

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجبالي بونعامة خميس مليانة

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de la Technologie



Mémoire du projet de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutique

Thème

**Caractérisation d'une pommade préparée à base d'une huile essentielle de la
Lavande officinale**

Présentés par

Zouggar Selma

Khaddaoui Djamila

Devant le juré

Présidente	M^{me} T. Hamad	UDBKM
Examinatrice	M^{me} D. Aouameur	UDBKM
Promotrice	M^{me} Z. Aliche	UDBKM
Co-promotrice	M^{me} F. Boujdema	UDBKM

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

En premier lieu, nous remercions ALLAH, le tout Miséricordieux de nous avoir donné la vie, de nous avoir assisté jusqu'aujourd'hui et de nous avoir donné l'opportunité de présenter ce modeste travail

*Nos remerciements s'adressent d'abord à M^{me} **HAMAD TAOUS** et M^{me} **AOUAMEUR DJAMILA** de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce modeste mémoire.*

*Nous tenons à exprimer notre profond respect et nos remerciements les plus sincères à notre promotrice, M^{me} **ALICHE ZAHIA** pour nous avoir encadrées et orientées avec une efficacité et une disponibilité permanente et de nous avoir fait bénéficier de ses connaissances. Nous la remercions également pour sa gentillesse, sa patience, sa confiance, ses encouragements et ses précieux conseils.*

*Nos sincères remerciements pour M^{me} **BOUDJEMAA FATIHA**, notre Co-promotrice, pour sa présence, son aide, sa gentillesse au quotidien, son soutien et sa contribution dans la réalisation des tests rhéologiques.*

*Nous remercions bien fort les équipes de laboratoire **SAIDAL** à Médéa,*

*Nous remercions également le personnel du laboratoire de **FIMA, GP** à l'Université de Khemis Miliana*

*Nous remercions **Mr. M. CHAOUCHI** de laboratoire d'analyse de l'Université de Khemis Miliana pour son aide, sa disponibilité et ses orientations dans ce mémoire*

*Nos remerciements au personnel de laboratoire d'analyses **ZIBOUCHE** à Ain Defla*

*De la même manière, on remercie le personnel du centre de recherche **CRAPC** Bousmail pour leurs aides, leurs disponibilités et leurs sympathies, en particulier **Mr TADJER Belkacem**.*

*Un remerciement spécial à **Mr MAZARI Noureddine** pour sa contribution dans ce mémoire et ses conseils précieux.*

À toute personne qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à l'encontre de nos parents qui nous ont enseignés la patience, la politesse, le sacrifice et qui ont toujours été là avec nous.

En fin, nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs mots, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant cette étude.

Dédicace

Je dédie ce travail à

*A la mémoire de **mes chers parents**, vous m'avez inculqué l'amour du travail, bien fait et de l'ardeur à la tâche. Vous étiez au début mais malheureusement pas à la fin. Que de privations essuyées pour que j'en arrive là. Je sais que vous aurais tant aimé assister à ce mémoire mais **ALLAH** en a décidé autrement ; ce travail je vous le dédie en guise de mon amour pour vous.*

*Merci mon père, merci ma mère et que le tout puissant **ALLAH** vous accorde sa grâce.*

*Mes chers frères, **WAHID** et **MOUHAMED** je vous souhaite un très bon avenir, plein de joie, du bonheur et de sérénité.*

*Une spéciale dédicace à mes très chères tantes **RATIBA** et **FATIHA** que Dieu vous comble de bénédictions en tout temps.*

*A mon cousin **AZIZ** (Dadi) et sa femme **SOUAD** dieu vous bénisse !*

*A mes chères sœurs **WARDA**, **ALAA**, **SOROUR** et **TASNIME** je vous souhaite un très bon avenir et merveilleux vœux.*

*A mes chères amies **RANYA**, **ROUFAIDA**, **AYA** et **HOUDA** que dieu nous guide sur le droit chemin afin que notre lien se renforce au fil des années.*

*A ma chère binôme **SELMA***

DJAMILA

Dédicace

Je dédie ce travail à

*A mes **Chères parents**, sans vous je ne serai jamais celle que je suis et je n'en serai pas là aujourd'hui. Merci d'avoir eu confiance en moi pendant toutes ces années et d'avoir été présents dans tous les moments, bons comme mauvais. Je vous aime tant. Les mots ne peuvent exprimer pleinement mes sentiments pour vous. Malgré les difficultés, votre amour et votre soutien ne m'ont jamais fait défaut. Que Dieu vous garde longtemps avec nous.*

*A mon frère **DJAFER** et mes chères sœurs **IKRAM, ROUFAIDA et AYA** je suis si fière de vous, vous êtes les trésors de ma vie vous qui êtes présents à chaque étape importante de ma vie. Je vous souhaite une très bonne vie et meilleurs vœux.*

*A toutes ma famille paternel et maternel et à mes grandes mères **NACERA et HOURIA** que Dieu les protège.*

*A mes chers oncles **SOFIENE et ELMAHI**, Ce mémoire est l'aboutissement de votre intérêt et de votre soutien pour moi. Merci assez pour tout ce que vous avez fait pour moi. Que Dieu vous bénisse et la grâce de Dieu surabonde dans votre vie.*

*A mes chères amies, **NOUHA et WISSALE** et ma chère cousine **Sarah** qui m'ont toujours soutenue et encouragée. Vous avez été là dans mes moments de joie et de tristesse. Plus que des amis vous êtes mes sœurs de cœurs, que Dieu vous comble de bénédictions en tout temps.*

*A ma chère binôme **DJAMILA***

SELMA

ملخص

الهدف من هذا العمل هو توصيف مرهم تم تحضيره باستخدام زيت الخزامى الحقيقي، والذي تم استخراجه بواسطة التقطير بالبخار مع مردود قدره 1.2%. تم تصنيف الزيت العطري من حيث الخصائص الحسية والفيزيوكيميائية، بالإضافة إلى تركيبه الكيميائي الذي تم الحصول عليه بواسطة تقنية كروماتوغرافيا الغاز-طيفية الكتلة. تبين أن اللينالول (21.44%) و خلات الليناليل (14.79%) هما المركبات الرئيسية. تم تقييم النشاطات المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة والمضادة للالتهابات للزيت العطري. تم دمج زيت الخزامى العطري في مرهم بجرعات مختلفة كعنصر فعال. تم إثبات مطابقته من خلال الاختبارات الفيزيوكيميائية والميكروبية، التي أظهرت أن المرهم معقم وخالٍ من الكائنات الدقيقة الممرضة.

الكلمات المفتاحية: زيت عطري، الخزامى الطبية، مرهم.

Abstract

The aim of this work is to characterize an ointment prepared with *Lavandula officinalis* essential oil (EOL), which was extracted by hydrodistillation with a yield of 1.2%. The essential oil was characterized by its organoleptic and physicochemical properties, as well as its chemical composition obtained by GC-MS. Linalool (21.44%) and linalyl acetate (14.79%) are the major compounds. The antibacterial, antioxydante and anti-inflammatory activities of the essential oil were evaluated. The EOL was incorporated into an ointment at different doses as an active ingredient. Its conformity, proven through physicochemical and microbial tests, demonstrated that the ointment is sterile and free from pathogenic microorganisms.

Key words: Essential oil, *Lavandula officinalis*, ointment.

Résumé

L'objectif de ce travail est de caractériser une pommade préparée à base d'huile essentielle de *Lavandula officinalis* (HEL) qui a été extraite par hydrodistillation avec un rendement de 1,2 %. L'HE a été caractérisé par ses propriétés organoleptiques, physicochimiques et sa composition chimique obtenue par CG-SM. Le linalol (21,44 %) et l'acétate de linalyle (14,79 %) sont les composés majoritaires. Les activités antibactérienne, antioxydante et anti-inflammatoire de l'HEL ont été réalisées. L'HEL a été introduite dans une pommade à différentes doses en tant que principe actif. Sa conformité, prouvée par des tests physicochimiques et microbiologiques qui, a montré que la pommade est stérile et ne contient aucun germe pathogène.

Mots clés : Huile essentielle, *Lavandula officinalis*, pommade.

Liste des tableaux

Tableau III.1	Conditions opératoire de l'analyse CG-SM.....	35
Tableau III.2	Composition de la pommade.....	40
Tableau IV.1	Propriétés organoleptiques de l'HE.....	45
Tableau IV.2	Propriétés physico-chimiques de l'HE.....	46
Tableau IV.3	Constituants chimiques de l'HER analysée par CG-SM.....	47
Tableau IV.4	Sensibilité des souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition.....	49
Tableau IV.5	Résultat de diamètre d'inhibition de chaque souche bactérienne.....	50
Tableau IV.6	Diamètres des zones d'inhibition à différentes concentrations de l'HE testée.....	51
Tableau IV.7	Résultat d'IC50 de l'HE étudiée et l'acide ascorbique.....	53
Tableau IV.8	Caractéristiques organoleptiques de la pommade.....	56

Liste des figures

Figure I.1	Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	04
Figure I.2	Structure de l'unité isoprénique.....	06
Figure I.3	Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles.....	07
Figure I.4	Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane.....	07
Figure I.5	Différentes voies de dégradation possibles des huiles essentielles.....	08
Figure I.6	Organigramme d'identification des huiles essentielles par GC et GC-SM.....	10
Figure I.7	Formule semi- développée du Linalol.....	14
Figure I.8	Les métabolites du linalol.....	15
Figure II.1	Logigramme de fabrication d'une pommade.....	18
Figure II.2	Schéma de la structure de la peau humaine.....	20
Figure II.3	Forces de frottement s'exerçant sur deux couches adjacentes lors d'un cisaillement.....	21
Figure II.4	Mouvement laminaire de cisaillement entre deux plans parallèles.....	22
Figure II.5	Rheogramme des différents comportements.....	24
Figure III.1	Montage de Clevenger.....	27
Figure III.2	Réfractomètre d'Abbe.....	29
Figure III.3	Montage de titrage de l'indice d'acide.....	30
Figure III.4	Equipement de CG-SM.....	31
Figure III.5	Préparation de milieu de culture.....	33
Figure III.6	Dilutions préparées et l'ensemencement des suspensions bactériennes.	34
Figure III.7	Préparation et composants de pommade.....	37

