



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

جامعة البليدة 1

Université Saad Dahleb Blida

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie

## Mémoire

de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

Laboratoire de Recherche des Plantes Aromatiques et Médicinales

# Évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de la partie aérienne la lavande sauvage (*Lavandula stoechas* L)

Réalisé par :

Meraga Amina

Said Ihssane

Sotenu le :

20/07/2022

Devant le jury composé de

Mr Bendali A	Président	M.A.A	Université Saad Dahleb Blida
Mme Ghanai R	Promotrice	M.C.B	Université Saad Dahleb Blida
Mme Ayadi R	Examinatrice	M.C.A	Université Saad Dahleb Blida
Mme Nekkab S	Invitée	Docteur	Université Saad Dahleb Blida

Année universitaire 2021/2022

## Résumé

### **Évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de la partie aérienne de *Lavandula stoechas* L**

*Lavandula stoechas* L. est une plante aromatique spontanée répandue en Algérie, appartenant à la famille des Labiées (Lamiaceae) appelée communément «Elhelhal».

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de la partie aérienne (tige, feuilles et boutons floraux) de la *lavandula stoechas* L.

L'extraction de ces huiles est réalisée par entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement obtenu est de 0.5 %. L'activité antioxydante des huiles essentielles est évaluée selon la méthode de piégeage du radical libre (DPPH) les résultats obtenus ont montré l'existence d'un pouvoir antiradicalaire meilleur ( $IC_{50} = 165.79\mu\text{g/ml}$ ) par rapport à celui de l'antioxydant de référence (l'acide ascorbique) dont la valeur d' $IC_{50}$  est de  $419.16\mu\text{g/ml}$ .

L'évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (aromatogramme) a démontré une activité inhibitrice variable en fonction des différentes concentrations, vis-à-vis les quatres souches bactériennes (*E-coli* avec  $ZI=20.33\pm 0.66$ ) ; (*P.aeruginosa* avec  $ZI=13.66\pm 0.33$ ) ; (*S. Aureus* avec  $ZI 32.66\pm 0.33$ ) ; (*B.subtilis* avec  $ZI=25.5\pm 0.50$ ) et fongique (*A.braziliensis* avec  $ZI=37.33\pm 7.05$  et *C.Albicans* avec  $ZI=43,5 \pm 3,50$ .) testées.

Les résultats obtenus ont permis d'affirmer que l'huile essentielle de la plante étudiée peut être considérée comme point de départ pour des applications en santé ou dans le secteur agroalimentaire.

**Mots clés:** *Lavandula stoechas* L, Huiles essentielles, Activité antioxydante, Activité antifongique, Activité antibactérienne.

## Abstract

### **Evaluation of the antimicrobial and antioxidant activity the essential oils of the aerial part of *Lavandula stoechas* L**

*Lavandula stoechas* L. is a spontaneous aromatic plant widespread in Algeria, belonging to the family of Labiées (Lamiaceae) commonly called «Elhelhal».

The objective of this work is to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of the essential oils of the aerial part (stem, leaves and flower buds) of the *lavandula stoechas* L.

The extraction of these oils is carried out by water steam drive. The yield obtained is 0.5%. The antioxidant activity of essential oils is evaluated according to the method of trapping the free radical (DPPH) the results obtained showed the existence of a better antiradical power (IC<sub>50</sub> = 165.79µg/ml) compared to the reference antioxidant (ascorbic acid) whose IC<sub>50</sub> value is 419.16µg/ml.

The evaluation of the antimicrobial potency of essential oils by the method of diffusion of discs in an agar medium (aromatogram) showed a variable inhibitory activity according to the different concentrations, vis-à-vis the four bacterial strains (*E. coli* with  $ZI=20.33\pm0.66$ ) ; (*P.aeruginosa* with  $ZI=13.66\pm0.33$ ) ; (*S. Aureus* with  $ZI=32.66\pm0.33$ ) ;(*B.subtilis*  $ZI=25.5\pm0.50$ ) and fungal (*A.braziliensis* with  $ZI=37.33\pm7.05$  and *C.Albicans* with  $ZI=43,5\pm3,50$ ) tested.

The results obtained have made it possible to affirm that the essential oil of the studied plant can be considered as a starting point for applications in health or in the agri-food sector.

**Keywords:** *Lavandula stoechas* L, Essential oils, Antioxidant activity, Antifungal activity, Antibacterial activity.

## ملخص

**تقييم النشاط المضاد للميكروبات ومضادات الأكسدة للزيت الأساسي للجزء الجوي من *Lavandula stoechas* L**  
(Labiatae (Lamiaceae) ينتمي إلى عائلة Labiatae (Lamiaceae). هو نبات عطري عفوي منتشر في الجزائر ، ينتمي إلى عائلة Labiatae (Lamiaceae) التي يطلق عليها عادة "الحلحال".

يهدف العمل الحالي إلى تقييم نشاط مضادات الأكسدة ومضادات الميكروبات للزيوت الأساسية للجزء الجوي (الساق الاوراق و براعم الزهور) من *Lavandula stoechas* L.

يتم استخراج هذه الزيوت عن طريق التقطير بالبخار. العائد الناتج 0.5%. يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية وفقاً لطريقة حبس الجذور الحرة (DPPH) وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود قوة أكثر نشاطاً لمكافحة الجذور ( $IC_{50} = 165.79$  ميكروغرام / مل) مقارنة بمضادات الأكسدة المرجعية (حمض الأسكوربيك) الذي تبلغ قيمته  $IC_{50} 419.16$  ميكروغرام / مل.

أظهر تقييم القوة المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية من خلال طريقة انتشار الأقراص في وسط أجار (الرسم العطري) نشاطاً مثبتاً متغيراً اعتماداً على التركيزات المختلفة ، مقابل السلالات البكتيرية الأربعة ( *E-coli* مع قطر تثبيط  $20.33 \pm 0.66$  ؛ *P.aeruginosa* مع قطر تثبيط  $13.66 \pm 0.33$  ؛ *S. Aureus* مع قطر تثبيط  $32.66 \pm 0.33$  ؛ *B.subtilis* مع قطر تثبيط  $25.5 \pm 0.50$  ) والفطرية ( *A.braziliensis* مع قطر تثبيط  $37.33 \pm 7.05$  و *C. Albicans* مع قطر تثبيط  $43,5 \pm 3,50$  ) التي تم اختبارها.

أتاحت النتائج التي تم الحصول عليها التأكيد على أن الزيت العطري للنبات المدروس يمكن اعتباره نقطة انطلاق للتطبيقات في مجال الصحة أو في قطاع الأغذية الزراعية.

الكلمات المفتاحية : *Lavandula stoechas* L ، الزيوت الأساسية ، نشاط مضادات الأكسدة ، نشاط مضاد للفطريات ، نشاط مضاد للبكتيريا.



## Remerciements

*« La connaissance est la seule chose qui s'accroît lorsqu'on la partage »*

*Nous remercions en tout premier lieu ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné la force et l'aide et la volonté pour réaliser ce modeste travail et de le terminer à temps, car sans lui rien n'est possible.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice Mme Ghanai Rafika Maître de conférence (B), pour ses compétences et ses conseils précieux, sa disponibilité et sa confiance et sa grande simplicité, son respect ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche.*

*Nous remercions par ailleurs l'ensemble des membres du jury Monsieur le Président Bendali A et l'examinatrice madame Ayadi R. Maître de conférence (A), pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions*

*Nos sincères reconnaissances à tous nos enseignants pour leurs efforts fournis durant toute la période d'étude ainsi qu'à tous ceux qui ont élaboré d'une façon ou d'une autre à notre formation*

*Nos remerciements s'adressent aussi à l'ensemble du personnel du laboratoire d'hygiène Blida plus particulièrement à Mr. DJAMEL TEFACHI et Madame NAKKAB SELMA pour son aide et la mise à notre disposition du matériel de son laboratoire.*

*Sans oublier nos collègues et nos amies plus particulièrement: Imène, khaoula et Sarah pour leur aide, leur encouragement et leur disponibilité.*

*Nous ne terminerons pas sans remercier nos familles ainsi que tous ceux qui nous ont apporté l'aide de près ou de loin afin d'accomplir au mieux cette étude.*

***Enfin merci à tous la famille de BVP***



## Dédicace

*En témoignage d'amour et d'affection, je dédie ce ce modeste travail aux êtres les plus chers :*

*À mon père **Hacine**, l'homme de ma vie, celui qui toujours sacrifié pour me voir réussir, puisses-tu cher papa trouvé dans ce modeste travail le fruit de tes efforts et tes sacrifices...*

*À ma Mère **Kheira**, ma source de vie pour tout ce que tu as fait et ce que vous continues de faire merci infiniment, Pour ta patience, ta compréhension ton soutien et tes encouragements qui sont et seraient pour toujours les secrets de ma réussite...*

*Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois, Puisse Dieu vous accorder santé ; bonheur ; longue vie. et faire en sorte de ne jamais vous décevoir.*

*À mes deux frères : **Abdallah** et **Rabah** ainsi que ma soeur unique **Douâa**, sources de joie et motivation. Je vous aime et je vous souhaite plein de succès et de bonheur dans vos vies.*

*À mon grand-père « **Rabah** » et ma grand mère « **Fatma** », à tous mes oncles et tantes ,tous les membres de la famille **Meraga** et **Benharkat** qui ont cru en moi.*

*À ma chandelle avec qui j'ai passé des moments inoubliables, ma chère amie et ma jumelle « **Marwa** ».*

*À mes cousins et mes cousines surtout avec qui j'ai passé de bon moments. A mes très chère sœurs **Dhoha** et **Malika** et mon frère **Abdallah** à qui je souhaite Toute la chance et le bonheur.*

*À ma meilleure amie **Saïd Ihssane** qui s'est investis pleinement dans la réalisation de ce travail, durant lequel nous avons pu partager plein de beaux souvenirs qui vont rester gravé dans ma mémoire, que dieu te garde à mes côtés.*

*À ceux que j'aime beaucoup, qui m'ont toujours soutenus et étaient toujours à mes côtés, mes fidèles amis spécialement : **Meriem, Imène, Asma, Kharwla, Sarah, Saliha**.*

*À tous mes collègues de la promotion 2022 Pour leur sympathie et leur solidarité envers moi*

*À tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.*

*En hommage à **mamie** et **Yaya**, vous êtes partis trop tôt pour que je puisse partager ce moment avec vous.*

*Amina*



## Dédicace

*En premier lieu, je remercie **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour terminer ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail*

*À mes très chers parents, « **BOUALEM** », « **ATIKA** » source de vie et d'amour pour tout ce que vous avez fait et ce que vous continuez de faire merci infiniment, les mots ne peuvent être assez puissants pour exprimer l'étendue de ma gratitude. Votre soutien dans les moments difficiles anime la flamme de la réussite en moi.*

*À mon très cher frère **MOHAMED** qui est toujours à mes côtés, qui m'a tant aidé pour la réalisation de ce travail, les mots ne peuvent récompenser tous les efforts que tu as fournis, donc, je te dis mille mercis.*

*À tous les membres de la familles que je ne peux citer, vous êtes nombreux à m'apporter votre soutien, et m'encourager.*

*À Mes chères cousines les plus près dans mon cœur " **IMANE, CHAIMA** "*

*À Mes aimables amies ", **KHAOULA, IMANE, SALIHA, SARAH, ASMA** et **MERJEM**" qui m'ont toujours encouragé au cours de la réalisation de ce travail.*

*À ma chère partenaire dans ce travail " **AMINA**" Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble.*

*À toute la promotion de Master 2 Biotechnologie et valorisation des plantes.*

*À tous ceux qui m'aiment et que j'aime.*

**Ihssane**

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	page
01	<i>Lavandula stoechas</i> L ( <b>Herbier des champs, 2022</b> )	06
02	les différents organes de la partie aérienne de <i>L stoechas</i> ( <b>Herbier des champs, 2022</b> )	08
03	illustration de la partie aérienne fleurie de <i>L. stoechas.L</i>	08
04	Distribution géographique de <i>Lstoechas</i> en bassin méditerranéen (d'après <b>Upson&amp; Andrews, 2004</b> )	09
05	(1-3 et 10) structure des principaux composés de <i>L stoechas</i> . d'origine Algérienne (4-9) les composés détectés pour la première fois ( <b>Benabdelkader et al., 2011</b> )	12
06	Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	14
07	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	19
08	Principe de la méthode de diffusion par disque.	20
09	Principe de la méthode de micro-atmosphère.	20
10	les antioxydants enzymatique et non enzymatique	24
11	Localisation de la région de collecte	27
12	Carte interactive de la wilaya de bouira ( <b>DSP Bouira</b> )	28
13	Procédé d'extraction des huiles essentielles par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.	31
14	Illustration de la méthode de l'aromatogramme ( <b>Amara et al., 2017</b> )	35
15	Réaction de test DPPH ( <b>Congo 2012</b> ) .	36
16	Réaction du DPPH• avec un antioxydant	36
17	Activité anti-radicalaire au DPPH de Vitamine C et d'HEs de <i>L stoechas</i> L	45
18	Valeurs d'IC50 en µg /ml des HE de <i>L.stoechas</i> L et de vitamine C	47

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Taxonomie de <i>L.Stoechas.L</i>	05
02	Antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo., 2006)	26
03	Description des différentes micro-organisme utilisées dans notre étude	29
04	Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition	35
05	Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de <i>LstoechasL.</i>	39
06	Moyennes des diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de <i>Lstoechas L</i> contre les souches bactériennes à Gram- et Gram+	40
07	Moyennes des diamètres d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de <i>Lstoechas L</i> contre les souches fongiques étudiées.	43
08	Valeurs de l'IC50 en µg /ml	46

## LISTE DES ABREVIATIONS

**AA** : Activité antioxydante

**Abs** : Absorbance

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**ASP** : *Aspergillusbraziliensis*.

**ATB** : Antibiotique

**ATCC**: American Type Culture Collection.

**DMSO** : Diméthyle Sulfoxyde.

**DO** : Densité optique

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ERN** : Espèces réactives de nitrogène

**Gram+** : Gram positive.

**Gram-** : Gram négative.

**H.E** : Huile essentielle.

**MH**: Muller Hinton

**PAM** : Plantes Aromatique et Médicinale

**PI** : pourcentage d'inhibition

**Rdt** : Rendement

**Vita C** : vitamine C

**ZI** :zone d'inhibition

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE

REMERCIEMENTS

RESUME

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION .....01

### Partie I : Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : Généralités sur la lavande « *Lavandula stoechas* L »

I.1. Famille des Lamiacées .....02

I.2. Genre *Lavandula* .....02

I.3 Historique .....03

I.4. Présentation de *Lavandula stoechas.L* .....05

I.4.1.Etymologie .....05

I.4.2.Classification botanique de *Lavandula stoechas.L*.....05

I.4.3. Description morphologique de *Lavandula stoechas.L*.....06

I.5. Répartition géographique de *Lavandula stoechas.L*.....07

I.6. Domaines d'utilisation de *Lavandula stoechas.L*.....09

I.7.Composition chimique de *Lavandula stoechas.L* ..... 11

I.8. Huiles essentielle de *Lavandula stoechas*.....12

I.8.1. Définition des huiles essentielles.....12

I.8.2.Localisation des huiles essentielles dans la plante .....13

I.8.3.Procédés d'extraction des huiles essentielles .....13

I.9.Toxicité des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L.....15

## **Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles de *Lavandula stoechas.L***

II .1. Activité liée à la composition chimique.....	17
II .2. Activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) .....	17
II .3. Mode d'action des Huiles essentielles contre les bactéries .....	18
II .4. Méthode de détermination de l'activité antibactérienne .....	19
II .5. Activité antioxydant .....	20

### **Partie II : Expérimentation**

#### **CHAPITRE I : Matériel et méthodes**

I.1. Matériel .....	27
I.1.1. Matériel biologique .....	27
I.1.2. Matériel non-biologique .....	30
I.2. Méthodes d'étude.....	30
I.2.1. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau.....	30
I.2.2. Calcul du rendement .....	32
I.2.3. Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle .....	32
I.2.4. Évaluation de pouvoir antimicrobien (antibactérienne et antifongique).....	32
I.2.5. Évaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du DPPH.....	35

#### **CHAPITRE II : Résultats et discussion**

II .1. Rendement des huiles essentielles .....	38
II.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles .....	38
II.3. Évaluation de l'activité antimicrobienne.....	39
II.3.1 Étude de l'activité antibactérienne .....	39
II.3.2 Étude de l'activité antifongique.....	43
II.4. Évaluation de l'activité antioxydante.....	45

II.4.1 Détermination du pourcentage d'inhibition.....	45
II.4.2. Détermination de la valeur d' IC50.....	46
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>48</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>49</b>
<b>ANNEXES</b>	



# Introduction

# INTRODUCTION

---

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al, 2001**), du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs propriétés aromatiques présentant des sources potentielles très riches en molécules bioactives. Ces plantes possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles.

Par ailleurs, plusieurs questions soulevées sur la demande croissante des consommateurs à avoir des aliments de haute qualité, plus naturels et faiblement traités a poussé au développement de nouvelles méthodes de conservation qui permettront de garantir la sécurité sans altérer la qualité des aliments ainsi que la sécurité des produits chimiques synthétiques utilisés en médecine, en effet, le développement de la résistance des microorganismes aux divers antibiotiques préoccupent les spécialistes. D'un autre côté, l'utilisation des additifs tels que les antioxydants est suspectée d'avoir des effets négatifs sur la santé.

L'Algérie, par sa situation géographique, offre une végétation riche et diverse. Un grand nombre de plantes aromatiques et médicinales y pousse spontanément. A cet effet, et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, nous nous sommes intéressées 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.

le choix de cette plante est basé sur ses utilisations traditionnelles dans le traitement des maladies d'origine microbienne et en alimentation (couscous).

