

Composition Chimique Et Activités Antimicrobiennes Des Huiles Essentielles De Trois Espèces d'Eucalyptus De La Région d'Analamanga

Chemical Constituents And Essential Oils Antimicrobial Activities Of Three Eucalyptus Species Grown In Analamanga Region

Rovantsoa Jemima ANDRIANARISON ^{(1)*} ; Mamy Santatriniaina Shenya ANDRIAMITANTSOA ⁽¹⁾ ;
Rijalalaina RAKOTOSAONA ⁽³⁾ ; Rahanira RALAMBONDRAHETY ⁽²⁾ ; Edouard Ravalison
ANDRIANARISON ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratoire de Chimie organique du Département Génie des Procédés Chimiques et Industriels de l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo
BP 1500 - Ankatso - Antananarivo 101 - Madagascar

⁽²⁾ Laboratoire de Chimie Physique du Département Génie des Procédés Chimiques et Industriels de l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo
BP 1500 - Ankatso - Antananarivo 101 - Madagascar

⁽³⁾ Laboratoire de Microbiologie pour l'Environnement du Centre National de Recherches sur l'Environnement d'Antananarivo
BP 1739 - Fiadanana Tsimbazaza - Antananarivo 101 - Madagascar



Résumé – Avec l'apparition de la maladie virale SARS-COV 2, les recherches sur les huiles essentielles à activité antivirale et antibactérienne se sont développées. Les huiles essentielles du genre *Eucalyptus*, de la famille des Myrtacées, très reconnues à Madagascar pour leurs bienfaits dans le traitement traditionnel des maladies broncho-pulmonaires, ont fait l'objet de nos études notamment les feuilles de trois espèces introduites et cultivées dans la Région d'Analamanga, *Eucalyptus robusta* Sm., *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden et *Eucalyptus citriodora* Hook. Les huiles essentielles de feuilles extraites par entraînement à la vapeur d'eau sont analysées par chromatographie en phase gazeuse. Les taux d'extraction d'huile essentielle de *E. robusta*, *E. grandis* et *E. citriodora* ont été respectivement 0,36%, 0,33% et 0,80%. Sept composés majoritaires ont été identifiés dans les extraits volatiles de *E. robusta* et *E. grandis* : le 1,8-cinéol, l' α -pinène, le p-cymène, le (E)- β -caryophyllène, l'allo-aromadendrène, le germacrène D et l'oxyde de caryophyllène, alors que l'huile essentielle de *E. citriodora* est caractérisée par la prédominance de citronellal et de β -citronellol. Les études menées ont permis de montrer par la méthode de diffusion sur disque la très forte activité antibactérienne *in vitro* de ces huiles essentielles vis-à-vis des sept souches bactériennes pathogènes responsables des infections respiratoires aiguës notamment la souche à gram+ *Streptococcus pneumoniae*.

Mots- clés – *Eucalyptus*, huile essentielle, 1,8-cinéol, α -pinène, citronellal, β -citronellol, antibactérien

Abstract – With emergence of SARS-COV 2 viral disease, research about essential oils with antiviral and antibacterial activity has increased. Essential oils of *Eucalyptus* genus, in Myrtaceae family, widely recognized in Madagascar for their benefits in traditional treatment of bronchopulmonary disease, have been the subject of this study, in particular, leaves of three species *Eucalyptus robusta* Sm., *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden and *Eucalyptus citriodora* Hook which are introduced and cultivated in Analamanga Region. Essential oils of leaves, extracted by steam water distillation, are analyzed by gas chromatography. Respectively, essential oil extraction rates on leaves of *E. robusta*, *E. grandis* and *E. citriodora* are 0,36%, 0,33% and 0,80%. Seven major compounds have been identified in volatile extracts of *E. robusta* and *E. grandis* : 1,8-cineol, α -pinene, p-cymene, (E)- β -caryophyllene, allo-aromadendrene, germacrene D and caryophyllene oxide, while essential oil of *E. citriodora* is characterized by citronellal and β -citronellol predominance. The carried study shows a very strong *in vitro* antibacterial activity of these essential oils by disk diffusion method against seven bacterial pathogenic strains responsible for acute respiratory infections including gram+ strain *Streptococcus pneumoniae*.