Figure III.8	Rhéomètre Antan Paar MCR 302.....	39
Figure III.9	L'épilation et l'application de la pommade sur le ventre.....	40
Figure III.10	Injection de carragénine, mesure des pattes droites.....	41
Figure IV.1	Représentation de rendement d'HE en fonction de temps.....	43
Figure IV.2	HE de <i>L. officinalis</i>	44
Figure IV.3	Chromatogramme d'HE obtenue par CG-SM.....	46
Figure IV.4	Résultats de zone d'inhibition pour chaque souche bactérienne.....	50
Figure IV.5	Pourcentage d'inhibition de l'HE de la lavande officinalis par la méthode du DPPH.....	51
Figure IV.6	Histogramme de pourcentage d'inhibition d'Ovalbumine.....	52
Figure IV.7	Histogramme de pourcentage d'inhibition de BSA.....	53
Figure IV.8	Résultats de contrôle microbiologique de la pommade.....	55
Figure IV.9	Courbe d'écoulement : variation de la viscosité en fonction de gradient de cisaillement de la pommade de 6% préparée à base de l'HEL et testée après 7 jours à 20 °C.....	55
Figure IV.10	Courbe représente la variation de la viscosité en fonction de gradient de cisaillement de la pommade des trois concentrations (2% ; 6% ; 10%) testé après 7 jours de sa préparation à 20 °C.....	56
Figure IV.11	Evolution de la déformation (γ) de la pommade des trois concentrations (2% ; 6% ; 10%) en fonction de temps (t) de conservation.....	57
Figure IV.12	Courbes des tests dynamiques des trois pommades préparés (2% ; 6% ; 10%) : a) limite de domaine linéaire la fréquence représenté par la ligne orange b) évolution de G' et G'' en fonction de la fréquence angulaire ω	

Figure IV.13	effet de température sur la viscosité dynamique de la pommade 6% après sept jours de sa formulation.....	59
Figure IV.14	Comparaison de la viscosité de la pommade de différents concentration (2% ; 6% ; 10%) testée après 2, 7 et 10 jours de sa préparation.....	60
Figure IV.15	Comparaison de de la déformation en fonction de temps (t) de la pommade 6% testée après 7 et 14 jours de sa préparation.....	60
Figure IV.16	Résultats de traitement après sept jours.....	61
Figure IV.17	Histogramme de pourcentage moyen d'inhibition de l'œdème des pattes des rats.....	62

Nomenclatures

Lettres latin

$dx dy dz$	Volume d'un élément	
Df	Résultantes forces de volume	N
F	Force appliquée à la plaque supérieure de solide	N
V	Vitesse	(m/s)
$\frac{dx}{dy}$	Déplacement horizontal de la surface supérieure dx par rapport à dy	
H	Epaisseur de l'échantillon de fluide	Mm
F	Fréquence	(HZ)
R, r	Rayon de disque ou bien de la géométrie	M
A, B	Constantes	(Pa.s), (k)
A_c	Absorbance du contrôle (DPPH +méthanol)	
A_E	Absorbance de l'échantillon	
C	Concentration d'hydroxyde de potassium	
M_{HE}	Masse d'huile essentielle	
M_S	Masse de la matière végétale	
IC_{50}	Concentration d'inhibition correspondant à 50 % de la	
C	Concentration	
I_a	Indice d'acide	
I%	Pourcentage de réduction du radical DPPH	
I_E	Indice d'ester	
I_R	Indice de réfraction	
K	Indice de consistance	
n	Puissance ou l'écart au comportement newtonien	
R%	Rendement d'extraction	
SM	Solution mère	
T	Température	°C
T_a	Teneur de tension actif	
T	Temps	S
P	Pression	(Pa)
ρ	Masse volumique	(Kg/m ³)
ρ_{huile}	Masse volumique d'huile essentielle	

ρ_{eau}	Masse volumique de l'eau	
G	Module élastique du matériau	(Pa)
G'	Module de conservation	(Pa)
G''	Module de perte	(Pa)

Lettres grecques

τ	Contrainte de cisaillement	(Pa)
γ	déformation de cisaillement	(sans unité)
$\dot{\gamma}$	taux de cisaillement	(s^{-1})
H	Viscosité dynamique	(Pa.s)
τ_0	Contrainte critique ou contrainte seuil pour $\dot{\gamma} = 0$.	(Pa)
ω	Vitesse angulaire constant	rad.s^{-1}
α	Angle de disque (géométrie)	
γ_0	Contrainte seuil	

Liste des abréviations

AFNOR	Agence Française de Normalisation
BSA	Albumine de sérum bovin (bovine serum albumin)
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CCM	Chromatographie sur couche mince
CPG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de masse
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CLHP	Chromatographie liquide à haute performance
Cm	Centimètre
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DPPH	2-2diphényle -1-picrylhydrazyle
EOA	Essential Oils Association
EO	Essentiel Oil
E/H	eau/huile
<i>E. Coli</i>	Escherichia coli
HE	Huile essentielle
H.E.C.T	Huiles Essentielles Chémotypée
ISO	International Standard Organization
IR	Infrarouge

KOH	Hydroxyde de Potassium
<i>l. officinalis</i>	<i>Lavandula officinalis</i>
MH	Muller-Hinton
ONIPPAM	Office national interprofessionnel des plantes à parfum aromatiques et médicinales
RMN	Résonance magnétique Nucle
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SI	système international
TR	Temps de rétention
Vit C	Vitamine C

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Nomenclatures

Introduction générale Erreur ! Signet non défini.

Chapitre I : Plantes médicinales

I.1. Introduction	3
I.2. Définition de l'huile essentielle	3
I.2.1. Localisation et rendement en huiles essentielles	3
I.2.2. Techniques d'extraction des huiles essentielles	3
I.2.3. Propriétés des huiles essentielles	4
I.2.3.1. Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques.....	4
I.2.3.2. Propriétés anti-inflammatoires.....	4
I.2.3.3. Propriétés cicatrisantes	5
I.2.4. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles	5
I.2.5. Composition des huiles essentielles.....	5
I.2.5.1. Les composés terpéniques	5
I.2.5.2. Composés aromatiques	7
I.2.5.3. Composés d'origine diverses	7
I.2.6. Variabilité et conservation des huiles essentielles.....	7
I.2.7. Stabilité des huiles essentielles	7
I.2.8. Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité	8
I.2.8.1. Analyses des caractéristiques physico-chimiques	8
I.2.8.2. Analyse de la composition chimique.....	9
I.2.9. Utilisations des huiles essentielles.....	10
I.2.9.1. Utilisation pour leurs propriétés odorantes.....	10
I.2.9.2. Utilisation pour leurs propriétés médicinales.....	10
I.2.10. Les critères de qualité des huiles essentielles	10
I.2.11. Toxicité des huiles essentielles	11
I.3. Présentation de la plante <i>Lavandula officinalis</i>	11
I.3.1. Les grandes familles de plantes aromatiques.....	12

I.3.2. Habitat et culture.....	12
I.3.3. Carte d'identité.....	12
I.3.5. Composition chimique de l'huile essentielle de Lavande	13
I.3.5.1. Le linalol et l'acétate de linalyle.....	13
I.3.6. Qualité de l'HE de Lavande officinale	14
I.3.7. Propriétés thérapeutiques.....	14
I.4. Conclusion.....	15

Chapitre II : Comportement mécanique des pommades

II.1 Introduction	17
II.2..... Formulation pharmaceutique	17
II.3. Pommades	17
II.3.1. Type de pommades.....	18
II.3.1.1. Pommades hydrophobes.....	18
II.3.1.2. Pommades hydrophiles.....	19
II.3.1.3. Pommades absorbantes.....	19
II.3.2. Préparation de la pommade	19
II.3.3. Utilisation et conservation des pommades	19
II.3.4. Milieu d'application (la peau)	20
II.4. Etude rhéologique des formulations pharmaceutiques.....	20
II.4.1. Grandeurs rhéologiques.....	21
II.4.1.1. Contrainte de cisaillement (shear stress)	21
II.4.1.2. Déformation de cisaillement	22
II.4.1.3. Vitesse de cisaillement	22
II.4.1.4. Viscosité	23
II.4.2. Classification des fluides.....	23
II.4.2.1. Fluides newtoniens	23
II.4.2.2. Fluides non Newtoniens	23
II.4.3. Appareillage	25
II.4.4. Tests rhéologiques	25
II.4.4.1 Essai de fluage.....	25
II.4.4.2 Essai dynamique.....	26
II.4.4.3 Essai d'écoulement.....	26
II.5. Conclusion.....	26

Chapitre III : Matériel & Méthodes

III.1. Introduction.....	27
III.2. Etude de l'huile essentielle de <i>Lavandula officinalis</i>	27
III.2.1. Extraction de l'HEL.....	27
III.2.2. Etude de la cinétique d'extraction.....	27
III.2.3. Rendement d'extraction	28
III.2.4. Caractéristiques d'HEL.....	28
III.2.4.1. Caractéristique organoleptique	28
III.2.4.2. Propriétés physiques de l'HE.....	28
III.2.4.3. Propriété chimique de l'HEL	29
III.2.5. Analyse biologique de l'huile de <i>Lavandula officinalis</i>	31
III.2.5.1. Activité antibactérienne	31
III.2.5.2. Activité antioxydante	33
III.2.5.3. Activité anti inflammatoire	Erreur ! Signet non défini.
III.3. Formulation de la pommade	Erreur ! Signet non défini.
III.3.1. Contrôle de qualité de produit.....	Erreur ! Signet non défini.
III.3.1.1. Caractères organoleptiques	Erreur ! Signet non défini.
III.3.1.2. Mesure de pH.....	Erreur ! Signet non défini.
III.3.1.3. Contrôle microbiologique	Erreur ! Signet non défini.
III.4. Etude rhéologique de la pommade.....	Erreur ! Signet non défini.
III.5. Evaluation de l'activité cicatrisante	Erreur ! Signet non défini.
III.6. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i>	Erreur ! Signet non défini.
III.7. Conclusion	34

