

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre
Département des Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

Thème :
Extraction et activité biologique des huiles essentielles de
Lavandula stoechas

Présenté par :

Melle : BEN RAMDANE Ahlem

Melle : MOULOUDJ Hadjer

Encadré par :

Pr. BRADA Moussa

Devant le jury composé de:

Président : M^{me} SAADI F. (MCB) à UDB de Khemis Miliana

Promoteur : Mr BRADA M. (Pr) à UDB de Khemis Miliana

Examinatrice : M^{me} MOSTEFA SARI F. (MAA) à UDB de Khemis Miliana

Année universitaire : 2019-2020.

Remerciements

Ce travail n'aurait pas pu être ce qu'il est, sans l'aide d'ALLAH source de toute connaissance qui nous 'a donné la force afin de l'accomplir.

*Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre promoteur **Pr BRADA Moussa**, pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils qui ont permis de réaliser ce travail.*

Nous tenons à remercier les membres de jury

L'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'examiner ce travail

Nous adressons encore nos remerciements à :

Tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement, de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie.

Dédicaces

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

A la mémoire de ma grand-mère tu m'as quittée pour un monde meilleur laissant un vide immense. Que ton âme repose en paix

A mes très chers parents, qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner persévérance durant toutes mes années d'études.

A mes chers sœurs et frères,

A ma grand-mère, mes oncles, tantes, cousins et cousines en particulier mes chères Soumia et Sara qui sont toujours été présentes pour moi. Merci pour votre encouragement.

A mes chères amies: Houda, Sara, Yasmine, Zakia et Romaisa.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

*A ma binette **Ahlem** pour le travail que nous avons fourni.*

Tous mes camarades de la promotion 2019-2020 microbiologie appliquée,

A tous mes enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études.

HADJER

Dédicaces

Je remercie mon Dieu ALLAH qui est toujours présent avec moi dans le meilleur et dans la pire.

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents qui m'ont soutenue tout au long de mes études

A mes très chères sœurs : Rania, Nesrine et Malak

A toute ma famille.

A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours de mon Coursus à l'université.

A ma chère binôme : Hadjer.

A toute la promotion 2019/2020 de Microbiologie appliquée.

AHLEM

Résumé

Ce travail porte sur l'extraction et l'étude de l'activité biologique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. Cette plante herbacée vivace est très répandue en Algérie. Plusieurs études ethno-pharmacologiques ont démontré son utilisation dans le traitement de plusieurs maladies; elle possède des activités anti-inflammatoires, antioxydantes, antispasmodiques, sédatives, insecticides, antimicrobiennes et antifongiques. Les études menées en Algérie sur les HEs de *L. stoechas*, obtenues par hydrodistillation ont révélé un rendement estimé (de 0.36% - 0.79%). Les analyses réalisées par CPG et CPG/SM des HEs de *L. stoechas* algérienne ont permis d'identifier 54 composés dans l'échantillon provenant de Cherchell et 49 composés dans celui de Constantine. L'étude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *L. stoechas* de la région de Bouira a montré un pouvoir remarquable de piégeage du radical libre DPPH ($IC_{50} = 4140 \pm 0,05 \mu\text{g/mL}$) par rapport à celui du l'antioxydant de référence BHT ($IC_{50} = 29,62 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$). L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles étudiées a révélé une activité inhibitrice contre un ensemble de bactéries pathogènes (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*). Les huiles essentielles de *L. stoechas* ont présenté de forts pouvoirs insecticides contre *Anophèle labranchiae* et *Leishmania major*. L'évaluation du pouvoir antifongique des huiles essentielles de *L. stoechas* a révélé une activité inhibitrice contre les champignons *Fusarium moniliform*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*. Ce travail montre que l'HE de *L. stoechas* est douée de propriétés biologiques intéressantes dans les divers domaines : agro-alimentaire et pharmaceutique.

Mots clés : Extraction, Activité biologique, Huile essentielle, *L. stoechas*, Composition chimique, Activité antioxydante, Activité antibactérienne, Pouvoir insecticide, Activité antifongique.

ملخص :

يهدف هذا البحث الى استخراج و دراسة الفعالية البيولوجية للزيوت الأساسية لنبتة الخزامة *L.stoechas*. الخزامة نبات عطري منتشر في الجزائر ,وقد أثبتت الدراسات استخدامها في علاج العديد من الأمراض؛ كمضاد للالتهابات، ومضاد للأكسدة، مضاد للتشنج، مهدئ، ومبيد للحشرات، ومضاد للميكروبات و الفطريات. وكشفت الدراسات التي أجريت في الجزائر عن الزيوت الأساسية لنبتة الخزامة المستخرجة بواسطة تقنية التقطير hydrodistillation عن وجود مردود يقدر من 0.36% الى 0.79%.

أظهر النشاط المضاد للأكسدة الذي تم تقييمه بواسطة طريقة DPPH فعاليته في البويرة حيث أعطى نسبة تثبيط معتبرة مساوية $0,05 \pm 4140$ ميكروغرام / ميليلتر مقارنة بمضاد الاكسدة المرجعي BHT ($0,13 \pm 29,62$) IC_{50} ميكروغرام / ميليلتر) , سمح لنا التحليل الكروماتوجرافي الغازي المزوج مع مطيافية الكتلة بالحصول عل 54 مركبا في شرشال و 49 مركبا في جيجل . من جهة أخرى أظهرت نتائج الدراسة أن لهذه الزيوت تأثير مثبط ضد مجموعة من البكتيريا *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli* الزيوت الاساسية لنبتة الخزامة أظهرت تأثيرات فعالة مبيدة للحشرات مثل *l'Anophèle labranchiae Leishmania* , كما بينت دراسة الفعالية المضادة للفطريات للزيوت الاساسية أن لها نشاط مضاد للفطريات ضد *Fusarium major* و *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* و *moniliform*

يبين هذا العمل أن تحسين الأنشطة البيولوجية للنباتات يمكن أن يكون عنصرا من عناصر مساهمة قيمة هذه المنتجات.

الكلمات المفتاحية : استخراج ، نشاط بيولوجي , زيت أساسي ، *L. stoechas* , تركيبة كيميائية ، نشاط مضاد للأكسدة ، نشاط مضاد للبكتيريا , نشاط مضاد للحشرات , نشاط مضاد للفطريات.

Abstract

This research aims to extract and study the biological activity of the essential oils of *L. stoechas*.

Lavandula stoechas, is a perennial herbaceous plant, it is very widespread in Algeria. Several ethnopharmacological studies have demonstrated its use in treating several diseases; it has anti-inflammatory, antioxidant, antispasmodic, sedative, insecticidal, antimicrobial and antifungal activities.

Studies conducted in Algeria on essential oils of *L. stoechas*, obtained by hydrodistillation, revealed an estimated yield (from 0.36% to 0.79%). The study of the antioxidant effect of essential oils of *L. stoechas* in bouira showed a remarkable trapping power of the free radical DPPH (IC₅₀ - 4140 - 0.05 g/ml) compared to that of the reference antioxidant BHT (IC₅₀ - 29.6,2 - 0.13 g/ml).

The analyses conducted by gas chromatography /quadrupole masse spechtroscopy GC / MS of the essential oils of the Algerian *L. stoechas* identified 54 compounds in cherchell and 49 compounds in Constantine. The evaluation of the antibacterial activity of the essential oils studied revealed inhibitory activity against a set of pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*,). The essential oils of *L. stoechas* presented strong insecticidal activity against *Anopheles labranchiae* and *Leishmania major*. The evaluation of the antifungal power of *L. stoechas* essential oils revealed inhibitory activity against *Fusarium moniliform fungi*; *Aspergillus flavus* and *Aspergillus niger* This work shows that the improvement of the biological activities of plants can be an element to the contribution of their valorization.

Key words: Extraction, Biological activity, Essential oil, *L. stoechas*, Chemical composition, Antioxidant activity, Antibacterial activity. Insecticidal activity, Antifogical activity.

Liste des abréviations

- : Négatif

% : Pourcentage.

+ : Positif

Ab : Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

ATB : Antibiotique

ATF : Antifongiques

CG-SM : Chromatographie Gazeuse-Spectromètre de Masse

HE : Huile Essentielle

DPPH : 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle

DMI : dilution minimale inhibitrice

DMSO : Dimethyl sulfoxide

Fig : figure

g : Gramme

GN : Gélose nutritive

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle

I% : Pourcentage d'inhibition

IA : Indice d'acide

IC50 : Concentration inhibitrice 50. La concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀)

IK : Indice de Kovats

IR : Indice de réfraction

Kg : kilogramme

KOH : Hydroxyde de potassium

L : Lavandula

mg : Milligramme

MH : Milieu Mueller Hilton

min : Minute

ml : Millilitre

mm : millimètres

MS : Matière végétale sèche

Liste des abréviations

MV : Matière végétale

NaCl : chlorure de sodium

nm : Nanomètre

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P : Pénicilline

PAM : Plantes Aromatiques et Médicinales

PH : Potentiel d'Hydrogène

PI : Pourcentage d'inhibition

PRL : Pipracilline

RHE : Rendement d'extraction d'huile essentielle.

RI : Temps de rétention

T : Température

Tab : Tableau

TR : Temps de rétention

UFC : Unité formant colonie

UV : Ultras violet

V : Volume

Vit C : Vitamine C

µg : Microgramme

µl : Microlitre

Liste des figures

Figure 1: Schématisation de l'aire de répartition des sections du genre <i>Lavandula</i>	4
Figure 2 : <i>Lavandula stoechas</i>	6
Figure 3: Distribution géographique de <i>L. stoechas</i>	7
Figure 4: Rendement en huiles essentielles de <i>L.dentata</i> de Marrakech (L.D(M)) et <i>L.stoechas</i> d'Oulmés L.S(O))	19
Figure 5: Situation de la zone d'études.....	32
Figure 06: Dispositif de l'extraction des HE par hydrodistillatio.....	34
Figure 07: Structure chimique du radical libre	40
Figure 08: Réaction du test du DPPH	40
Figure 09: Méthode de l'aromatogramme sur boîte de Pétri	44
Figure 10: Principe de la méthode de diffusion par disque	45

Liste des tableaux

Tableau I. Taxonomie de la lavande à toupet	8
Tableau II Principaux composés de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> en algérie	14
Tableau III. Les principaux constituants des HEs de l'espèce du genre <i>L. stoechas</i>	16
Tableau IV : Teneur en flavonoïdes de deux échantillons de lavande.....	17
Tableau V: Rendement des extraits aqueux bruts des deux espèces étudiées.....	17
Tableau VI: Le rendement de <i>L. stoechas</i> de différentes régions.....	18
Tableau VII: Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>L. stoechas</i>	20
Tableau VIII: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE de <i>L. stoechas</i>	20
Tableau IX : teneur en eau de la lavande séchée à différentes températures en fonction du temps.....	21
Tableau X: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> déterminée par diffusion sur disque.....	23
Tableau XI: Pourcentage de répulsion (%) sur papier filtre des huiles essentielles de lavande étudiées par rapport aux adultes de <i>Tribolium castaneum</i>	30
Tableau XII : Caractéristique géographique de la région de récolte de la plante.....	32
Tableau XIII: Poids de matière fraîche de <i>L. stoechas</i> avant et après le séchage.....	36

Table de matières

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des abréviations	
List des figures	
List des tableaux	
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I-A. matière végétale : <i>Lavandula stoechas</i>.....	2
I.A.1. famille des Lamiaceae	2
I.A.1.1. Genre <i>Lavandula</i> :.....	2
I.A.1.2. Répartition géographique:	2
I.A.1.4.Principales espèces de <i>Lavandula</i> en Algérie :	5
I.A.2. Plante étudiée : <i>Lavandula stoechas</i>	5
I.A.2.1. Description botanique	5
I.A.2.2.Description géographique :	7
I.A.2.3. Classification botanique :.....	8
I.A.2.4.Etymologie et noms vernaculaires	8
I.A.2.5.Ecologie.....	9
I.A.2.6.Vertus médicinales, commercial et valeurs nutritionnelle de <i>L. stoechas</i>	9
I.A.2.7.Toxicité de la lavande :	10
I.A.3. Huiles essentielles :	10
I.A.3.1. Définition :	10
I.A.3.2 Composition chimique :	11
I.A.3.3. Mode d'action :	11
I.A.3.4. Facteurs influençant la composition chimique :	11
I.A.3.5. Conservation des huiles essentielle :.....	11
I-B. TRAVAUX ANTERIEURS	13
I.B.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> en Algérie:	13

Table de matières

I.B.2. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> de divers pays :	14
I.B.3. Dosage des flavonoïdes des extraits de lavande :	16
I.B.4. Rendement des extraits aqueux bruts	17
I.B.5. Cinétique d'extraction et rendement en l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i> :	18
I.B.6. Rendements en huile essentielle de <i>L. stoechas</i> de diverses régions	18
I.B.7. Propriétés organoleptique et physico-chimiques des HE de <i>L. stoechas</i> :	19
I.B.8. Taux d'humidité des huiles essentielles :	20
I.B.9. Effet de la température, le temps et le mode de séchage sur et la teneur en eau	21
I.B.10. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>L. stoechas</i>	21
I.B.10.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i>	21
I.B.10.2. Activité antifongique des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> :	24
I.B.10.3. Activité antioxydante des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> :	25
I.B.11. Études pharmacologiques	26
I.B.11.1. Pouvoir anxiolytique :	26
I.B.11.2. Pouvoir anticonvulsivant	26
I.B.11.3. Effets anti-inflammatoires	26
I.B.11.4. Activité anticorrosion	27
I.B.11.5. Activité anticancéreuse	27
I.B.12. Pouvoir insecticide et larvicide:	28
Chapitre II: Matériel et méthodes	
II.1. Lieu et période de travail	31
II.2. Matériel non biologique	31
II.3. Matériel végétal	31
II.3.1. Critères de choix	31
II.3.2. Récolte, identification et conservation	31
II.3.3. Présentation de la zone d'études :	32
II.4. Extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> :	33
II.5. Calcul du rendement de l'huile essentielle	34
II.6. Conservation des huiles essentielles obtenues	34
II.7. Caractères organoleptiques des huiles essentielles	35
II.8. Taux d'humidité	35

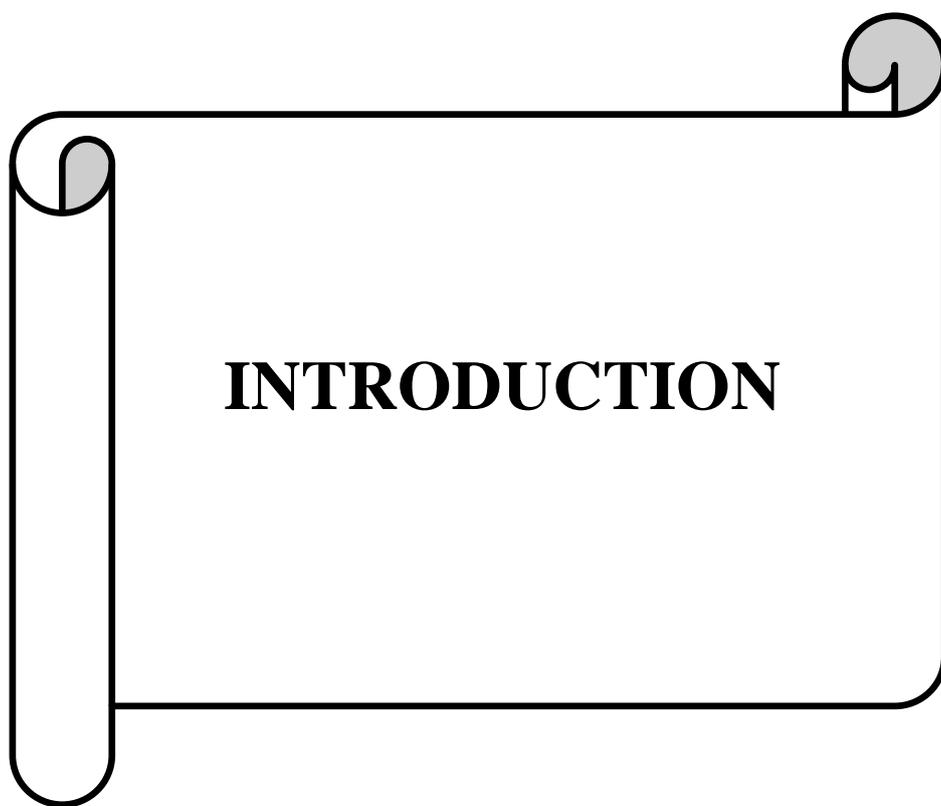
Table de matières

II.9. Les propriétés physico-chimiques	36
II.9.1. Les propriétés physiques.....	36
II.9.1.1. Calcul de la densité (AFNOR NF T 75-006).	36
II.9.1.2. Détermination de l'indice de réfraction (norme NF T 75 – 112).....	37
II.9.1. 3 Détermination de pH :.....	37
II.9.2. Les propriétés chimiques	38
II.9.2.1. Détermination de l'indice d'acide (AFNOR - NFT - 60 -2000)	38
II.10. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) de l'huile essentielle de <i>I. stoechas</i> :	39
II.11. Activité Antioxydante	39
II.11.1. Test de DPPH.....	39
II.11.1.1. Calcul du pourcentage d'inhibition	41
II.11.1.2. Calcul de la concentration inhibitrice IC ₅₀	41
II.11.1.3. L'indice de l'activité antioxydante	41
II.11.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode β -carotène/acide linoléique...42	
II.12. Activité antimicrobienne	43
II. 12. 1. L'activité antibactérienne.....	43
II.12.1.1. Méthode de diffusion à partir d'un disque solide (aromatogramme)	43
II.12. 1. 2. Méthode générale des CMI par dispersion dans le milieu de culture.....	44
II.13. L'activité antifongique.....	47
II.13.1. Protocole expérimental.....	47
II.13.1.1. Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentration d'huiles essentielles	47
II.13.1.2. Ensemencement et incubation des boites de pétri	47
II.13.2. Expression des résultats	48
II.13.2.1. Taux d'inhibition (TI%).....	48
II.13.2.2. Détermination des concentrations inhibitrices (CMI)	48
Conclusions générale	50

Table de matières

Références bibliographique.....

Annexes.....



INTRODUCTION

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique. (**Mazari *et al.*, 2010**).

Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épicées et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture (**Mougo, 2019**).

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurale et urbaine en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent. L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Cependant, cette flore reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (**Hamel *et al.*, 2018**).

Dans le réservoir chimique des plantes, les huiles essentielles représentent des molécules de fortes valeurs, utilisées dans la pharmacologie car elles ont un effet spécifique sur d'autres organismes. En cosmétologie, comme base de fabrication de parfum et de produits dermatologiques. En agroalimentaire pour rehausser le goût, parfumer et colorer les aliments et leur conservation. Les huiles essentielles ont un spectre d'activité très large due principalement à leur grande affinité grâce à leurs natures, pour cela, les activités antibactériennes de ces produits ont été rapportées dans de très nombreux travaux. (**Bouzouita *et al.*, 2008**).