Keywords – *Eucalyptus*, essential oil, 1,8-cineol, α -pinene, citronellal, β -citronellol, antibacterial.

I. INTRODUCTION

Les espèces botaniques étudiées, *Eucalyptus robusta* Sm., *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden and *Eucalyptus citriodora* Hook récemment nommé *Corymbia citriodora* (Hook) K.D. Hill & LAS Johnson, arbustes de la famille des Myrtacées, sont des plantes natives d'Australie, introduites et cultivées à Madagascar, notamment dans la Région d'Analamanga dès la fin du 19ème siècle [1], [2] [3]. Communément appelées *kininina* ou *kininy* à Madagascar, la dénomination d'*Eucalyptus* vient du grec *εὐ καλυπτός* et du latin *eu caluptos* (bien couvert). Elles ont servi pour les marquages et ombrages des bords de route et des bords de rivière mais également comme bois de menuiserie et bois de chauffe. Elles sont remarquables par leur taille pouvant atteindre 20 à plus de 60 m et à diamètre de tronc allant de 60 à 150 cm, à feuilles persistantes souvent alternées, couvertes de glandes à huile essentielle à forme variant de l'ovoïde à très allongée comme le fer de lance et courbée comme la lame de faux, à fleurs généralement de couleur jaune clair [4]. Par l'odeur aromatique des feuilles, la population des Hautes Terres Malagasy s'en servent en inhalation pour combattre les maladies respiratoires comme le rhume, la toux, en gargarisme pour guérir les maux de gorge mais également pour repousser les insectes comme les moustiques et les fourmis [5].

La présente étude a été réalisée dans l'objectif de connaître les profils chimiques des huiles essentielles de feuilles de trois espèces *Eucalyptus robusta*, *Eucalyptus grandis* et *Eucalyptus citriodora* puis montrer les activités antimicrobiennes des huiles essentielles sur sept souches bactériennes de référence et une souche fongique par des tests biologiques suivant la méthode de diffusion en milieu gélosé, et en conséquence confirmer les utilisations médicamenteuses traditionnelles de feuilles de ces plantes pour combattre certaines maladies dues aux microbes pathogènes à l'origine des infections aiguës comme les infections respiratoires, les infections buccales et diverses maladies cutanées atteignant généralement la population locale.

II. MATERIELS ET METHODES

2.1. Cueillette

Les feuilles vertes de *E. robusta* et *E. citriodora* ayant servi à cette étude ont été cueillies vers 7 heures du matin respectivement les 01 Septembre et 08 Septembre 2019 à Vontovorona Antananarivo Atsimondrano et les feuilles de *E. grandis* sont récoltées à Ankatso le 15 Septembre 2019.

2.2. Extraction des huiles essentielles

Les feuilles sont directement distillées pendant 3 heures par entraînement à la vapeur d'eau le jour-même de la récolte et l'huile essentielle condensée est récupérée dans un essencier pour huile légère du type Clevenger surmonté d'un réfrigérant à boule conique et fonctionnant par cohobation [6]. L'huile essentielle recueillie est desséchée au sulfate de sodium anhydre. Après filtration sur papier Whatman, les huiles essentielles sont disposées dans des flacons étanches en verre de couleur sombre puis conservées à température de 3 à 5°C à l'abri de la lumière jusqu'à leur analyse et usage.

2.3. Analyse chimique des échantillons

Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont été effectuées au Laboratoire de contrôle de qualité du Département de Phytochimie et Contrôle Qualité de l'Institut Malgache de Recherches Appliquées d'Avarabohitra. Les huiles essentielles des trois espèces d'*Eucalyptus* ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse sur chromatographe du type Chromatographe CG TRACE 1300 à colonne : TG-WAXMS (30m×0,32mm×0,5µm), avec une température de four allant de 50°C à 250°C (5°C/min), à détecteur FID et utilisant l'hydrogène avec une pression constante à 0,33 bar comme gaz vecteur. L'injection est réalisée en mode split avec une intégration à pourcentage d'aire-seuil de 0,03%.