*Lavandula stoechas* L "Helhal", se présente sous forme d'un arbrisseau très ramifié, à des fleurs de couleur violet et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Cette plante est connue par sa richesse en huile essentielle et par ses propriétés antibactériennes, antifongiques (**Cavanagh et Wilkinson, 2002**), antioxydant et désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques (**Gören et al, 2002**).

Dans le but de valoriser cette espèce, notre travail sera illustré par quatre chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique concernant la famille des Labiacée et de l'espèce du lavande papillon et un rappel général sur les huiles essentielles, nous présentons ensuite les différents procédés d'extraction.
- Le deuxième chapitre illustre les activités biologiques des huiles essentielles, nous présenterons également dans ce chapitre l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles.
- Le troisième chapitre sera consacré à l'exposition du matériel et des méthodes de la manipulation
- Le quatrième chapitre contient les résultats de notre travail.
- Une conclusion générale en fin de notre mémoire fera ressortir l'essentiel de nos résultats ainsi que les perspectives à développer ultérieurement.

**I.1. La famille des Lamiacées**

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées est une large famille de plantes aromatiques, connue par sa diversité et ses propriétés médicinales. Cette famille comprend environ 258 genres (**Botineau, 2010**), Ce sont le plus souvent des plantes herbacées, des arbustes et très rarement des arbres, largement répandus autour du monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes, tel que le genre *Lavandula* avec les lavandes, le genre *Mentha* avec les menthes, le genre *Rosmarinus* avec le romarin, le genre *Salvia* avec la sauge et le genre *Thymus* avec le thym (**Hussain, 2004**).

La plupart des genres ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles très utiles pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques et leur utilisation en tant que condiments, ainsi qu'infusions très prisées. Ainsi, ils ont fait l'objet de plusieurs études scientifiques dans le but d'évaluer la présence de certains métabolites secondaires typiques (**Wink, 2003**), contiennent de précieux réservoirs de composés chimiques multiples ayant une activité biologique différente selon leurs compositions structurales. Par conséquent, les huiles essentielles de cette famille possèdent plusieurs propriétés pharmacologiques : anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives, cicatrisantes...etc. (**Bakkalia et al. 2008**)

**I.2. Le genre *lavandula***

Le genre *Lavandula* 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) (**Benabdelkader, 2012**), ces arbustes sont des plantes mellifères et célèbres pour leurs fleurs en épis blancs, roses, bleus ou violets, elles sont agréablement parfumées de mars à septembre (**Philippe, 1993**). On compte 39 espèces de lavandes, toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde (**Saadatian et al, 2013**).

La diversité morphologique des lavandes a été entièrement revue et détaillée par **Upson (2002)** et **Upson et Andrews (2004)**.

Selon **Quezel et Santa (1963)** le genre *Lavandula* de la famille des Lamiacées ne regroupe que cinq (5) espèces : *L. Stoechas* L : "Helhal", "Amezzir" ; *L. dentata* L : " Djaïda " ; *L. coronopifolia* Poiret (= *L. stricta* Del) : " Ehrer" ; *L. multifida* L : "Kammoun el djmel" ; *L. pubescens* Dec : "Tehenok".

**I.3 Historique**

Le mot « lavandière » vient du fait qu'on ajoutait de la lavande à l'eau de lessive afin de parfumer les vêtements. Au Moyen Âge, ses pouvoirs désinfectants étaient reconnus et on en faisait des fumigations et des emplâtres destinés à combattre la peste. Mais ce n'est qu'au Moyen âge que l'on voit apparaître le terme "lavande", selon le verbe latin « lavare » qui signifie laver. Son utilisation était liée à la lutte contre les maladies infectieuses, le parfum est associé à l'aspect thérapeutique, on a longtemps cru que les mauvaises odeurs propageaient les maladies. A cette époque, on trouvait la lavande dans les jardins de monastères où, associée à d'autres plantes aromatiques et médicinales (PAM), elle était utilisée à but curative. Les plantes étaient d'ailleurs les seuls éléments de la pharmacopée. Quant à la cueillette de la lavande, elle apparaît dès le XIV ème siècle dans des textes relatifs à l'herboristerie. En 1371, la culture de la lavande existait déjà en Bourgogne (France) et on la retrouve dans tous les "jardins de simples" où les "bonnes herbes" étaient réunies en une sorte d'armoire à pharmacie naturelle (**Benabdelkader, 2002**).

Le développement au XIII ème siècle des Facultés de Marseille et Montpellier (France) a joué un rôle important dans la connaissance des bienfaits des plantes locales et les recherches des universitaires s'appliquaient aux moyens d'en extraire les principes actifs (PA). On la retrouve citée dans de nombreux textes. Elle était utilisée à but thérapeutique sous forme d'essence, tant à usage interne qu'externe, notamment suite aux épidémies de peste en Provence.

La cueillette de la lavande est une activité complémentaire réservée aux petits paysans, aux femmes et aux enfants. La fleur est vendue aux grasseois comme matière première. Dans l'économie rurale concentrée autour des cultures vivrières, des céréales et de l'élevage, la lavande apporte une nouvelle source de revenus pour les plus modestes ; d'autant qu'elle pousse toute seule dans des régions arides, sur des terres pauvres et impropres à toute autre culture. La cueillette de la lavande va devenir un facteur important de frein à l'exode rural qu'ont connu beaucoup de territoires ruraux similaires. Le développement des villes et de la consommation de parfums va accroître la demande des parfumeurs en lavande. Le nombre des cueilleurs et les quantités récoltées augmentent et les communes instaureront des adjudications pour les collines à lavande.

Peu à peu, les paysans parviennent à s'équiper d'alambics mobiles et à distiller eux-mêmes sur les zones de cueillette. Puis des alambics fixes sont développés par des familles de cueilleurs. Les Grassois, en France, installent sur place des distilleries de type industriel dès 1907. L'HE pouvant être stockée pour être vendue aux meilleurs cours, la spéculation se développe rapidement et les revenus appréciables des bonnes années permettent la modernisation des exploitations. Les courtiers auront un rôle prépondérant dans le commerce entre l'arrière-pays et Grasse.

Dans les années 1920/1930, la cueillette de la lavande fine atteint une importance maximum. Une amélioration du rendement est rendue possible grâce à l'entretien des terrains : épierrement, labourage, passage des troupeaux de moutons qui nettoient et fertilisent les terrains. Si les premiers essais de mise en culture datent de 1905 par une simple transplantation des plus beaux plants des collines dans les champs proches des villages, il faut attendre l'après-guerre de 1914-1918 pour voir se développer cette pratique. Entre 1925 et 1930, la technique de bouturage s'impose pour le lavandin, avec des sélections pour la recherche des plants offrant un meilleur rendement en essence et une meilleure résistance et adaptation aux terrains. C'est également à cette période que sont concentrés les efforts sur la mécanisation et la modernisation de la culture.

L'HE de lavande fine n'est plus utilisée dans les produits de grande consommation, où les produits de synthèse moins coûteux l'ont remplacée. Elle demeure irremplaçable dans les deux domaines prestigieux de son histoire : la parfumerie de luxe et la sphère médicale avec le développement de la phytothérapie et de l'aromathérapie.

Après plusieurs crises qui entraînent la chute de la production et une régression des cultures, les plantations furent relancées par la stabilisation des surfaces à cultiver et le développement des moyens de distillation. De nos jours, la plus grande fête consacrée à la lavande se trouve en France et elle est célébrée depuis près de 70 ans, à l'occasion du « Corso de la Lavande » à Digne-les-Bains, et s'achève par un défilé de chars décorés de lavande (**Gontard, 1940 ; Monge, 2013 ; Cassé, 2013**).

#### I.4. Présentation de *Lavandula stoechas* L.

##### I.4.1. Étymologie

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 (**Ryley, 1998**).

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. (**J. Murray, H. Bradley, et al 1933**).

Le **Barbier, 1963** donne comme définition du mot Stoechades : vient du grec stoechades et signifie « rangées en lignes ».

L'espèce est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet' (**Benabdelkader, 2012**).

##### I.4.2. Classification botanique de *Lavandula stoechas* L

D'après **APG III** la systématique de *L. stoechas* L. Est la suivante :

**Tableau 01** : Taxonomie de *L. stoechas*

<b>Règne</b>	Archéplastides
<b>Clade</b>	Angiosperme
<b>Clade</b>	Dicotylédones vraies
<b>Clade</b>	Noyau des Dicotylédones vraies
<b>Clade</b>	Astéridees
<b>Clade</b>	Lamiidées
<b>Ordre</b>	Lamiales (Labiales)
<b>Famille</b>	Lamiacées
<b>Sous famille</b>	Népétoïdées
<b>Genre</b>	<i>Lavandula</i>
<b>Espèce</b>	<i>Lavandula stoechas</i> L

### I.4.3. Description morphologique de *Lavandula stoechas* L

La lavande papillon, est une espèce végétale bien connue fait également partie de la famille des Lamiacées ou Labiées. Elle possède donc les mêmes caractéristiques morphologiques et communes à l'ensemble de cette famille (**Balouiri, 2011**). Elle se présente sous la forme d'un arbrisseau et pouvant atteindre un mètre de haut (**figure1**) (**Benabdelkader, 2012**), tomenteux, blanchâtre, tétragones (**Jullien, 2016**), très ramifié et très aromatique avec une lourde odeur semblable à celle du pin (**Benabdelkader, 2012**), l'essence qu'on peut en extraire a une odeur très forte et désagréable (**Barbier, 1963**). Elle supporte la mi- ombre, tolère le froid jusqu'à -5°C et préfère les endroits ensoleillés et les sols riches, siliceux et les terrains acide (**Chu & Kemper, 2001**).



Figure 01. *Lavandula stoechas* L (Herbier des champs, 2022)

#### I.4.3.1 Appareil végétatif :

- **Tiges** : la tige à une longueur de 20- 40 cm (**Besombes, 2008**) de couleur grisâtre, ramifié, carré quand jeunes, poussent souvent le long du sol, puis plier vers le haut, densément poilu avec étoile type poils, parties inférieures boisées et rugueuses, taillis lors de la coupe (**Siddiqui et al, 2016**). (**Figure 2.A**)

- **Feuilles** : sont petites, grisâtres, tomenteuses (**Besombes, 2008**), sont opposées de 2- 4 cm de long, sessiles, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords (**Benabdelkader, 2012**), mais sans dents ni lobes, appariés ou groupés aux nœuds, parfumés lorsqu'ils sont écrasés, stipules-aucune, pétiole-aucune (**Siddiqui et al, 2016**). (**Figure 2.B**)

### I.4.3.2 Appareil reproducteur :

• **Fleurs** : de couleur pourpre- foncé, en épis serré terminal, courtement pédonculés, ovales ou oblongs, compacts, quadrangulaires, surmontés d'une houppe de grandes bractées stérile violacées. Les bractées sont fertiles larges, obovales-sub trilobées, membraneuses, veinées, plus courtes que le calice très velu. Les carpelles ovales à 3 angles (**Jullien, 2016**) (**figure 2.C**).

• **La corolle** : elle est constituée de cinq pétales soudés en forme d'entonnoir régulière, exserte à tube dilaté à la gorge, elle possède deux lèvres distinctes : la lèvre supérieure à 2 lobes et la lèvre inférieure à 3 lobes. Elle est soudée avec quatre étamines subégales et inclinées (courbant vers le bas), Le stigmate est unique, bilobé ou capité. Les lobes nectarifères sont positionnés en face des ovaires. (**Battandier, 1888 ; Quezel, 1963 ; Benabdelkader, 2012**). (**Figure 2.D**).

• **Le calice** est tubulaire court, à cinq lobes qui se terminent par cinq dents inégales, à 13 ou 15 nervures. (**Couderc et al, 1990**).

• **Les bractées** : sont portées au niveau des points de ramification, à la base de chaque cyme de fleurs. Chez l'espèce *Lavandula stoechas* L, les bractées très développées sont également présentes à l'apex de l'inflorescence. Ces dernières sont allongées, colorées, stériles et très attractives pour les pollinisateurs (**Herrera, 1997**). (**Figure 2.E**)

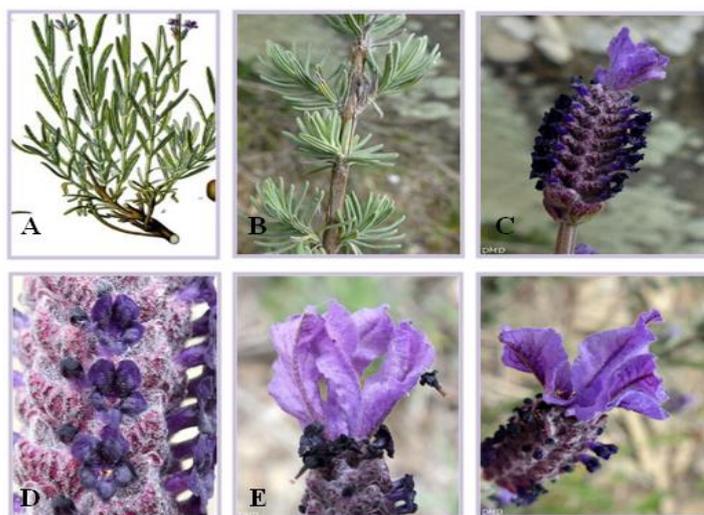
La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne C'est-à-dire deux fois dans l'année, en printemps puis en automne (**GirayetKirici, 2008**). Contrairement à certaines autres espèces de lavande qui ne fleurissent qu'une seule fois dans l'année. (**Figure3**)

### I.5.Répartition géographique de *Lavandula stoechas* L

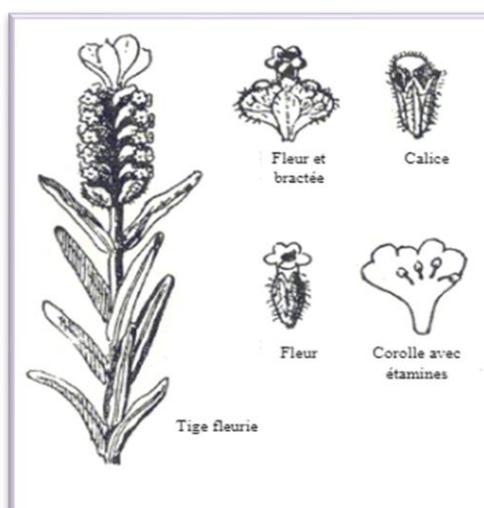
*Lavandula stoechas* L a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et

le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte. Actuellement, elle a été introduite et elle est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie. (Lis-Balchin, 2002 ; Agrimer, 2013).

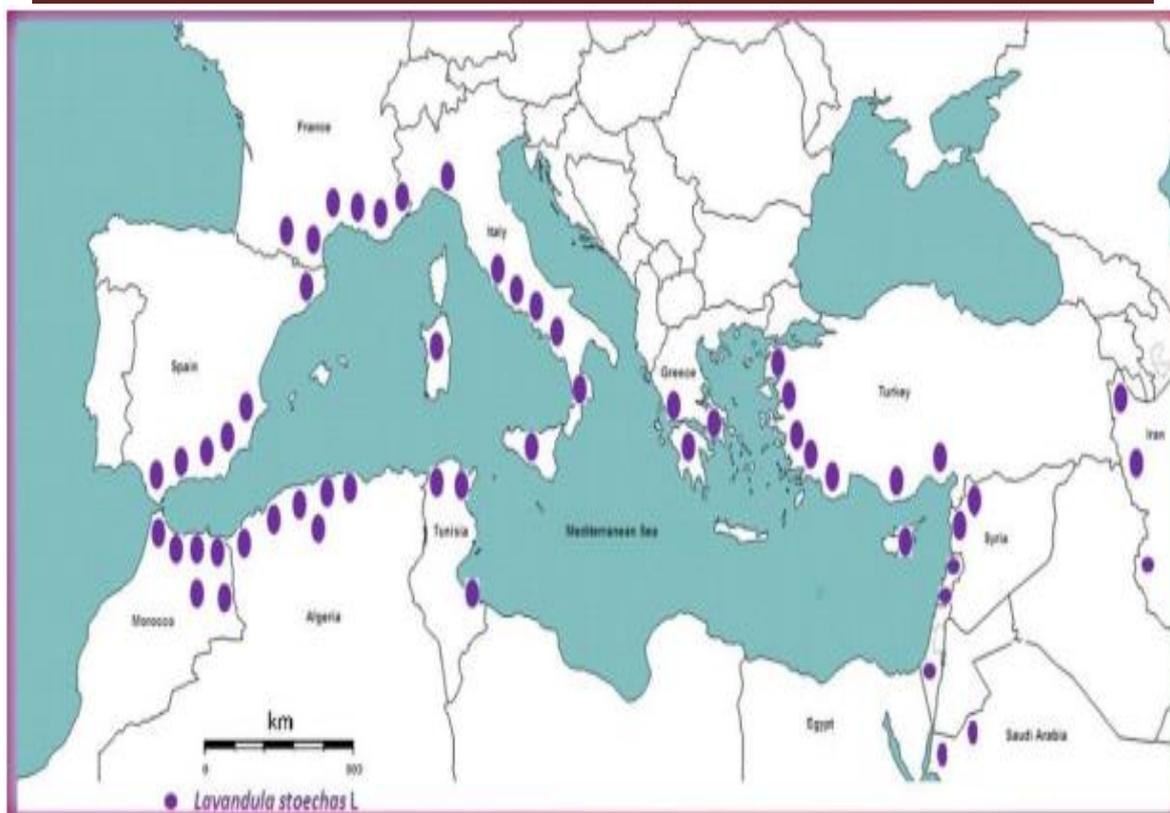
En Algérie, les populations naturelles de *L. stoechas* L sont situées au nord du pays, le long de la côte méditerranéenne dans les wilayas de Skikda, Jijel, Boumerdes, Bouira, Blida, Médéa, Ain Defla, Chlef et TiziOuzou (Benabdelkader, 2012), elle est parmi les très nombreuses espèces végétales qui forment la flore spontanée algérienne. (Haussein, 2000). (Figure 04)



**Figure 2** : les différents organes de la partie aérienne de *L. stoechas* (Herbier des champs, 2022) A : Tige ; B : Feuilles ; C : Fleur ; D : Corolles ; E : Bractées



**Figure 03** : illustration de la partie aérienne fleurie de *L. stoechas*.L



**Figure 04 :** Distribution géographique de *L. stoechas* en bassin méditerranéen (d'après Upson & Andrews, 2004)

### I.6. Domaines d'utilisation de *Lavandula stoechas* L

La Lavande a été traditionnellement utilisée comme plante aromatique, culinaire, décorative, cosmétique et dans des buts médicaux (Maganga, 2004).

