2004).

Les propriétés antifongiques de nombreuses huiles essentielles, telles que celles de thym, de citronnelle, de cannelle et de *Melaleuca alternifolia*, ont été documentées (Burt, 2004). Par ailleurs, l'efficacité des huiles extraites des variétés d'achillée, *Achillea fragrantissima* (Barel et al., 1991), *A. terrefolia* (Unlu et al., 2002) et *A. millefolium* (Candan et al., 2003), contre la levure pathogène *Candida albicans*, a également été démontrée.

### **II.2.1. Activités antimicrobiennes**

Les propriétés microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont bien documentées. Cependant, la première observation de l'effet des huiles essentielles sur les bactéries remonte à 1881 avec les travaux de Delacroix (**Boyle, 1995**). Depuis lors, de nombreuses huiles ont été identifiées comme ayant des propriétés antibactériennes (**Burt, 2004**). Leur capacité d'action est considérable, agissant sur un large éventail de bactéries, y compris celles résistant aux antibiotiques. Elles peuvent soit tuer les bactéries, soit inhiber leur croissance (**Oussou et al., 2009**). Leur effet antimicrobien dépend principalement de leur composition chimique, notamment de la nature de leurs principaux composés volatils (**Sipailiene et al., 2006; Oussou, 2009**). De plus, les huiles essentielles sont efficaces à la fois contre les bactéries Gram positif et Gram négatif.

Cependant, les bactéries Gram négatif semblent être moins réceptives à leur effet, ce qui est directement attribuable à la composition de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Quelques exceptions existent, telles que *Aeromonas hydrophila* et *Campylobacter jejuni*, qui ont été observées comme étant particulièrement sensibles aux huiles essentielles (**Wannissom et al., 2005**). Néanmoins, parmi les bactéries Gram négatif, *Pseudomonas aeruginosa* est réputée être la moins réactive face aux extraits de plantes.

#### **c. Activité antibactérienne**

L'utilisation des antibiotiques contre les micro-organismes nuisibles est restreinte en raison de leur potentiel cancérigène, de leur toxicité aiguë et des risques qu'ils posent pour l'environnement, en plus du problème croissant de résistance bactérienne à ces traitements. Récemment, la montée de la résistance aux antimicrobiens a motivé les chercheurs à explorer de nouvelles substances pour combattre les diverses bactéries dangereuses pour l'homme (**Rudramurthy et al., 2016**). Dans cette optique, l'utilisation des huiles essentielles pour maîtriser la propagation des bactéries pathogènes pourrait s'avérer bénéfique dans la lutte contre différentes maladies

infectieuses (**Mulyaningsih et al., 2010**). Plusieurs études ont mis en lumière l'action antimicrobienne des huiles essentielles et de leurs composants chimiques (**Duschatzky et al., 2005 ; Lang and Buchbauer, 2012 ; Akhtar et al., 2016**).

Les huiles essentielles agissent efficacement contre un large éventail de bactéries, englobant à la fois les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Cependant, la structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram positif les rend particulièrement sensibles à l'effet des huiles essentielles (**Raut et Karuppaiyil, 2014**). En revanche, la constitution de la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif les rend moins réceptives à l'action de ces huiles. La présence d'une membrane plasmique hydrophile externe chez les bactéries à Gram négatif empêche la pénétration des molécules hydrophobes présentes en majorité dans les huiles essentielles à l'intérieur de la cellule. Cette caractéristique confère aux bactéries à Gram négatif une résistance non seulement aux huiles essentielles, mais également aux antibiotiques (**Lewis et Ausubel, 2006**).

#### **d. Activité antifongique**

Les huiles essentielles offrent une possibilité prometteuse pour le développement de nouveaux remèdes antifongiques, que ce soit en utilisant directement leur état pur ou en dérivant des composés originaux pour améliorer l'efficacité et la sécurité des traitements thérapeutiques. (**Peralta et al., 2015**).

Les extraits d'huiles essentielles ou leurs constituants actifs sont aussi utilisés dans les industries agroalimentaires comme agents antifongiques (**Zambonelli et al., 2004**). Par exemple, l'eugénol est reconnu pour son efficacité en tant que composé antifongique, provoquant des dégâts permanents aux cellules de divers types de levures telles que *Candida albicans* (**Latifah-Munirah et al., 2015**), ainsi qu'à plusieurs champignons tels que *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *A. niger*, *A. fumigates*, *Trichoderma viride* et *P. funiculosum* (**Beatovic et al., 2015**). De même, **Papajani et al. (2015)** ont signalé l'efficacité antifongique de l'huile essentielle de romarin contre les dermatophytes tels que *Epidermophyton floccosum*, *Arthroderma cajetani*,

*Microsporium gypseum*, *Microsporium canis*, *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton tonsurans*, ainsi que contre des champignons phytopathogènes comme *Botrytis cinerea* et *Pleomorphomonas oryzae*.

Les phénols contenus dans les huiles essentielles altèrent la capacité des cellules fongiques à permettre le passage des substances en interagissant avec les protéines présentes dans leur membrane. Cette interaction entraîne une altération de la forme des cellules et perturbe leur bon fonctionnement, ce qui conduit à la disparition des grosses molécules et à l'inhibition de la croissance des champignons. (**Pramila, et al., 2012**).

### **II.2.3. Activité antioxydante**

Ces dernières années, il est devenu manifeste, grâce à de nombreuses études menées dans divers domaines tels que la physiologie, la pharmacologie, la nutrition et la transformation alimentaire, que les antioxydants jouent un rôle primordiale dans la protection des organismes contre le stress oxydatif (**Magalhaes et al., 2009**). En ce qui concerne les denrées alimentaires, les antioxydants peuvent être décrits comme des substances ayant la capacité de ralentir ou d'empêcher le processus d'oxydation.

Les performances des antioxydants ne reposent pas uniquement sur leurs caractéristiques structurelles, mais également sur divers autres éléments, notamment la concentration, la température, l'exposition à la lumière, le substrat utilisé et l'état physique du système.

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles a été développé comme alternative pour la préservation des aliments, principalement grâce à la présence de phénols et de polyphénols, responsables de cette capacité (**Richard, 1992**). Certains composés agissent en interrompant la réaction d'oxydation dans la chaîne autocatalytique (**Multon, 2002**). D'autres, en revanche, agissent de manière préventive, retardant l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la liaison avec des ions métalliques ou la réduction de l'oxygène, entre autres (**Madhavi et al., 1996**). Des études ont démontré que l'incorporation directe des huiles essentielles dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruits, yaourts, etc.) ou leur application par

vaporisation en surface (viandes, charcuteries, volailles, fruits et légumes entiers) contribuent à protéger les aliments contre l'oxydation (**Caillet et Lacroix, 2007, In : Laib, 2011**).

Aujourd'hui, il existe trois méthodes qui sont les plus couramment utilisées pour la détermination in vitro de l'activité antioxydante qui sont : • Anti-radicalaire DPPH • Chélation des ions ferreux • Blanchiment du B-carotène.

### **II.3. Domaine d'application des HE**

Les huiles essentielles ont acquis une importance économique significative en raison de leurs multiples caractéristiques, et leur marché est en croissance constante. Elles sont largement commercialisées et présentent un vif intérêt dans différents domaines industriels. Par exemple, dans le secteur pharmaceutique, elles sont appréciées pour leurs vertus antiseptiques, analgésiques, antispasmodiques, apéritives, antidiabétiques, tandis que dans l'industrie alimentaire, leur activité antioxydante et leur capacité à aromatiser sont mises en avant. De même, elles sont très prisées en parfumerie et dans le domaine de la cosmétique en raison de leurs propriétés odorantes.

#### ***a) Utilisation en pharmacie***

Autrefois réservées à la parfumerie et à la médecine, les huiles essentielles sont désormais omniprésentes dans notre vie quotidienne. Elles se retrouvent dans divers produits cosmétiques, articles d'hygiène et huiles aromatiques destinées aux massages relaxants. De plus, elles sont commercialisées sous forme de mélanges visant à purifier l'air pollué, suscitant un intérêt croissant de la part de l'industrie et de l'agroalimentaire.

On estime qu'il existe environ 3000 types d'huiles essentielles connues, dont environ 300 présentent un intérêt commercial, principalement dans l'industrie des parfums et des arômes. Il est crucial de distinguer l'utilisation traditionnelle des huiles essentielles, où elles sont directement utilisées à des fins thérapeutiques, de leurs applications par l'industrie pharmaceutique. L'aromathérapie gagne en popularité à mesure que l'intérêt pour l'utilisation des huiles essentielles est de plus en plus reconnu.

La plupart de ces huiles sont aujourd'hui disponibles sans ordonnance médicale, même en dehors de tout contrôle médical (**Garneau, 2005**).

L'industrie pharmaceutique a adopté de plus en plus les huiles essentielles dans une variété croissante de formats tels que les vaporisateurs, les pastilles, les gélules, les dentifrices, etc. Ces compositions contenant des huiles essentielles sont conformes à la réglementation des médicaments à base de plantes. De manière croissante, ces produits sont désormais enregistrés en tant que compléments alimentaires, soumis à des réglementations moins strictes.

Il convient également de souligner l'intérêt grandissant de la médecine vétérinaire pour les huiles essentielles. Leurs propriétés antifongiques et antibactériennes sont de nouveau mises en avant, notamment depuis que l'Union européenne a restreint l'utilisation des antibiotiques dans les élevages en 2006. Ainsi, les huiles essentielles sont aujourd'hui utilisées comme répulsifs ou insecticides, comme agents de conservation dans l'alimentation animale, et simplement pour le traitement de diverses affections chez les animaux (**Burt, 2004 ; Baser et Buchbauer, 2009**).

### ***b) En cosmétologie et parfumerie***

Les huiles essentielles sont employées dans le monde entier pour leurs fragrances. Un exemple emblématique est l'eau de Cologne, dont la recette élaborée par Jean-Marie Farina au début du 18<sup>e</sup> siècle incluait principalement des huiles essentielles d'agrumes (comme la fleur d'oranger, le cédrat et la bergamote) ainsi que des extraits d'aromates tels que le romarin et le thym, complétés par des essences de fleurs comme la lavande, la rose double, l'eau de mélisse et l'extrait de jasmin. Ces huiles, considérées comme les principaux ingrédients des parfumeurs, sont catégorisées selon leurs senteurs. Par exemple, les huiles essentielles de citron, de bergamote ou de lavande sont associées à la note la plus éphémère, nommée la "note de tête". En revanche, l'industrie de la parfumerie technique, telle que les produits de nettoyage ménagers et industriels, valorise les huiles essentielles pour leur image écologique, de propreté et d'antisepsie, les utilisant en grandes quantités à des coûts relativement bas (**Garneau, 2005**). C'est pourquoi, dans le domaine de la cosmétologie, l'utilisation des

huiles essentielles reste privilégiée pour leurs subtilités, alors que la parfumerie technique se tourne de plus en plus vers les produits de synthèse en raison de leur coût et disponibilité constants (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012 in Deschepper, 2017).

### ***c) L'aromathérapie***

Il s'agit d'une méthode de soin alternative où l'usage des huiles essentielles occupe une place significative en raison de leurs nombreux effets thérapeutiques. Elles sont de plus en plus intégrées dans différentes branches médicales telles que la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie et même dans les domaines esthétiques (Sallé, 1991, in Ouis, 2015).

### ***d) Agro-alimentaire***

En raison de leurs qualités antiseptiques et aromatiques, les huiles essentielles sont couramment utilisées dans la cuisine au quotidien (comme l'ail, le laurier, le thym, etc.). Elles sont également très appréciées dans la fabrication de boissons anisées, telles que le kummel, ainsi que dans la confiserie pour la création de bonbons et de chocolats. Leur capacité antioxydante leur permet de préserver les aliments en empêchant la formation de moisissures, comme c'est le cas par exemple pour la conservation du *smen* grâce au thym et au romarin. (Teissedre *et al.*, 2000).

### ***e) En Agriculture***

L'exploitation des huiles essentielles dans le domaine agricole est inchoative mais promet un essor certain. Actuellement, les réglementations en vigueur encouragent vivement la création de pesticides d'origine naturelle en remplacement des méthodes chimiques. Les huiles essentielles font l'objet de multiples expérimentations, ciblant les insectes, les champignons, les bactéries, les mauvaises herbes et même la préservation des semences.

Certains pays européens commercialisent déjà des produits dérivés des huiles essentielles. Par exemple, l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum* L.) est recommandée pour lutter contre les affections altérant la conservation des

pommes et des poires. La menthe verte (*Mentha spicata L.*) est utilisée pour freiner la germination des pommes de terre. Quant à l'orange douce (*Citrus sinensis L.*), elle est proposée comme remède contre diverses maladies et insectes (mildiou, oïdium, rouille blanche, cicadelles, aleurodes...).

La mise sur le marché de nouveaux produits à base d'huiles essentielles prend du retard à cause d'une réglementation complexe. Leur approbation est soumise aux normes régissant les produits phytosanitaires, exigeant la démonstration de leur efficacité et de leur innocuité. Dans le cadre de l'agriculture biologique, l'utilisation des huiles essentielles nécessite également leur inclusion dans une liste dite "positive" des produits autorisés. (Furet, 2013 ; Chavassieux, 2014, in : Deschepper, 2017).

## **II.4. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles ne sont pas des produits sans risque, malgré leur origine naturelle. Il est important de comprendre que leur caractère naturel ne garantit pas leur innocuité pour le corps humain. Il est essentiel de considérer l'équilibre délicat entre leur efficacité et leur potentiel toxique, car toute substance thérapeutique active peut présenter des risques de toxicité.

La toxicité des huiles essentielles dépend étroitement de leur composition chimique, comme les composés polyinsaturés (cétones, lactones et phénols) qui sont plus toxiques que d'autres (In : Deschepper, 2017).

### **II.4.1 Dermo-causticité**

Les huiles essentielles contenant une forte concentration de phénols, d'aldéhydes aromatiques et de terpènes peuvent causer de l'irritation sur la peau et les muqueuses. Il sera recommandé de les diluer systématiquement avec une huile végétale (20% d'huile essentielle dans 80% d'huile végétale) avant de les utiliser sur des zones spécifiques du corps (Bruneton, 2009).

### **II.4.2. Photosensibilisation**

La photosensibilisation se manifeste par une augmentation de la réactivité de la peau aux rayons du soleil, en particulier aux rayons ultraviolets, entraînant des rougeurs cutanées pouvant favoriser le développement du cancer. Tous les extraits provenant des écorces des agrumes tels que le citron, l'orange, la mandarine, le citron vert, le cédrat, le pamplemousse et le combawa peuvent présenter un danger de photosensibilisation après leur utilisation suivie d'une exposition au soleil. Il est donc fortement déconseillé de les utiliser avant ou dans les 48 heures suivant une exposition solaire (**Roux, 2011**).

### **II.4.3. Risques allergiques**

Les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les hydroxydes représentent les principaux composés responsables des réactions allergiques, dont l'impact varie selon la sensibilité individuelle du patient. Même les huiles essentielles destinées à apaiser les réactions allergiques peuvent, sur une utilisation prolongée, déclencher des réactions allergiques chez les personnes hypersensibles, telles que la *Mentha piperita* (menthe poivrée), la *Salvia officinalis* (sauge officinale), toutes les espèces de lavandes et de lavandins (*Lavandula sp.*), ainsi que la *Melissa officinalis* (mélisse). Cela souligne l'importance de ne pas utiliser continuellement une huile essentielle, sous peine de déclencher éventuellement une réaction d'intolérance.

En pratique, il est recommandé de réaliser un test simple en appliquant deux gouttes de l'huile essentielle envisagée dans le pli du coude, puis d'observer toute réaction allergique pendant vingt minutes. Pour les huiles potentiellement plus allergènes, il peut être judicieux d'étendre ce test sur vingt-quatre heures en cas de sensibilisation retardée (**Marinier, 2009**).

#### II.4.4. Hépatotoxicité

Des quantités élevées de phénols pendant une période prolongée peuvent affecter les cellules du foie, en particulier le carvacrol qui est le plus nocif. Les pyranocoumarines (*Ammi visnaga*) peuvent également être dommageables pour le foie. Il est recommandé de limiter l'utilisation de fortes doses à une durée maximale de dix jours. Pour des traitements plus longs, il est préférable d'utiliser des doses faibles. Il est également important d'incorporer des huiles essentielles hépatoprotectrices telles que la carotte cultivée (*Daucus carota*), le citron jaune (*Citrus limon*) et la menthe poivrée (*Mentha piperita*). Il convient de noter le potentiel cancérigène et génotoxique de l'estragole à fortes doses, présent notamment dans les huiles essentielles d'estragon (*Artemisia dracunculus*) et de basilic exotique (*Ocimum basilicum* var. *basilicum*), deux types d'huiles essentielles largement utilisées (**Franchomme et al., 2007**).

#### II.4.5. Néphrotoxicité

La consommation prolongée par voie orale des huiles essentielles riches en monoterpènes tels que le pinène et le camphène peut provoquer une inflammation et des dommages aux néphrons. Il est recommandé d'éviter ces huiles essentielles, en particulier celles provenant des *Pinus sp* (toutes les variétés de pins), des *Abies sp* (toutes les variétés de sapins), des *Juniperus sp* (toutes les variétés de genévriers), ainsi que le *Santalum album* (santal blanc de Mysore), en cas de problèmes rénaux ou généralement chez les personnes âgées (**Pacchioni, 2014**).

#### II.4.6. Neurotoxicité et risques abortifs

Les huiles essentielles d'Absinthe, d'Armoise, de Cèdre, d'Hysope, de Sauge officinale, de Thuya, de Menthe poivrée, etc., ne doivent pas être utilisées en présence d'antécédents d'épilepsie, chez les personnes âgées souffrant de troubles nerveux et chez les enfants de moins de 7 ans. La nocivité neurologique est due à la forte affinité des cétones pour les graisses, ce qui peut conduire à la traversée de la barrière hémato-encéphalique, à la destruction des gaines de myéline et à des perturbations électriques des neurones, entraînant une excitation suivie de dépression. De plus, les huiles

essentielles contenant des cétones peuvent provoquer des avortements en raison de leur effet tonique sur l'utérus. Par conséquent, elles sont totalement déconseillées pendant la grossesse (**Pierron, 2014**).

## **II.5. Méthodes d'extraction des Huiles essentielles et d'identification de leurs composés**

### **II.5.1. Méthodes d'extraction**

Plusieurs techniques sont utilisées pour extraire les substances des plantes, et cette variété découle de la diversité des éléments de base ainsi que de la grande sensibilité de certaines de leurs composantes.

#### **A. Extraction par hydro distillation**

En 1891, Garnier a suggéré cette technique d'extraction, qui demeure la méthode prédominante pour extraire les huiles essentielles (HE), permettant leur séparation à l'état pur et garantissant des rendements accrus. Ce procédé implique d'immerger directement la matière végétale dans un ballon d'eau chauffée à ébullition, où les vapeurs hétérogènes se condensent sur une surface froide, permettant ainsi la séparation des huiles essentielles grâce à leurs différences de densité. (**Bruneton, 1993 ; In : Laib, 2011**). C'est la méthode adoptée dans cette thèse.

#### **B. Extraction par solvants organiques**

La méthode la plus couramment utilisée demeure l'extraction à l'aide de solvants organiques volatils. Les solvants les plus fréquemment employés à ce jour incluent l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, de manière moins répandue le dichlorométhane et l'acétone (**Legrand, 1993 ; Dapkevicius et al., 1998 ; Kim et Lee, 2002**). La limitation d'utilisation de cette méthode repose sur ses coûts élevés, les risques de sécurité et de toxicité, ainsi que les réglementations environnementales en vigueur pour la préservation de l'écosystème. (**Lagunez Rivera, 2006 ; In : Laib, 2011**).

### **C. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce processus d'extraction, les plantes sont exposées à la vapeur sans être préalablement immergées. Les vapeurs chargées en éléments volatils sont ensuite refroidies pour être séparées et récupérées. La vapeur est introduite à la partie inférieure de l'alambic. **(Richard et Peyron, 1992 : In : Laib, 2011).**

### **II.5.2. Méthodes d'identification des constituants des huiles essentielles**

Le moyen le plus précis et complet pour caractériser une huile essentielle reste l'analyse chromatographique en phase gazeuse (CPG). Elle est généralement accompagnée d'une méthode d'identification spectrale, comme la spectroscopie de masse (SM) ou, parfois, la spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier (IRTF). Cette méthode est souvent préférée pour examiner régulièrement un échantillon dont les composants ne posent pas de défis majeurs en matière d'identification **(Joulain, 1994).**

### **A. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)**

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) représente une technique de séparation analytique adaptée aux gaz ou substances pouvant être vaporisés par chauffage sans se décomposer. Elle demeure largement préférée en raison de sa capacité à séparer efficacement les constituants à partir d'échantillons de très petite taille, allant de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Ce processus de séparation se déroule au sein de colonnes capillaires dotées d'une capacité de résolution élevée, particulièrement bien adaptées aux mélanges volatils complexes **(Arpino et al., 1995 : In : Benabdallah, 2017).** La CPG fonctionne sur la base du partage du composé analysé entre une phase gazeuse mobile et une phase immobilisée (liquide ou solide) sur la surface d'un support inerte **(Skoog et al., 2003).**

## **B. Le couplage Chromatographie phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)**

Dans le domaine spécifique des huiles essentielles, la méthode privilégiée actuellement est le couplage entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (CPG/SM) (**Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996**). Cette technique permet de séparer et d'analyser simultanément les divers composants d'un mélange complexe. Pour l'analyse des huiles essentielles, le spectromètre de masse utilise deux approches d'ionisation : l'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Ce dernier mode comprend deux variantes : l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

## Chapitre III. Monographie des plantes étudiées

### A. Cas de l'huile essentielle d'Eucalyptus : *Eucalyptus globulus*

#### 1. Généralités

Le genre *Eucalyptus* est originaire d'Australie et de Tasmanie. De nos jours, il est cultivé dans diverses régions subtropicales telles que l'Afrique, l'Asie (notamment la Chine, l'Inde, l'Indonésie), l'Amérique du Sud, ainsi que dans certaines parties de l'Europe méridionale et des États-Unis (**Bouamer, 2004**).

En 1850, les Français ont introduit plusieurs espèces d'*Eucalyptus* en Algérie, notamment l'*E. globulus* Labill., l'*E. viminalis*, l'*E. Robusta* Sm., l'*E. rostrata* SchL, etc. Ces arbres étaient reconnus pour assécher les marais, éliminer les Anophèles et réduire le paludisme. Cependant, au fil du temps, il a été observé qu'ils avaient une croissance rapide et produisaient rapidement du bois utilisé comme matériau de construction, du bois de chauffage et des traverses de chemin de fer, ce qui a entraîné leur propagation rapide (**Chevalier, 1952**).

Entre les années 1960 et 1970, le reboisement avec des eucalyptus a été effectué principalement dans l'Est algérien (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Bainem) et l'Ouest (Mostaganem), dans le but de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et en papier (**Belkou, 2005 ; Goetz et al., 2012**).