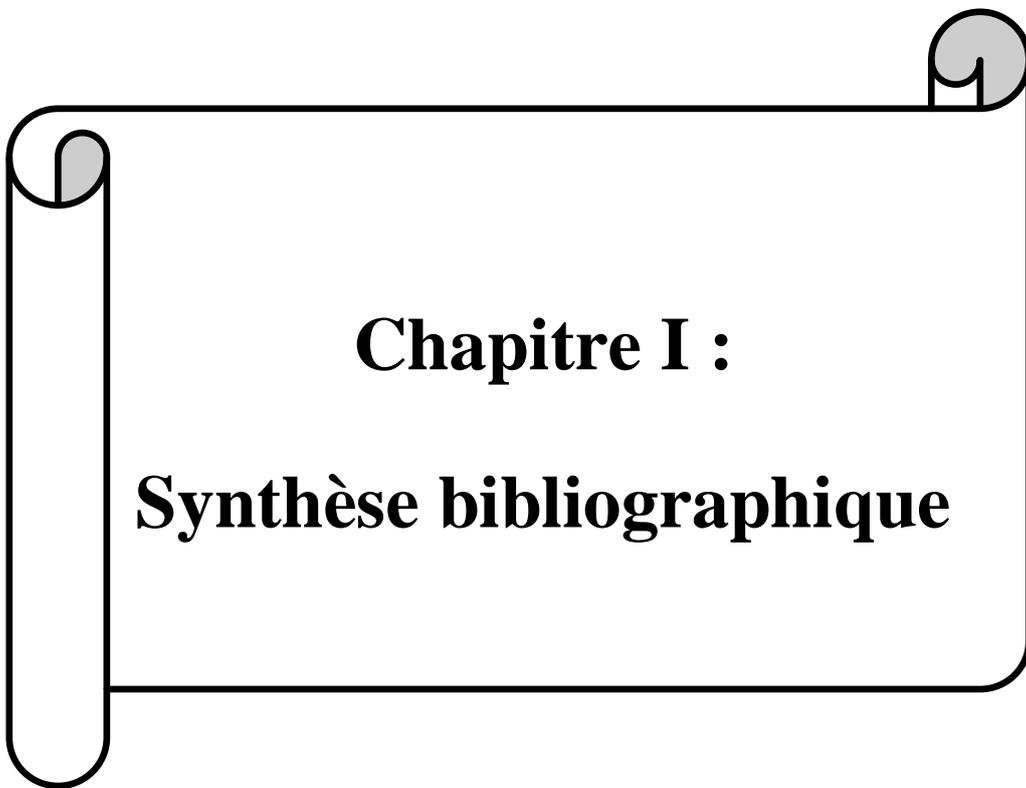
Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Labiées, nous nous sommes intéressés à l'extraction des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* provenant de la région de Miliana (W.Ain-Defla). *Lavandula* est un sous-arbrisseau de la famille des Labiées abondant dans le bassin méditerranéen. Le genre se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne.

L. stoechas est une plante tendre, à son extrémité une inflorescence terminée par un toupet de longues bractées violettes .appréciée pour ses propriétés antimicrobiennes et anti-

Introduction

carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, anti-inflammatoire, expectorant, antispasmodique, désinfection des plaies, largement utilisée dans la préparation des parfums, des savons et en médecine traditionnelle (**Mohammedi et Atik. 2012**). Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche.

Notre travail est réparti en deux chapitres : dans le premier chapitre, nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur *L. stoechas*, et nous nous intéresserons à l'étude des travaux antérieurs réalisés sur *Lavandula*. Un deuxième chapitre est consacré au matériel et méthodes utilisées. Enfin, une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives des travaux de recherche.



I-A. matière végétale : *Lavandula stoechas*

I.A.1. Famille des *Lamiaceae*

La famille des Lamiaceae, dénommée aussi Labiées, regroupe des plantes herbacées et sous-arbustes répartis dans le monde entier. Cette famille compte 6500 espèces, et quelques 200 genres très diversifiés qui caractérisent les climats de type méditerranéen. C'est une famille très homogène : une Lamiaceae est facile à reconnaître.

Dans cette famille, un même nom vernaculaire fait souvent référence à un très grand nombre d'espèces appartenant toutes au même genre, comme par exemple pour les menthes, les lavandes ou les basilics. Un bon nombre de ces espèces sont des plantes médicinales. Du point de vue chimique, cette famille a fait l'objet d'intenses investigations particulièrement sur les *Ocimum* (Fernandez *et al.*, 2005 ; Dupont et Guignard., 2012).

I.A.1.1. Genre *Lavandula*

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées. C'est un sous-arbrisseau à tige et feuilles persistantes, il peut atteindre une longueur de 1 mètre, étroit vert pâle, s'étend du gris bleuâtre profond au vert à brun pâle, fleurs de couleur bleu – violet. D'autres variétés sont à fleurs blanches et roses. L'ensemble de la plante est très aromatique comprenant fleurs et feuilles (Mohammedi *et al.*, 2012).

I.A.1.2. Répartition géographique:

Le genre *Lavandula* appartient à l'ancien monde, avec une aire de répartition naturelle qui s'étend de la Macaronésie (îles du Cap Vert, Canaries et Madère) à travers l'Afrique du Nord et tropicale, l'Europe méditerranéenne, le moyen orient, la péninsule arabique, l'Iran occidental jusqu'au Sud-est de l'Inde (Figure 1) (Lis-balchin, 2002)

Les 28 espèces du genre *Lavandula* sont donc réparties sur trois continents, l'Afrique, l'Europe et l'Asie.

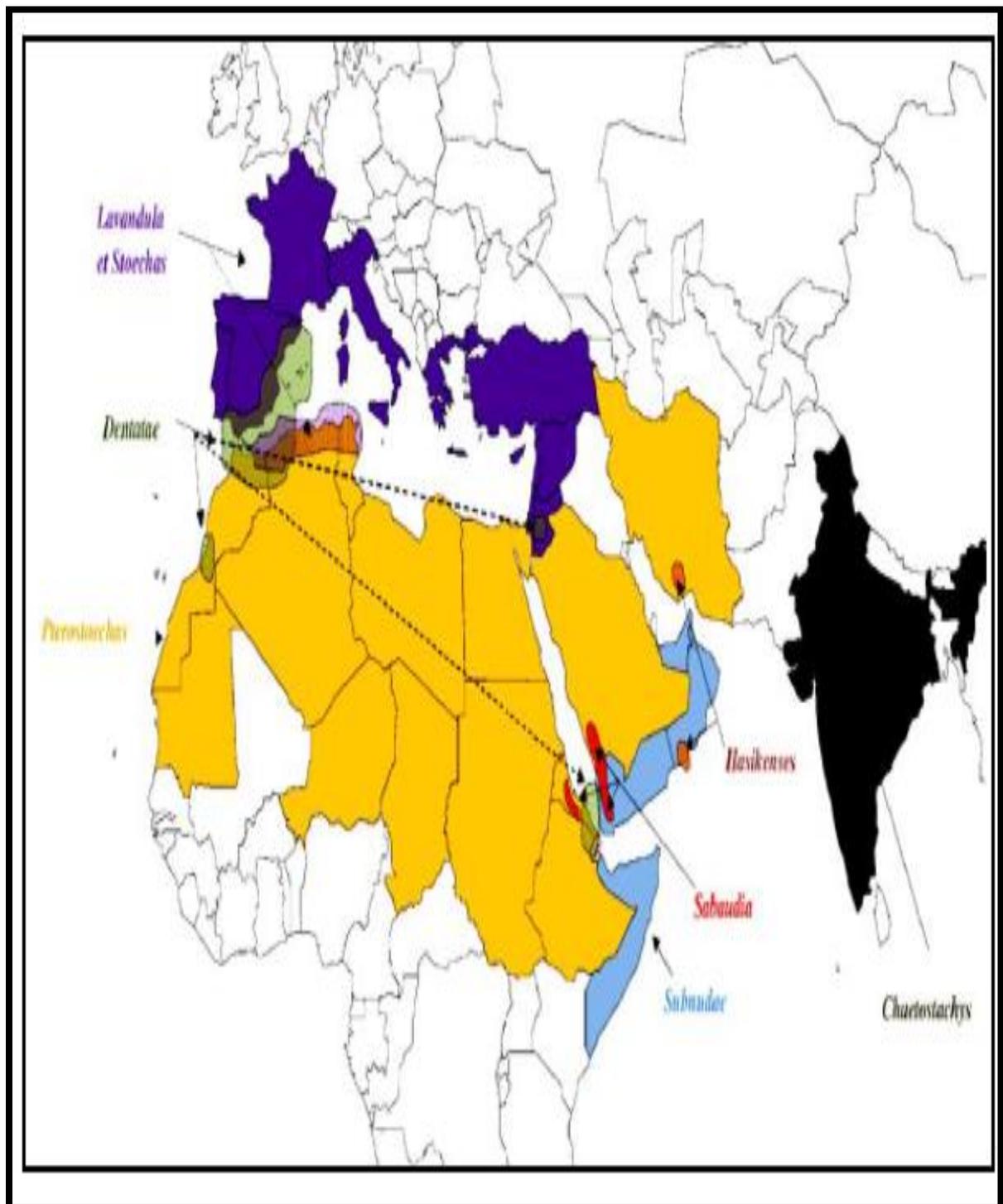


Figure1 : Schématisation de l'aire de répartition des sections du genre *Lavandula* (Guitton, 2011).

Les pays sont de la couleur de la section majoritairement présente. Pour certaines sections dont la répartition est plus restreinte, une zone de couleur indique les principales zones de présence. **Jaune** : Section *Pterostoechas*, **Bleu foncé** : Sections *Lavandula* et *Stoechas*, **Noire** : Section *Chaetostachys*, **Bleu clair** : Section *Subnuda*. Vert : Section *Dentatae*, Rouge : Section *Sabaudia* et Orange : Section *Hasikenses*.

I.A.1.4. Principales espèces de *Lavandula* en Algérie :

En Algérie, ce genre est représenté par sept espèces spontanées, *L. stoechas*, *L. multifida*, *L. coronopifolia*, *L. pubescens*, *L. dentata*, et les plus récemment décrites *L. antineae* et *L. sahariensis* (Ramdane, 2018).

I.A.2. Plante étudiée : *Lavandula stoechas*

L. stoechas (syn. *Stoechas officinarium* Moench) est communément appelée ‘lavande française’, ‘lavande italienne’, ‘lavande espagnole’, ‘lavande des stoechades’, ‘lavande maritime’, ‘lavande papillon’ ou ‘lavande à toupet’. (Benabdelkader, 2012).

I.A.2.1. Description botanique

L. stoechas se présente sous la forme d’un arbrisseau ou d’un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin (Figure 2). Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d’une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales à obovales-subtrilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La corolle est de couleur violet foncée ou mauve. Les fruits sont sans intérêt économique comme tous ceux de la famille. Ils permettent cependant la production de graines. Les taxons de la section *Stoechas* s’hybrident facilement pour donner de nombreux taxons variant. (Benabdelkader, 2012).

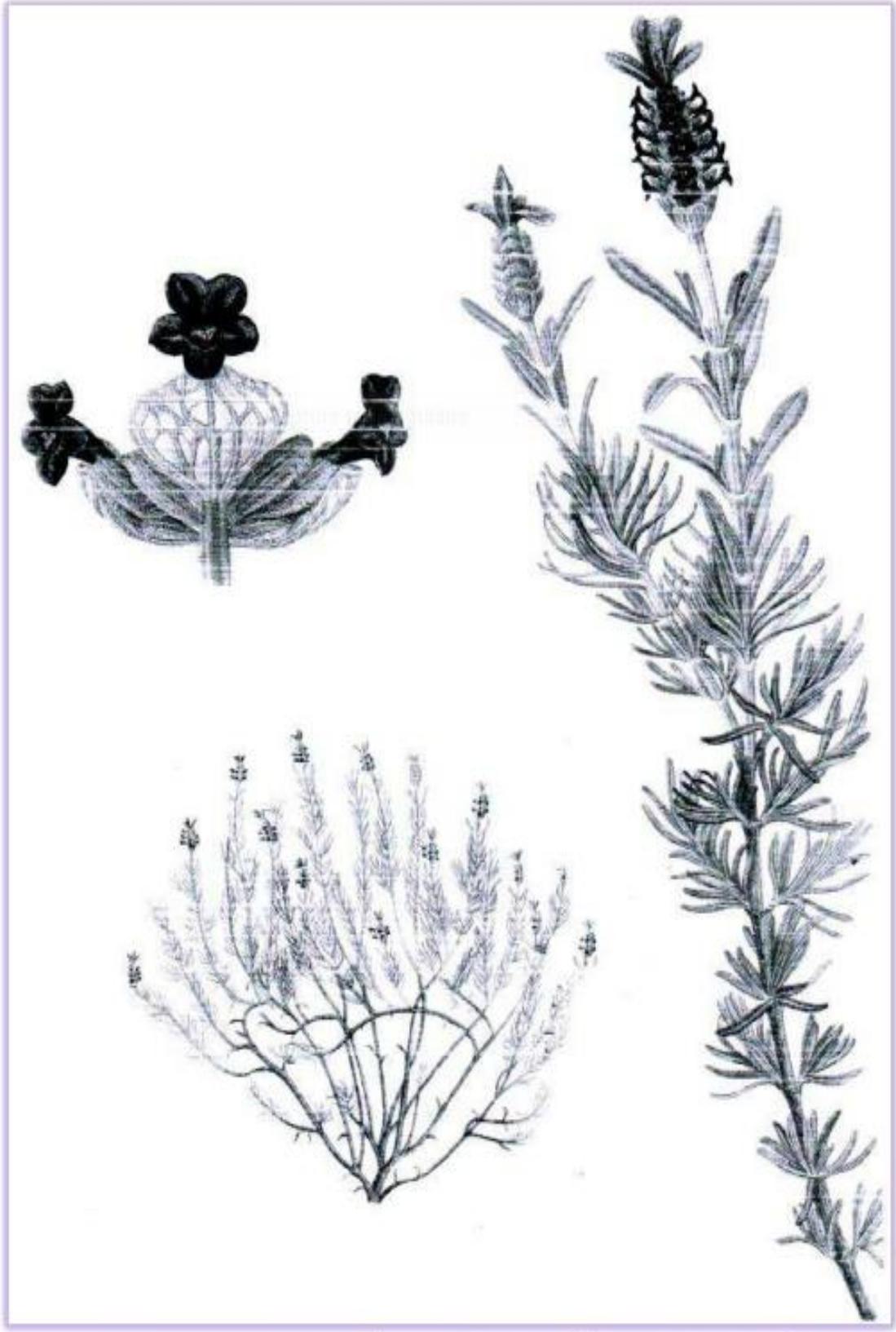


Figure 2 : *Lavandula stoechas*, tige fleurie x 1 et cyme agrandie x 4
(Upson & Andrews, 20)

I.A.2.2. Description géographique :

Origine : Bassin méditerranéen. Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande 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 (**Figure 3**). Actuellement, elle a été introduite et cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie. (Upson & Andrews, 2004)

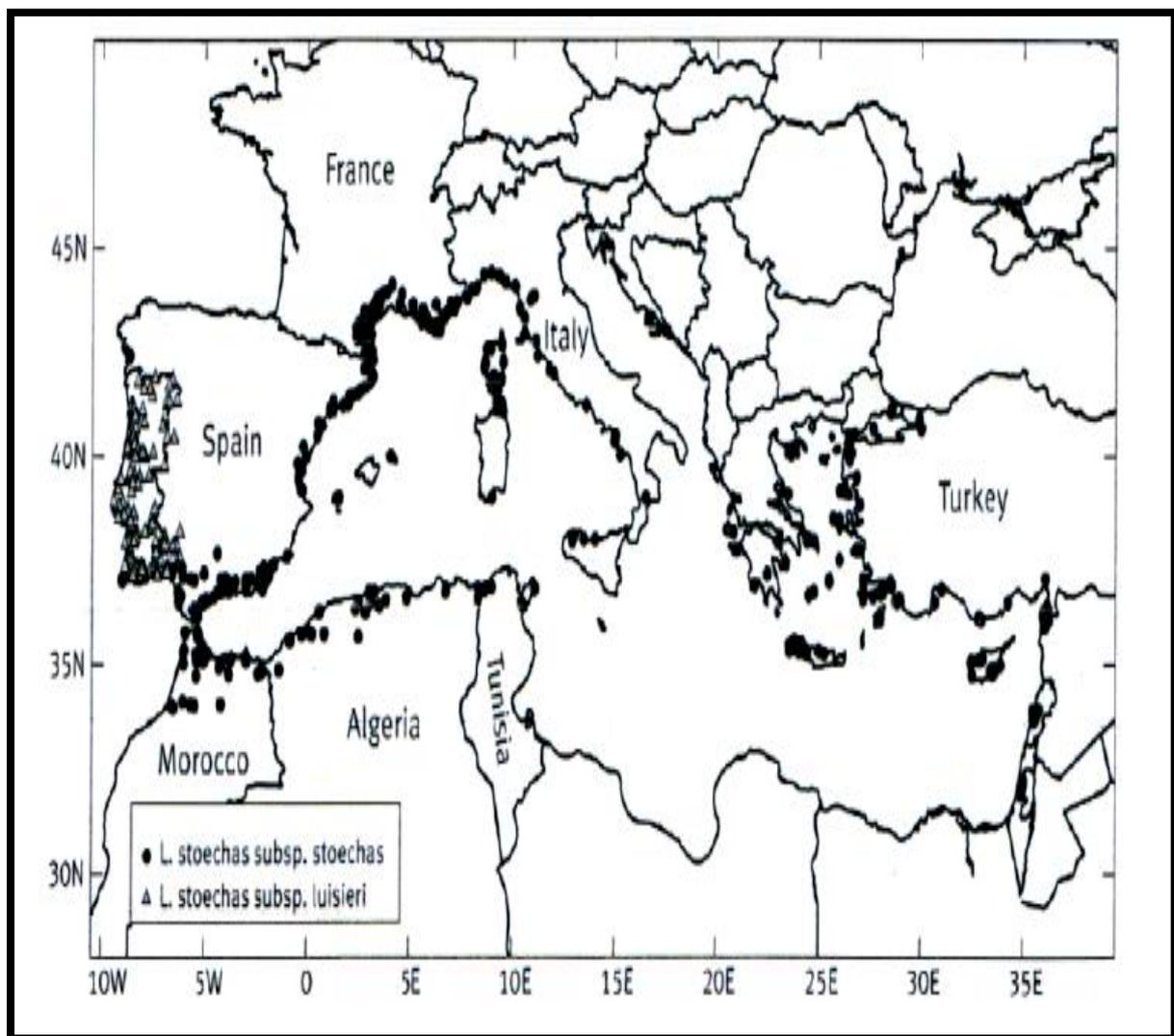


Figure 3: Distribution géographique de *L. stoechas* (Upson & Andrews, 2004).

