

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

Université Kasdi Merbah-Ouargla

Faculté des Mathématiques et des Sciences de la matière

Département de Chimie



Mémoire

Présenté pour l'Obtention du diplôme de Master Académique

Spécialité : Chimie

Option : Chimie appliquée

Par : BENMOUSSA Fatima Zohra, BOUGOFFA Abla

Thème :

**Contribution à l'étude de l'huile essentielle
de la plante de *Lavandula pubescens* Decne**

Soutenu le : / 05 / 2017 devant la commission d'examen :

| | | |
|-------------------------------------|-------|------------|
| M ^{me} SLOUGUI Nabila | M.C.B | Président |
| M ^{elle} ALLAOUI Messaouda | M.C.B | Examineur |
| M ^{me} HAMADA Djamila | M.C.B | Rapporteur |

Année universitaire : 2016/2017

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

** A mes très chers parents: Hayette et Elazhari pour leur générosité*

et leur sacrifices.

** A tous mes frères et sœurs: Mouhamed Elazhar, Abdelhak, Salima,*

Abdelmoumen, Ibtissame

** A mes aimables petites nièces: Elbaraa, Roukaya, Asmaa*

** A mes oncles et mes tantes.*

** A toute ma famille (Benmoussa et Khalfallah)*

** A tous mes amis (es) sans exception.*

A toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont apporté leur aide.

A tous, du fond de mon coeur je vous dédie ce travail.

Fatima Zohra

DÉDICACES

A mon père

A ma mère que le tout puissant la protège

A mes frères: Amaar, Kamal, Abdeldjabbar, Houcine, Mouhamed,

Abdelrahmane,

Ma soeur: Fatiha, Aicha

A mes aimables petites nièces: Rayanne, Mourad, Antaar, Mahdi

et Fahima

A mon fiancé: Houcine

A mes fidèles amies: Najia, Saliha, Hadda, Mesaouda, Elhadja,

Soumaia, Imane, Khaoula, Dalila, Souhad, Souade, Hakima,

Abla, Khayra, Ilhem, Feryelle

A toute ma famille

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers eux.

Abla

Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant de m'avoir accorder la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur Madame **HAMADA Djamila** maitre de conférence (B) à *la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla* pour sa disponibilité et son aide documentaire ainsi que pour sa rigueur méthodologique dans la réalisation de ce modeste travail

Nos sincères remerciements vont au **Pr. EDDOUD Omar** (Laboratoire de bioressources sahariennes, université d'Ouargla) professeur, à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla

Nous tenons à remercier Madame **SLOUGUI Nabila** maitre de conférence (B) à *la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla*, pour avoir accepté de présider le jury, ainsi qu'à **M^{lle} ALLAOUI Mesaouda** maîtres de conférence (B) à *la faculté des Mathématiques et des Sciences de la Matière de l'Université KASDI MERBAH-Ouargla*, d'avoir examiner notre travail, pour leurs remarques judicieuses et leurs critiques enrichissantes qui vont valoriser notre mémoire.

Nous voudrions ensuite exprimer toute gratitude, reconnaissances et remerciement à tous les enseignants : **MEFLAH siham, HDJADJ Soumia**

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les membres du laboratoire pédagogique de l'université KASDI MERBAH-Ouargla : pour leur conseils et leur orientations.

Nous tenons également à remercier le personnel du laboratoire de microbiologie à l'hôpital Mohamed Boudiaf de m'avoir facilité la tâche de réaliser les tests microbiologiques.

Et encore nous remercions populations de douar Elmermethya pour ses aides de récolte de la plante Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tout nos familles, tous nos proches, et amis qui nous ont toujours soutenu et encouragé au cour de la réalisation de ce mémoire et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à notre formation.

Table des matières

| | |
|-----------------------------|-----|
| Liste des figures | I |
| Liste des tableaux..... | II |
| Liste des abréviations..... | III |
| Introduction générale..... | 01 |

Partie théorique

Chapitre I : Généralité sur *Lavandula Decne.*

| | |
|--|----|
| I.1)- Généralités..... | 02 |
| I.2)- Etymologie..... | 02 |
| I.3)- Taxonomi..... | 04 |
| I.4)- Description botanique de <i>Lavandula pubescens Decne.</i> | 05 |
| I.4.1)- Classification de <i>Lavandula pubescens Decne.</i> | 05 |
| I.4.2)- Caractéristiques botaniques de <i>Lavandula pubescens Decne.</i> | 05 |
| I.5)- Répartition géographique..... | 06 |
| I.6)- Zone d'étude..... | 06 |
| I.7)- Récolte de <i>Lavandula Decne.</i> | 07 |

Chapitre II: Généralités sur les huiles essentielles

| | |
|--|----|
| II.1)- Bref historique | 08 |
| II.2)- Définition | 08 |
| II.3)- Localisation des huiles essentielles dans les plantes | 09 |
| II.4)- Caractéristiques et Propriétés physico-chimiques..... | 10 |
| II.4.1)- Caractéristiques et Propriétés physiques..... | 10 |
| II.4.2)- composition chimique..... | 10 |
| II.4.3)- Les terpènes..... | 10 |
| II.4.4)- Monoterpènes..... | 11 |
| II.4.5)-Sesquiterpènes..... | 11 |
| II.4.6)- Composés aromatiques..... | 12 |
| II.5)- Les méthodes d'extraction des huiles essentielles..... | 13 |
| II.5.1)- Entraînement à la vapeur d'eau..... | 13 |
| II.5.2)- L'hydrodiffusion..... | 13 |

| | |
|--|----|
| II.5.3)- L'hydrodistillation..... | 14 |
| II.5.4)- Expression à froid..... | 16 |
| II.5.5)- Extraction par CO2 super critique..... | 17 |
| II.5.6)- Extraction assistée par micro-onde..... | 17 |
| II.6) - Utilisation de <i>Lavandula pubescens</i> Decne..... | 18 |
| II.6.1) - Utilisation dans la médecine naturelle..... | 18 |
| II.6.2) - Utilisation dans la cuisine..... | 19 |
| II.7)- Méthodes d'identification physico-chimique des huiles essentielles..... | 19 |
| II.8)- Analyse de la composition chimique..... | 19 |
| II.9) - Activités biologiques des huiles essentielles..... | 20 |
| II.9.1) - Activité antioxydante..... | 20 |
| II.9.2) - Activité antibactérienne..... | 21 |

Partie pratique

Chapitre III: Matériel et méthode

| | |
|---|----|
| III.1)- Matériels utilisés et appareillage | 22 |
| III.2)- Protocole expérimental..... | 23 |
| III.3)- Extraction des huiles essentielles..... | 24 |
| III.3.1) - Matériel vegetal..... | 24 |
| III.3.2) – Méthodes..... | 24 |
| III.3.3) – Extraction..... | 24 |
| III.3.4)- Montage d'hydrodistillation | 24 |
| III.4)- Analyses physico-chimiques..... | 25 |
| III.4.1)- Rendement..... | 25 |
| III.4.2)- La densité..... | 26 |
| III.4.3)- Le pH..... | 26 |
| III.4.4)- Indice de refraction..... | 26 |
| III.4.5)- L'indice d'acide..... | 27 |
| III.5)- Activité antioxydante..... | 28 |
| III.5.1)- Test de réduction du radical stable, DPPH | 29 |
| III.5.2)- Principe de la méthode..... | 29 |
| III.5.3)- Mode opératoire..... | 30 |

| | |
|--|----|
| III.5.4)- Protocole expérimental pour le test au DPPH..... | 31 |
| III.6)- Test de réduction du fer (FRAP) | 32 |
| III.6.1)- Méthode de la réduction du fer (FRAP) | 32 |
| III.6.2)- Mode opératoire..... | 33 |
| III.7)- Activité antibactérienne..... | 34 |
| III.7.1)- Aromatogramme..... | 34 |
| III.7.2)- Mode opératoire..... | 35 |

Chapitre IV: Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| IV.1)- Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>Lavandula pubescens</i> . | 37 |
| IV.2)- Analyses physico-chimiques..... | 37 |
| IV.3)- Activité antioxydante..... | 38 |
| IV.3.1)- DPPH..... | 38 |
| IV.3.2)- FRAP..... | 39 |
| IV.4)- Activité antibactérienne..... | 42 |
| Conclusion | 45 |
| Références bibliographie..... | 46 |

Liste des figures

| N° de figure | Titre de figure | La Page |
|--------------|--|---------|
| 01 | Taxonomie du genre <i>Lavandula</i> | 4 |
| 02 | <i>Lavandula pubescens</i> Decne | 5 |
| 03 | Feuille de <i>Lavandula pubescens</i> Decne | 6 |
| 04 | Fleur de <i>Lavandula pubescens</i> Decne | 6 |
| 05 | Localisation de Tébessa dans l'Algérie | 7 |
| 06 | Localisation d' Elmermouthia dans la wilaya de Tébessa | 7 |
| 07 | Différentes structures des monoterpènes | 11 |
| 08 | Différentes structures des sesquiterpènes | 12 |
| 9 | Différentes structures des dérivés du phénylpropane | 13 |
| 10 | Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante | 14 |
| 11 | L'hydrodistillation traditionnelle. | 15 |
| 12 | L'extraction « in-line ». | 17 |
| 13 | Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne | 21 |
| 14 | Schéma qui représente le Protocole expérimental | 23 |
| 15 | Hydrodistillation (<i>Clevenger</i>) | 24 |
| 16 | Protocole d'extraction par hydrodistillation | 25 |
| 17 | Détermination du pH | 26 |
| 18 | Réfractomètre | 27 |
| 19 | Montage - Indice d'acide | 27 |
| 20 | Détermination de l'indice d'acide | 28 |
| 21 | Absorbance de DPPH par spectrophotométrie | 29 |
| 22 | Réaction du DPPH• avec un antioxydant | 30 |
| 23 | Matériel et réactifs pour le test au DPPH | 30 |
| 24 | Test de piégeage DPPH | 31 |
| 25 | La lecture des absorbances des échantillons | 32 |
| 26 | Test de piégeage FRAP | 33 |
| 27 | Aromatogramme | 34 |
| 28 | Protocole des tests microbiologiques effectués au laboratoire de microbiologie | 36 |
| 29 | Pourcentages d'inhibition du radical DPPH d'acide ascorbique | 39 |
| 30 | Pourcentages d'inhibition du radical DPPH d'huile essentielle | 40 |
| 31 | pouvoir réducteur d'acide ascorbique dans le test de FRAP. | 41 |
| 32 | pouvoir réducteur d'huile essentielle dans le test de FRAP. | 41 |
| 33 | Diamètre des zones d'inhibition | 43 |
| 34 | Activité antibactérienne huile essentielle de <i>L. pubescens</i> | 44 |

Liste des tableaux

| N° de tableau | Titre de tableau | La page |
|---------------|--|---------|
| 01 | Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Lavandula pubescens</i> | 38 |
| 02 | Résultats d'analyse physico-chimique des huiles essentielles de <i>Lavandula pubescens</i> | 38 |
| 03 | Les valeurs IC ₅₀ et EC ₅₀ d'acide ascorbique et huile essentielle | 42 |
| 04 | diamètres des zones d'inhibition et la sensibilité des souches | 44 |

Liste des abréviations

| | |
|--|--|
| AC | Acide ascorbique. |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| AFNOR | Association Française de Normalisation |
| ARN | Acide ribonucléique |
| EC₅₀ | Concentration d'efficace correspondant à 50% de la concentration |
| CG/SM | Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse |
| CLHP (HPLC) | Chromatographie liquide à haute performance |
| CPG | Chromatographie en phase gazeuse. |
| Decne | Joseph Decaisne |
| DD | Diamètre d'inhibition |
| DPPH | diphényl-picrylhydrazyle. |
| FeCl₃ | Chlorure ferrique |
| FRAP | Ferric ion Reducing Antioxydant Power. |
| HE | Huile essentielle. |
| IC₅₀ | Concentration d'inhibition correspondant à 50 % de la concentration |
| K₃Fe(CN)₆ | solution de fer tricyanure de potassium |
| KOH | Hydroxyde de potassium |
| MHA | Mueller Hinton Agar |
| M_{huile} | Masse de l'huile en g. |
| M_{plante} | Masse de la plante en g. |
| N | Normalité |
| ORAC | Oxygen Radical Absorbance Capacity. |
| R | Rendement en huile essentielle (%). |
| R· | Radical libre. |
| rpm | rotation par minute |
| RMN | Résonance Magnétique Nucléaire |
| TRAP | Total Radical-Trapping Antioxydant Power. |
| UV | Ultra-Violet |
| V_{huile} | Volume d'huile. |
| TCA | Acide Trichloro Acétique |
| ρ | La densité (la masse volumique) |

*Introduction
générale*



Introduction

Les plantes sont une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries telles que l'industrie cosmétique, l'industrie agro-alimentaire et l'industrie pharmaceutique. La diversité de ces molécules naturelles qui ne sont pas essentielles à la viabilité des plantes reste une énigme pour les biologistes qui essaient de décrypter leur rôle dans la nature. De même, l'élucidation des voies de biosynthèse conduisant à des produits naturels originaux est un champ d'investigation inépuisable pour les scientifiques. L'homme préhistorique, qui avait très peu de moyens, devait se nourrir des produits de cueillette et de chasse. En assimilant la flore locale, il a découvert les plantes utiles et indispensables pour survivre. Ce régime, essentiellement végétarien, a constitué le berceau de l'utilisation des produits naturels. A cette époque, bien que les huiles essentielles ne soient pas signalées, les plantes aromatiques étaient largement employées.

Actuellement, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles, leurs extraits bruts dont les domaines d'application sont très variés et qui sont très utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs et dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant. Elles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments, sous forme de crèmes, gélules et suppositoires. Leur utilisation s'appelle "l'aromathérapie", qui consiste à utiliser les huiles essentielles pour le traitement de diverses manifestations pathologiques.

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. L'intérêt porté à ces plantes n'a pas cessé de croître au cours de ces dernières années. Leurs propriétés, dues notamment à la fraction huile essentielle, peuvent être mises à profit pour traiter les infections mycosiques. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des Lamiacées qui est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien. La plante de notre choix est une espèce de *Lavandula* provenant de la région de TEBESSA (daouar Elmermothia); bien que relativement abondante et largement utilisée, cette espèce a été peu étudiée.

Lavandula est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde.

Les extraits des feuilles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre les maux de tête, et notamment comme anti-inflammatoire et antiseptiques et pour traiter certaines brûlures

Les études récentes soulignent des propriétés antioxydantes et antibactériennes de ces huiles essentielles.

Dans le cadre de la valorisation des essences d'espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que présentent les labiacées, nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de l'espèce de labiacées « *Lavandula pubescens* » poussant à l'état spontané dans la région de Tebessa– Algérie et à évaluer l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de la plante.

A cet effet, notre travail sera illustré par quatre chapitres:

✓ Le premier chapitre intitulé : Etude botanique, sera consacré à une étude bibliographique concernant la famille des *Labiacée* de l'espèce de *Lavandula pubescens*.

✓ Le deuxième chapitre intitulé : Huiles essentielles, sera consacré à un rappel général sur la théorie des huiles essentielles, nous présentons ensuite les différents procédés d'extraction.

✓ Le troisième chapitre intitulé : Partie pratique, sera consacré à l'extraction des huiles essentielles. Nous présenterons également dans ce chapitre l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles.