#### 2. Position systématique

La classification de l'*Eucalyptus globulus* est représentée dans le tableau n°1. Les noms vernaculaires comme : Calitouss, Calibtus ou Kafor sont les plus populaires en Algérie et sont utilisés dans différentes régions du pays.

**Tableau 1.** Classification d'*Eucalyptus globulus* (Ghidira et al., 2008).

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Rosidae
<b>Ordre</b>	Myrtales
<b>Famille</b>	Myrtaceae
<b>Genre</b>	Eucalyptus
<b>Espèce</b>	<i>Eucalyptus globulus</i>

### 3. Description botanique d'*Eucalyptus globulus*

L'*Eucalyptus*, appartenant à la vaste famille des Myrtacées comprenant 72 genres et 300 espèces, se distingue par ses grands arbres aromatiques. Leur hauteur peut atteindre jusqu'à 100 mètres, bien que la moyenne se situe généralement entre 40 et 50 mètres, avec un diamètre moyen d'environ 1,5 mètre (Bey Ould-Si-Said, 2014 ; Chibah et al., 2018). Cette plante est reconnue mondialement sous le nom de gommier bleu de Tasmanie (Kermiche et Chougui, 2014), et elle se caractérise par sa croissance rapide. Le tronc présente une écorce basale sombre et rugueuse, tandis que sa partie supérieure est lisse et de couleur gris cendré, s'exfoliant en longs lambeaux souples et parfumés ; il est également doté de lenticelles contenant une résine balsamique et un bois de teinte rouge (Goetz, 2008).



**Figure 5. *Eucalyptus globulus***

La plupart des variétés d'*Eucalyptus* possèdent des feuilles persistantes recouvertes de glandes contenant de l'huile. Ces feuilles ont des formes généralement étalées, longues, légèrement inclinées à la base, et sont presque pointues ou légèrement arrondies, mesurant entre 3 et 6 cm de large (**Kermiche et Chougui, 2014**). Les fleurs varient en apparence selon l'espèce, allant du blanc et pouvant être soit isolées soit regroupées par 2 ou 3 dans une forme régulière (Figure 6). Les fruits sont souvent larges mais parfois très petits, contenant des graines brunes d'une longueur moyenne de 2 à 3 mm (**Kermiche et Chougui, 2014**). Une des caractéristiques exceptionnelles de cet arbre réside dans sa capacité à absorber rapidement l'eau du sol où il pousse, asséchant efficacement les marais qu'il colonise (**Chibah et al., 2018**).



**Figure 6. Fleurs d'*Eucalyptus globulus***

#### 4. Huile essentielle de l'Eucalyptus

La famille des Myrtacées, tout comme d'autres familles de plantes médicinales, se distingue par sa grande production d'huile. Les Eucalyptus sont particulièrement remarquables pour les tanins, les résines et les huiles essentielles qu'ils renferment dans leurs feuilles, leurs tiges et même leur écorce, offrant ainsi des applications médicales très significatives (**Bigendako, 2004**). Dans l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus, on retrouve environ 70% d'eucalyptol (1,8-cinéole), reconnu comme le composé prédominant dans plusieurs espèces d'Eucalyptus telles que *E. viridis* et *E. salubris*, entre autres (**Sroka, 2005**). Cette huile essentielle présente une consistance liquide, avec une teinte jaune à jaune pâle, et dégage une odeur puissante de 1,8-cinéole. Les principaux constituants de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ont été définis par la norme AFNOR NF T75-225 (voir Tableau 2).

**Tableau 2. Spécifications physico-chimiques de l'HE d'*Eucalyptus globulus***

Constituants		Huiles essentielles crues		Huiles essentielles rectifiées	
		Broyées en vert	Traditionnelles	70 % à 75 %	80 % à 85 %
$\alpha$ -pinène	minimum %	10	10	traces	traces
	maximum %	20	22	20	12
Limonène	minimum %	2	1	2	2
	maximum %	4	8	15	15
Cinéole-1,8	minimum %	48	58	70	80
Para-cymène	minimum %	1	1	1	1
	maximum %	3	5	6	10
Trans-pinocarvéol	minimum %	1	1	traces	traces
	maximum %	4	5	10	6
Aromadendrène	minimum %	6	1	—	—
	maximum %	10	5	traces	traces
Globulol	minimum %	0,5	0,5	—	—
	maximum %	2,5	1,5	traces	traces

## 5. Propriétés de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

### a. Propriétés thérapeutiques

L'Eucalyptus est largement utilisé parmi les plantes médicinales pour apaiser la fièvre et divers maux tels que la toux. L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* possède plusieurs propriétés : elle agit comme un antiseptique pour les voies respiratoires, un expectorant et un analgésique (**Kehrl et al., 2004**). Elle peut être utilisée à la fois en interne et en externe, offrant des effets décongestionnants, hypoglycémiants, et favorisant la détoxification des toxines diphtériques et tétaniques. Elle présente également des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries Gram+, antifongiques et anti-inflammatoires. De plus, elle améliore les performances respiratoires, agit comme un mucolytique et un antispasmodique bronchique, tout en ayant des effets fébrifuges. Son fort tropisme broncho-pulmonaire contribue à assécher efficacement les voies respiratoires.

Les vertus médicinales de l'Eucalyptus sont principalement dues à sa teneur en eucalyptol, également connu sous le nom de 1,8-cinéole, présent dans ses feuilles. Le 1,8-cinéole s'est avéré efficace pour réduire la quantité de corticostéroïdes utilisée par les personnes asthmatiques (**Juergens, 2003**) et pour lutter contre les symptômes du rhume (**Tesche et al., 2008**). Cette huile possède un effet rafraîchissant sur la température corporelle et est largement utilisée dans diverses applications pharmaceutiques pour ses multiples bienfaits sur les voies respiratoires. Elle facilite l'élimination des sécrétions bronchiques, agit comme un agent antiseptique contre les bactéries et les virus (**Tesche et al., 2008**).

L'efficacité de l'huile essentielle dépasse celle du 1,8-cinéol utilisé seul. Une partie de cette huile essentielle est excrétée par les reins et l'urine, agissant contre des bactéries telles qu'*Escherichia*, *Proteus*, *Staphylococcus aureus*, entre autres. Son effet expectorant est le résultat d'une stimulation directe des cellules qui produisent du mucus dans les bronches. De plus, son action antispasmodique a été confirmée dans son action antitussif (**Boukef, 1986 ; Grover et al., 2002; Tohidpour et al., 2010**).

### b. Activité antioxydante

De nombreuses recherches ont signalé que l'huile essentielle d'eucalyptus possède des propriétés antioxydantes en raison de la présence d'eucalyptol (1,8 cinéole). Selon l'étude menée par **Mishra et al., (2010)**, l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* démontre une capacité antioxydante significative, avec un taux de neutralisation du radical DPPH de  $79 \pm 0,82\%$  à une concentration de 80% (V/V). D'après **Noumi et al., (2011)**, cette huile se distingue par une forte activité antioxydante, grâce à sa concentration élevée en cinéole (95,61%).

### c. Activité insecticide

Les recherches ont démontré l'efficacité insecticide de l'huile essentielle d'eucalyptus contre différentes espèces. Par exemple, à une concentration de 40 mg/mL, elle a montré un effet à 100% sur les larves de *L. longipalpis* (**Marciel et al., 2010**). De plus, une DL50 de 2000 ppm de l'huile essentielle d'*E. globulus* a été jugée efficace contre *Aphis gossypii*. En 2008, **Mareggiani et al.** ont attribué cette action insecticide à un métabolite secondaire, le 1,8 cinéole, constatant une mortalité de 55 à 100 % dans l'heure suivant l'application, augmentant à 84 à 100 % après 24 heures. Ces observations ont été corroborées par d'autres études, telles que celles menées sur *Anoplura : Pediculidae* (**Yang et al., 2004**), *Ceratitis capitata* (**Clemente et al., 2006**) et *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae) (**Hamroui et Regnault-Roger, 1997**). De plus, **Zunino et al. (2012)** ont rapporté une DL50 allant de 0,4 à 0,84  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$  pour *Sternechus pinguis* (Fabricius) et *Rhyssomatus subtilis* Fiedler (Coleoptera: Curculionidae). Une toxicité par contact sur les larves de *Musca domestica* a été observée, avec une DL50 comprise entre 2,73 et 0,60  $\mu\text{L}/\text{cm}^2$ , engendrant un temps létal de 1,7 à 6 jours. Enfin, le traitement par fumigation a montré des résultats de 66.1 et 50.1  $\mu\text{L}/\text{L}$  pour 24 et 48 heures, respectivement (**Kumar et al., 2012**).

## ✓ Cas de l'huile essentielle de Lavande : *Lavandula angustifolia*

### 1. Généralités

Depuis l'antiquité, les lavandes ont été utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, apaisantes et leurs parfums (Cavanagh et Wilkinson, 2002). Le terme "lavande" est dérivé du mot latin "lavare", qui signifie laver, évoquant ainsi l'idée de propreté associée à la plante. Malgré des similitudes et des confusions botaniques, des écrits témoignent de l'utilisation ancienne de différentes lavandes telles que la lavande fine, la lavande vraie ou lavande officinale (*L. angustifolia*, anciennement *L. vera* ou *L. officinalis*), la lavande aspic (*L. latifolia*, anciennement *L. spica*) et le lavandin (*L. x intermedia*). Les Grecs et les Romains les employaient pour parfumer et purifier les bains (Upson et al., 2004), et attribuaient à ces plantes des propriétés bénéfiques contre la bronchite et les troubles intestinaux (Lis-Balchin, 2002). Durant le Moyen-âge, la lavande était un composant du vinaigre des quatre voleurs. Selon la légende, ce vinaigre aurait permis à des brigands de dépouiller les victimes de l'épidémie de peste du 17ème siècle dans le sud de la France sans contracter la maladie. Les principaux producteurs d'huile essentielle de lavande fine en 2012 étaient la France avec 47 tonnes, la Bulgarie avec 85 tonnes et la Chine avec 40 tonnes. (Les synthèses de France Agri Mer, 2013).

### 2. Position systématique

La classification de la lavande est représentée dans le tableau n°3 (Quezel et Santana, 1963).

**Tableau 3.** Classification de la lavande (Quezel et Santana, 1963)

<i>Règne</i>	<b>Plantes</b>
<i>Sous règne</i>	Plantes vasculaires
<i>Embranchement</i>	Spermaphytes
<i>Sous embranchement</i>	Angiospermes
<i>Classe</i>	Dicotylédones
<i>Sous classe</i>	Dialypétales
<i>Ordre</i>	Lamiales
<i>Famille</i>	Lamiacées
<i>Genre</i>	Lavandula
<i>Espèce</i>	<i>Lavandula angustifolia</i>

### 3. Description botanique

La lavande est un sous-arbrisseau vivace à croissance basse, reconnaissable par ses feuilles linéaires et persistantes portant des épis au bout de ses tiges, sa hauteur peut atteindre 1 mètre et ses fleurs d'un ton bleu pourpre à violet, sont les parties les plus parfumées de la plante (Morigane). La Figure 2 présente la structure morphologique de la Lavandula.



**Figure 7.** Fleurs de Lavande

#### **4. Usage et propriétés des HE de la lavande**

La fabrication des essences aromatiques par les végétaux représente un intérêt économique considérable. En 2006, le marché des Plantes à Parfum Aromatiques et Médicinales (PPAM) s'élevait à 85 millions d'euros (**ONIPPAM, 2006**). Parmi ces plantes, la lavande (*L. angustifolia*) est largement reconnue et récoltée depuis des siècles pour ses multiples utilisations, allant de la parfumerie à la médecine. Les huiles essentielles (HE) de lavande ont été décrites dans des ouvrages depuis l'Antiquité et le Moyen Âge. Les anciens Égyptiens utilisaient les fleurs dans le processus de momification, tandis que la médecine chinoise traditionnelle les employait pour traiter divers maux tels que l'infertilité, les infections, l'anxiété et la fièvre. Les Romains et les Africains l'employaient pour parfumer les bains et pour l'entretien du linge, tandis que l'armée romaine l'utilisait comme agent désinfectant. Dans la médecine arabe, elle était utilisée pour les problèmes rénaux et gastro-intestinaux. De plus, la lavande a toujours été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, en cuisine, à des fins décoratives et cosmétiques (**Maganga, 2004**).

Actuellement, la lavande est communément employée pour créer des parfums, dans l'industrie de la fabrication de savons et de lessives. Elle est également utilisée en herboristerie et en aromathérapie, étant reconnue comme une plante médicinale en raison des effets bénéfiques de son huile. Son essence est préconisée pour soulager la dépression, la fatigue et l'hypertension (**Chu et Kemper, 2001**).

En effet, cette plante est employée pour guérir des blessures et des brûlures mineures, et elle présente des propriétés calmantes, antibactériennes, antifongiques et antidépressives (**Cavanagh et Wilkinson, 2002**), ainsi qu'un effet anti-inflammatoire (**Sosa, Altinier et al., 2005**). Elle est également utilisée comme antispasmodique et désinfectant. Son huile essentielle est préconisée pour lutter contre les infections du côlon, possédant des caractéristiques antimicrobiennes et anti-cancérigènes (**Gören et al., 2002**), ainsi que des vertus anxiolytiques, analgésiques, antioxydantes, anti-inflammatoires et insecticides (**Chu et Kemper, 2001**). En Algérie, la Lavande est

couramment utilisée pour traiter les toux, les migraines et les problèmes d'estomac. Ses bouquets très parfumés sont disponibles dès le mois de février (**Zergui, 2006**).

### **5. Propriétés médicinales**

La lavande possède diverses applications thérapeutiques contre plusieurs affections telles que les spasmes, l'insomnie, les maladies infectieuses et les problèmes respiratoires tels que l'asthme, la bronchite et la tuberculose. Son utilisation peut se faire à travers une infusion ou en employant ses huiles essentielles qui renferment une concentration élevée de Linalol et d'acétate de linalyl. Sa faible toxicité en fait une huile essentielle largement utilisée en toute sécurité (**Iserin, 2001**).

Les caractéristiques curatives et le parfum des huiles essentielles extraites de la lavande sont principalement associés aux composés chimiques volatils de la famille des terpènes. Les monoterpènes et les sesquiterpènes sont responsables du parfum distinctif de la lavande (**Flores, Blanch et al., 2005**) et confèrent à ces huiles leurs propriétés bénéfiques. La proportion des principaux terpènes présents dans l'huile essentielle est un critère crucial pour évaluer sa qualité (**AFNOR, 1996**) et influence le choix d'une variété spécifique par les herboristes ou les industriels (**Grayer, Kite et al., 1996**).

À titre d'exemple, le lavandin (*L. x intermedia* Emeric ex Loisel), résultat d'un croisement naturel entre *L. latifolia* et *L. angustifolia*, offre un rendement de production d'huile essentielle supérieur à celui de son parent *L. angustifolia*, ce qui en fait une option privilégiée dans l'industrie. Cependant, son huile essentielle contient une quantité significative de camphre, un monoterpène, ce qui la rend moins attrayante pour les parfumeurs.

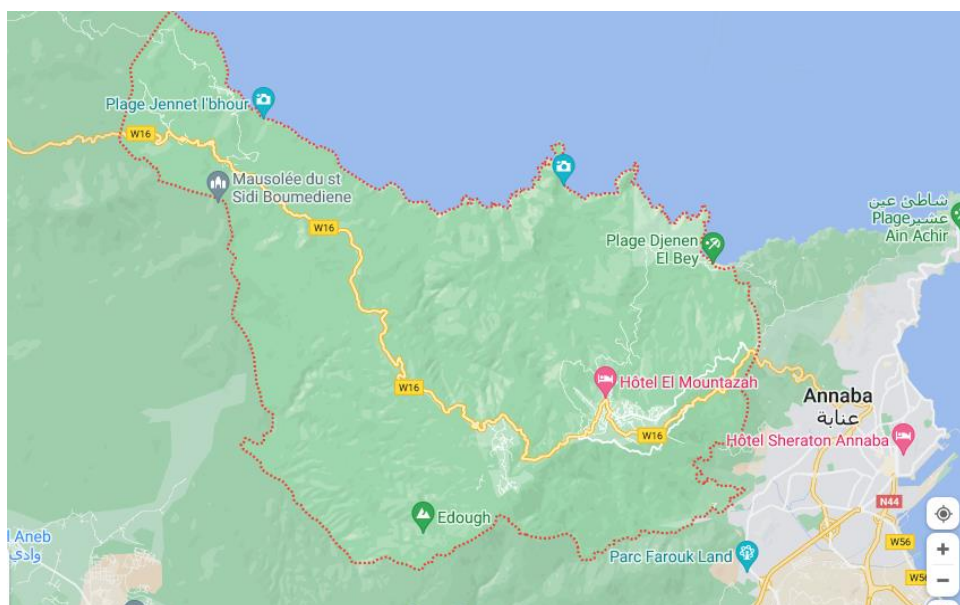
## ***PARTIE II. MATERIEL & METHODES***

---

Notre expérimentation a été menée à la fois au laboratoire de Phytopathologie de l'Institut National de Protection des Végétaux (INPV) de la wilaya d'El-Tarf pour tout ce qui concerne les différentes activités biologiques des huiles essentielles et au laboratoire de Phytochimie de l'Université Chadli Bendjedid (El Tarf) pour tout ce qui concerne l'identification et l'isolement des agents pathogènes sur lesquels nous avons travaillé ainsi que l'extraction des huiles essentielle étudiées.

### **1. Présentation du site d'échantillonnage « SERAIDI »**

Seraïdi est une commune située au nord de la wilaya d'Annaba, perché a une altitude de 850 mètres sur les montagnes du massif de l'Edough, a une distance de 13.3 kilomètres d'Annaba.



**Figure 8. Localisation géographique de la commune de Seraïdi**

La région de Seraïdi est connue pour sa richesse faunistique et floristique faisant d'elle un réservoir de plantes qui peuvent être utilisées dans plusieurs domaines, sans oublier son éloignement des points de pollution ce qui nous a poussé à la choisir comme zone d'échantillonnage pour nos plantes à savoir : *Eucalyptus globulus* et *Lavandula angustifolia*.

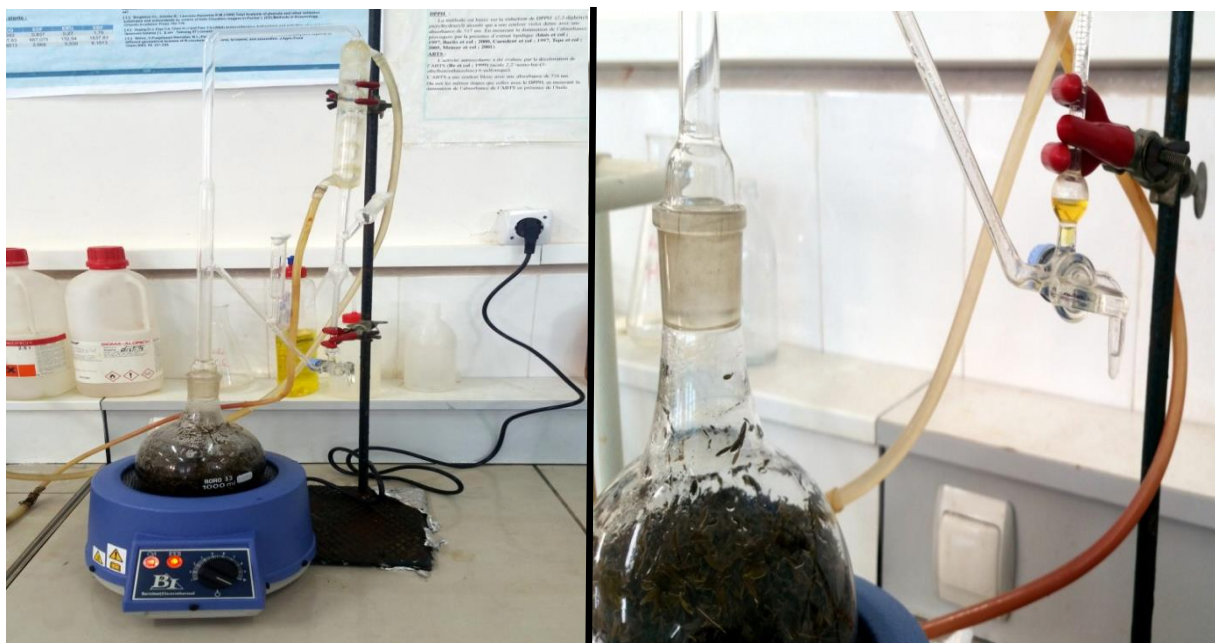
## **1.1. Echantillonnage**

Les plantes d'Eucalyptus et de Lavande ont été récoltées durant la période Décembre-Avril, 2019, à partir de différentes stations de la commune de Seraïdi, Annaba (Nord-Est Algérien). Fraîchement collectées, elles ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et bien aéré à l'abri de l'humidité en vue de leur utilisation future dans le processus d'extraction de l'huile essentielle.

## **2. Extraction de l'huile essentielle**

### **2.1. Description du dispositif d'extraction**

L'appareil employé pour l'hydro-distillation est de type Clevenger, il se compose d'un chauffe-ballon, qui assure une répartition homogène de la chaleur dans un ballon en verre pyrex contenant 10g de feuilles séchées et 100ml d'eau distillée, d'une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant), ainsi qu'un collecteur en verre pyrex recueillant les extraits de la distillation. L'huile essentielle extraite après environ 2 heures d'ébullition est préservée à une température de 4°C dans des petits flacons en verre ombré hermétiquement fermé, conformément aux normes de l'ISO 9235 (Photo1).



*Photo 1. Représentation de l'hydro distillateur (photo personnelle)*

## **2.2. Détermination de la cinétique et du rendement d'extraction**

Afin d'analyser la cinétique d'extraction de l'huile essentielle à partir des feuilles de *Lavandula angustifolia* et d'*Eucalyptus globulus* à l'état sec, nous avons collecté des quantités d'huile essentielle à des intervalles de 10 minutes, allant de 0 à 90 minutes. Ces quantités d'huiles essentielles récupérées ont été utilisées pour calculer le rendement à chaque intervalle de temps. Ce rendement est exprimé en pourcentage, conformément à la formule suivante (Afnor, 1986) :

$$\text{RH (\%)} = \text{M}'/\text{M} \times 100$$

- **RHE** : rendement en huile essentielle ;
- **M'** : masse d'huile essentielle, en gramme.
- **M** : masse de la matière végétal sèche (10g).