Chapitre IV : Résultats & Discussion

IV.1. Introduction.....	42
IV.2. Etude de l'huile essentielle de <i>Lavandula officinalis</i>	42
IV.2.1. Extraction d'HEL.....	42
IV.2.2. Etude de la cinétique d'extraction	42
IV.2.3. Rendement d'extraction.....	43
IV.2.4. Caractéristiques d'huile essentielle de <i>Lavandula officinalis</i>	43
IV.2.4.1. Caractéristiques organoleptiques	43
IV.2.4.2. Propriétés physicochimiques de l'HEL	44
IV.2.4.4. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)	45

IV.2.5. Analyse biologique de l'huile de <i>Lavandula officinalis</i>	47
IV.2.5.1. Activité antibactérienne	47
IV.2.5.2. Activité antioxydante	50
IV.2.5.3. Activité anti-inflammatoire.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.3. Formulation de la pommade	Erreur ! Signet non défini.
IV.3.1. Contrôle de qualité de la pommade	Erreur ! Signet non défini.
IV.3.1.1. Caractéristiques organoleptiques de la pommade.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.3.1.2. Mesure de pH.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.3.1.3. Contrôles microbiologiques	Erreur ! Signet non défini.
IV.4. Résultats des tests rhéologiques de la pommade	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.1. Résultats d'écoulement	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.2. Résultats de fluage	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.3. Résultats des tests dynamiques	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.4. Effet de la température.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.4.5. Effet de l'âge.....	Erreur ! Signet non défini.
IV.4. Evaluation de l'activité cicatrisante	Erreur ! Signet non défini.
IV.5. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	Erreur ! Signet non défini.
IV.6. Conclusion	52
Conclusion générale	64
Références bibliographiques	66

A decorative border in a dark brown color, featuring intricate floral and leaf patterns at the corners and along the sides of a rectangular frame.

Introduction Générale

Depuis longtemps, les hommes ont cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques. A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée [1].

Parmi ces plantes, la lavande qui est originaire de la Méditerranée, de la péninsule arabique, de la Russie et de l'Afrique. Elle a été utilisée en cosmétique et en médecine à travers l'histoire. Dans les temps modernes, la lavande est cultivée dans le monde entier et les huiles parfumées de ses fleurs sont utilisées en aromathérapie, bougies, cosmétiques, détergents, gelées, huiles de massage, parfums, poudres, shampoing, savons et thé. La lavande anglaise (*Lavandula angustifolia*) est l'espèce de lavande la plus couramment utilisée, bien que d'autres espèces soient présentes telles que *Lavandula : burnamii, dentate, dhofarensis, latifolia, et stoechas* [2].

La plante de *Lavandula officinalis* ou *angustifolia* (Elkhouzama en arabe) fait partie des plantes médicinales depuis l'antiquité, mais l'huile essentielle de cette plante est souvent utilisée dans le domaine des produits cosmétiques, des parfums et autres produits capillaires. Alors quels sont les effets de l'incorporation de l'huile essentielle de lavande officinale HEL dans la formulation d'une pommade, en termes de propriétés physico-chimiques, de stabilité rhéologique et d'activités pharmacologiques, et comment ces résultats peuvent-ils être interprétés et comparés aux normes ou travaux antérieurs, afin de déterminer l'efficacité et le potentiel dermatologique de la pommade obtenue ?

L'objectif principal de notre travail consiste à une caractérisation d'une formulation d'une pommade préparée à base de l'HE extraite de *Lavandula officinalis*. L'étude commence par la partie réservée à l'huile essentielle : extraction, caractérisation, identification de la composition chimique, les activités biologiques.

Ce travail est devisé en deux parties :

La première partie (partie théorique) qui représente une revue bibliographique se compose de deux chapitres. Le premier chapitre est consacré à des généralités sur les huiles essentielles ainsi qu'à une description de la plante étudiée. Ensuite, le deuxième chapitre est réservé à des notions sur les pommades et la rhéologie.

La deuxième partie (partie expérimentale) se compose de deux chapitres. Le troisième chapitre qui illustre la méthodologie adoptée pour atteindre les objectifs du mémoire : les procédés d'extraction, de caractérisation, d'analyse et des activités biologiques de l'HE et le quatrième chapitre qui est consacré aux résultats obtenus suivie par des discussions et des interprétations, en se basant sur des normes ou des travaux antérieurs.

Enfin, notre étude se termine par une conclusion générale résumant l'ensemble des résultats obtenus de ce travail et des perspectives pour les futurs travaux.



Partie Théorique

A decorative border in a dark brown color, featuring intricate floral and leaf patterns at the corners and along the sides of a rectangular frame.

Chapitre I
Plantes médicinales

I.1. Introduction

L'homme utilise les plantes depuis son existence sur terre pour soulager les douleurs. Pour mieux bénéficier de ces plantes il a réussi à inventer des techniques d'extraction. Donc, il commençait à utiliser des extraits au lieu d'utiliser la plante directement. La curiosité de l'homme et le développement en technologie ont conduit à la découverte de substances naturelles ayant des propriétés thérapeutiques intéressantes. Ce chapitre présente des notions sur les huiles essentielles et les plantes médicinales.

I.2. Définition de l'huile essentielle

L'huile essentielle est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou arbres aromatiques pour en extraire l'essence. Elle est donc *Essence distillée*. Une essence et une huile essentielle sont deux substances différentes tant en nature qu'en composition, notamment en raison des modifications biochimiques que subit l'essence au cours de sa distillation. Toutefois dans l'usage courant le terme « essence » est souvent utilisé pour parler d'une huile essentielle. Enfin, contrairement à ce que son nom laisserait supposer, une HE pure et naturelle ne contient aucun corps gras, étant uniquement constituée de molécules aromatiques volatiles [3].

I.2.1. Localisation et rendement en huiles essentielles

Pour certaines HE comme celles de lavande ou de sauge, c'est la plante entière qui est utilisée. Seules les parties sécrétrices ou les plus concentrées de la plante sont récoltées à la période de rendement optimum : avant la floraison (menthes), pendant (lavandes) et après celle-ci (plantes à graines) ou encore après la rosée du matin (fleurs fragiles). Les quantités d'HE produites par les plantes sont minimales, entraînant des rendements d'extraction extrêmement faibles, généralement inférieurs à 2%. Le rendement le plus faible est observé pour l'iris qui demande environ 4 kg de poudre pour obtenir 1 g d'absolue, ce qui explique le tarif exorbitant de cette huile [4].

I.2.2. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs techniques d'extraction. Parmi les méthodes les plus simples, les plus anciennes qui donnent un bon rendement et les plus utilisées est la méthode de distillation. Pour cette méthode, il existe trois types de distillation : la distillation sèche, l'entraînement à la vapeur d'eau (sans contact direct entre l'eau et la matière végétale à traiter) et l'hydrodistillation (contact direct). Ce dernier type, utilisé dans cette étude, est le plus anciennement employé pour extraire les huiles essentielles. Le procédé consiste à immerger le matériel végétal dans un ballon rempli d'une quantité adéquate d'eau, qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont

ensuite condensées dans un réfrigérant. On obtient ainsi un mélange d'HE et d'eau qui se sépare en deux phases en raison de la différence de densité [5].

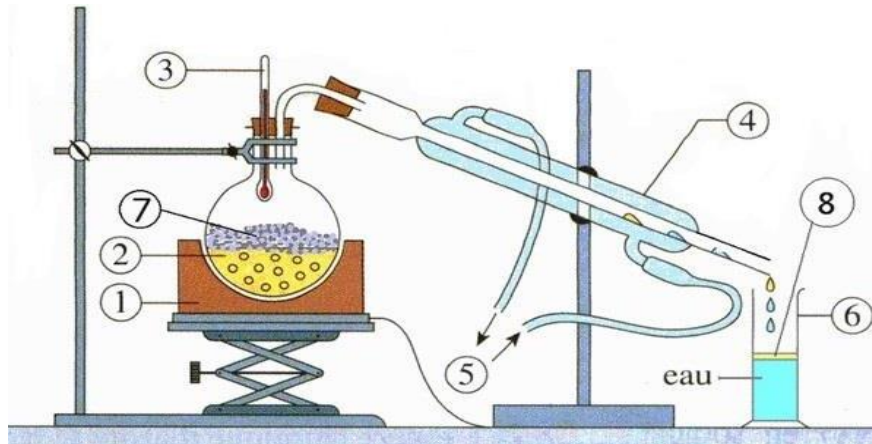


Figure I.1. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation : 1- Chauffe ballon ; 2- Ballon ; 3- Thermomètre ; 4- Réfrigérant ; 5- Entrée et sortie d'eau 6- Erlenmeyer ; 7- Matière à extraire l'essence ; 8- Couche d'huile essentielle [5].

I.2.3. Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont un véritable concentré de principes actifs. Elles sont toutes antiseptiques, désintoxicantes, revitalisantes et électives (appliquée sur un endroit du corps, une huile essentielle est attirée par l'organe ou la fonction du corps le plus déficient à un moment donné). De plus, elles ont chacune des propriétés spécifiques. Les mélanges d'huiles essentielles en synergie augmentent les bienfaits des huiles essentielles par rapport à une indication précise [4].

I.2.3.1. Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques

Les huiles essentielles peuvent rendre stérile une culture de microbes, signe d'une activité antiseptique. Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de Koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde). Le pouvoir d'action des huiles essentielles ne faiblit pas dans le temps : s'il reste constant, c'est parce que l'organisme humain ne s'habitue pas aux principes actifs et qu'il réagit toujours après une application [4].

I.2.3.2. Propriétés anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations. La menthe poivrée est en mesure d'anesthésier les douleurs au niveau du crâne, le clou de girofle calme les douleurs dentaires et le thym agit au niveau du

coude (tennis-elbow), tandis que la citronnelle, le romarin ou l'eucalyptus sont efficaces en cas de piqûres d'insectes [4].

I.2.3.3. Propriétés cicatrisantes

Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'Antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abîmés et de favoriser la cicatrisation des blessures. Leur pouvoir antiseptique leur permet de désinfecter en même temps les plaies, en protégeant l'organisme des processus de décomposition, des microbes et de leurs éventuels déchets nocifs [4].

I.2.4. Propriétés physicochimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physicochimiques :

- ✓ Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur [6].
- ✓ Leur point de d'ébullition varie de 160° à 240° C.
- ✓ Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles de saffran de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- ✓ Elles ont un indice de réfraction élevée.
- ✓ Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactive sur la lumière polarisée.
- ✓ Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- ✓ Ce sont des parfums et sont de conservation limitée.
- ✓ Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).