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (Mahmoudi, 1982) et pour la lutte contre les insectes comme insectifuge (Mennalet Chennafi, 2015 ; Skoula et Abidi, 1996) ou insecticide (Gören et al, 2002).

- **Utilisation culinaire**

Dans la cuisine. On peut faire infuser des fleurs de lavande dans du lait, utilisé ensuite pour la préparation de glace ou de crème à la lavande. Dans certaines régions de l'Algérie, elle est également utilisée comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous. (Benabdelkader, 2012). Dans

l'industrie agro-alimentaire, les huiles essentielles de lavande sont employées dans les boissons aromatiques, les crèmes glacées, les bonbons, les pâtisseries, et les gommes à mâcher (Kim & Lee, 2002). Ces espèces sont aussi des plantes mellifères qui génèrent des miels de couleurs et odeurs propres à chaque espèce, et *L.stoechas* constituent des sources majeures de nectar pour les abeilles (Guyot Declerck, 2002).

- **Utilisation en médecine traditionnelle**

*L. stoechas* possède des propriétés thérapeutiques remarquables, elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme tonique, résolutive et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires (Said, 1996).

L'HE est un précieux remède des premiers secours, elle accélère la guérison des brûlures des plaies (action cicatrisante, réparatrice) (Mennal et Chennafi, 2015) et désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques (Gören et al., 2002), a aussi des effets positifs sur les infections urinaires, les maladies cardiaques, l'eczéma (Baytop, 1999), spasmolytiques, contre le diabète, la fièvre (Chu et Kemper, 2001), les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension (Skoula et Abidi, 1996) et pour traiter l'infertilité (Chu et Kemper, 2001), et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est appelée 'le balai du cerveau'. Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus". (Cavanagh et Wilkinson, 2002)

En phytothérapie, on la recommande pour combattre l'anxiété, la nervosité et les insomnies, ainsi que pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires. Elle peut être prise en infusion, en poudre (gélules), sous forme d'HE ou d'alcoolat, pour les frictions (Rhind et Pirie, 2012).

- **Utilisation dans l'industrie**

Commercialement, plus de 462 tonnes d'HE sont produites annuellement à partir d'espèces du genre *Lavandula* (Lawrence, 1992). La popularité persistante et la valeur commerciale de la lavande a été confirmée quand elle a été nommée « herbe de l'année 1999 » par le réseau de la culture et la commercialisation d'herbes

médicinales, aromatiques et à parfum aux Etats-Unis d'Amérique. Leurs HE sont de haut intérêt économique dans les industries des parfums, des cosmétiques, des arômes agro-alimentaires, pharmaceutiques et de nos jours également dans l'aromathérapie (Lis-Balchin, 2002 ; Upson et Andrews, 2004). Elle est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. En effet, celle-ci analgésiques (calmante), antiseptiques (Baytop, 1999 ; Beloued, 2005). De nombreuses plantes de lavande sont également vendues comme plantes ornementales pour les jardins populaires. Enfin, il a été mentionné que certaines lavandes sont aussi utiles dans l'agriculture biologique comme bio-insecticides. Elles constituent des cultures de choix dans les terres arides (González-Coloma et al, 2006).

### I.7. Composition chimique de *Lavandula stoechas* L

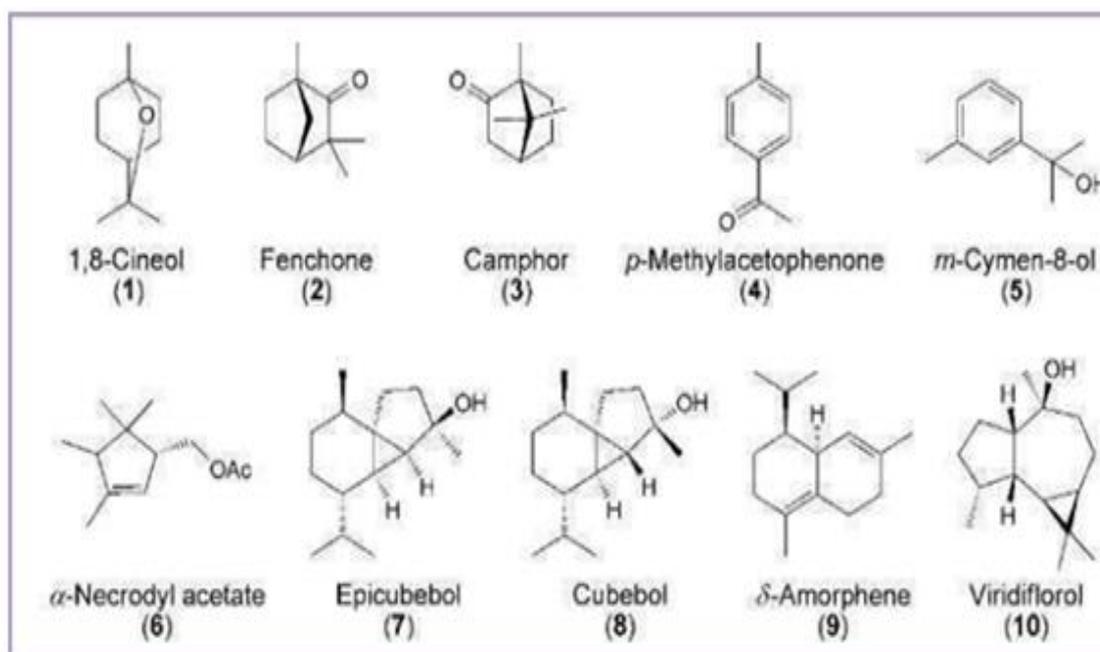
Les compositions chimiques de nombreuses HES ont été décrites. Elles varient en fonction de différents facteurs, incluant le stade de développement des plantes, les organes prélevés, la période et la zone géographique de récolte (Delaquis et al, 2002 ; Burt, 2004 ; Oussou et al, 2008).

Selon Ferreres et al, (1986) ; Mastelic et Kustrak (1997). Les constituants potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont :

- ✓ Mono-terpènes:  $\alpha$ -pinène,  $\beta$  pinène,  $\beta$ -ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène.
- ✓ Mono-terpènesalcools:  $\alpha$ terpinéol, bornéol, lavandulol, linalool, p-cymen-8-ol, trans-pinocarveol.
- ✓ Mono-terpènes aldéhydes : aldéhyde de cumin.
- ✓ Mono-terpènes éthers : 1,8-cinéole.
- ✓ Mono-terpènesesters : acétate de linalyl, acétate de terpenyl.
- ✓ Mono-terpènescétones : carvone, coumarine, cryptone, fenchone, methylheptenone, n- octanone, nopinone, p-méthylacétophène.
- ✓ Benzénoïdes : eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, acide rosmarinique, thymol.
- ✓ Sesquiterpènes :caryophyllene, oxide de caryophyllene,  $\alpha$ -photosantanol,  $\alpha$ -santalal,  $\alpha$ -norsantalenone.
- ✓ Des traces de nombreux autres composés, tels que flavonoïdes.

En ce qui concerne les principaux flavonoïdes de *L. stoechas*L., apigénine 7-glucoside, lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide (Upson et al., 2000).

L'huile essentielle de *l. stoechas* d'Algérie, analysée au stade de pleine floraison, contient :  $\alpha$ -Pinène à 1.0 %, p-Cymène à 6.5%, Fenchone à 31.6%, Camphre à 22.4%, et Lavandulyl acétate à 3.0 %, comme principaux constituants avec une variation quantitative et qualitative par rapport à d'autres pays. (DOB et al., 2006). (Figure 05)



**Figure 05 :** (1-3 et 10) structure des principaux composés de *L. stoechas*.d'origine Algérienne (4-9) les composés détectés pour la première fois (Benabelkader et al, 2011)

## I.8. Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L

### I.8.1. Définition des huiles essentielles

Plusieurs définitions sont disponibles des HEs. Le terme « huile » s'explique par leur caractère hydrophobe (Bouhdid, 2009) et par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Bruneton, 1993).

AFNOR (1996) donne une définition des HEs qui est la suivante : « Les HEs sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par

entrainement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation sèche ».

Les HEs sont des composés naturels, complexes, de structures organiques variées, liquide, odorantes, volatiles, synthétisées par les PAM comme métabolites secondaires (**Bakkali et al., 2008**), sont des mélanges de nombreux composés qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthylethers, les oxydes, les esters, et les cétones ...(**Salah Eddine B, 2017**) Elles sont très sensibles aux variations de température, à la lumière et à l'oxygène (**Cherrat, 2013**) et présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (**Padrini et Lucheroni, 1996**).

### **I.8.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante**

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées. (**Farhat, 2010**). Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres, elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (**Schauemberg et Paris, 2010**).

Les essences peuvent être stockées dans diverses structures de la plante telles que les poils sécréteurs ou trichomes, les cellules épidermiques, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs. Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'HE. (**Sharma et al, 2003**).

Toutes les plantes de la famille des Labiées possèdent dans leurs tissus épidermiques et foliaires des glandes sécrétrices riches en HEs aromatiques (**Chambon, 1984**).

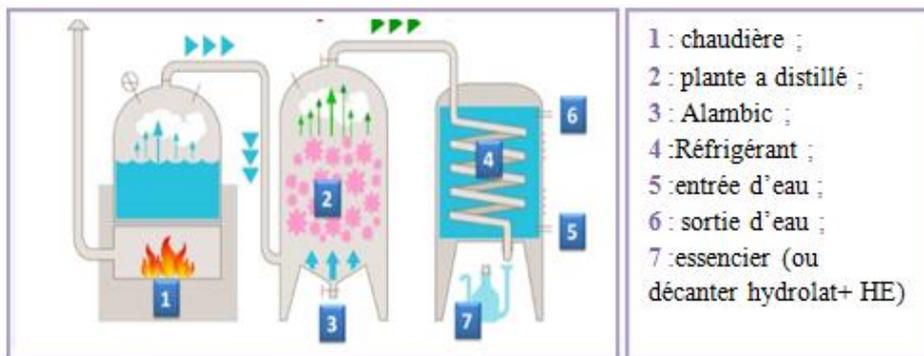
### **I.8.3. Procédés d'extraction des huiles essentielles**

Plusieurs méthodes existent pour extraire les huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de plusieurs paramètres tels que la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, et l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**SAMATE D.A, 2001**)

**I.8.3.1. Distillation :** Trois différents procédés utilisant le principe de la distillation (Piochon, 2008) sont possibles :

- **Distillation par entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable (Richard H et Peyron F, 1992). La matière première est mise en présence d'eau portée à ébullition ou de vapeur d'eau dans un alambic. La vapeur d'eau endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite condensées dans le réfrigérant pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (essencier) où l'HE est séparée de l'eau par décantation. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques (Figure 06).



**Figure 06 :** Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

- **Extraction par hydro distillation**

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir les séparer à l'état pure mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité. Cependant, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques. (Bruneton, 1993).

- **Hydrodiffusion :**

Le principe est basé sur le passage de la vapeur de haut en bas à très faible pression et se caractérise par une extraction plus rapide des matériaux volatils des plantes et de certains matériaux non volatils tout en économisant l'énergie de la vapeur, (Ghenaiet et Saoussen, 2016) (Merouane, 2013)

### **I.8.3.2. Extraction à froid (Expression) :**

L'expression à froid est réservée à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices afin de libérer l'essence. (Basil A *et al.*, 1998).

### **I.8.3.3. Extraction par solvants organiques**

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. (Legrand, 1993) ; (Dapkevicius *et al.*, 1998) ; (Kim et Lee, 2002).

**I.8.3.4 Autres procédés :** D'autres procédés sont utilisés : Extraction assistée par micro-ondes ; Enflourage ; Distillation sèche ; Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique.

## **I.9. Toxicité des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L**

Les huiles essentielles représentent une source inépuisable de remèdes naturels, elles contiennent des milliers de composants qui sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxique (Kezzouna, 2015).

Cependant, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive, surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe, par les essences est nuisible. Elle cause des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie, etc....) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Degryse *et al.*, 2008).

Les HEs de Lamiaceae peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à forte dose (Kezzouna, 2015). Certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées

sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en Cinna aldéhyde) (**Smith et al, 2000**). D'autres HEs ont un effet neurotoxique (**Guba, 2001**). Les cétones comme l' $\alpha$ -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Franchomme et Péroël, 1990**). Il existe aussi quelques HEs dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et al, 1968**). L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées. L'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épileptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques (**Baudoux, 1997**).

Dans la nature, les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, Antioxydant, antiviral, antifongique, insecticide, herbicide (Nerio et al, 2010), et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi des insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (Bakkali et al, 2008), elles exercent aussi un effet allélopathique en inhibant la germination et le développement d'autres espèces dans leur voisinage (De feo et al, 2002). Les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. (El kalamouni, 2010).

### II .1. Activité liée à la composition chimique

L'efficacité d'une HE est liée à sa composition chimique, aux groupements fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, les composés terpéniques et cétoniques). Les composés minoritaires jouent aussi un rôle important dans l'activité des HEs et semblent agir en synergie avec les composés principaux, plus que ce dernier est riche en substances actives, plus son activité est importante.

Les composés chimiques qui ont plus d'efficacité et à large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools ( $\alpha$ - terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones. (Hammer et al ,1999)

### II.2. Activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique)

Les constituants des huiles essentielles sont actifs contre une large gamme de bactéries, levures et champignons puisqu'elles inhibent aussi bien leur croissance

#### II.2.1. Activité antibactérienne

Les HEs ont un spectre d'action très large sur les bactéries Gram +, Gram – et les entérocoques (Raymond, 2005). Leur activité antibactérienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene et al, 2006) et à leur effet synergique (Zhiri, 2006).

La connaissance des molécules porteuses de l'activité antibactérienne est de première importance. Elles appartiennent, entre autres, au groupe des phénols (le carvacrol, le thymol et l'eugénol) (Franchomme et Penoel, 1990). Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes,

quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités bactéricides des HEs qui en contiennent.

La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *E-coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonasaeruginosa* (Zhiri, 2006). Les alcools à dix atomes de carbone (géraniol, linalol, terpinéol, menthol...) et l'aldéhyde cinnamique viennent immédiatement après les phénols et possèdent une activité anti-infectieuse. De nombreuses autres molécules comme les aldéhydes (néral, citral), les cétones (bornéone du camphre), les éthers, les oxydes, les phtalides et les terpènes ont des activités antibactériennes non négligeables (Franchomme et Penoel, 1990).

### II.2.2. Activité antifongique

Les HEs ne sont pas seulement capables d'inhiber la croissance bactérienne, elles agissent sur la biomasse et la production des pseudo-mycéliums et ont aussi la capacité d'inhiber la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures (El kalamouni, 2010).

L'activité antifongique décroît selon le type de fonction chimique: Phénols, Alcools, Aldéhydes, Cétones, Ethers, Hydrocarbures. Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-npropylphénol, thymol, isoeugénol, eugénol) (Utree et al, 2002).

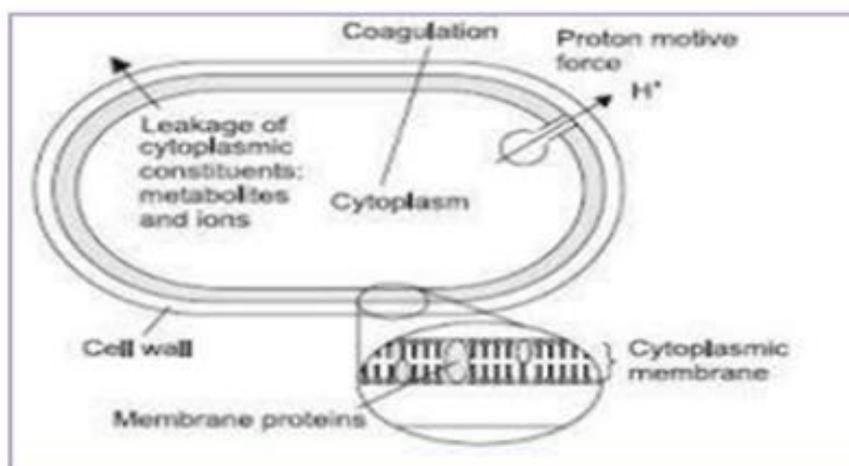
### II .3. Mode d'action des huiles essentielles contre les bactéries

Le mode d'action des HE sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé. Compte tenu de la diversité des molécules et la complexité de leur composition chimique présentes dans ces huiles, il est difficile de donner une idée précise sur le mode d'action des HE. Il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action impliquant différentes cibles cellulaires. (Figure 07)

La principale caractéristique des molécules présentes dans les HE est leur hydrophobicité. Elle permet leur solubilisation dans les membranes, ce qui provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire. Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires.