## **3. Caractérisation des huiles essentielles par Chromatographie gazeuse couplée à la spectrophotométrie de masse (GC-MS)**

Le principe de séparation repose sur une différence de distribution des composés constitutifs d'un mélange entre deux phases distinctes : la phase mobile et la phase stationnaire (imprégné dans la colonne). Lorsque les composants du mélange sont introduits dans la colonne et poussés par le gaz vecteur, ils interagissent de manière différente avec la phase stationnaire. Par conséquent, leur progression dans la colonne se déroule à des vitesses différentes, induisant ainsi la séparation de ces dernières. Un dispositif de détection approprié situé à la sortie de la colonne permet de produire un signal qui est enregistré sous forme de "pics chromatographiques" (Messaoud et al., 2012).

La technique de spectrométrie de masse implique la conversion de molécules depuis leur état naturel vers des ions gazeux afin de déterminer leur masse moléculaire en analysant le rapport entre leur masse et leur charge, représenté par l'abréviation m/z.

Les deux HEs ont été soumis à une analyse chimique à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC/MS) équipé d'une colonne capillaire HP-5MS de 30 mètres de longueur et 0,25 mm de diamètre avec une épaisseur de film de 0,25  $\mu\text{m}$ , un détecteur réglé à 200°C et alimenté par un mélange H<sub>2</sub>/Air-gaz et un injecteur réglé à 275°C. Le mode d'injection était fractionné (taux de fuite : 1/50) et l'hélium pur a été employé comme gaz vecteur avec un débit de 0,5 ml/m.

La température de la colonne est programmée de 50 à 250°C à 4°C/min. Le volume d'injection est de 2 ml et la spectrométrie de masse (SM) a été réalisée à 1 balayage s<sup>-1</sup> avec une tension ionisante de 70 eV et une température de source d'ions de 2508. Les composants ont été identifiés en comparant leurs indices de rétention avec une série homologue de C<sub>9</sub>-C<sub>24</sub> n-alcanes et ceux des standards authentiques (Messaoud et Boussaid, 2011).

L'analyse chromatographique a été effectuée au laboratoire de Biotechnologie des Plantes à l'Institut National des Sciences Appliquées et Technologie (INSAT) Tunisie.

## **4. Evaluation des activités biologiques**

### **4.1. Activité antifongique**

L'évaluation de l'activité antifongique s'est déroulée avec deux méthodes distinctes. D'une part, la méthode de dilution en milieu solide a été employée pour évaluer les taux d'inhibition. D'autre part, la méthode en milieu liquide, qui a permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI), correspondant au seuil où aucune croissance de moisissure n'est détectée, et les concentrations minimales fongicides (CMF). (Alcamo, 1984).

#### **4.1.1. Origine et choix de la souche fongique**

Le champignon étudié dans ce travail est *Fusarium roseum*, agent pathogène responsable de la fusariose du blé, qui a été isolé à partir des lésions développées sur les épis prélevées dans un champ de céréale et qui nous a été fourni par l'INPV d'ELTARF- Algérie.

Le genre *Fusarium* joue un rôle économique crucial, englobant plus de 50 espèces de champignons filamenteux non pigmentés (hyalohyphomycètes). Ce genre est largement répandu dans l'environnement, étant présent partout, cosmopolite, opportuniste et se nourrissant de matières organiques dans le sol et les plantes (**Bastides, 2010**), à la surface des végétaux, la poussière de l'air et les eaux marines (**Swathi et al., 2013**). Les différentes espèces de *Fusarium* se trouvent également dans la mycoflore habituelle des produits de base tels que le riz, le haricot, le soja et d'autres cultures (**Pitt et al., 1994**).

Ce type de champignon se développe principalement sur des milieux de culture tels que le Sabouraud et le milieu PDA, à des températures variant entre 22 et 37°C. Les colonies sont d'un aspect duveteux ou cotonneux, et leur couleur varie selon l'espèce (blanche à crème, jaune brunâtre, rose, rouge, violet ou lilas). Microscopiquement, les *Fusarium* sont caractérisés par un thalle végétatif naissant des conidiophores courts et généralement ramifiés. Ce dernier porte des phialides qui permettent la production des conidies, par des sites de bourgeonnement unique (monophialide) localisé à l'extrémité d'un col allongé (cas observé chez *F. solani*) ou court et trapus (comme chez *F. oxysporum*). Pour d'autres espèces, on observe la présence de multiples sites de bourgeonnement (polyphialides) (**Chabasse et al., 2002**).

### ➤ **Classification du genre *Fusarium***

Les *Fusarium* appartiennent au règne des : Fungi, au phylum des : Ascomycota, à la classe des : Pezizomycotina, à l'ordre des : Hypocreales et à la famille des : Hypocreaceae (**Hoog et al., 1995 ; Thomas, 2017**).

#### **4.1.2. Technique de dilution en milieu solide**

Pour chacune des solutions méthanoliques (0,5ml) des HEs testées à différentes concentrations (250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500 et 4000µg/ml) est ajouté à 20 ml d'un milieu PDA tiède. Une fois homogénéisé, ce mélange est versé dans des boîtes de Pétri. L'ensemencement est réalisé par piqûre et l'ensemble des boîtes sont incubés pendant 7 jours à 27° C. La croissance mycélienne est observée quotidiennement.

À la fin de l'expérience, les diamètres des différentes colonies sont mesurés pour calculer le taux d'inhibition (I%). (**Kordali, 2003**).

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

- I' (%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.
- dC = Diamètre de colonies dans les boites « témoins positifs ».
- dE = Diamètre de colonies dans les boites contenant l'huile essentielle.

Nous pouvons évalué l'efficacité de l'HE sur une ou plusieurs souche(s) donnée(s) en exprimant la proposition de celles ayant présentée un taux d'inhibition supérieur ou égal à 50%. Les essais ont été effectués en trois répétitions.

L'huile essentielle est dite :

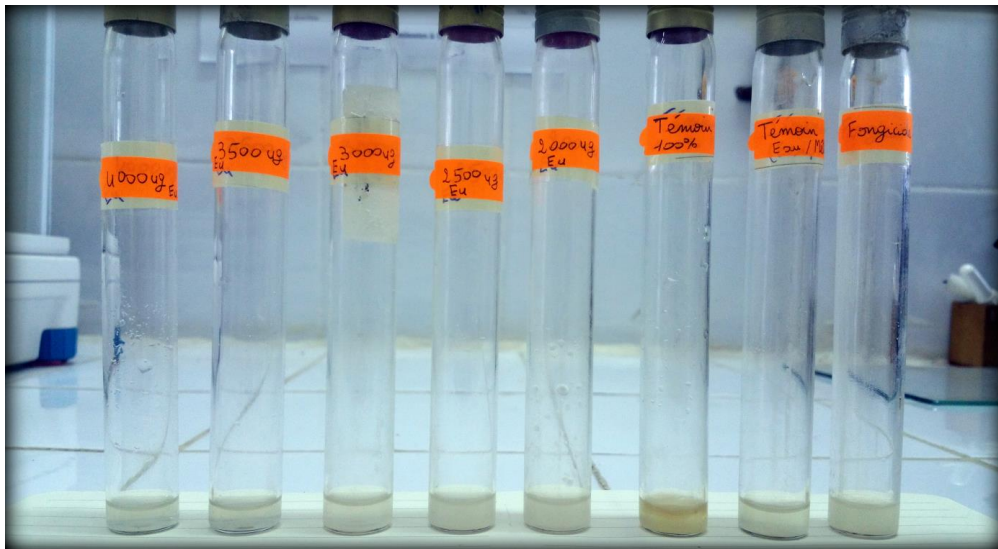
- ✚ Très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible ;
- ✚ Active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible ;
- ✚ Moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; la souche est dite limitée ;
- ✚ Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite peu sensible ou résistante.

A l'issue de cette étude préliminaire, toutes concentrations ayant présentées un pourcentage d'inhibition > 50% sur une souche fongique sont sélectionnées pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) par la méthode de dilution en milieu liquide (**Alcamo, 1984 ; Rotimi et al., 1988**).

#### **4.1.3. Technique de dilution en milieu liquide**

**Détermination des CMI** : Les solutions qui ont montré des taux d'inhibition supérieurs à 50% sont maintenues. Ensuite, 100µl de ces solutions sont introduits dans 900 µl du milieu Sabouraud liquide contenant la souche à tester, puis placés en incubation à 27°C pendant une période de 7 jours. Après cette période d'incubation, on identifie les tubes

où aucun développement de moisissures n'est observé. En ce qui concerne l'identification des CMF, une fois les tubes où aucune croissance de "spores" n'a été observée, l'expérimentation se poursuit en ajoutant 950µl de milieu Sabouraud liquide stérile à 50µl d'un échantillon spécifique ayant montré une inhibition complète. Après une période d'incubation de 7 jours, les cultures secondaires dans lesquelles aucune reprise de croissance n'est constatée permettent de définir les CMF.



*Photo 2. Détermination de la CMI et CMF (photo personnelle)*

## **4.2. Activité antibactérienne**

Les différents protocoles peuvent être classés en fonction du milieu dans lequel l'huile essentielle se diffuse et de la manière dont elle entre en contact avec le germe. Parmi les méthodes les plus couramment employées figurent la diffusion sur disque, la dilution d'agar et la dilution de bouillon (**Burt, 2004**). Ces approches sont généralement rapides, économiques et ne requièrent pas un équipement de laboratoire complexe.

### **4.2.1. Origine et choix des souches microbiennes**

Les bactéries utilisées dans notre recherche font partie de la famille des *Pseudomonaceae* qui regroupe des bactéries mobiles aérobies à gram négatif, qui varie

de 2 à 4  $\mu\text{m}$  de longueur, et se présentent sous forme de bâtonnets élargis munis d'un flagelle polaire qui joue un rôle important dans la pathogénicité.

Il s'agit de *Pseudomonas savastanoi*, une bactérie phytopathogène qui cible plusieurs espèces de plantes. À l'origine considérée comme un pathovar de *Pseudomonas syringae*, des études de phylogénie moléculaire de son ADN ont abouti à sa reclassification en tant qu'espèce nouvelle.

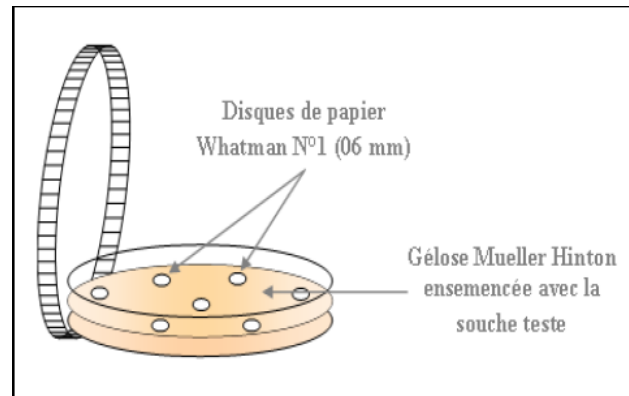
Elles ont été sélectionnées en raison de leur propension élevée à contaminer les denrées alimentaires et pour leur potentiel pathogène. Ces souches nous ont été transmises par le laboratoire de microbiologie de l'INPV El-TARF. Elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive propice à leur développement pendant 24 h à 37°C.

### **4.2.2. Méthode de diffusion sur gélose**

En utilisant une pipette pasteur, on prélève quelques colonies à partir d'une culture pure de bactéries ayant au maximum 24h et les décharger dans 10 ml d'eau physiologique stérile. Il est nécessaire que l'opacité de la suspension atteigne un niveau équivalent à 0,5 McFarland, qui correspond à 108 UFC/ml, puis les diluer pour obtenir un inoculum à 106 UFC/ml. (Tyagi et Malik, 2011).

Les milieux coulés en boîte de pétri sontensemencés en utilisant une méthode d'écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne. Des disques de papier Wattman stériles de 06 mm de diamètre sont imbibés de différentes concentration d'HE (2500, 3000, 3500, 4000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) et sont déposés sur la souche bactérienne. Les boîtes sont maintenues à une température comprise entre 25 et 30°C pendant 30 minutes, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

On évalue l'activité antibactérienne en mesurant les diamètres des zones dépourvues de bactéries (exprimés en millimètres) formées autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle, en incluant le diamètre du disque.



**Figure 9. Méthode de diffusion sur disque (Bekka, 2009)**

### **4.3. Pouvoir antioxydant**

Le pouvoir antioxydant des deux huiles essentielles a été évalué *in vitro* en utilisant le test de piégeage du radical DPPH.

#### **4.3.1. Test de piégeage du radical DPPH**

L'élimination des radicaux libres par des antioxydants peut être évaluée par une technique rapide et ce par le dépistage de l'activité antioxydante de composés spécifiques. Les méthodes spectrophotométriques qui emploient les radicaux de DPPH sont largement préférées pour évaluer la capacité antioxydante des aliments, des boissons et des extraits végétaux. (Soares et al., 1997). En effet, la méthode de DPPH a été employée pour évaluer l'activité antioxydante des composés en raison de sa simplicité, de sa rapidité, de sa sensibilité et de sa reproductibilité dans les procédures. (Özcelik et al., 2003 ; Gülçin et al., 2005c).

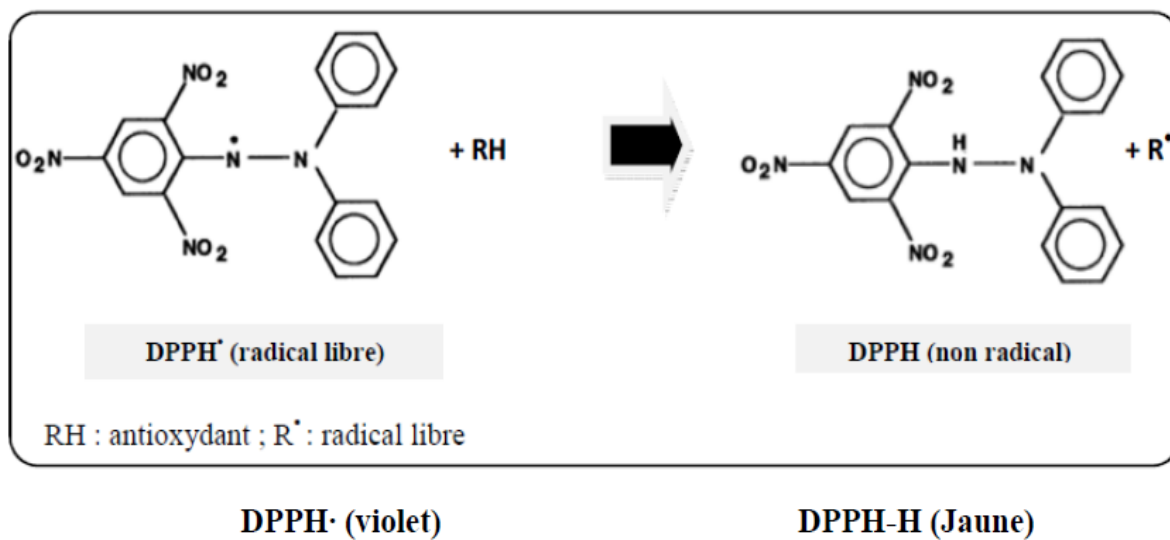
Les antioxydants sont soupçonnés d'intercepter le processus d'oxydation des radicaux libres en fournissant de l'hydrogène provenant des groupes phénoliques hydroxyles, ce qui conduit à la création d'un produit final stable qui n'initie ni ne propage l'oxydation des lipides. (Amarowicz et al., 2004).

L'activité antioxydante des deux HEs *vis-à-vis* du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie suivant la réduction de ce radical qui se manifeste par un changement de couleur du violet au jaune, mesuré à une longueur d'onde de 517 nm. Les antioxydants qui cèdent des atomes d'hydrogène (RH) ont la capacité de réduire le DPPH•, transformant ainsi ce radical en 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H).

### ◆ Principe

Le DPPH est un radical stable qui présente un électron non apparié sur l'atome d'azote, se distinguant par sa teinte violette et une absorption spectrale maximale à 517 nm.

En présence d'un antioxydant, l'électron célibataire devient apparié, provoquant ainsi le changement de couleur du DPPH, passant du violet (sous forme radicalaire DPPH•) au jaune (forme réduite DPPH-H). Cette transformation chromatique traduit la capacité de l'échantillon à piéger ce radical.



**Figure 10. Structure chimique du DPPH• et le mécanisme de sa réduction par un antioxydant.**

### **◆ Procédure expérimentale**

La méthode d'évaluation de l'activité antioxydante a été appliquée conformément au protocole détaillé par **Noumi et al. (2011)**. À 1 ml des différentes concentrations d'échantillons préparées dans l'éthanol, 250 µl d'une solution éthanolique de DPPH préparée à une concentration de 0,2 mM sont ajoutés. Après incubation de 30 min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517 nm. Le contrôle négatif consiste à substituer l'échantillon par de l'éthanol, et les résultats sont présentés sous forme de pourcentage d'inhibition du radical DPPH°, calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{L'Activité anti-radicalaire (\%)} = (A_0 - A / A_0) \times 100$$

**Où :**

**A<sub>0</sub>** : Absorbance de la solution du DPPH • sans l'échantillon (contrôle négatif) ;

**A** : Absorbance de la solution du DPPH • en présence de l'échantillon.

Les pourcentages du DPPH° résiduels en fonction des concentrations des échantillons, nous permettent de déterminer la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire de moitié la concentration initiale de DPPH°. Cette mesure est désignée sous le nom de concentration efficace EC50, également parfois notée IC50.

**NB : L'acide ascorbique a été utilisé comme contrôle positif, dans l'évaluation de l'activité antioxydante (DPPH), aux mêmes concentrations choisies et dans les mêmes conditions expérimentales.**

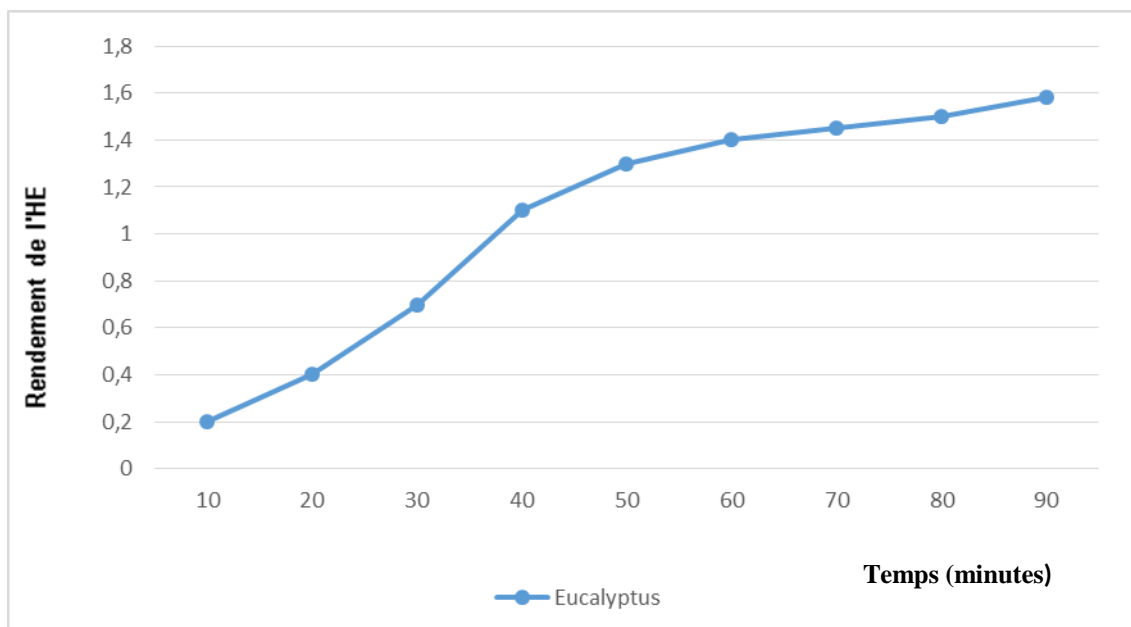
***PARTIE III. RESULTATS & DISCUSSION***

---

## A. Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*

### 1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle d'eucalyptus et rendement

La cinétique d'extraction consiste à déterminer le rendement en fonction du temps d'extraction et a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et éviter les pertes de temps et d'énergie. A partir de la formule du RHE (%), nous avons obtenu les résultats illustrés dans le graphique n°11.



**Figure 11. Cinétique d'extraction de l'HE d'*Eucalyptus globulus***

La cinétique d'extraction de l'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus* indique que le rendement de cette dernière augmente en fonction du temps et atteint un maximum de 1,58% au bout de 90 min.

En effet, l'huile d'eucalyptus est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau à partir des feuilles et le rendement d'extraction obtenu est en général compris entre 1 et 3% (**Boukhatem et al., 2017**). La valeur retrouvée lors de notre étude qui est de l'ordre de 1.58% est similaire aux valeurs obtenues dans diverses recherches. De même, **Mulyaningsih et al., (2010)**, **Ghaffar et al., (2015)** ; **Cabrera et al., (2015)** ; **Benziane et al., (2009)** ont rapporté des valeurs de rendement similaires qui sont respectivement 1.6%, 1.89%, 1.31/1.49% et 1.21%. D'un autre côté, **Bey-Ould Si Saida et al., (2015)** ont enregistré un rendement d'extraction de cette huile dans la région de Bejaia (centre Algérien) d'environ 2.53%, ce qui est nettement supérieur à la valeur notée lors de l'extraction de notre huile.