✓ Le quatrième chapitre intitulé : Résultats et discussion contient les résultats de notre travail.

✓ Une conclusion générale en fin de notre mémoire fera ressortir l'essentiel de nos résultats ainsi que des perspectives à développer ultérieurement.

Partie théorique





Chapitre I :
Généralité sur Lavandula
Decne.

Chapitre I : Généralité sur *Lavandula pubescens* Decne

I.1)- Généralités

Les *Lamiaceae* ou *Labiatae* (*Lamiacées*, *Labiacées* ou *Labiées*) sont une importante famille de plantes.

Le genre *Lavandula pubescens* Decne. est l'un des plus importants genres de la famille des *Lamiacées* (*Labiées*, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs). Les *Lamiacées* constituent une large famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 7200 espèces et près de 236 genres répartis en 7 ou 8 sous-familles. Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres ou des lianes, largement répandus autour du monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes. Pour la plupart des genres, la section carrée de la tige, les feuilles opposées, et décussées, et les fleurs hermaphrodites avec calices persistants entourant, à maturité, un tétrakène sont une combinaison de caractères différentiant par rapport aux autres Angiospermes. De nombreuses espèces de cette famille (sous-famille des *Nepetoideae*) sont des plantes aromatiques source d'HEs très utiles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y rencontre aussi beaucoup d'espèces mellifères et également des espèces cultivées comme plantes condimentaires et ornementales. Parmi le nombreux genres de *Lamiaceae* on peut citer : *Ajuga*, *Origanum*, *Lamium*, *Lavandula*, *Mentha*, *Rosmarinus*, *Salvia*, *Satureja*, *Melissa*, *Ocimum*, *Teucrium*, *Stachys*, *Thymus*, etc [1]

I.2)- Etymologie

Le mot *lavande* dérive du verbe laver. Il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner, les Romains ayant utilisé des lavandes pour parfumer leurs bains [2]. Cette étymologie laisse penser que très tôt la lavande a été utilisée pour parfumer le linge fraîchement lavé. Des sachets de fleurs séchées sont traditionnellement placés dans les armoires pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe. Mais il est également possible que *Lavandula* et lavande soient tirés du latin *livere* (qui signifie "pour être livide ou bleuâtre") qui en latin médiéval a donné le terme *lavindula*. La relation entre la lavande et le lavage qui n'est clairement explicitée qu'en 1568 serait alors une supposition secondaire. [3]

I.3)- Taxonomi

La classification du genre *Lavandula* a subi de nombreuses modifications depuis Plin 76 avant J.C. et le nombre d'espèces décrites n'a cessé d'augmenter au fil des travaux botaniques. [4] ; voir (Fig.01)

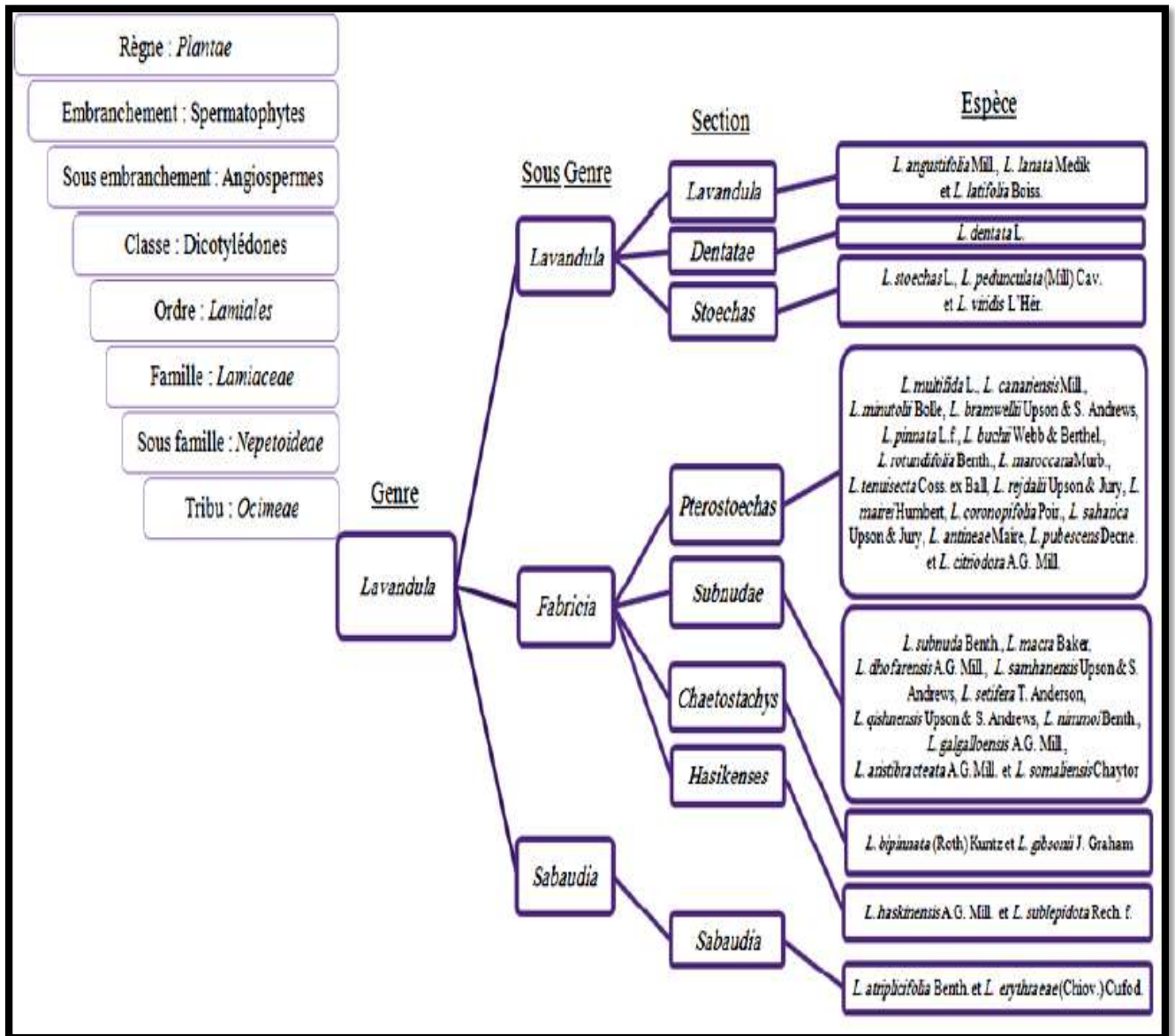


Fig.01 : Taxonomie du genre *Lavandula* [5]

I.4)- Description botanique de *Lavandula pubescens* Decne.

I.4.1)- Classification de *Lavandula pubescens* Decne.

| | |
|----------------------|----------------------------|
| Règne : | Plante |
| Sous-règne : | Tracheobionta |
| Division : | Magnoliophyta |
| Classe : | Magnoliopsida |
| Sous-classe : | Asteridée |
| Ordre : | <i>Lamiales</i> |
| Famille : | <i>Lamiacées (Labiées)</i> |
| Genre : | <i>Lavandula</i> |
| Espèces : | <i>Lavandula pubescens</i> |



Fig.02: *Lavandula pubescens* Decne

I.4.2)- Caractéristiques botaniques de *Lavandula pubescens* Decne. [6, 7, 8]

La plante de *Lavandula pubescens* (Fig.02) est amère et aromatique et a comme particularité:

- **Feuilles** persistantes verts grisâtres, allongées, entières, opposées-décussées, sessiles, possédant des bords enroulés. En effet, chez les espèces xérophytes, les bords du limbe des feuilles coriaces se replient pour protéger les stomates : adaptation leur permettant de réduire leur transpiration; (Fig.03).

- **Inflorescence** en épi lâche ou serré, bractées distinctes des feuilles.

- **Fleurs** bleues-violacées; (Fig.04)

- **calice** tubuleux strié, marqué dans sa longueur de 13 à 15 nervures principales et terminé par 5 dents inégales, dont la supérieure, plus longue, est prolongée par un appendice cordiforme.

- **corolle** bleue bilabée à cinq divisions: la lèvre supérieure est bifide et la lèvre inférieure trilobée.

- **anthère** à une seule loge s'ouvrant par une fente en arc, ovaire supère.

- **carpelles** glabres et lisses.

- **fruit** tétrakène dont les quatre parties sont ovales, comprimées, brunes et luisantes.

Les graines sont ovoïdes, brun noir et lisses.

- Soulignons que la désignation anglaise du genre *Lavandula* est *lavender*.

Fig.03 : Feuille de *L. pubescens*Fig.04: Fleur de *L. pubescens*

I.5)- Répartition géographique

Les genres *Lavandula pubescens* Decne sont réparties sur trois continents, l'Afrique, l'Europe et l'Asie, se rencontrent à l'état sauvage bien au-delà de leur aire naturelle de répartition. Ce sont des échappées de culture.

En général, les lavandes poussent et s'épanouissent mieux dans des terrains secs, bien drainés, légers, sablonneux et pierreux en plein soleil [9]. Les lavandes poussent surtout sur des sols calcaires.

La distribution actuelle des lavandes est probablement en lien avec les changements climatiques et/ou la tectonique des plaques, mais ceci n'explique pas la présence de lavandes sur les îles volcaniques de l'océan atlantique qui n'ont jamais été en relation avec le continent. Les lavandes ont donc colonisé ces îles via une dispersion à longue distance probablement par des pinsons ou d'autres espèces d'oiseaux granivores [5], ou par le transport des graines facilité par les Alizés ou les forts courants marins [10]

En Algérie, ce genre est représenté par sept espèces spontanées, *L. stoechas*, *L. multifida*, *L. coronopifolia*, *L. pubescens*, *L. dentata*, et les plus récemment décrites *L. antineae* et *L. sahariensis* [11, 5] Certaines sont rares et disséminées en haute montagne et vallées ou cantonnées dans le grand Sahara.

I.6)- Zone d'étude [12].

La wilaya de Tébessa est située à l'extrême de l'Algérie, elle est délimitée : au nord, par la wilaya de Souk Ahras ; à l'est, par la Tunisie; à l'ouest, par les wilayas de Khenchela et d'Oum El Bouaghi; au sud, par la wilaya d'El Oued.

Caractérisée par la chaleur intense en été et le froid extrême en hiver , elle est situé entre les latitudes 30/32 nord et longitude 5.54 entre les montagnes doukan , Qaqaa et Burman se sont des parties de la chaîne montagneuse eurassienne

La wilaya de Tébessa (Figure 05 ; 06) est une zone de transition météorologique, elle se distingue par quatre étages bioclimatiques :

- le Sub-humide (400 à 500 mm/an), très peu étendu, il est limité aux sommets de quelques reliefs (Djebel Serdies et Djebel Bouroumane);
- le Semi-aride (300 à 400 mm/an), couvre toute la partie Nord de la wilaya;
- le Sub-aride (200 à 300 mm/an), couvre les plateaux steppiques;
- l'aride ou saharien doux (inférieur à 200 mm/an), s'étend au-delà de l'Atlas saharien.



Figure 05 : Localisation de Tébessa dans l'Algérie



Figure 06 : Localisation d'Elmermouthia dans la wilaya de Tébessa.

I.7)- Récolte de *Lavandula*.

La floraison de *Lavandula* a lieu, selon l'altitude et le climat de l'année, entre juin et septembre. La Lavande fine fleurit fin juin-début juillet, les Lavandins fin juillet et la Lavande aspic fin août [13].

Après fécondation des fleurs et formation de la graine, il y a chute des fleurs et si la récolte tarde, les graines mûres tombent. Chez les Lavandes vraies, 15 à 20 jours après l'apparition des premières fleurs, les calices fournissent le maximum d'essence, mais rapidement cette richesse diminue un peu avant que n'apparaissent les premières graines mûres, et pendant tout le temps où les graines se forment. Chez les Lavandins qui n'ont pas de graines, les rendements se maintiennent à un taux élevé, même après la fin de floraison [14].

La récolte doit être effectuée quand la fleur est au trois quart fanée pour *L. angustifolia* et au tiers flétri pour *L. latifolia* ou bien quand les premières graines mûres

apparaissent (8 à 15 jours après la floraison). En ce qui concerne le Lavandin, cela a lieu quand toutes les fleurs sont fanées.

Les rendements de l'huile essentielle ne présentent pas de différence mais les compositions chimiques varient pendant une journée. Ce sont des informations importantes pour le temps de récolte ; le meilleur moment pour la récolte des Lavandes est à partir de midi et dans l'après midi où des quantités plus hautes d'esters (acétate de linalyle) ont été observées tandis que les alcools sont réduits. Durant la matinée, une quantité plus importante d'alcool, de cétones et d'éthers ont été remarquées. La plus haute concentration de linalol et d'acétate de linalyle et la plus basse en 1,8-cinéole et camphre aboutissent au meilleur arôme de *L. angustifolia*. L'odeur la plus forte est émise entre 19h30 et 7h30 avec un maximum entre 23h30 et 3h30. Il est recommandé de couper les plantes quand il fait chaud car l'huile essentielle monte davantage dans la plante [15].

Le meilleur temps de récolte est obtenu pendant la floraison complète car c'est le moment où le pourcentage maximum de linalol est obtenu. 37 composés ont été identifiés pendant la floraison complète et 32 avant la floraison de *L. angustifolia* [16,17] Il existe deux types de récolte:

- la récolte en vert-broyé où les tiges florales sont récoltées et coupées finement avec une ensileuse, puis chargées dans une remorque pour la distillation.
- la récolte traditionnelle où les tiges florales sont coupées en gerbe et laissées séchées 2 à 3 jours au champ avant la distillation.

L'espieur comporte un tracteur et une remorque avec un bras coupant les fleurs et les broyant. Après avoir récolté les fleurs, il coupe la tige, la broie pour la mettre directement en compost. Le seul inconvénient de cette machine est que la distillation doit avoir lieu de suite après la récolte [18].

Côté jardin, pour couper la Lavande correctement, il faut le faire très court: à la base de la tige. On ne sectionne jamais au dessus car si on laisse une dizaine de centimètres de tige, la Lavande de l'année prochaine reporte ces dix centimètres sur le pied hors du sol: on parle de Lavande aérienne [18].