I.A.2.3. Classification botanique :

La classification botanique de l'espèce *L. stoechas* est la suivante :

Tableau I. Taxonomie de la lavande à toupet (Upson et Andrews, 2004).

Règne	Plantae
Sous règne	Plantes vasculaires
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Décotylédones</i>
Sous classe	<i>Dialypétales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Sous famille	<i>Nepetoideae</i>
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i>

I.A.2.4. Etymologie et noms vernaculaires

Le mot lavande dérive du verbe « laver ». Il est peut être issu de l'italien lavando (action de laver). 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 bleuâtre") qui, en latin médiéval, a donné le terme *lavindula* (Benabdelkader, 2012).

Noms vernaculaires de *Lavandula stoechas* selon (Bellakhdar et al., 1997) :

Arabe: Halhal, astuhudus, meharga.

Berbère: Amezzir, timerza, imezzir.

Anglais: Spanish lavender (in America), lavender (in Europe), Italian lavender, top lavender

Français : lavande stoechade, lavande papillon, lavande stéchas, lavande à toupet.

I.A.2.5.Ecologie

L. stoechas est une plante originaire du bassin méditerranéen. C'est un arbrisseau aux feuilles persistantes, qui fleurit au printemps. Dans leur habitat naturel, les lavandes vivent sur des sols arides et calcaires ; en fait, elles s'accommodent aux divers types de sols, sauf de ceux qui seraient exagérément humides. Elle supporte d'ailleurs la sécheresse, les sols pauvres et les grands vents. Mais elle préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle tolère le froid jusqu'à -5°C. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (Peter, 2004 ; Lim, 2014).

I.A.2.6.Vertus médicinales, commercial et valeurs nutritionnelle de *L. stoechas*

L. stoechas est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en huile essentielle (HE). Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruante, et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques (Said, 1996).

En Grèce (Crète), l'HE et l'infusion des feuilles sont utilisées par des thérapeutes traditionnels comme spasmolytiques, contre le diabète, les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'antrax, l'otite, l'hypertension. (Skoula *et al.*, 1996).

La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques (Usmanghani *et al.*, 1997 ; Nadkarni, 1982), expectorant, stimulant (Giray *et al.*, 2008), et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est appelée 'le balai du cerveau' (Nadkarni, 1982). Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus"(Simonpoli *et al.*, 1993). Cette lavande a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma (Baytop, 1999). .Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques (Baytop, 1999), et antimicrobiennes (Asimgil, 1997). Bien que *L. stoechas* fût la première lavande à être utilisée en parfumerie, son HE est aujourd'hui délaissée en raison de son odeur fortement camphrée et de la concurrence importante des autres lavandes qui se prêtent mieux à la culture intensive et

dont l'odeur est plus agréable. La forte teneur en camphre généralement observée limite ses applications en cosmétologie. Les fleurs de *L. stoechas* et d'autres espèces constituent des sources majeures de nectar pour les abeilles (Guyot-Declerck, 2002). De nombreuses plantes de lavande sont également vendues comme plantes ornementales pour les jardins populaires (Grieve, 1971 ; Lis-Balchin, 2002).

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Halhal" 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). Dans la cuisine, elles sont également utilisées comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous (Benabdelkader, 2012).

I.A.2.7. Toxicité de la lavande :

L'essence de la lavande en usage interne doit être employée avec prudence car, à fortes doses, elle peut produire de la nervosité et même des convulsions (Bouillard, 2001). Les HES de la lavande à forte dose sont considérées comme des poisons narcotiques. Elles peuvent causer de graves dermatoses (Bouillard, 2001).

L. stoechas est la plus toxique que les autres espèces de lavande. Elle est contre-indiquée pour les bébés, les enfants et les femmes enceintes (Lis-balchin, 2002).

I.A.3. huiles essentielles :

I.A.3.1. Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique. Elles sont obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes (Daouda, 2015).

I.A.3.2 Composition chimique:

Les huiles essentielles contiennent un nombre considérable de familles biochimiques (chémotypes) incluant les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les mono-terpènes, les sesquiterpènes, les cétones, les aldéhydes. (Binet et al, 2006).

Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes : Les terpènes, et les composés aromatiques dérivés de phényle propane beaucoup moins fréquents. (Bruneton ,1999).

I.A.3.3. Mode d'action:

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition. En générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- 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 (Burt, 2004).

I.A.3.4. Facteurs influençant la composition chimique :

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs, que nous pouvons regrouper en deux catégories :

- ❖ Facteurs intrinsèques, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée ;
- ❖ facteurs extrinsèques, en lien avec la méthode d'extraction. (Besombes, 2008).

I.A.3.5. Conservation des huiles essentielle :

Il est nécessaire de conserver les huiles essentielles : à l'abri de l'air, et de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydables) ou en verre

teinté, à froid (à 4 °C). Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et, d'autre part d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu. **(Hadj-Minaglou ,2012).**

I-B. TRAVAUX ANTERIEURS

I.B.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* en Algérie:

L'analyse de l'huile essentielle de *L. stoechas* collectée, en Mai-Juin 2001 à Cherchell (Tipaza) a fait dévoiler cinquante-quatre composés. 73% de l'huile totale ont été identifiés. Les principaux constituants de l'huile étaient : fenchone (31,6%), camphre (22,4%), p-cymène (6,5%), acétate de lavandulyle (3,0%), et α pinène (1,0%) (**Dob et al., 2006**).

Dans une étude réalisée sur l'HE de *L. stoechas* de Blida (**Kaibouche et Laissaoui, 2016**), les auteurs ont montré que le Fenchone représente le composé majoritaire avec un taux de 39,23%, suivi par le Camphre (18,04%) et le 1.8 Cinéol (17,64%). Les autres composés sont présents avec un taux inférieur à 3%.

Barket et Laib (2012) ont également étudié la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de *L. stoechas* cultivées à Constantine ; ils ont identifié 49 composés terpéniques, les principaux composés étant : l'acétate de linalyle (15,26%), le linalol (10,68%), le 1,8-cinéol (10,25%), le γ -terpinène (11,2%) et le camphre (11,25%).

Les principaux constituants de l'huile essentielle de *L. stoechas* de la région de Tlemcen sont le fenchone (27,6%), le Camphre (18,1%), et le 1,8-cinéol (18,9%) (**Mohammedi et Atik, 2012**). Les principaux composés de l'huile essentielle de *L. stoechas* d'Algérie sont récapitulés dans le tableau II.

Tableau II: Principaux composés de l'huile essentielle de *L. stoechas* en Algérie

Principaux composés	(Dob <i>et al</i> , 2006)	(Kaibouche et Laissaoui, 2016)	(Barket et laib 2012)	(Mohammedi et Atik, 2012)
Fechone	31.6%	39.23 %	/	27.6 %
Camphre	22.4 %	18.04 %	11.25%	18.1 %
P-cymène	6.5 %	0.7 %	/	0.8%
Acétate de lavandulyle	3%	/	/	/
α pinène	1%	1.15 %	/	0.5%
1,8 Cinéol	>0.1 %	17.64%	10.25%	18.9 %
Acétate de linalyle	0.1%	/	15.26%	/
Linalol	0.1%	0.28%	10.68%	/
γ -terpinène	0.2%	/	11.20%	/

La composition chimique de L'huile essentielle de *L.stoechas* en Algérie est différente, Nous avons remarqué que la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *L. stoechas* cultivées à Constantine était différente de celles obtenues à partir de nombreuses expériences sur la même espèce, avec une prévalence des composés monoterpéniques dans la majorité des cas, mais avec des proportions différentes. Cette différence de composition est probablement due à diverses conditions, notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction (Belhadj *et al*, 2006).

I.B.2.Composition chimique de l'huile essentielle de *L. stoechas* de divers

pays :

Les études sur la composition chimique des HEs des espèces du genre *Lavandula* montrent qu'elles sont plus riches en monoterpènes qu'en sesquiterpènes et que ces deux groupes de molécules constituent la majeure partie des HEs. *L. stoechas* synthétisent plus de 100 terpènes différents. Cette espèce a été largement étudiée dans différents pays méditerranéens et les résultats obtenus sont variables (Tableau III) (El-Hilaly *et al*, 2003 ; Upson & Andrews, 2004).

Dans une étude réalisée sur quatre populations sauvages de *L. stoechas* de Crète (Skoula *et al.* 1996), les auteurs ont montré que les principaux constituants des HE sont alternativement, ou en combinaison le fenchone, le camphre, le 1,8-cinéol, l' α -pinène et l'acétate de myrtényle. Par ailleurs, alors que le fenchone était un élément majeur de l'HE de toutes les quatre populations, trois étaient également riches en camphre et la quatrième en 1,8-cinéol.

Dans une autre étude (Gören *et al.* 2002), l'HE d'une *L.stoechas* originaire de Turquie, se caractérisait plutôt par un profil jamais retrouvé et ayant une forte teneur en pulégone (40.4 %), menthol (18.1 %) et menthone (12.6 %), en parallèle avec une absence totale de fenchone et de camphre.

Kulevanova *et al.*, (2000) ont analysé la composition chimique de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula* recueilli dans la montagne de Kozjak en Macédoine, ils ont retrouvé 32 composants avec une prévalence de linalol (25,7%), d'acétate de linalyle (23,2%) et d'acétate de lavandulyle (12,4%) avec une prédominance des composants monoterpéniques et la présence d'hydrocarbures sesquiterpéniques et de ses dérivés oxygénés.

Verma *et al.*, (2009) ont également étudié la composition en huile essentielle des fleurs de *Lavandula officinalis* cultivé dans l'Uttarakand (Inde); ils ont identifié 37 composés monoterpéniques, les principaux composés étant : l'acétate de linalyle (47,56%), le linalol (28,06%), l'acétate de lavandulyle (4,34%) et l' α -terpinéol (3,7%).

Tableau III. Les principaux constituants des HEs de l'espèce du genre *L. stoechas*

Espèce	Origine	Organe	Principaux constituants (%)	Auteurs
<i>L.stoechas</i>	Corse (France)	-	fenchone (14-75) camphre (2-56) 1,8-cinéol (3-14) acétate de myrtényle (1-4)	Ristorcelli <i>et al.</i> (1998)
	Crète	Feuilles et fleurs	fenchone (44-48) 1,8-cinéol (5-16) camphre (4-6) acétate de myrtényle (2-9)	Skoula <i>et al.</i> (1996)
	Cherchell (Algérie)	Feuilles et fleurs	fenchone (31) camphre (22) <i>p</i> -cymène (6)	Dob <i>et al.</i> (2006)
	Cagliari (Italie)	Fleurs, feuilles et tiges	fenchone (59-72) camphre (9-15) acétate de myrtényle (3-5)	Angioni <i>et al.</i> (2006)
	Australie	-	camphre (48) fenchone (21) 1,8-cinéol (9)	Moon <i>et al.</i> (2007)
	Kairouane (Tunisie)	Feuilles	fenchone (68.2) camphre (11.2) 1,8-cinéol + limonène (4.9)	Bouzouita <i>et al.</i> (2005)

Ces variations du profil chimique peuvent s'expliquer par des conditions environnementales, des origines géographiques, des parties de la plante qui ont été extraites et des méthodes d'extraction différentes (**Ezzoubbi *et al.*, 2020**). Les principaux composés les plus fréquemment identifiés sont le fenchone, le camphre et le 1,8-cinéol.

I.B.3.Dosage des flavonoïdes des extraits de lavande :

Les résultats du dosage des flavonoïdes des extraits de deux échantillons de lavande sont illustrés dans le tableau IV.

Tableau IV : Teneur en flavonoïdes de deux échantillons de lavande

Espèce	Provenance	Teneur en flavonoïdes mg eq Quer/ g	Auteurs
<i>L.stoechas</i>	Tizi-ouzou	41.58	Menaceur (2011)
<i>L.dentata</i>	Maroc	15.3	Imeloune et al., 2009

L'extrait de *L. stoechas* de la région de Tizi-ouzou possède une fraction importante de flavonoïde par rapport à l'extrait issu de *L. dentata*, ceci pourrait, en principe conférer à l'extrait de *L. stoechas* une forte capacité antioxydante et insecticide.

I.B.4. Rendement des extraits aqueux bruts

Les résultats des extraits bruts de la partie aérienne de *L. stoechas* et *L. dentata* montrent que les rendements les plus élevés sont ceux obtenus par le mode d'extraction "infusion", notamment chez *L. stoechas* ; la macération donne les plus faibles rendements, surtout avec *L. dentata* (Tableau V). Ainsi, il paraît que l'infusion représente le mode de préparation le plus rentable par rapport aux autres modes (tels que la décoction et la macération) (Bachiri et al. 2016).

Tableau V : Rendement des extraits aqueux bruts des deux espèces étudiées (Bachiri et al. 2016).

Espèce	Type d'extraction	Masse d'extrait brut en g	Masse sèche de l'échantillon végétale en g	Rendement en %
<i>L.dentata</i>	Macération	0,91	10	9,1 ± 0,06
	Décoction	1,36	10	13,6 ± 0,10
	Infusion	1,70	10	17 ± 0,10
<i>L.stoechas</i>	Macération	1,34	10	13,4 ± 0,12
	Décoction	1,53	10	15,3 ± 0,06
	Infusion	1,84	10	18,4 ± 0,15

I.B.5. Cinétique d'extraction et rendement en l'huile essentielle de *L. stoechas*

Cette étude a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes de temps et d'énergie. L'huile essentielle est extraite à partir de la partie aérienne de *L. stoechas* par la méthode d'hydrodistillation. Le suivi de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle indique que le rendement augmente en fonction du temps puis il tend à se stabiliser à partir de 3 heures et demi. Le temps optimum de cette hydrodistillation est d'environ 3 heures (Bouzidi, 2016).

I.B.6. Rendements en huile essentielle de *L. stoechas* de diverses régions

Le rendement en huile essentielle de *L.stoechas* extraite par hydrodistillation de différentes régions d'Algérie est présenté dans le tableau VI.

Tableau VI. Le rendement de *L.stoechas* de différentes régions.

Espèce	Régions	Rendement(%)	Auteurs
<i>L.stoechas</i>	Skikada	0,71	Benabelkader <i>et al</i>, 2012
	Jijel	0,79	
	Ain defla	0.36	
	Blida	1.36	
	Timezirt (Boumerdes)	0.43	Tiachadine et Mendil, 2017
	Konya (Turquie)	2.9	Mehmet <i>et al</i>, 2018
	Kairouane (Tunisie)	0.77	Bouzouita <i>et al</i>, 2005
	Sardinia (Italie)	3.1	Alberto <i>et al</i> ,2006

Les populations étudiées ont présenté des rendements variables, allant de 0.36% à 3.1 % (m/m, poids sec). Il est à noter que les meilleurs rendements (2.9 % - 3.1 %) ont été obtenus sur les populations de l'Italie et de la Turquie.

Les extractions par hydrodistillation des parties aériennes de *L. stoechas* et *L. dentata* appartenant à la flore spontanée du Maroc ont fourni des HEs ayant une coloration variable allant du jaune clair au jaune relativement foncé mais ayant toujours une très forte odeur

persistante. Des rendements en HEs pouvant être qualifiés de moyens ont été obtenus, soit 2.5 et 2.9 % respectivement pour *L.stoechas* et *L. dentata* (Figure 4) (Bachiri *et al.* 2016).

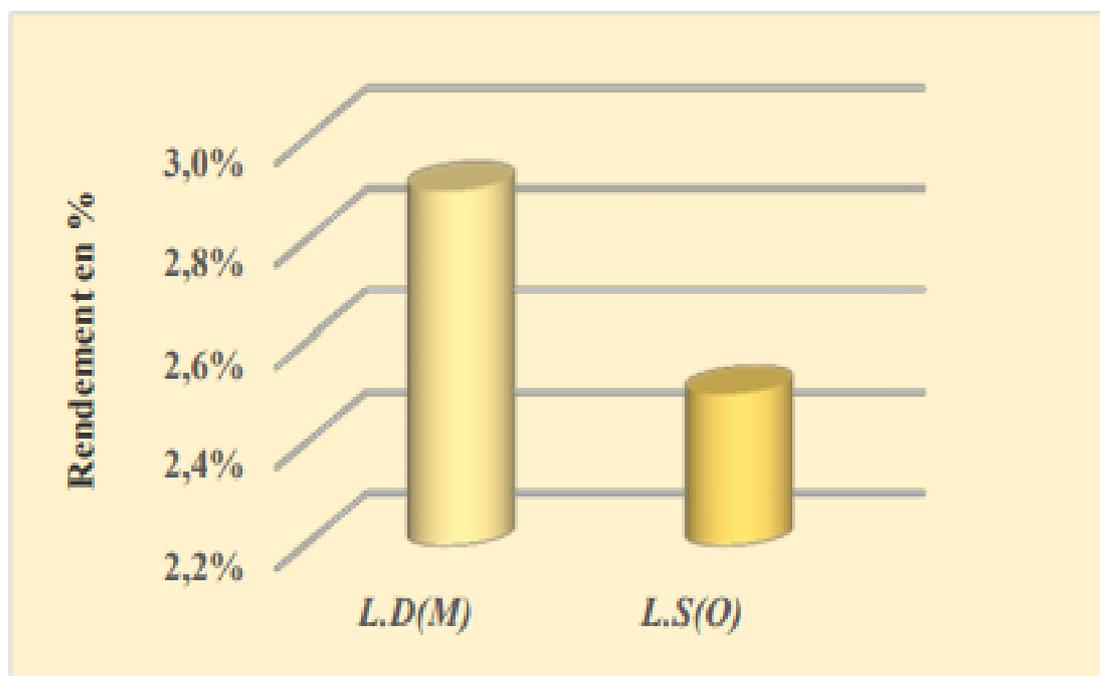


Figure 4 : Rendement en huiles essentielles de *L.dentata* de Marrakech (L.D(M)) et *L.stoechas* d'Oulmés (L.S(O)) (Bachiri *et al.* 2016)

Les différences des rendements en huiles essentielles, entre les espèces, peuvent être dues à diverses conditions, notamment, l'environnement, le génotype et l'origine géographique de la plante (Smallfield, 2001).

I.B.7. Propriétés organoleptique et physico-chimiques des HE de *L.stoechas* :

Les résultats des propriétés organoleptiques et physico-chimiques obtenus par l'étude de *L.stoechas* sont présentés dans les tableaux suivants:

Tableau VII: Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. stoechas*.