Si la perte de matériel est trop importante ou si les éléments cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie, cela entraîne la mort cellulaire. Le mode d'action des HEs dépend du type de microorganismes. En général, les bactéries Gram- sont plus résistantes que les bactéries Gram+ grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des Gram- est plus riche en lipo-polysaccharides (LPS) la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases (**Benjelali et al 1986**)

- ✓ 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.



**Figure 07** : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.

### II.4. Méthode de détermination de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des HEs dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

#### II.4.1. Aromatogramme

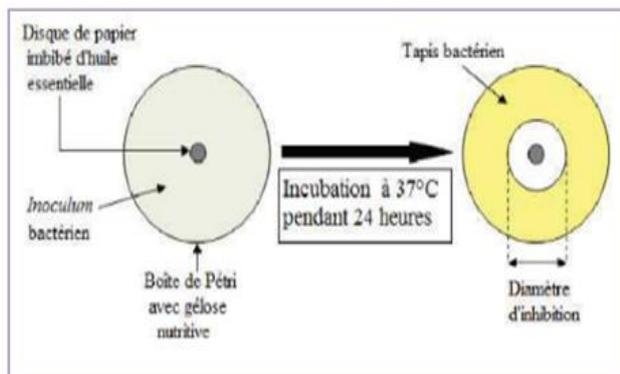
L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie appelée antibiogramme ou méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé. Cette

méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une HE. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

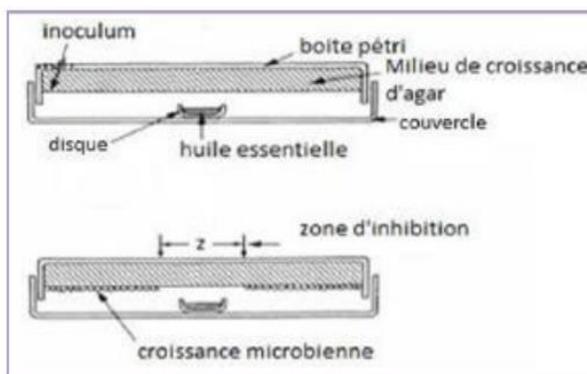
La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différentes substances à tester, puis déposés à la surface d'une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Après incubation, les colonies se développent à la surface de la gélose laissant des zones vierges autour des disques appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de la zone d'inhibition est grand, plus la souche est sensible, plus il est petit plus la bactérie est résistante. On peut exprimer cette activité soit en indiquant directement le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre, soit en traduisant en croix le degré d'activité. (Figure 8)

### II.4.2. Méthode de micro-atmosphère :

Cette technique consiste à cultiver les microorganismes à tester dans les boîtes de Pétri sur milieu de culture approprié. La différence réside principalement dans la position du disque imprégné d'HE qui est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée après fixation de l'HE sur le disque. Celui-ci n'est donc pas en contact avec le milieu gélose. L'huile s'évapore dans l'atmosphère de la boîte, elle peut exercer son effet inhibiteur sur les microorganismes testés. (Figure 09).



**Figure 08** : Principe de la méthode de diffusion par disque.



**Figure 09** : Principe de la méthode de micro-atmosphère.

## II .5. Activité antioxydante

### II.5.1 Les radicaux libres

Les radicaux libres (RL) sont des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (électrons célibataires) (Afonso et al , 2007) sont très

instables et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

Les RL qui proviennent de l'oxygène sont appelés espèces réactives de l'oxygène (ERO). et les RL qui sont générés de la réaction de l'oxygène avec le nitrogène sont appelés espèces réactives de nitrogène (ERN). (**Penna et al, 2009**).

### II.5.1.1. Les espèces réactives de l'oxygène (ERO)

Les ERO sont des RL qui proviennent du métabolisme de l'oxygène, par addition d'un électron, ils sont trouvés dans tous les organismes aérobies (**Agarwal et al. 2006**). Les principales espèces réactives de l'oxygène sont : le radical superoxyde ( $O_2\bullet$ ), le radical hydroxyle ( $OH\bullet$ ), le monoxyde d'azote ( $NO\bullet$ ), et aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le peroxynitrite ( $ONOO^-$ ) (**Jacques et André, 2004**).

### II.5.1.2. Les espèces réactives de nitrogène (ERN)

Les espèces réactives de l'azote renferment principalement le monoxyde d'azote ( $NO\bullet$ ), le péroxynitrite ( $ONOO^-$ ), le dioxyde de nitrogène ( $NO_2\bullet$ ) et le nitrosyle hydride ( $HNO$ ).

### II.5.1.3. Rôle des radicaux libres

La production des ERO et ERN est permanente et physiologique et n'est pas limitée aux conditions pathologiques, car ces espèces réactives participent dans de nombreuses fonctions biologiques (**Koechlin, 2006**).

Les RL dérivés de l'oxygène sont impliqués dans les processus de phagocytose. S'ils sont mis en contact avec une particule étrangère à l'organisme, les phagocytes réagissent en activant la NADPH - oxydase qui produit une quantité importante d' $O_2\bullet^-$ . Ce mécanisme ne permet cependant pas de détruire toutes les bactéries et certaines affections seraient même aggravées par l'excès de production d' $O_2\bullet^-$  par les phagocytes, l'arthrite rhumatoïde par exemple (**Thiebault et Sprumont, 1998**).

À titre d'exemple Les ERO et azotées participent aussi dans la différenciation cellulaire l'apoptose, l'immunité et la défense contre les micro-organismes (**Roberts et al, 2009**). L'oxyde nitrique  $NO\bullet$  intervient dans plusieurs processus physiologiques comme la

protection cardiaque et les mécanismes de défense et la neurotransmission (Penna C et al, 2009). Les espèces réactives  $O_2^{\bullet-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO^{\bullet}$  intervient aussi dans la maturation. L'hyper activation des spermatoocytes et la fusion de spermatoocyte avec l'ovocyte (Kothari, 2010).

### II.5.1.4. Toxicité des radicaux libres

La production excessive des RL. Déclenche le phénomène de stress oxydatif produit par l'inflammation en général et qui provoque la mise en action de mécanismes de défense, a savoir la libération de substances antioxydantes (Thiebault et Sprumont, 1998). Ce n'est plus que lorsque les systèmes de défense sont dépassés et ne suffisent plus à neutraliser la surproduction de ces espèces que la toxicité apparaît (Campbell et al, 2004).

### II.5.2. Stress oxydatif

#### II.5.2.1. Définition et origine

Le stress oxydatif a été défini par Sies, (1991) comme étant un déséquilibre entre les systèmes pro-oxydants et les capacités antioxydants d'un organisme, d'une cellule ou d'un compartiment cellulaire en faveur des premiers, en impliquant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Sies, 1991).

La rupture d'équilibre entre le système pro-oxydant et antioxydant peut provenir lors d'une production excessive de ces molécules réactives une défaillance nutritionnelle ou de la carence en un ou plusieurs antioxydants apportés par la nutrition, comme les vitamines ou les oligo-éléments, des intoxications aux métaux lourds, tabagisme, les maladies inflammatoires, le stress ... etc.).

Généralement, le stress oxydant sera la résultante de plusieurs de ces facteurs et affecte un tissu ou un type cellulaire bien précis et non pas tout l'organisme (Favier, 2003).

#### II.5.2.2. Conséquences biologiques du stress oxydatif

Les RLs sont une arme à double tranchant, ils sont indispensables à la vie et responsables de nombreuses fonctions physiologiques d'une part et d'autre part ils constituent des espèces hautement dangereuses susceptibles lors d'un stress oxydant d'endommager par oxydation les différentes molécules biologiques notamment les lipides, les protéines et l'ADN (Koechlin, 2006 ; Penna et al, 2009). Ils peuvent induire l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (Hadi, 2004 ; Shimizu, 2004). Ils

inhibent la sécrétion d'insuline (Krippeit-Drews et al., 1994), modifient les structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines (Pincemail et al., 1999).

### II.5.2.3. Les pathologies liées au stress oxydatif

Le stress oxydant est au centre des processus de vieillissement et de l'apparition de plus d'une centaine de pathologies humaine par l'intermédiaire de la dénaturation des protéines. Lipides, et de l'ADN, on peut citer : le cancer ( Valko M et al, 2007 ), des maladies neurodégénératives ( ataxies, sclérose latérale, maladie d'Alzheimer ) ( Jener P, 2003 )

Lascleroselaterale amyotrophique familiale est l'exemple le plus démonstratif, puisque cette maladie génétique est due à un défaut sur le gène de l'enzyme antioxydant superoxydedismutase, maladies respiratoires ( asthme ) ( Cemeli et al, 2009 ) et L'hypertension ( Roberts et Sindhu, 2009 ).

Dans de nombreuses autres maladies, le stress oxydant est secondaire à l'établissement de la pathologie, mais participe à ses complications immunitaires ou vasculaires. C'est le cas de maladies infectieuses comme le sida ou le choc septique, le diabète, la maladie de Parkinson ou l'insuffisance rénale. (Favier, 2003).

### II.5.3. Les antioxydants

#### II.5.3.1 Définition

Les antioxydants sont des substances capables d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou réduire les dommages causés par les radicaux libres dans le corps.

Organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

#### II.5.3.2. Système de défense antioxydant

Les systèmes antioxydants peuvent être classés selon leur mode d'action, leur localisation cellulaire et leur origine (Delattre et al, 2005). (Figure 10)

Les antioxydants sont d'origines endogènes métaboliques comme des enzymes et d'origines exogènes nutritionnelles (Parihar et al, 2008).



Figure 10 : les antioxydants enzymatique et non enzymatique

### II.5.3.2.1. Les antioxydants endogènes

Plusieurs enzymes ont un rôle essentiel dans la détoxification des espèces réactives de l'oxygène. Les protéines enzymatiques antioxydantes constituent la première barrière de cette défense antioxydante, qui est constituée de trois métalloenzymes essentielles (les superoxydesdismutases, la catalase et les glutathions peroxydases). Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (Marfak, 2003).

- **Les superoxydesdismutases :**

Le superoxydedismutase ou SOD, est un antioxydant enzymatique. Il représente l'une des premières lignes de défense contre le stress oxydant qui élimine l'anion superoxyde par une réaction de dismutation, il produit de l'oxygène et du peroxyde d'hydrogène en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène moléculaire (Haleng et al, 2007).

- **La catalase :**

Est une enzyme localisée principalement dans les peroxysomes qui transforme le peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau, diminuant ainsi sa demi-vie et atténuant de ce fait la génération de radicaux libres hydroxyles (Ichal et al, 2011). Elle est surtout active lorsque le niveau de stress oxydatif est élevé.

- **La Glutathion peroxydase :**

Est une enzyme localisée principalement dans le cytosol et les mitochondries et c'est l'une des défenses antioxydantes les plus importantes de l'organisme (Ichal et al, 2011) car elle est capable non seulement de détoxifier le peroxyde d'hydrogène, mais aussi d'autres

hydroperoxydes résultant de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras (**Ganther, 1999**). Elle nécessite la présence de deux cofacteurs importants : le glutathion réduit et le sélénium.

### II.5.3.2.2. Les antioxydants exogènes

L'organisme possède une seconde ligne de défense « les piègeurs de radicaux libres qui sont des molécules issues de notre alimentation. Dont le rôle essentiel est de neutraliser les effets toxiques des ERO, limitant ainsi toute atteinte de l'intégrité cellulaire. (**Koechlin-Ramonatxo, 2006**). Notons à titre d'exemples, les plus courants :

- **La vitamine E :**

La vitamine E ou  $\alpha$ - tocophérol est le principal antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. Elle est capable d'une part, de piéger chimiquement l'oxygène singulet en s'oxydant en quinone, et d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle HO<sup>•</sup>. Mais son principal rôle biologique est de réagir avec les radicaux peroxydes pour former un radical tocophéryle(**Dellatre, 2005**).

- **La vitamine C :**

La vitamine C ou acide ascorbique est un antioxydant hydrosoluble qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extracellulaire. L'ascorbate est un très bon capteur de radicaux libres oxygénés puisqu'il réagit non seulement avec les radicaux hydroxyles OH, mais aussi avec les radicaux superoxydes O<sub>2</sub><sup>•-</sup>. En outre, l'ascorbate capte les radicaux peroxydes RO<sub>2</sub><sup>•</sup> en réagissant avec ces diversoxyradicaux, l'ascorbate est oxydé en radical ascorbyle(Asc) qui est relativement inerte vis-à-vis des matériaux biologiques. L'acide ascorbique peut agir en tant qu'un antioxydant seulement en absence de métaux de transitions sous forme libre (**Evans, 2000**).

- **La  $\beta$ -carotène :**

Le  $\beta$ carotène appartient à la grande famille des caroténoïdes, constituée de plus de 600 pigments identifiés dans de nombreux fruits et légumes, qui possèdent des propriétés antioxydantes. Il est un précurseur de la vitamine A. capteur d'oxygène singulet sous faible pression, il protège les structures cellulaires contre l'agression oxydante et s'oppose à la cyto- et geno- toxicité de nombreux agents (**Allard et al, 1994**).

- **Les Oligoéléments :**

Les oligoéléments impliqués dans la défense contre les RL tels que : le sélénium, le cuivre et le zinc servent notamment de cofacteur aux enzymes antioxydantes (la glutathion peroxydase, la SOD cytosolique, la SOD mitochondriale et la catalase respectivement). (Koechlin - Ramonatxo, 2006 ; Machlin L. et Bendich A, 1987).

- **Les Polyphénols :**

Les polyphénols constituent une famille importante d'antioxydants, les plus importants sont les flavonoïdes (Médart, 2009). Ce sont d'excellents piègeurs de RL (Haleng et al, 2007). Leur effet protecteur est notamment connu dans le système cardiovasculaire où ils préviennent l'oxydation des protéines. Ils sont particulièrement présents dans certaines boissons (the, vin rouge, bière ...) ou les fruits et légumes (agrumes, carottes ...) (Lehucher et al, 2001), L'alimentation contient d'autres métabolites qui possèdent des propriétés antioxydantes. Telles que les HE (Djilas et al, 2002), les alcaloïdes les acides organiques, les dérivés soufrés de l'ail et de l'oignon, les dérivés indoliques du chou ... etc. (Favier, 2003). Les sources alimentaires des antioxydants naturelles sont présentées dans le Tableau suivant :

**Tableau02:** Antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo., 2006)

Les antioxydants	Sources alimentaires
Vitamine C	Agrumes, melon, brocoli, fraise, kiwi, chou, poivron
Vitamine E	Huile de tournesol, de soja, de maïs Beurre, œufs, noix.
β-carotène	Légumes et fruits orangés, et vert foncés
Sélénium	Poissons, viande, œufs, céréales, volaille
Zinc	Viande, pain complet, légumes verts, huîtres Produits Laitiers
Flavonoïdes	Fruits, légumes, thé vert
Acides phénoliques	Céréales complètes, baies, cerises
Tanins	Lentilles, thé, raisins, vin

Ce présent travail a pour objectif de la valorisation des HE de l'espèce «*Lavandula stoechas*.L ». notre étude s'est étalé sur une période de 3 mois, de mai 2022 jusqu'au mois de juillet 2022. Les différentes expérimentations ont été effectuées dans les structures suivantes :

- Société « VieBio » à OueldYaich (Blida) pour l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau des HE de la partie aérienne (tige, feuilles et boutons floraux) de l'espèce étudiée.
- Laboratoire d'hygiène de la wilaya de BLIDA dans le but d'évaluer les activités antibactérienne et antifongique de l'HE in vitro par la méthode de l'aromatogramme .
- Laboratoire de recherche des plantes aromatique et médicinale du département de Biotechnologie, Université de Blida afin de réaliser l'activité antioxdante par la méthode de piégeage du radicale libre (DPPH).

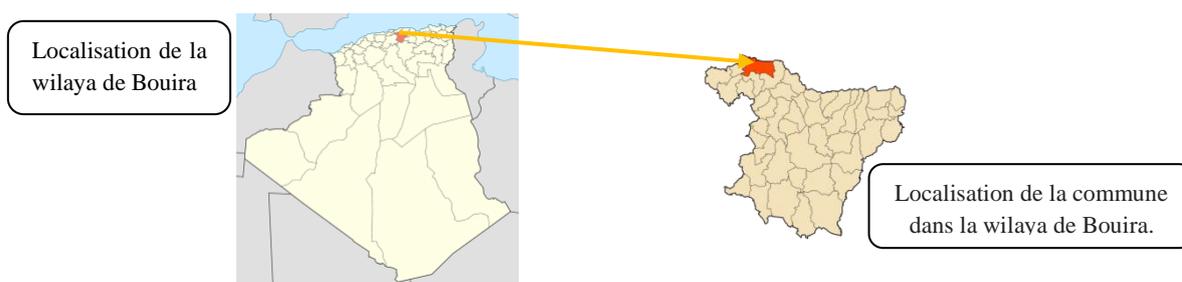
## I.1. Matériel

### I.1.1 Matériel Biologique

#### a.Matériel végétal

Vu l'importance de la biodiversité de notre pays, nous avons essayé d'étudier une espèce végétale « *L. stoechas* L. », de la famille des Lamiacées.