I.2.5. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée, prépondérants dans la plupart des essences. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des huiles essentielles et des composés aromatiques dérivés du phényle propane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques-unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc [7].

I.2.5.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique

(figure I.2). Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C₅) ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène).

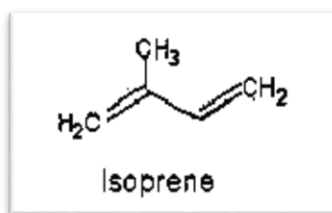


Figure I.2 : Structure de l'unité isoprénique [7].

I.2.5.1.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes comportent deux unités d'isoprène (C₅H₈). Volatiles, entrénables à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable dont la majorité des constituants des HEs, parfois 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocycliques (terpène) ou bicycliques (pinene, sabinene). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales : alcool (géraniol, menthol) aldéhydes (geranial, citronellal), cétones (carvone, menthone) et des esters (acétate de géranyle, acétate de linalyle) [7].

I.2.5.1.2. Les sesquiterpènes

Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes (Figure I.3) ; elle contient plus de 3000 molécules comme par exemple : B-caryophyllène, B-bisabolène, α -humilène, α -bisabolol, farnesol.

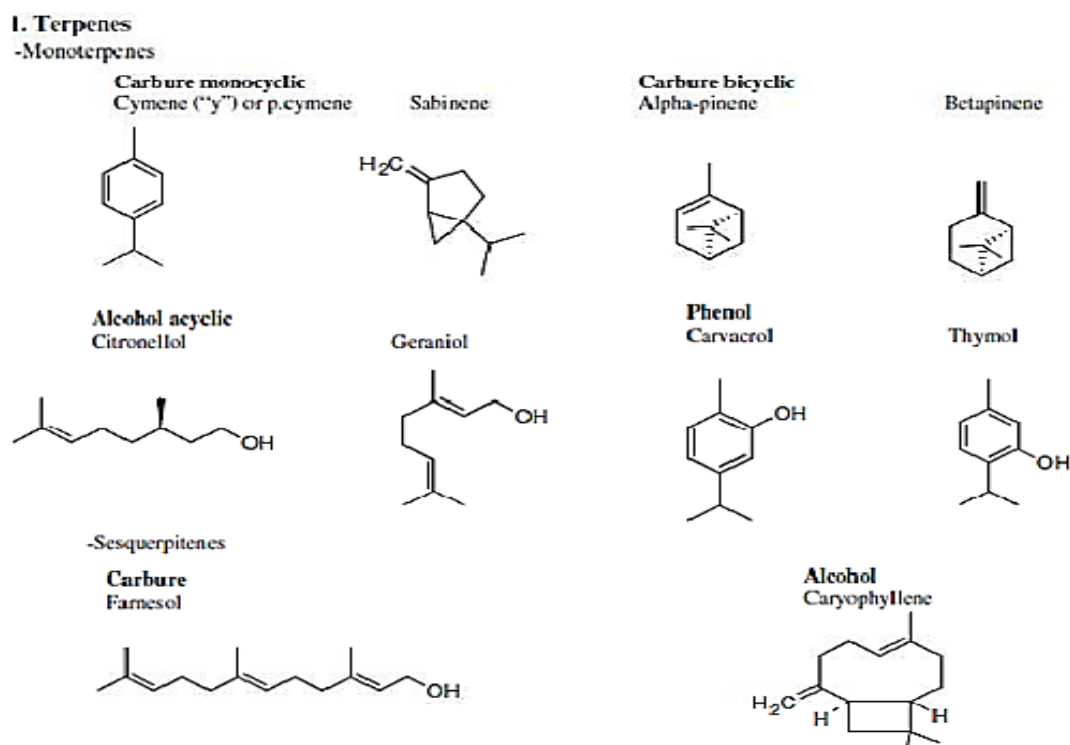


Figure I.3 : Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles [7].

I.2.5.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C₆-C₃. Ils sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent comprendre des phénols (chavicol, eugénol), des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrole). La structure des différentes molécules est présente dans la Figure I.4 [8].

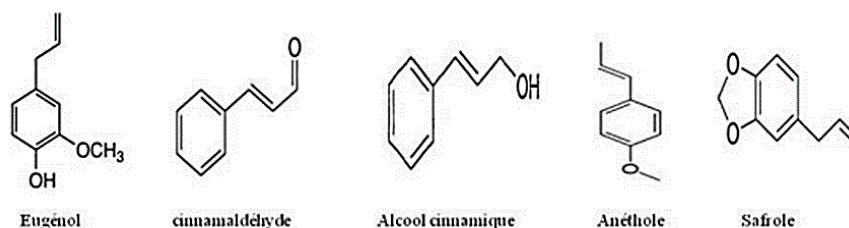


Figure I.4 : Structure des composés aromatiques dérivés de phénylpropane [8].

Des composants azotés ou soufrés tels que les glucosinolates ou des dérivés d'isothiocyanate sont également caractéristiques des métabolites secondaires des diverses plantes.

I.2.5.3. Composés d'origine diverses

Il s'agit des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles, d'origine lipidiques, terpéniques, azotés soufrés ou hétérosidiques. Ces composés contribuent aux arômes de fruits [9].

I.2.6. Variabilité et conservation des huiles essentielles

L'état de l'huile essentielle dépend de plusieurs facteurs. Les facteurs intrinsèques qui sont liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement. Les facteurs extrinsèques comme l'humidité relative de l'air, la température, la durée de l'insolation, l'altitude et autres influent directement sur la proportion des différents constituants d'une huile essentielle, les conditions de culture (Nature du sol, apport en engrais...), le procédé d'extraction, le temps d'extraction, d'autres facteurs tels que les traitements préliminaires (Conditions de transport, durée de séchage et de stockage du matériel végétal...) peuvent engendrer une grande variabilité de la composition d'une huile essentielle, suite à des dégradations enzymatiques [10]

I.2.7. Stabilité des huiles essentielles

Les HEs présentent une forte instabilité vis-à-vis de divers facteurs extrinsèques et intrinsèques (Figure I.5). L'éventuelle dégradation des HEs peut être facilement révélée par la mesure des indices chimiques (indice de peroxyde, indice d'acide, etc.), par la détermination de

grandeurs physiques (indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité à l'éthanol, densité, etc.) et par l'analyse chromatographique [11].

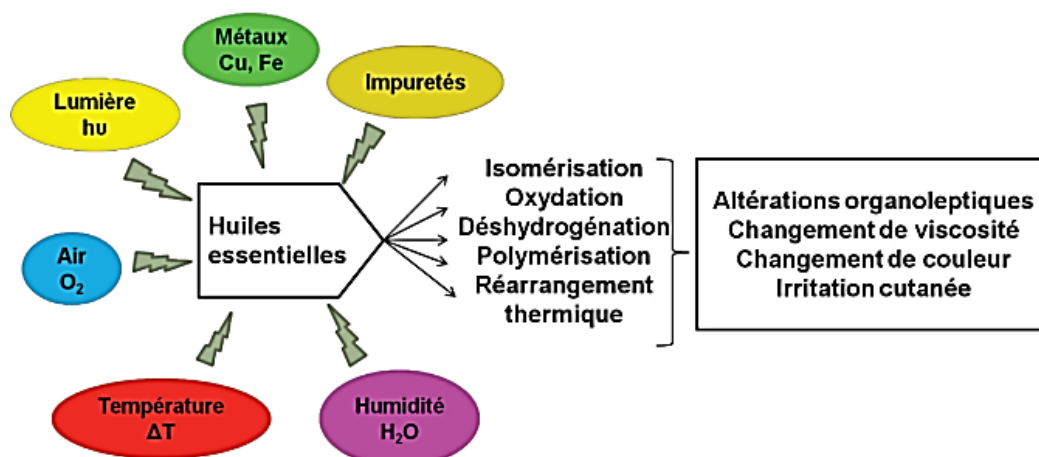


Figure I.5 : Différentes voies de dégradation possibles des huiles essentielles [11].

La conservation des HEs exige des précautions particulières. Il convient ainsi d'utiliser de petits flacons en verres teintés ou opaques pour minimiser la présence d'air et les préserver à l'abri de la lumière, l'oxygène, l'humidité et les contaminants ainsi que pour réduire l'incompatibilité qui peut exister avec certains récipients en matières plastiques.

I.2.8. Méthodes d'analyse et contrôle de la qualité

En raison de l'importance industrielle des huiles essentielles, leur qualité s'impose depuis le producteur, en passant par l'industriel jusqu'au consommateur. Cette exigence se traduit nécessairement par l'établissement de normes de qualité, élaborées pour des considérations de santé et de sécurité dans différents domaines d'applications des huiles essentielles. Normalement, les normes de qualité sont établies par les instances gouvernementales et servent de référence. Dans le cas des huiles essentielles, ces normes ont été définies par l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et " Essential Oils Association" (EOA). Ainsi l'analyse des huiles essentielles porte sur les caractéristiques physico-chimiques et la composition chimique (AFNOR, 1999) [12].

I.2.8.1. Analyses des caractéristiques physico-chimiques

Ces analyses concernent essentiellement les paramètres suivants :

- ✓ La densité,
- ✓ L'indice de réfraction,
- ✓ L'indice d'acide et l'indice d'ester.

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

Nous pouvons confirmer que les huiles essentielles sont généralement liquides à la température ambiante d'odeurs aromatiques rarement colorées quand elles sont fraîches. Leur densité est plus souvent inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et, le plus souvent, sont doués d'un pouvoir rotatoire. Elles sont volatiles et entraînaibles par la vapeur d'eau, elles lui communiquent leur odeur. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, les huiles fixes et la plupart de solvants organiques [12].

I.2.8.2. Analyse de la composition chimique

Plusieurs techniques et méthodes nous permettent d'analyser quantitativement et qualitativement les huiles essentielles. Parmi ces méthodes nous évoquerons les méthodes micro analytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces. Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques. On peut utiliser les méthodes suivantes : CG, CG/SM, CLHP, RMN, IR, etc. ces méthodes concernent l'identification qualitative et quantitative des différents constituants d'une huile essentielle [12].