Chapitre II:
Généralités sur les huiles
essentielles



Chapitre II: Généralités sur les huiles essentielles**II.1)- Bref historique**

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines: parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés ; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches. [19]

II.2)- Définition

Le terme « huile essentielle » a été inventé au 16^{ième} siècle par le médecin Suisse Parascelsus Von HOHENHEIM pour désigner le composé actif d'un remède naturel. [20]

De très nombreux auteurs ont tenté de donner une définition des huiles essentielles. D'après William Naves [1874-1936], aucune des définitions des huiles essentielles n'a le mérite de la clarté, ni celui de la précision. Cet auteur définit les huiles essentielles comme « des mélanges de divers produits issus d'une espèce végétale, ces mélanges passent avec une certaine proportion d'eau lors d'une distillation effectuée dans un courant de vapeur d'eau». [21]

Cette définition a été reprise à peu de choses près par AFNOR et ISO: « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ». [22, 23]

II.3)- Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Ces essences sont localisées dans différents organes de la plante. Elles sont présentes soit dans les organes végétatifs; soit dans les organes reproducteurs. Nous les trouvons dans les feuilles et les fleurs, mais également dans les graines (semences), les racines, les fruits et les écorces. les tiges, le bois, etc. Et sont également concentrées dans certains cellules ou groupes spéciaux de cellules (glandes). Les huiles essentielles sont des produits naturels des plantes qui s'accumulent en structures spécialisées telles que des cellules d'huile, des trichomes glandulaires, et des conduits d'huile ou de résine. [24]

II.4)- Caractéristiques et Propriétés physico-chimiques**II.4.1)- Caractéristiques et Propriétés physiques**

Les propriétés physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Généralement incolores ou jaune pâle, les essences sont liquides à température ambiante. elles sont peu solubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses, et dans les alcools. Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation. ils doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement. [25]

Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux ce qui induit à la perte de ses propriétés. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. [24]

II.4.2)- composition chimique

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composés différents, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques: les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthétisé essentiellement à partir de l'acide shikimique [25]

II.4.3)- Les terpènes

Les huiles essentielles sont constituées d'un certain nombre de composés terpéniques, généralement les plus volatils dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène [20]

Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone: les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15), et moins fréquemment les diterpènes (C 20), les triterpènes (C 30) et les tétraterpènes (C 40). Certains composés terpéniques peuvent être toxiques, répulsives ou attractifs pour d'autres organismes, d'où leurs rôles dans les interactions entre les plantes et plantes-animaux

II.4.4)- Monoterpènes

On y rencontre des monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène) (Fig.07) Grace à la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, elles peuvent se rattache à un certain nombre de molécules [26]

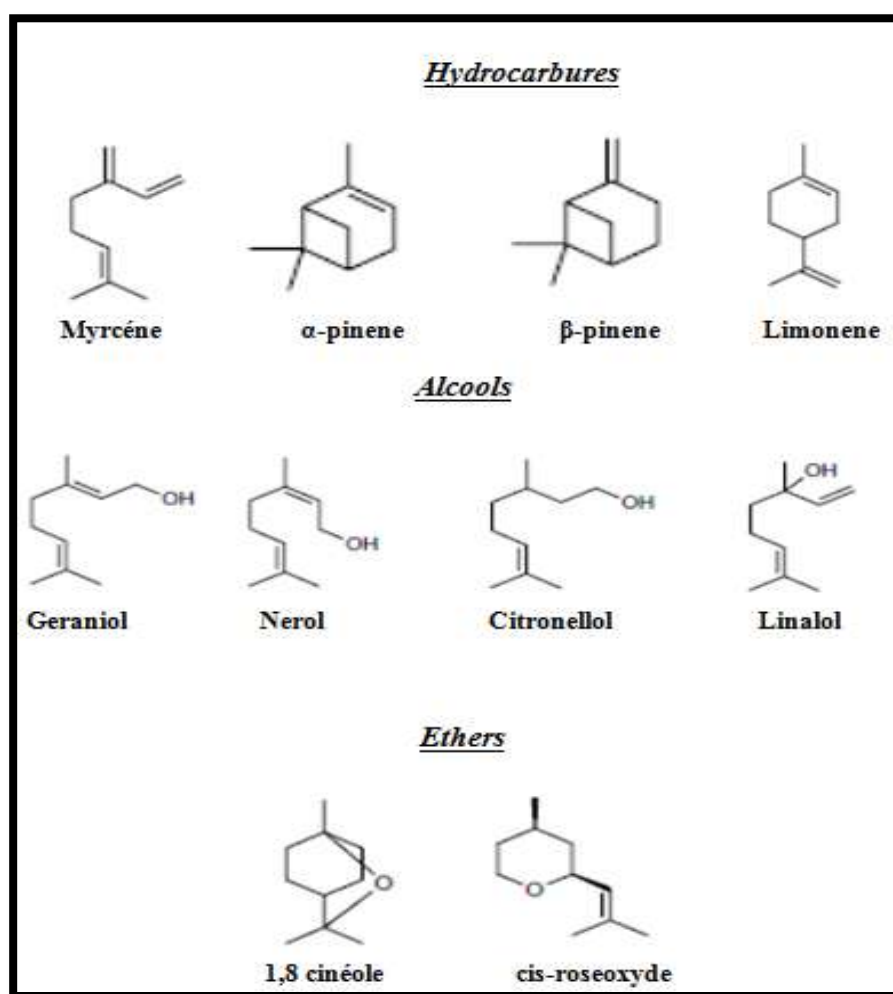


Fig.07: Différentes structures des monoterpènes

II.4.5)-Sesquiterpènes

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes amplifie le nombre des cyclisations possible, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits. On trouvera également

des sesquiterpènes avec des fonctions chimiques caractéristiques : alcool (farnésol, carotol), carbures (β -caryophyllène), cétones, ester. (Fig.08)

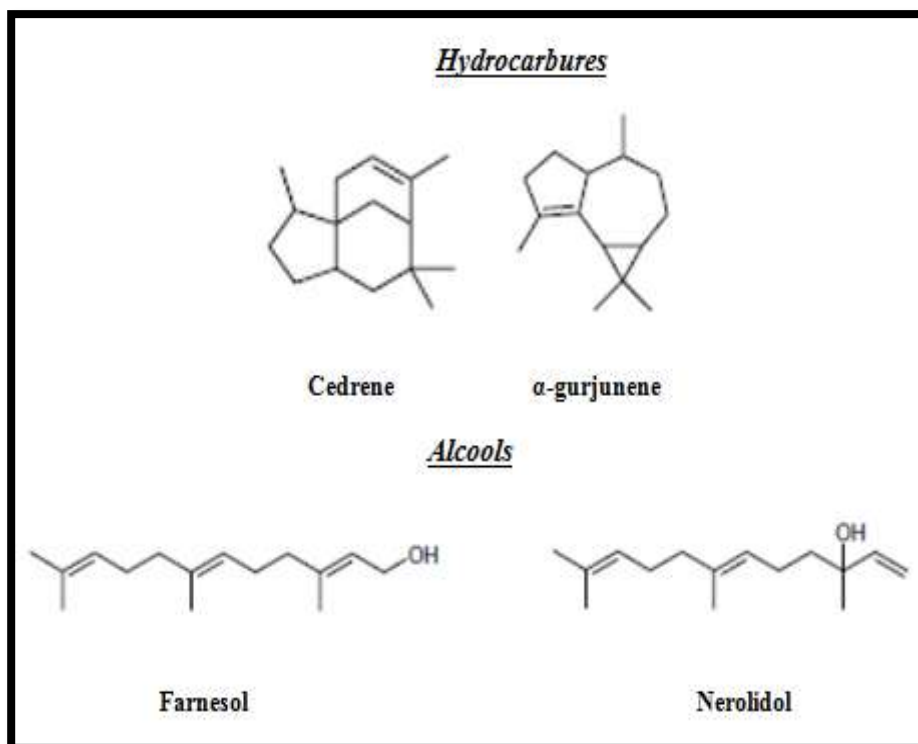


Fig.08: Différentes structures des sesquiterpènes

II.4.6)- Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C₆-C₃), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment d'allyl ou propénylphébols, et ou aldéhydes. La biosynthèse par voie phenylpropanoïdes débute par des aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine, Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle Phényle. Egalement, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide Shikimique et l'acide cinnamique. Les phénylpropanoïdes sont moins répondu dans l'HE que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, cannelles (eugénol, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde) (Fig.09). [27]

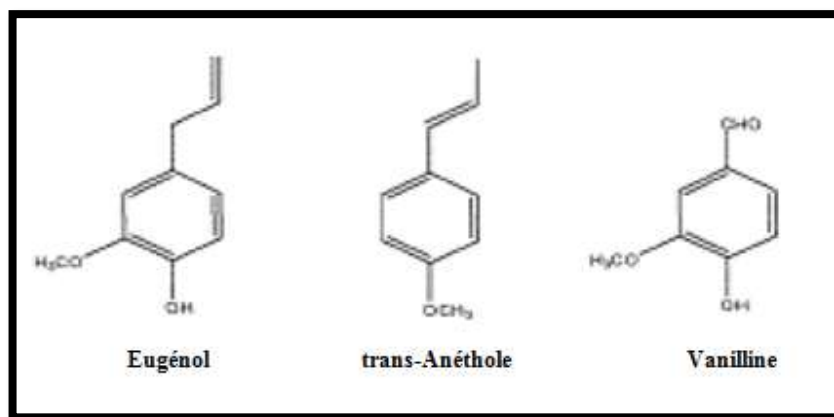


Fig.09 : Différentes structures des dérivés du phénylpropane

II.5)- Les méthodes d'extraction des huiles essentielles [27]

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction. Les principales méthodes d'extraction sont :

II.5.1)- Entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ».

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : " l'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

II.5.2)- L'hydrodiffusion

Est une variante de l'entraînement à la vapeur (Fig.10). Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau.

Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « Vapeur d'eau + huile essentielle » dispersé dans la matière végétale. Comme pour l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie

d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

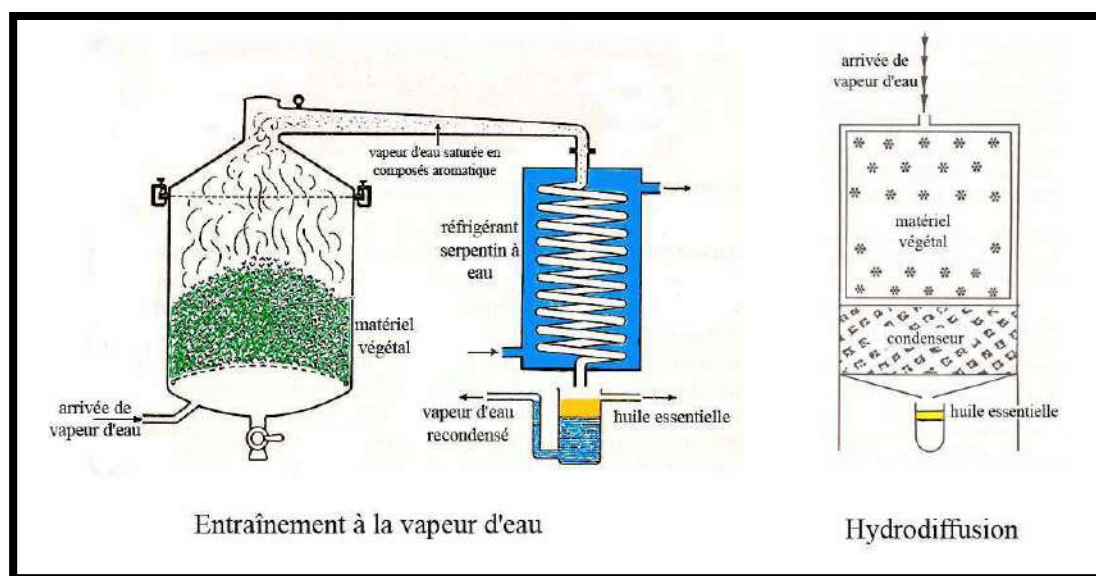


Fig.10 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante. [27]

II.5.3)- L'hydrodistillation

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition, généralement à pression atmosphérique (Fig.11). La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi le mélange azéotropique « eau + huile essentielle » distille à une température égale 100 °C. à pression atmosphérique alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. Il est ensuite refroidi et condensé dans un essencier ou vase florentin. Une fois condensées, eau et molécules aromatiques du fait de leurs différences de densité, se séparent en une phase aqueuse et une phase organique : "l'huile essentielle".

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En

laboratoire le système équipé d'une cohobe qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la Pharmacopée Européenne est le Clevenger.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

Afin de traiter des matières premières pour lesquelles il est difficile d'extraire l'huile essentielle ou pour les essences difficilement entraînaibles, l'hydrodistillation à pression élevée représente une bonne alternative. Cette technique est en outre utilisée pour le santal, le girofle ou les rhizomes de vétiver, de gingembre et d'iris.

Cependant, bien que le travail sous pression conduise à une amélioration du rapport d'entraînement donc à des économies d'énergie, une température élevée peut emmener une modification voire une altération de l'huile essentielle obtenue. D'autre part, le prix et les contraintes des équipements à mettre en oeuvre contribuent à freiner cette technique.

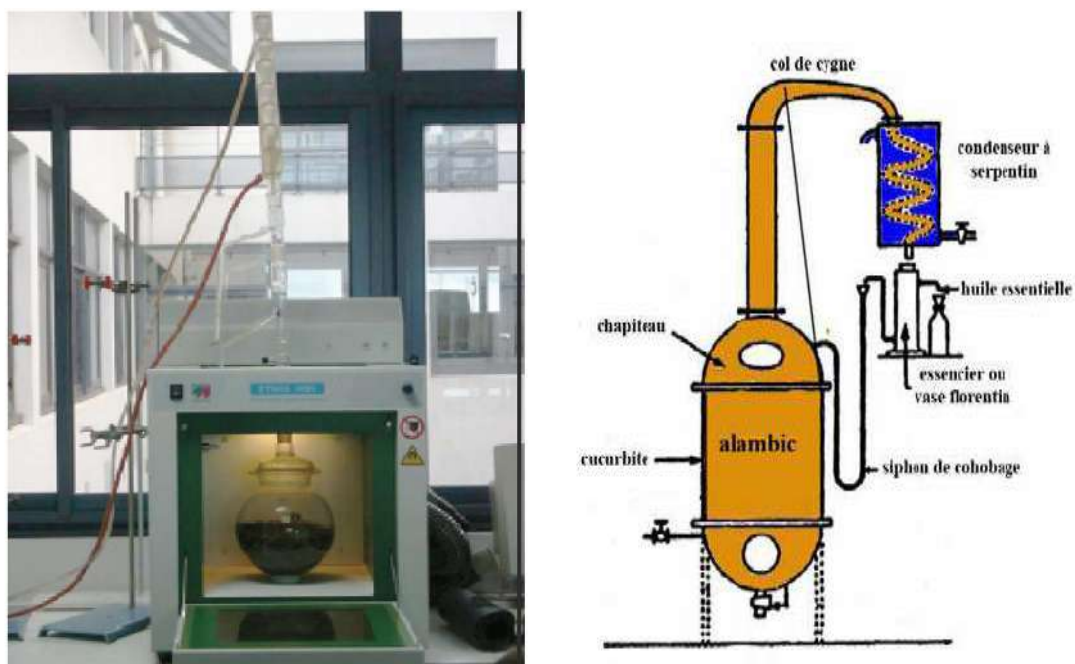


Fig.11 : L'hydrodistillation traditionnelle. [27]

II.5.4)- Expression à froid

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes ont une très grande importance dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid.

Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois.

Alors que jusqu'à une époque récente, l'huile essentielle constituait le produit majeur obtenu à partir des fruits de *Citrus*, désormais c'est le jus qui représente le produit le plus important, l'huile essentielle étant devenue un sous-produit de la production de jus de fruits d'agrumes. De plus l'expression de type manuel dite « à l'éponge » a laissé place à des procédés beaucoup plus industrialisés et mécanisés afin de diminuer les coûts, d'augmenter les rendements et de préserver le fruit en vue de l'extraction de son jus. Cependant l'utilisation de grande quantité d'eau dans la majeure partie de ces procédés peut altérer les qualités des huiles essentielles par dissolution des composés oxygénés, par hydrolyse et par transport de microorganismes. C'est pourquoi les constructeurs cherchent en permanence à s'affranchir de l'utilisation de l'eau lors de telle extraction. [03]

L'extracteur est une machine permettant l'expression à froid de l'huile essentielle des hespéridés sans emploi d'eau, ce qui évite ainsi des altérations telles les hydrolyses ou les solubilisations des certaines classes de composés aromatiques. Le principe de cette machine est basé sur l'ouverture des sacs oléifères par éclatement sous l'effet d'une dépression.