Le matériel végétal est composé de la partie aérienne (tige, feuilles et boutons floraux) de la plante récoltée au mois de mai 2022 au stade de pleine floraison. L'espèce étudiée fait partie d'une population végétale spontanée de la commune de Lakhdaria, Wilaya de Bouira, Algérie (Figure 11). Lors de la récolte, toutes les plantes présentant des anomalies ont été éliminés



**Figure 11** : Localisation de la région de collecte.

❖ Principales caractéristiques de la région d'étude

Cadre géographique et climatique

Bouira (en berbère :Tuvirets) est une wilaya algérienne, située dans la région Nord - Centre du Pays. Entourée des chaînes montagneuses du Durdjura et des Bibans et La terminaison orientale de l'Atlas blidéen , elle est délimitée : Au nord par les deux wilayas de Boumerdès et de TiziOuzou, au sud par la wilaya de M'Sila , A l'est par les deux wilayas de Béjaïa et de Bordj Bou Arréridj et l'ouest par les deux wilayas de Blida et de Médéa.(Figure12)

Caractérisée par un relief fortement accidenté, son chef-lieu est situé à une altitude de 525m, au bas du piémont Sud-Ouest du Djurdjura dont le sommet le plus élevé est lala-Khadija (2308m). Elle se caractérise également par un climat chaud et sec en été, froid et pluvieux en hiver(Climat méditerranéen), la pluviométrie est favorable notamment dans la partie Nord où l'on enregistre une moyenne de 700 mm/an, par contre le sud plus aride relevant des hauts plateaux reçoit en moyenne 250mm/an. Les températures varient entre 20 et 40 °C de mai à septembre et de 2 à 12 °C de janvier à mars.(DSPBouira)

- **Zone bioclimatique :** humide continentale HC
- **Pluviométrie (mm/an) :** 660
- **Coordonnées géographiques :** (Latitude N36°34'12'' ; Longitude E 3°34'11'' )  
(Benabdelkader,2012)



Figure 12 :Carte interactive de la wilaya de Bouira (DSP Bouira)

La zone boisée représente 25 % du territoire avec 111 490 ha de massif forestier. On trouve le pin d'Alep, le chêne vert ainsi que le chêne-liège et le cèdre de l'Atlas (sud Djurdjura).

## b. Souche microbiennes

Lors de cette étude, le HE à été testée in vitro sur six souches :

- 04 souches bactériennes (02 Gram+ et 02 Gram-)
- 02 levures

Ces germes pathogènes, qui font partie de la collection internationale ATCC (American type culture collection), ont été fournies aimablement par le responsable de laboratoire d'hygiène à Blida (**Tableau 03**). Ces espèces sont souvent responsables de problèmes majeurs de santé publique, et sont caractérisées par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiennes. Les souches d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* sont des souches hospitalières et celle de *Staphylococcus aureus* est d'origine alimentaire.

Toutes les souches microbiennes ont été choisies par leurs fréquences élevées de contamination et leur pathogénicité dominante.

**Tableau 03 :** Tableau descriptif des différentes micro-organismes utilisées dans notre étude

Souches utilisées	Code de souche	Provenance
<b>Souche bactériennes</b>		
<b>Bactéries à Gram+</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	Unité de Bactériologie de Laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Blida
<i>Bacillus ceureus</i>	ATCC 6655	
<b>Bactéries à Gram -</b>		
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8039	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027	
<b>Souche fongiques</b>		
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	

## I.1.2. Matériel non biologique

Le matériel non biologique (les équipements, la verrerie et les produits chimiques) sont mentionnés dans l'Annexe 1.

## I.2. Méthodes d'études

### I.2.1. Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau

L'HE a été extraite à partir de la partie aérienne fraîche de la plante (tige, feuilles et fleurs). Le procédé d'extraction utilisé est l'entraînement à la vapeur d'eau.

Dans cette technique une source externe de vapeur d'eau est utilisée. La vapeur d'eau passe à travers le matériel végétal au niveau de l'unité d'extraction et sort par le condenseur. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle. Cette dernière est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Ce mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en deux phases bien distinctes : l'huile essentielle et l'eau aromatique (hydrolat). 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 (Fouad M, 2015) (Figure 13).

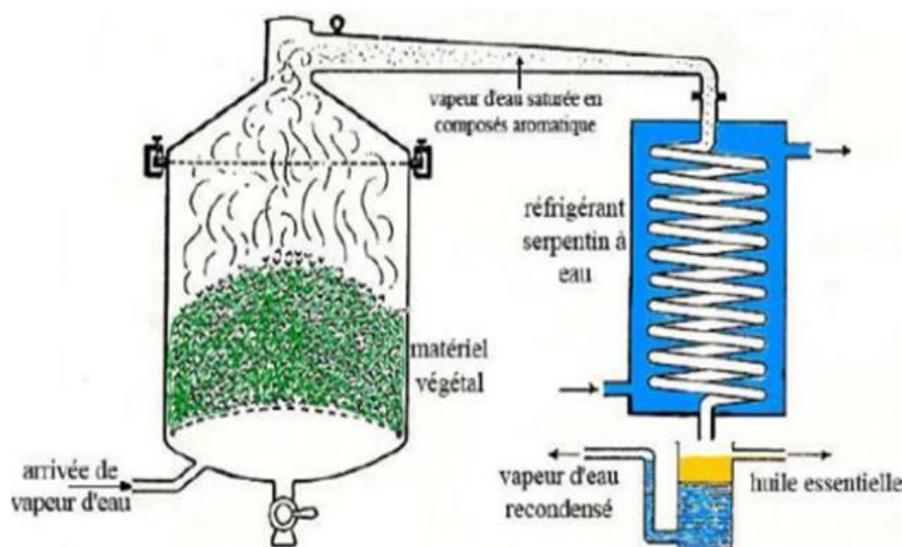
#### Mode opératoire

Une quantité de 50kg du matériel végétale de lavande (composés des tiges et des fleurs) sont amenés à la distillerie et disposés dans une grande cuve de distillation appelée « alambic ou vase » avec une double quantité d'eau pour éviter la brûlure. Le fond du vase est grillagé et relié à une chaudière qui produit de la vapeur d'eau. Les ballots de lavande doivent être organisés de façon à laisser le moins d'espace possible dans le vase, pour que la vapeur traverse les fleurs de manière homogène et ne trouve pas de chemin autour, puis on a fermé l'alambic et brancher la source de refroidissement. Finalement, on allume le feu pour débiter la distillation. Une fois la chaudière prête, la vapeur d'eau est envoyée dans le vase pour chauffer la lavande et en extraire son huile essentielle sous forme de vapeur.

Le mélange de vapeur d'eau et d'huile essentielle à l'état gazeux passe ensuite dans un circuit de condensation composé d'un serpentin aspergé d'eau, qui le fait passer à l'état

liquide. Il est ensuite déversé dans un « essencier » pour décanter. L'huile essentielle n'est pas miscible dans l'eau, elle vient donc se placer au-dessus de l'eau de distillation. On obtient donc dans l'essencier : l'huile essentielle de lavande papillon sur le dessus, l'hydrolat ou eau florale dessous.

Par un système d'entonnoir inversé, l'HE déborde dans le compartiment supérieur de l'essencier et l'hydrolat reste dans le compartiment inférieur. Le temps de la passade est réduit, pas notablement, mais passant en général de 3 heures, à 2 heures, 2 h 30.



**Figure 13 :** Procédé d'extraction des huiles essentielles par distillation et entraînement à la vapeur d'eau.

### I.2.1.1 La Conservation des huiles essentielles

L'huile essentielle obtenue a été conservée dans des flacons stériles, teintés (opaques), fermé hermétiquement, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur pendant toute la durée de notre travail, pour éviter d'éventuels phénomènes d'oxydation ou de contamination.

### I.2.2. Calcul du rendement

Selon la norme le rendement en pourcentage (R<sub>HE</sub>%) d'une plante est le rapport entre le poids de l'huile extraite (M<sub>HE</sub>) et la masse de la matière végétale utilisée sèche (M<sub>mv</sub>) (AFNOR, 2000).

Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE}\% = \frac{MHE}{Mmv} \times 100$$

### I.2.3. Caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle

Les différentes caractéristiques organoleptiques, ont été déterminés par l'examen sensoriel afin d'amener macroscopiquement l'aspect, la couleur ainsi que l'odeur.

### I.2.4. Évaluation de pouvoir antimicrobien (antibactérienne et antifongique)

L'évaluation des activités antibactériennes et antifongiques consiste à estimer l'inhibition de la croissance des germes soumis à l'action de l'HE de *Lavandulastoechas.L.* La méthode utilisée dans le test de l'Aromatogramme (Technique en milieu solide)

- **Méthode d'aromatogramme**

La technique utilisée est celle de la diffusion sur disque en milieu gélosé ou encore méthode des disques (**Dayal et Purohit, 1971**). C'est une méthode d'évaluation qualitative *in vitro* du pouvoir antibactérien d'extrait.

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HEs par diffusion dans la gélose. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, est généralisée aux HEs (**Tharib et al., 1983**).

Pour obtenir des résultats fiables, il faut travailler dans des conditions standardisées car plusieurs facteurs peuvent influencer les résultats: la densité de l'inoculum, la température le temps d'incubation, la concentration du produit à tester, la composition du milieu de culture ainsi que l'épaisseur de la gélose (**Guerin-Fauble et Carret, 1999**). L'étude du pouvoir antibactérien par cette technique est identique à celui de l'antibiogramme, la seule différence réside dans le remplacement des antibiotiques par des extraits aromatiques.

**Mode opératoire****❖ Préparation des dilutions des huiles essentielles :**

On prépare une solution mère composé de 50% HE et 50% de solvant organique Diméthyle Sulfoxyde (DMSO). Ensuite, à partir de la solution mère deux dilutions d'H.E de concentration différentes dans le DMSO ont été préparé: 1/2 ,1/4,1/8.

**❖ Préparation de préculture : Enrichissement**

Les tests antimicrobiens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de 18 à 24 heures. Le repiquage des souches est effectué par ensemencement de la souche microbienne dans un milieu liquide. Les germes utilisés ont été cultivés sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

**❖ Préparation de l'inoculum :**

A l'aide d'une pipette Pasteur, nous prélevons 2 à 3 colonies bien isolés et identiques à partir d'une culture pure de 24 heures d'incubation sur milieu d'isolement et nous les diluons par la suite dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Il faut noter que l'inoculum bactérie peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort et il doit être ensemencé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

**❖ Ensemencement :**

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé (MH pour les bactéries et le Sabouraud pour les champignons) en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose de haut en bas, en stries serrées à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min. Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes.(ANNEXE 03).

**❖ Dépôts des disques :**

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman de 9 mm de diamètre sont imbibés de l'H.E avec une concentration décroissante (de 100% à 12.5%) en mettant seulement en contact le bout du disque avec l'H.E. Celle-ci est absorbée progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque, ensuite ces disques sont déposés sur la surface gélosée à raison de trois disques par boîte. Les essais sont répétés trois fois, avec des témoins positifs (antibiotiques (Gentamicine 2.5mg/1ml) et antifongiques (Métronidazole 5mg/1ml) dilués dans l'eau distillée stérile et un en utilisant aussi un contrôle négatifs (DMSO : Diméthylsulfoxyde; solvants de dilutions). Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé.

**❖ Incubation**

Les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries, 25°C pendant 48 heures pour les levures (*Candida albicans*) et pendant 4 à 5 jours pour les moisissures (*A.braziliensis*).

**❖ Lecture :**

Après l'incubation Les souches microbiennes croissent sur toute la surface de la gélose, sauf là où elles rencontrent une concentration d'HE suffisante qui inhibe leur croissance. À la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo d'inhibition autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètres et enregistrée en tant que moyenne  $\pm$  Erreur standard. Chaque essaie est répété trois fois. (ANNEXE 04)

Selon **Ponce et al. (2003)**, la sensibilité des souches vis-à-vis des H.Es est déterminée comme suite :

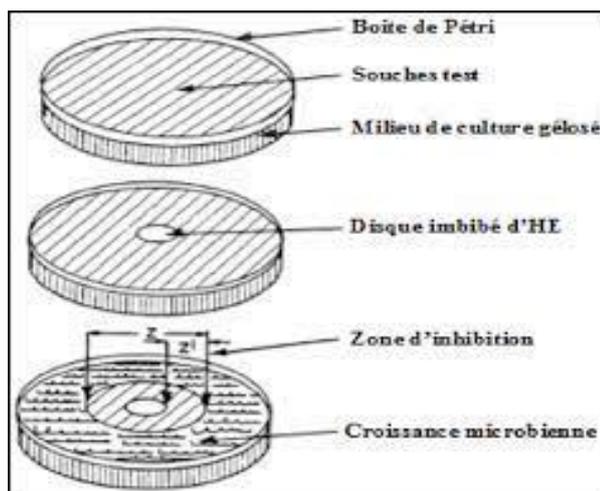
**Tableau04** : Transcription des valeurs des diamètres d’inhibition

<b>SENSIBILITE</b>	<b>TRANSCRIPTION</b>	<b>ZONE D’INHIBITION mm</b>
Non sensible ou résistante	(-)	<À 8 mm
Sensible	(+)	Entre 9 mm et 14 mm
Très sensible	(++)	Entre 15 mm et 19 mm
Extrêmement sensible	(+++)	> à 20 mm

La lecture résultats consiste à observer :

- La présence d’une zone claire autour du disque : Présence d’une activité inhibitrice.
- L’absence d’une zone claire autour du disque : Absence d’une activité inhibitrice.

Toute cette manipulation doit être réalisée dans un endroit stérile et près de bec Bunsen pour éviter les contaminations



**Figure 14** : Illustration de la méthode de l’aromatogramme (Amara et al., 2017)

**I.2.5.Evaluation de pouvoir antioxydant par la méthode de piégeage du DPPH**

Dans notre étude, l’activité antioxydante des huiles essentielles est évaluée par le test de la réduction du radical libre du DPPH.

## I.2.5.1. Test de réduction du 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 (Bouguerra, 2012) (Figure 14)

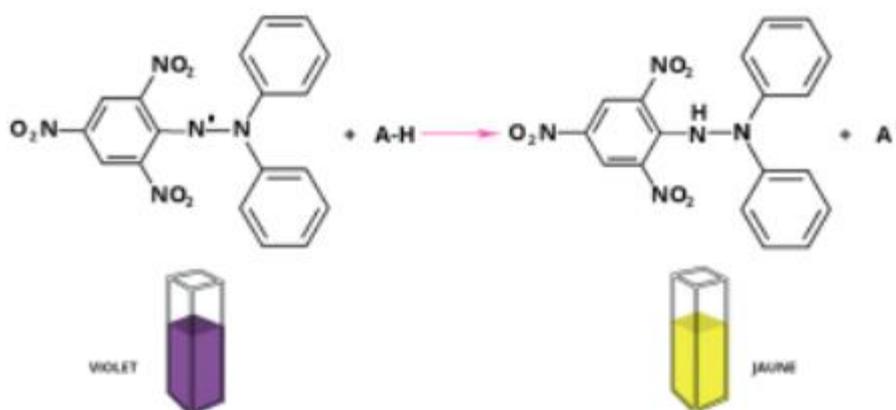


Figure 15 : Réaction de test DPPH (Congo 2012).

## Principe

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. Elle fournit donc un moyen pratique de mesurer l'activité antioxydante de notre huile essentielle. (Bouguerra, 2012 ; Nabil, 2011) lorsqu'on ajoute un antioxydant au DPPH, la réaction sera comme suit :

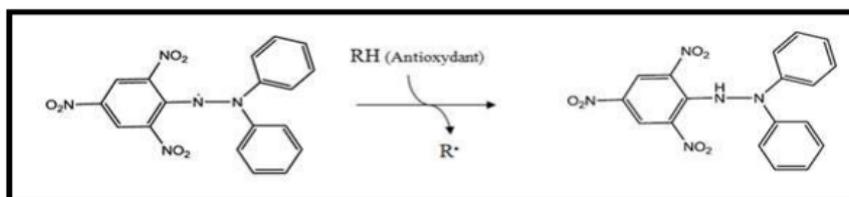


Figure 16 : Réaction du DPPH• avec un antioxydant

## Mode opératoire

### ❖ Préparation de la solution méthanolique à DPPH :

La solution mère de DPPH a été préparée dans un flacon où 4 mg de DPPH a été mélangé avec 100 ml de Méthanol = Solution méthanolique de DPPH à 0,004% = Solution mère.

### ❖ Préparation des solutions méthanoliques (différentes concentrations) à huiles essentielles : (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml)

50 µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydant pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

### I.2.5.2. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :

Selon **Sharififar et al.** L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A_{blanc} - A_{échantillon}}{A_{blanc}}$$

Avec :

**A blanc** : Absorbance du blanc (méthanol).

**A échantillon** : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50 %.

### II .1. Rendement des huiles essentielles

L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de la partie aérienne fleurie de la lavande récoltée à Bouira donné un rendement de 0.50%. Ce rendement est similaire aux résultats obtenus par certains auteurs

**Benabdelkader, (2012)** en travaillant sur l'espèce récoltée à Bouira a constaté l'existence d'une variabilité importante de rendements, s'étendant de 0.52 % à 1.63 %, Il a également noté que les meilleurs rendements (1.14 - 1.63 %) ont été obtenus sur les populations situées dans la région nord-centre d'Algérie pas loin d'Alger la capitale (wilaya de Bouira, Blida et Boumerdes).

Les travaux réalisés sur des échantillons de la même espèce récoltée dans d'autres régions d'Algérie (Tizi-Ouzou, Oum el-Alou, Zarifet et Tlemcen) ont montré que les rendements varient entre 0,16-2,00% (**Menaceur, 2011 ; Mohammedi, 2006**). selon **Lis-Balchin, (2002)** *L. stoechas* présente un rendement de 0.3 à 0.8%.

Une autre étude menée par **Bachiri et al., (2016)** sur *L. stoechas* L originaire du Maroc, indique un rendement plus important (2,5 %), de même, on constate une différence de rendement par rapport aux autres espèces du même genre telles que *L. angustifolia* et *L. intermedia* ( 2,70% et 8,70% respectivement)(**Maria, 2002**).