I.2.8.2.1. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CG/SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine la séparation et l'identification (les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse) afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances (Figure I.6). La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par la spectrométrie de masse [12].

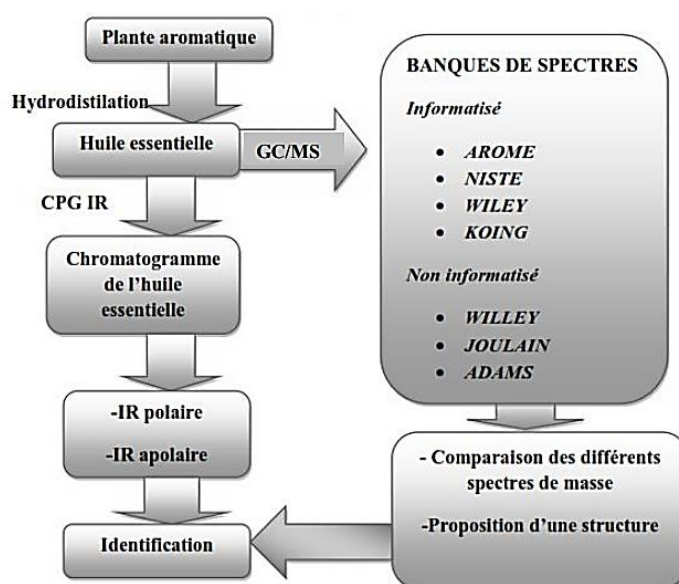


Figure I.6 : Organigramme d'identification des huiles essentielles par CG et CG-SM [12].

I.2.9. Utilisations des huiles essentielles

Suite au recensement agricole de 2000, l'ONIPPAM a pu déterminer que 2/3 des productions cultivées de plantes à parfum, aromatiques et médicinales sont destinées à l'extraction des huiles essentielles. Elles sont, principalement, utilisées en raison de leurs propriétés odorantes d'une part, et de leurs propriétés médicinales [13].

I.2.9.1. Utilisation pour leurs propriétés odorantes

Les huiles essentielles sont employées dans le secteur de la cosmétique, notamment pour la fabrication des parfums ; dans les compositions parfumantes des détergents et des produits de parfumerie fonctionnelle ; mais aussi dans le domaine alimentaire.

I.2.9.2. Utilisation pour leurs propriétés médicinales

L'utilisation historique des plantes en raison de leurs propriétés thérapeutiques a mené, avec les avancées techniques et scientifiques, à l'isolation de principes actifs. Les huiles essentielles sont employées en aromathérapie, qui n'utilise que les principes actifs extrêmement concentrés dans une partie de la plante, pour les cas aigus. Alors que la phytothérapie, qui utilise les plantes en partie ou en totalité, est plus adaptée aux cas chroniques.

I.2.10. Les critères de qualité des huiles essentielles

Les substances chimiques de synthèse sont des substances mortes dont les déchets non éliminés et stockés dans certains organes perturbent et dévitalisent l'homme [14]. A l'inverse, les huiles essentielles sont des produits naturels qui développent une revitalisation intense de l'organisme. Pourtant, l'obtention d'une huile essentielle de qualité thérapeutique se révèle être un processus particulièrement délicat car cette H.E.C.T doit impérativement répondre à de nombreux critères de qualité :

I.2.10.1. Certification botanique

L'appellation de la plante doit préciser le genre, l'espèce, la sous-espèce, le cultivar afin d'empêcher toute erreur issue des noms vernaculaires. Ex.: *Anibarosaeodora var. amazonica* - *HelichrysumitalicumsspSerotinum*.

I.2.10.2. Origine géographique

Le nom du pays ou d'une région apporte des précisions intéressantes sur le biotope (l'environnement) de la plante aromatique et caractérisera sa composition biochimique particulière.

I.2.10.3. Mode de culture

Cette précision vous dira si la plante est sauvage ou cultivée et issue d'une culture biologique (label BIO) ou non.

I.2.10.4. Stade de développement botanique

Les caractéristiques des chémotypes dépendent parfois du stade de développement : cueillette avant, pendant ou après floraison...

I.2.10.5. Organe distillé (ou expresse pour les zestes de Citrus uniquement)

La composition biochimique des Huiles Essentielles Chémotypée varie en fonction de la partie ou organe de la plante distillée.

I.2.10.6. Mode d'extraction

La composition des H.E.C.T. peut varier selon le mode d'extraction utilisé : distillation, hydrodistillation, percolation, expression.

I.2.10.7. Chémotype ou chimiotype

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse indique les molécules fondamentales pour une bonne utilisation des H.E.C.T.

I.2.11. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels : "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou photo toxique (huiles de citrus contenant des furocou marines). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux. Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers. En effet, l'expertise des industriels en matière de dosage et la batterie de tests cliniques effectués sur le produit fini permet de protéger le patient [15].

I.3. Présentation de la plante *Lavandula officinalis*

Ce genre de plante, qui a une faible toxicité, représente une matière première promotrice dans plusieurs domaines (médical et pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et agricole...) grâce à son huile essentielle en particulier leurs constituants majoritaires comme Linalol et Linalyl-acetate, et certaines activités attribuées par ces composants phénoliques [16].

I.3.1. Les grandes familles de plantes aromatiques

Parmi les familles botaniques les plus généreuses en matière d'essences, citons les suivantes avec quelques exemples de plantes qui appartiennent à ces familles [17] :

- ✓ Lamiacées : lavandes (lavande aspic, lavandin, lavande vraie), mélisses, thyms, origans, romarins, sarriettes, basilics, menthes, marjolaines, hysopes, sauges.
- ✓ Myrtacées : les eucalyptus, les melaleuques, les girofliers, les myrtes.
- ✓ Lauracées : les lauriers, les canneliers, les camphriers.
- ✓ Astéracées ou les Composées : les immortelles, les camomilles, les inules, les armoises.
- ✓ Apiacées ou les Ombellifères : les anis, les fenouils, les carottes, les angéliques, les céleris, les coriandres.
- ✓ Cupressacées : les cyprès, les genévriers.
- ✓ Poacées ou les Graminées : les citronnelles, les vétivers, les palma rosas.
- ✓ Abiétacées : les pins, les sapins, les épinettes, les cèdres.
- ✓ Rutacées : agrumes.
- ✓ Géraniacées : les pélargoniums.
- ✓ Burseracées : les encens, les myrrhes.
- ✓ Éricacées : les gaulthéries, les lédons.

I.3.2. Habitat et culture

Originaire de France et de l'ouest du bassin méditerranéen, la lavande est cultivée partout dans le monde, comme plante ornementale et pour son essence. On la multiplie par semis ou par boutures dans des endroits très ensoleillés. Les fleurs sont cueillies en été le matin, puis séchées ou distillées afin d'en extraire de l'huile essentielle [18].

I.3.3. Carte d'identité

Nom botanique : *Lavandula angustifolia*, *Lavandula officinalis*, *Lavandula vera*.

Famille : Lamiacées.

Partie de la plante distillée : Sommités fleuries.

Odeur : Fraîche, fleurie avec une douce note camphrée, légèrement mentholée.

Saveur : Piquante, chaude et légèrement amère.

Principaux constituants biochimiques : Monoterpénols: linalol. Esters : acétate de linalyle [19].

I.3.5. Composition chimique de l'huile essentielle de Lavande

I.3.5.1. Le linalol et l'acétate de linalyle

L'acétate de linalyle se transforme en linalol par action de l'acide acétique : estérification lente, athermique, limitée par l'hydrolyse de l'ester. Le linalol est sous forme libre en faible partie et en grande partie sous forme combiné aux acides (Figure I.7). C'est le principal constituant des huiles essentielles et un des critères pour décider de l'origine de l'huile essentielle (naturelle ou synthétique) [20].

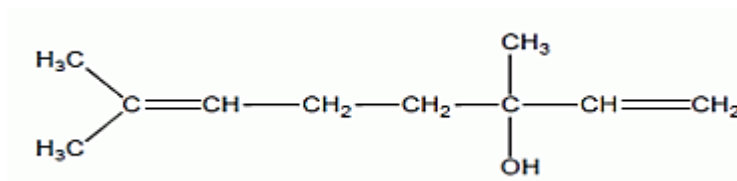


Figure I.7 : Formule semi- développée du Linalol [20].

Le Linalol est présent naturellement sous deux formes isomériques :

- ✓ le lévogyre 3R(-)-Linalol appelé licaréol qui a une odeur de lavande ou de muguet.

C'est un liquide incolore et pratiquement insoluble dans l'eau, miscible avec l'alcool et l'éther. C'est la forme la plus commune (94,1 %) ;

- ✓ le dextrogyre 3S(+)-Linalol appelé coriandrol qui a une odeur d'herbacée et de ranci.

C'est un liquide incolore, soluble dans l'alcool qui représente 5,9 %. Le Linalol est absorbé rapidement chez l'homme et des traces peuvent être détectées dans le sang 5 minutes après la fin du massage, le pic plasmatique étant atteint au bout de 19 minutes. La concentration plasmatique moyenne est de 100 ng/ml pour le Linalol et de 121 ng/ml pour l'acétate de linalyle. Après une heure d'inhalation de Linalol et d'acétate de linalyle, le sang en contient respectivement 8 et 4 ng/ml. Ils ont disparu du sang en 90 minutes avec chacun, un temps de demi-vie de 14 minutes.

Le Linalol est ensuite métabolisé par des cytochromes P₄₅₀ mono-oxygénases dépendants avec conjugaison à un acide glucuronique (Figure I.8). Il est excrété *via* les urines (57 %), l'air expiré (23 %) et à un moindre niveau dans les fèces (15 %). Deux métabolites urinaires ont été identifiés : le 8-hydroxylinalol et le 8-carboxylinalol [20].