L'identification des constituants chimiques de l'huile essentielle a été réalisée par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux de composés de référence indiqués dans la littérature. Les pourcentages de composés présents sont obtenus par mesure des surfaces de pic de substances éluées en CPG [7].

2.4. Test d'activité antibactérienne et antifongique

Les tests d'activité biologique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* étudiées ont été réalisés au Laboratoire de Microbiologie de l'Environnement de Tsimbazaza. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) [8], [9]. Sept souches microbiennes indicatrices et la souche fongique *Candida albicans*, prélevées à partir de lots ATCC (American Type Culture Collection), ont été testées.

Le bouillon de Müller-Hinton (MHB) à 37°C a été appliqué à la culture des bactéries à gram négatif et à gram positif, et le bouillon de Sabouraud à la culture à 25°C de la souche fongique *Candida albicans*.

Après inoculation par inondation d'une dilution de 10^6 UFC/ml de microorganisme à tester réalisée suivant l'échelle de Mac Farland, un disque stérile de papier filtre Whatman de 6 mm est imbibé de 20µl d'huile essentielle puis déposé sur la boîte de pétri préalablement inoculée et l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C pour les bactéries et à 25°C pour la souche fongique. Au terme de 24 heures d'incubation, une zone claire (halo) est présente autour du disque si l'huile essentielle inhibe le développement microbien. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible au produit testé. La mesure du diamètre du halo d'inhibition au moyen d'un pied à coulisse permet alors d'évaluer la sensibilité des souches microbiennes testées à l'huile essentielle. Deux boîtes sont utilisées par souche. En effet, tous les tests ont été répétés deux fois et les résultats enregistrés comme diamètre moyen de ces deux expériences. La sensibilité des souches microbiennes à l'huile essentielle analysée est évaluée de la manière suivante : insensible ($d \leq 7\text{mm}$), assez sensible ($7 < d \leq 8\text{mm}$), sensible ($8 < d \leq 9\text{mm}$) et très sensible ($d > 9\text{mm}$) [10], [11].

III. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Rendement et caractéristiques physico-chimiques

Les extractions de feuilles vertes fraîchement récoltées des *Eucalyptus robusta*, *Eucalyptus grandis* et *Eucalyptus citriodora* ont donné des rendements d'extraction en huile essentielle respectifs de 0,36%, 0,33% et 0,80% en masse de feuilles vertes. Les huiles essentielles obtenues sont à aspect liquide fluide, de couleur jaune claire, de goût amer et piquant, ayant l'odeur caractéristique camphrée pour *Eucalyptus robusta* et *Eucalyptus grandis*, à odeur citronnée pour des *Eucalyptus citriodora*. Le tableau 1 résume les propriétés physico-chimiques de ces huiles essentielles.

Tableau 1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques physico-chimiques des HE des espèces d'Eucalyptus étudiées

Caractéristiques physiques et chimiques	<i>E. robusta</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. citriodora</i>
Densité relative d_{20}^{20}	0,9107	0,9284	0,8648
Pouvoir rotatoire α_D^t	+0,250°	-1,050°	+2,333°
Indice de réfraction n_{20}^D	1,4572	1,4863	1,4524
Indice d'acide	6,94	6,32	7,32

Indice d'ester	8,89	9,58	9,82
Miscibilité à l'éthanol 90°GL	20/1	6/1	4/1

Ces résultats démontrent que les huiles essentielles des espèces *E. robusta* et *E. citriodora* sont dextrogyres à pouvoir rotatoire $\alpha_D^t > 0$ tandis que l'huile essentielle de *E. grandis* est de nature lévogyre à pouvoir rotatoire $\alpha_D^t < 0$.

Les valeurs d'indice de réfraction n_{20}^D des trois huiles essentielles d'Eucalyptus sont respectivement de 1,4752 ; 1,4524 et 1,4863. Ces résultats signifient que la vitesse de la lumière est moins faible dans ces trois HE que dans le vide.