Auteurs	Caractères organoleptiques de l'HE de <i>L. stoechas</i> .		
	Aspect	Couleur	Odeur
Amara et al., (2017)	Liquide mobile,	Jaune	Caractéristique agréable, rappelant l'odeur des sommités fleuries, légèrement camphrée.
Benabida et Abbou (2017)	Liquide mobile, Limpide	Jaune claire à jaune relativement foncé	Forte odeur et persistante.
Benabelkader (2012)	Liquide mobile, Limpide	Jaune foncé	Très forte et persistante.

Tableau VIII: Caractéristiques physico-chimiques de l'HE de *L. stoechas*.

Auteurs	Densité relative à 20 °c	Indice de réfraction à 20 °c
Menaceur (2011)	0,937	1,478
Guenther (1974)	0,949	1,468-1.482

I.B.8. Taux d'humidité des huiles essentielles :

Bachiri et al. (2016) montrent que le taux d'humidité de *L. stoechas* est constitué de plus de la moitié du poids frais (64%). **Mohammedi. (2006)** illustre que le taux d'humidité de la plante fraîche de la région d'Oum El Alou de Tlemcen (Algérie) est constitué de la moitié (52,5 %) du poids. Cela signifie approximativement que plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante c'est la matière sèche. Les résultats de **Barket et Laib. (2012)** ont montré un taux de 55,40%. Cela signifie que 44,60% représentent le taux de matière sèche utilisé pour l'extraction des huiles essentielles. Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (**Bachiri et al. 2016**).

I.B.9. Effet de la température, le temps et le mode de séchage sur et la teneur en eau

Le séchage apparaît comme une étape essentielle. A cet effet **Ziani et Yahya Bey (2016)** ont calculé la teneur en humidité de la lavande séchée selon différentes méthodes de dessiccation.

Tableau IX : la teneur en eau de la lavande séchée à différentes températures en fonction du temps (**Ziani et Yahya Bey, 2016**)

		Séchage à la maison T°13°C-15°C	Séchage à l'ombre T°15°C-22°C	Séchage au soleil T°25°C-28°C
La lavande	Temps de séchage	37000	36000	28800
	B (g)	94	91	85
	La teneur en eau (%)	53	54.5	57.5

A = 200g : poids de la plante fraîche

B : le poids de la plante séchée

L'analyse des résultats montrent que la teneur en eau augmente avec l'augmentation de la température et aussi une diminution du taux d'humidité avec l'augmentation de la durée de séchage et le changement du mode de séchage.

I.B.10. Activités biologiques de l'huile essentielle de *L. stoechas*

I.B.10.1. Activité antibactérienne des huiles essentielles de *L. stoechas*

L'huile essentielle de *L. stoechas* possède des propriétés antibactériennes marquées sur une multitude de pathogènes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*) (**Dadalioglu et al., 2004 ; Benabdelkader et al., 2012 ; Angioni et al., 2006**).

L'activité antibactérienne des HEs de *L. stoechas* vis-à-vis des cinq germes pathogènes testées où *S. aureus* (Gram+), *B. subtilis* (Gram+), *P. aeruginosa* (Gram-), *E. coli* (Gram-), *M. luteus* (Gram-), est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour

des disques contenant les HEs de *L. stoechas* L. Les résultats des aromatoigrammes des HEs montrent que toutes les souches bactériennes apparaissent presque sensibles pour les C= 50 mg/ml et C= 100 mg/ml dont les diamètres des zones d'inhibition de la croissance sont variables entre $10,33 \pm 0,58$ mm et $13,83 \pm 0,29$ mm pour *E. coli*, entre $10,00 \pm 1,00$ mm et 15 ± 1 mm pour *S. aureus*, $13,67 \pm 0,58$ mm et $18,00 \pm 0,00$ mm pour *B. subtilis*, atteignent $12,33 \pm 1,53$ mm et $15,67 \pm 0,58$ mm pour *P. aeruginosa* tandis que le diamètre d'inhibition de *M. luteus* varie entre $9,83 \pm 0,29$ et $18,33 \pm 0,58$ mm (**Benabida et Abbou, 2017**)

L'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites par hydrodistillation de la partie aérienne de *L. stoechas* collectée en avril 2002 auprès de Kairouan (Tunisie) a été testée contre six bactéries, bactéries à Gram positif: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Streptococcus A* (ATCC 11700) Bactéries à Gram négatif: *Escherichia coli* (obtenu à partir de cultures mères de la Faculté des Sciences, Tunis), *Salmonella enteritidis* (ATCC 14028), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13833) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027). L'activité antifongique a été testée contre deux champignons: *Geotrichum candidum* et *Candida albicans*. L'huile essentielle de *L. stoechas* a montré une grande activité antibactérienne contre toutes les bactéries testées. Les bactéries à Gram⁺ étaient plus sensibles que celles à Gram⁻ examinées. La bactérie la plus sensible était *S. aureus*, le nombre de cellules viables a diminué de $3,6 \cdot 10^8$ UFC / mL à $2,2 \cdot 10^3$ UFC / mL après 24 h d'incubation dans la présence de 3,5% d'huile. Alors que *P. aeruginosa* était la plus sensible de toutes les bactéries Gram-testées. Ainsi, l'HE a provoqué une diminution du nombre de cellules de *P. aeruginosa*. Les résultats ont montré aussi qu'un 1% d'huile de *L. stoechas* est capable d'inhiber totalement la croissance de *Geotrichum candidum* et *Candida albicans* (**Bouzouita et al., 2005**).

D'après **Sadani et shakeri, 2016**, L'activité antimicrobienne a été testée contre des bactéries Gram+ et Gram- (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). L'huile essentielle de *L. stoechas* a montré une activité antibactérienne contre la plupart des souches des bactéries testées sauf, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* (tableau X). *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec respectivement 29 et 32 mm de diamètre a montré la sensibilité la plus élevée. Le résultat a montré que *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* étaient résistants aux huiles essentielles testées. Il a été démontré que les bactéries Gram+ (*S. aureus* et *B. cereus*) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les Gram-.

Tableau X: Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *L. stoechas* déterminée par diffusion sur disque. (Sadani et shakeri., 2016)

Bactéries	Quantité de l'huile essentielle (µl)					
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
	Diamètre d'inhibition (mm)					
<i>Salmonella enteritidis</i> (PTCC 1639)	14	11	10	9	0	0
<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 1247)	29	21	19	12	0	0
<i>Escherichia coli</i> (PTCC1399)	17	10	10	9	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (col)	32	25	20	14	7	7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (PTCC1214)	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (PTCC 1393)	-	-	-	-	-	-

La détermination des MIC et MBC montrent également que toutes les bactéries ont les mêmes concentrations minimales d'inhibition et de mortalité, à l'exception d'*Enterococcus faecalis* avec une concentration inhibitrice minimale de 1,32 µL/mL et une concentration minimale de mortalité de 1,16 µL/mL. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *L. stoechas* a révélé une activité antimicrobienne hautement inhibitrice.

Dans une autre étude réalisée par **Ez Zoubi et al., 2016** sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de lavande marocaine contre les bactéries pathogènes isolées des infections urinaires. L'huile essentielle de *L. stoechas* était très active contre *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition de $17,2 \pm 0,8$ mm et modérément active contre *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis* et *Pseudomonas aeruginosa*. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de *L. stoechas* a indiqué que les meilleures valeurs ont été enregistrées pour *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumonia* avec une valeur égale de 2,5 µg / mL, suivi de *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* avec des valeurs CMI de 5 µg / mL pour chaque bactérie. Les résultats ont montré que l'huile essentielle de *L. stoechas* a révélé une activité antimicrobienne hautement inhibitrice, en particulier sur les bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*).

Des tests d'activité antibactérienne ont été réalisés par **Bachiri et al., 2016** sur quatre souches bactériennes pathogènes (*Staphylococcus aureus* « Gram+ » et *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, et *Proteus mirabilis* qui sont des Gram-), à la fois avec les huiles

essentielles et les extraits aqueux bruts de *L.stoechas* et *L. dentata*. Les résultats obtenus ont montré que les huiles essentielles ont un effet puissant, notamment celle de *L. dentata* sur *S. aureus*, avec un diamètre d'inhibition allant jusqu'à 30 mm. Quant aux extraits bruts, ils ont montré une activité antibactérienne modérée contre les bactéries Gram (-) et n'ont eu aucun effet sur les Gram (+).

En Inde, L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *L. stoechas* contre les bactéries infectieuses à savoir, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas spp.* et *Staphylococcus aureus* ont été évalués in vitro. Il s'est avéré que l'huile essentielle de *L. stoechas* présente une activité antibactérienne élevée contre *S. aureus*, *Pseudomonas spp.*, *B. subtilis* et *E. coli* par rapport à l'extrait brut. La Concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *L. stoechas* était de 50 µg mL⁻¹ pour inhiber la croissance de *B. subtilis* et *S. aureus* alors qu'il s'est avéré être de 25 µg mL⁻¹ pour *E. coli* et *Pseudomonas spp.* (Gayatri, 2013).

I.B.10.2. Activité antifongique des huiles essentielles de *L. stoechas* :

D'après Cherrat (2013), l'activité antifongique des HEs testées (*Laurus nobilis*, *L. stoechas* L., *Mentha pulegium*, *Myrtus communis*, *Satureja calamintha* Scheele) a été étudiée contre diverses souches fongiques mais peu de travaux ont été trouvés sur l'activité de ces huiles contre des souches d'*Aspergillus flavus*. Les HEs de *L. stoechas* d'origine italienne a été trouvée efficace dans l'inhibition de la croissance de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus* (Angioni et al., 2006). Une autre étude a confirmé l'efficacité antifongique de l'huile de la lavande qui était capable d'inhiber totalement la croissance radiale de *Botrys cinereae* à 1000 mg/ml (Dimitra et al., 2003).

Benabdelkader et al., (2011) ont évalué l'activité antifongique des huiles essentielles de *L. stoechas* et ils ont confirmé la présence d'une activité antifongique contre les champignons filamenteux (*Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*) et les levures (*Candida albicans*).

Les huiles essentielles de *L. stoechas* testées sur des champignons filamenteux et des moisissures ont démontré une activité antifongique contre diverses souches d'origine clinique (*Candida albicans*, *Candida krusei* et *Candida guilliermondii*) et sur des dermatophytes cliniques (*Epidermophyton floccosum* et *Trichophyton mentagrophytes*), avec des zones d'inhibition comprises entre 0.32 µl/ml et 5 µl/ml (Zuzrate et al., 2013).

Les huiles essentielles de *L. stoechas* ont également démontré une activité antifongique contre *Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum*, mais elles ont eu moins d'effet sur *Aspergillus flavus* (Angioni *et al.*, 2006). L'activité antifongique des huiles essentielles de *L. stoechas* a été rapportée comme étant spécifiquement liée à la présence des composés antifongiques tels que le camphre, le 1,6-cinéol et le fenchone, et à l'effet synergique des composés majeurs et mineurs de cette huile (Ben abdelkader *et al.*, 2011 ; Zuzrate *et al.*, 2011).

I.B.10.3. Activité antioxydante des huiles essentielles de *L. stoechas* :

L'activité antioxydante des huiles essentielles de 11 populations de *L. stoechas* algériennes a été évaluée par deux méthodes différentes (DPPH et β -carotène/acide linoléique) (Benabdelkader, 2012). Les résultats ont montré que toutes les HEs ont été, néanmoins, des inhibiteurs moins puissants de l'oxydation du système β -carotène/acide linoléique et du test de piégeage du radical libre DPPH que les substances de référence, le BHT et l' α -tocophérol.

Une autre étude du pouvoir antioxydant de ces huiles a été réalisée par le DPPH en comparaison avec la vitamine E. Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une activité anti-oxydante de l'huile essentielle des fleurs séchées de *L. stoechas*, mais moins efficace par rapport à la vitamine E (Barkat *et al.*, 2012).

Sebai *et al.*, (2013) ont évalué l'activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH qui a révélé que les composés volatils de *L. stoechas* se caractérisent par une capacité antioxydante élevée ($IC_{50} = 221,43 \mu\text{g/mL}$), bien que cette capacité soit inférieure que celle de l'antioxydant de contrôle (acide ascorbique, $IC_{50} = 87,57 \mu\text{g/mL}$).

Messaoud *et al.*, (2012) ont rapporté une valeur de $IC_{50} = 2321,7 \mu\text{g/mL}$ dans les huiles essentielles de *L. stoechas* tunisienne.

Les caractéristiques antioxydantes des composés phénoliques de *L. stoechas* sont principalement attribuées à leur capacité d'éliminer les radicaux libres ; par exemple, ils réduisent les stress induits chez les rats diabétiques (Sebai *et al.*, 2014) ; ils ont des effets hépatoprotectrices et rénoprotecteurs contre le stress oxydatif induit par le malathion chez les jeunes souris mâles (Selmi *et al.*, 2015).

L'activité antioxydante des huiles essentielles et du l'antioxydant de référence BHT étudiée par la méthode de réduction du radical libre 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrasyl (DPPH), démontre que les huiles essentielles de *L. stoechas* de la région de bouira ont une capacité antiradicalaire modéré où l'IC₅₀ = 4140 ± 0,05 µg/mL par rapport à celui du l'antioxydant de référence BHT (IC₅₀ = 29,62 ± 0,13 µg/mL) (Benabida et Abbou, 2017).

I.B.11. Études pharmacologiques

I.B.11.1. Pouvoir anxiolytique :

Il est reconnu qu'un état anxieux chez un patient atteint d'une pathologie cardiaque ne peut être que délétère à sa guérison et peut induire de nouvelles complications. L'efficacité d'inhalation de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur des patients ayant eu un infarctus du myocarde a été testée (Najafi *et al.*, 2014). Les résultats obtenus montrent une réduction significative de l'état anxieux des patients. De par sa simplicité d'utilisation, l'inhalation d'huile essentielle de *L. stoechas* pourrait être utilisée par les soignants pour permettre une diminution conséquente de l'anxiété chez les personnes cardiaques.

I.B.11.2. Pouvoir anticonvulsivant

L'huile essentielle de *L. stoechas* a été testée sur des souris ayant reçu du pentylène tétrazole (inducteur épiléptogène). Après avoir injecté ce produit, la lavande a permis une réduction significative des convulsions, ainsi qu'un espacement des crises. Dans le même temps, les effets sédatifs du *L. stoechas* ont été prouvés, les souris étant retrouvées détendues et calmes (Gilani *et al.*, 2000).

I.B.11.3 Effets anti-inflammatoires

Les effets anti-inflammatoires de *L. stoechas* ont été évalués en induisant une inflammation via un modèle de lipopolysaccharidemacrophage (LPS). Les résultats de cette étude in vitro ont montré que l'huile essentielle de *L. stoechas* à des concentrations de 0,16 µ L/mL et 0,32 µ L/mL a considérablement réduit la production de nitrite dans les cultures cellulaires sans causer de dommages cellulaires (Zuzarte *et al.*, 2013).

Dans un autre modèle expérimental, Algieri *et al.*, (2016) ont trouvé un effet anti-inflammatoire dans l'extrait de *L. stoechas*, avec des valeurs similaires à celles enregistrées par un anti-inflammatoire stéroïdien (glucocorticoïde dexaméthasone).

Les rats traités avec l'extrait de *L. stoechas* à des doses de 10 mg/kg et 25 mg/kg ont présenté une inflammation réduite des tissus de 1 cm à 2 cm; l'effet anti-inflammatoire a été expliqué par la régulation des précurseurs inflammatoires, y compris la métalloprotéinase matricielle 9, l'oxyde nitrique synthase inductible, la cyclooxygénase 2 et les cytokines pro-inflammatoires. Il a également été démontré que l'extrait de *L. stoechas* présentait une activité inhibitrice dans l'œdème de patte induit par la carraghénine; cependant, il n'a eu aucun effet sur l'œdème de l'oreille induit par le 12-O-tétradécanoylphorbol 13-acétate (TPA) (Amira *et al.*, 2012).

Une concentration de 200 µg/mL a montré la diminution de la viabilité des cellules pro-inflammatoires de 63% après 3 h d'incubation. L'élimination des neutrophiles par apoptose pourrait être impliquée dans la résolution de l'inflammation aiguë, tandis que la réduction des espèces réactives de l'oxygène produit par les neutrophiles, comme l'anion superoxyde et le radical hydroxyle, pourrait être impliqué dans la réduction globale de l'inflammation.

Ez Zoubi *et al.*, (2016) ont démontré que le traitement avec l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *L. stoechas* (10%) induit une diminution significative du volume des pattes des rats, avec une réduction du volume des pattes de $74 \pm 7\%$, par rapport au diclofénac utilisé comme anti-inflammatoire témoin ($69 \pm 10,3\%$). Les flavonoïdes et les extraits mucilagineux réduisent considérablement l'œdème de $85,1 \pm 6,2\%$ et $61,71 \pm 7,3\%$, respectivement, indiquant que les flavonoïdes et les mucilages dans l'extrait de *L. stoechas* peuvent être responsable des effets anti inflammatoires observés.

I.B.11.4 Activité anticorrosion

Belarbi *et al.*, (2018) ont étudié l'activité anticorrosion des huiles essentielles de *L. stoechas* sur acier C38 au carbone. Les résultats obtenus montrent que l'ajout de l'huile essentielle de la plante au milieu induit une diminution de la vitesse de corrosion et une augmentation de l'efficacité inhibitrice de l'huile. Ainsi que l'efficacité d'inhibition augmente avec la concentration de l'huile essentielle de lavande pour atteindre 76,19% à 2 g / L.

I.B.11.5 Activité anticancéreuse

Boukhatem *et al.*, 2020 ont étudié l'activité anticancéreuse in vitro de l'huile essentielle algérienne de *L. stoechas* (LSEO) contre différentes lignées cellulaires cancéreuses. L'huile a

été testé pour son activité antitumorale contre différentes lignées cellulaires cancéreuses. LSEO s'est avéré significativement active contre l'adénocarcinome gastrique humain (AGS), le mélanome MV3, et les cellules MDA-MB-231 de carcinome du sein, avec une concentration inhibitrice médiane (IC₅₀) valeurs de $0,035 \pm 0,018$, $0,06 \pm 0,022$ et $0,259 \pm 0,089 \mu\text{L} / \text{mL}$, respectivement.

I.B.12. Pouvoir insecticide et larvicide:

L'utilisation d'insecticides et de larvicides chimiques est actuellement la technique la plus répandue pour lutter contre les insectes. Cependant, l'utilisation intensive de ces insecticides a provoqué une contamination de la chaîne alimentaire et l'apparition d'insectes résistants. L'utilisation de molécules et d'extraits d'origine végétale apparaît comme la meilleure alternative pour lutter contre les insectes et les larves (Isman, 2000).