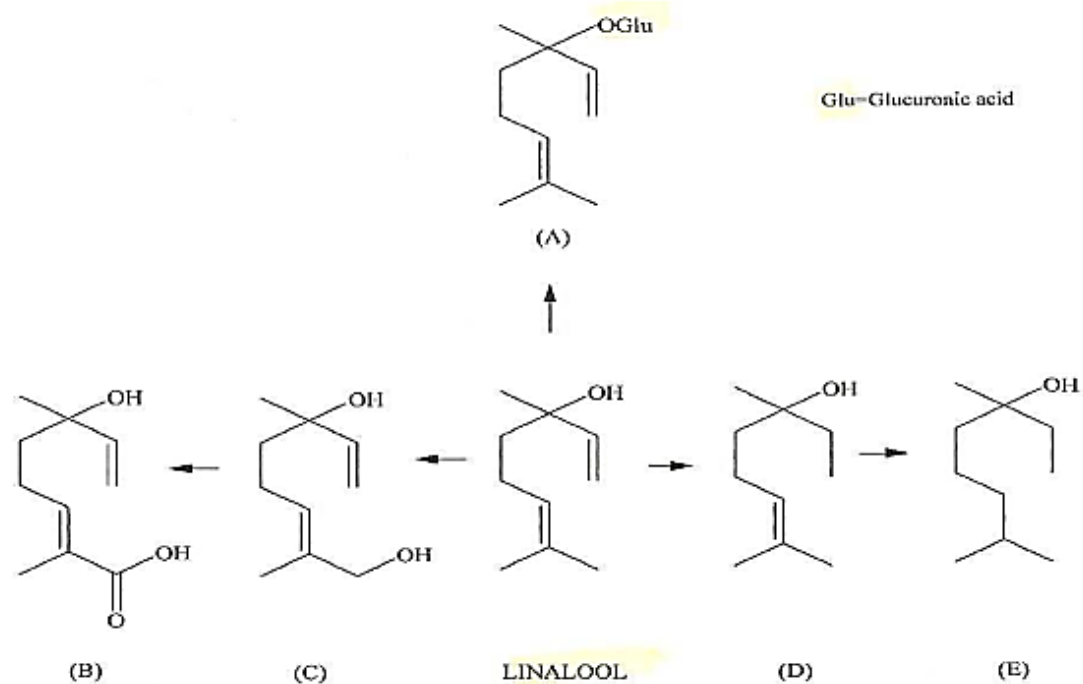


Figure I.8 : Les métabolites du linalol : (A) acide glucuronique, le majoritaire, (B) 8-carboxylinalol, (C) 8-hydroxylinalol, (D) dihydrolinalol, (E) tétrahydrolinalol[20].

I.3.6. Qualité de l'HE de Lavande officinale

L'HE de Lavande officinale offre un excellent profil de sécurité, avec une tolérance très élevée et un très bon rapport bénéfice risque. Cependant, elle ne doit pas être substituée à d'autres HE appartenant également au genre *Lavandula*, comme celle de Lavande aspic (*Lavandula spica*), de Lavande stoechade (*Lavandula stoechas*) ou encore de Lavandin (*Lavandula abrialis*), qui sont de qualité [21].

I.3.7. Propriétés thérapeutiques

L'huile essentielle de lavande se distingue des autres par sa douceur. En effet, on peut l'utiliser pure, sans problème, et ses applications sont multiples.

- ✓ Cicatrisante : elle soigne et désinfecte les petites plaies, les boutons et les brûlures.
- ✓ Régénératrice : elle s'applique sur le visage, intégrée à une crème, une huile ou un masque.
- ✓ Anti-Inflammatoire : elle apaise les douleurs musculaires et articulaires en massage.
- ✓ Antiseptique : en diffusion, elle supprime les mauvaises odeurs et parfume délicatement.
- ✓ Calmante : elle apaise les irritations cutanées ou les démangeaisons.
- ✓ Relaxante, elle détend ajoutée à l'eau du bain et quelques gouttes sur l'oreiller aident à trouver le sommeil.

- ✓ Répulsif : efficace contre les poux, elle fait fuir les parasites, les moustiques, les mites ou les puces.

Elle peut aussi être utilisée dans l'eau de rinçage ou sur le filtre de l'aspirateur. L'huile essentielle de lavande peut être un élément indispensable de la boîte à pharmacie familiale, car elle convient à tous, y compris les jeunes enfants [22].

I.4. Conclusion

Les plantes médicinales renferment plusieurs classes de substances à intérêt thérapeutique, parmi elles les huiles essentielles qui représentent la partie volatile extraite des plantes. Ces huiles sont extraites par plusieurs techniques telles-que l'hydrodistillation. Ils sont utilisés dans plusieurs domaines notamment le pharmaceutique. La lavande vraie est parmi les plantes qui offrent une huile essentielle très appréciée vue ses propriétés biologiques.



Chapitre II
Comportement mécanique
des pommades

II.1 Introduction

Les huiles essentielles sont dotées de propriétés thérapeutiques intéressantes. Elles sont utilisées dans des formulations comme les gels, les crèmes et les pommades. Ces formulations doivent être stables en stockage et lors de l'application. Donc, il est plus commode de réaliser des tests rhéologiques sur de tels produits. Ce chapitre présente des notions sur les pommades et la rhéologie.

II.2. Formulation pharmaceutique

La formulation recouvre l'ensemble du savoir-faire nécessaires au développement et à la fabrication d'un produit commercial caractérisé par sa valeur d'usage et répondant à un cahier des charges préétabli. Un produit formulé est obtenu par association et mélange de diverses matières premières d'origine synthétique ou naturelle parmi lesquelles on distingue généralement les matières actives qui remplissent la fonction principale recherchée et les auxiliaires de formulation qui assurent les fonctions secondaires, facilitent la préparation ou la mise en œuvre du produit commercial, ou prolongent sa durée de vie [23].

La formulation est autrement la science des mélanges, elle est à la croisée de beaucoup de domaines industriels et omniprésente au quotidien dans les différents secteurs de l'industrie à savoir :

- ✓ Cosmétique, galénique, pharmacie
- ✓ Engrais, insecticides, produits phytosanitaires ;
- ✓ Peintures, encres, vernis, colles ;
- ✓ Détergence, produits d'entretien ;
- ✓ Bitumes, bétons, ciments, matériaux de construction ;
- ✓ Lubrifiants, combustibles, produits pétroliers ;
- ✓ Polymères, plastiques, caoutchouc ;
- ✓ Agro-alimentaire : produits frais, gâteaux, bonbons ;
- ✓ Papier, carton ;
- ✓ Textiles techniques.

Dans ce qui suit, on s'intéresse aux formulations pharmaceutiques des pommades.

II.3. Pommades

Les pommades, d'aspect homogène, sont principalement composées d'une masse grasse dans laquelle est dispersée et/ ou dissoute la matière active. Leurs fonctions émoullientes et

protectrices dues à leur nature hautement occlusive sont importantes. Elles préviennent la perte en eau de la surface du stratum comeum, ce qui induit une augmentation de l'hydratation de la peau et une augmentation significative de perméabilité du principe actif. Selon la nature chimique des matières premières, les pommades peuvent être hydrophiles. Elles sont alors formées d'excipients miscibles à l'eau, se liquéfient à la surface de la peau et sont aisément éliminées par lavage [24].

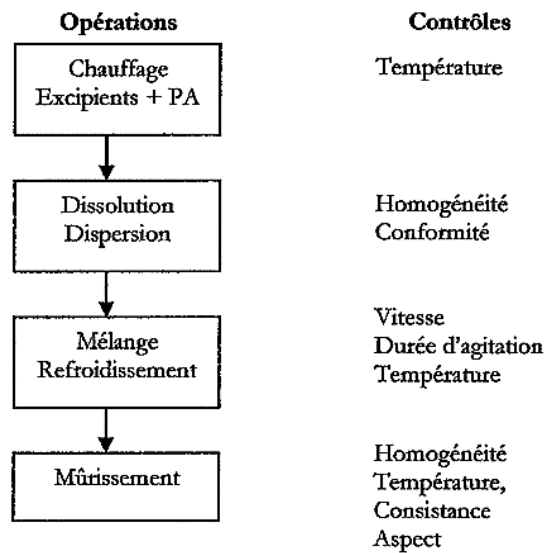


Figure II.1 : Logigramme de fabrication d'une pommade [24].

II.3.1. Type de pommades

On distingue trois catégories de pommades :

- ✓ les pommades hydrophiles ;
- ✓ les pommades lipophiles ;
- ✓ les pommades absorbant l'eau.

II.3.1.1. Pommades hydrophobes

Ces pommades n'absorbent que de petites quantités d'eau. Les excipients les plus communément utilisés pour leur préparation sont : la vaseline, la paraffine liquide, la paraffine solide, les huiles végétales, les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides. Dans ce groupe la vaseline, la paraffine solide et la paraffine liquide sont inscrites dans la pharmacopée française et sont obtenues par traitement approprié de certaines fractions d'un pétrole brut convenable [25].

II.3.1.2. Pommades hydrophiles

Ce sont des préparations dont les excipients sont miscibles dans l'eau. Elles sont constituées par des mélanges de polyéthylène glycol (macrogols) liquides et solides et peuvent contenir des quantités appropriées à l'eau [25].

II.3.1.3. Pommades absorbantes

Elles peuvent absorber des quantités importantes d'eau. Leurs excipients sont ceux des pommades hydrophobes dans lesquels sont incorporés des émulsifiants de types eau dans huiles(E/H) tels que la graisse de laine, les alcools de graisses de laine, les esters de sorbitanne, les mono glycérides et des acides gras. A la pharmacopée française figure une monographie des alcools de la laine constituée par un mélange de stérols et d'alcools aliphatiques [25].

II.3.2. Préparation de la pommade

Les pommades sont constituées par un excipient, simple ou composé, dans lequel sont dissous ou dispersés habituellement un ou plusieurs principes actifs. La composition de cet excipient peut avoir une influence sur les effets de la préparation et sur la libération du principe actif. Les excipients des pommades peuvent être des substances d'origine naturelle ou synthétique et être constitués par un système à une seule ou à plusieurs phases. La préparation proprement dite est réalisée par divers procédés qui aboutissent tous au mélange et à l'homogénéisation des différents produits. Dans le cas de formes contenant plusieurs phases, la phase aqueuse et la phase huileuse sont préparées au préalable chacune de leur côté avec les composés respectivement miscibles dans chacune d'elles. D'autres agents peuvent être ajoutés à la préparation comme des agents antimicrobiens, des antioxygènes, des agents stabilisants, émulsifiants ou épaississants [26].

II.3.3. Utilisation et conservation des pommades

Les pommades à base de plantes médicinales s'utilisent uniquement par voie externe. Elles sont à appliquer en massage léger sur une peau propre. L'action recherchée va ainsi rester locale.