Les huiles essentielles des trois huiles essentielles de feuilles d'*Eucalyptus* analysées sont de densité spécifique inférieure à 1 (respectivement 0,9107 ; 0,9284 et 0,8648), donc huiles légères par rapport à l'eau.

Ce sont des huiles essentielles à faible indice d'acide (6,94, 7,32 et 6,32). Ainsi, ces huiles essentielles contiennent moins d'acides libres par rapport à la majorité des HE connues (valeur comprise entre 4,95 et 19,83).

L'huile essentielle de *E. citriodora* se dissout bien dans le mélange éthanol/eau 90/10 (v/v) avec un rapport de miscibilité de 4/1 alors que celle de *E. grandis* est moyennement soluble avec un rapport de miscibilité de 6/1. L'huile essentielle de *E. robusta* est assez difficile à dissoudre dans le mélange éthanol/eau avec son rapport de miscibilité de 20/1.

3.2. Composition chimique

L'analyse par CPG des huiles essentielles a montré les résultats condensés du tableau 2 ci-dessous. Les taux d'identification des pics de composés élués en CPG pour les huiles essentielles étudiées sont respectivement de 98,02%, 93,13% et 97,42% pour *E. robusta*, *E. grandis* et *E. citriodora*.

Tableau 2 : Teneur des composés chimiques identifiés des huiles essentielles de *E. robusta*, *E. grandis* et *E. citriodora* analysées par CPG

N°	Composés chimiques identifiés	Teneur en composés chimiques identifiés (%)		
		<i>E. robusta</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. citriodora</i>
1	α -thujène	-	3,31	-
2	α -pinène	20,02	9,50	0,06
3	Camphène	0,16	-	-
4	Sabinène	-	0,39	-
5	β -pinène	0,08	0,07	0,08
6	Myrcène	1,74	0,21	0,26
7	Déhydro-cinéol	0,62	0,24	0,09
8	α -phellandène	0,15	-	0,05
9	Δ^3 -carène	-	0,06	-
10	α -terpinène	-	1,55	-
11	p-cymène	3,73	7,10	-
12	Limonène	-	0,19	0,06
13	1,8-cinéol	49,91	22,61	0,20
14	β -phellandène	1,86	0,08	-

15	γ -terpinène	6,23	0,12	0,05
16	Cis-linalool oxide	0,10	0,04	-
17	Terpinolène	0,03	0,05	0,20
18	Camphre	0,06	0,05	-
19	Méthylheptène	0,12	0,07	-
20	Trans-linalool oxide	0,29	0,08	-
21	Linalool	0,21	0,21	0,04
22	Trans-pinocarvéol	0,10	0,05	-
23	Citronellal	-	-	79,85
24	Pinocarvone	0,12	0,12	-
25	Bornéol	0,07	0,25	-
26	Terpinène-4-ol	0,04	0,10	-
27	Cryptone	0,55	0,15	-
28	α -terpinéol	0,48	0,37	-
29	Trans-carvéol	0,06	1,06	-
30	α -cubébène	1,38	0,72	-
31	Acétate d' α -terpényle	0,04	-	-
32	Néo-isopulégol	0,06	-	2,31
33	Isopulégol	0,05	-	5,85
34	Méthyl eugénol	0,08	0,28	0,17
35	(E)- β -caryophyllène	2,48	3,15	0,54
36	α -humulène	0,10	0,29	0,15
37	Aromadendrène	0,10	1,78	-
38	Propanoate de citronellyle	0,33	0,26	-
39	Allo-aromadendrène	4,04	2,82	-
40	Acétate de citronellyle	0,33	0,05	0,41
41	Germacrène D	0,12	8,98	-
42	Nérol	0,19	2,25	0,07
43	Géranial	0,12	0,06	0,04
44	Propanoate de géranyle	0,07	0,28	-
45	Bicyclogermacrène	0,33	2,15	-
46	γ -cadinène	0,12	-	-
47	δ -cadinène	0,06	0,16	-