El Ouali *et al.*, (2016) ont conclu que l'huile essentielle de *L. stoechas* a un effet positif contre l'Anophèle labranchiae, un vecteur de transmission du paludisme, avec une dose létale de 500 mg / ml (CL₅₀ = 112,51 mg / L; CL₉₀ = 294,51 mg / L).

Bouyahya *et al.*, (2017) ont testé les effets de l'huile essentielle de *L. stoechas* sur trois espèces de *Leishmania* en utilisant le test MTT (bromure de 3 (4,5-diméthylthiazol-2-yl) - 2,5-diphényltétrazolium). Cette étude a révélé une CL₅₀ de $0,9 \pm 0,45 \mu\text{g/ml}$, $7 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$ et $>10 \mu\text{g/ml}$ contre *Leishmania major*, *Leishmania infantum* et *Leishmania tropique*, respectivement. Le camphre, qui est l'un des principaux composés détectés dans l'huile essentielle de *L. stoechas*, est connue par son activité insecticide (Maia *et al.*, 2011; Mazyad et Soliman., 2001).

En effet, le camphre a montré une activité antileishmaniale intéressante contre *L. major* (IC₅₀ = $5,55 \pm 1,27 \mu\text{g} / \text{mL}$) et *L. infantum* (IC₅₀ = $7,90 \pm 0,42 \mu\text{g/mL}$). Le Camphène et le 1,8-cinéol, qui sont les principaux constituants de l'huiles essentielles de *L.stoechas*, auraient été toxiques pour plusieurs espèces d'insectes (Baotong *et al.*, 2003 ; Mazyad et soliman, 2001 ; Ruoyun *et al.*, 2009).

De plus, le 1,8-cinéol a montré une bonne activité larvicide contre *Aedes aegypti* (Cavalcanti *et al.*, 2004).

Les études menées par (**Amirat et al., 2011**) ont montré une bonne activité bio-insecticide de l'HE de *L. stoechas* qui peut agir comme toxiques ou répulsifs. Les huiles de *L. stoechas* manifestent des effets toxiques et répulsifs vis-à-vis des pucerons (*Aphis pomi*), les taux des mortalités de pucerons augmentent proportionnellement avec la dose de l'HE (**Amirat et Tebboub, 2011**).

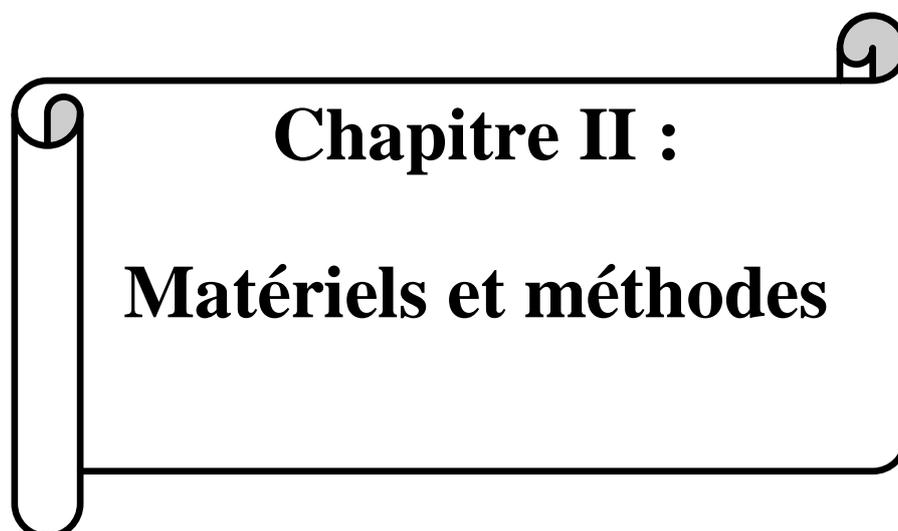
Selon **Ngamo et Hance, (2007)**, une huile essentielle n'exerce pas forcément la même activité aux différents stades du cycle biologique d'un insecte, comme il existe une grande variation dans la sensibilité des espèces d'insectes pour une même huile essentielle.

La toxicité des huiles essentielles sur les insectes est induite par l'action de leurs composés majoritaires (**Seri-Kouassi et al., 2004**). En effet, l'efficacité insecticide des huiles essentielles peut être singulière ou lorsqu'elles sont mises ensemble (**Ngamo et Hance, 2007**).

Selon l'étude de **Bachiri et al., (2018)** sur la valorisation comme bioinsecticide des huiles essentielles de deux espèces indigènes de lavande au Maroc: *Lavandula stoechas* et *Lavandula pedunculata*, les tests de l'activité insecticide de ces huiles chez les adultes de *Tribolium castaneum*, (Tenebrionidae) ont montré que l'huile essentielle de *L. stoechas* a présentait une activité insecticide et répulsive importante qui dépasse l'huile essentielle de *L. pedunculata* (tableau XI). Les temps mortels 50 et 99 (LT50 et LT99) enregistrés à partir d'essais avec l'huile essentielle de *L. stoechas* sont inférieurs à ceux obtenus en *L. pedunculata* pour toute la gamme de concentrations utilisées, ce qui confirme que la première essence est très active par rapport à la seconde.

Tableau XI: Pourcentage de répulsion (%) sur papier filtre des huiles essentielles de lavande étudiées par rapport aux adultes de *Tribolium castaneum* (Bachiri *et al*, 2018)

Espèce	Pourcentage de répulsion%		
	30 μ l	40 μ l	50 μ l
<i>L. pedunculata</i>	33,33 \pm 1,56 ^{a, A}	53,33 \pm 6,54 ^{unB}	73,33 \pm 1,74 ^{a, C}
<i>L. stoechas</i>	46,67 \pm 3,41 ^{b, A}	86,67 \pm 10,03 ^{b, B}	93,33 \pm 1,78 ^{avant JC}



Chapitre II :
Matériels et méthodes

II. 1. Lieu et période de travail :

Cette étude est réalisée au niveau de deux laboratoires pédagogiques ; Laboratoire de biochimie et laboratoire de microbiologie au niveau de l'université de Djilali Bounaama Khemis-Miliana pendant une durée de 3 mois (depuis mars jusqu'à mai 2020)

II. 2. Matériel non biologique

Les équipements, la verrerie et les milieux de culture sont mentionnés dans les Annexes I et II.

II.3. Matériel végétal

II.3.1. Critères de choix

Vu l'importance de la biodiversité de notre région, nous avons essayé d'étudier une espèce végétale : *L. stoechas*, appartenant à la famille des Lamiacées. Le choix de cette plante s'est basé sur :

- Une étude bibliographique et une enquête ethnopharmacologique auprès de la population locale ayant une connaissance de ses usages en médecine traditionnelle
- Ses richesses en substances aromatique (HEs).
- Ses utilisations traditionnelles dans le traitement des maladies d'origine microbienne.

L'étude est réalisée sur la partie aérienne de *L. stoechas*. Après séchage dans un endroit sec et à l'abri des rayons solaires.

II.3.2. Récolte, identification et conservation:

La partie étudiée de la plante *L. stoechas* est la partie aérienne (sommités fleurées). Cette plante a été récolté les mois de Mars et avril 2020 au stade de floraison, où il y'a accumulation importante des substances bioactives, à partir de la population végétale spontanée de la wilaya d'Ain Defla, Algérie.

L'identification botanique de l'espèce *L. stoechas* a été confirmée selon l'encyclopédie des plantes utiles – Flore d'Algérie et de Maghreb. (**Baba Aissa, 1999**)

Le matériel végétal recueilli est séché à température ambiante et à l'abri de la lumière. Une fois séchée, le matériel végétal est conservé à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

II.3.3. Présentation de la zone d'études :

La plante étudiée *L. stoechas* appartient à la famille des Lamiacées. Elle a été récoltée au niveau de la région de Miliana, W. Ain Defla (Figure 5, Tableau XII).

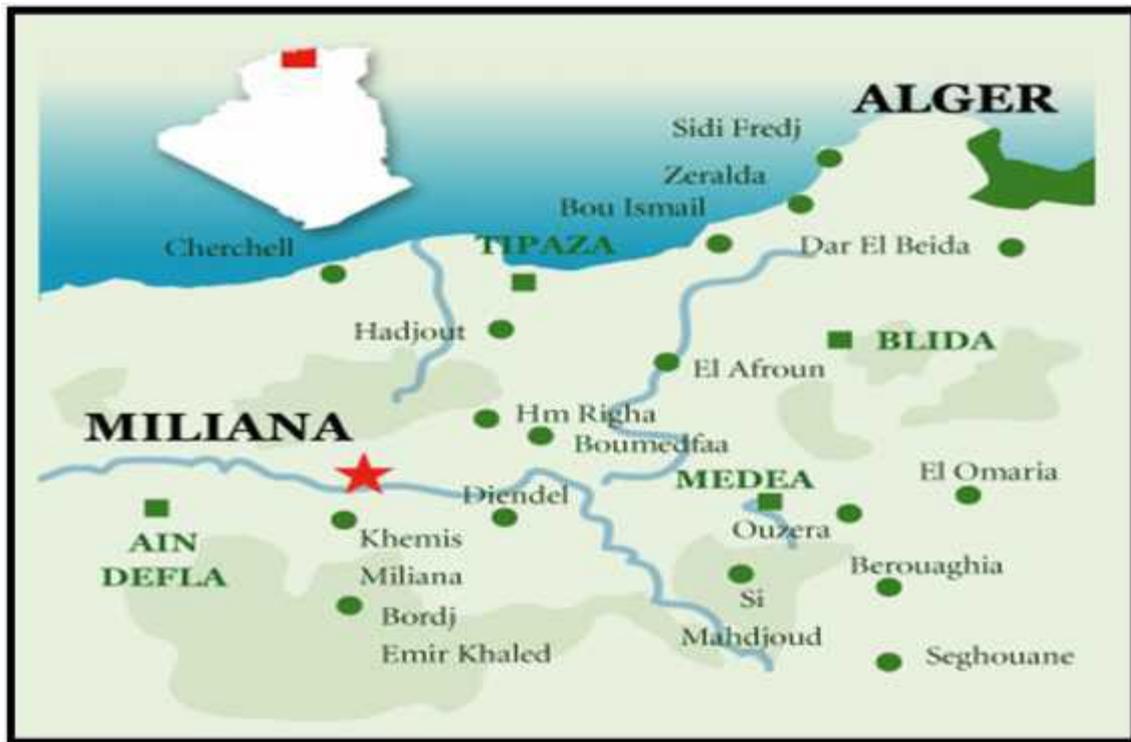


Figure 5. Situation de la zone d'études

Miliana est une commune algérienne de la wilaya d'Ain Defla, elle est située au sud du Dahra, sur les contreforts du mont Zaccar, Les caractéristiques de la région de récolte Miliana, sont notées dans le Tableau XII .

Tableau XII. Caractéristiques géographiques de la région de récolte de la plante.

Région	Miliana
Altitude	400-100m
Latitude	36° 17' N
Longitude	2° 13' O

II.4. Extraction par hydrodistillation des huiles essentielles de *L. stoechas* :

- **Principe**

L'hydro-distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles de *L. stoechas* grâce à un appareil du type Clevenger qui est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) (Clevenger, 1928).

- **Mode opératoire**

L'opération consiste à introduire 100g des parties aériennes de la plante végétale séchée et broyée dans un ballon en verre pyrex puis on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée (un litre), sans remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition.

Les vapeurs chargées des HEs passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. Les HEs, de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4), pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile (Figure 6). Les HEs obtenues sont pesées et conservées dans des flacons en verre. L'opération d'extraction dure trois heures (h) à partir du début d'ébullition (Bajpai *et al.*, 2008).

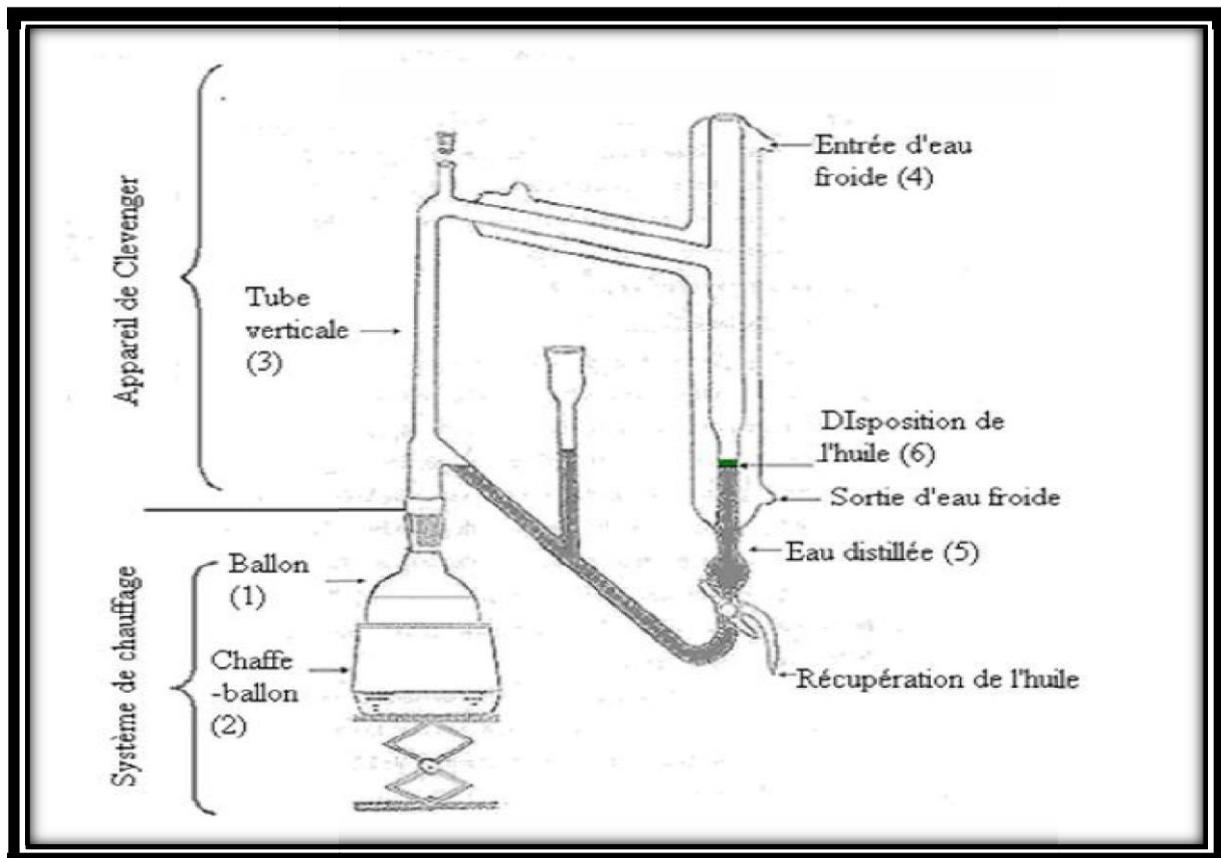


Fig. 06 : Dispositif de l'extraction des HE par hydrodistillation (Clevenger).

II.5. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale (M). (AFNOR, 2000) Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$\text{Rdt}_{\text{HE}} = \frac{M_{\text{HEs}}}{M_{\text{v}} \times 100}$$

R_{HE} : rendement extraits fixes en g /100g de matière sèche.

M_{HE} : quantité d'extrait récupérée exprimée en g.

M_{S} : quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

II.6. Conservation des huiles essentielles obtenues

La conservation des HEs exige certaines précautions indispensables (Burt, 2004). C'est pour cela, les HEs de *L. stoechas* doivent se conserver à une température basse voisine

de (4°C), dans un flacon en verre stérile, opaque, fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière.

II.7. Caractères organoleptiques des huiles essentielles

Chaque huile essentielle est caractérisée par ses caractères organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur (Bentchicou, 1999 ; Hameurlaine, 2009).

- **L'odeur**

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parvient à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'à dix millièmes de grammes par litre d'air.

- **La couleur**

La couleur de l'huile essentielle peut être déterminée à l'œil nu, sauf en présence d'une solution étalon, on peut l'utiliser pour évaluer le degré de ressemblance entre la couleur du produit étalon et celle de l'huile essentielle.

- **L'aspect physique**

L'aspect d'une essence végétale change selon les produits qui la constituent, cette essence peut apparaître sous forme solide, liquide ou semi-solide.

II.8. Taux d'humidité

Le taux d'humidité est la quantité d'eau contenue dans le végétal frais (Taleb-Toudert, 2015).

- **Séchage à l'air libre**

Les feuilles et les fleurs de *L. stoechas* sont disposées pour être séchées à l'air libre. L'échantillon est pesé quotidiennement jusqu'à ce que sa masse P_f devienne constante. La différence entre P_f et P_s représente la quantité d'eau contenue initialement dans l'échantillon utilisé.

Tableau XIII: Poids de matière fraîche de *L. stoechas* avant et après le séchage

Echantillon	La région	Poids de matière fraîche (g) avant le séchage	Poids de matière fraîche (g) après le séchage
<i>L. stoechas</i>	Miliana	310	138

Le taux d'humidité est donné par la formule suivante :

$$H(\%) = (P_f - P_s) / P_f \times 100$$

Où :

P_f : poids frais de l'échantillon (g) ;

P_s : poids sec de l'échantillon (g)

H (%) : Taux d'humidité exprimé en pourcentage.

II.9. Les propriétés physico-chimiques

La connaissance d'indices physiques et chimiques est importante puisqu'elle permet de caractériser, voire d'identifier une huile essentielle.

II.9.1. Les propriétés physiques

II.9.1.1. Calcul de la densité (AFNOR NF T 75-006).

Elle constitue un point de repère important car sa valeur permet d'avoir une idée sur la composition chimique de l'HE. La densité est donnée par l'expression suivante :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : la masse du flacon vide.

m_1 : la masse du flacon rempli d'eau distillée.

m_2 : la masse du flacon rempli d'HE

II.9.1.2. Détermination de l'indice de réfraction (norme NF T 75 – 112)

C'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile maintenue à température constante (Lion, 1955).

- **Principe**

Il est soit pour mesurer directement l'angle de réfraction, soit pour observer la limite de réflexion totale, l'huile étant maintenue dans les conditions d'iso-tropisme et de transparence.

- **Mode opératoire**

- Etalonner l'appareil par l'eau distillée.
- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant le papier de Joseph.
- Déposer quelques gouttes de l'huile essentielle dans la lame et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié.
- Effectuer la lecture en prenant compte la température (20°C).

L'indice de réfraction n_D^t à la température de référence t donné par la formule :

$$[n]_D^{\circ t} = n_D^{t'} + 0,00045 (t' - t)$$

$[n]_D^{\circ t}$: indice de réfraction de référence,

$n_D^{t'}$: indice de réfraction mesurée,

T : température de référence qui est à 20,

t' : température au moment de la mesure.