La sfumatrice provoque la libération de l'huile essentielle des sacs oléifères au moyen de zones de vibrations ce qui a pour effet de restituer de façon intacte l'écorce de fruit (sans traces de blessures). L'huile essentielle est ensuite entraînée par un jet d'eau avant d'être séparée de la phase aqueuse par centrifugation.

La machine d'extraction « in line » (Fig.12), relativement complexe, permet à la fois l'extraction du jus et de l'huile essentielle du fruit sans que ces deux produits soient en contact. [03]

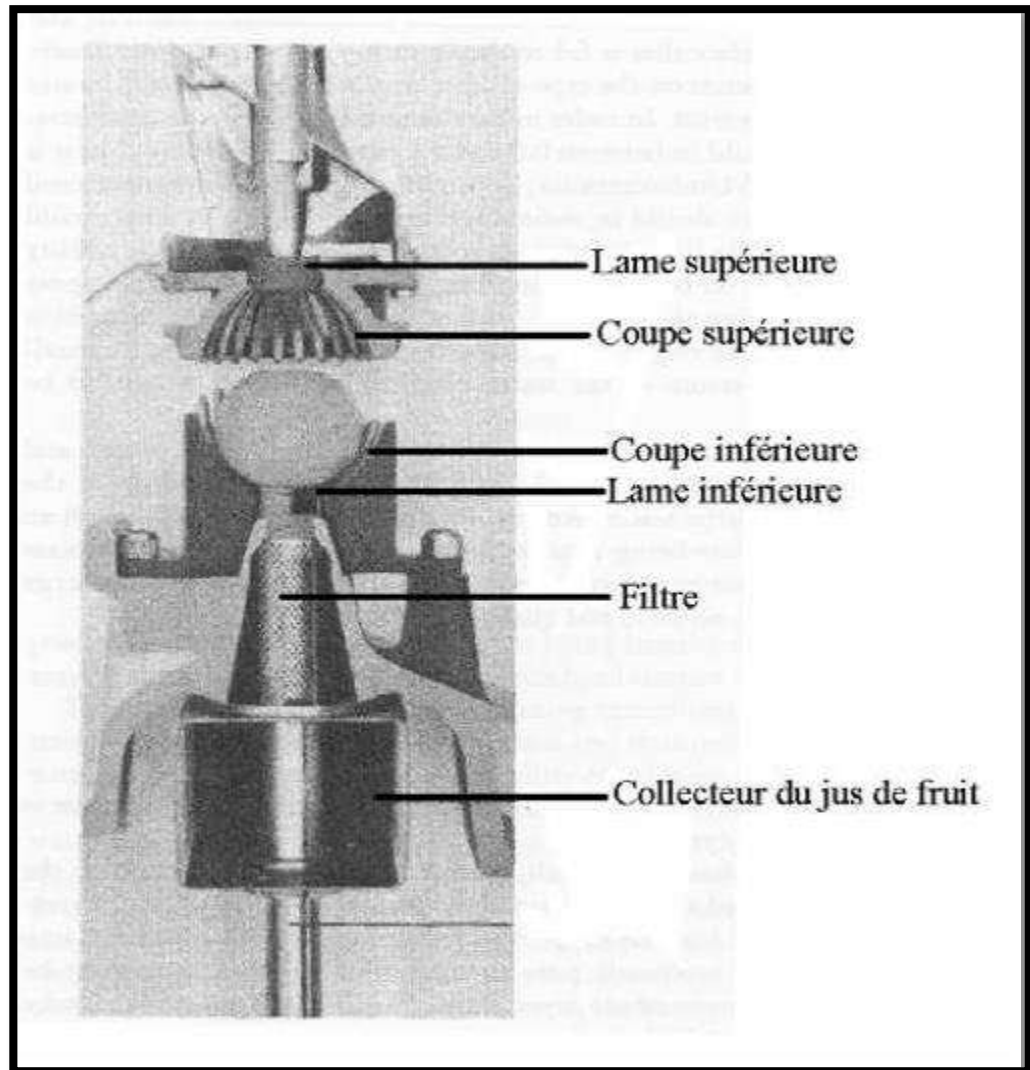


Fig.12: L'extraction « in-line ». [03]

II.5.5)- Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux.

Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie, ensuite il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant.

II.5.6)- Extraction assistée par micro-onde

L'extraction par micro-onde est une technique qui a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé d'extraction par microondes appelée Vacuum Microwave Hydrodistillation (VMHD) consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide

d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences. Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en oeuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants: rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel.

I.6) - Utilisation de *Lavandula pubescens* Decne.

I.6.1) - Utilisation dans la médecine naturelle

La médecine naturelle utilise essentiellement *Lavande* vraie. Les fleurs et l'essence que l'on en tire ont un effet calmant sur le système nerveux central. En usage externes, on se sert essentiellement de l'huile essentielle de Lavande tandis qu'en usage interne, on fait avant tout des infusions de ses fleurs. [28]

On a isolé plus de 200 substances différentes dans l'huile essentielle de *Lavande*. L'essence de *Lavande* a une action antiseptique, désinfectante, cicatrisante, mais aussi calmante et harmonisante sur le corps et la psyché. Il est intéressant de noter que *Lavande* peut à la fois rafraîchir et réchauffer, détendre et stimuler. *Lavande* soulage les forts maux de tête, les migraines et les troubles de la menstruation. Une surdose risque néanmoins éventuellement de provoquer leur apparition. Pendant la première guerre mondiale, les médecins militaires se servaient d'essence de *Lavande* pour désinfecter les plaies. En cas de brûlures, des compresses ou un rinçage doux à l'essence de *Lavande* sont bienfaisants et peuvent accélérer sensiblement le processus de guérison. *Lavande* entre également dans la composition d'un grand nombre de teintures, pommades, baumes, huiles de massage, additifs de bain, produits pour inhalations et autres préparations dont on se sert en usage externe pour le traitement des eczémas, des piqûres d'insectes et des troubles cutanés les plus divers, pour soulager les poussées de goutte et autres douleurs rhumatismales, en cas de lumbago et de foulure, mais également contre les maladies des voies respiratoires et bien sûr aussi contre la mauvaise haleine.[28]

En usage interne, *Lavande* soulage, généralement sous forme de tisane, les maux de ventre, les flatulences, les nausées et les troubles de la digestion. Sur le plan psychique, *Lavande* est utilisée dans l'aromathérapie pour lutter contre les troubles nerveux et les

insomnies. Dans une lampe odorante ou sous forme de tisane, *Lavande* favorise la relaxation, rend l'esprit clair et dispos et procure au corps et à l'âme une sensation de bien-être et d'harmonie. [28]

I.6.2) - Utilisation dans la cuisine

Lavande nous offre un large éventail de possibilités d'utilisation. Que ce soit dans la médecine naturelle, ou dans le domaine des produits cosmétiques et des parfums. [28]

L'huile essentielle que l'on en extrait est en vente dans le commerce sous le nom de *Lavandin*. On utilise les fleurs et l'essence des espèces *Inter media*, de *Lavande* aspic et bien sûr également de toutes les autres variétés de *Lavande* pour confectionner des pots-pourris de fleurs et de parfums, des coussins aromatiques ou des sachets de *Lavande*, pour parfumer son intérieur ou pour les ajouter à des produits de nettoyage et des détergents d'odeur neutre. Dans la cuisine, la *Lavande* connaît une renaissance. La cuisine et la décoration avec les fleurs de *Lavande* sont très à la mode. Leur beauté et leur arôme sont un vrai délice pour les yeux et le palais. [28]

Les fleurs fraîches sont confites ou ajoutées à des salades, des confitures, des gelées ou des glaces. Macérées dans du vinaigre, elles donnent un vinaigre aux herbes délicieux pour une vinaigrette raffinée. Les pâtisseries et desserts aromatisés à *Lavande* ont un goût très délicat. Laissez-vous inspirer par la senteur de *Lavande* pour des expériences culinaires nouvelles. [28]

II.7)- Méthodes d'identification physico-chimique des huiles essentielles

Ces analyses concernent essentiellement les paramètres suivants :

- La densité,
- L'indice de réfraction,
- Le pouvoir rotatoire,
- L'indice d'acide et l'indice d'ester.
- Le pH

A ces paramètres, on peut aussi ajouter les caractéristiques organoleptiques telles que l'aspect, la couleur et l'odeur.

II.8)- Analyse de la composition chimique

Cette analyse concerne l'identification qualitative et quantitative des différents constituants d'une huile essentielle. On peut utiliser les méthodes suivantes : CPG, CG/SM, HPLC, RMN, IR, UV, etc.

II.9) - Activités biologiques des huiles essentielles

Les vertus des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis long temps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises. De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche ont porté sur les activités antimicrobiennes et antioxydants des huiles essentielles des plantes aromatiques.

II.9.1) - Activité antioxydant

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires. [29]

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique la (vitamine C), tocophérol (vitamine E), ainsi que les composés phénolique. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxyphénolique dans leurs structures et les propriétés antioxydants sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libre tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes. [29]

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, *in vitro* et *in vivo*, l'activité antioxydante par piégeage de différents radicaux, comme les peroxydes ROO^\bullet par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et TRAP (Total Radical-Trapping Antioxydant Parameter); les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion Reducing Antioxydant Parameter); ou les radicaux ABTS^\bullet (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH^\bullet (diphényl-picrylhydrazyle). [29]

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydante peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. [29]

II.9.2) - Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobiennes ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. [30]

De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique (Fig.13), la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. [31]

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane. [30]

Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* aussi été rapportée. [32] Les HEs peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, ARN, des protéines et des polysaccharides. [30]

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipo polysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable. [33]

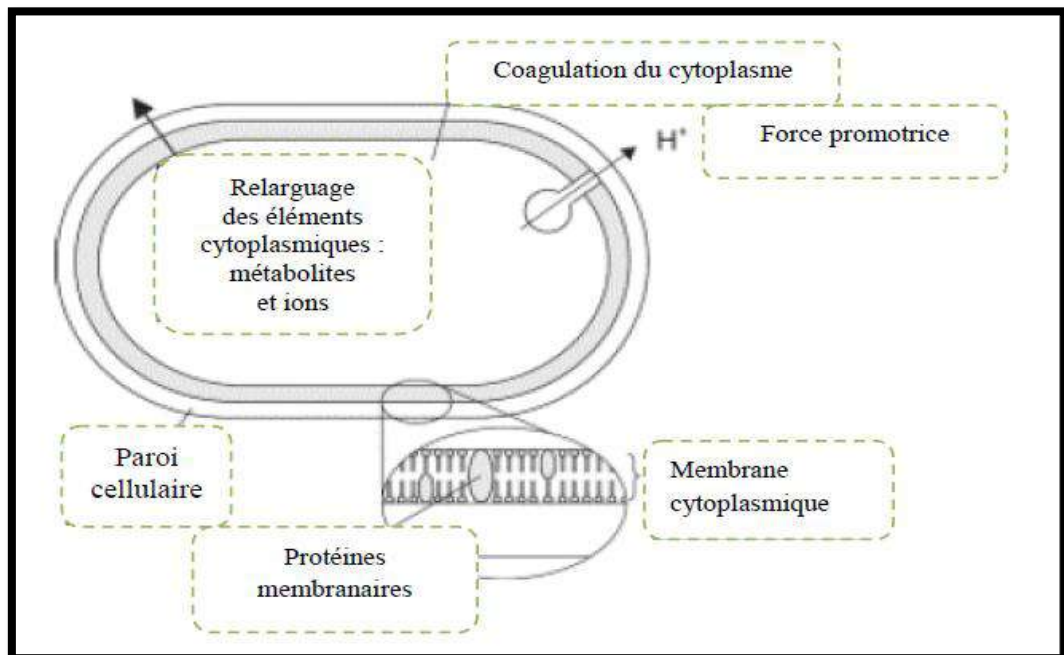


Fig.13: Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne [21]

Partie pratique





Chapitre III:
Matériel et méthode

Chapitre III: Matériel et méthode

III.1)- Matériels utilisés et appareillage

➤ Appareillage et équipements

• Spectrophotomètre UV-Visible Biotech. Engineering Management – model spectrophoto scan 80DV

- Balance sensible KERN ALS220-4N
- Chauffe ballon 2000ml
- Agitateur magnétique VELP SCIENTIFICA
- Réfractomètre
- Microseringue 250 μ l
- Centrifugeuse
- Bain marie
- Distillateur

➤ Verreries:

- Ballon 2000 ml
- Flacon en verrefumée
- Burette 5ml
- Fiole 100ml
- Fiole 500ml
- Eprouvette 5ml
- Entonnoir
- Pipette graduée 1ml
- Pipette graduée 5ml
- Tubes à essai

➤ Réactifs et matières

HE de *Lavandula pubescens* - KOH - Ethanol (99.8%) - Phénolphtaléine -DPPH- eau distillée- Acétone - $K_3Fe(CN)_6$ - Acide ascorbique - Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 - TCA - $FeCl_3$

➤ Matériels pour la microbiologie

Boites de pétri – milieu de culture (Gélose Mueller Hinton) – eau physiologique – souches bactériennes- disques (\varnothing 6 mm), tubes à essai, poupinel, étuve, bec bunsen

III.2)- Protocole expérimental

La figure suivante, montre le protocole expérimental :