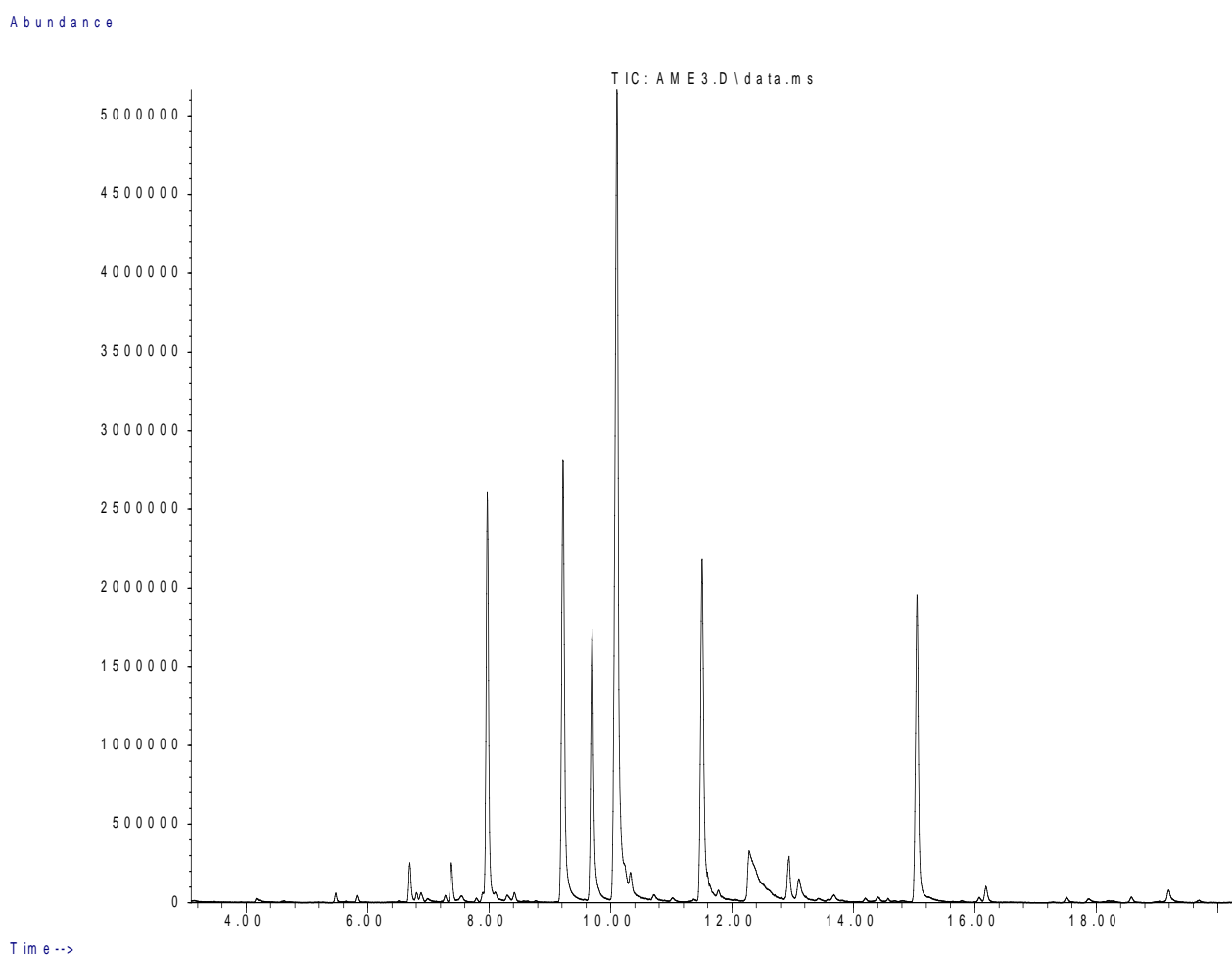
Effectivement, plusieurs études menées en Algérie ont révélé des rendements d'extraction de l'huile d'eucalyptus différents d'une région à une autre tels que **Atmani-Merabet et al., (2018)** dans la région de Constantine avec un taux de 0.93% ; **Rekioua et al., (2022)** à El-Tarf avec 1.65% et enfin **Mokkadem-Daroui et al., (2010)** dans la région de Constantine avec 2.5%.

Cette différence dans les rendements d'extraction dépend de plusieurs facteurs qui peuvent affecter les teneurs en HE tels que des facteurs environnementaux, agronomiques, âge, génotype et géoclimatiques (**Gilles et al., 2010**). De plus, les pourcentages de récupération des huiles peuvent être influencé par les conditions ainsi que la méthode d'extraction utilisée (**Bagheri et al., 2014**).

## **2. Composition chimique de l'HE extraite de l'*Euaclyptus globulus***

Les résultats de l'analyse chimique de l'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus*, réalisée par la CPG-SM, sont résumés dans la figure n°14 ainsi que le tableau n°4.

Cette analyse a décelé 20 composés (Tableau 4, Figure 14). Cette huile est composée majoritairement par le linalol qui représente 30.09 % de la totalité de l'huile, suivie par le b-Linalyl oxide (13.93%), le Camphre (12.09%), le 1,8-Cineole=eucalyptol (10.95 %) et le Bergamol (10.03%). D'autres constituants ont été identifiés à des teneurs relativement moyennes comme l'epoxylinalol (8.82%), le Borneol (5.71%) , le Hexyl Butyrate (1.41%), le 1-Octen-3-Yl Acetate (1.30%) et le alpha-Terpineol (1.1%). Cette analyse a également identifié des quantités assez faibles d'autres composés dont les teneurs ne dépassent pas les 1% du total.



**Figure 12. Profil chromatographique CPG-MS de l'HE d'*E. globulus* (Abondance en fonction du temps de rétention en minutes).**

Tableau 4. Composition chimique de l'HE d'*E. globulus* analysée par CPG-SM.

N°	Temps de rétention	Teneur (%)	composé
1	5.479	0.19	alpha-Pinene
2	6.697	0.95	3-Octanone
3	6.806	0.20	Beta-Myrcene
4	6.881	0.24	Anhydrolinalool Oxide
5	7.378	0.88	Hexyl Acetate
6	7.973	<b>10.95</b>	<b>1, 8-Cineol (eucalyptol)</b>
7	8.105	0.39	Cis-Ocimene
8	8.420	0.27	Bêta-ocimene
9	9.221	<b>13.93</b>	<b>b-Linalyl oxide</b>
10	9.696	8.82	<b>Epoxylinolol</b>
<b>11</b>	10.108	<b>30.09</b>	<b>Linalol</b>
12	10.331	1.30	1-Octen-3-yl acetate
13	11.510	<b>12.09</b>	Camphor
14	11.779	0.44	cis-Dihydrocarvone
15	12.288	5.71	Borneol
16	12.940	1.41	Hexyl butyrate
17	13.106	1.11	(-)-alpha-Terpineol
18	15.052	<b>10.03</b>	Bergamol
19	16.184	0.52	Lavandulyl acetate
20	19.194	0.48	Geranyl Acetate

En réalité, toutes les variétés d'eucalyptus ne possèdent pas les mêmes constituants mais certains sont présents dans la majorité des cas, et ces derniers sont bien souvent les molécules qui sont à l'origine des bienfaits thérapeutiques attribués à l'eucalyptus (**Louppe, 2008**). En effet, le 1,8-cinéole ou eucalyptol représente généralement 70 à 80 % de l'HE et les autres constituants sont très divers, nombreux et minoritaires (**Boukhatem et al., 2017**). Ce principe actif (1,8- cinéole) représente le marqueur génétique de cette espèce. Ainsi, des teneurs approximatives de 70% de ce composé sont exigées pour l'utilisation de l'huile d'eucalyptus en pharmaceutique. Plusieurs autres composés (au moins 250) viendront compléter la liste des vertus médicinales de l'eucalyptus tels que : Pinène, limonène, citronellal, cryptone, pipéritone...etc (**Silvant, 2015 ; Leicach et al., 2012**).

Cependant, notre HE s'avère être différente en ce qui concerne les teneurs en composés chimiques où le composé majoritaire est le Linalol (monoterpène) et non pas le 1,8- Cineole. Cette différence a été rapporté par plusieurs auteurs, par exemple **Bey-Ould si saïda et al., (2016)** ont trouvé que le Globulol était le composé dominant avec 23,6% suivi par le monoterpène 1.8 cineole avec 19.8%. De même, **Mulyaningsih et al., (2010)** ont rapporté la prédominance de l'aromadendrène (31,2%) et du globulol (10,7%), suivi par le 1.8-cinéole (14,5%). Dans le même sillage, on remarque que la composition de l'HE extraite des feuilles *d'eucalyptus globulus* récoltées dans la région de Seraidi (Est- Algérien) est différente de celle extraite de plantes récoltées dans d'autres régions de l'Algérie où des études ont rapporté la prédominance du 1.8-cinéole comme à Constantine (Est algérien) (**Atmani-Merabet et al., 2018**), à Blida (**Boukhatem et al., 2014**) et à Tizi-ouzou (**Djenane et al., 2011**). De même, la composition chimique de cette huile extraite de plantes récoltées dans d'autres contrées (Maroc, Brésil, Argentine) est riche en 1.8 cinéole, le rendement de ce dernier varie d'un pays à un autre, où les valeurs sont respectivement de 22.4, 83,9 et 62.1% (**Benziane et al., 2009 ; Bevilaqua et al., 2009 ; Cabrera et al., 2015**).

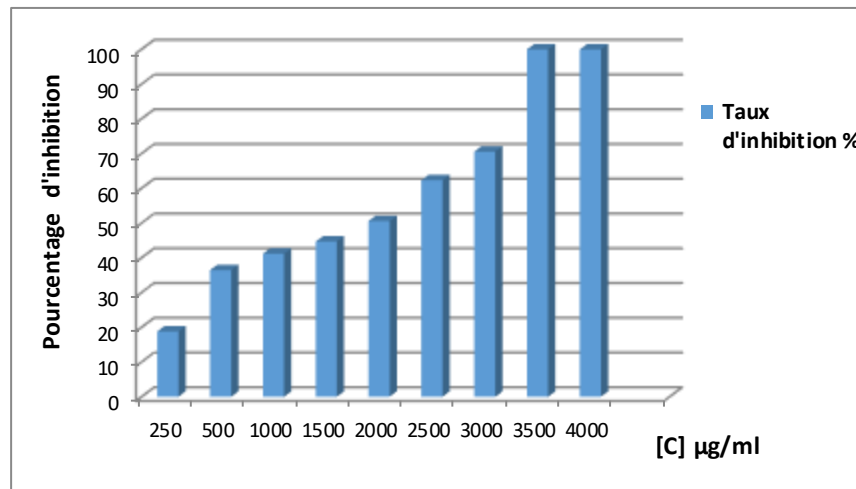
Cette variabilité dépend des facteurs pédoclimatiques qui influencent ainsi le profil chromatographique des extraits des plantes mais aussi des périodes de récoltes, de la photo-périodicité, la température, la pluviométrie, l'altitude ainsi que la nature du sol (**Boukhatem et al., 2017**). D'un autre côté, la variation entre les groupes de composés peut résulter aussi de la co-régulation de plusieurs gènes biosynthétiques, contrôlant les profils terpéniques complexes dans les différentes parties de la plante (**Andrew et al., 2013**).

### **3. Activités biologiques**

#### **3.1. Activité antifongique de l'HE d'eucalyptus**

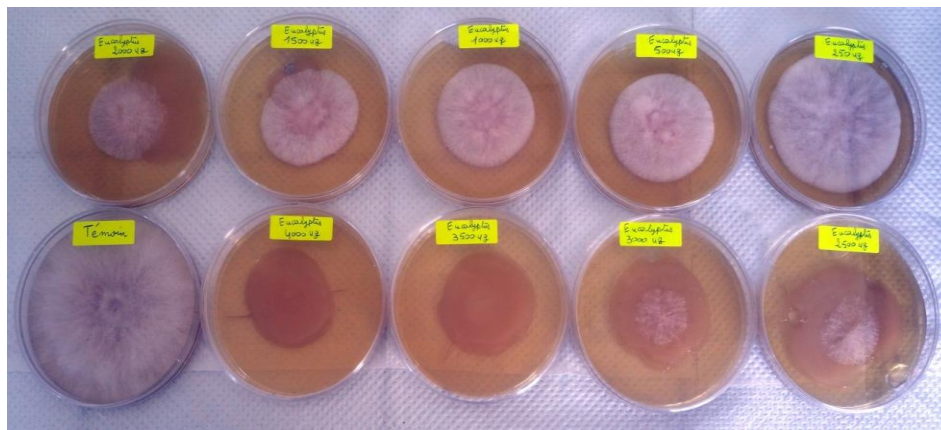
Dans la figure 13, qui représente l'effet de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la croissance mycélienne de *Fusarium roseum*, on constate qu'après 7 jours d'incubation

un effet inhibiteur des doses appliquées est enregistré, et qui atteint son maximum (100%) aux deux plus fortes concentrations soit 3500 et 4000 µg/ml.



**Figure 13. Effet de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la croissance mycélienne de *Fusarium roseum* (activité antifongique)**

Aussi, on remarque que jusqu'à la concentration 2000µg/ml, les pourcentages d'inhibition ne dépassent pas les 50% ce qui est confirmé par la densité du mycélium de fusarium qui est réduit de moitié par rapport au témoin (photo 03).



**Photo 03. Effet de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la croissance radiale de *Fusarium roseum* (photo personnelle)**

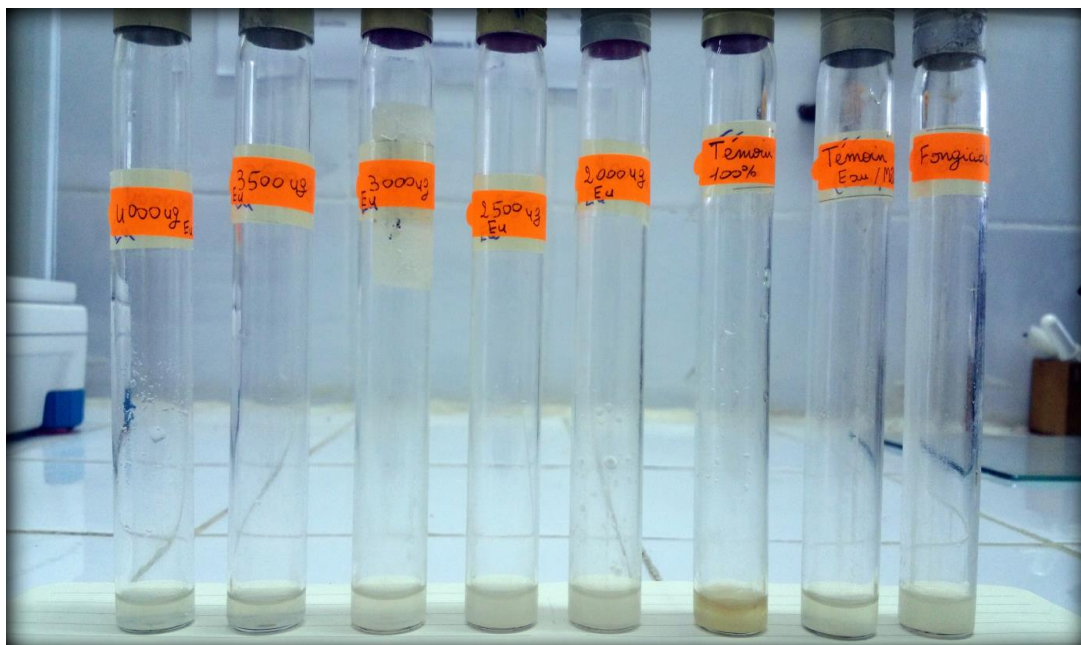
➤ **Détermination de la CMI et CMF**

L'évaluation de la CMI et CMF sur milieu liquide en utilisant des doses allant de **2000 µg/ml à 4000 µg/ml** (Tableau 5) a démontré que la dose 2500µg/ml est la CMI et que la dose 4000µg/ml représente la CMF où il n'y avait aucune croissance détectée.

Les doses 4000 et 4500µg/ml se sont avérées être les plus toxiques sur le champignon phytopathogène.

**Tableau 5. CMI et CMF de l'HE d'*Eucalyptus globulus***

Les doses de HE (µg/ml)	2000	2500	3000	3500	4000
<i>Fusarium roseum</i>		CMI			CMF



**Photo 4. Détermination de la CMI de l'HE d'*Eucalyptus globulus* (Photo personnelle)**

Plusieurs auteurs ont étudié le potentiel antifongique de l'HE *d'Eucalyptus globulus*. **Barbosa et al., (2016)** ont évalué cette huile contre diverses espèces fongiques et ont mis en évidence une activité antifongique contre plusieurs espèces de champignons (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum*, *Saccharomyces cerevisiae*...etc.)

De même, **Tyagi, et Malik (2011)** ont rapporté des CMI de cette huile qui variaient entre 2,25 et 9 mg/ml. Par exemple pour *Fusarium oxysporum*, une CMI de 4,5 mg/ml a été signalée. Ces observations corroborent nos résultats où nous avons noté une CMI de l'HE *d'Eucalyptus globulus* de 3500µg/ml. Aussi, **Dakov et al., (2011)** ont signalé l'efficacité de l'huile essentielle d'eucalyptus (deux fois plus efficace) par rapport à la nystatine (antifongique) dans le traitement de certaines infections fongiques de la peau, du tractus intestinal, de la bouche et du vagin. **Almeida et al., (2009)** ont également rapporté l'efficacité de cette huile contre *Aspergillus flavus* ainsi que *Aspergillus parasiticus*. Ils ont réalisé une expérience dans laquelle ils ont exposé ces deux espèces à deux solutions différentes : une première solution contenant l'HE d'eucalyptus et une deuxième contenant le 1,8-cinéole seul. Les résultats obtenus ont démontré que l'huile *d'Eucalyptus globulus* est plus efficace, en inhibant la croissance mycélienne des deux espèces d'aspergillus. Cependant, le 1,8-cinéole seul n'a pas d'effet sur les mycéliums prouvant ainsi que ce dernier n'est pas le seul responsable de l'activité antifongique de cette huile mais c'est plutôt l'action synergique entre les différentes molécules qui composent l'huile (**Koziol, 2015**) ce qui vient conforter nos résultats.

En effet, les HEs d'Eucalyptus sont dotés de plusieurs propriétés antivirales, antifongiques, insecticides, antidouleurs mais sont très utilisés pour leurs vertus mucolytiques et expectorantes dues à leur forte teneur en 1,8-cinéole (**Lobstein et al., 2018**). En revanche, notre étude a permis de déceler une activité antifongique pratiquement pour toutes les doses appliquées face à la prolifération mycélienne de *Fusarium* et ce malgré les faibles teneurs signalées en 1,8-cinéole par rapport aux autres composants. Ceci est donc probablement liée à son profil chimique notamment

la présence du linalool comme composant majeur. Ce dernier est un alcool monoterpénique largement présent comme constituant majeur des huiles essentielles végétales, en particulier la lavande et la coriandre.

Des recherches antérieures ont rapporté que le linalol est une molécule qui affecte l'intégrité membranaire perturbant ainsi la biosynthèse de l'ergostérol et pourrait également bloquer le cycle cellulaire de la souche cible (**Khan et al., 2010, Zore et al., 2011**). Il n'est pas toxique en soi et, selon de récentes études scientifiques in vitro et in vivo, il a été démontré qu'il possède une gamme complète de propriétés bioactives, lui permettant d'être utilisé en cosmétique et pharmaceutique (**Peirera et al., 2018**). Effectivement, le linalol est connu comme étant un composé antibactérien efficace et ayant également des propriétés antifongiques (**Peirera et al., 2018**). Il a été rapporté que ce composé était efficace contre *Candida spp.* et en particulier *Candida albicans* qui sont des composants communs du microbiote normal des humains se trouvant généralement dans la cavité buccale, les voies respiratoires et intestinales ainsi que la cavité vaginale avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 8 mM (**Hsu et al., 2013**).

**Hermann et al. (2016)** ont rapporté que le linalol a le potentiel d'améliorer considérablement l'efficacité antimicrobienne d'autres huiles essentielles permettant ainsi de réduire la concentration de ces dernières dans les produits finaux. En effet, l'ajout du linalol à l'huile de *S. aromaticum* de manière synergique améliore son efficacité antimicrobienne contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Aspergillus brasiliensis*. De plus, l'interaction additive entre cette huile et le linalol a été observée contre *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Candida albicans*. Il a également été constaté que le linalol, de manière additive, stimulait l'activité antimicrobienne de l'huile de *Thymus vulgaris* contre *Pseudomonas aeruginosa*. Malgré les faibles teneurs du 1,8-cinéole enregistrées, l'HE d'eucalyptus de la région de Séraïdi s'est avérée très efficace contre *Fusarium roseum* qui est due probablement à la présence du linalol. Certains auteurs ont attribué le pouvoir antimicrobien des HEs à la présence des monoterpènes oxygénés en taux élevés (**Marzoug et al., 2011**) et qui peuvent engendrer des altérations sur les parois des souches cibles par leur solubilisation élevée (**Hammer et al., 2003**). Parallèlement, à ne pas négliger la présence d'autres

substances telles que le b-Linalyl oxide, le bergamol et le camphre et dont la synergie peut avoir un effet antifongique sur ces champignons. Le camphre par exemple est une molécule qui possède plusieurs propriétés : antimicrobien, antitussif, analgésique, insecticide et activateur de pénétration cutanée (Khine et al., 2009).

### 3.2. Activité antibactérienne de l'HE d'eucalyptus

Les valeurs obtenues concernant l'effet antibactérien de l'HE d'*Eucalyptus globulus* sur la souche bactérienne *Pseudomonas savastanoi* sont regroupées dans le tableau ci-dessous. On remarque que le diamètre d'inhibition augmente en fonction des concentrations croissantes d'HE d'eucalyptus. Il est de 11 mm à la plus faible concentration (2500 µg/ml) et atteint son maximum à la plus forte concentration (4000µg/ml) où il est le double soit 22 mm.

**Tableau 6. Détermination du pouvoir antibactérien de l'HE d'*Eucalyptus globulus***

Concentrations	2500 µg/ml	3000 µg/ml	3500 µg/ml	4000 µg/ml
<i>Diamètre</i>	11mm	14mm	18mm	22mm



**Photo 5. Effet de L'HE d'Eucalyptus sur la croissance de *Pseudomonas savastanoi***

Selon la classification établie par De Billerbeck (2007), il a classé les antibiotiques selon leurs valeurs du diamètre d'inhibition (Résistant :  $D < 6\text{mm}$  ; intermédiaire :  $13\text{mm} > D > 6\text{mm}$  ; sensible :  $D > 13$ ) et a utilisé cette gamme pour déterminer l'activité antibactérienne des HEs en comparant les diamètres de ces dernières avec celles des antibiotiques. En comparant avec cette gamme, il s'avère que la souche utilisée dans notre expérimentation semble être sensible et ce à partir de

la concentration d'HE d'eucalyptus de 3000µg/ml où le diamètre d'inhibition est de 14mm, alors que la concentration 2500 µg/ml s'avère moyennement active avec un diamètre d'inhibition rapporté de 11 mm. Ces résultats vont dans le même sens de plusieurs recherches comme celles de **Luis et al., (2016)** qui ont rapporté le pouvoir antibactérien des HEs d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus radiata* contre des gram-négatives (*Acinetobacter baumannii*).

De même, **Merghni et al., (2018)**, qui ont signalé le potentiel antibactérien de l'HE d'*Eucalyptus globulus* face à la souche *Staphylococcus aureus*. En effet, les effets antibactériens des HEs et de leurs constituants majoritaires se sont révélés efficaces contre certains agents bactériens (**Bouyahia et al., 2017 ; Nazzaro et al., 2013**) où plusieurs auteurs ont confirmé leur effet bactériostatique et bactéricide même parfois à des concentrations très faibles (**Sugumar et al., 2014**). Les HEs agissent sur le cytoplasme et sur l'enveloppe cellulaire externe induisant ainsi une perturbation des structures bactériennes avec augmentation de la perméabilité membranaire due à une incapacité à séparer les HEs de la membrane bactérienne (**Bouhdid et al., 2009 ; Bouhdid et al., 2010**). Le mécanisme d'action de ces huiles peut donc être attribué à l'interaction entre les composants de ces dernières et les constituants membranaires (**Benchaar et al., 2008**). Leur efficacité est liée à leur hydrophobicité qui leur permet de s'intégrer dans les lipides membranaire et mitochondriales les rendant ainsi perméables ce qui entraîne des fuites du contenu cellulaire (**Horvathova et al., 2014**). D'innombrables molécules qui composent les HE sont dotées de pouvoirs antibactériens comme les phénols (carvacrol, thymol et eugénol), les alcools (linalool) et les aldéhydes (cinnamaldéhyde). Grâce à la présence de 1,8-cinéole, l'HE d'*Eucalyptus globulus* est antibactérienne et cicatrisante. Elle est particulièrement active contre : *Shigella flexneri*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Proteus mirabilis* et *Enterobacter aerogenes*. Cependant, elle n'est pas active sur *Escherichia coli* ou *Pseudomonas aeruginosa* (**ESCOP, 2009**).