Les récipients doivent, comme toujours, rester bien fermés. Ceux destinés aux préparations contenant de l'eau ou d'autres composants volatils doivent être étanches. Il conviendra donc de les garder dans leur emballage d'origine et de respecter la date limite d'utilisation indiquée sur celui-ci [27].

II.3.4. Milieu d'application (la peau)

La peau est un organe en constant renouvellement. Elle a la caractéristique d'être à la fois imperméable comme une frontière intérieure-extérieure, et perméable comme une zone d'échange privilégiée. La peau est perméable, car des substances peuvent entrer dans la peau ou la traverser selon plusieurs mécanismes. La diffusion peut être, soit simple (la substance passe toute seule pour équilibrer sa concentration de part et d'autre), soit facilitée par des enzymes, ou soit activée par des pompes spécifiques (comme la pompe sodium-potassium). Elle peut être imperméable dans une certaine mesure envers les agressions chimiques, mécaniques, lumineuses et microbiennes.

Sur un plan structural, la peau comprend trois couches superposées de tissus qui correspondent, de la surface à la profondeur, à l'épiderme, au derme puis à l'hypoderme (Figure II.2). Elle a une épaisseur de 0,5 à 5mm selon les localisations du corps, sa surface est d'environ de 1,75 – 2m², son poids atteint 3,5 – 4kg et elle renferme 20% de la totalité de l'eau du corps humain. C'est une structure en mille-feuille à la fois imperméable, résistante et souple, peuplée d'organites spécialisés dans l'alerte et la défense ou la réparation [28].

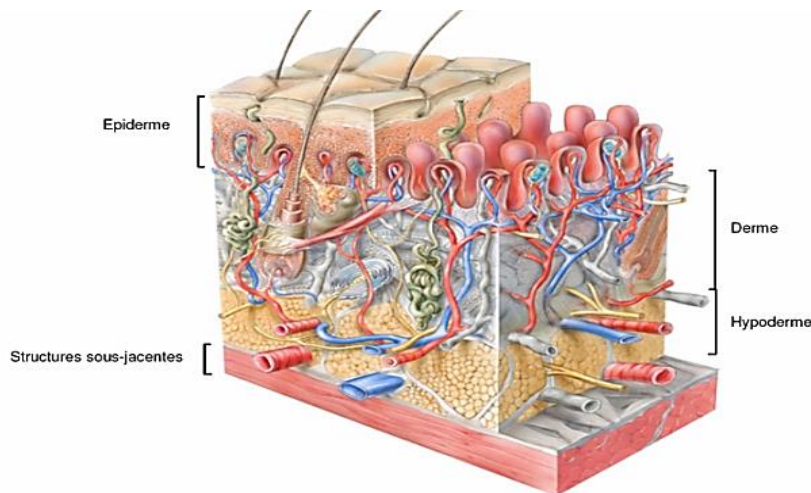


Figure II.2 : Schéma de la structure de la peau humaine [28].

II.4. Etude rhéologique des formulations pharmaceutiques

La rhéologie est une science qui étudie l'écoulement des matériaux sous l'effet des contraintes. Il ya deux grandeurs physiques fondamentales qui composent la rhéologie, une grandeur appelée contrainte de cisaillement qui donne création de mouvement et deux grandeurs physiques cinématique appelées déformation et vitesse de cisaillement. Le but de la rhéologie est de décrire les relations entre les contraintes, les déformations et les vitesses de déformation d'un élément de volume [29].

II.4.1. Grandeurs rhéologiques

On distingue quatre grandeurs rhéologiques :

- ✓ Contrainte de cisaillement (shear stress) ;
- ✓ Déformation de cisaillement ;
- ✓ Vitesse de cisaillement ;
- ✓ La viscosité

II.4.1.1. Contrainte de cisaillement (shear stress)

Au cours d'un mouvement laminaire de cisaillement, les couches sont animées de mouvement relatif les unes par rapport aux autres : deux couche successives, au contact l'une de l'autre, se déplacent relativement l'une par rapport à l'autre. Il en résulte l'apparition de forces de frottement qui s'exercent tangentiellement à la surface de la couche : ces forces tangentielles sont appelées forces de cisaillement [30].

Considérons deux éléments de surface infinitésimaux appartenant aux deux couches consécutives (1) et (2) de vitesse parallèles \vec{V}_1 et \vec{V}_2

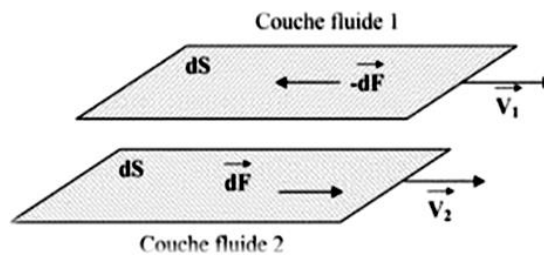


Figure II.3 : Forces de frottement s'exerçant sur deux couches adjacentes lors d'un cisaillement [30].

Si l'on suppose que $|\vec{V}_1| > |\vec{V}_2|$, il est clair que la couche (1) exerce sur la couche (2) une force de cisaillement \vec{dF} parallèle au mouvement et tendant à accélérer la couche (2). Réciproquement, la couche (2) exerce sur la couche (1) une force de cisaillement $-\vec{dF}$ tendant à la freiner.

Il est commode de rapporter ces forces de cisaillement à l'unité de surface sur laquelle elles s'exercent ; on définit ainsi ce qu'on appelle la contrainte de cisaillement τ :

$$\tau \left(\frac{N}{m^2} \right) = \frac{dF}{dS} \quad \text{II.1}$$

Où dF représente la projection algébrique de \vec{dF} sur un axe orienté parallèlement au mouvement.

τ étant une force par unité de surface, elle s'exprime en pascals ou en newton/m² dans le système international SI, et en dynes/cm² dans le système CGS.

Il est clair que la contrainte de cisaillement τ est une fonction définie en tout point du matériau et variant en général d'une couche à l'autre (le plus souvent, par raison de symétrie, demeure constant en tout point d'une même couche). La contrainte de cisaillement τ est la grandeur dynamique fondamentale de la rhéologie [30].

II.4.1.2. Déformation de cisaillement

Pour définir la déformation de cisaillement, il est souhaitable d'envisager le cas particulier d'un mouvement laminaire de cisaillement présentant une symétrie plane. Le matériau est cisailé entre deux plans parallèles, l'un mobile, l'autre fixe [31].

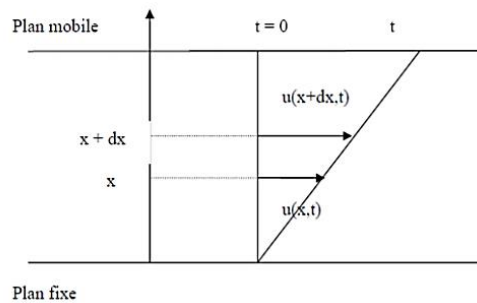


Figure II.4 : Mouvement laminaire de cisaillement entre deux plans parallèles [31].

En considérant que les particules de matière de deux couches adjacentes se trouvent à l'instant $t=0$ dans une section droite. A l'instant t postérieur, chaque particule de matière aura parcouru la distance $u(x, t)$ ou x , distance séparant la particule de matière du plan solide inférieur, permet de repérer les différentes couches planes du matériau.

On définit alors la déformation de cisaillement dans ce cas par l'équation:

$$\gamma = \frac{du(x,t)}{dx} \tag{II.2}$$

II.4.1.3. Vitesse de cisaillement

L'expression de la vitesse de cisaillement est donnée par l'équation suivante, il s'agit du dérivé par rapport au temps de l'équation de déformation de cisaillement [31] :

$$\dot{\gamma} = \frac{dy}{dt} \tag{II.3}$$

$\dot{\gamma}$: S'exprime en s⁻¹.

II.4.1.4. Viscosité

La viscosité dynamique μ ou viscosité apparente du fluide caractérise la facilité plus ou moins grande de déplacement (diffusion) d'une molécule dans un environnement encombré par d'autres molécules (friction) [32]. C'est la caractéristique du fluide qui engendre des forces de frottement lorsque ce dernier est mis en écoulement. Mathématiquement, elle est définie comme le rapport entre contrainte de cisaillement τ et vitesse de cisaillement ou taux de cisaillement γ :

$$\mu = \frac{\tau}{\gamma} \quad \text{II.4}$$

II.4.2. Classification des fluides

Les fluides sont classés en un fluide newtonien et un fluide non newtonien.

II.4.2.1. Fluides newtoniens

Le comportement rhéologique des solutions et suspensions dépend largement de leur concentration et de la nature de la matière qui les constitue. Il peut varier d'un comportement Newtonien à un comportement plus complexe. Une solution ou une suspension est dite diluée si les particules sont suffisamment éloignées les unes des autres pour qu'on puisse négliger les interactions entre elles [33].

II.4.2.2. Fluides non Newtoniens

Les fluides non newtoniens peuvent être facilement classés en trois catégories générales :

- ✓ Fluides non newtoniens au comportement indépendant du temps
- ✓ Fluides non newtoniens au comportement dépendant du temps
- ✓ Les fluides viscoélastiques

II.4.2.2.1. Fluides à comportement indépendant du temps

Les fluides non-newtoniens à comportement indépendant du temps peuvent être classés suivant le profil de leur rheogramme (Figure II.5) [34]. Ce classement met en évidence trois types de comportements:

- ✓ Le comportement rhéofluidifiant (ou pseudo-plastique) : la viscosité décroît lorsque le taux de cisaillement augmente.
- ✓ Le comportement rhéoépaississant (ou dilatant) : le liquide devient plus visqueux lorsque le taux de cisaillement croît.
- ✓ Le comportement à seuil de contrainte (ou plastique) : le matériau ne s'écoule qu'au-delà d'une contrainte critique appelée seuil d'écoulement.