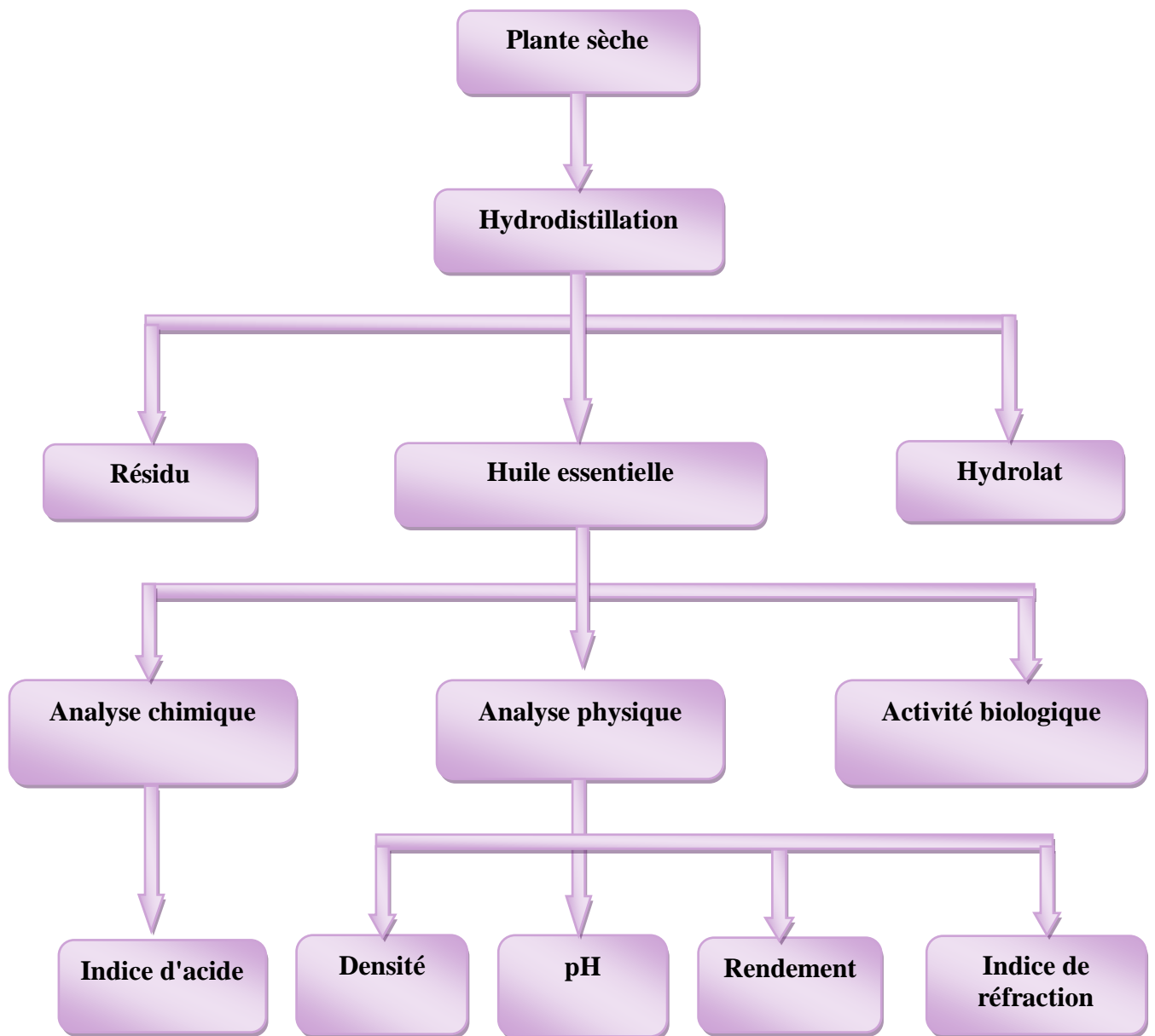


Fig.14: Schéma qui représente le Protocole expérimental

III.3) - Extraction des huiles essentielles

III.3.1) – Matériel végétal

La plante de *Lavandula pubescens* a été récoltée au mois de Novembre 2016 dans la région de daouar Elmermothia (wilaya de TEBESSA).

La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre pendant quinze jours avant l'utilisation.

III.3.2) - Méthodes

L'extraction, la caractérisation et l'étude de l'activité antioxydante d'huile essentielle de la partie aérienne de *Lavandula pubescens* réalisée au laboratoire pédagogique de la faculté de mathématique et science de la matière de l'université Kasdi Merbeh -Ouargla- .

III.3.3) - Extraction

➤ Montage d'hydrodistillation

• Hydrodistillation (appareil de type Clevenger), (Fig.15)

Une masse végétale qui représente une proportion d'environ 40% est complètement immergé dans l'eau (proportion de 60%), le tout est ensuite porté à ébullition pendant 2h, les vapeurs chargées d'huile essentielle traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter; le mélange (huile essentielle + eau) se sépare par différence de densité. L'huile récupérée est placée dans des petits flacons opaques et conservés au réfrigérateur.

À partir de trois extractions de la matière végétale sèche le rendement en huile essentielle est ainsi évalué. (Fig.16)



Fig.15: Hydrodistillation (Clevenger)

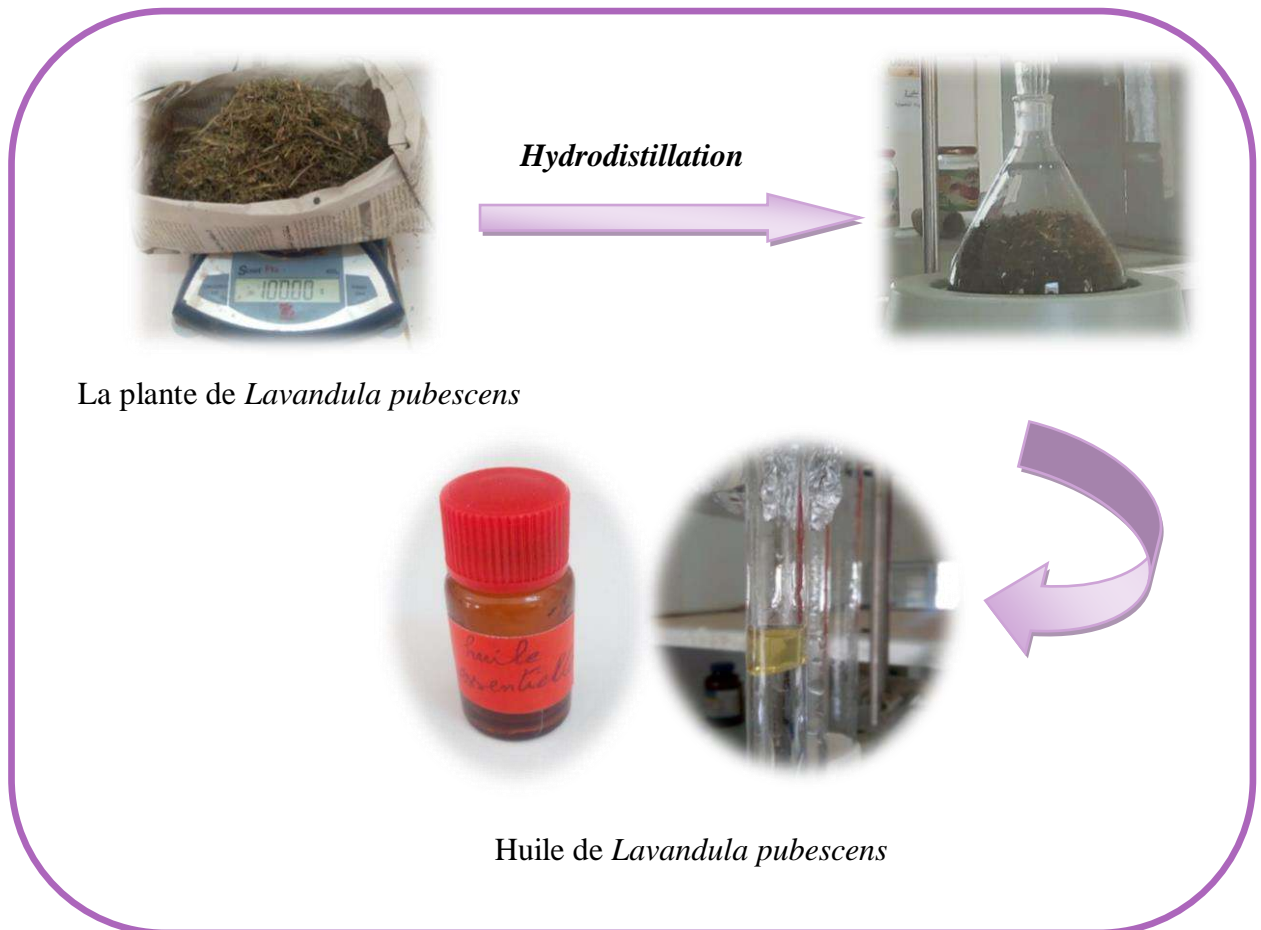


Fig.16 : Protocole d'extraction par hydrodistillation

III.4)- Analyses physico-chimiques

III.4.1)- Rendement

Le rendement de nos huiles essentielles est le rapport entre le poids d'huile extraite et le poids de la matière végétale. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R = \frac{M_{\text{huile}}}{M_{\text{plante}}} \times 100 \dots\dots\dots (01)$$

Où

R: Rendement en huile essentielle (%).

M_{huile}: Masse de l'huile en g.

M_{plante}: Masse de la plante en g.

III.4.2)- La densité

La densité d'une substance se note **d** et correspond au rapport de la masse volumique de cette substance par la masse volumique de l'eau pure

Pour définir la densité de notre huile on a supposé une méthode qui dépend sur la mesure de la masse volumique de l'huile et la masse volumique de l'eau et on fait le rapport

$$d = \frac{\rho_{\text{huile}}}{\rho_{\text{H}_2\text{O}}} \dots\dots\dots (02)$$

Où

ρ_{huile} : la masse volumique de l'huile.

$\rho_{\text{H}_2\text{O}}$: la masse volumique de l'eau =1

III.4.3)- Le pH

Pour mesurer le pH on a utilisé le papier pH comme le montre la figure suivante:

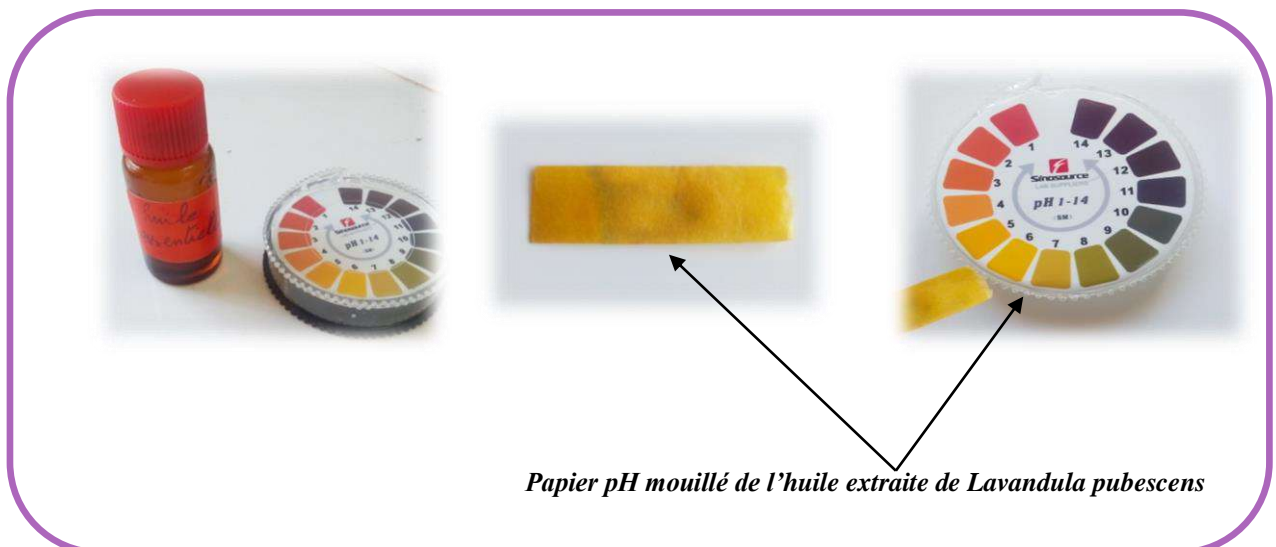


Fig.17 : Détermination du pH

III.4.4)- Indice de réfraction

Afin de mesurer l'indice de réfraction on a utilisé un réfractomètre voir (Fig.18):



Fig.18. Réfractomètre

III.4.5)- L'indice d'acide

La figure suivante, indique le matériel nécessaire et le montage pour déterminer l'indice d'acide:



Fig.19: Montage - Indice d'acide

- On Prépare une solution d'Hydroxyde de potassium (KOH) de 0,1 N dans l'éthanol.
- On introduit 1g de l'échantillon (l'huile extraite) dans un erlenmeyer propre et sec
- On ajoute 10 ml d'éthanol à l'échantillon.
- On ajoute quelques gouttes (2 ou 3) de la phénolphtaléine
- On homogénisa le mélange.
- Après avoir rincé la burette avec la solution de KOH, on la remplit en dépassant la graduation supérieure. Puis on ajuste le zéro.
- On commence le titrage (neutralisation de la solution obtenue avec KOH).
- On agite en même temps l'erlenmeyer pour homogénisa la solution.
- Une fois la couleur rose apparaît, on arrête le titrage.
- On note le volume de KOH consommé. Comme le montre la (fig.20).

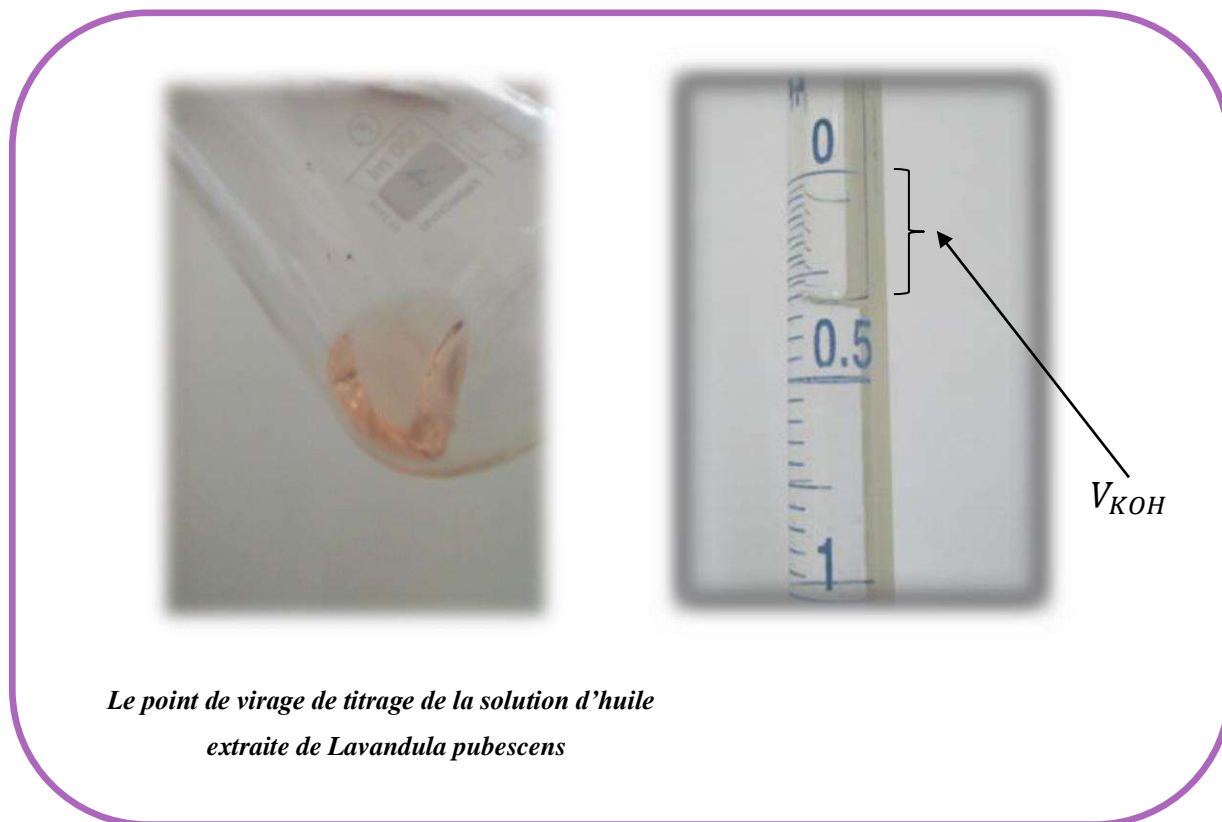


Fig.20: Détermination de l'indice d'acide

Pour calculer l'indice d'acide on a utilisé la formule suivante:

$$\mathbf{IA = \frac{N \times 56.1 \times V}{m}} \dots\dots\dots (03)$$

Où

N: normalité de KOH.

v: le volume consommé de KOH en ml.

m: masse de l'huile en g.