Cependant, l'HE d'*Eucalyptus globulus* utilisée dans notre travail n'est pas très riche en 1,8-cinéole mais elle est efficace contre la souche *Pseudomonas savastanoi*, bien que l'inefficacité de cette huile contre *Pseudomonas aeruginosa* ait été

mentionnée par plusieurs auteurs prouvant ainsi que l'activité antibactérienne dépend aussi de la sensibilité de la souche utilisée. Par ailleurs, notre huile est riche en linalool, ce dernier est connu comme ayant une excellente activité antibactérienne. Cette activité de linalool se traduit par la perturbation des parois cellulaires bactériennes en inhibant l'activité enzymatique et en supprimant la traduction de certains produits de gènes régulateurs (Park et al., 2012). Il a été rapporté que plusieurs facteurs peuvent influencer les effets antibactériens de l'huile comme la méthode utilisée pour ces tests, la nature chimique de l'HE étudiée ainsi que les bactéries testées (Delaquis et al., 2002). Aussi, cela peut dépendre à la fois des molécules majoritaires, des effets synergiques et/ou additifs et des composés mineurs qui y sont présents (Mouray et al., 2002).

### 3.3. Pouvoir antioxydant de l'HE d'eucalyptus (Test du DPPH)

Le taux d'inhibition du DPPH mesuré en fonction de l'HE d'eucalyptus est enregistré dans la figure 14 où on remarque que les pourcentages d'inhibition augmentent en fonction des concentrations croissantes d'HE d'eucalyptus appliquées pour atteindre un maximum de 82% à la plus forte concentration soit 100mg/ml, mais qui restent néanmoins inférieures comparées à celle de la Vit C (84,45%). On constate que la Vit C atteint les 80% à 50mg/ml ce qui représente la moitié de l'HE d'eucalyptus, ce qui prouve l'inefficacité de cette huile par rapport à la Vit C.

Ces résultats nous ont également permis de déterminer la CI50 pour l'HE d'*Eucalyptus globulus* qui équivaut à 17 mg/ml.

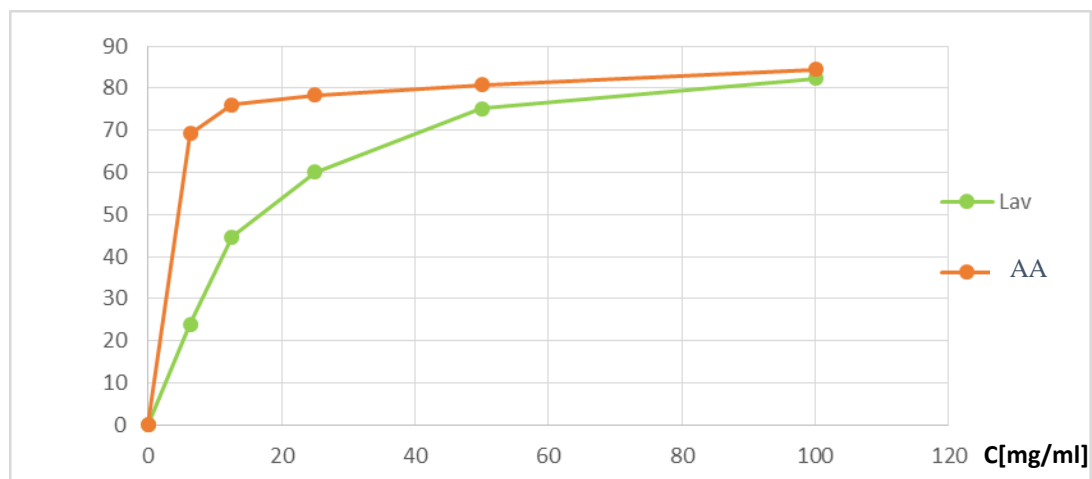


Figure 14. Détermination de l'activité anti-oxydante de l'HE d'*Eucalyptus globulus* comparée à l'acide ascorbique (AA).

En effet, plusieurs HEs possèdent de bonnes propriétés antioxydantes, qui peuvent être exploitées pour protéger d'autres matériaux, tels que les aliments et leur rancissement (**Amorati et al., 2013**). De plus, le linalol s'est avéré avoir un effet anti-radicalaire et inhibiteur de la peroxydation lipidique, dont les propriétés pourraient en faire une alternative potentielle aux antioxydants synthétiques. Par exemple, l'utilisation d'huile essentielle de coriandre ou bien du linalol peut améliorer la durée de conservation des aliments, étant extrêmement bénéfique pour l'industrie alimentaire compte tenu de l'origine naturelle de ces composés (**Pereira et al., 2018**). Ces attributs sont dus au pouvoir antioxydant de certains de leurs constituants, notamment les phénols qui préviennent l'oxydation des produits en neutralisant les radicaux libres, en piégeant l'oxygène ou en décomposant les peroxydes (**Pereira et al., 2018**).

De leur côté, **El-Ghorab et al., (2002)** rapportent un pouvoir antioxydant modéré pour l'huile de fruit volatile d'*Eucalyptus camaldulensis var. brevirostris* et ce en inhibant la dégradation oxydative de l'acide linoléique (20%) après 12 jours. En revanche, les HEs des parties aériennes d'*Eucalyptus camaldulensis Dehnh*, poussant à l'état sauvage dans différentes localités de Sardaigne (Italie), ont révélé une activité antioxydante (dosage DPPH) comprise entre 0,5 et 5,8 mmol/ L (**Barra et al., 2010**). Nos résultats diffèrent de ceux retrouvés en utilisant des HEs commercialisées de feuilles d'*E. globulus* tunisiennes où les IC50 étaient de 0,057- 0,048 et 0,048 mg/mL (**Noumi et al., 2011**) et aussi des HEs hydrodistillées à partir des feuilles indiennes d'*Eucalyptus citriodora* (les valeurs IC50 étaient de  $0,425 \pm 0,006$  ;  $0,087 \pm 0,009$  ;  $0,01 \pm 0,008$  g/mL) pour les trois tests d'antioxydants réalisés (**Singh et al., 2012**) et ce comparativement à l'IC 50 enregistrée au cours de notre étude qui est largement supérieure à ces valeurs (17mg/ml).

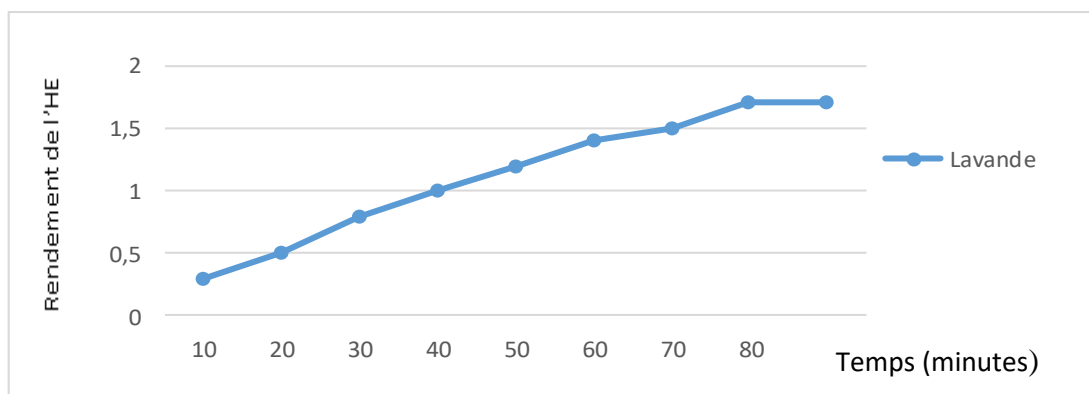
En effet, la CI50 est inversement proportionnelle à l'action anti radicalaire (anti-DPPH), une CI50 faible correspond à une activité antioxydante élevée et vice-versa ce qui laisse penser que l'HE d'*Eucalyptus globulus* de Séraïdi est dotée d'une activité anti radicalaire assez modérée. Le pouvoir antioxydant peut donc être attribué à la nature chimique des huiles essentielles. Cependant, elle peut être due soit à l'une des molécules majoritaires ou à d'autres minoritaires ou également soit à une synergie entre ces derniers. Notre HE contient des monoterpènes à des taux variés. Cependant,

les huiles contenant les monoterpènes comme molécules prédominantes ont montré une activité assez modeste, ce qui a été démontré par plusieurs études. Par exemple **Ruberto et Barata, (2000)** ont attribué le modeste potentiel antioxydant de l'HE du *Laurus nobilis* à la présence de monoterpènes oxygénés dont le 1,8-cinéole qui a été signalé comme un faible antioxydant avec une IC50 assez élevée 9,360 mg/ml. Encore une fois, on peut attribuer cette différence d'activité à la différence de composition chimique, aux facteurs environnementaux, agronomiques, d'âge et géoclimatiques, aux techniques d'extraction, aux conditions de stockage et aux conditions expérimentales d'extraction (**Boukhatem et al., 2014**).

## B. Huile essentielle de *Lavandula angustifolia*

### 1. Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de lavande et rendement

A partir de la formule du RHE (%), nous avons pu déterminer le rendement en fonction du temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile. Les résultats obtenus sont représentés dans la figure n° 15.



**Figure 15. Cinétique d'extraction de l'HE de *Lavandula angustifolia***

La cinétique d'extraction de l'HE de *Lavandula angustifolia* indique que le rendement de cette dernière augmente en fonction du temps et atteint un maximum de 1.71% au bout de 80 min. En général, les quantités d'HE produites par les plantes sont minimales, entraînant des rendements d'extraction extrêmement faibles, généralement inférieurs à 2% (**Boukhatem et al., 2019**) ce qui est en parfait accord avec les valeurs retrouvées lors de notre étude.

En effet, plusieurs auteurs ont rapporté des valeurs de rendement similaires de l'HE de lavande tels que **Carrasco et al., (2015)** ; **Tardugno et al., (2018)** ; **Adaszynska-Skwirzynska et al., (2023)** avec respectivement 1.5%, 1.67% et 1.92%. De même, **Elharas et al., (2013)** qui ont signalé un rendement de 1.5% de l'HE de lavande extraite de plantes cultivées au Maroc. D'un autre côté, **Benyagoub et al., (2014)** ont enregistré un rendement d'extraction de l'HE de *Lavandula angustifolia* à partir de plantes récoltées à Tlemcen (Ouest Algérien) d'environ 4,12%, ou encore **Luu Thai Danh et al., (2012)** dans la région de Victoria (Australie) avec 4,6% ce qui est nettement supérieur à la valeur notée lors de l'extraction de notre huile.

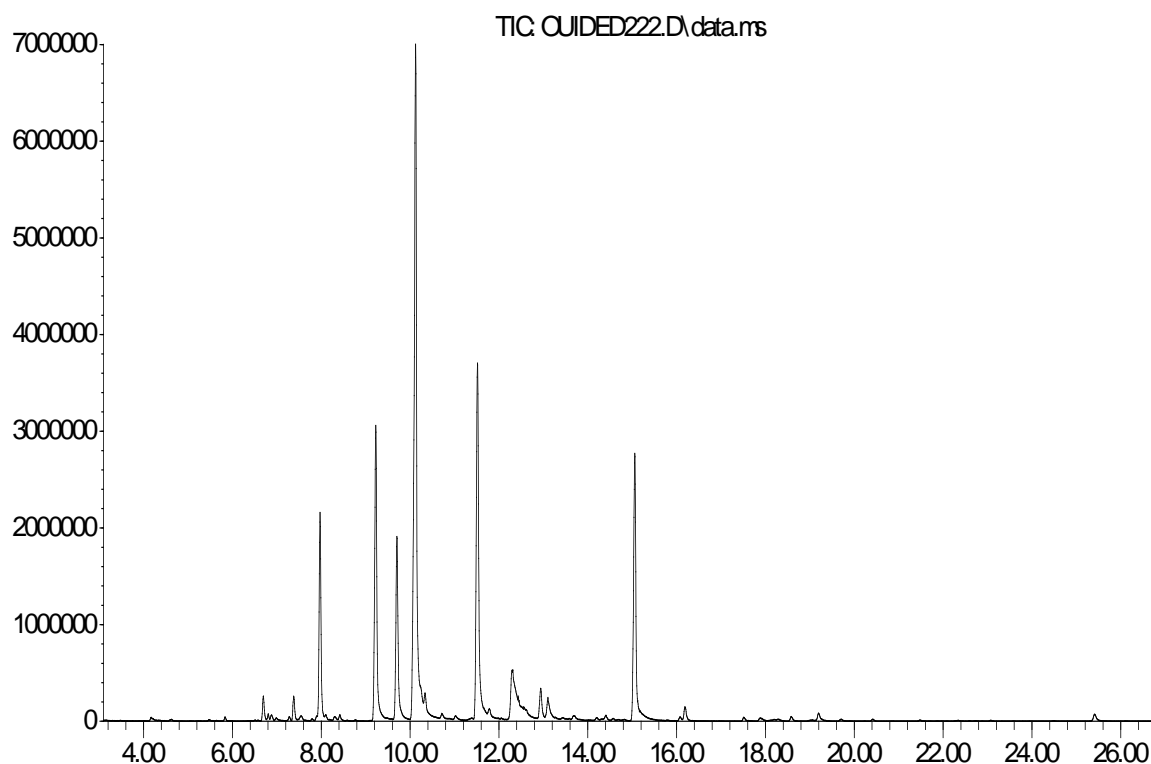
Effectivement, plusieurs études menées en Algérie et ailleurs ont révélé des rendements d'extraction de l'HE de *Lavandula angustifolia* différents d'une région à une autre tels que **Sidi-Moussa, (2012)** dans la région de Blida avec un taux de 0,11% ou encore **Biljana Blažekovića et al., (2018)** dans la région de Zagreb en Croatie centrale avec 0,9%. On pourrait attribuer cette différence dans les rendements d'extraction à plusieurs facteurs qui peuvent affecter les teneurs en HE tels que des facteurs environnementaux, agronomiques, âge, génotype et géoclimatiques (**Gilles et al., 2010**) et aussi à la saison de récolte, la méthode et les conditions d'extraction ainsi que les pourcentages de récupération (**Bagheri et al., 2014**) sans oublier l'interaction avec l'environnement ainsi que les niveaux de maturation des fleurs de lavande (**Besombes, 2008**).

## **2. Composition chimique de l'HE de *Lavandula angustifolia***

L'analyse chimique de l'HE de *Lavandula angustifolia* par la GC-SM a décelé 20 composés (Tableau 7, Figure 16). Cette huile est composée majoritairement par le Linalol avec 31.27% suivie par le Camphre (16.21%) et le Linalyl Acetate (11.93%). Plus de la moitié de la quantité totale de l'huile est représenté par la teneur totale de ces trois molécules, ce qui corroborent les résultats obtenus précédemment par **Nasiri Lari et al., (2020)** ainsi que **Garzoli et al., (2021)**.

Les autres principaux composants secondaires comprennent des teneurs relativement moyennes comme le 2-Furanmethanol (7.49%), l'Eucalyptol =1,8-Cineole (6.76%), le Borneol (5.34%), le Linalool Oxide (5.93%) et l'Acétate de Lavandulyle (4.63%). Par rapport à d'autres études, de grandes différences existent dans les constituants principaux secondaires. En fait, cette différence est attribuée à de nombreux facteurs, y compris les méthodes d'extraction et de détection, l'origine géographique, le type de cultivar, le métabolisme adaptatif de la plante, la période de récolte, etc.

Abundance



Time->

**Figure 16. Chromatogrammes de l'HE de *Lavandula angustifolia* par CG-SM**

D'autre part, la caractérisation chimique a révélé des teneurs plutôt faibles d'autres constituants qui ne dépassent pas les 2% du total. En réalité, toutes les variétés de lavande ne possèdent pas les mêmes composants mais certains sont présents dans la majorité des cas et sont souvent responsables des bienfaits thérapeutiques de la

lavande. En effet, le Linalol et le Linalyl acétate représente généralement la majorité de l'HE et les autres constituants sont très divers, nombreux et minoritaires. Le linalool est un alcool monoterpénique largement présent comme constituant majeur des huiles essentielles végétales, en particulier la lavande et la coriandre. Il n'est pas toxique en soi et, selon de récentes études scientifiques in vitro et in vivo, il a été démontré qu'il possède une gamme complète de propriétés bioactives, pouvant être exploitées en pharmaceutiques et cosmétiques (Peirera et al., 2018).

**Tableau 7. Composés chimiques de l'HE *Lavandula angustifolia* (par CPG-SM)**

N°	Temps de rétention	Teneur (%)	Composés
1	6.697	0.79	3-Octanone
2	6.806	0.18	$\beta$ -Myrcène
3	6.880	0.20	Tétrahydrofurane
4	7.384	0.73	Hexyl Acetate
5	7.973	<b>6.76</b>	<b>Eucalyptol ; 1,8-Cineole</b>
6	8.420	0.21	$\beta$ -Ocimène
7	9.227	<b>11.98</b>	<b>Linalool Oxide</b>
8	9.707	7.49	2-Furanmethanol
<b>9</b>	10.125	<b>31.27</b>	<b><u>Linalool</u></b>
10	10.337	1.56	1-octen-3-yl Acetate
11	11.521	<b>16.21</b>	<b>Camphor</b>
12	11.784	0.66	Cyclohexane
13	12.299	5.34	Borneol
14	12.562	0.85	Triméthylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol
15	12.940	1.25	1-Hexyl butyrate
16	13.106	1.21	1-Cyclohexene-1-Methanol
17	15.063	<b>11.93</b>	<b>Linalyl Acetate</b>
18	16.190	0.63	Lavandulol Acetate
19	19.200	0.38	Lavandulol
20	25.414	0.39	Caryophyllene Epoxide

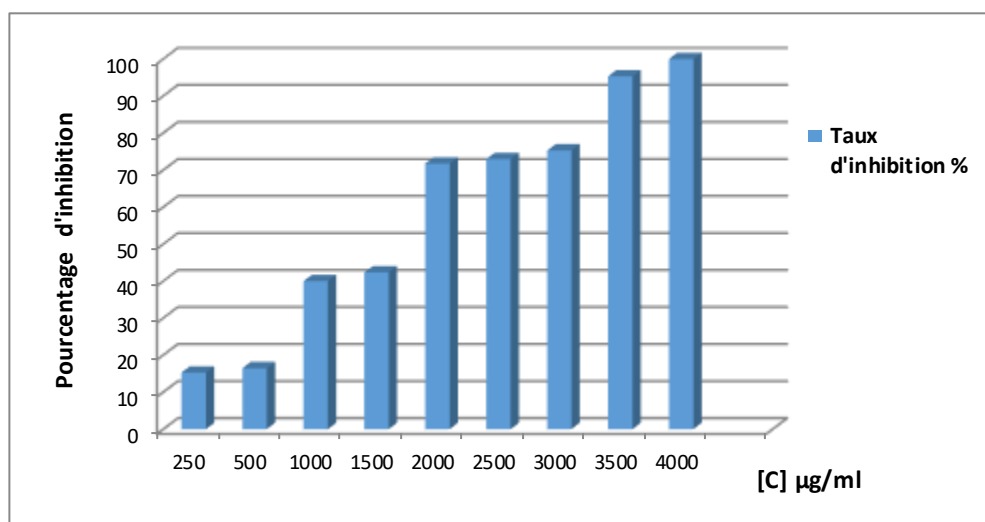
### 3. Activités biologiques

#### 3.1. Activité antifongique de l'HE de *Lavandula angustifolia*

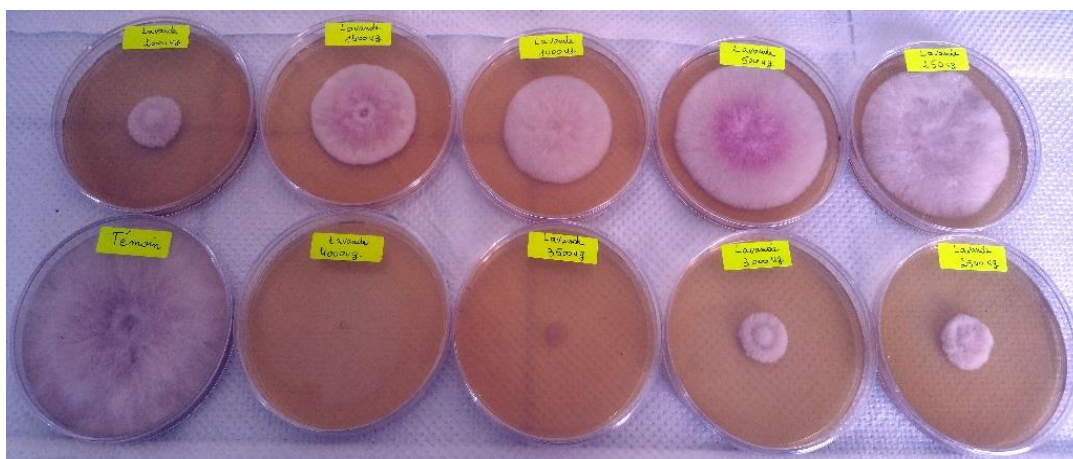
D'après la figure 17, qui représente l'effet de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur la croissance mycélienne de *Fusarium roseum*, on constate qu'après 7 jours d'incubation un effet inhibiteur des doses appliquées est enregistré, et qui est totale à la plus forte concentration soit 4000  $\mu\text{g/ml}$ .

Aussi, on remarque les pourcentages d'inhibition ne dépassent pas les 50% jusqu'à la concentration de 1500 $\mu\text{g/ml}$ , ce qui est confirmé par la densité du mycélium de fusarium qui est réduit de moitié par rapport au témoin (photo 6).

Enfin, les concentrations 2000, 2500 et 3000 $\mu\text{g/ml}$  ont un pourcentage d'inhibition moyen de 70% avec une réduction apparente du mycélium par rapport au témoin. Ainsi, cette huile semble être efficace contre ce champignon et ce à partir de 2000 $\mu\text{g/ml}$ .



**Figure 17. Effet de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur la croissance mycélienne de *Fusarium roseum* (activité antifongique)**



**Photo 6. Effet de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur la croissance radiale de *Fusarium roseum***

Les résultats des CMI et CMF sur milieu liquide en utilisant les doses entre **2000 µg/ml et 4000 µg/ml** (Tableau 8) ont révélé que la dose 3000µg/ml représente la CMI et que la dose 4000 µg/ml représente la CMF où aucune croissance n'a été détectée. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus sur milieu incorporé où les doses 3000 et 3500µg/ml se sont avérées être les plus toxiques sur le champignon phytopathogène.