48	Acétate de géranyle	0,09	0,40	0,06
49	Géraniol	0,11	-	0,04
50	β -citronellol	0,06	-	6,84
51	Carvone	0,05	0,16	-
52	Cuminaldéhyde	0,07	4,07	-
53	Butanoate de géranyle	0,40	0,93	-
54	Spathulénol	0,27	2,89	-
55	Oxyde de caryophyllène	0,10	12,16	-
56	Globulol	0,15	0,30	-
57	Elémol	0,12	0,14	-
58	Viridiflorol	0,11	0,12	-
59	Gaïol	0,03	0,65	-
60	γ -eudesmol	0,04	0,08	-
61	β -eudesmol	0,03	0,57	-
62	α -eudesmol	0,15	0,19	-
63	α -cadinol	0,06	0,14	-
	Totaux	98,02	93,13	97,42

Tableau 3 : Classification des composés chimiques identifiés des huiles essentielles de feuilles de *E. robusta*, *E. grandis* et *E. citriodora*

	<i>E. robusta</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. citriodora</i>
Hydrocarbures terpéniques	34,00	22,63	00,76
Terpènes oxygénés	54,08	28,86	95,80
Hydrocarbures sesquiterpéniques	08,73	20,05	00,69
Sesquiterpènes oxygénés	01,03	16,59	00,00
Composés phénoliques	00,18	05,00	00,17
Totaux (%)	98,02	93,13	97,42

Les résultats d'analyse en CPG indique que les huiles essentielles étudiées sont marquées par :

- *E. robusta* : la prédominance de composés terpéniques oxygénés (54,08%) avec un taux de 49,91% de 1,8-cinéol (eucalyptol) et de hydrocarbures terpéniques (34%) avec un taux d' α -pinène de 20,02%, de γ -terpinène à 6,23% et de p-cymène à 3,73% ;
- *E. grandis* : la présence de 22,63% de hydrocarbures terpéniques, de 28,86% de composés terpéniques oxygénés et une forte présence d'hydrocarbures sesquiterpéniques à 20,05% (en majorité (E)- β -caryophyllène à 3,15% et germacrène D à 8,98%) et de sesquiterpènes oxygénés à 16,59% (oxyde de caryophyllène à 12,16%) ;

- *E. citriodora* : est caractérisée par la prédominance de composés terpéniques oxygénés à 95,80% avec 79,85% de citronellal et 6,84% de β -citronellol.

3.3. Activité antibactérienne

Le tableau 4 regroupe les résultats de tests biologiques d'activité antibactérienne et antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* étudiées.

Tableau 4 : Diamètres des halos d'inhibition (mm) des huiles essentielles de feuilles d'*Eucalyptus* sur les souches bactériennes et champignon testés

Micro-organismes		Diamètres des halos d'inhibition des HE (mm)		
		<i>E. robusta</i>	<i>E. grandis</i>	<i>E. citriodora</i>
Germes bactériens à gram+	<i>Staphylococcus aureus</i>	17	9	-
	<i>Enterobacter cloacae</i>	13	11	9
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	39	55	41
	<i>Bacillus cereus</i>	11	14	20
Germes bactériens à gram-	<i>Escherichia coli</i>	13	11	9
	<i>Salmonella enteridis</i>	14	12	9
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	21	21	17
Souche fongique	<i>Candida albicans</i>	-	-	-