56.1 est la masse molaire de KOH en g/mol

III.5)- Activité antioxydante

Dans notre étude, l'activité antioxydante des huiles essentielles est évaluée par deux méthodes: le test de la réduction du radical libre du DPPH et le test de réduction du fer (FRAP).

III.5.1)- Test de réduction du radical stable, DPPH

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH•) est un radical organique stable, coloré et centré sur l'azote. Le maximum de son absorbance se situe à 517 nm dans le méthanol et l'éthanol. Les antioxydants donneurs d'atome H (RH) sont capables de réduire DPPH•, ce qui conduit au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH-H) et au radical R•.

Le DPPH• a une couleur violette ou rouge pourpre mais cette couleur disparaît lorsqu'il est réduit par un capteur de radicaux [34]

III.5.2)- Principe de la méthode:

L'addition d'un antioxydant dans une solution de DPPH conduit à une décoloration de ce dernier qui est directement proportionnelle à la capacité antioxydante du produit ajouté. Cette décoloration peut être suivie par spectrophotométrie en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm (Fig.21). Elle fournit donc un moyen pratique de mesurer l'activité antioxydante de notre huiles essentielles. [34-35]

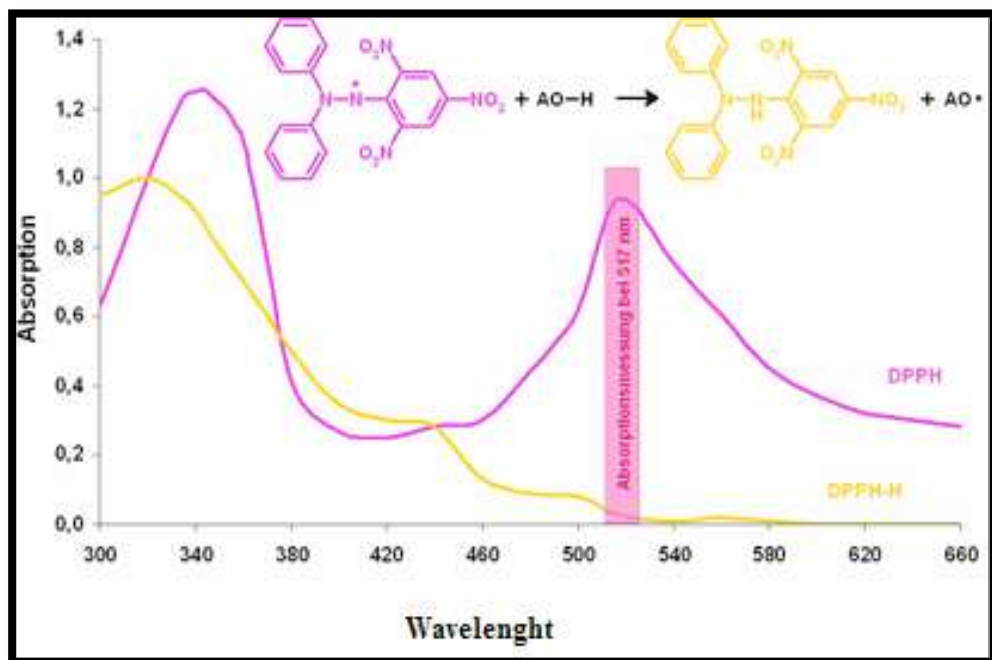


Fig.21: Absorbance de DPPH par spectrophotométrie

Lorsqu'on ajoute un antioxydant au DPPH, la réaction sera comme suit :

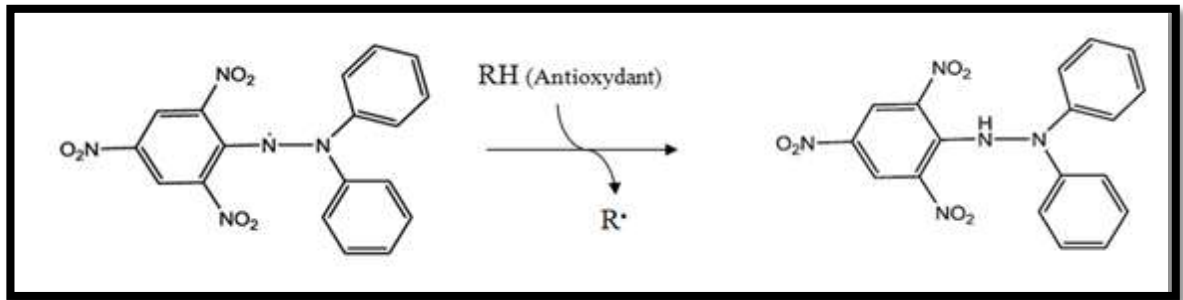


Fig.22 : Réaction du DPPH• avec un antioxydant

Les résultats peuvent être exprimés en pourcentage de réduction de DPPH•, pour une concentration en huile connue

Le test de réduction du DPPH• permet aussi de déterminer la concentration en huile qui cause la réduction de 50% du DPPH (IC₅₀)

III.5.3)- Mode opératoire

La figure suivante indique le matériel et les réactifs utilisés pour réaliser le test au DPPH



Fig. 23 : Matériel et réactifs pour le test au DPPH

III.5.4)- Protocole expérimental pour le test au DPPH

Utilisant des tubes secs pour préparer de différentes dilutions d'HE et de la solution DPPH dans l'éthanol absolu, un millilitre de chaque concentration d'HE va être mélangé avec un millilitre de 0,1 mM de DPPH après agitation par un vortex. La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS à une longueur d'onde égale à 517nm. Le contrôle négatif est composé de 1ml d'éthanol pur et de 1ml de la solution de DPPH•. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard dans notre cas c'est l'acide ascorbique ; l'absorbance de l'acide ascorbique est mesurée dans les mêmes conditions que celle de l'HE. Toutes les opérations sont réalisées en triplicata. Voir (fig. 24; 25)



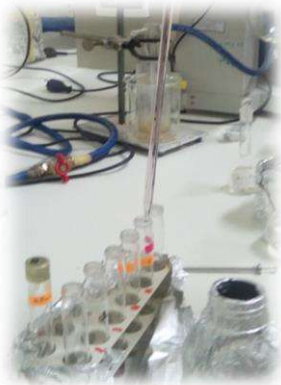
1-Prendre le volume nécessaire d'éthanol et verser dans le tube et ajouter dans le tube



2- Prendre le volume de l'huile à l'aide d'une microseringue



3-Prendre 1 ml de DPPH



4-Ajouter le DPPH au mélange (huile/éthanol)



5-Agiter bien le mélange à par un agitateur magnétique



6- Laisser les tubes en obscurité pendant 30 mn

Fig.24: Test de piégeage DPPH



Après 30 mn lecture des absorbances des échantillons

Fig.25: La lecture des absorbances des échantillons

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé selon l'équation suivante :

$$I\% = \frac{(A_0 - A_e)}{A_0} \times 100 \quad \dots\dots\dots (03)$$

Où

A_0 : Absorbance du DPPH

A_e : Absorbance de l'échantillon

III.6)- Test de réduction du fer (FRAP)

III.6.1)- Méthode de la réduction du fer (FRAP)

L'activité réductrice du fer des extraits préparés est déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), [34] basée sur la réduction du Fe^{3+} présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en Fe^{2+} . Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2,5 ml d'une solution tampon phosphate 0,2 M (pH 6,6) et 2,5 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ 1%, l'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20 minutes ensuite ; 2,5 ml d'acide trichloroacétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction. Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes ; 2,5 ml du surnageant sont mélangés à 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0,1%.

La lecture de l'absorbance du milieu réactionnel se fait à 700 nm contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée qui permet de calibrer l'appareil (UV-VIS spectrophotomètre). Le contrôle positif est représenté par une solution

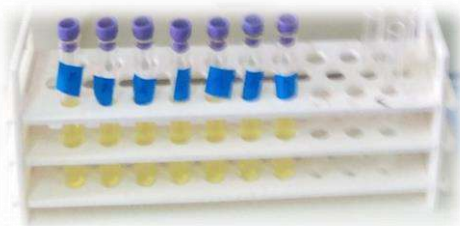
d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance est mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés [35]

III.6.2)- Mode opératoire



1)-Prendre 100 ml de chaque solution diluée et mis dans un tubes

2)-On ajoute 2,5 ml de la solution tampon et 2.5 ml de solution $K_3Fe(CN)_6$ à chaque tube



4)-Ajouter 2,5 ml de solution de TCA, après refroidissement



6)- prendre 2,5 ml de chaque tube et le mettre dans un nouveau tube

7)- On ajoute 2,5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de $FeCl_3$ dans chaque tube



3)- Placer les tubes dans un bain Marie à 50 C° pendant 20 min



5)-Placer les tubes dans la centrifugeuse



8)-Après agitation, on lit l'absorbance directement à 700nm

Fig.26: Test de piégeage FRAP

III.7)- Activité anti bactérienne

La résistance contre les agents antimicrobiens est devenue de plus en plus un problème majeur et urgent dans le monde, ce qui a orienté les recherches des agences et des autorités de la santé vers les ressources phylogénétiques pour trouver une solution à ce problème l'utilisation des HE comme agents antibactériens semble être une solution alternative intéressante pour contrôler la présence des bactéries pathogènes dans les aliments, dont beaucoup de ces huiles ont des activités antibactériennes remarquables contre un large spectre

III.7.1)- Aromatogramme

Est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles.

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases: voir (Fig.27) [06, 36]

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

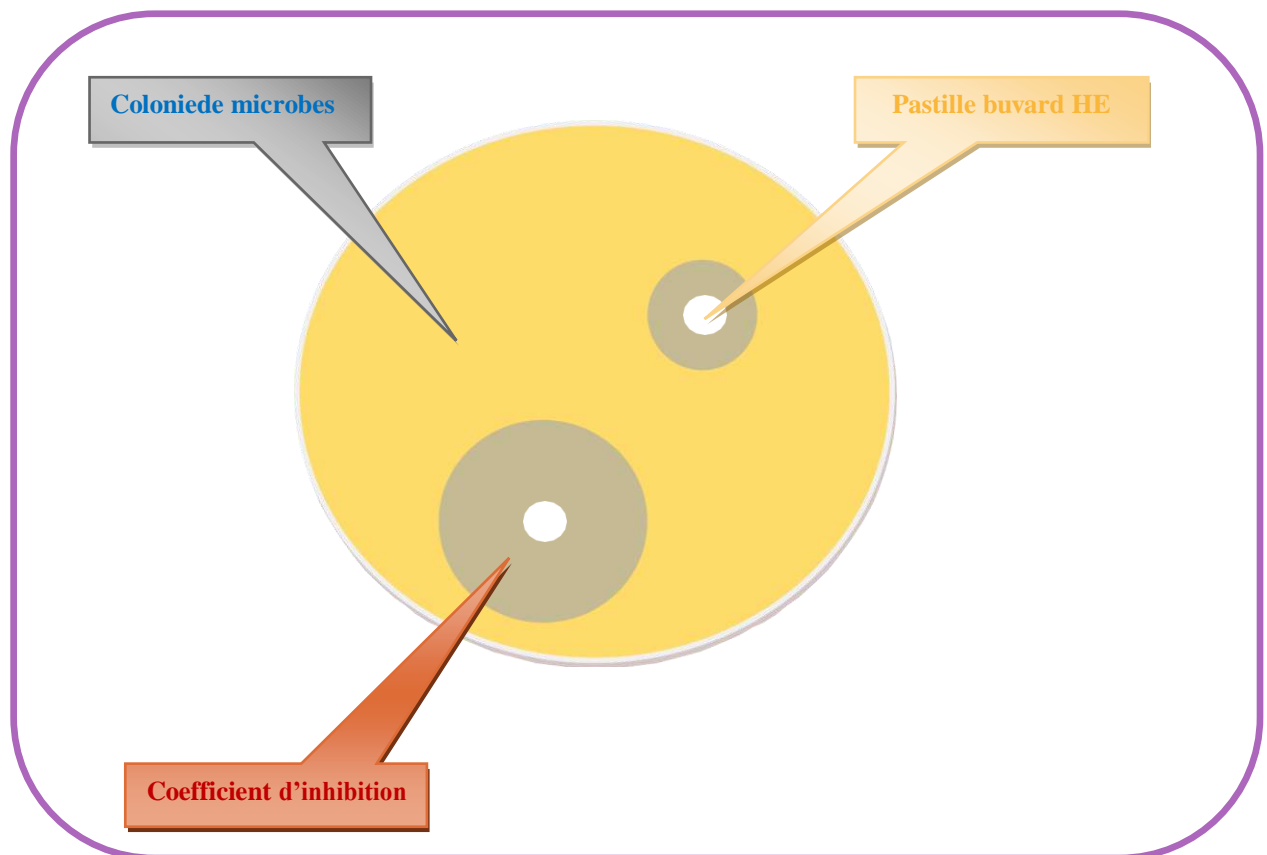


Fig.27: Aromatogramme

III.7.2)- Mode opératoire

Les tests microbiologiques ont été effectués au laboratoire de microbiologie à l'hôpital de Mohamed Boudiaf, de la Wilaya de Ouargla. Voir (Fig.28)

On a suivi le protocole suivant :

1- Préparation du matériel et produits

- Milieu de culture (Gélose Meuler Hinton).
- Souches microbiennes: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212).

- Eau physiologique.
- Boîtes de pétri.
- Tubes à essai
- Disques de papier filtre (\emptyset 6mm).
- Pipette pasteur.
- Anse pour prélèvement de colonie microbienne.
- Bec bunsen.
- Etuve.
- Poupinel.

2- Après avoir décongelé le milieu de culture dans un Poupinel, on le colle dans les boîtes de Pétri puis on laisse ces dernières refroidir pendant 20 à 30mn.

3- On prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique en prélevant à l'aide d'une anse stérile, une colonie microbienne, puis on l'émerge dans le tube contenant l'eau physiologique. On laisse le mélange pendant 15mn.

4- On étale le contenu du tube à la surface du milieu de culture

5- On imbibe les disques par l'huile et le dépose à la surface de la boîte.

6- Incubation à 37°C pendant 24H

7- Mesure du diamètre de zone d'inhibition.

NB. Toutes les opérations doivent être effectuées dans une zone stérile devant un Bec Bunsen.