**Tableau 8. CMI et CMF de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur *Fusarium roseum***

Doses de l'HE (µg/ml)	2000	2500	3000	3500	4000
<b>MIC</b>	+	+	-	-	-
<b>MFC</b>	NC	NC	+	+	-

(+) Prolifération (-) inhibition (NC) non concerné

En général, les HEs de Labiatae, dont appartient la lavande, sont les plus étudiées pour leurs propriétés antifongiques. D'innombrables recherches antérieures ont signalé l'efficacité de l'HE de *Lavandula angustifolia* (Danh et al., 2012 ; Miladinovic et al., 2012 ; Puškárová et al., 2017) et de ses principaux composants (linalol et acétate de linalyle) en inhibant la croissance des champignons (Adam et al., 1998). Ainsi, Zore et al., (2011) ont mis en exergue le potentiel antifongique du linalol contre *Candida albicans*. De même, Antov et al., (1997) et aussi Hakimi et al., (2020) qui ont montré le potentiel antifongique des HEs de lavande contre *A. alternata*, *B. cinerea* et *F. oxysporum*.

Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des HEs, il s'avère que l'activité fongistatique semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et al., 1988**). Cette activité antifongique diminue selon la fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Hydrocarbures (**Kalembe et Kunicka**). Bien que l'HE utilisée dans notre étude soit caractérisée majoritairement par une teneur élevée en alcools monoterpéniques, cétones et esters (linalol, camphre, acétate de linalyl), elle a tout de même montré une activité antifongique assez importante face à la souche *Fusarium roseum*. En effet, l'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique et aux possibles effets synergiques entre eux, et probablement aussi aux composés minoritaires qui agissent en synergie. Ainsi, on dit que l'effet due à l'intégralité des constituants de l'huile et non pas seulement à ses composés majoritaires c'est ce qu'on appelle « totum » (**Lahlou, 2004**). Cependant, et malgré cette activité antifongique apparente, les valeurs enregistrées de la CMI et CMF (2000µg/ml ; 3500µg/ml) sont assez élevées par rapport à d'autres études ce qui est due probablement à la résistance du champignon.

Effectivement, **Pepeljnjak et al., (2007)** ont mis en évidence la différence de sensibilité entre plusieurs genres face à l'HE de lavande et ils les ont classés ainsi :

*Penicillium cyclopium*>*Penicillium puberulum*>*Penicillium urticae*>*Penicillium viridicatum*>*Aspergillus flavus*>*Penicillium camemberti*>*Aspergillus clavatus*>*Penicillium roqueforti*>*Rhizopus nigricans*>*Aspergillus niger*>*Aspergillus nidulans*>*Aspergillus versicolor*>*Fusarium oxysporium*.

L'huile a révélé une activité fongicide sur tous les genres testés mais avec des CMF comprises entre 250 et 1000µg/ml nettement inférieures aux valeurs obtenues dans notre étude. De même, **Blažeković et al., (2018)** qui ont testé l'efficacité de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur 30 agents pathogènes et contaminants microbiens (bactéries et champignons) et ont enregistré ainsi des CMI très faibles allant de 0.25 à 3 mg/ml.

### 3.2. Activité antibactérienne de l'HE de *Lavandula angustifolia*

Selon les valeurs représentées dans le tableau 9, on remarque que le diamètre d'inhibition augmente en fonction des concentrations croissantes d'HE de lavande. Il est de 6 mm à la plus faible concentration (2500 µg/ml) et atteint son maximum à la plus forte concentration (4000µg/ml) où il est de 14mm.

**Tableau 9. Détermination de l'activité antibactérienne de l'HE *Lavandula angustifolia***

Concentrations	2500 µg/ml	3000 µg/ml	3500 µg/ml	4000 µg/ml
<i>Diamètre</i>	6mm	10mm	12mm	14mm

En comparant nos résultats avec la gamme établie par **De Billerbeck (2007)**, qui a classé les antibiotiques selon le diamètre d'inhibition (Résistant :  $D < 6\text{mm}$  ; intermédiaire :  $13\text{mm} > D > 6\text{mm}$  ; sensible :  $D > 13$ ) et a utilisé cette gamme pour déterminer l'activité antibactérienne des HEs, il s'avère que l'huile utilisée dans notre expérimentation semble avoir une activité antibactérienne intermédiaire pour les trois premières concentrations (2500, 3000 et 3500µg/ml) avec un diamètre d'inhibition allant de (6mm - 12mm), et uniquement sensible à la plus forte concentration (4000µg/ml) où le diamètre d'inhibition est de 14mm.

En poursuivant l'expérimentation afin de déterminer la CMI, nous n'avons noté aucune activité de l'HE de *Lavandula angustifolia* sur la bactérie à Gram négatif *Pseudomonas savastanoi* montrant ainsi une résistance totale sur toutes les concentrations de l'HE. Ceci est probablement dû à une perte des composés volatils de l'huile qui se produit lors du stockage et/ou lors de l'extraction. Aussi, il se pourrait que ce soit dû à l'évaporation produite durant l'incubation diminuant ainsi sa concentration, et par conséquent son potentiel antibactérien.

En effet, le linalol, est connu pour son large spectre antimicrobien et possède une activité relativement forte contre certains agents pathogènes importants y compris *Staphylococcus aureus*, aureus, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* (**Dias et al.**,

2017 ; Silva et al., 2017). Cependant, l'acétate de linalyle s'avère moins efficace que le linalol selon certaines recherches (Soković et al., 2010). Il est ainsi impératif de prendre en compte l'éventuel effet synergique des différents composés de cette huile car il pourrait être à l'origine de la réduction de l'activité antibactérienne de l'HE de lavande utilisée dans notre étude. D'un autre côté, la présence de camphre (16,21%) pourrait être à l'origine de ce pouvoir antibactérien, d'autant plus que ce composé possède lui-aussi des propriétés antibactériennes comme l'ont signalé plusieurs auteurs (Soković et al., 2007 ; Mahboubi et Kazempour, 2009).

D'un autre côté, Chebaïbi et al., (2015) ont révélé des diamètres d'inhibition inférieurs à 15 mm sur différentes espèces de bactéries ou encore ceux obtenus par Benyagoub et al., (2014) qui ont rapporté que l'HE de *L. angustifolia*, de la région de Tlemcen (Ouest Algérien), présente une activité moyenne contre *S. aureus* avec une inhibition de 18%. Il constate également que le pouvoir antibactérien de *L. angustifolia* est plus important chez les Gram positifs que chez les Gram négatifs, ce qui est due probablement à la présence de linalol et l' $\alpha$ -terpinéol qui sont très actifs sur les Gram positifs et même sur celles antibio- résistantes (Kotan et al., 2007). Ceci pourrait être aussi attribué aux différences qui existent dans la structure des couches externes des bactéries ; ainsi ces composés vont exercer leurs activités antimicrobiennes sur les bactéries par la perturbation de l'intégrité de la membrane (Swamy et al., 2016) perturbant ainsi la biosynthèse de l'ergostérol et pourraient aussi bloquer leurs cycles cellulaires (Zore et al., 2011).

Chez les bactéries à Gram négatif, la membrane externe, riche en lipo-polysaccharides, est chargée négativement ce qui empêche la diffusion des molécules hydrophobes et constitue ainsi une barrière efficace (Nikaido et al., 2003). Cependant, certains phénols (faible PM) peuvent se fixer aux protéines et aux lipo-polysaccharides membranaires des bactéries grâce à leurs groupes fonctionnels ce qui explique l'activité antibactérienne modérée de notre huile face à cette espèce bactérienne Gram négatif (*Pseudomonas savastanoi*).

Par ailleurs, il existe de nombreux autres facteurs qui influencent la composition chimique des huiles et ainsi leurs activités biologiques comme l'humidité, l'insolation, la nature du sol et la température. Des études menées récemment ont mis en évidence l'influence de l'altitude ainsi que la proximité de la mer sur son profil biochimique (Demasi et al., 2018). Ainsi, il a été déterminé pour la lavande (*Lavandula angustifolia*) qu'une plante poussant à haute altitude produisait jusqu'à 10% d'esters (acétate de linalyle) de plus qu'une plante se développant à une altitude moyenne.

### 3.3. Activité antioxydant de l'HE de *Lavandula angustifolia* (Test du DPPH)

Le taux d'inhibition du DPPH mesuré en fonction de l'HE de lavande est enregistré dans la figure (18) où on remarque que les pourcentages d'inhibition augmentent en fonction des concentrations croissantes d'HE appliquées pour atteindre un maximum de 67,06% à la plus forte concentration soit 100mg/ml et avec une  $IC_{50}$  qui équivaut à 48,4 mg/ml. Cependant, l'antioxydant standard (Acide ascorbique), utilisé à des fins comparatives, a révélé une activité anti-radicalaire supérieure à celle de l'HE de lavande (78%) avec une  $IC_{50}$  de l'ordre de 8,33 mg/ml. Par ailleurs, on constate que l'HE de lavande possède un faible pourcentage d'inhibition pour les faibles concentrations allant de (10 à 50 mg/ml). En revanche les fortes concentrations (60, 80 et 100mg/ml) entraînent une inhibition d'au moins 50% du radical libre révélant ainsi des activités importantes mais qui restent néanmoins inférieures à celle de la Vit C.

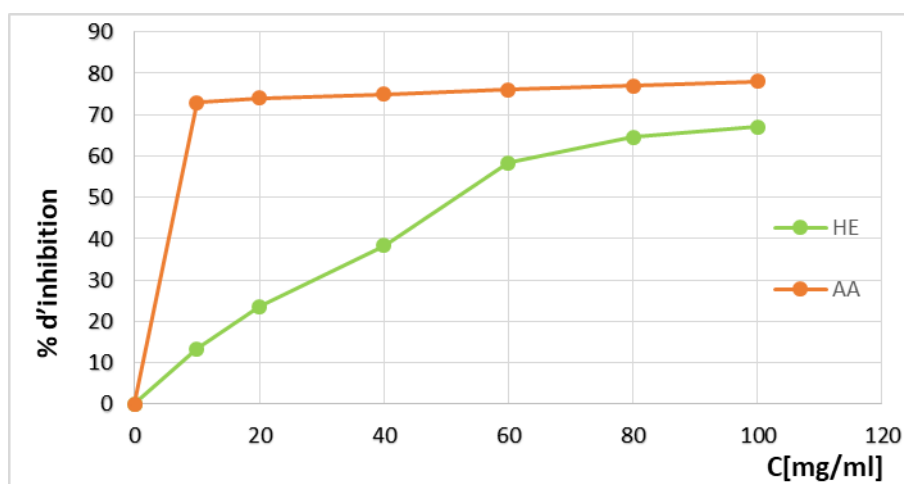


Figure. 18. Détermination de l'activité anti-oxydante de l'HE *Lavandula angustifolia* comparée à l'acide ascorbique (AA)

Le test du DPPH· est la plus ancienne méthode de détermination de l'activité antioxydante. Il a d'abord été proposé en 1950 pour découvrir H donateurs en matériaux naturels. Plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés alimentaires ainsi que des échantillons biologiquement pertinents (**Roginsky et Lissi, 2005**). Le DPPH est généralement utilisé comme réactif pour déterminer l'activité antiradicalaire des antioxydants (**Elmastas et al., 2006**). C'est un radical libre stable avec une absorption maximale à 517 nm. Lorsque le DPPH est en présence de substrat donneur de protons tel un antioxydant, l'absorbance est réduite (**Blois, 1958; Gülçin et al., 2009**).

Les capacités des échantillons testés à piéger le DPPH% ont été évaluées sur la base de leurs valeurs IC<sub>50</sub> qui sont inversement liées à leurs capacités antioxydantes, car elles expriment la quantité d'antioxydant nécessaire pour neutraliser la concentration des radicaux de 50%, ce qui laisse penser que l'HE de *Lavandula angustifolia* de Séraïdi est doté d'une activité anti radicalaire modérée par rapport à d'autres huiles d'origine différentes, par exemple l'IC 50 de l' HE de Croatie est de 27.7 ± 0.6 mg/ml (**Blažeković et al., 2018**) ou bien d'Italie avec 28.57 mg/ml (**Pistelli et al., 2017**) suggérant ainsi un pouvoir antioxydant modéré de cette huile.

Cependant, la meilleure activité antioxydante de cette huile a été noté par **Carrasco et al., (2016)** avec une IC<sub>50</sub> de 1,4±0,2µg/ml et qui ont signalé une meilleure activité de l'huile lorsqu'elle est extraite par distillation que par hydrodistillation (27,5 mg /ml) (**Blažeković et al., 2018**) car cette dernière peut favoriser des réarrangements moléculaires (**Da porto et Decoti, 2008**) et par conséquence une différenciation dans la composition ainsi qu'une réduction du pouvoir antioxydant. En plus de cet effet, il existe une relation étroite entre les teneurs en phénols totales de l'huile et l'activité antioxydants.

L'efficacité de la combinaison Linalol/Acétate de linalyle est connue car il existe une synergie entre ces deux composés et qui sont nécessaires par exemple pour l'effet anxiolytique des HEs de lavande inhalées (**Buchbauer et Ilic, 2013**).

Cependant, nous avons signalé dans nos résultats une quantité pas très importante d'Acetate de linalyl ce qui pourrait réduire le pouvoir antioxydant de notre

huile. En revanche, **Blažeković et al., (2018)** ont démontré que l'activité antioxydante de l'HE de Lavande ne dépend pas complètement de la présence du linalol (IC<sub>50</sub> 218,6 mg/mL) et de l'acétate de linalyle (IC<sub>50</sub> 157,1 mg/mL), qui sont les composés les plus abondants mais cet effet résulte probablement d'interactions synergiques des différents constituants de l'HE (**Ciesla et al., 2016**).

En effet, les résultats de **Miri (2015)**, qui a testé les principaux constituants des HE de *L. angustifolia* ( $\alpha$ -Pinène, Camphre, Menthol 1,8-Cinéole), ont révélé une activité nettement plus élevée du 1,8-cinéole ( $11 \pm 0,31 \mu\text{g/ml}$ ) suivi par le menthol ( $11,5 \pm 0,04 \mu\text{g/ml}$ ) par rapport aux autres composés. En revanche, les activités des autres terpènes étaient faibles ( $\alpha$ -pinène et camphre). Nous pouvions donc présumer que l'activité anti radicalaire modérée de notre huile peut être attribuée à la présence du 1,8-Cinéole en faible quantité (6.76%) au détriment du Camphre (16.21%) qui d'après **Biswas et al., (2009)**, l'augmentation des ratios de camphre diminue la qualité de l'huile.

Aussi, on pourrait attribuer cette activité modérée au fait que l'HE a été obtenue à partir des sommités fleuries de la lavande et il est connu que les extraits de feuilles de lavandes sont principalement plus actifs que ceux des fleurs ou des tiges (**Blažeković et al., 2010**).

***PARTIE IV. CONCLUSION & PESPECTIVES***

---

## *Conclusion*

Ces dernières années, les produits naturels dérivés de sources végétales, entre autres les huiles essentielles, deviennent de plus en plus présent dans notre quotidien (phytothérapie, aromathérapie, parfums et additifs, antioxydant...) en raison du potentiel énorme qu'ils offrent dans la formulation et la fabrication de nouveaux produits. Ainsi, ils sont utilisés partout dans le monde et notamment dans les pays en développement grâce au retour vers le Naturel et le Bio mais aussi grâce à une meilleure acceptabilité de la part des populations, une compatibilité avec le corps humain ainsi que des effets secondaires moindres par rapports aux produits synthétiques considérés comme nocifs pour l'homme et son environnement.

De nombreuses recherches traitent de l'utilisation des huiles essentielles en agriculture en mettant en évidence leurs pouvoirs antibactérien, virucides, fongicide et /ou insecticide comme par exemple l'usage de l'huile essentielle d'eucalyptus, d'orange douce, de citron, de clou de girofle ou bien de lavande. Ces propriétés sont attribuées aux mélanges de molécules contenues dans ces huiles permettant la communication chimique entre les organismes et leur environnement. Comme par exemple repousser les herbivores et pathogènes (champignons, bactéries) ainsi que défendre la plante contre divers agresseurs ou attirer les pollinisateurs. Economiquement, elles présentent des couts très variables, en fonction de l'espèce et du chémotype utilisé, de l'origine des végétaux et de la partie de la plante qui est distillée.

Ce travail a pour objectif de mettre en exergue des moyens plus inoffensifs de protection des cultures et cela par le remplacement des produits phytosanitaires synthétiques et la recherche d'alternatives efficaces à ces derniers ce qui constitue un important challenge.

Nous avons entamé cette étude en caractérisant chimiquement deux huiles essentielles (Eucalyptus et Lavande) obtenues de plantes récoltées dans la forêt de Séraïdi- Annaba, afin de connaître leur chémotype ce qui nous a aidé à mieux comprendre les propriétés biologiques attribuées à ces huiles et pouvoir ainsi les utiliser dans la lutte biologique soit en association avec d'autres pesticides soit seules.

Ainsi, il s'avère que l'HE des feuilles d'*Eucalyptus globulus* est de chémotype **linalol** et diffère ainsi de la majorité des HEs de feuilles d'eucalyptus qui sont généralement de chémotype **eucalyptol**. Néanmoins, il s'avère qu'elle possède une forte activité antimicrobienne car, elle est efficace contre l'agent pathogène de la fusariose du blé (*Fusarium roseum*) ainsi que, contre celui de la tuberculose de l'olivier (*Pseudomonas savastanoi*). Cette activité dépend donc essentiellement du mélange de substances chimiques qu'elle contient plutôt, qu'à un seul composant. En effet l'HE d'Eucalyptus de Séraïdi est riche en linalol et monoterpènes oxygénés qui lui confère ainsi une forte activité bio-fongicide. Concernant le pouvoir antioxydant, les résultats ont révélé une activité modérée de cette dernière comparée à la vitamine C même si le composant majoritaire de notre huile est le linalol, connu pour avoir une bonne activité antioxydant. Cependant, cette activité reste intéressante pour l'utiliser comme antioxydant de remplacement dans plusieurs domaines (agroalimentaire, cosmétique...).

Parallèlement, il en ressort que l'HE de *Lavandula angustifolia*, récoltée dans la même région (Séraïdi), extraite des sommités fleuries de lavande est majoritairement composé de Linalol, Acétate linalyl et Camphre. Ces trois éléments lui confèrent d'innombrables activités biologiques qui font d'elle une huile assez prisée dans divers domaines. Elle s'avère assez efficace contre l'agent pathogène de la fusariose du blé (*Fusarium roseum*) ainsi que contre celui de la tuberculose de l'olivier (*Pseudomonas savastanoi*). De même, l'activité antioxydant semble être moindre que celle de la vitamine C qui est due probablement à la présence du 1,8-Cinéole en faible quantité au détriment du Camphre qui, d'après certaines études, diminue la qualité de l'huile et par conséquent réduit ses activités.

A la lumière de cette somme de résultats, il s'avère donc que ces deux HEs sont de chémotype différents par rapport à d'autres HEs d'autres régions dues probablement à plusieurs facteurs. Cependant, l'HE d'eucalyptus semble être plus efficace contre le champignon *Fusarium roseum* et aussi contre l'agent bactérien *Pseudomonas savastanoi* en comparaison avec l'HE de lavande, ce qui nous pousse à suggérer cette huile pour l'utiliser comme bio-pesticide mais, en association avec d'autres fongicides et bactéricides ce qui diminuerait l'impact négatif de ces produits sur l'environnement. En revanche, pour le pouvoir antioxydant, cette activité atteint son maximum à des doses élevées d'HE des deux espèces (100mg/ml) contrairement la Vit C. Ainsi, en tant qu'antioxydant, il vaudrait mieux utiliser d'autres HEs avec un fort potentiel et non pas ces deux HEs. Les résultats in vitro nous ont donné pleinement satisfaction, cependant en condition de terrain, tout reste à faire.

## *Perspectives*

Pour fournir plus d'informations pertinentes concernant notre étude, il serait judicieux de la compléter par :

- ✚ Déterminer d'autres activités biologiques des deux HE (insecticide, antiparasitaires) afin d'élargir leur spectre d'utilisation dans plusieurs domaines et spécialement dans la lutte biologique contre les ravageurs des cultures.
- ✚ Une mise en évidence des mécanismes d'action de l'effet antimicrobien et l'utilisation d'autres méthodes de détermination *in vitro* de l'activité antioxydante comme la Chélation des ions ferreux et le Blanchiment du B-carotène serait requise.
- ✚ Réaliser une étude approfondie des groupements chimiques responsables des différentes activités biologiques afin de les utiliser directement comme biopesticides à la place des HEs.
- ✚ Comparer avec d'autres HEs d'autres espèces végétales par la réalisation d'une étude complète (l'extraction, composition chimique, activités biologiques) afin de recenser les meilleures huiles à utiliser en agriculture.
- ✚ Tester les combinaisons des HE/antibiotique, HE/pesticide et HE/insecticide, afin de dégager des solutions économiquement et écologiquement fiables en respectant la santé humaine et l'environnement, et donc une exploitation pratique des résultats pour la fabrication de médicaments biopesticide.

## ***PARTIE V. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES***

---

## Référence bibliographique :

**Adaszyńska-Skwirzyńska M, Dzieciol M, Szczerbińska D. 2023.** *Lavandula angustifolia* essential oils as effective enhancers of fluconazole antifungal activity against *Candida albicans*. *Molecules* 28 (3) : 1176. DOI : [10.3390/molecules28031176](https://doi.org/10.3390/molecules28031176).

**AFNOR, 1996.** Huile essentielle, recueil des normes françaises. 5èmes éditions.1. échantillonnage et méthodes d'analyse, 2.spécifications, AFNOR, Paris.

**AFNOR. 2000.** Recueil de normes : Les huiles essentielles échantillonnage et méthodes d'analyses: (Tome 1) Paris. 440p.

**Ahmad S., Veyrat N., Gordon-weeks R., Zhang Y., Martin J., Smart L., & Ton J., 2011.** Benzoxazinoid metabolites regulate innate immunity against aphids and fungi in maize. *Plant physiology*, 157 (1), 317-327.

**Ait Mbarek, L., Ait Mouse, H., Elabbadi, N., Bensalah, M., Gamouh, A., Aboufatima, R., ... & Ziad, A. (2007).** Anti-tumor properties of blackseed (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40, 839-847.

**Akash Sabarwal, Kumar Kunal., Singha Rana., 2018.** Hazardous effects of chemical pesticides on human health-Cancer and other associated disorders. *Environmental toxicology and pharmacology*. Volume 63, Pages 103-114.

**Alcama E. I. 1984.** Fundamentals of microbiology. Addison-Wesley publishing Co., London p:310-341; 617-699.

**Almeida G.S., Duarte B., Eduardo M., Maria A., Marisa A. B., Regitano M. H., Vilela G. R., 2009.** Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*. avril 2009. Vol. 45, n° 2, pp. 108-111.