II.9.1.3 Détermination de pH :

- **Principe**

Le pH donne une indication sur l'acidité ou l'alcalinité du milieu, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogènes libres (H) contenue dans l'huiles essentielles (Audigie *et al.*, 1984)

- **Mode opératoire**

- Régler la température du pH mètre sur le milieu ambiant, rincer toujours la sonde à l'aide d'eau distillée, puis on l'essuie.
- Prendre 100ml d'huile essentielle à analyser dans un bécher,
- Plonger la sonde dans la solution et lire le pH.

II.9.2. Les propriétés chimiques

II.9.2.1. Détermination de l'indice d'acide (AFNOR - NFT - 60 -2000)

Ce paramètre est une variable qui dépend essentiellement des conditions de conservation et surtout des conditions d'extraction. Il est défini comme étant le nombre de mg de KOH nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huiles essentielles. La mesure de l'indice d'acide est réalisée par titrage où les acides libres sont neutralisés par une solution d'Ethanol titrée de KOH (AFNOR, 2000).

- **Mode opératoire**

Le mode opératoire consiste d'introduire 0,5 g d'huile essentielle dans une fiole où on ajoute 5 ml d'éthanol, et 5 gouttes de la solution de phénolphaléine (indicateur coloré). Puis, on fait l'agitation et le titrage avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée ([KOH]= 0.1 mol/l). La couleur jaune claire du liquide (couleur de l'huile essentielle) vire, à la neutralisation, vers une couleur rose. Le volume de KOH qui a servi à la neutralisation est lu directement sur la burette. L'indice d'acide est exprimé par la formule :

$$I_A = \frac{(56,11 \times N \times V)}{m}$$

N : normalité de KOH

V : Volume en ml de la solution éthanolique de KOH utilisée pour le titrage.

m: Masse en grammes de l'huile essentielle.

II.10. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) de l'huile essentielle de *l. stoechas* :

• Principe

L'appareillage GC/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectre de masse correspondant à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la GC en comparant les spectres de masse obtenus avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées. Lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on déclenche plusieurs étapes (**Pradeau et Cohen, 1992**) :

- **Ionisation** : les molécules dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et la température (200°C), il résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de départ.
- **Accélération** : les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant leur énergie cinétique.
- **Séparation** : les ions seront distribués suivant leur rapport masse /charge.
- **Détection** : après séparation les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électrique transportées.
- **Traitement du signal** : le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leur rapport masse/charge.

II.11. Activité Antioxydante

II.11.1. Test de DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α, α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres et il s'agit la méthode la plus largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure. 07) (**Popovici et al., 2009**). Ce test vise à mesurer la capacité de l'huile à piéger le radical relativement stable (DPPH).

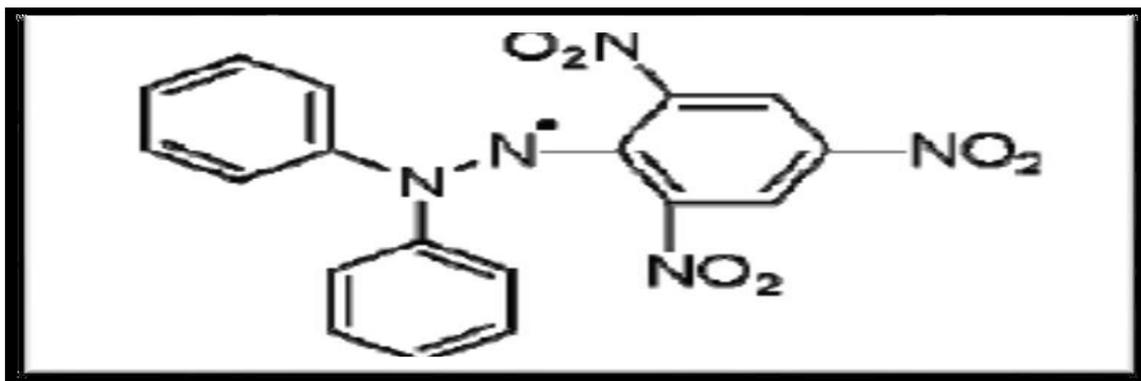


Figure 07. Structure chimique du radical libre DPPH' (Popovici et al., 2009).

• Principe

La réduction du radical libre DPPH' (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance (Abs) à 517 nanomètre (nm) provoquée par les antioxydants (Molyneux et Songklanakarin, 2004). En présence des piègeurs des radicaux libres, le DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H (diphényl-picrylhydrazine) (Figure 08) (Maataoui et al., 2006).

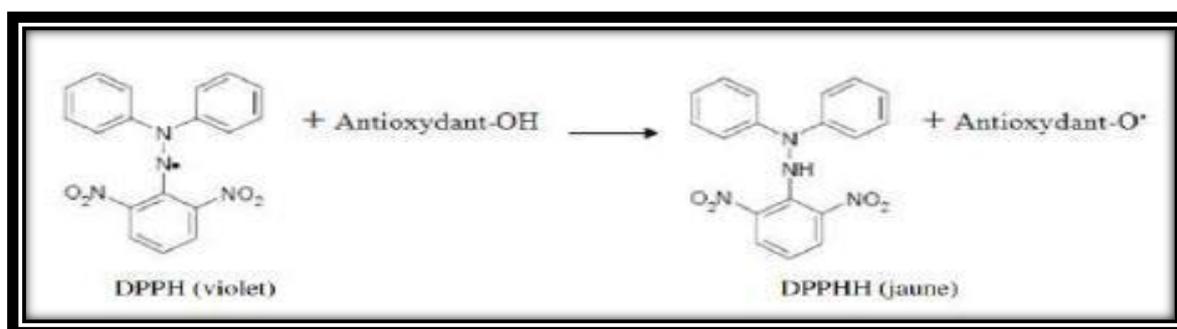


Figure 08. Réaction du test du DPPH (Congo, 2012).

• Mode opératoire

La méthodologie suivie pour l'évaluation de La capacité des HES de la plante à piéger le radical libre DPPH est la méthode décrite par Blois (1958), suivi du calcul de l'IC₅₀ et de l'indice de l'activité antioxydante (AAI) (Scherer et Godoy, 2009).

Le test consiste donc à préparer des solutions mères des HES dans l'éthanol à une concentration de 15 mg/mL. 1,5 mL de chaque solution sont mélangés avec 0,5 mL d'une solution éthanolique de DPPH (0,1mM). En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 1,5mL d'éthanol avec 0,5mL d'une solution éthanolique

de DPPH. Une expérience de contrôle positif est effectuée en utilisant le BHT dont les concentrations varient entre 1 et 60 µg/mL. Les mélanges réactionnels sont agités vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 517 nm. L'expérience doit être réalisée en triplicates.

II. 11.1.1. Calcul du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition (PI%) du radical libre DPPH est calculé par la formule suivante (Leitao *et al.*, 2002 ; Wang *et al.*, 2002) :

$$\text{PI \%} = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

PI : Pourcentage d'inhibition exprimé en %,

A₀: Absorbance de la solution du DPPH' sans échantillon (contrôle négatif).

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

II. 11.1.2. Calcul de la concentration inhibitrice IC₅₀

La concentration inhibitrice (IC₅₀) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire et neutraliser 50% du radical DPPH (Bouhaddouda, 2016) (autrement appelée concentration effective (EC₅₀) correspondant à 50% d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydante de l'HEs) (Mansouri *et al.*, 2001).

L'IC₅₀ utilisée comme une estimation de l'activité antioxydante par DPPH est estimée par extrapolation en traçant la courbe des pourcentages d'inhibition (PI%) en fonction de différente concentration de l'HEs. Cette valeur sera comparée à celle trouvée pour le composé de référence (BHT) (Mansouri *et al.*, 2001).

Les valeurs d'IC₅₀ seront reportées en tant que moyenne plus ou moins l'erreur standard (SD). Une faible valeur d'IC₅₀ indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piègeur du DPPH (Bouhaddouda, 2016).

II. 11.1.3. L'indice de l'activité antioxydante

L'indice de l'activité antioxydante (AAI) est calculé selon l'équation suivante (Bouhaddouda, 2016):

$$\text{AAI} = \text{concentration finale de DPPH } (\mu\text{g/ml}) / \text{IC50}$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suite:

AAI < 0.5 → faible activité antioxydante.

1 > AAI > 0.5 → activité antioxydante modérée.

2 > AAI > 1 → forte activité antioxydante.

AAI > 2 → très forte activité antioxydante.

II. 11.2 Evaluation de l'activité antioxydante par la méthode β carotène/acide linoléique

- **Principe**

C'est l'une des méthodes complémentaires utilisées pour le criblage de substances antioxydantes. Elle est basée sur le principe que l'acide gras insaturé, acide linoléique, s'oxyde spontanément avec les espèces réactives de l'oxygène "Reactive Oxygen Species" (ROS) présentes dans l'eau riche en oxygène. Alors, les produits de réaction déclenchent la transformation du β -carotène en sa forme incolore. Le degré de décoloration est mesuré par spectrophotométrie et utilisé comme une estimation de l'activité antioxydante (AA) (Benabdelkader et al., 2012).

- **Mode Opératoire**

Selon la méthode de Dapkevicius *et al.*, (1998), une solution stock de mélange émulsion β -carotène/acide linoléique a été préparée comme suit : 0,5 mg de cristaux de β -carotène a été dissous dans 1 ml de chloroforme et 1 ml de cette solution a été transféré dans un ballon contenant 25 μ l d'acide linoléique et 200 mg de Tween-40. Après l'élimination complète du chloroforme par évaporation, 100 ml d'eau distillée enrichie en oxygène a été ajoutée sous agitation vigoureuse. Des aliquotes de 2.5 ml de ce mélange ont été transférés dans une série de tubes à essai contenant 350 μ l d'HE diluée dans de l'éthanol qui donne une concentration finale de 2 g/l. Après une agitation vigoureuse, les tubes ont été incubés à 50°C pendant 2 h. Un tube témoin négatif a été construit en remplaçant l'HE par l'éthanol. L'absorbance a été finalement mesurée à 490 nm contre un blanc (émulsion sans β -carotène). Les activités antioxydantes (AA %) sont calculés en utilisant la formule suivante :

$$AA\% = [1 - (A_0 - A_t / A'_0 - A'_t)] \times 100$$

Où :

A_0, A'_0 : absorbance respective de l'échantillon et du contrôle à $t = 0$ min ;

A_t, A'_t : absorbance respective de l'échantillon et du contrôle à $t = 2$ h.

II.12. Activité antimicrobienne

Les méthodes du laboratoire qui permettent d'estimer les propriétés d'un produit *in vitro* sont nombreuses, mais reposent toutes sur le même principe, celui de confronter la substance antimicrobienne (fongicide, bactéricide, insecticide...) et l'agent pathogène (champignons, bactéries, insectes,...) sur un support artificiel.

II. 12. 1. L'activité antibactérienne

II. 12.1.1. Méthode de diffusion à partir d'un disque solide (aromatogramme)

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide est utilisée pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des germes pathogènes vis-à-vis de l'huile essentielle. La technique de Vincent (aromatogramme) permet d'étudier d'une manière fiable et reproductible la sensibilité et la résistance des germes aux huiles essentielles (**Hadouchi et al., 2008**). L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelé antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier sur lequel on dispose une quantité d'extrait.

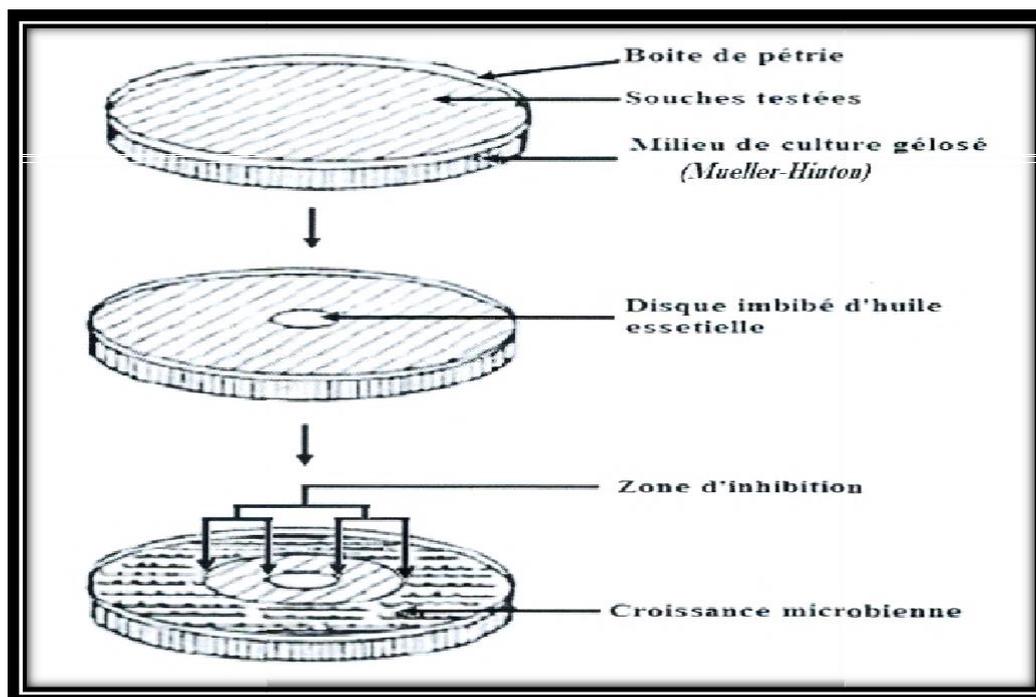


Fig. 09 : Méthode de l'aromatogramme sur boîte de Pétri (Zaika *et al*, 1988)

II. 12. 1. 2.Méthode générale des CMI par dispersion dans le milieu de culture

Cette technique de détermination des CMI, par contact direct en milieu gélosé ou liquide, consiste à disperser l'agent antimicrobien en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture du germe étudié. Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux. Ce problème est résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le Tween 20 et le Tween 80A (Benabdelkader., 2012)

Selon Lucilene *et al.*, (2015) La sensibilité des bactéries à différentes concentrations des huiles essentielles a été déterminée à partir des diamètres des zones d'inhibition. La concentration minimale inhibitrice (MIC) a été définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle pour laquelle un halo d'inhibition a été observé. Cette méthode permet la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentration d'extrait dans le milieu de culture. La gamme de concentration

des extraits végétaux a été préparé dans des eppendorfs stériles par la méthode de dilution de deux en deux (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32) (Oussou *et al.*, 2004), à partir d'une solution mère qui contient 500 uL d'huile essentielle et 500 uL de tween 80.

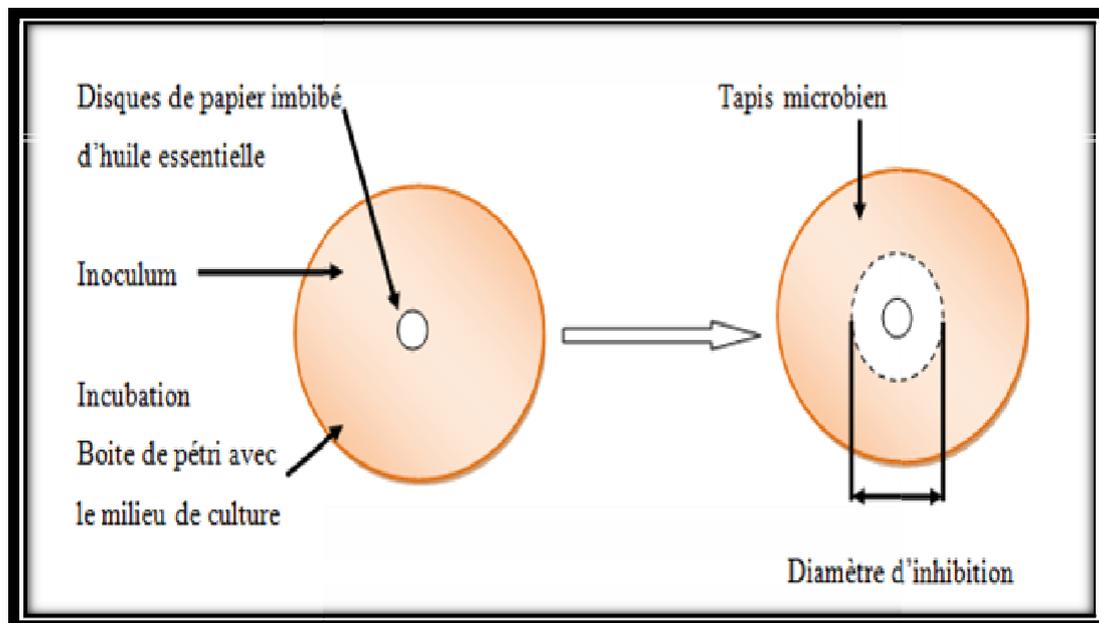


Fig. 10. Principe de la méthode de diffusion par disque

- **Mode opératoire**

- Fondre la gélose au bain-marie à 120°C pendant 15-20 min, puis couler aseptiquement une couche de 4 mm d'épaisseur dans des boîtes de pétri. Ces dernières doivent être séchées durant 30 minutes à la température ambiante.

- A partir d'une culture pure sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette pasteur stérile quelque colonies (cinq colonies) bien isolées et parfaitement identiques.

- Détacher la pipette pasteur dans 10 ml d'eau physiologie stérile 0.9%, pour avoir une solution de 0.5 Mc Farland. Bien homogénéiser la suspension (agitation avec un vortex).

- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum (Ericsson *et al.*, 1988).

- Après la solidification des milieux de culture et la préparation des suspensions

bactériennes réaliser l'ensemencement par écouvillonnage.

- Numéroté la base de chaque boîte de pétri avec des numérotations convenant au nombre de dilution. Une fois les géloses Muller – Hinton ensemencées, les disques seront imbibés dans l'huile essentielle pure à tester. A l'aide d'une pince stérile au bec bunsen, déposer et presser le disque chargé par l'huile essentielle pure sur la surface de la gélose dans la boîte de pétri, une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé. A l'aide d'une micropipette, prélever 20µl de chaque dilution de l'huile essentielle et mettre les sur les disques de papier Whatman .Pour cette méthode, la CMI est définie comme la plus petite concentration d'extrait pour laquelle, il peut avoir un effet.

- Placer les boîtes de pétri dans l'incubateur pendant 18 à 24 heures à 37°C, et à 25 °C pendant 48 heures pour les levures.