1)-Flacons de milieu de culture dans un Poupinel



2)-préparation des boîtes pour le collage milieu de culture



3)-Boîtes de Pétri collées par le milieu de culture



4)-On prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique



5)-On imbibe les disques par les huiles et les déposés à la surface de la boîte



6)- Boîtes placées à l'intérieur de l'étuve



7)-Après 24 heures on fait sortir les boîtes de l'étuve

8)-La prise des résultats par la mesure du diamètre d'inhibition

Fig.28: Protocole des tests microbiologiques effectués au laboratoire de microbiologie



Chapitre IV:

Résultats et discussions

Chapitre IV: Résultats et discussions

IV.1)-Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Lavandula pubescens*

Les paramètres organoleptiques d'huile essentielle ; aspect, couleur, odeur sont résumé dans le tableau suivant :

Tableau 01. Propriétés organoleptiques huile essentielle de *Lavandula pubescens*

| | <u>Aspect</u> | <u>couleur</u> | <u>odeur</u> |
|--------------------|-----------------|----------------|-------------------|
| Notre huile | Liquide limpide | Jaune foncé | Fraîche et épicée |

IV.2)-Analyses physico-chimiques:

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* sont résumés dans le tableau suivant:

Tableau 02. Résultats d'analyse physico-chimique de l'huile essentielle de *Lavandula pubescens*

| | <i>Lavandula pubescens</i> |
|-----------------------------|----------------------------|
| Rendement (%) | 0.024 |
| pH | 6.00 |
| Densité | 0.99 |
| Indice de réfraction | 1.3557 |
| Indice d'acide | 1.683 |

Ces résultats ont montré que le rendement de l'huile obtenue à partir de la plante de (*Lavandula pubescens*) est très faible ; mais pour notre étude le rendement en huile essentielle est acceptable selon l'étude antérieure par (M. Zohra, A. Fawzia) qui dit : La plante a donné un bon rendement en huile essentielle: 0.02 à 2.01 [39]

Il faut noter que le rendement et la composition chimique des HE dépendent de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction et facteurs édapto climatiques (climat, sol)

IV.3)-Activité antioxydante

IV.3.1)-DPPH

La capacité antioxydante de l'huile essentielle et l'acide ascorbique a été déterminée à partir des valeurs IC_{50} qui est définie comme étant la Concentration d'huile essentielle (ou l'acide ascorbique) nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres dans le milieu réactionnel. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante est élevée, [37] [38]

Les résultats obtenus pour (*L. pubescens*) sont représentés dans les figures 29 à 30 suivantes :

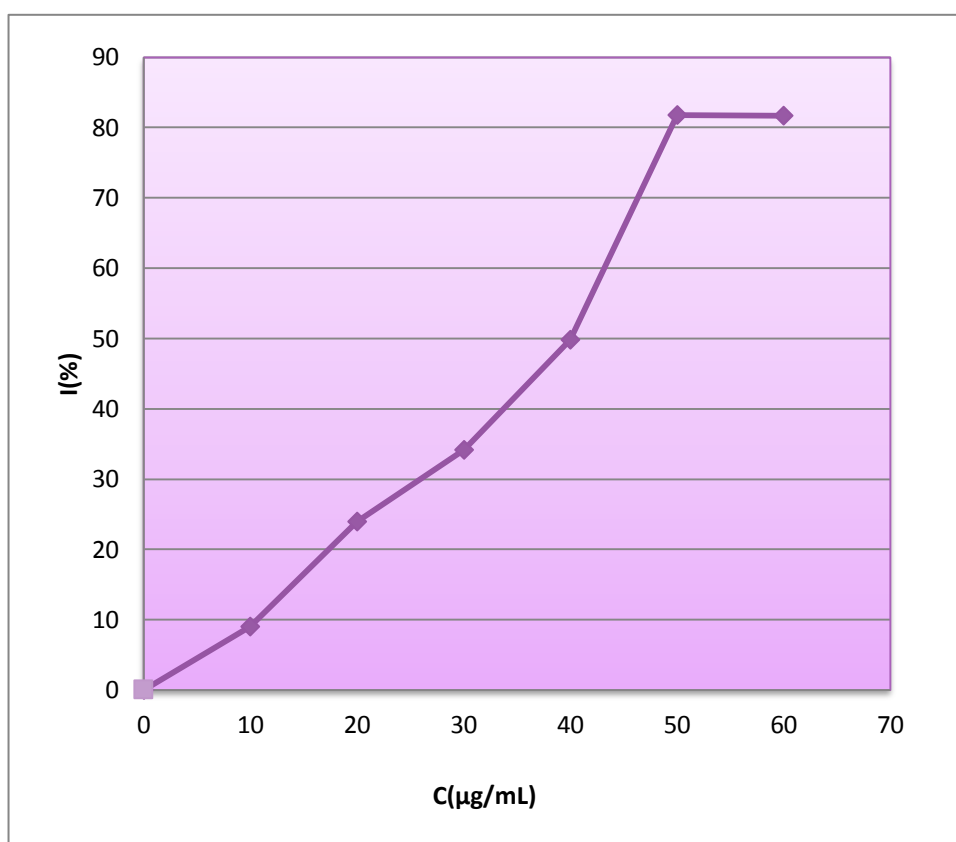


Fig.29: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH d'acide ascorbique

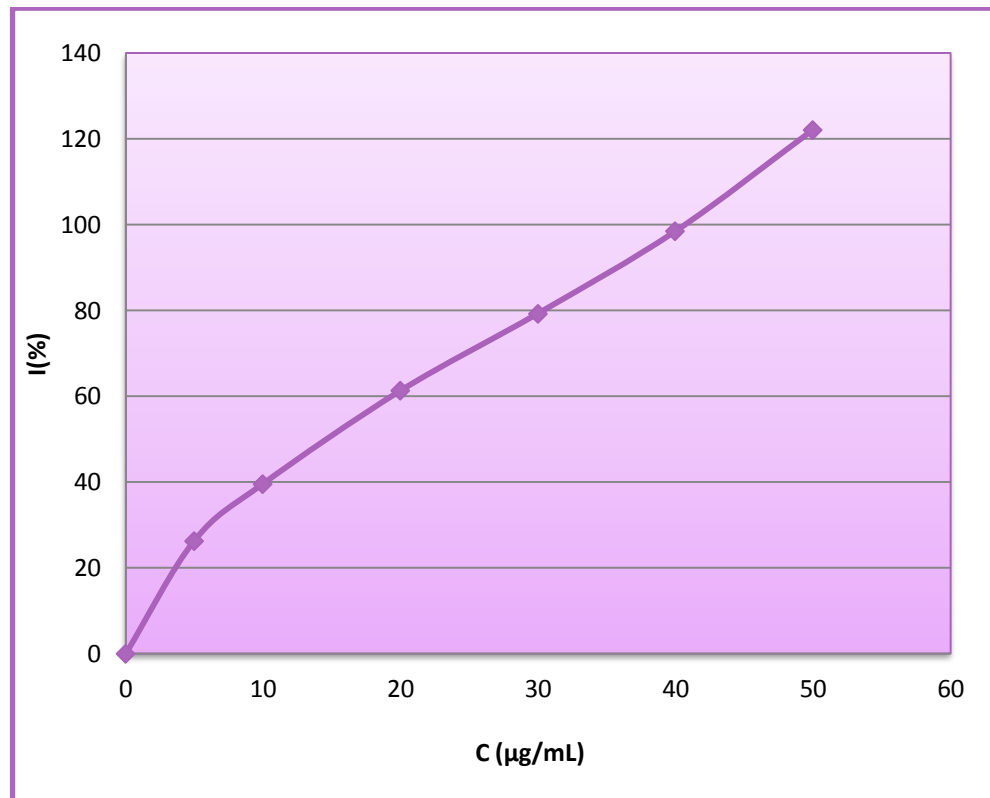


Fig.30: Pourcentages d'inhibition du radical DPPH d'huile essentielle

Les courbes de DPPH montre que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'huile essentielle de lavande.

Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* possède une activité antioxydante plus efficace que l'acide ascorbique.

IV.3.2)-FRAP:

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'activité antioxydante par la technique de FRAP sont représentés dans les figures 31, 32:

Les résultats de tableau (03) de test de FRAP exprimée en EC_{50} qui est définie comme étant la Concentration d'huile essentielle (ou l'acide ascorbique) de 0.5 d'absorbance.

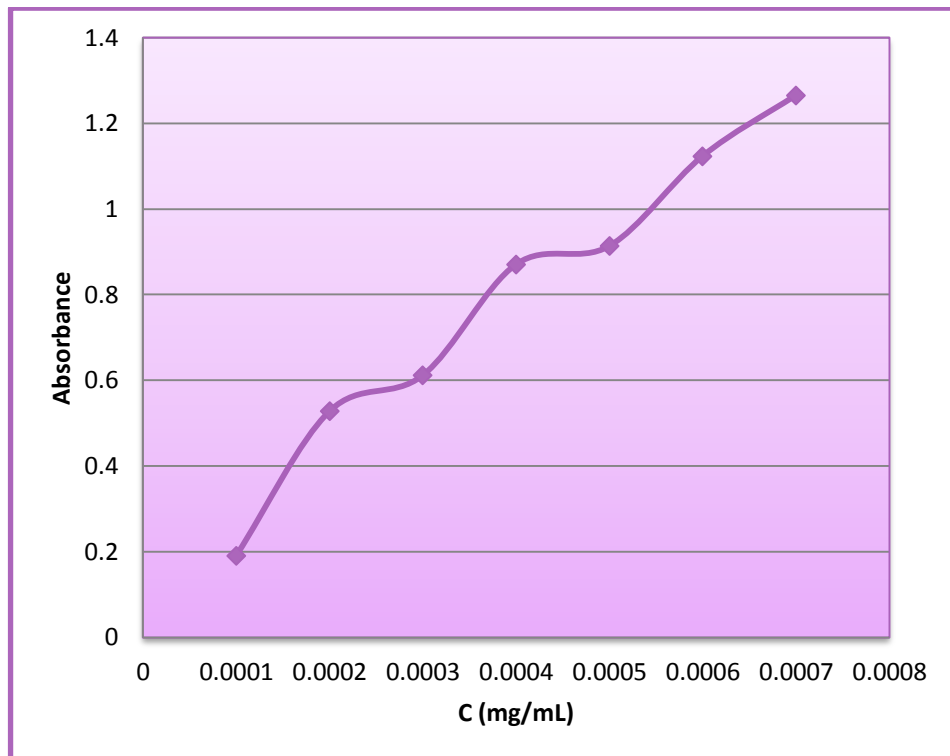


Fig.31: pouvoir réducteur d'acide ascorbique dans le test de FRAP.

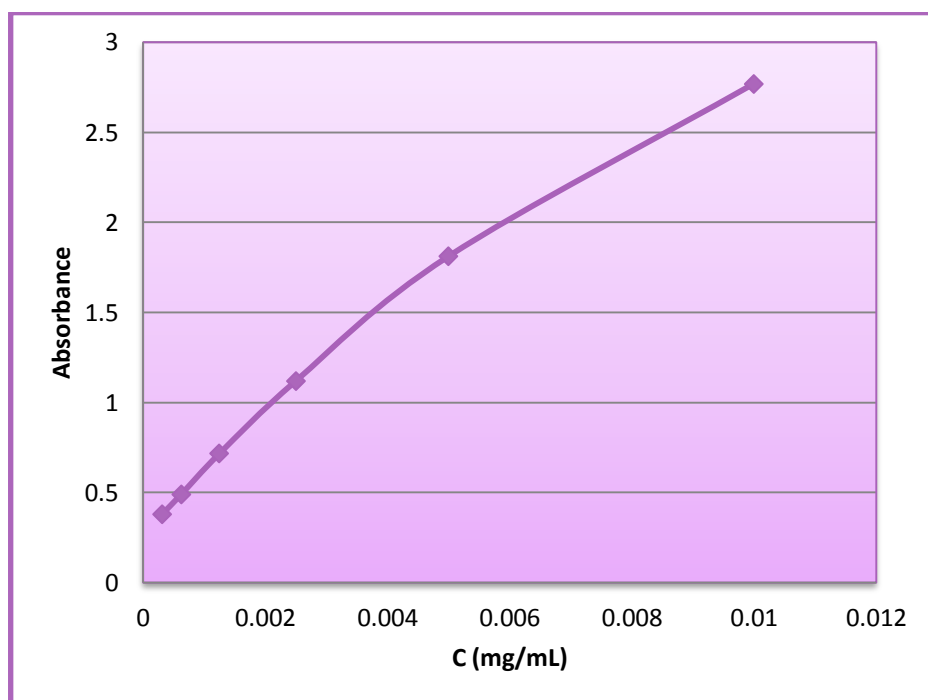


Fig.32: pouvoir réducteur d'huile essentielle dans le test de FRAP.

Les valeurs d'IC₅₀ et EC₅₀ ont été calculées graphiquement et regroupée dans le tableau (03) :

Tableau 03. Les valeurs IC₅₀ et EC₅₀ d'acide ascorbique et huile essentielle

| | Ac. Ascorbique | huile essentielle |
|--------------------------------|----------------|-------------------|
| DPPH IC ₅₀ (μg/mL) | 41.33 | 17.24 |
| FRAP EC ₅₀ (μg/mL) | 26.6 | 20.09 |

Les résultats consignés dans le tableau (03) montrent que les valeurs d'IC₅₀ de test DPPH de l'huile essentielle et l'acide ascorbique sont: 17.24 (μg/mL) et 41.33 (μg/mL) respectivement, pour le test de FRAP les valeurs d'EC₅₀ sont: 26.6 (μg/mL) pour l'acide ascorbique et 20.09 (μg/mL) pour l'huile essentielle.

Les valeur d'IC₅₀ de test DPPH indique que l'huile essentielles de *Lavandula pubescens* est plus actif que l'acide ascorbique, par contre dans l'étude de **M. Zohra et leur collaborateurs (2011)** a montré que l'huile de *Lavandula stoechas L.* a une activité antioxydante (IC₅₀= 1.85 mg/ml) moins importante que la vitamine C (IC₅₀= 1.04 mg/ml) [39].

Les valeurs EC₅₀ de test de FRAP indique que: la capacité à réduire le fer de l'huile essentielle de *L. pubescens* est plus que d'acide ascorbique.