**Alzoreky, NS et Nakahara, K. (2003).** Activité antibactérienne d'extraits de certaines plantes comestibles couramment consommées en Asie. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 80, 223-230. DOI : [10.1016/S0168-1605\(02\)00169-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00169-1)

**Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., Aarab, L., ... & Chaouch, A. (2010).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc. *BASE*.

**Amorati R., Foti M.C. et Valgimigli L., 2013.** "Antioxidant Activity of Essential Oils." *J. Agric. Food Chem.* 61(46): 10835–10847.

**Andrew R.L., Keszei A., Foley W.J., 2013.** Intensive sampling identifies previously unknown chemotypes, population divergence and biosynthetic connections among terpenoids in *Eucalyptus tricarpa*. *Phytochem* 94, 148–158.

**Anses, A. (2016).** Actualisation des repères du PNNS: révision des repères de consommations alimentaires.

**Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J. C., & García-Río, L. (2008).** The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, ecosystems & environment*, 123(4), 247-260.

**Arpino P., Perevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., (1995).** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Ed. Masson, Paris, p. 700.

**Atmani-Merabet G., Belkhiri A., Dems A.M., Khalfaoui Z., Lalaouna A., Mosbah B., 2018.** Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. *Current issues in pharmacy and medical sciences*, 31(2), 89-93.

**Aubertot, J. N., Barbier, J. M., Carpentier, A., Gril, J. J., Guichard, L., Lucas, P., & Voltz, M. (2005).** Pesticides, agriculture et environnement: réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux. *Rapport d'Expertise scientifique collective. INRA et Cemagref (France).*[cité p. 10, 11, 17, 20, 127, 162].

**Ayad-Mokhtari, N. (2012).** Identification et dosage des pesticides dans l'Agriculture et les problèmes d'environnement liés. *Magister Thesis, University of Oran, Oran, 87p.*

**Bagheri H, Manap M. Y. B. A, Solati Z. 2014.** Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO<sub>2</sub> extraction and hydro-distillation. *Talanta* 121: 220-228. DOI : [10.1016/j.talanta.2014.01.007](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.007).

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential No oils-- a review. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.*, vol. 46,2, p.446-475.

**Barbosa L.C.A., Filomeno C.L., Teixeira R.R., 2016.** Supplementary Materials: Chemical Variability and Biological Activities of Eucalyptus spp. *Ess Oils. Molecules*; 21 : p 1671.

**Barel, S., Segal, R., & Yashphe, J. (1991).** The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Ethnopharmacology*, 33(1-2), 187-191.

**Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., Angioni A., 2010.** Chemical variability, antifungal and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil from Sardinia. *Nat. Prod. Commun.* 5, 329–335.

**Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009).** *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC press.

**Beatovic, D., Krstic-Milosevic, D., Trifunovic, S., Siljegovic, J., Glamoclija, J., Ristic, M., & Jelacic, S. (2015).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Records of Natural Products*, 9(1), 62.

**Bédi G, Tonzibo ZF, Chopard C, Mahy JP, N'Guessan TY (2004).** Etude des effets anti douleurs des huiles essentielles de *Chromolaena odorata* et de *Mikania Cordata*, par action sur la lipoxygenase *Phys. Chem. News.* 15: 124-127

**Bedi G., Tonzibo Z.F., Boti B., Chopard C., Mahy J.P., N'Guessan Y.T. (2003).** Anti-inflammatory and analgesic activities: chemical constituents of essential oils of *ocimum gratissimum*, *eucalyptus citriodora* and *cymbopogon giganteus* inhibited lipoxygenase 1-1 and cyclooxygenase of pghs. *Bulletin of the chemical society of Ethiopia.* 17: 191-197

**Bedi, G., Tonzibo, Z. F., Oussou, K. R., Choppard, C., Mahy, J. P., & N'Guessan, T. Y. (2010).** Effect of essential oil of *chromoleana odorata* (asteraceae) from ivory coast, on cyclooxygenase function of prostaglandin-H synthase activity. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(8), 535-538.

**Belaid, Sarra. (2020).** *Prédiction des forces de réaction au sol lors de la marche avec des capteurs inertiels*. Diss. École de technologie supérieure.

**Belkou, B. E., & Talebbah, M. (2005).** Approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* Z) dans la région de Ouargla. *Université Ouargla*,7-8.

**Benabdallah A., Rahmoune C., Boumendjel M., Aissi O., 2016.** Total phenolic content and antioxidant activity of six wild Mentha species (Lamiaceae) from northeast of Algeria.- Asian Pacific journal of tropical biomedicine.

**Benabdallah, A. (2017).** *Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre Mentha dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie)* (Doctoral dissertation, Thèse de doctorat, Université de Constantine, Algérie).

**Benaliouche F., Sbartai H., Meraghni M., Sbartai I., 2021.** Chemical characterisation of the essential oil of *Thymus vulgaris* and evaluation of its antifungal activity on the apple scab pathogen (*Venturia inaequalis* L). *Catrina Journal*. Volume 23, Issu 1: 57-65.

**Benchaar C, Calsamiglia S, Chaves AV, et al., 2008.** A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Anim Feed Sci Technol* 145:209–28

**Benny A, Thomas J. 2019.** Essential oils as treatment strategy for Alzheimer's disease: Current and future perspectives. *Planta Med* 85: 239-248. DOI : 10.1055/a-0758-0188.

**Benyagoub E, Nabbou N, Sirat M, Dahlis Z. 2014.** Propriétés antibactériennes et constituants phytochimiques des extraits de la lavande de la région de Tlemcen et leur effet sur quelques espèces bactériennes responsables d'infection alimentaire. *Revue des Bioressources* 257(3242): 1-11.

**Benziane Z., Boukir A., Derwich E., 2009.** GC/MS analysis of volatile constituents and antibacterial activity of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* in Atlas Median from Morocco. *Ad Nat Appl Sci*. 3: 305–13.

**Bevilaqua C.M.L., Camurça-Vasconcelos A.L.F., Macedo I.T.F., Oliveira F.R., Oliveira L.M.B., Vieira L.S. et al., 2009.** Ovicidal and larvicidal activity in vitro of *Eucalyptus globulus* EOs on *Haemonchus contortus*. *Rev Bras Parasitol Vet.* 18: 62–66.

**Bey-Ould Si Said Z., Boudria A., Harkat-Madouri L., Khodir M., Si Saida K., Rigouc P.D., 2015.** Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus globulus* from Algeria. *Ind Crops and Prod.* 78: 148-53.

**Bey-Ould Si Said Z, Haddadi-Guemghara H, Boulekbeche-Makhlouf L et al. 2016.** Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Ind. Crops prod.* 89: 167-175. DOI : 10.1016/j.indcrop.2016.05.018.

**Bey-Ould Si Said, Z. (2014).** Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*. Mémoire de Magister. Université Abderrahmane, Mira, Bejaïa..

**Bigendako, J. (2004).** Identification et zonage des *Eucalyptus globulus* au rwanda. *Chemonics International Inc. Projet Adar, 1*.

**Biswas K. K, Foster A. J, Aung T, Mahmoud S. S. 2009.** Essential oil production: relationship with abundance of glandular trichomes in aerial surface of plants. *Acta physiologiae plantarum* 31: 13-19. DOI : 10.1007/s11738-008-0214-y.

**Blažeković B, Vladimir-Knežević S, Brantner A, & Štefan M. B. 2010.** Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia Emeric ex Loisel.* 'Budrovka': A comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules* 15 (9): 5971-5987. DOI : 10.3390/molecules15095971.

**Blažeković B, Yang W, Wang Y et al. 2018.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' and *L. Angustifolia* cultivated in Croatia. *Ind. Crops prod.* 123: 173-182. DOI : 10.1016/j.indcrop.2018.06.041.

**Boatman NB (2007).** Effets potentiels de la gestion environnementale sur les mauvaises herbes des cultures arables : adoption d'options pertinentes pour la conservation de la flore arable et les problèmes de contrôle des mauvaises herbes. *44e revue annuelle des mauvaises herbes du BCPC, 2007*. BCPC, Lecture.

**Boland, J., Koomen, I., Lidth de Jeude, J. V., & Oudejans, J. (2004).** *Pesticides: compounds, use and hazards*. Agromisa.

**Boti, J. B., Bighelli, A., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Casanova, J. (2006).** Chemical variability of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* berry and leaf oils from Corsica, analysed by combination of GC, GC-MS and <sup>13</sup>C-NMR. *Flavour and fragrance journal*, 21(2), 268-273.

**Bouacha M., Bruneau C., Daroui-Mokadem H., El Azzouny A., Kabouche A., Soumati, B., et al., 2010.** GC/MS analysis and antimicrobial activity of the essential oil of fresh leaves of *Eucalyptus globulus*, and stems of *Smyrniium olusatrum* from Constantine (Algeria). *Nat Prod Commun.* 5(10): 1669-72

**Bouamer A ., Bellaghit M ., MollayAmera., (2004).** Etude comparative entre l'huile essentielle de la Menthe vert et la Menthe poivrée de la région de Ouargla ; mémoire des .unive. ouargla, n.d.

**Boughendjioua H. 2017.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula officinalis* grown in the region of Skikda - Algeria. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège. Volume 86. DOI : [10.25518/0037-9565.7224](https://doi.org/10.25518/0037-9565.7224).

**Bouhdid S., Abrini J., Amensour M., et al., 2009.** Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. J Applied Microbiol 106:1558–68.

**Bouhdid S., Abrini J., Amensour M., et al., 2010.** Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil. J Applied Microbiol 109:1139–49.

**Boukef MK (1986).** Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne 94.

**Boukhatem M. N, Ferhat M. A, Kameli A, Mekarnia M. 2017.** *Eucalyptus globulus* (Labill): A Perfume Tree with Several Medicinal Purposes. Phytothérapie: 1-12. DOI : [10.1007/s10298-017-1114-3](https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3).

**Boukhatem M.N., Ferhat M.A, Kameli A., Mekarnia M., 2017.** *Eucalyptus globulus* (Labill): un arbre à essence aux mille vertus. A Perfume Tree with Several Medicinal Purposes. Phytothérapie. DOI [10.1007/s10298-017-1114-3](https://doi.org/10.1007/s10298-017-1114-3)

**Boukhatem M.N., Ferhat M.A., Kameli A., Kerkedi W., Sadok Bouziane M., Saidi F., 2014.** Quality assessment of the essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill of Blida (Algeria) origin. Int Lett of Chem, Phys and Astron. 17(3): 303-15.

**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 Resistance to Antibiotics and Mechanisms of Action of Essential Oils against Bacteria. Phytotherapie. Lavoisier, 2017. DOI [10.1007/s10298-017-1118-z](https://doi.org/10.1007/s10298-017-1118-z).

**Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M., & Chaabouni, M. M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

**Boyle, W. (1955).** Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and Essential Oil Review*, 66(1), 25-28.

**Bruneton J. (1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.p: 915.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie; phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition Lavoisier. *Paris. 1234p.*

**Buchanan, Bob B, Wilhelm. Gruissem et Russell L. Jones. 2000.** *Biochimie et biologie moléculaire des plantes.* Rockville, Maryland, Société américaine des physiologistes végétaux.

**Buchbauer G, and Ilic A. 2013.** Biological activities of selected mono-and sesquiterpenes: possible uses in medicine, *Natural Prod.*: 4109-4159. DOI : 10.1007/978-3-642-22144-6\_183.

**Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 94(3): 223-253. DOI : [10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022)

**Cabrera N., Chludil H., Leicah S., Russo S., Yaber-Grass M., (2015).** Insecticidal activity of young and mature leaves essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill. Against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chi J Agric Res.* 75: 375–79.

**Caillet S. &Lacroix M., (2007).** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). P : 1- 8.

**Calvet, Raoul, 2005.** *Les pesticides dans le sol: conséquences agronomiques et environnementales.* France agricole éditions.

**Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., & Akpulat, H. A. (2003).** Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan.(Asteraceae). *Journal of ethnopharmacology*, 87(2-3), 215-220.

**Cardia G. F. E, Silva-Filho S. E, Silva E. L et al. 2018.** Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oil on acute inflammatory response. *Evid. Based Complement Altern. Med:* 1-10. DOI : [10.1155/2018/1413940](https://doi.org/10.1155/2018/1413940).

**Carnesecchi S., Bras-Gonçalves R., Bradaia A., Zeisel M., Gossé F., Poupon M.-F., Raul F., (2004).** Geraniol, a component of plant essential oils, modulates DNA synthesis and potentiates 5-fluorouracil efficacy on human colon tumor xenografts. *Cancer Letters* 215, 53–59.

**Carrasco A, Tomas V, Tudela J, Miguel M. G. 2015.** Comparative study of GC-MS characterization, antioxidant activity and hyaluronidase inhibition of different species of *Lavandula* and *Thymus* essential oils. *Flavour and Fragrance J.* 31(1): 57-69. DOI : 10.1002/ffj.3283.

**Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002).** Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy research*, 16(4), 301-308.

**Chavassieux, D., & Vidal, R. (2014).** Les huiles essentielles en protection des cultures. *Analyse et Enquêtes. Institut Technique de l'Agriculture Biologique (ITAB)*.

**Chebaibi A, Marouf Z, Rhazi-Filali F, Fahim M, Ed-Dra A. 2016.** Evaluation of antimicrobial activity of essential oils from seven Moroccan medicinal plants. *Phytotherapie* 14: 355-362. DOI: [10.1007/s10298-015-0996-1](https://doi.org/10.1007/s10298-015-0996-1).

**Chen SY, Wang H.F., Yi Y., (2005).** The reporting system of acute pesticides poisoning and general situation of pesticides poisoning in China. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 5.

**Cheng, S. S., Liu, J. Y., Huang, C. G., Hsui, Y. R., Chen, W. J., & Chang, S. T. (2009).** Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresource Technology*, 100(1), 457-464.

**Chevalier, A. (1952).** Travaux français sur le genre *Eucalyptus*. *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*, 32(353), 105-112.

**Chiba S., Djouaher F., (2018).** Activité antibactérienne, anti oxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'Eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla. Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana, Algérie.

**CHIBAH SAIDA, D. F. (2018).** Activité antibactérienne, antioxydante et anti-insectes des huiles essentielles d'eucalyptus, laurier de la région d'Ain Defla.

**Chu, C. J., & Kemper, K. J. (2001).** Lavender (*Lavandula* spp.). *Longwood Herbal Task Force*, 32(3-4), 1-32.

**Ciesla L. M, Wojtunik-Kulesza K. A, Oniszczyk A et al. 2016.** Antioxidant synergism and antagonism between selected monoterpenes using the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Flavour and Fragrance J.* 31 (6): 412-419. DOI : [10.1002/ffj.3330](https://doi.org/10.1002/ffj.3330).

**Constantin E., (1996).** Spectrométrie de masse, Lavoisier Tec & Doc, Paris, 1-14

**Cosentino, S. C. I. G., Tuberoso, C. I. G., Pisano, B., Satta, M. L., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F. (1999).** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian thymus essential oils. *Letters in applied microbiology*, 29(2), 130-135.

**Đakov T., (2011).** Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill from Montenegro. *Czech J. Food Sci* 29, 277–284.

**Danh L. T, Han L. N, Triet N. D. A et al. 2013.** Comparison of chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of lavender (*Lavandula angustifolia* L.) essential oils extracted by supercritical CO<sub>2</sub>, hexane and hydrodistillation. *Food and bioprocess technology* 6: 3481-3489. DOI : [10.1007/s11947-012-1026-z](https://doi.org/10.1007/s11947-012-1026-z).

**Daouda, T., Prevost, K., Gustave, B., Joseph, D. A., Nathalie, G., Raphaël, O., ... & Felix, T. (2014).** Terpenes, antibacterial and modulatory antibiotic activity of essential oils from *Croton hirtus* L'Hér.(Euphorbiaceae) from Ivory Coast. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(4), 607-616.

**Dapkevicius A., Venskutonis R, Van Beek T.A. & Linssen J.P.H. (1998).** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*. 77(1),p: 140-146.

**De Billerbeck V. G. 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie* 5 (5): 249-253. DOI : [10.1007/s10298-007-0265-z](https://doi.org/10.1007/s10298-007-0265-z).

**De Oliveira J. R, Camargo S. E. A. & de Oliveira L. D. 2019.** *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *J Biomed Sci* :26 (1). DOI : [10.1186/s12929-019-0499-8](https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8).

**De Sousa, A. C., Gattass, C. R., Alviano, D. S., Alviano, C. S., Blank, A. F., & Alves, P. B. (2004).** *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 56(5), 677-681.

**Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, et al., (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Int J Food Microbiol* 74:101–9.

**Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B., & Mazza, G. (2002).** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International journal of food microbiology*, 74(1-2), 101-109.

**Demasi S, Caser M, Lonati M et al. 2018.** Latitude and altitude influence secondary metabolite production in peripheral alpine populations of the Mediterranean species *Lavandula angustifolia* Mill. *Frontiers in plant science* 9: 983. DOI : 10.3389/fpls.2018.00983.

**Deschepper, R. (2017).** *Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie* (Doctoral dissertation).

**Dias I. J, Trajano E. R. I. S, Castro R. D et al. 2017.** Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis. *Braz. J. Biol* 78: 368-374. DOI : 10.1590/1519-6984.171054.

**Djenane D., Lefsih K., Roncalés P., Yangüela J., 2011.** Composition chimique et activité anti *Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les œufs entiers liquides conservés à  $7 \pm 1$  °C. *Phytothérapie*, 9, 343–353.

**Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000).** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.

**Duschatzky, C. B., Possetto, M. L., Talarico, L. B., García, C. C., Michis, F., Almeida, N. V., ... & Damonte, E. B. (2005).** Evaluation of chemical and antiviral properties of essential oils from South American plants. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 16(4), 247-251.

**El Mrabet, K., Poitevin, M., Vial, J., Pichon, V., Amarouche, S., Hervouet, G., & Lalere, B. (2006).** An interlaboratory study to evaluate potential matrix reference materials for herbicides in water. *Journal of Chromatography A*, 1134(1-2), 151-161. DOI : 10.1016/j.chroma.2006.08.100

**El-Ghorab A.H., Fadel H.M., El-Massry K.F., (2002).** The Egyptian *Eucalyptus camaldulensis* var: *brevirostris*: chemical compositions of the fruit volatile oil and antioxidant activity. *Flavour Frag. J.* 17, 306–312.

**Elharas K, Daagare A, Mesifioui A, Ouhssine M. 2013.** Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. *Afrique Science*:

Revue Internationale des Sciences et Technologie 9 (2): 134-141. eISSN : 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>

**Elshafie, H. S, Camele I. 2017.** An Overview of the biological effects of some mediterranean essential oils on human health. Biomed. Res. Int. DOI : [10.1155/2017/9268468](https://doi.org/10.1155/2017/9268468).

**ESCOP, (2009).** European Scientific Cooperative On Phytotherapy (ESCOP). ESCOP Monographs Second Edition.

**Fan LY. (2017).** China Founds Pesticide Office to Combat Pollution, Overuse. <http://www.sixthtone.com/news/1000987/china-founds-pesticide-office-to-combat-pollution%20C-overuse#>. Accessed Oct 12, 2017.

**Faraone N, Hillier N, Cutler G. 2015.** Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). PloS one 10 (5): e0127774. DOI : [10.1371/journal.pone.0127774](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127774).

**Flores, G., Blanch, G. P., Ruiz del Castillo, M. L., & Herraiz, M. (2005).** Enantiomeric composition studies in Lavandula species using supercritical fluids. *Journal of separation science*, 28(17), 2333-2338.

**Franchomme, P., Jollois, R., Pénoël, D., Mars, J., & Mars, J. (2007).** *L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle*. R. Jollois.

**Fréry, N; Guldner, L; Saoudi, A; Garnier, R; Zeghnoun, A; Bidondo, ML. (2013).** "Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Tome 2 - Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides." : Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 178 p.

**Furet, A., & Bellenot, D. (2013).** Les huiles essentielles dans la protection des cultures. *Une Voie Encours D'exploration, Institut Technique Interprofessionnel Des Plantes Médicinales, Aromatiques Et Industrielles (Iteipmai)*.

**Garneau, F. X., Université du Québec à Chicoutimi. Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales, Collin, G. J., & Zaya, P. (2005).** *Huile essentielle: de la plante à la commercialisation: manuel pratique*. Chicoutimi, Québec : Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi.

**Garzoli S, Laghezza Masci V, Franceschi S et al. 2021.** Headspace/GC–MS analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and

hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller. *Foods* 10 (8): 1768. DOI : 10.3390/foods10081768.

**Ghedira, K., Goetz, P. & Le Jeune, (2008).** R. *Eucalyptus globulus* Labill. *Phytothérapie* 6, 197-200. <https://doi.org/10.1007/s10298-008-0315-1>

**Gilles M., Zhao J., An M., Agboola S., (2010).** Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. *Food Chem.* 119, 731–737.

**Giovannini D, Gismondi A, Basso A et al. 2016.** *Lavandula angustifolia* Mill. Essential Oil Exerts Antibacterial and Anti-Inflammatory Effect in Macrophage Mediated Immune Response to *Staphylococcus aureus*. *Immunological Investigations* 45 (1): 11-28. DOI : 10.3109/08820139.2015.1085392.

**Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** *Eucalyptus globulus* Labill.(Myrtaceae): *Eucalyptus*. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 271-279). Springer, Paris.

**Gonny, M., Bradesi, P., & Casanova, J. (2004).** Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. *Flavour and fragrance journal*, 19(5), 424-433.

**Gören A.C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z et Pezzuto J.M.Z. (2002).** *Naturforsch*, 57c, 797-800.

**Grayer, R. J., Kite, G. C., Goldstone, F. J., Bryan, S. E., Paton, A., & Putievsky, E. (1996).** Intraspecific taxonomy and essential oil chemotypes in sweet basil, *Ocimum basilicum*. *Phytochemistry*, 43(5), 1033-1039.

**Grover, J. K., Yadav, S., & Vats, V. (2002).** Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *Journal of ethnopharmacology*, 81(1), 81-100.

**Hammer, D., Kayser, A., & Keller, C. (2003).** Phytoextraction of Cd and Zn with *Salix viminalis* in field trials. *Soil use and management*, 19(3), 187-192.

**Herman A., Tambor K., Herman A., (2016).** Linalool affects the antimicrobial efficacy of essential oils, *Curr. Microbiol.* 72, 165–172.

**Horvathova E., Navarova J., Galova E., Sevcovicova A., Chodakova L., Snahnicanova Z., Melusova M., Slamenova D., (2014).** Assessment of antioxydative, chelating, and DNA-protective effects of selected essential oil components (eugenol; carvacrol, thymol, borneol,

eucalyptol) of plants and impact Rosmarinus officinalis oil. *J.Agric. Food chem.*62, 6632-6639.

**Hsu C.C., Lai W.L., Chuang K.C., Lee M.H., Tsai Y.C., (2013)** The inhibitory activity of Linalool against the filamentous growth and biofilm formation in *Candida albicans*, *Med. Mycol.* 51, 473–482.