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs : l'organe de la plante (**Vekiari et Protopapadakis, 2002**) notamment le degré de maturité des fleurs, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le génotype, l'origine géographique de la plante, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Svoboda et Hampson, 1999 ; Smallfield, 2001**), la date de récolte et la méthode d'extraction (**Botton, 1990**), et le genre d'espèce.

D'après l'ensemble de ces données, il semble que notre huile essentielle se caractérise par un rendement plus ou moins faible et proche de celui obtenue par **Benabdelkader, (2012)** (0,52%).

### II.2 Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les paramètres organoleptiques de l'huile essentielle (aspect, couleur, odeur) sont montrés dans le tableau suivant :

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 05** : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de *Lstoechas*L.

Caractéristiques organoleptiques	Huile essentielle étudiée	Benabelkaderet al 2011	AFNOR 2000
Aspect	Liquide, mobile, Limpide	Liquide mobile, Limpide	Liquide, mobile, limpide
Couleur	 Jaune pâle	Jaune foncé	Jaune pâle
Odeur	Très forte caractéristique de l'espèce et persistante	Très forte et Persistante	Caractéristique

Nos huiles essentielles sont conformes aux normes **AFNOR (2000)** et aux résultats de **Benabelkaderet al 2011**

### II.3 Evaluation de l'activité antimicrobienne

Afin de tester l'effet du DMSO sur les souches microbiennes, une culture témoin a été réalisée. Les résultats auxquels nous avons abouties font apparaitre que le DMSO n'a aucune activité antibactérienne ou antifongique dont les zones d'inhibition sont totalement absentes.

#### II.3.1 Activité antibactérienne

Les résultats de l'étude de l'activité antibactérienne contre les souches à Gram- et Gram+ sont regroupés dans le tableau suivant et l'**Annexe05** .

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 06** : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition en (mm) de l'HE de *L. stoechas* L contre les souches bactériennes à Gram- et Gram+

[C] des H. E Les souches bactériennes	Témoin + (GEN)	100%	50% (D2)	25% (D3)	12,5% (D4)
Les Gram -					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30,66±0,33	6,66±3,52	13,66±0,33	6,66±4,05	0±0
<i>Escherichia coli</i>	29±0,57	20±1,15	20,66±0,33	20,33±0,66	20,66±0,33
Les Gram +					
<i>Staphylococcus aureus</i>	36,66±0,88	29,66±0,33	31,66±0,88	32,66±0,33	31,66±0,33
<i>Bacillus ceureus</i>	29,5±0,50	22,5±0,50	25,5±0,50	20±1	15±0

[C] : concentration ; (D) : dilution ; (GEN) : Gentamicine

Conformément aux résultats illustrés dans le **tableau (06)** la bactérie *E-Coli* présente une sensibilité non négligeable à l'huile essentielle de *L papillon* pure, même diluée avec des diamètres de zone d'inhibition (ZI) qui varie entre 20mm±1,15 et 20,66 mm ±0,33. La souche *P. aeruginosa* montre une résistance à notre H.E soit pure ou diluée présentant des diamètres de ZI de 6,66±3,52 mm pour l'HE pure et 6,66 ±4,05 mm pour la D3. Alors que pour la D4 (la plus faible concentration) on n'observe aucune inhibition contre la bactérie. En revanche, une faible zone d'inhibition a été signalée uniquement pour la concentration (D2) montrant une ZI de 13,66±0,33 mm. En comparant leur activité à celle de l'antibiotique Gentamicine utilisé comme contrôle positif, les souches bactériennes, *E-Coli* et *P. aeruginosa*, sont assez sensibles avec des diamètres des ZI de 29 ± 0,57 mm et 30,66±0,33 mm respectivement.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* le même diamètre d'inhibition (6 mm) a été enregistré par **Rahma et Fairouz (2017)**. Des ZI plus importantes ont été notées par certains auteurs : 13mm (**Mammar, 2015**), 15,67 mm (**Baali et al, 2019**) et (25mm) (**Amara et al, 2017**).

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

---

L'HE de *L.stoechas* L, à l'état dilué et à l'état pur, a montré une inhibition importante sur la croissance des bactéries testées à Gram+ (**Tableau06**).

Il est bien évident que *S.aureus* et *B.ceureus* sont extrêmement sensibles (+++) à notre HE. Cependant *Staphylococcus aureus* apparaît plus sensible montrant des diamètres d'inhibitions variant entre  $29,66 \pm 0,33$  mm à  $32,66 \pm 0,33$  mm pour l'HE pure et diluée. Les diamètres des ZI de la souche *Bcillus* ne dépassent pas, dans les meilleurs des cas, une valeur de  $25.5 \pm 0.50$  mm ( $25.5 \pm 0.50$  mm,  $20 \pm 1$  mm,  $15 \pm 0$  mm et  $22.5 \pm 0.50$  mm) pour (D1, D2, D3 et HE pure) respectivement. Ces diamètres sont proches ou inférieure à ceux des zones d'ATB Gentamicine ( $36.66 \pm 0.88$  mm pour *S.aureus* ;  $29.5 \pm 0.50$  mm pour *B.ceureus*).

Les résultats obtenus montrent l'existence d'un fort pouvoir antibactérien contre les souches testées. Certains auteurs ont obtenu des diamètres plus importants ; **Amara et al, (2017)** des (60mm), (**Rahma et Fairouz., (2017)**) ;(57.7mm). Cependant, d'autres auteurs ont obtenus des diamètres plus faibles contre la souche *Bacillus subtilis* : 18mm (**Ahmet et al, 2002**) ,10mm (**Baali et al, 2019**), et (7mm) (**Ökmen, 2017**). Selon d'autres travaux la souche *Staphylococcus aureus* a été inhibée totalement avec de diamètre d'inhibition très importants (80mm) (**Amara et al, 2017**).

Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les huiles de la plante étudiée sont efficaces dans l'inhibition du développement bactérienne soit Gram+ ou Gram-. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (**Benabdelkader, 2012**) qui ont confirmé aussi la sensibilité des souches bactériennes aux HEs de *L. stoechas* L. D'autres travaux indiquant que les HE de populations non-algériennes de cette espèce possèdent également des activités antiseptiques. (**Bouzouita et al, 2005**) il a été rapporté que l'huile volatile de plantes de la lavande en provenance de Tunisie a une activité antibactérienne envers *S. aureus*. De même, des activités antibactériennes ont été signalées pour l'HEs de la lavande papillon sauvage de Turquie (**Görenetal., 2002 ; Dadalioğlu et Evrendilek, 2004**), ou à partir de plantes cultivées en Australie (**Moon et al, 2007**).

On note également que l'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration d'HE. Plus l'HE est concentrée, plus la zone d'inhibition est étendue. Il est à noter cependant que les dilutions sont plus efficaces vis-à-vis la souche *P.Aeruginosa*(D3).

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

---

Il est aussi à signaler que les souches du genre *Pseudomonas* se sont avérées plus résistantes à l'H.E. Cette résistance n'est pas surprenante. Ceci a été confirmé par plusieurs études antérieures. (**Hammer et al, 1999 ; Dorman et Deans, 2000**).

L'activité antibactérienne est due essentiellement à la présence des molécules antibactérienne, il est bien connu que cette activité des HEs de *L. stoechas* L. réside généralement dans les monoterpènes (spécialement oxygénés) plutôt que dans les sesquiterpènes (**Burt, 2004 ;Tajkarimi et al, 2010**). Cependant, cette huile est formée d'une grande proportion de composés sesquiterpéniques (63,99%) et seulement de 18,62% de composés monoterpéniques(**Cherrat, 2013**), cependant elle exprime des activités antimicrobiennes intéressantes spécialement vis-à-vis les souches Gram+ similairement à d'autres HEs riches en sesquiterpènes (**Demerci et al., 2008 ; Maxia et al., 2009**).

**Delaquis et al. (2002)** ont estimé aussi que des composés mineurs présents à l'état de trace, tels que le linalol, l'aldéhyde de cinnamyl, le carvacrol, le géraniol, le myrténal et l'eugénol sont connus pour avoir une activité antibactérienne. De ce fait, le pouvoir antimicrobien de l'essence de la lavande pourra être relié, sans doute, à son profil biochimique caractérisé par la prédominance des composés oxygénés (90%) (**Cavanagh& Wilkinson, 2002**) .

Ces composés des HEs agissent selon plusieurs mécanismes. Leur premier site d'action sur les cellules bactériennes est la membrane plasmique. Les composés phénoliques sont reconnus toxiques et auraient pour cible les enveloppes des microorganismes telles que la membrane plasmique et la paroi (**Weber and de Bont, 1996**).

A des concentrations relativement faibles, les monoterpénols, grâce à leur groupement hydroxyle et à leur cycle ouvert pour certains, agissent sur les enzymes impliquées dans la respiration cellulaire et modifient la perméabilité membranaire par action directe sur les porines et les phospholipides membranaires des procaryotes. A de fortes concentrations, ils provoquent une perte totale de l'homéostasie, ce qui entraîne la destruction des membranes cellulaires (**Carson et Hammer, 2002**). En plus, la cible des molécules antibactériennes desHEs serait probablement l'ADN bactérien. Leur action sur l'ADN serait favorisée par leur bonne diffusion à travers les membranes bactériennes (**Guessennd et Kacou-N'douba, 2008**). Compte tenu de la diversité moléculaire des HEs, il semble plus probable

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

que leur activité antimicrobienne résulte de l'association de plusieurs mécanismes qui s'exercent conjointement sur différentes cibles cellulaires (**Burt, 2004**).

Selon **Kalemba et Kunicka (2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de l'HE et de microorganisme lui-même. Nous avons remarqué qu'il existe une certaine différence de sensibilité entre les bactéries à Gram+ et à Gram-. Ceci est en totale adéquation avec la majorité des travaux antérieurs, (**Nikaido et al,1996 ; Tepe et al,2005 ; Gilles et al,2010**) confirment que les Gram+ sont plus sensibles à l'action antimicrobienne de l'HE que les Gram-. Selon ces auteurs la grande résistance des bactéries Gram- aux agents biocides est liée à la nature de leur paroi bactérienne qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des bactéries Gram+.

**II.3.2 Etude de l'activité antifongique :** Les résultats de l'étude de l'activité antifongiques sont regroupés dans le tableau suivant et l'**Annexe 06** :

**Tableau 07 :** Moyennes des diamètres d'inhibition en (mm) de l'huile essentielle de *Lstoechas* L contre les souches fongiques étudiées.

[C] des H.E Les souches fongiques	Témoin + (MET)	100%	50% (D2)	25% (D3)	12,5% (D4)
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	27,66±5,04	37,33±7,05	23,66±2,96	16±3	15±1,52
<i>Candida albicans</i>	0	43,5±3,50	27±8	18,5±4,50	16±3

[C] : concentration ; (D) : dilution ; (MET) : Métronidazole

A la lecture des résultats montrés dans le (**Tableau 07**) il apparaît clairement que Les champignons et les levures sont plus sensibles à l'H.E comparativement aux résultats obtenus pour les bactéries. A la plus faible dose, *A. Brasiliensis* et *C. Albicans*, sont très sensibles(++) à l'action de l'HE avec des diamètres de ZI égale à 15±1.52 ; 16±3mm respectivement. D'autre part, des valeurs d'inhibition élevées (37.33±7.05 mm et 43.5±3.50mm) ont été enregistré pour l'HE pur chez *A. Brasiliensis* et *C. Albicans* respectivement et même à l'état dilué les souches ont fait preuve

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

---

d'une sensibilité significative en fonction du diamètre d'inhibition observé qui varie entre 23.66±2.96 mm et 27±8 mm pour la D2 respectivement, 16± 3 et 18.5± 4.50mm pour la D3 chez *A. Brasiliensis* et *C Albicans*.

Par ailleurs, l'HE de lavande a présenté une action inhibitrice supérieure à celle d'ATB Métronidazole, (une solution antifongique pris comme contrôle positif). Le diamètre de ZI des ATB ne dépasse pas, dans les meilleurs des cas, 30mm chez *A brasiliensis* et aucune zone d'inhibition n'a été détectée chez *Candida albicans*. Toutefois, la comparaison quantitative des résultats des HE et des ATB est difficile, car la nature de l'activité et la composition des molécules ne sont pas comparables. Contrairement aux HE, mélanges complexes de composés très volatils qui s'évaporent mais aussi diffusent dans la gélose à des vitesses différentes, les ATB sont de grosses molécules non volatiles. Leur diffusion a lieu vraisemblablement en surface et/ou en volume dans la masse de la gélose.

Beaucoup de chercheurs ont confirmé la présence de l'activité antifongique des métabolites terpéniques des lavandes. (**Lis-Balchin, 2002 ; Zuzarte et al., 2013**). Le mécanisme d'action des extraits aromatiques sur les souches fongiques n'a pas été totalement élucidé. Cependant, certaines études soulignent que l'action antifongique de ces substances terpéniques est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci, entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure (**Cox et al, 2000**).

En général, la variabilité des résultats est probablement due à l'influence de plusieurs facteurs tels que la méthodologie, les microorganismes testés et les HEs utilisées (**Pattnaik et al., 1996**). Ceci est confirmé par **Suhar et Nielsen (2003)** qui mentionnent que l'effet antifongique des huiles dépend de la méthode d'application, de grands composés tels que le thymol et l'eugéol (thym, cinnamoun et clou de girofle), appliqué directement au milieu, ont eu un meilleur effet, tandis que les plus petits composés tels que allylthiocyanate et citral étaient les plus efficaces par évaporation.

**Chu et kemper (2001)** signalent que le pouvoir antifongique des HEs de *L. stoechas* est lié aux :  $\beta$ -pinène, p-cimène, 1,8 cinéole et  $\alpha$ -pinène

**Deba et al. (2008) et Giordani et al. (2008)** ont conclu que les composés majoritaires ou mineurs peuvent augmenter l'activité antifongique, l'effet synergique ou antagoniste de ces composants joue un rôle important dans l'inhibition des champignons.

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

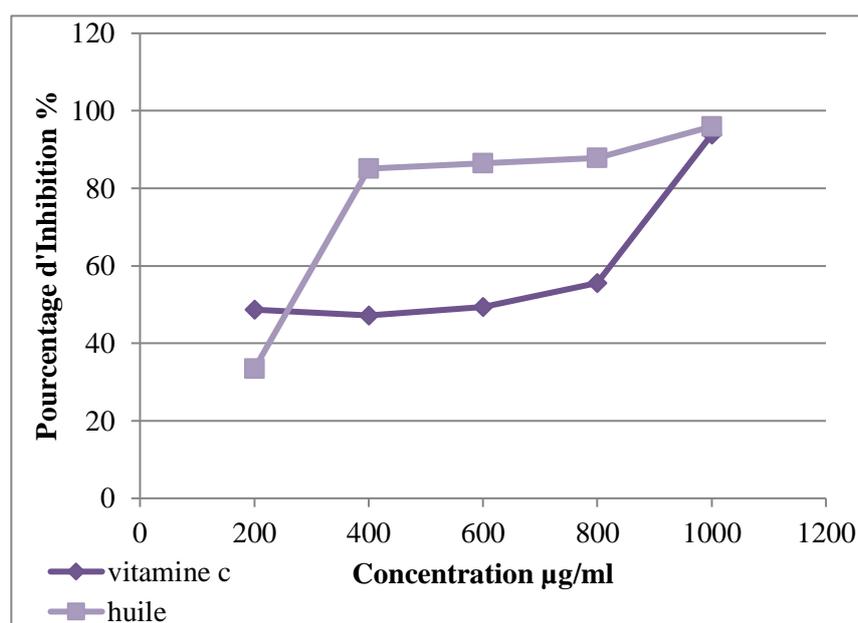
Par ailleurs, les souches fongiques demeurent les plus sensibles à l'action inhibitrice de l'HE in vitro. A noter aussi que ce pouvoir antifongique de l'HE de lavande est largement supérieur à celui de Métronidazole. Ces résultats, très encourageants, laissent entrevoir la possibilité d'une éventuelle utilisation de la fraction aromatique de cette lavande espèce comme alternative aux antifongiques de synthèse, non dénués de nombreux effets indésirables.

### II.4 Evaluation de l'activité antioxydant

#### II.4.1 Détermination du pourcentage d'inhibition

Presque 90% des études sur l'activité antioxydant (AA) utilisent la méthode du DPPH (Kulisic et al. 2004 ; Moon et Shibamoto, 2009). Cette méthode est simple et rapide (Koleva et al., 2002) mais fortement sensible (Moon et Shibamoto, 2009).

A partir des valeurs obtenues de l'Abs (ou DO), les pourcentages d'inhibitions (PI) des HES et l'antioxydant standard (acide ascorbique) ont été calculés. Les résultats de ce test ont permis de tracer la courbe montrée dans la figure (16).