3.4. Discussion

- Les résultats de nos analyses physico-chimiques montrent que les huiles essentielles de feuilles de *E. robusta*, *E. grandis* et *E. citriodora* trouvées dans la Région d'Analamanga à Antananarivo sont des huiles essentielles légères à densité inférieure à 1 (resp. 0,9107 ; 0,9284 et 0,8648).
- La bonne miscibilité à l'éthanol 90°GL des huiles essentielles de *E. citriodora* et de *E. grandis* indique que ces huiles sont majoritairement constituées de composés polaires comme les alcools, les oxydes terpéniques et sesquiterpéniques.
- En réalité, les résultats d'analyse en CPG de ces huiles essentielles confirment que l'huile essentielle de *E. citriodora*, soluble dans la solution hydroéthanolique diluée, est majoritairement constituée de composés terpéniques polaires à 79,85% de citronellal et 6,84% de β -citronellol. L'huile essentielle de *E. grandis* moyennement miscible dans le mélange ethanol/eau est dominée par la présence d'un mélange d'hydrocarbures terpéniques (22,63%), sesquiterpéniques (20,05%), de terpènes oxygénés (28,86%), de sesquiterpènes oxygénés (16,59%) et de composés phénoliques (5,00%) [12].
- Les résultats CPG montre également que l'huile essentielle de *E. robusta* est dominée par la présence de composés apolaires comme l' α -pinène (20,02%), de γ -terpinène (6,23%) et les hydrocarbures sesquiterpéniques (8,73%). Toutefois, cette huile essentielle est du type cinéol, marquée par la présence majeure du 1,8-cinéol à 49,91% (composé terpénique oxygéné) [13].
- Les huiles essentielles de feuilles de *E. robusta* et *E. citriodora* sont dextrogyres. Leurs pouvoirs rotatoires positifs montrent particulièrement qu'elles sont de bonne qualité pharmacologique par leur pouvoir rotatoire élevé (resp. $\alpha_D^{20} = +0,250^\circ$ et $+2,333^\circ$) [12], [14]. L'huile essentielle de feuilles de l'espèce *E. grandis* est également optiquement active. Elle est lévogyre mais à pouvoir rotatoire moyennement élevé ($\alpha_D^{20} = -1,050^\circ$). Cette huile essentielle est donc de bonne qualité pharmacologique [12], [14], [15].

- Les analyses par CPG révèlent que les profils chromatographiques des huiles essentielles de *E. robusta* et de *E. grandis* sont très polydiversifiés comparés à celui de *E. citriodora*.
- Les huiles essentielles de feuilles des trois espèces d'*Eucalyptus* étudiées possèdent de fortes activités antibactériennes vis-à-vis des germes testés. Les sept souches bactériennes à gram+ et à gram- testées ont été toutes sensibles biologiquement. Notamment, la souche à gram+ *Streptococcus pneumoniae*, responsable de nombreuses maladies broncho-pulmonaires aiguës, a été très fortement sensible à des diamètres de halos d'inhibition respectifs de 55mm, 41mm et 39mm avec les huiles essentielles de *E. grandis*, *E. citriodora* et *E. robusta*. Les quatre huiles essentielles sont également très actives sur la souche bactérienne à gram- *Klebsiella oxytoca* avec des diamètres de halos allant de 17 à 21mm. La souche *Bacillus cereus* est très sensible vis-à-vis de l'huile essentielle de *E. citriodora* (d=20mm). Ces résultats biologiques permettent de considérer les huiles essentielles de *E. robusta* et de *E. grandis* comme des substances antibactériennes à large spectre.
- Toutefois, les tests biologiques ont montré que ces huiles essentielles se sont apparemment avérées inactives face à la souche fongique *Candida albicans*.
- L'activité biologique de l'huile essentielle de feuilles *E. robusta*, vis-à-vis des bactéries à gram+ et à gram- peut être interpréter par la présence des composés biologiques actifs :
 - richesse en α -pinène (20,02%), composé reconnu pour son activité antimicrobienne et son pouvoir antiseptique non négligeable [13], [16], [17],
 - et forte teneur en 1,8-cinéol, terpène oxygéné sous forme d'éther cyclique (49,91%), à forte activité antibactérienne et antivirale [12], [13].
- L'huile essentielle de feuilles de *E. grandis* est caractérisée par le taux élevé en composés sesquiterpéniques (36,64%). La forte activité antibactérienne sur les souches bactériennes responsables de maladies broncho-pulmonaires de l'huile essentielle de *E. grandis* peut être expliquée par la présence de 1,8-cinéol à 22,61%, de composés phénoliques à 5% et d'oxyde de caryophyllène à 12,16% [18], [19].
- Ces résultats d'analyse biologique sont en accord avec les données de la littérature indiquant que le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est probablement attribué à la forte teneur en terpènes et sesquiterpènes oxygénés et en substances phénoliques [20], [21].
- La forte teneur en citronellal à 78,58% (aldéhyde terpénique) et en β -citronellol à 7,82% (alcool terpénique) de l'huile essentielle de feuilles de *E. citriodora* lui attribue sa forte activité antimicrobienne et son pouvoir antiseptique [22].