**Isenring, R. (2010).** Les pesticides et la perte de biodiversité. Comment l’usage intensif des pesticides affecte la faune et la flore sauvage et la diversité des espèces. *Pesticides Action Network Europe. Web: www.pan-europe.info.* 28p

**Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. 2e édition, Larousse, Londres, 10 p.

**Joulain, D. (1994).** Modern analysis methodologies: use and abuse. *Perfum. Flav.* 19(2),5-17.

**Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R., & Vetter, H. (2003).** Anti-inflammatory activity of 1.8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory medicine*, 97(3), 250-256.

**Kalemba D, Kunicka A. 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Med. Chemistry* 10 (10): 813-829. DOI: 10.2174/0929867033457719.

**Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F. (2012).** *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée.* Springer.

**Kehrl, W., Sonnemann, U., & Dethlefsen, U. (2004).** Therapy for acute nonpurulent rhinosinusitis with cineole: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *The Laryngoscope*, 114(4), 738-742.

**Kermiche, N et Chougui, M (2014).** Les activités antifongiques et antioxydantes des huiles essentielles d’*Artimisia herba alba* et *Eucalyptus globulus*. Mémoire : biologie et physiologie végétale. Constantine : université de Constantine 1, 74p.

**Khan A., Ahmad A., Akhtar F., et al., (2010).** *Ocimum sanctum*: essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res Microbiol.* 161 : 816 – 823.

**Khine H, Weiss D, Graber N, Hoffman RS, Esteban-Cruciani N, Avner JR., (2009).** A cluster of children with seizures caused by camphor poisoning. *Pediatrics.* 123(5):1269–72.

**Kimbaris, A. C., Siatis, N. G., Daferera, D. J., Tarantilis, P. A., Pappas, C. S., & Polissiou, M. G. (2006).** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrasonics sonochemistry*, 13(1), 54-60.

**Komárek, M., Čadková, E., Chrastný, V., Bordas, F., & Bollinger, J. C. (2010).** Contamination of vineyard soils with fungicides: à review of environmental and toxicological aspects. *Environment international*, 36(1), 138-151.

**Kordali S, Cakir A, Zengin H, Duru M. E. 2003.** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia* 74 (1-2): 164-167. DOI : 10.1016/s0367-326x(02)00320-9.

**Kordali S., Cakir A., Zengin H., and Duru M.E., (2003).** Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74(1-2): 164-167.

**Koziol N., (2015).** Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Mémoire En Vue de l'Obtention le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie: Pharmacie. Lorraine: Université de Lorraine ,127 P.

**Kumar JIN., Bora A., Kumar RN., et al. (2013).** Toxicity analysis of pesticides on cyanobacterial species by 16S rDNA molecular characterization. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 3(2): 101-132.

**Kunicka-Styczyńska A, Śmigielski K, Prusinowska R et al. 2015.** Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels. *Lett Appl Microbiol* 60 (1): 27-32. DOI : 10.1111/lam.12346.

**Lachambre, M., & Fisson, C. (2007).** La contamination chimique: quel risque en estuaire de Seine. *Rapport Seine-Aval*.

**Lagunez Rivera L., (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse. P :15-35

**Lahkimi A, Nechad I, Chaouch M, Eloutassi N. 2020.** Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of *lavandula angustifolia* of the middle atlas central (Morocco). *Moroccan J. of Chemistry* 8(4): 8-4. DOI: 10.48317/IMIST.PRSM/morjchem-v8i4.18680.

**Laib, I., & Barkat, M. (2011).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs.

**Lang, G., & Buchbauer, G. (2012).** A review on recent research results (2008–2010) on essential oils as antimicrobials and antifungals. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(1), 13-39.

**Lari Z. N, Haj imonfarednejad M, Riasatian M et al. 2020.** Efficacy of inhaled *Lavandula angustifolia* Mill. Essential oil on sleep quality, quality of life and metabolic control in patients with diabetes mellitus type II and insomnia. *J. of ethnopharmacology* 251: 112560. DOI: 10.1016/j.jep.2020.112560.

**Latifah-Munirah, B., Himratul-Aznita, W. H., & Mohd Zain, N. (2015).** Eugenol, an essential oil of clove, causes disruption to the cell wall of *Candida albicans* (ATCC 14053). *Frontiers in Life Science*, 8(3), 231-240.

**Legrand G. 1993.** Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris.

**Leicach S.R., Guarnaschelli A.B., Garau A.M., et al., (2012).** Chemical defenses in *Eucalyptus* species: a sustainable strategy based on antique knowledge to diminish agrochemical dependency. Intech Open Access Publisher, NY, USA.

**Lewis, K., & Ausubel, F. M. (2006).** Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature biotechnology*, 24(12), 1504-1507.

**Lis-Balchin, M. (Ed.). (2002).** *Lavender: the genus Lavandula*. CRC press.

**Lobstein A., Couic-Marinier F., Koziol N., (2018).** Huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*. Actualités pharmaceutiques. Volume 57, Issu 573, page 59-61.

**LONGEVIALLE, P. (1981).** M-CH3. In *Annales de chimie--science des matériaux* (Vol. 6, p. 300). Masson.

**López-Blanco, C., Gómez-Álvarez, S., Rey-Garrote, M., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2005).** Determination of carbamates and organophosphorus pesticides by SDME–GC in natural water. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 383, 557-561.

**López-Pérez, G. C., Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Soto-González, B., Cancho-Grande, B., & Simal-Gándara, J. (2006).** Dynamics of pesticides in potato crops. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(5), 1797-1803.

**Loupe D., (2008).** PROTA : Ressources végétales de l'Afrique tropicale. Backhuys Publishers, Wageningen, Pays-Bas (site web: <http://www.prota4u.org/>).

**Luís A., Duarte A., Gominho J., Domingues F., Duarte A.P., (2016).** Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*. Vol 79, Pages 274-282.

**Madhavi, D. L., Juthangkoon, S., Lewen, K., Berber-Jimenez, M. D., & Smith, M. A. L. (1996).** Characterization of anthocyanins from *Ajuga pyramidalis* Metallica Crispa cell cultures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1170-1176.

**Magalhães A.S., Silva B.M., Pereira J.A., Andrade P.B., Valentão P. et Carvalho M. (2009).** « Protective effect of quince (*Cydonia oblonga* Miller) fruit against oxidative hemolysis of human erythrocytes », *Food and Chemical Toxicology*, vol. 47, n°6, pp. 1372-1377.

**Maganga .A. (2004).** Influence of variety and organic cultural practices on yield and essential oil content of Lavender and Rosemary in Interior BC. (STOPA). Ecorational Technologies. Kamloops. BC. 23p.

**Magina, M. D., Dalmarco, E. M., Wisniewski, A., Simionatto, E. L., Dalmarco, J. B., Pizzolatti, M. G., & Brighente, I. M. (2009).** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *Journal of natural medicines*, 63, 345-350.

**Mahboubi M, Kazempour N. 2009.** The antimicrobial activity of essential oil from *Perovskia abrotanoides* karel and its main components. *Indian J.of pharm. Sci.* 71 (3): 343. DOI: 10.4103/0250-474X.56016.

**Mahmoud I., Imadi S.R, Shazadi K., Gul A., and Hakeem K.R. (2016).** Effects of pesticides on environment. *Plant, Soil and Microbes*. pp 253–269.

**Mareggiani, G. R. A. C. I. E. L. A., Russo, S. E. R. A. F. I. N. A., & Rocca, M. A. R. G. A. R. I. T. A. (2008).** *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) essential oil: efficacy against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), an agricultural pest. *Revista Latinoamericana de Química*, 36(1), 16-21.

**Margoum, C., Guillemain, C., Lavielle, D., & Coquery, M. (2010).** Développement et application in situ de la technique SBSE pour l'échantillonnage et le dosage de pesticides dans l'eau. In *40eme congrès du Groupe Français des Pesticides* (pp. 4-p).

**Martins F.T., Doriguetto A.C., De Souza T.C., De Souza K.R.D., Dos Santos M.H., Moreira M.E.C., Barbosa L.C.A., (2008).** Composition, and anti-Inflammatory and antioxidant activities of the volatile oil from the fruit peel of *Garcinia brasiliensis*. *Chemistry & Biodiversity* 5, 251–258.

**Marzoug H.N.B., Romdhane A., Lebrihi F., Mathieu F., Couderc M., Abderraba and Bouajila J., (2011).** *Eucalyptus oleosa* essential oils: chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of the oils from different plant parts (stems, leaves, flowers and fruits). *Molecules*, 16(2): 1695-1709.

**Mazoyer A., (2016).** Santé des plantes. ALTER AGRI JANVIER FEVRIER 2016. [https://www.-planetoscope.com/fruits legumes /390-production-de-pommes-dans-le-monde.html](https://www.-planetoscope.com/fruits_legumes_/390-production-de-pommes-dans-le-monde.html)

**Merghni A., Noumia E., Haddeda O., Dridia N., Panward H., Ceylane O., Mastouria M., Snoussif M., (2018).** Assessment of the antibiofilm and antiquorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* essential oil and its main component 1,8-cineole against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Microbial Pathogenesis*.118, 74-80.

**Merhi, M. (2008).** *Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin* (Doctoral dissertation).

**Messaoud C, Laabidi A, Boussaid M. 2012.** *Myrtus communis* L. infusions: the effect of infusion time on phytochemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities. *J Food Sci* 77 (9): C941-C947. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2012.02849.x.

**Messaoud C., Laabidi A., Boussaid M., (2012).** *Myrtus communis* L. infusions: the effect of infusion time on phytochemical composition, antioxidant, and antimicrobial activities. *J Food Sci*.77(9).

**Miri S. M, Ahmadi S & Moradi P 2015.** Influence of salicylic acid and citric acid on the growth, biochemical characteristics and essential oil content of thyme (*Thymus vulgaris* L.). DOI : [10.22092/JMPB.2015.108901](https://doi.org/10.22092/JMPB.2015.108901).

**Mishra, A. K., Sahu, N., Mishra, A., Ghosh, A. K., Jha, S., & Chattopadhyay, P. (2010).** Phytochemical screening and antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus* leaf. *Pharmacognosy Journal*, 2(16), 25-28.

**Mourey A., Canillac N., (2002).** Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control* 13:289–92.

**Mulyaningsih S., Reichling J., Sporer F., Wink M., (2011).** Antibacterial activity of EOs from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharm Biol.* 2011, 49: 893–99.

**Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L et al. 2013.** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6 (12): 1451-1474. DOI : [10.3390/ph6121451](https://doi.org/10.3390/ph6121451).

**Nazzaro F., Fratianni F., De Martino L., et al., (2013).** Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals* 6:1451–74.

**Noumi E, Snoussi M, Hajlaoui H et al. 2011.** Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *J. Med. Plant Res.* 5: 4147-4156. DOI : 10.5897/JMPR.9000353.

**Noumi E., Snoussi M., Hajlaoui H., Trabelsi N., Ksouri R., Valentin E., Bakhrouf A., (2011).** Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species. *J. Med. Plant Res.* 5, 4147–4156.

**Otero, R. R., Grande, B. C., & Gándara, J. S. (2003).** Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid–liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography–diode array detection. *Journal of Chromatography A*, 992(1-2), 121-131.

**OUIS N., (2015).** Étude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil, UNIV, Oran, P07-18-19-20.

**Oussou, K. R. (2009).** Étude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. *Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan*, 241p.

**Pacchioni, G. (2014).** Ketonization of carboxylic acids in biomass conversion over TiO<sub>2</sub> and ZrO<sub>2</sub> surfaces: a DFT perspective. *Acs Catalysis*, 4(9), 2874-2888.

**Papajani, V., Haloci, E., Goci, E., Shkreli, R., & Manfredini, S. (2015).** Evaluation of antifungal activity of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* essential oil before and after inclusion in  $\beta$ -cyclodextrine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(5), 270-273.

- Park S.N., Lim Y.K., Freire M.O., Cho E., Jin D., Kook J.k., (2012).** Antimicrobial effect of Linalool and  $\alpha$ -Terpineol against Periodontopathic and cariogenic Bacteria, *Anaerobe* 18, 369–372.
- Pepeljnjak S, Stanic G, Potocki P. 1999.** Antimicrobial activity of the ethanolic extract of *Satureja montana* subsp. *montana*. *Acta Pharm* 49: 65-69.
- Pereira I, Severino P, Santos AC, et al. 2018.** Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 171: 566-578. DOI : 10.1016/j.colsurfb.2018.08.001.
- Pereira S.I., Freire C.S., Neto C.P., Silvestre A.J., Silva A., (2005).** Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal. *Flavour Frag. J.* 20, 407–409.
- Pierron, C. (2014).** *Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France: exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs* (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Pimentel D., (1995).** Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics.* 8 : 17–29
- Pistelli L, Najar B, Giovanelli S et al. 2017.** Agronomic and phytochemical evaluation of lavandin and lavender cultivars cultivated in the Tyrrhenian area of Tuscany (Italy). *Ind. Crops Prod.* 109: 37-44. DOI : 10.1016/j.indcrop.2017.07.041.
- Pramila, D. M., Xavier, R., Marimuthu, K., Kathiresan, S., Khoo, M. L., Senthilkumar, M., ... & Sreeramanan, S. (2012).** Phytochemical analysis and antimicrobial potential of methanolic leaf extract of peppermint (*Mentha piperita*: Lamiaceae). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(2), 331-335.
- Pušárová A, Bučková M, Kraková L et al. 2017.** The antibacterial and antifungal activity of six essential oils and their cyto/genotoxicity to human HEL 12469 cells. *Sci. Rep.* 7: 8211. DOI : 10.1038/s41598-017-08673.
- Quezel, P. et Santa, S. (1962, 1963).** *Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales.* 2 Tomes, Editions CNRS, Paris, 1170.
- Raut, J. S., & Karuppayil, S. M. (2014).** A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial crops and products*, 62, 250-264.

- Regnault-Roger, C., & Hamraoui, A. (1997).** Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. *Acta botanica gallica*, 144(4), 401-412.
- Richard H. et Peyron F., (1992).** Epices et aromates. Ed .Tec & Doc-Lavoisier.Paris.p :339.
- Ruberto G., et Barata M., (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2):167-174.
- Rudramurthy, G. R., Swamy, M. K., Sinniah, U. R., & Ghasemzadeh, A. (2016).** Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes. *Molecules*, 21(7), 836.
- SALLE, J. L. (1991).** « Les huiles essentielles ; Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie », Edition Frison – Roche, Paris, 21
- Santoyo, S., Cavero, S., Jaime, L., Ibanez, E., Senorans, F. J., & Reglero, G. (2005).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *Journal of food protection*, 68(4), 790-795.
- Serra, A. A., Couée, I., Bittebière, A. K., Ernoult, A., Mony, C., Gouesbet, G., & Sulmon, C. (2015).** Réponses du compartiment végétal aux contaminations multiples résiduelles de pesticides au sein des bandes enherbées. In *Colloque Biennal des Zones Ateliers*.
- Siani, A. C., Ramos, M. D. S., Menezes-de-Lima Jr, O., Ribeiro-dos-Santos, R., Fernandez-Ferreira, E., Soares, R. O. A., ... & Henriques, M. D. G. (1999).** Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from the leaves and resin of species of *Protium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1), 57-69.
- Silva K.V.S, Lima M.I.O, Cardoso G. N et al. 2017.** Inhibitory effects of linalool on fungal pathogenicity of clinical isolates of *Microsporum canis* and *Microsporum gypseum*. *Mycoses* 60: 387-393. DOI : [10.1111/myc.12606](https://doi.org/10.1111/myc.12606).
- Silvant C., (2015).** L'aromathérapie : la nature au service de l'humanité. Éditions Publibook, Paris, France
- Singh H.P., Kaur S., Negi K., Kumari S., Saini V., Batish D.R., Kohli R.K., (2012).** Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of *Eucalyptus citriodora* (lemon-scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. *LWT Food Sci. Technol.* 48, 237–241.

Šipailienė, A., Venskutonis, P. R., Pritykina, N., Jasinauskienė, D., & Bobinaitė, R. (2009). Antioxidant and antimicrobial properties of raspberry press-cake extracts. *Chemine technologija*, 52, 62-68.

Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., (2003). Principes d'analyse instrumentale. De Boeck Supérieur.

Smigielski K, Prusinowska R, Stobiecka A , Kunicka-Styczyńska A et Gruska R, 2018. Biological Properties and Chemical Composition of Essential Oils from Flowers and Aerial Parts of Lavender (*Lavandula angustifolia*). J. of Essential Oil Bearing Plants: 1-12. DOI : 10.1080/0972060X.2018.1503068.

Soković M, Glamočlija J, Marin P. D et al. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules* 15: 7532-7546. DOI : 10.3390/molecules15117532.

Sokovic M, Marin PD, Brkic D, Van Griensven LJJL. 2007. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria, *Food* 1(1), x-y, Global Science Book.

Soliman, K. M., & Badeaa, R. I. (2002). Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food and chemical toxicology*, 40(11), 1669-1675.

Sosa, S. I. L. V. I. O., Altinier, G., Politi, M., Braca, A., Morelli, I., & Della Loggia, R. O. B. E. R. T. O. (2005). Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity. *Phytomedicine*, 12(4), 271-277.

Sousa O.V., Silvério M.S., Del-Vechio-Vieira G., Matheus F.C., Yamamoto C.H., Alves M.S., (2008). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of the essential oil from *Eremanthus erythropappus* leaves. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 60, 771–777.

Sroka, Z. (2005). Propriétés antioxydantes et antiradicalaires des composés phénoliques végétaux. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 60, 833-843. DOI: 10.1515/znc-2005-11-1204

Stanojević L, Stanković M, Cakić M et al. 2011. The effect of hydrodistillation techniques on yield, kinetics, composition and antimicrobial activity of essential oils from flowers of *Lavandula officinalis* L. *Hemjska industrija* 65 (4): 455-463. DOI : 10.2298/HEMIND110129047S.

**Sugumar S., Ghosh V., Nirmala M.J. et al., (2014).** Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and wound healing activity in Wistar rats. *Ultrasonics Sonochemistry*. 21(3) :1044-9.

**Sun Kim N.& Lee D.S., (2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography* . 982. P:31–47

**Swamy M. K, Akhtar M. S, Sinniah U. R. 2016.** Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. *Evid. Based Complement. Altern. Med.*: 1-21. DOI : [10.1155/2016/3012462](https://doi.org/10.1155/2016/3012462).

**Tardugno R, Serio A, Pellati F et al. 2018.** *Lavandula x intermedia* and *Lavandula angustifolia* essential oils: phytochemical composition and antimicrobial activity against foodborne pathogens. *Natural Prod. Res.* DOI: [10.1080/14786419.2018.1475377](https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1475377).

**Teissedre, P. L., & Waterhouse, A. L. (2000).** Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 3801-3805.

**Tesche, S., Metternich, F., Sonnemann, U., Engelke, J. C., & Dethlefsen, U. (2008).** The value of herbal medicines in the treatment of acute non-purulent rhinosinusitis: Results of a double-blind, randomised, controlled trial. *European archives of oto-rhino-laryngology*, 265(11), 1355-1359.

**Thany, S. H., Reynier, P., & Lenaers, G. (2013).** Neurotoxicité des pesticides-Quel impact sur les maladies neurodégénératives?. *Médecine/sciences*, 29(3), 273-278. DOI : [10.1051/medsci/2013293013](https://doi.org/10.1051/medsci/2013293013)

**Tohidpour, A., Sattari, M., Omidbaigi, R., Yadegar, A., & Nazemi, J. (2010).** Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine*, 17(2), 142-145.

**Tor, A., Aydin, M. E., & Özcan, S. (2006).** Ultrasonic solvent extraction of organochlorine pesticides from soil. *Analytica Chimica Acta*, 559(2), 173-180.

**Tyagi A. K, Malik A. 2011.** Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha Piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control* 22 (11): 1707-1714. DOI : [10.1016/j.foodcont.2011.04.002](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.002).

**Tyagi A. K. and Malik A., (2011).** Antimicrobial potential and chemical composition of Mentha Piperita oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. *Food Control*, 22(11): 1707-1714.

**Unlu M., Daferera D., Donmez E., Polissiou M., Tepe B. & Sokmen A., (2002).** Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of Achilla setacea and Achillea teretifolia (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*. 83: 117-121

**Upson ,T., Andrews ,S., (2004).** The Genus Lavandula, Timber Press. ed. portland.

**Valnet, J., & Defrance, N. (1984).** Aromathérapie : traitement des maladies par les essences des plantes. (*No Title*).

**Vital R., Muchembled J., Deweer C., Tournant L., Corroyer N., et al., (2018).** Évaluation de l'intérêt de l'utilisation d'huiles essentielles dans des stratégies de protection des cultures. *Innovations Agronomiques*, INRA, 2018, 63, pp.1-20.

**Wannissorn, B., Jarikasem, S., Siritwangchai, T., & Thubthimthed, S. (2005).** Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76(2), 233-236. DOI : 10.1016/j.fitote.2004.12.009

**Yang S, Jeon S, Lee E et al. 2010.** Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components. *Natural Prod. Res.* 24 (2): 140-151. DOI : 10.1080/14786410802496598.

**Yang, Y. C., Choi, H. Y., Choi, W. S., Clark, J. M., & Ahn, Y. J. (2004).** Ovicidal and adulticidal activity of Eucalyptus globulus leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2507-2511.

**Yap P. S, Krishnan T, Yiap B. C et al. 2014.** Membrane disruption and anti-quorum sensing effects of synergistic interaction between *Lavandula angustifolia* (lavender oil) in combination with antibiotic against plasmid-conferred multi-drug-resistant *Escherichia coli*. *J. Appl Microbiol.* 116 (5): 1119-1128. DOI : 10.1111/jam.12444.

**Zambonelli, A., D'Aulerio, A. Z., Severi, A., Benvenuti, S., Maggi, L., & Bianchi, A. (2004).** Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 69-74.

**Zergui. M. (2006).** Etude ethnobotanique des plantes médicinales du lac Tonga: extraction et caractérisation chimique des principes actifs de *Lavandula stoéchas* L et *Eucalyptus globulus*.

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agronomie. Institut d'agronomie de El-Tarf. 51p .

**Zhang W.J., Jiang F.B., Ou J.F., (2011).** Global pesticide consumption and pollution: with China as a focus. Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 1(2): 125-144.

**Zhang W.J., Liu G.H., (2017).** Situation and development of worldwide agri-environment: Agricultural land uses, fertilizers consumption and carbon dioxide equivalent emissions. Environmental Skeptics and Critics, 6(1): 1-8.

**Ziaee M, Khorrami A, Ebrahimi M et al. 2015.** Cardioprotective effects of essential oil of *Lavandula angustifolia* on isoproterenol-induced acute myocardial infarction in rat. Iran J. Pharm Res. 14 (1): 279. DOI : PMC4277641.

**Zore G. B, Thakre A. D, Jadhav S, Karuppayil S. M. 2011.** Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. Phytomedicine 18: 1181-1190. DOI : 10.1016/j.phymed.2011.03.008.