**Figure 17** : Activité anti-radicalaire au DPPH de Vitamine C et d'HEs de *L. stoechas*L

Les courbes de DPPH montrent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'HE. On constate que la capacité de réduction de l'HE la plus élevée correspond à une concentration

## CHAPITRE II RESULTATS ET DISCUSSION

de 1000µg/ml avec un pourcentage d'inhibition de 95.94%, tandis que la faible activité a été notée à une valeur de 33.38% pour la concentration de 200 µg/ml comparativement aux valeurs obtenus par l'antioxydant standard, ( l'acide ascorbique ) dont la capacité antioxydant demeure plus élevée (93.82% à 1000 µg/ml). Ces résultats montrent que l'HE de *L. stoechas* présente des effets bénéfiques contre le stress oxydant

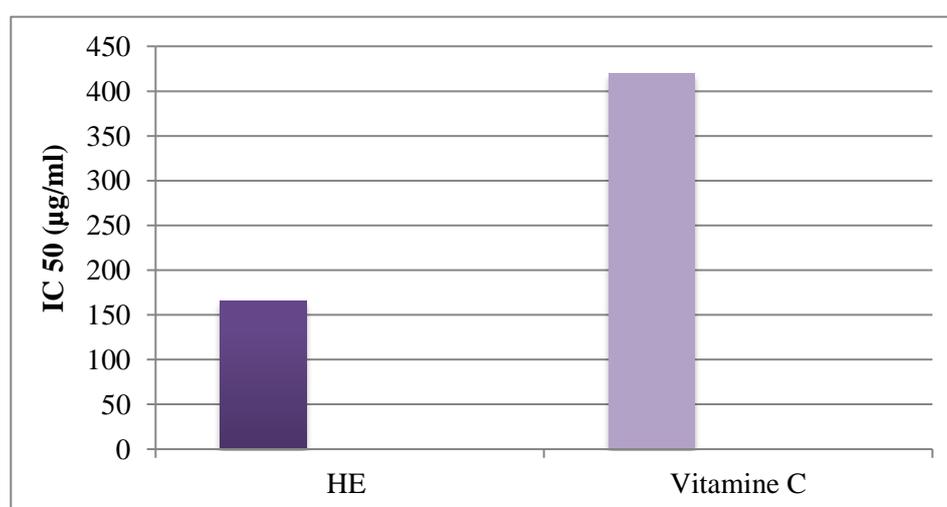
Certains auteurs ont découvert que plusieurs composés présents dans les huiles essentielles de *L. Stoechas* sont connus pour posséder des activités antioxydants. Ceux-ci comprennent l'eugénol, le carvacrol, le thymol, le terpinolène,  $\alpha$ -terpinène, -terpinène et terpinène-4-ol. Les travaux de **Ökmen(2017)**, ont rapporté que l'HE de *L. stoechas* est composée de camphre (35 %) et contenant de l'oxygène monoterpènes (87%). Aussi Cette activité peut être attribuée à la présence de sesquiterpènes oxygénés (**Cherrat et al., 2014**)

### II.4.2 Détermination de la valeur d'IC<sub>50</sub>

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC<sub>50</sub>, qui correspond à la concentration d'HEs, ou d'acide ascorbique nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC<sub>50</sub> est faible plus l'activité antioxydant du composé est importante. Les résultats des propriétés antioxydants des HEs de la plante étudiée et de la vita C sont présentés dans le tableau suivant et (**figure 17**).

**Tableau 08:** Valeurs de l'IC<sub>50</sub> en µg /ml

Substance chimique	IC <sub>50</sub>
HE de <i>L.stoechas</i> L	165.79
Vita C	419.16



**Figure 18 :** Valeurs d'IC<sub>50</sub> en µg/ml des HEs de *L. stoechas* L

Les résultats consignés dans le tableau (08) révèlent que *L.stoechas* L possède une bonne activité antiradicalaire avec une concentration d'inhibition médiane IC<sub>50</sub> de 165,75 µg/ml en parallèle demeure supérieur en comparant avec la valeur de l'acide ascorbique (419,16 µg/ml).

Les valeurs d'IC<sub>50</sub> indiquent que l'HE de *Lstoechas* L. est plus active que celle de la vitaC. Ce résultat est meilleur que celui obtenu par **Zohra et al (2011)** qui ont montré que l'huile de cette plante possède une activité antioxydant avec une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à 1.85 mg/ml. **Abbou et Benabida, (2017)** qui a travaillé sur les HEs de *L. stoechas* L, et a révèle des valeurs d'IC<sub>50</sub> de 1,85 mg/ml.

L'AA des HEs peut être attribuée à divers mécanismes, de nombreuses études ont montré que les activités biologiques des HEs sont liées à leur composition chimique telle que les composés majoritaires. Cependant ce n'est pas uniquement ces dernières qui sont responsables de cette activité, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Sidi Boulouar et Ziane, 2003**). Néanmoins, des substances supplémentaires, même à l'état de trace, participent à cette activité, ainsi, la présence de carvacrol même à faible concentration dans les HEs peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH (**Economou et Venskutonis, 1991**).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

Dans le présent travail, nous avons tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique *Lavandula stoechas* L. utilisée en médecine traditionnelle pour son vertu thérapeutique. Dans ce contexte, notre étude consiste à évaluer in vitro des activités antioxydantes et antibactériennes d'huile essentielle extraite de cette plante.

L'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau de la partie aérienne de la plante a permis de fournir un rendement de 0,5%. Ce rendement est plus ou moins faible par rapport à d'autres travaux similaires.

Concernant l'activité antioxydante, les résultats montrent que l'huile essentielle de la Lavande possède un pouvoir antioxydant plus efficace que l'acide ascorbique où l'IC50 = 165.79 µg/ml et 419.16 µg/ml respectivement.

Concernant l'activité antibactérienne, la méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *L. stoechas* vis-à-vis quatre souches bactériennes. Ce pouvoir est relativement fort, exception faite pour la souche *P. aeruginosa* qui est résistante. Par ailleurs, les souches fongiques demeurent les plus sensibles à l'action inhibitrice de l'HE in vitro.

Nos résultats indiquent que l'huile essentielle de la plante étudiée 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.

Comme perspectives, On recommande de faire un screening total de la plante et d'étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et autres.

Il nous paraît utile de tester les molécules actives de cette plante sur une large gamme de micro-organismes, en particulier des germes multirésistants aux antibiotiques

Il serait intéressant aussi d'utiliser l'huile essentielle de la lavande à toupet comme principe actif, dans des préparations galéniques à visée thérapeutique, ou pour lutter contre les infections microbienne et fongique. Ces résultats obtenus in vitro sont très encourageants pour une éventuelle application in vivo, voire même dans une matrice alimentaire.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## A

- AFNOR. 1996 :** Huiles essentielles, recueil de normes françaises. AFNOR, Paris La Défense, France.
- AFNOR. (2000) :** Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2). Paris.
- Agrimer F, 2013.** Établissement national des produits de l'agriculture et de la mer Conseil spécialisé des plantes à parfum aromatiques et médicinales (PPAM)focus plante : cas du safran, pp15
- Ahmet C., G., Gülaçti, T., Gökhan, B., Mine, B., Zeynep, A., John M, P. (2002).** The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. Materials and Chemical Technologies Research, 797-800.
- Amara, N., Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kaibouche, N., Laissaoui, O., Boufridi, A. (2017).** Applications potentielles de l'huile essentielle de lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.) comme conservateur alimentaire naturel. Phytothérapie. 1-9
- Aouni M, Pelen F. et Soulimani R. (2013).** Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie, 11, 225 – 236
- Asimgil A. (1997):** Sifali Bitkiler. İstanbul Tımas Yayınları. pp. 147–148.

## B

- Baali, F., Boumerfeg, S., Napoli, E., Boudjelal, A., Righi, N., Deghima, A., Baghiani, A., Ruberto, G. (2019).** Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from Two Wild Algerian Medicinal Plants : *Mentha pulegium* L. and *Lavandula stoechas* L. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 22(3) : 821–837.
- Bachiri Lamiae., Echchegadda Ghizlane., Ibjibijen Jamal., Nassiri Laila. 2016 :** Etude Phytochimique et Activité Antibactérienne de deux Espèces de Lavande autochtones au Maroc : « *Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L. ». European Scientific Journal edition vol.12, No.30.org/10.19044/esj.2016.v12n30p313
- Bakkalia F.,Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. 2008.** Biological effects of essential oils Areview. Food and Chemical Toxicology 46 : pp.446-475.
- Balouiri Mounyr., 2011 :** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques–Taounate. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté des Sciences et Techniques–Fès.
- Barbier E. 1963 :** LES LAVANDES ET L'APICULTURE DANS LE SUD-EST DE LA FRANCE. Les Annales de l'Abeille. INRA Editions, 6 (2). pp.85-159.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Basil A., Jimenez-carmonna M M, Clifford A A.** 1998. Extraction of rosemary by superheated water. *Journal of foodchemistry*, 5205-5209 p.

**Battandier J.A., 1888.** Flore de l'Algérie, ancienne flore d'Alger transformée, Dicotylédones. Edition Adolphe Jourdan. Alger. P 666.

**Baytop T., 1999 :** Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). Istanbul : Publications of the Istanbul University. No. 3255 (2nd ed., pp. 244–245).

**Beloued A. 2005 :** Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications udniversitaires. p. 20-150

**Benabdelkader Tarek. 2012 :** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. *Biologie végétale*. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Français, France ; Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, Algérie

**Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., Kameli, A. (2011).** Essential Oils from Wild Populations of Algerian *Lavandula stoechas* L. : Composition, Chemical Variability, and in vitro Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity*, 8(5), 937±953. doi :10.1002/cbdv.201000301.

**Benjlali B, Tantaoui E.A. et Esmaili-alaoui M. (1986).** Méthodes d'études des propriétés des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 20, 155-167.

**Besombes C., 2008 :** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. *Application généralisée. Thèse de doctorat.*

**Botineau M. 2010 :** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Ed TEC & DOC, Lavoisier, Paris. 1021-1043p.

**Botton B., Bertron A., Fevere M., Gauthier S., Guph D., Plarpent J., Reymond P., Sanglier J.J., Vaysser Y., Veau S. 1990 :** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. Ed : Masson collection biotechnologies., Paris.

**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,

**Bouhdid S. 2009 :** Activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles. Application biotechnologique pour l'amélioration de la qualité des boyaux naturels. Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des Sciences de Tétouan. Maroc.

**Bouzouita N, Kachouri F., Hamdi M. and Chaabounr M.M. 2005 :** Volatile constituents and antimicrobial activity of *Lavandula stoechas* L. oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, 17, 584-586.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Bruneton J. 1993** : Eléments de phytochimie et de pharmacologie. 2<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, Paris, pp : 405-426.

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

**Burt S.A. 2004**: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. International Journal of Food Microbiology. 94 : 223-253.

## C

**Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000)**. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88 (1), 170-175.

**Carson C. F. et Hammer K.A. 2006** : *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. Clin. Microbiol. Rev. 19, 50-62.

**Carneiro A.I.B., Teixeira M.F.S., Oliveira V.M.A.D., Fernandes O.C.C., Cauper G.S.D.B. et Pohlit A.M. 2008**. Screening of Amazonian plants from the Adolpho Ducke forest reserve, Manaus, state of Amazonas, Brazil, for antimicrobial activity, Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 103(1), 31-38.

**Cavanagh, H. M. A., & Wilkinson, J. M. (2002)**. Biological activities of lavender essential oil.

**Chambon L. 1984** : La menthe : Etude génétique et recherche des critères de sélection : Mémoire de D.E.A. Université Claud Bernard- Lyon.

**Cherrat Lamia. 2013** : Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des sciences et techniques- Tanger.

**Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Pagán, R., Laglaoui, A. (2014)**. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium* *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 22 : 221–229.

**Chu C. J. et Kemper K. J. 2001** : Lavender (*Lavandula* spp.). Longwood Herbal Task. Force. 32 p.

**Couderc-Le-Vaillant M., Segur-Fantino N. et al. 1990**. Etude phytodermatologique de *Lavandula angustifolia* Mill. Revue Cytologie Biologie Végétale et Botanique. Volume 13 : 75–88.

## D

**Dadalioglu I. and Evrendilek G. A. 2004** : Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. J. Agr. Food Chem. 52(26), 8255-8260

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Dapkevicius A., Venskutonis R., Van Beek T A., Linssen J P H.** 1998. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *Journal of Science Food and Agriculture*, pp140-146.

**De feo V., De Simone F. and Senatore F.** 2002 : Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, 61, 573-578.

**Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G.** 2002: Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74:101-109.

Deba F., Xuan Trang Dang., Yasuda Masaaki. And Tawata Skinkichi. 2008 : Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*, 19 : 346-352.

**Demirci F., Guven K., Demirci B., Dadandi M.Y. and Baser K.H.C.** 2008 : Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. *Food Control*, 19, 1159-1164.

**Dob T., Dahmane D., Agli M., Chelghoum C.** 2006. Essential oil composition of *Lavandula stoechas* from Algeria. *Pharmaceutical Biology*. 44(1) : 60-64.

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

### E

**Economou L et Venskutonis R.** 1991 : Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs. *J. Sci. Food Agr.* 77, 140-146.

**El kalamouni Chaker.** Le 13 décembre 2010 : Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, thèse de Doctorat. Toulouse. France.

**Esiyok D.** 2004: Herbs as a Food Source in Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. N° 5, p. 334-339.

### F

**Ferreres .F., Barberan .F. A. T. et Tomas. F.** (1986). Flavonoids From *Lavandula dentata*. *Phytotherapia*. 57 : 199-200.

**Festy D. et Dupin C.,** 2012, La lavande, c'est malin : Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur, pour la beauté, la santé, la maison, Ed. Leduc's.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Fouad M. 2015.** Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèses de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach. Alger, 4

**Franchomme P et Penoel D. 1990 :** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.

### G

**Ghenaïet, I., & Saoussen, A. (2016).** Etude de l'impact des huiles essentielles d'Eucalyptus globulus sur *Rhizopertha dominica* : Aspect toxicologique et biomarqueur Ghenaïet Mémoire de Master. Université de Larbi Tébessi. 61

**Gilles, M., Zhao, J., An, M., & Agboola, S. (2010).** Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian Eucalyptus species. *Food Chemistry*, 119(2), 731-737. Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. 2008 : Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79 : pp199-203.

**Giray E. S et Kirici S. 2008 :** Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta* 74, 930-935.

**Gontard, M. (1940).** La culture de la lavande en France. *Les Études rhodaniennes*, 16 (1), 43-60.

**González-Coloma, A., Martín-Benito, D., Mohamed, N., García-Vallejo, M. C., & Soria, A. C. (2006).** Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(8), 609-616.

**Gören A.C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z et Pezzuto J.M.Z., 2002 :** The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Z.Naturforsch.* 57c 797-800.

**Guba R. 2001:** Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.* 11 : 76-83

**Guessennd N., Kacou-N'douba A. 2008 :** Prévalence et profil de résistance des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargie (BLSE) à Abidjan Côte d'Ivoire de 2005 à 2006. *J. Sci. Pharm. Biol.* 9(1), 63-70.

**Guyot-Declerck, C., Renson, S., Bouseta, A. and Collin, S. (2002).** Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* x *latifolia* honeys. *Food Chemistry*.

### H

**Hadi M. 2004 :** La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. Domaine : Pharmacochimie. 115p

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**HAMMER K.A., CARSON C.F. & RILEY T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 985- 990.

**Haussein M.H. 2000 :** A review of beekeeping in Arab countries, *Bee World* 81,56\_71

**Herrera, 1997.**The role of colored accessory bracts in the reproductive biology of *lavandula stoechas*.*The Ecological Society of America .Volume78(2): 494-504*

**Homburger F., Boger E. 1968:** The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res.* 28, 2372-2374.

**Hussain A. 2004.** Characterization and biological activities of essential oils of some species of lamiaceae  
Thèses de Doctorat. Université d'agriculture Faisalabad. Pakistan

## J

**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.

**Jullien J – DGAL. Juillet., 2016 :** Guide de reconnaissance Plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp. *Multiplex* en France, Surveillance biologique du territoire (SBT) dans le domaine végétal, Symptôme d'une infection de *Xylella fastidiosa* subsp. *Multiplex* sur *Polygala myrtifolia* – 1ère édition

## K

**Kalemba D. and Kunicka A. 2003 :** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* 10, 813-829.

**Kezzouna Radja. Juin 2015 :** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea*. L. Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, Faculté des Sciences et de la technologie. Département : Chimie Industrielle. Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master en : Génie des Procédés. Option : Génie Chimique.

**Khavarpour,M ., Vahdatb,S.M , Kazemi,S., Moghadamnia,A.A., Hasanzadeh,O., Salimi,Z., Rahmanpour,N. (2019).** Chemical Composition, Antibacterial and Analgesic Activity of *Lavandula stoechas* Flowers from North of Iran. *International Journal of Engineering*, 32(8). 1065-1073

**Kim, N. S. and Lee, D. S. (2002).** Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatography.* 98: pp .31-47.

**Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K. H. C., Demirci, F. (2009).** Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Lavandula Stoechas* L. Ssp. *Stoechas* Growing Wild in Turkey. *Natural Product Communications*, 4(7):1001 – 1006.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Koechlin-ramonatxo, C. (2006).** Oxygene, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutr Clin Metabol* 20, 165-177.

**Krippeit-Drews P., Lang F., Haussinger D et Drews G. 1994 :** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch.* 426, 552-554

## L

**Lawrence, B. M. (1992).** Chemical components of Labiatae oils and their exploitation. *Advances in Labiatae science*, 399-436.

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

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

**Lis-balchin M., 2002.** Lavender, the genus *Lavadula*. Edition London & New York : Taylor and Francis. 268

## M

**Maganga A. 2004 :** Influence of Variety and Organic Cultural Prctices on Yield and Essential Oil Content of Lavander and Rosemary in Interior BC. (STOPA). *Ecorational Technologies*. Kamloop. BC. 23p.

**Mammar J., 2015.** Extraction et dosage des polyphénols totaux de la lavande (*Lavandula stoechas* L.). Evaluation de leurs activités antibactériennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Estimation de l'effet insecticide de la poudre des feuilles sur les adultes de *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae). Mémoire de master : université Mouloud Mammeri, Algerie.

**Maria L.B., (2002).** Lavender : The genus *Lavandula*. Medicinal and aromatic plants industrial profiles. Taylor&Francis. Vol 29, 268p.

**Martinez-Cayuella M. 1995 :** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.*77 : 147-161.

**Mastelic .J.M. and Kustrak .D. (1997).** Essential oil and glycosidicallybound volatiles in aromatic plants : I. Lavandin (*Lavandula hybrida reverchon*). *Acta Pharmaceutica.* 47 : 133-138.