Toutefois, les résultats de recherche de plusieurs auteurs indiquent que la forte activité biologique sur les germes à gram+ et à gram- des huiles essentielles de plantes aromatiques comme les *Eucalyptus* provient notamment de l'action synergique entre les composés biochimiques constituant ces huiles essentielles [6], [21].

IV. CONCLUSION

Les résultats d'extraction en huiles essentielles des feuilles vertes fraîchement récoltées des *Eucalyptus robusta*, *Eucalyptus grandis* et *Eucalyptus citriodora* montrent de bons rendements d'extraction respectifs de 0,36%, 0,33% et 0,80% en masse de feuilles vertes. La présence majoritaire d' α -pinène, de composés terpéniques oxygénés comme le 1,8 cinéol, le citronellal, et le β -citronellol, d'hydrocarbures sesquiterpéniques ((E)- β -caryophyllène, allo-aromadendrène et germacrène D) et de sesquiterpènes oxygénés (oxyde de caryophyllène) suscite les intérêts portés sur l'usage thérapeutique des huiles essentielles des trois espèces d'*Eucalyptus* étudiées. Nos études ont pu confirmer les intérêts portés à l'usage des substances naturelles dans le domaine thérapeutique, notamment l'utilisation des huiles essentielles des trois genres d'*Eucalyptus* étudiés, traditionnellement appliquées à la guérison des maladies broncho-pulmonaires aiguës. Les résultats obtenus ont démontré que les huiles essentielles *E. robusta* et *E. grandis* sont des produits naturels antibactériens à large spectre. La présence des composés volatiles bioactifs dans les feuilles d'*Eucalyptus* étudiées leur ouvre de nouvelles perspectives de valorisation dans le domaine thérapeutique et non seulement dans le domaine de production de combustibles domestiques.