- La lecture se fait par la mesure précise des diamètres des halos clairs à l'aide d'une règle qui permet de classer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans l'une des catégories ci-dessous :

Non sensible (résistante) $d < 8\text{mm}$;

- Sensible (+) : $9 < d < 14\text{ mm}$;
- Très sensible (++) : $15 < d < 19\text{ mm}$
- Extrêmement sensible (+++) $d > 20\text{ mm}$.

Plus la zone d'inhibition mesurée est grande, plus le germe est sensible.

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

$$\% \text{ Inhibition} = (D_{\text{test}} / D_{\text{contrôle}}) \times 100$$

D_{test} : diamètre de la zone d'inhibition.

$D_{\text{contrôle}}$: diamètre de la boîte de pétri

II. 13. L'activité antifongique

La méthodologie suivie pour l'évaluation de l'effet antifongique de l'HEs est la méthode de contact direct qui permet la mise en évidence de l'activité antifongique.

- **Principe de la méthode**

L'HE à tester est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Après solidification, le milieu estensemencé et incubé. Les résultats donnent la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle nous n'observons pas de croissance à l'oeil nu (**Tantaoui et al., 1992 ; Kuete et al., 2004**).

II. 13.1. Protocole expérimental

II.13.1.1. Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentration d'huiles essentielles

Compte tenu de la non miscibilité des huiles à l'eau et par conséquence au milieu de culture, une mise en émulsion de ces huiles a été réalisée par le tween 20 afin d'obtenir dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé (**Remmal et al., 1993 ; Satrani et al., 2001**).

La technique consiste à incorporer les milieux de différentes concentrations en HEs et de tween 20, dans le milieu de culture PDA, puis on agite les solutions pendant 5 minutes par une plaque chauffante pour homogénéiser le milieu PDA avec l'HEs.

Ces concentrations seront préparées de la façon suivante :

- Milieu 1 (Témoin): 100 ml PDA + 0,5 ml tween 20.
- Milieu 2: 100 ml PDA + 100µl HEs + 0,5ml tween 20.
- Milieu 3: 100 ml PDA + 250µl HEs + 0,5ml tween 20.
- Milieu 4: 100 ml PDA + 750µl HEs+ 0,5ml tween 20.

II. 13.1.2. Ensemencement et incubation des boites de pétri

- Couler aseptiquement le mélange de chaque milieu, dans des boites de Pétri de 9 cm de diamètre puis laisser ces boites sur la pailleasse pour refroidir et solidifier.

- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, découper un fragment de culture fongique d'environ 6 mm de diamètre à partir d'un tapis mycélien âgée de 7 jours, et déposer le au centre de la boîte de pétri (1 disque/boîte).
- Opérer de la même façon chaque champignon et chaque concentration d'HEs, les boîtes de pétri seront ensuite fermées hermétiquement par le para-film et incubées à 25°C, pendant 7 jours.

Pour chaque concentration, préparer trois répétitions de la même façon, afin de minimiser l'erreur expérimentale.

II.13.2. Expression des résultats

II. 13.2.1. Taux d'inhibition (TI%)

D'après **Doumbouya *et al.*, (2012)**, les taux d'inhibition de la croissance par rapport au témoin sont calculés selon la formule suivante :

$$\text{TI \%} = 100 \times (\text{dC} - \text{dE}) / \text{dC}.$$

TI(%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

dC = Diamètre de colonies dans les boîtes – ddi (mm).

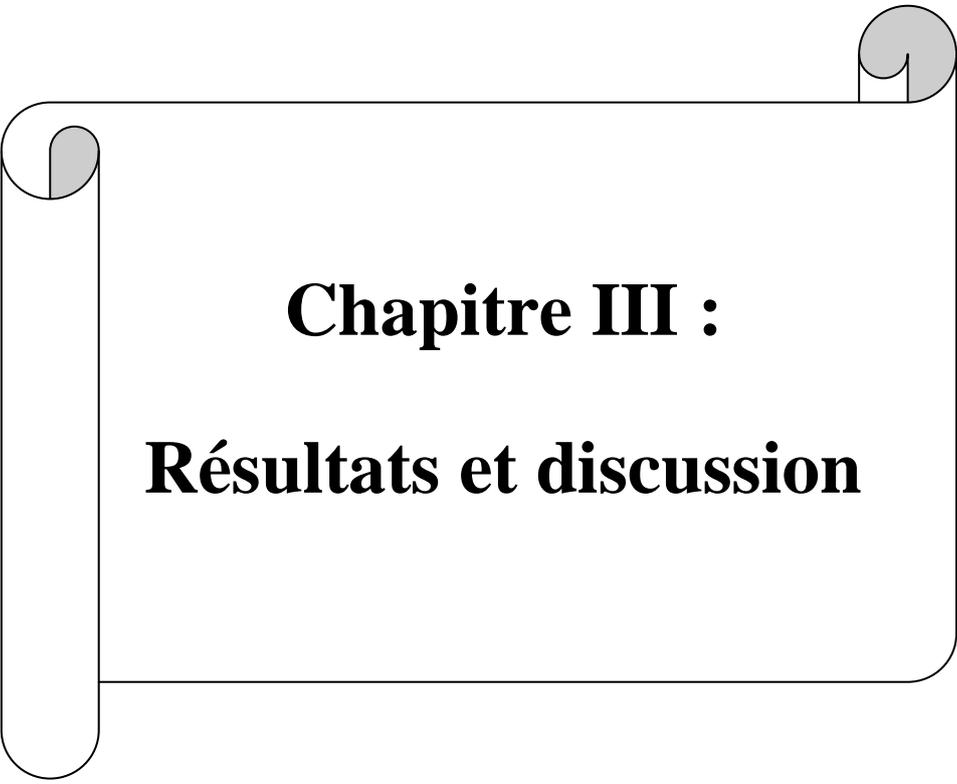
dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante – ddi (mm).

ddi = Diamètre de disque initial (6mm).

II. 13.2.2. Détermination des concentrations inhibitrices (CMI)

La CMI correspond à la plus faible concentration en HEs pour laquelle on n'observe pas de pousse visible à l'œil nu sur le milieu solide (**Ouraïni *et al.*, 2005**).

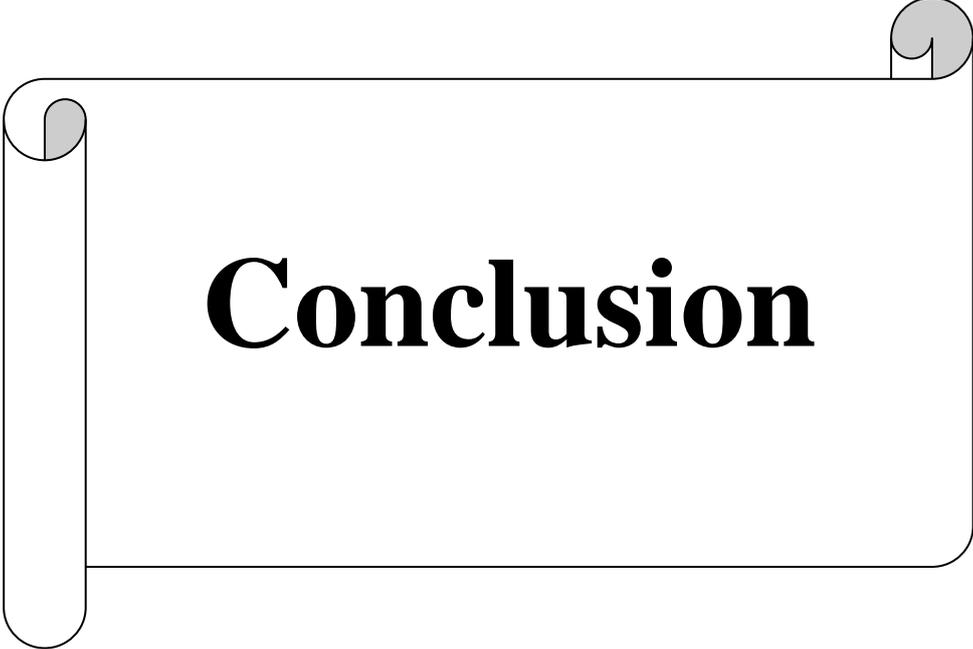
Les boîtes de Pétri dont les concentrations montre une absence totale de la croissance mycélienne; seront sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI).



Chapitre III :
Résultats et discussion

Chapitre III : Résultats et discussions

En cette période de crise sanitaire causée par le Coronavirus, durant laquelle les laboratoires de l'université sont fermés, il n'a pas été possible de faire l'expérimental, et par conséquent, nous n'avons pas pu arriver aux résultats escomptés.



Conclusion

Conclusion et perspective

La région méditerranéenne est caractérisée par une couverture végétale diversifiée. *Lavandula stoechas* est parmi les plantes médicinales et aromatiques les plus importantes de cette région.

Ce travail a pour objectif de valoriser l'huile essentielle et ses activités biologiques d'une plante endémique *L. stoechas* appartenant à la famille des lamiacées. Cette huile essentielle présente un grand intérêt médical et pharmaceutique et même cosmétique.

Les résultats rapportés par la littérature sur les huiles essentielles ont permis de montrer que *L. stoechas* est riche en huiles essentielles avec un rendement estimé (de 0.36% à 0.79%) de différentes régions en Algérie (**Benabdelkader et al, 2012** ; **Tiachadine et Mendel, 2017**), en Italie (3,1%) (**Alberto et al., 2006**), et (2.9%) en Turquie (**Mehmet et al., 2018**).

Les analyses qualitative et semi qualitative de l'huile essentielle de *L. stoechas* menées par GC/SM a permis d'identifier et de quantifier 54 composés à Cherchell (**Dob et al., 2006**), et 49 composés à Constantine (**Barket et Laib, 2012**). Les composés majoritaires sont le fenchone, le camphre, le 1,8-cineol, le linalyl acétate, le camphène le linalol et le limonène.

Les propriétés organoleptiques de l'HE de *L. stoechas* rapportées dans la littérature montrent qu'elle présente l'aspect d'un liquide mobile, limpide de couleur jaune pâle avec une odeur forte et persistante.

Les activités biologiques des huiles essentielles de *L. stoechas* décrits dans la littérature sont principalement dus à la présence de différents molécules bioactives appartenant à plusieurs familles chimiques, telles que les phénoliques, les flavonoïdes et les monoterpénoïdes. Ces composés possèdent des propriétés pharmacologiques, notamment des activités antispasmodiques, sédatives, anti-inflammatoires, antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques, insecticides et larvicides.

L'activité antioxydante des huiles essentielles et du l'antioxydant de référence BHT étudiée par la méthode de réduction du radical libre 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrasyl (DPPH), démontre que les huiles essentielles de *L. stoechas* de la région de Bouira ont une capacité antiradicalaire modéré où l'IC₅₀ = 4140 ± 0,05 µg/mL par rapport à celui du l'antioxydant de référence BHT (IC₅₀ = 29,62 ± 0,13 µg/mL). Les résultats de **Benabelkader (2012)** ont montré que toutes les HEs de *L. stoechas* ont été, néanmoins, des inhibiteurs moins puissants

Conclusion et perspectives

de l'oxydation du système β -carotène/acide linoléique et du test de piégeage du radical libre DPPH que les substances de référence, le BHT et l' α -tocophérol.

Les résultats rapportés par la littérature sur le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *L. stoechas* par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide, démontrent que ces huiles ont un pouvoir inhibiteur contre un ensemble de bactéries pathogènes, Gram+ (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*) et Gram- (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus*). L'évaluation de l'effet antifongique des huiles essentielles par la méthode de contact direct a révélé une activité inhibitrice vis-à-vis les champignons *Fusarium moniliform*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger* où la concentration minimale inhibitrice est égale (CMI= 0,75%).

Les huiles essentielles de *L. stoechas* ont présenté de forts pouvoirs insecticides contre l'*Anophèle labranchiae*, *Leishmania major* et *Leishmania infantum*, *Aphis pomi*, *Tribolium castaneum*.

Enfin, sur la base de toutes les activités biologiques démontrées par l'HE de *L. stoechas* dû à la synergie de ses divers constituants, cette huile peut être proposée comme un alternatif agent: antimicrobien, anti-oxydant, anti-inflammatoire, insectide, larvicide et sédative, sachant qu'aucune démonstration de l'effet de cette huile provient de la même espèce a été signalée.

Ce travail peut être le pont d'appui pour une étude plus détaillée des extraits de *L. stoechas* où il serait intéressant :

- D'utiliser des essences de la lavande dans la désinfection de l'air dans les hôpitaux ou encore dans la lutte contre les infections nosocomiales.
- Evaluer l'activité antimicrobienne et cicatrisante des huiles essentielles et extraits éthanoïques.

Références bibliographiques

- AFNOR., 2000.** Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2). Paris
- AFNORNF T 75-006.,** huile essentielle. Association française de normalisation. Paris. pp559-563.
- Algieri F., Rodriguez-Nogales A., Vezza T., Garrido-Mesa J., Garrido-Mesa N., Pilar Utrilla M., et al. 2016.** Anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extracts of *Lavandula dentata* L. and *Lavandula stoechas* L. *J Ethnopharmacol.* 190:142–58.
- Allegrini, J., Simmeon de Buochberg, M., Billot, A. 1973.** Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. *Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier.* Pp : 33, 73-86.
- Amara N., Boukhatem MN., Ferhat MA., Kaibouche N., Laissaoui O., Boufridi A. 2017 :** Applications potentielles de l'huile essentielle de lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.) comme conservateur alimentaire naturel .*Phytothérapie.* 16:S164–S172.
- Amira S., Dade M, Schinella G., Ríos JL. 2012.** Anti-inflammatory, antioxidant and apoptotic activities of four plant species used in folk medicine in the Mediterranean basin. *Pak J Pharm Sci.* 25(1):65–72.
- Amirat N., Tebbob S., Sebti M., 2011.** Effet Insecticides de l'huile essentielle chémotypées de deux plantes aromatiques *lavandula stoechas* et *origanum glandulosum* de la région de Jijel.
- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P. 2006.** Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* 54:4364–4370
- Asimgil, A. (1997).** *Sifali Bitkiler.* İstanbul Tımas Yayınları. pp. 147–148.
- Audigie C.L., Fagerella J., Zonszain F, (1984).** Manipulation D Analyse Biochimique. Edition Tec & Doc, Lavoisier. Paris. P : 270.
- Baba Aissa F., 1999.** Encyclopédie des plantes utiles-Flore d'Algérie et du Maghreb. Ed ; Librairie Modern –Rouïba. Pp : 20-21,171-173.
- Bachri L., Echhegadda G., Ibijbijen J., Nassiri L. 2016.** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Journal of Scientific.* 26 (30) :313-329.
- Bachiri L., Bouchelta Y., Bouiamrine E H., Echhegadda G., Ibijbijen J., Nassiri L. 2018.** Valorization as bioinsecticide of the essential oils of two indigenous lavender species in Morocco: *Lavandula stoechas* and *Lavandula pedunculata*. *Int J Herb Med.* 6(2):86-90

Références bibliographiques

- Badreddine BS., Olfa E., Samir D., Hnia C., Lahbib BJ. 2015.** Chemical composition of Rosmarinus and Lavandula essential oils and their insecticidal effects on *Orgyia trigotephras* (Lepidoptera, Lymantriidae). *Asian Pac J Trop Med.* 8(2): 98-103.
- Bajpai V.K., Skukla S and Kang S.C. 2008:** Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. *Bioresource Technology* 99: pp 8903-8908.
- Baptista R., Madureira AM., Jogre R., Aadao R., Duarte A., Duarte N., Lopes MM, Teixeira G. 2015.** Antioxidant and antimycotic activities of two native lavandula species from Portugal. *Evid Based Complement Alternat Med.*(en ligne).(mis à jour 2020; consulté le 12 septembre 2020). Disponible sur : <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2015/570521/>.
- Baotong L., 2003.** Bioactivity of camphor against the long-horned beetles (*Anoplophora chinensis* and *Nadezhdiella cantori*). *Acta Phytophylacica.* 30 (2):166–70.
- Barkat M., LAIB Imen. 2012.** Activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula stoechas*. Mémoire de Master. Université Mentouri Constantine, Algérie.
- Baytop T. 1999.** Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). No. 3255 (2nd ed., pp. 244–245). Istanbul: Publications of the Istanbul University.
- Bego Ph. 2001.** Connaitre l'essentiel sur les huiles essentielles. Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris, p.2-3
- Belaiche P. 1979.** Aromatogramme. In *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. Edition Maloine-S-S. Tome I. p. 9-20.
- Belarbi N., Dergal F., Chikhi I. et al. 2018:** Study of anti-corrosion activity of Algerian *L. stoechas* oil on C38 carbon steel in 1 M HCl medium. *Int J Ind Chem* 9. 115–125.
- Belhadj SK., Mahdjoub MA., Ammar S., Chraief I., Mighri Z., Aouni M. 2006.** Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle de *Coridothymus capitatus* (L.). Université de Monastir. Tunisie p. 73.
- Bellakhdar J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. IBIS Pess.318 P.
- 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., Legendre L., Kameli A. 2011.** Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula*

Références bibliographiques

stoechas L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties, Chem Biodivers. 8(5): 937-953.

Benabida W., Abbou H., 2017. Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. Mémoire de master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

Benayad N. (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Université Mohammed V-Agdal, Maroc, 61.

Benjilali B. 2004. Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles Essentielles : de la plante à la commercialisation. P 17-59.

Bentchicou A. 1999. « Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de thym D'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG) » ; thèse d'ingénieur ; université de Médéa.

Besombes C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse Doctorat. Université de La Rochelle. p : 41-45.

Binet P, Brunel JP. 2000. Physiologie Végétale. Tome II. Edit Doin. P: 54.

Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 181, 1199-1200.

Bouaine A. (2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales : Lentisque et Myrte. Master, Faculté des sciences et techniques, Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès : 44 p

Bouhaddouda N. 2016. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar – Annaba. Algérie.

Boukhatem MN., Sudha T., Darwish NHE., Chader H, Belkadi A., Rajabi M., Houche A., Benkebailli F., Oudjida F., Mousa SA. 2020. A New Eucalyptol-Rich Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Essential Oil: Emerging Potential for Therapy against Inflammation and Cancer. Molecules. 25(16):3671..

Bouillard B. 2001. Plantes médicinales du monde, croyances et réalités. Edition ESTEM. p306-307.