IV.3)- Activité antibactérienne

Après avoir incubé les boîtes dans l'étuve pendant 24 heures. On les a retiré puis on a mesuré les diamètres des zones d'inhibition en millimètre (Fig.33)

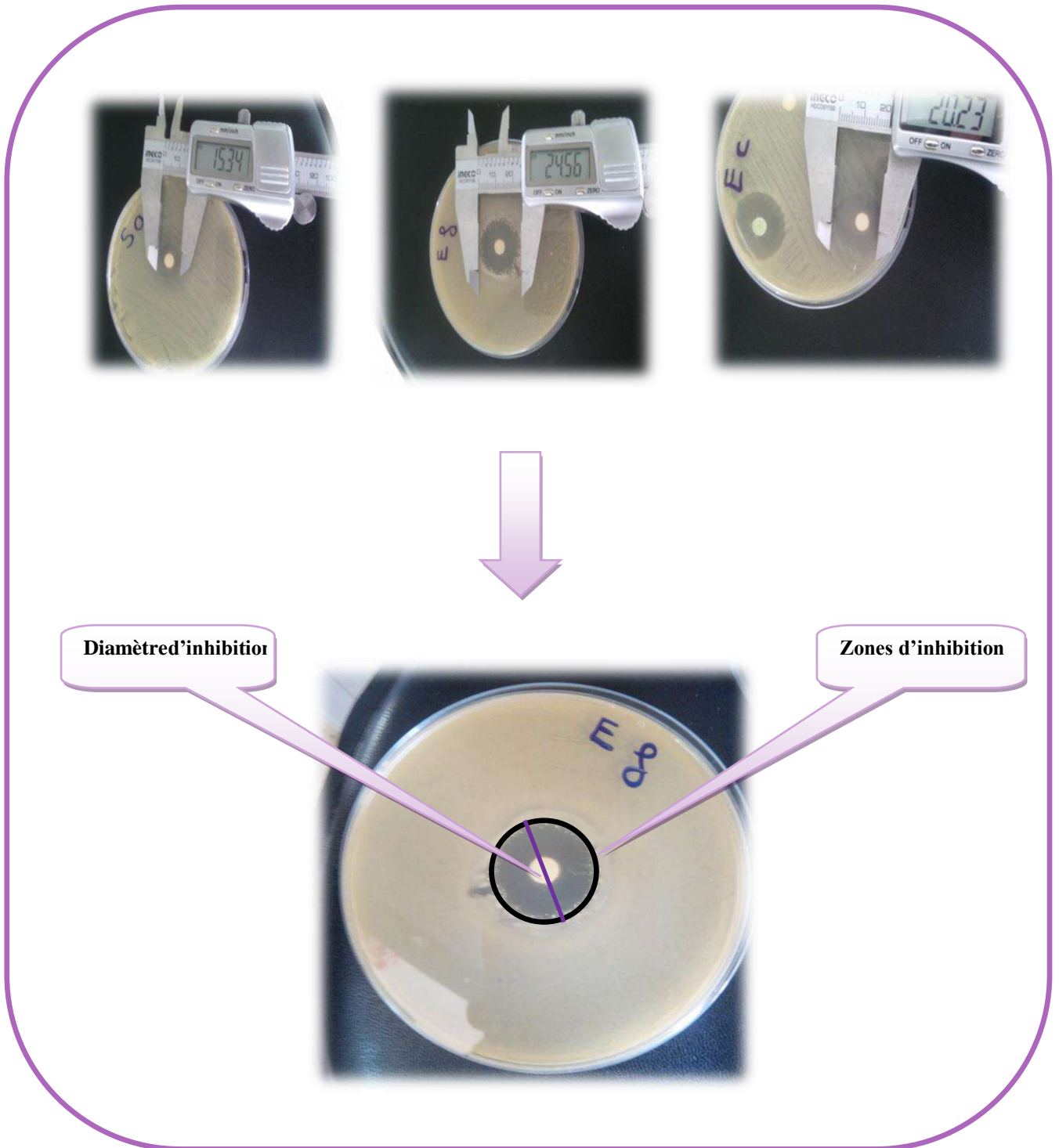


Fig.33: Diamètre de zone d'inhibition

L'huile de *L. pubescens* a eu des effets antibactériens importants vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212). avec des diamètres des zones d'inhibition ((DD: ayant atteint 7 mm) (DD: 20.23 mm), (DD: 15.34 mm) et (DD: 24.56 mm) respectivement.

La sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égale à 8 mm. La sensibilité est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm. Elle est moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible [06].

Tableau 04. Diamètres des zones d'inhibition et la sensibilité des souches

| Les souches | diamètres des zones d'inhibition | La sensibilité |
|--|----------------------------------|----------------|
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853) | 7 mm | aucun |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) | 15.34 mm | moyenne |
| <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) | 20.23 mm | très sensible |
| <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212) | 24.56 mm | très sensible |

La figure suivante représente le pouvoir inhibiteur d'huile de *L. pubescens* contre les quatre souches bactériennes testées:

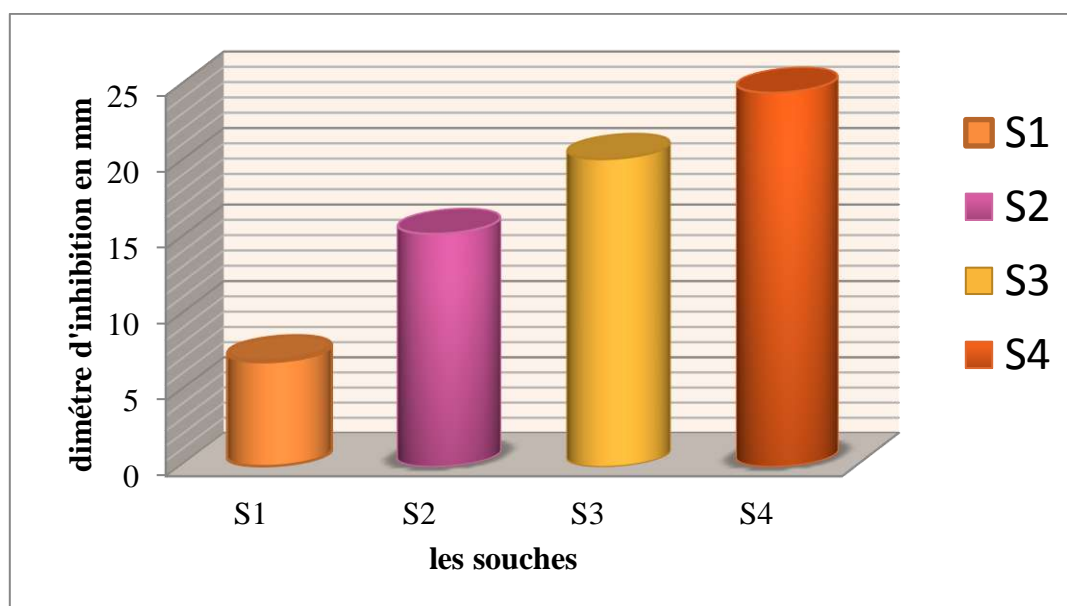


Fig.34: Activité antibactérienne huile essentielle de *L. pubescens*

D'après les résultats précédents on a constaté que les zones d'inhibition d'huile sont importantes ce qui signifie leur importante activité antibactérienne comparable de résultats de **K. Bhuwan Chhetri et al (2014)** qui a montré une activité antibactérienne notable de l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* contre *Staphylococcus aureus* et *Salmonella enterica* [40].

Les résultats sont très satisfaisants notamment vis à vis de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) où on a constaté la valeur la plus élevée de zone d'inhibition.

Il est aussi à signaler que le *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) a une grande résistance contre l'huile essentielle de *L. pubescens*.



Conclusion

générale

Conclusion

Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antioxydante et antimicrobienne. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antioxydante, antibactérienne et antifongique de certaines plantes sont rares. Par conséquent, l'évaluation de telles propriétés demeure une tâche intéressante et utile, en particulier pour trouver de nouvelles sources d'agents antioxydants et antimicrobiens naturels. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* des activités antioxydante et antibactérienne d'huile essentielle extraite de *Lavandula pubescens*.

L'extraction d'huile essentielle de *Lavandula pubescens* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été voisin de 0.024%

Concernant l'activité antioxydante par le test DPPH, les résultats montrent que l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* possède une activité antioxydante plus efficace que l'acide ascorbique. Le test FRAP montre que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration d'huile.

Pour l'activité antibactérienne, la méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* vis-à-vis quatre bactéries. Ce pouvoir est relativement fort, avec des zones d'inhibition variant entre 15 et 24mm.

En fin, nos résultats indiquent que l'huile essentielle de *Lavandula pubescens* a une activité antibactérienne intéressante. En revanche, elle a montré de bonnes activités antioxydantes, ce qui témoigne et justifie leur utilisation en alimentation et en médecine traditionnelle comme traitement de plusieurs pathologies.

On recommande de faire un scanning total de la plante, d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité biologique, et d'étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et autres.

Références bibliographie

- [1] T. Benabdelkader, (2012), biodiversité; bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des Lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique, thèse doctorale ; Université Jean-Monnet de saint-Etienne ; France. P 46-47
- [2] C. Ryley, (1998), Roman gardens and their plants, Sussex Archaeological Society, Lewes England, 56 pp.
- [3] J. A. H. Murray, H. Bradley, et al. (1933), The Oxford English Dictionary. Vol.6, Clarendon Press, Oxford. P.111. In : Upson, T. and , S. Andrews (2004), The genus *Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber Press.
- [4] Lis-balchin, M. (2002). Lavender, the genus *Lavandula*. London & New York: Taylor and Francis, 268p.
- [5] Upson, T. and Andrews, S. (2004). The genus *Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber Press. p 442.
- [6] G.LEQUEUX, M.BOUTIN, aromatoگرامme : mise en place d'une méthodologie. Résultats préliminaires sur des souches de mammites bovines, journées nationales GTV, Nantes (France), 2013
- [7] R. BADR AL-DEEN; B. AL-OKLAH AND L. AL-AMIR, Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils extracted from citrus fruit peels, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria, 2012
- [8] P. LIEUTAGHI. (2004), Le livre des arbres, arbustes et arbrisseaux. Ed. Actes sud, 1322 pp.
- [9] M. Grieve, (1971). A Modern Herbal, Vol. II (New York: Dover Publications, Inc; ISBN 0-486-22799-5)
- [10] C. Juan, Emerson, B. C. et al. (2000). Colonization and diversification: towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands. Trends Ecol. Evol. 15, 104-109.
- [11] P. Quezel, and S. Santa, (1963). Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales (Vol II). Paris: Centre National de la Recherche Scientifique.
- [12] Sites: <https://ar.wikipedia.org/wiki>
- [13] Sites: http://www.futura-sciences.com/fr/doc/t/geographie/r/provence-alpes_cotedazur/d/region-paca-decouverte-de-la-lavande_261/c3/221/p1/#.UbgUsLyRjSI.email (dernière consultation : 5 mars 2013).

- [14] G. GILLY ; (1997), Les plantes à parfum et huiles essentielles de Grasse. Botanique, culture, chimie, production et marché. Ed. L'Harmattan, 428 pp.
- [15] C. HASSIOTIS, LAZARI D. & VLACHONASIOS K. (2010) The effects of habitat type and diurnal harvest on essential oil yield and composition of *Lavandula angustifolia* Mill. Fresenius environmental bulletin. 19: 1491-8.
- [16] E. BARBIER, (1962) Quelques facteurs de la productivité quantitative et qualitative des essences chez les lavandes. Thèse Station expérimentale d'agrumiculture, Centre de recherches agronomiques d'Algérie. Paris, 5 : 265-379.
- [17] S. NAFAJIAN, V. ROWSHAN & A. TARAKEMEH (2012) Comparing essential oil composition and essential oil yield of *Rosemarinus officinalis* and *Lavandula angustifolia* before and full flowering stages. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. 3:212-8
- [18] Distillerie Bleu Provence, Nyons, juillet 2012.
- [19] C. Besombes, (2008). Contribution a l'étude des phenomenes d'extraction hydrothermomecanique d'herbes aromatiques. Applications generalisees. These Doctorat. Université de La Rochelle. p :41-45.
- [20] S. Burt, (2004), Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods, areview, International Journal of Food Microbiology, p.223-253.
- [21] J. Garner, (1996), Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K, 345 pp 1- 45.
- [22] AFNOR, (2000), Huiles essentielles, Ed. PARA Graphic, Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- [23] ISO, (1997), Norme ISO 9235, Matières premières d'origine naturelle - Vocabulaire, 2p.
- [24] Sylvie Verbois, (2001), Huiles Essentielles et Parfums qui Guérissent et qui Relaxent, La Voie De l'Ayurveda, Ed. Trajectoire,
- [25] J. Valnet, (1984), Aromathérapie, Traitement des maladies par les essences des plantes, Maloine S.A. éditeur, Paris p 544.
- [26] J. Bruneton, (1993), Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales, Edition, Technique et documentaire, 3eme édition , 634 p.
- [27] C. Ryley, (1998), Roman gardens and their plants, Sussex Archaeological Society, Lewes England, 56 pp.
- [28] I. EGK Caisse de Santé, (2008), Connaissance des herbes, série de Brigitte Speck, Ursula & Christian Fotsch et Susan Wacker

- [29] C. Review. Sanchez-Moreno, (2002), Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Science and Technology International*, Vol. 8, Issue: 3, pp. 121-137.
- [30] C. F. Carson, B. J. Mee, et al. (2002), Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy, *Antimicrob, Agents Ch.* 46(6), 1914-1920.
- [31] P.M. Davidson, (1997), Methods for testing the efficacy of food antimicrobial, *Food Technology*, p:148 155.
- [32] C. N. Wendakoon, et M. Sakaguchi, (1995), Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices, *Journal of Food Protection* 58, p. 280-283.
- [33] H. J. D. Dorman, et S. G. Deans, (2000), Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, p: 308-316.
- [34] BOUGUERRA ALI, (2012), *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des grains de Foeniculum vulgare Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire*, Université de Mentouri Constantine,
- [35] NABIL BOUSBIA, (2011) , *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants _a partir de produits naturels et de co-produits Agroalimentaires*, Ecole Nationale Supérieure Agronomique Ex – INA El Harrach – Alger
- [36] R. BADR AL-DEEN; B. AL-OKLAH AND L. AL-AMIR, (2012) *Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils extracted from citrus fruit peels*, National Commission for Biotechnology, Damascus, Syria
- [37] H. Milladi, R. Ben Slama, D. Mili, S. Zouari, A. Bakhrouf, E. Ammar., (2013), Chemical composition and cytotoxic and antioxydant activities of *Satureja Montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella ssp.* strains. *J. chem.*, 9-18.
- [38] S. Athamena, L. Chalghemi, A. Kassah-Laouar, S. Laroui et S. Khebri., (2010), Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *cuminum cyminum* L, *Lebanese Science Journal*, 11(1), 69.
- [39] M. Zohra, A. Fawzia, (2011), Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L, *Laboratoire des Produits Naturels*, Université Abou Bakr Belkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algérie
- [40] S.H. Alkhyat, M.A.A. Maqtari, E.H. Alhamzy, M.A. Saeed, N.A.A. Ali,(2014); Antimicrobial activity of *Lavandula pubescens* essential oil from two places In Yemen. *J. Adv. Biol.*, 4, 446–454.

Résumé

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les résultats montrent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques.

Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante et antibactérienne d'huile essentielle extraite des fleurs sèches de *Lavandula pubescens* Decne.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation des sommités fleuris de la plante, le rendement a été voisin de 0.024 %.

L'activité antibactérienne et le pouvoir antioxydant sont très importants.

Mots- clés: activité antibactérienne, activité antioxydante, hydrodistillation, huile essentielle, *Lavandula pubescens*.

Abstract

Several research studies have focused on the essential oils extracted from aromatic Plants, The different results indicate that they are characterized by several biological properties.

In this context, we tried to evaluate *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oil extracted from the dried flowers of *Lavandula pubescens*.

The extraction was performed by steam distillation of the flowering tops of the plant, the yield was close to 0.024%.

The antioxidant and antibacterial activities are very acceptable.

Key Word: antibacterial activity, antioxidant activity, Hydrodistillation, essential oil, *Lavandula pubescens*.

ملخص

ركزت العديد من الدراسات على الزيوت الأساسية المستخرجة من النباتات العطرية، حيث أظهرت النتائج أنها تتميز بالعديد من الخصائص البيولوجية .

في هذا السياق حاولنا في المختبر تقييم النشاط المضاد للأكسدة و البكتيريا للزيوت الأساسية المستخرجة من الزهور المجففة للضمم الزغبي.

تم إجراء الإستخلاص بواسطة التقطير بالبخار من القمم المزهرة للنبات، و كان العائد قريبا من 0.024 %
الفعالية ضد البكتريا و الأكسدة كلاهما أعطتا نتائج جد مفيدة.

الكلمات الدالة: مضادات الأكسدة، مضادات للبكتيريا، التقطير البخاري، الزيوت الطيارة، الضم الزغبي.