REFERENCES

- [1] H. RANDRIANJAFY, *Les plantations d'eucalyptus à Madagascar : Superficie, rôle et importance des massifs - Collecte et analyse de données pour l'aménagement durable des forêts - Joindre les efforts nationaux et internationaux - Programme de partenariat CE-FAO (1998-2002) -*, National Germplasm Resources Laboratory, Ed., PROJET GCP/INT/679/EC - 1999.
- [2] CIRAD, *Eucalyptus grandis Sm. et Eucalyptus grandis Maiden. Caractères sylvicoles et méthodes de plantation, Revue et méthodes de plantation; Revue "Bois et Forêts des tropiques"; N°63, Janvier- Février 1959.*
- [3] PROTA, *Eucalyptus robusta, Ressources végétales de l'Afrique tropicale, PROTA database, Juin 2018.*
- [4] B. LISAN, *Fiche de présentation de Eucalyptus robusta Smith., 2012.*
- [5] H. BOUDOU, *Etude pharmacologique des plantes traitant les maladies respiratoires aiguës à Tampolo (Madagascar), dans le cadre de l'Association AVERTEM, Thèse de doctorat d'état en Pharmacie, Université de Lille, 2012-2013.*
- [6] J. F. CLEVENGER, *Apparatus for the determination of volatile oil*, 17(4), 346-351. J. Am. Pharm. Assoc., Ed., 1928.
- [7] S. E. STEIN (Director), *NIST Standard Reference Database 1A - NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database (NIST 11) and - NIST Mass Spectral Search Program (Version 2.0g) - The NIST Mass Spectrometry Data Center., 2011.*
- [8] L. MICHEL, *Etude de la sensibilité aux antimicrobiens - Documentation technique extraite des notices techniques commerciales et de différentes publications - Lycée des métiers du tertiaire, de la santé et du social – Grenoble., de la santé et du social Lycée des métiers du tertiaire, Ed. Grenoble, 2010-2011.*
- [9] K. OUATTARA, D. YEO, I. DOUMBIA, A. COULIBALY, Y. TRAORE, *Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'Annona senegalensis Pers. (Annonaceae)*, Journal of Applied Biosciences 58: 4234– 4242 ISSN 1997–5902, Ed., Octobre 2012.
- [10] T. ANDRIAMBOLOLONA, *Etudes biologiques et chimiques des métabolites secondaires des Actinomycetes Telluriques - Cas de la forêt d'Ankafobe.: DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE -FACULTE DES SCIENCES - UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, 2010.*
- [11] B. ANDRIANARISOA, L. H. TSIRINIRINDRAVO, *Activités antibactériennes de l'extrait des feuilles de Dalechampia clematidifolia (Euphorbiaceae).*, Int. J. Biol. Chem. Sci. 3(5): 1198-1202, October 2009 - ISSN 1991-8631.
- [12] E. GUENTHER, *The Essential Oils : The Constituents of Essential Oils. Vol. II. Krieger,, Florida., (1975).*
- [13] K., HÜSNÜ CAN BASER, G. BUCHBAUER, *Handbook of essential oils : Science, Technology, and Applications, Taylor & Francis Group CRC Press and Suite 300 , Boca Raton, FL 33487-2742. 6000 Broken Sound Parkway NW, Eds., 2010.*
- [14] P.R. RANDRIAMIHARISOA, L. RANAIVOARISON, *Valorisation des huiles essentielles de l'Ocimum basilicum et de l'Ocimum canum*, Archives du Centre National de Recherches Pharmaceutiques. #8. p. 279-289, Ed., 1989.
- [15] H. C. RATSIMANOHATRA, *Caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielle extraite des feuilles de Polyscias ornifolia (Araliaceae), Diplôme d'Etudes Approfondies de Biochimie, , Université d'Antananarivo Faculté des Sciences, Ed., 2011.*
- [16] S. YOLOU, J. B. BOTI, K. N. GUESSEND, K. KANKO, C. AHIBO, J. CASANOVA, R. O. KOUAME, *Etude chimique et activité antidiarrhéique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne, European Journal of Scientific Research, 24 (2008) 94-103., 2008.*

- [17] M. HNACH, B. BOURKHISS, M. OUHSSINE, A. CHAOUCH, M. BOURKHISS, *Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de Tetraclinis articulata (Valh) du Maroc, Afrique Science 03 (2) (2007) 232-242, ISSN 1813-548X., 2007.*
- [18] E. B. RUSSO, J. MARCU, *Cannabis pharmacology : the usual suspects and a few promising leads, Advances in Pharmacology, volume 80, 2017, pages 67-134, ScienceDirect, <https://doi.org/10.1016/bs.alpha.2017.03.004>., 2017.*
- [19] F. FRANCOMANO and all, *Béta-caryophyllene : a sesquiterpene with countless biological properties, Applied Sciences, Appli. Sci. 2019, 9, 5420; doi:10.3390/app9245420., 2019.*
- [20] M. GHANMI, A. FARAH, A. AAFI, F. HASSAN, B. BOURKHISS, D. BOUSTA, M. TALBI, B. SATRANI, *Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de Clandanthus mixtus, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 2007, 146, 85-96., 2007.*
- [21] B. SATRANI, M. GHANMI, N. MANSOURI, H. MOHAMED, A. CHAOUCH, S. O. S. HASSANE, *Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle de Plectranthus aromaticus Roxb. de l'Ile de Grande Comore, Biotechnol.Agron. Soc. Environ., 15 (2) (2011) 251-258., 2011.*
- [22] A. WANY and al., *Chemical analysis and therapeutic uses of citronella oil from Cymbopogon winterianus : a short review, International Journal of Advanced Research (2013), Volume 1, Issue 6, 504-521, ISSN NO 2320-5407., 2013.*