Références bibliographiques

- Bouyahya A., Et-Touys A., Abrini J., Talbaoui A., Fella H., Bakri Y., Dakka N. 2017.** *Lavandula stoechas* huile essentielle du Maroc comme nouvelle source d'activités antileishmania, antibactériennes et antioxydantes. *Biocatal Agric Biotechnol.* 12 : 179 - 84.
- Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., et Chaabouni M. 2008.** Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Société Chimique de Tunisie.* 10 : 119-125.
- Bouzouita N., Kachouri F., Hamdi M., Chaabouni MM., Ben Aissa R., Zgoulli S., et al. 2005.** Composants volatils et activité des *Lavandula stoechas* L. Huile de Tunisie *J. Essent. Oil Res.* 17,584-586. p-2-3-4.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales, *Tec et Doc.* 3ème Ed. Paris.
- Burt S. (2004).** *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review.* *International journal of food microbiology.* 94(3): p223-253.
- Cavalcanti ESB., de Morais SM., Lima MAA., Santana EWP. 2004.** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 99:541–4.
- Cherrat L. 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 science et techniques- Tanger.
- Clevenger JF. 1928.** Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* 467–503.
- Dadalioglu I, Evrendilek GA. 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 Agric Food Chem.* 52(26) : 8255-8260.
- Daouda T. 2015.** Etudes Chimique et Biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire .Thèse de doctorat. Université Felix Houphoet Boigny Côte d'Ivoire
- Dapkevicius A., Venskutonis R., et al. (1998).** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. *J. Sci. Food Agr.* 77, 140-146

Références bibliographiques

- Dimitra J.D., Basil N.Z. and Moschos G.P. 2003.** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*. 22, 39-44.
- Dob T., Dahmane D., Agli M., Chelghoum C. 2006.** Essential Oil Composition of *Lavandula stoechas* from Algeria *Pharmaceutical Biology*, 44(1): 60–64. (En ligne). (Mis à jour 2020; consulté le 10 Mars 2020). Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/232083941>
- Doumbouya M., Abo kouabenan. L., Nicaise A., Camara B., Kanko K., Aidara D. and Kone D. 2012.** Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d’Ivoire. *J. Appl. Biosci.* P 3523-3530.
- Dupont F., Guignard JL. 2012.** *Botanique : Les familles de plantes*. Ed Elsevier Masson SAS. Issy-les- Moulineaux Cedex, France. pp. 237–240.
- Duraffound C., Hervicourt L., Lapraz JC. (1990).** Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.
- El-Hilaly J., Hmammouchi M., et al. (2003).** Ethnobotanical studies and economic evaluation of medicinal plants in Taounate province (Northern Morocco). *J.Ethnopharmacol.* 86, 149-158.
- El Ouali LA., El-Akhal F., Maniar S., Ez zoubi Y., Taghzouti K. 2016.** Composants chimiques et activité larvicide de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (Lamiaceae) du Maroc contre le vecteur du paludisme *Anopheles Labranchiae* (Diptera: Culicidae). *Int J Pharmacognosie Phytochem Res.* 8 (3): 505 - 11.
- Ericsson HM., Sherris JC. 1971.** Antimicrobial susceptibility testing-Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, Sect. B. Suppl. 217.Pp:1-90.
- Ez zoubi Y., Bousta D., Farah A. 2020.** A Phytopharmacological review of a Mediterranean plant: *Lavandula stoechas* L. 6: 9.
- Ez zoubi Y., Bousta D., El Mansouri L., Boukhira S., Siham L., Achour S., et al. 2016.** Phytochemical screening, anti-inflammatory activity and acute toxicity of hydro-ethanolic, flavonoid, Tannin and Mucilage Extracts of *Lavandula stoechas* L from Morocco. *Int J Pharmacognosy Phytochem Res.* 8(1):31–7.

Références bibliographiques

- Fernandez, X. Chemat, F. Tiêndo TK. 2012.** « Les huiles essentielles - Vertus et applications », Ed. Vuibert, Paris. p.160.
- France-Ida J. (1996).** Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. Info-essence. 3 : 5-6.
- Gayatri M C., Sudha U., Shubha J., Kavya K. 2013.** Evaluation of antibacterial activity of LAVANDULA STOECHAS L. essential oil. Journal of Spices and Aromatic crops .22(2): 188-193.
- Gilani AH., Aziz N., Khan MA., Shaheen F., Jabeen Q., Siddiqui BS., Herzig JW. 2000.** Ethnopharmacological evaluation of the anticonvulsant, sedative and antispasmodic activities of Lavandula stoechas L., J Ethnopharmacol. (1-2), 161-167.
- Giray ES., Kırıcı S., et al. 2008.** Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta* **74**, 930-935.
- Gören AC., Topçu G., Bilsel G., Bilsel M., Aydogmus Z., Pezzuto J. M. 2002.** The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences*. 57(9-10), 797-800
- Grieve M. 1971.** *A Modern Herbal*, Vol. II (New York: Dover Publications, Inc; ISBN 0-486-22799-5)
- Guinoiseau E. 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse de Doctorat, Université de Corse, 114
- Guitton Y. 2010.** Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de doctorat, Université de Saint Etienne, France. P25
- Guyot-Declerck C., Renson S., Bouseta A. Collin S. 2002.** Floral quality and discrimination of *Lavandula stoechas*, *Lavandula angustifolia*, and *Lavandula angustifolia* x *latifolia* honeys. *Food Chemistry*. **79**, 453-459.
- Hadji-Minaglou F., 2012** .La connaissance des huiles essentielles : qualité et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Paris. P39
- Haddouchi F., Benmansour A, 2008.** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques: Applications à deux plantes aromatiques. Les technologies de laboratoire. 8 (3).Pp. 20-27.

Références bibliographiques

- Hamel T., Sadou S., Seridi R., Boukhdir S., Boulemtafes A.** Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'edough (nord-est algérien) *Ethnopharmacologia* mars 2018, n°59, p.76.
- Hameurlaine S. 2009.** Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhanterium adpressum* de la région de Ghardaia ; mémoire de magister ; université de Kasdi Merbah-Ouargla.
- Hobbs WR., Rall TW., Verdoorn TA. 1996.** Hypnotics and sedatives: ethanol. In: Hardman JG, Limbird LE, Molinoff PB, Ruddon RW, Gilman AG, editors. Goodman and Gillman's the pharmacological basis of therapeutics. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc. p. 361–83.
- Imelouane B., Elbachiri A., Ankit M., Benzeid H., Khedid K. 2009.** Physico-chemical composition and antimicrobial Activity Of essential Oil of Eastern Moroccan *Lavandula dentata*. *International journal of Agricultural Biology.*, vol.11, p.113-118.
- Isman MB., 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect.* 19, 603–608.
- Kaibouche N., Laissaoui O., 2016.** Essai d'applications de l'huile essentielle du lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.) sur ses activités biologiques (antimicrobienne et insecticide). Mémoire de Master. Université Saad Dahleb, Blida1.
- Kuete V., Penlap Beng V., Etoa f-X., Modjo S.L., Bogne P., Assob J.C. et Lontsi D. 2004.** Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medica* in (Rutaceae). *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Vol. 13, 91-101
- Kulevanova S., Stetkov G., Ristic M. 2000.** Examen de l'essentiel huiles de *Lavandula officinalis* cultivé sur la montagne KOZJAK (MACÉDOINE). *Taureau. Chem. Technol. Macédoine* 19 (2): 165-169.
- Lagunez –Rivera L. 2006.** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse ; p. 31-42.
- Leitao GG., Leitao SG., Vilagag W. 2002.** Quick preparative separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography. *Z. Naturforsch. J.*, 57, 1051-1055
- Lim T. K. 2014.** *Edible medicinal and non-medicinal plants* (Vol. 1, pp. 656-687). Springer.
- Lion., 1995.** *Travaux Pratiques De Chimie Organique.* Ed. Dunod, Paris

Références bibliographiques

- Lis-balchin M. 2002.** *Lavender, the genus Lavandula*. London & New York: Taylor and Francis, 268p.
- Lucilene FS., dasgraças Cardoso M., Batista LR., Marcos de Souza G., Rodrigues LMA., Danúbia Aparecida., et al. 2015.** Chemical Characterization, Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oils of *Mentha viridis* L. and *Mentha pulegium* L. (L) American Journal of Plant Sciences. Pp:271-:668
- Maataoui B S., Hmyene A., Hilali S. 2006.** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). Lebanese Science Journal. (1):3-8.
- Mahmoudi Y. 1982.** *La thérapeutique par les plantes communes en Algérie*. Blida, Algérie: Palais de livre. pp. 55-58.
- Maia MF., Moore SJ. 2011.** Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malar J.* 10(1):S11.
- Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El ghadraoui L., Guedira A., Aafi A. 2001.** composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *juniperus communis* du maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, **Vol. 80**, p. 791 – 805.
- Manzoor IM., Khan MA.1969.** Isolation of new compounds from *Lavandula stoechas*. In: Said M, editor. *Hamdard pharmacopoeia*. Karachi: Hamdard National Foundation. p. 480–2.
- Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi Ch., Fernandez X. 2010.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research.* 4(10): 959 -964.
- Mazyad SAM., Soliman M. 2001.** Laboratory evaluation of the insecticidal activity of camphor on the development of *Oestrus* larvae. *J Egypt Soc Parasitol.*; 31(3):887–92.
- Menaceur F. 2011.** Composition chimiques et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus eriocalyx*) et de la lavande (*Lavandula stoechas*). Mémoire de magister. Option : Science alimentaire. Ecole nationale supérieure agronomique El-harrach, Alger.
- Messaoud C., Chograni H., Boussaid M. 2012.** Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild *Lavandula* L. species. *Nat Prod Res.* 26(21):1976–84.
- Mohammed Zohra. 2006 :** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Algérie. Thèse de Magistère En Biologie. Option : Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen.

Références bibliographiques

- Mohammedi Z., Atik F. 2012.** Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L. *Revue « Nature & Technologie »*. n° 06 : P34.
- Mougou I., 2019.** L'ail (*Allium Sativum*): Activité antimicrobienne et effets multiples. Editions universitaires européennes.
- Molyneux P., Songklanakarin J. 2004** .The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* .Vol 26 (2): 211-219.
- Naghibi N; Niaz A., Syed Wadood A., 2005.** Antispasmodic activity of teucrium stocksianumboiss. *Department of pharmacy: university of Malakand, Pakistan* (174p).
- Najafi Z., Aghadosi M., Sharifi K., Farrokhian A., Tagharrobi Z.2014.** The effects of inhalation aromatherapy on anxiety in patients with myocardial infarction: a randomized clinical trial, *Iran Red Crescent Med J.*, 16(8),
- Ngamo LST., Hance Th., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternative de lutte en milieu tropical. *Tropicultura.*, 25, 4, 2015-220.
- Nadkarni, K. M. 1982.** *Indian Materia Medica*, third ed. Popular Prakashan, Bombay, p.730.
- Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Benlemlih M., Alaoui M., Belabbas. 2005.** Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines phytothérapie numéro. 1: 3-12.
- Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. 2006.** Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat- *Meat Science*, Vol. 73, pp236-244.
- Oussou K.R., Kanko C., Guessennnd N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., et al. 2004.** Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte d'Ivoire ; *C.R. Chimie*. Pp : 292-297.
- Pastre J., Priymenko N. 2007.** Intérêt des anti-oxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques. *Revue Méd. Vét.* (4) .p :187.
- Patricia B. (2003).**l'utilisation des huiles essentielles dans les affections inflammatoires en complément du traitement ostéopathique. Mémoire du diplôme ostéopathie animal, European School of Animal Osteopathy. 2005 pp 10, 11.
- Peter K. V. 2004.** Handbook of herbs and spices. v. 1. Woodhead publishing.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009.** Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4): 8p.

Références bibliographiques

- Pradeau D., Cohen Y., (1992).** L'analyse pratique du médicament. Ed. *Medicalsinternationals*, 418-428.
- RAMDANE F. 2018.** Contribution à l'étude des activités biologiques de quelques plantes médicinales du Sahara algérien: *Nauplius graveolens*, *Ziziphus lotus* et *Capparis spinosa* thèse de doctorat en science biologique Université Kasdi Merbah – Ouargla .p33.
- Ruoyun Y, Yali S, Shuchiu S, Shengchi C, Sungyan H, Jiunncheng L. 2009.** Evaluation of the antibacterial activity of leaf and twig extract soft out camphor tree, *Cinnamomum kanehirae*, and the effects on immunity and disease resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immun.* 27(1):26–32.
- Remmal A., Tantaoui-Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K et Ettayebi M. 1993.** Improve method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Ess. Oils Res.* 5:179-184.
- Said H M. 1996.** *Medicinal Herbs*, Vol. 1. Bait al-Hikmah, Madinat al-Hikmah: Pakistan.
- Sadani S., Shakeri A. 2016.** Antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* flowers extracted by microwave, *Journal of Medicinal Plants Studies.* 4(3): 224-228.
- Satrani B., Farah A., Fechtal M., Blaghen M et Chaouch A. 2001.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha et Satureja alpina* du maroc. *Ann. Fais. Exp. chim.* 94(956) :241-250.
- Scherer R., Godoy HT. 2009.** Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.*, 112 pp. 654-658.
- Sebai H., Selmi S., Rtibi K., Souli A., Gharbi N., Sakly M. 2013.** Lavender (*Lavandula stoechas* L.) essential oils attenuate hyperglycemia and protect against oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Lipids Health Dis.* 12(1):189.
- SEBAI H., SELMI S., RTIBI K., GHARBI N., SAKLY M. 2015.** Protective Effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats, *J Med Food.*, 2015, 18(2), 241-249.
- Sebai H, Selmi S, Rtibi K, Gharbi N, Sakly M. 2014.** Protective effect of *Lavandula stoechas* and *Rosmarinus officinalis* essential oils against reproductive damage and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *J Med Food.*;18(2):241–9.
- Sébastien D. 2019.** Les huiles essentielles chez la personne âgée, conseil à l'officine. Sciences du Vivant .Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de Bordeaux.

Références bibliographiques

- Selmi S, Jallouli M, Gharbi N, Marzouki L. 2015.** Hepatoprotective and Renoprotective Effects of Lavender (*Lavandula stoechas* L.) Essential Oils against Malathion-Induced Oxidative Stress in Young Male Mice, *J Med Food*.18 (10), 1103-11
- Seri-Kouassi B P., Kanko C., Aboua LRN., Bekon KA., Glitho AI. 2004.** Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *C. R. Chimie* 7, pp : 1043–1046.
- Simonpoli P. 1993.** In *Arburi, Arbigliule, Savoirs populaires sur les plantes de corse*. Parc Naturel Regional de la Corse, Ajaccio, Corsica
- Simpson WT. 1999.** Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes. Gen. Tech. Rep. FPL- GTR- 113. Madison, Forest Products Laboratory.463 p.
- Skoula, M., Abidi, C., & Kokkalou, E. (1996).** Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp.*stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(3), 255-260.
- Smallfield B. 2001.** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop et Food Research* (45): 1-4.
- Tantaoui-Elaraki A., Lattaoui N., Benjilali B et Errifi A. 1992:** antimicrobial activity of four chemically différent essential oils. *Rivista italiana e.p.p.o.s.* 6:13-22.
- Twidwell EK., Wagner JJ., Thies Nancy J. 2002.** Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages. 8077p.
- Upson, T. and Andrews, S. (2004).** *The genus Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber Press. p 442.
- Usmanghani K., Saeed A. et al. 1997.** *Indusynic Medicine. Traditional Medicine o Herbal, Animal and Mineral Origin in Pakistan*, University of Karachi, University of Karachi Press, p 273.
- Valnet J. 2000.** Aromathérapie. Ed. Maloine S. A.alteration of *saccharomyces cerevisiae*. *Phytother. Res.* 19(5), 405-8.
- Verma RS., Laiq U., Rahman S., Chandan S., Chanotiya K., Rajesh K., el al. 2009.** Composition d'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivé au milieu des collines de l'Uttarakhand, en Inde. *J. Serbe. Chem. Soc.* 75 (3): 343–348.
- Wang S.Y., Wu J.H., Shyur L.F., Kuo L.H., and Chang ST. 2002.** Antioxidant activity of Abietane-Type Diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata, *Holzforschung*. p. 56.

Références bibliographiques

Zaika LL. 1988: Spices and Herbs – Their Antimicrobial Activity and Its determination. Journal of Food Safety. 9(2).Pp : 97-118.

Ziani N., Yahya Bey W. 2016: L'effet de séchage de quelques plantes médicinales de la famille des lamiacées sur l'activité antibactérienne. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

Zuzarte M, Goncalves MJ, Cavaleiro C, Cruz MT, Benzarti A, Marongiu B, et al. 2013: Antifungal and anti-inflammatory potential of Lavandula stoechas and Thymus herba-barona essential oils. Ind Crop Prod.44:97–103.

ANNEXES

Annexe I. Appareillage et verrerie

Tableau 1. Liste d'appareillages, de verrerie et consommable.

Appareillage	Verrerie et consommable	Solutions et réactifs
<ul style="list-style-type: none"> - Autoclave - Balance de précision - Balance de paillasse - Bec bunsen - Chauffe ballon 1 L - Cryostat - Etuve isotherme - Hotte à flux laminaire avec lampe UV - Hydrodistillateur type Clevenger - incubateur bactériologique (25°C, 35°C, 42°C) - Plaque chauffante - Spectrophotomètre - Vortex - Bain marie - Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectroscopie de Masse de - Four Pasteur - Réfrigérateur - Réfractomètre 	<ul style="list-style-type: none"> - Anse de platine - Ballons à fond plat à col rodé - Bêchers : 100 ml, 250 ml, 500 ml - Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre - Disques d'antibiotiques - Disques d'aromatogramme Whatman n°1, 6 mm - Écouvillons Stériles - Eprouvettes - Erlenmeyer 100 ml, 250 ml - Fioles - Flacons avec bouchon - Pincettes - Pipettes graduées stériles - Pipettes Pasteurs - Seringues - Spatule inox - Tubes à essai - Verres de montre 	<ul style="list-style-type: none"> - 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) - Butylated hydroxytoluene - Eau distillée - Eau physiologique - Ethanol - Dimethyl sulfoxide - L'huile essentielle de l. stoechas - Phénolphtalléine - Vitamine C - KOH (Hydroxyde de potassium) -DMSO (Diméthylsulfoxyde).

ANNEXES

Annexe II. Les milieux de culture et leurs compositions

Tableau 2. Composition des milieux de culture

Milieux de cultures	Constituants	Quantité (g/l)
gélose nutritif	Peptone	10
	Extrait de viande	03
	NaCl	05
	Agar-Agar	18
	Extrait de levure	05
	PH	7,3 ± 0,2
Bouillon de Sabouraud	Tryptone	5,0
	Peptone pepsique de viande	5,0
	Glucose.	20,0
	PH	5,7 ± 0,2
Mueller Hinton	Infusion de viande de boeuf	3,0
	Hydrolysate de Caséine	17,5
	amidon	1,5
	Agar- Agar	16,0
	Ph	7,3
sabouraud	Peptone	10
	Glucose	20
	Agar-agar	20
	PH	5,6 ± 0,1
Bouillon nutritif	Peptone	5,00
	Extrait de viande	3,00
	pH	6,8 ± 0,2
L'eau physiologique	Chlorure de sodium (NaCl)	8,5
	PH	7