**Maxia A., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Tuveri E., Gonçalves M.J., Cavaleiro C. and Salgueiro L. 2009 :** Chemical characterization and biological activity of essential oils from *Daucus carota* L. subsp. *carota* growing wild on the Mediterranean coast and on the Atlantic coast. *Fitoterapia*, 80, 57-61.

**Menaceur, F. (2012).** Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus eriocalyx*) et de la lavande (*Lavandula stoechas*). Mémoire Ende Magister en Sciences agronomiques. 213.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Mennal Houria et Chennafi Samia., 2015** : Synthèse bibliographique des résultats de recherche sur l'application des huiles essentielles de quelques espèces de la famille de Lamiacées obtenues à l'Université de Khemis Miliana. Faculté : Science de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre.

**Meroune, A. (2013).** Caractérisation, activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de sauges (*Salvia algeriensis*, *Salvia argentea* et *Salvia*). Memore .Université Hassiba Ben Bouali à Chlef. 118.

**Mohammedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister. Université Abou Bakr Belkaid. Tlemcen. 105p.

**Moon, T., Cavanagh, H. M., & Wilkinson, J. M. (2007).** Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* spp. Essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Essential Oil Research*, 19 (2), 171-175.

**M. Zohra, A. Fawzia, (2011),** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandulastoechas* L, Laboratoire des Produits Naturels, Université Abou BakrBelkaid, BP 119, Tlemcen 13000, Algérie.

### N

**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

**Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T. 1985:** A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, 31-36.

**Nerio L. S., Olivero-Verbel J. & Stashenko E. 2010** : Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101 : 372–378

### O

**Oussou K.R., Yolou, S., Boti, J.B., Kouadio Guessennd N., Kanko C., Ahibo, C. and Casanova J. 2008** : Etude chimique et Activité Antidiarrhéique des Huiles essentielles de deux Plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne ; *European Journal of ScientificResearch.* 24(1): 94-103.

**Ökmen, G. (2017).** The Biological Activities of *Lavandula stoechas* L. against Food Pathogens. *International Journal of Secondary Metabolite*, 269–270.

### P

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Padrini F & Lucheroni M. T. 1996** : Le grand livre des huiles essentielles : Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et l'aromassage énergétique avec plus de 100 photographies. Ed. De Vecchi, 15 p.

**Philippe Jean-Marie. 1993** : Le guide de l'apiculture. La Calade : Edisud.

**Pincemail J., Meurisse M., Limet R et Defraigne J O. 1999** : L'évaluation du stress oxydatif d'un individu : une réalité pour le médecin. Vaisseaux, Coeur, Poumons, 4.

**Pattnaik., Subramanyam S., V.R. et Kole C. 1996** : Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. Microbios .86 : 237-246.

### Q

**Quezel P et Santa S. 1963** : Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Préface du Pr L. EMBEGER. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. 15, quai Anatole-France Paris 7.

### R

**Rahma, L., et Fairouz, S. (2017)**. Evaluation Of Antimicrobial And AntiInflammator Properties of Lavandula stoechas L.Essential Oil. Agrobiologia, 7(2), 531–538.

**Raymond Myriam. 2005** : L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Université de Nantes. Faculté de pharmacie. N° 70

**Rhind, J. P., & Pirie, D. (2012)**. Essential oils : a handbook for aromatherapy practice. Singing Dragon.

**Richard H. 1992**. Epices et aromates. Ed. Tec et Doc-Lavoisier. Paris, p.339

**Ryley C. 1998** : Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, Lewes England. 56 pp.

### S

**Saadatian M., Aghaei M. Sarahpour M et Balouchi Z. 2013** : Global Journal of Medicinal Plant Research, 1(2) "Chemical composition of lavender (Lavandula officinalis L.) Extraction extracted by two solvent concentrations". p. 214-217.

**Said, H. M., & Saeed, A. (1996)**. Medicinal herbal: A textbook for medical students and doctors (Vol. 1). Hamdard Foundation Pakistan.

**Salah Eddine B. 2017**. Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante Teucrium polium ssp. Aurasiaticum Labiatae. Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah – Ouargla, Algérie. 4-12 p

**SAMATE D A. 2001**. Composition chimique d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanaise du Burkina Faso : Valorisation, Ouagadougou, Burkina Faso.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Schauenberg P. et Paris F. 2010** : Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.

**Shimizu H. 2004.** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population : the Hisayama study, *Stroke*, 35 (9) : 2072-2077.

**Siddiqui Mohd Aftab., Khalid Mohd., Akhtar Juber., Siddiqui HH., Baadruddeen., Usma Ahmad., Farah Ahsan., Khan Mohd Muazzam., Mohammed Ahamd et Asad Ali., 2016** : *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): Une plante miracle. Faculté de pharmacie. Université intégrale. *Dasauli. Kursi Road. Lucknow* (UP) 226026.

**Sidi Boulenouar. K & Ziane. A. 2003** : Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen. Mémoire de DES en Biochimie. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 54 p.

**Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R et Sarkinas A. 2006** : "Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils." *Journal of Essential Oil Research*, 18 : 698-703.

**Site de la wilaya de Bouira : dsp-bouira.dz** : <http://www.dsp-bouira.dz/index.php/fr/presentation-de-la-wilaya-3/24-acticités-dsp/48-message-dsp10>

**Skoula M et Abidi C., 1996** : Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochem. Syst. Ecol.* 24, 255-260.

**Smallfield B. 2001** : Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop and Food Research* (45) : 1-4

**Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., Hotchkiss S.A. 2000**: Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99.

Suhar K.I. et Nielsen P.V. 2003 : Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology*. 94 : 665-674.

**Svoboda K.P. et Hampson J.B. 1999** : Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants : antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.

### T

**Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A. and Cliver D.O. 2010** : Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21, 1199-1218.

**Tepe B., Akpulat H. K., Sokmen M., Daferera D., Yumrutas O., Aydin E., Polissiou M. and Sokmen A. 2006** : Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisatum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, 97, 719-724.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

## U

**Ultre A., Slump R.A., Steging G et Smid E.J. 2002** : Antimicrobial activity of carvacrol on rice. Journal of food protection.63, p. 620-624.

**Upson T. 2002** : The taxonomy of the genus Lavandula L. In Lis-balchin, M. Lavender, the genus Lavadula. London & New York : Taylor and Francis, pp 2-34.

**Upson T and Andrews S. 2004** : The genus Lavandula. Portland and Oregon, USA : Timber Press. P 442.

**Upson, T., & Andrews, S. (2004)**. The genus Lavandula. Royal Botanic Gardens, ISBN, 1842460102.

## V

**Vekiari S A., Protopapadakis E F. 2002** : Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. J. Agr. Food Chem. 5(1), 147-153.

## W

**Weber F. J. and de Bont J. A. M. 1996**. Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. Biochimi. Biophys. Acta 12, 225- 245.

**Wink M. 2003**. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. Phytochemistry. 64 : 3–19.

## Z

**Zhiri Abdesselam. 2006**. Natura News, Science, Nutrition, Prévention et Santé.

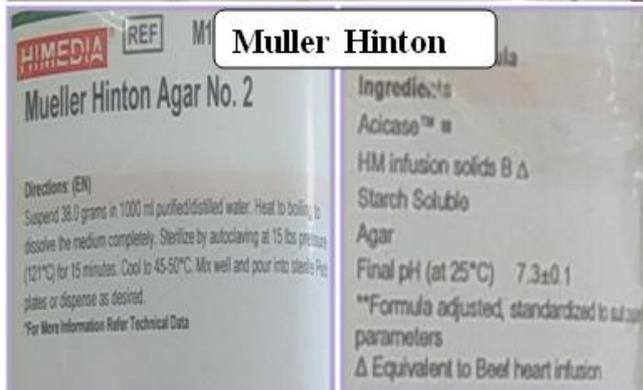
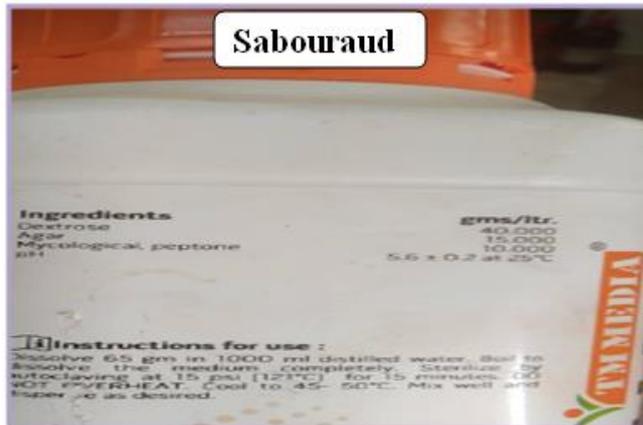
**Zuzarte, M., Gonçalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., & Salgueiro, L. (2013)**. Antifungal and anti-inflammatory potential of Lavandula stoechas and Thymus herba-barona essential oils. Industrial Crops and Products, 44, 97-103.

# ANNEXES

## Annexe 01 : Matériels utilisés.

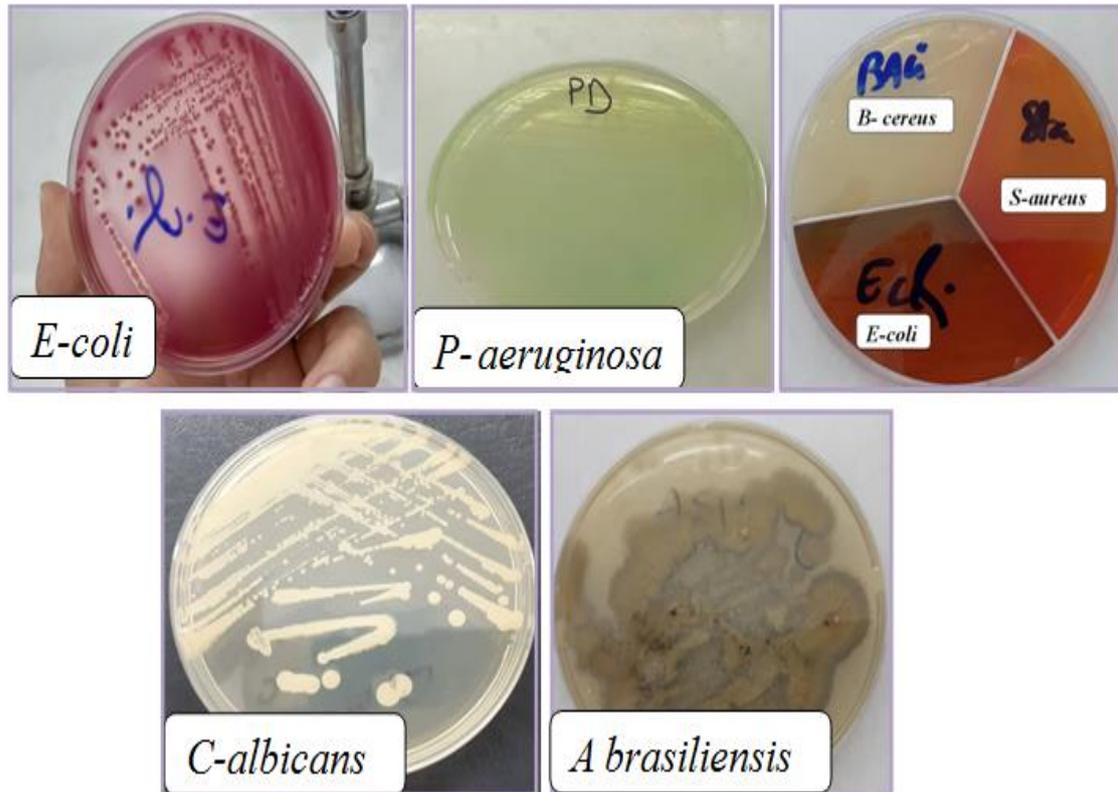
Appareillages	Verreries / Outillages	Produits chimiques
Agitateur magnétique	Béchers : 100 ml, 250 ml, 500 ml	Acide ascorbique
Autoclave	Boîtes de pétri stériles de 90 mm	DMSO
Bain marie	Disques d'aromatogramme Whatman, 9 mm	DPPH
Balance de précision	Écouvillons Stériles	Eau distillée
Bec bunsen	Entonnoir	Méthanol
Centrifugeuse	Eppendorfs	
Etuve isotherme	Eprouvettes	
Hotte à flux laminaire avec lampe UV	Erlenmeyer 100 ml, 250 ml / Flacons avec bouchon	<b>Milieu de culture</b>
Incubateur bactériologique	Micropipettes	Muller Hinton
Plaque chauffante	Papier aluminium/absorbant	Sabouraud
Réfrigérateur	Portoir/ Tubes à essais	
Spectrophotomètre	Pincés/ Spatule inox	
Vortex	Pipettes Pasteurs	

## Annexe02 : préparation et composants de milieu culture

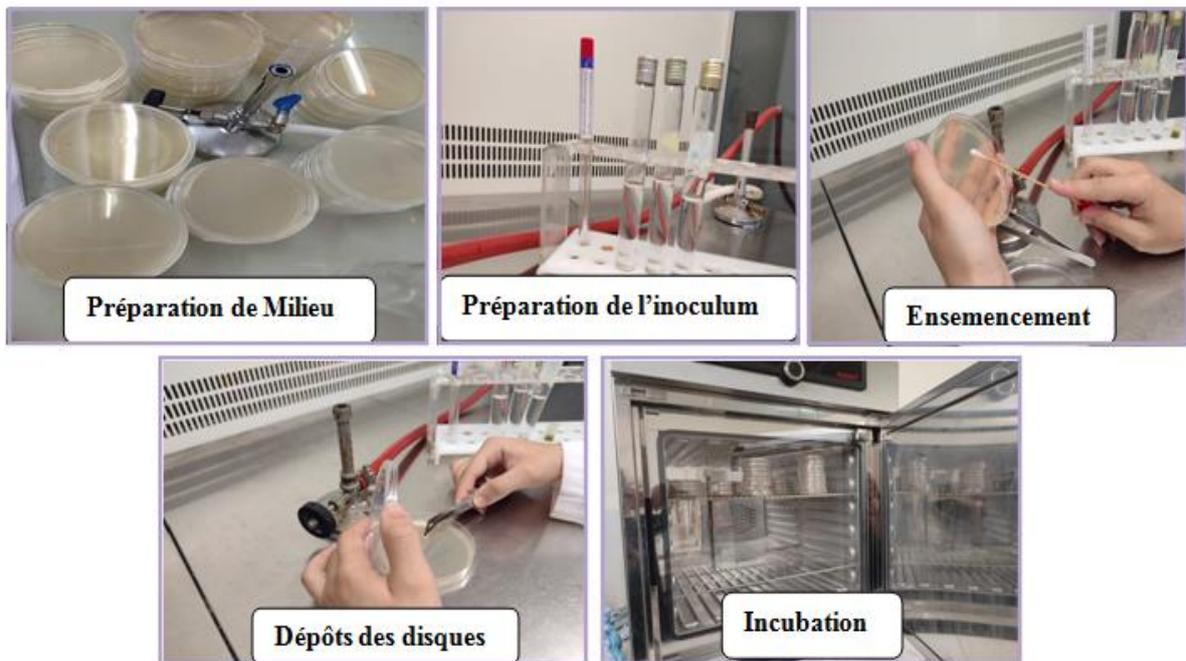


# ANNEXES

## Annexe 03 : revivification des souches microbiennes

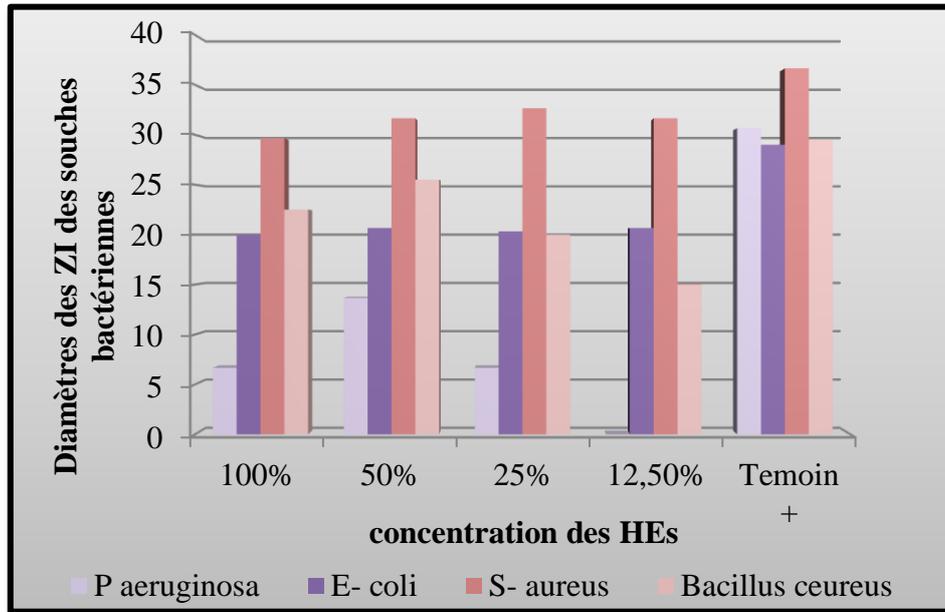


## Annexe 04 : les étapes d'évaluation de l'activité antimicrobienne



# ANNEXES

**Annexe 05 : Diamètres des zones des zones d'inhibition en mm de l'HE de *L stoechas* L pure et à différentes dilutions contre les souches fongiques représenté en histogramme et aromagramme.**



## ANNEXES

**Annexe 06 : Diamètres des zones d'inhibition en mm de l'HE de *L. stoechas* L pure et à différentes dilutions contre les souches bactériennes représenté en histogramme et aromatoigramme.**