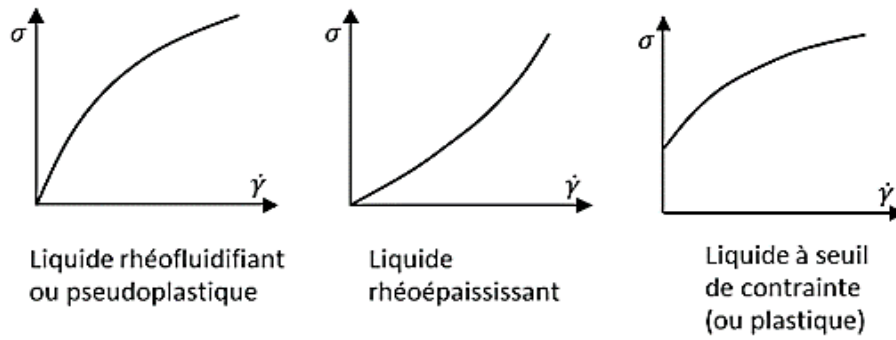


Figure II.5 : Rheogramme des différents comportements [34].

II.4.2.2.2. Fluides au comportement dépendant du temps

Certains liquides présentent un comportement dépendant de l'histoire passée de l'échantillon. C'est le cas en particulier pour les liquides thixotropes et rhéopexes. Ces liquides possèdent un caractère respectivement rhéofluidifiant ou rhéoépaississant qui ne se manifeste pas en totalité dès l'application du cisaillement mais de manière différée dans le temps à cause d'une déstructuration de l'échantillon due au cisaillement. En pratique, un tel comportement est observé lorsqu'on réalise des mesures en faisant croître le taux de cisaillement suivi de mesures où on le fait décroître. Sur le rhéogramme, deux courbes sont obtenues, la courbe de retour ne coïncidant pas avec celle de l'aller.

Une boucle d'hystérésis est alors obtenue. Une condition importante pour qu'un liquide soit thixotrope ou rhéopexe est que sa structure initiale puisse se régénérer naturellement par un repos suffisant. Le lien entre le temps caractéristique de déstructuration t_c et la durée d'observation t_E est formalisé par le nombre de Deborah De égal au rapport de ces deux temps (aussi appelé nombre de Weissenberg). Ces changements de structure caractéristiques du régime non-linéaire n'ont lieu que si l'amplitude de l'excitation dépasse une valeur critique. Au-dessous de cette valeur, le comportement est qualifié de linéaire mais dépend des valeurs de De . Aux temps courts ($De \gg 1$) et aux temps longs ($De \ll 1$), le comportement est qualifié respectivement d'élastique et de visqueux. Le domaine intermédiaire ($De \approx 1$) constitue le domaine viscoélastique linéaire [34].

II.4.2.2.3. Fluides viscoélastiques

Les fluides viscoélastiques manifestent sous l'effet d'une contrainte, un comportement qui dépend à la fois de la déformation, du taux de cisaillement et du temps [35]. Leurs équations rhéologiques sont de la forme :

$$\tau = f(\gamma, \dot{\gamma}, t)\dot{\gamma}$$

II.4.3. Appareillage

Les appareils permettant de caractériser les propriétés rhéologiques des gels et lotions cosmétiques sont principalement de deux types :

- ✓ les rhéomètres rotatifs ;
- ✓ les rhéomètres oscillants.

- **Rhéomètre rotatif**

En rhéomètre rotative, le fluide est soumis à un cisaillement entre deux surfaces solides, l'une en rotation autour de son axe (nommée rotor), et l'autre immobile (nommée stator) [36]. Les trois grandeurs expérimentales de base sont le couple C , l'angle de rotation du rotor mesuré à partir de la position au repos α , et la vitesse de rotation du rotor ω . Ces grandeurs peuvent être soit imposées, soit mesurées. Les surfaces solides peuvent être de trois types :

- ✓ géométrie plan-plan ;
- ✓ géométrie de Couette (cylindres coaxiaux) ;
- ✓ géométrie cône-plan.

Les rhéomètres rotatifs peuvent être regroupés en deux grandes classes, selon que l'on impose la vitesse de rotation (c'est alors le couple exercé sur le corps de mesure qui est mesuré), ou que l'on impose le couple (la vitesse de rotation est alors mesurée dans ce cas). Mais on parle généralement de rhéomètre à taux de cisaillement imposé ou à contrainte imposée, car le taux de cisaillement est proportionnel à la vitesse de rotation, tandis que la contrainte est proportionnelle au couple.

II.4.4. Tests rhéologiques

II.4.4.1 Essai de fluage

L'essai de fluage permet une meilleure compréhension des comportements rhéologiques des matériaux viscoélastiques en accédant à leurs propriétés dans des conditions proches de celles de l'état de repos. En effet, le test consiste à appliquer une contrainte constante inférieure au seuil d'écoulement du fluide puis de suivre l'évolution de la déformation engendrée au cours du temps. La relaxation du matériau s'opérant après la suppression de la contrainte correspond à la recouvrance. Cette dernière permet de récupérer tout ou partie de cette déformation [37].

II.4.4.2 Essai dynamique

Ce test consiste à étudier le matériau de façon dynamique, en appliquant une contrainte (ou une déformation) sinusoïdale de fréquence connue. On étudie la réponse du matériau à la sollicitation périodique : analyse de la déformation (ou la contrainte) mesurée, elle-même sinusoïdale de même fréquence. L'amplitude de la contrainte imposée doit être inférieure à la contrainte seuil de manière à rester dans le domaine solide [38].

II.4.4.3 Essai d'écoulement

C'est le test le plus important dans la caractérisation de la plupart des matériaux telles que les formulations pharmaceutiques et cosmétiques. L'échantillon, dans l'entrefer du système de mesure du rhéomètre, subit des perturbations mécaniques circulaires (cisaillement) imposées par la rotation du mobile. Ce cisaillement est caractérisé par un gradient de vitesse $\dot{\gamma}$ (en s^{-1}) et une force (ou contrainte) τ (en Pa) qui est fonction de sa nature intrinsèque et de sa consistance ou plutôt de sa viscosité η (Pa.s). Si la contrainte est imposée par l'appareil, le gradient de vitesse est mesuré et inversement. L'augmentation de la force ou de la vitesse de ce cisaillement provoque l'écoulement de l'échantillon, c'est-à-dire la diminution de sa viscosité pour la plupart des formulations ; c'est le caractère rhéofluidifiant des échantillons non newtoniens (nous n'aborderons pas le cas ici des échantillons rhéo-épaississants dont la viscosité augmente avec le cisaillement). Il en résulte une courbe qui peut s'exprimer sous plusieurs formes différentes : soit de la viscosité en fonction du gradient de vitesse (résultat qui nous intéresse dans cette étude), soit la contrainte de cisaillement en fonction du gradient de vitesse, soit de la viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement [39].

II.5. Conclusion

Des notions sur les pommades et la rhéologie ont été présentés dans ce chapitre. Les tests rhéologiques nous donnent des informations sur le produit et sa stabilité. Le chapitre suivant sera réservé à la partie méthodologique.

A decorative horizontal scroll graphic with a black outline and rounded ends. The scroll is partially unrolled, with the top and bottom edges curving upwards at the corners. The text is centered within the scroll.

Partie Expérimentale

A decorative border in a dark brown color, featuring intricate floral and leaf patterns at the corners and along the sides of a rectangular frame.

Chapitre III
Matériel & Méthodes

III.1. Introduction

Ce chapitre est consacré aux procédés d'extraction de l'HE de la lavande, d'analyses physico-chimiques (densité, pH...), d'analyse chimique par CG-SM, d'activités antibactérienne et antioxydante. La partie extraction d'HE et les analyses physico- chimique ont été réalisée au niveau de laboratoire de génie des procédés GP (UDBKM). L'analyse par CG-SM a été faite au niveau de laboratoire de recherche C.R.A.P.C (Bousmail). L'activité antioxydante a eu lieu au sein de laboratoire d'analyse physico-chimique (UDBKM), l'activité antibactérienne a été effectuée au niveau de SAIDAL implanté à Médéa.

III.2. Etude de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*

La plante de lavande a été récoltée durant le mois de mars de la wilaya de Bejaïa, puis identifiée par Mr Kouache de la faculté des sciences de la nature et de la vie. Les sommités ont été coupées et séchées à l'ombre dans un endroit sec pendant 7 jours.

III.2.1. Extraction de l'HEL

La technique utilisée pour l'extraction est l'Hydrodistillation type Clevenger qui se compose de ballon, chauffe ballon et un réfrigérant [5]. Dans un ballon de 500 ml, on introduit 20 g de la lavande avec 350 ml d'eau distillé. On porte le mélange à ébullition pendant 1h 30.

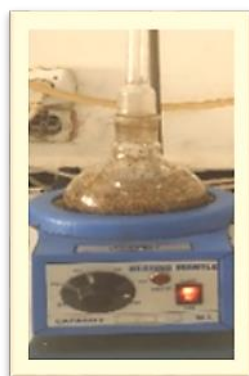


Figure III.1 : Montage de Clevenger.

III.2.2. Etude de la cinétique d'extraction

Pour l'étude de la cinétique d'extraction d'huile essentielle de la lavande, nous avons introduit 20g de la matière végétale, qui est mise dans 350 ml d'eau. On note le volume obtenue dans chaque 10min pendant un temps d'extraction d'environ une heure.

III.2.3. Rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle est défini par le rapport entre la masse d'HE (M_{HE}) obtenue et la masse de la matière végétale (M_{mv}), exprimé en (%) et calculé par la relation (III.1) :

$$R(\%) = \frac{M_{HE}}{M_{mv}} \times 100 \quad \text{III.1}$$

Avec

$R(\%)$: le rendement exprimé en pourcentage ; M_{HE} : la masse d'HE obtenue (g) et M_{mv} : la masse de la matière végétale (g).

III.2.4. Caractéristiques d'HEL

III.2.4.1. Caractéristique organoleptique

Les caractéristiques organoleptiques l'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielles de la lavande officinale ont été notées, puis comparées à celles données par la littérature (ou les normes).

III.2.4.2. Propriétés physiques de l'HE

a) La densité

La densité relative d'HE est défini par le rapport de la masse volumique de la quantité d'HE par rapport à la masse volumique d'eau exprimé par la relation suivante :

$$d = (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0) \quad \text{III.2}$$

Avec :

m_0 : masse en g du tube de 1.5 ml vide ; m_1 : masse en g du tube rempli d'eau distillée.

m_2 : masse en g du tube rempli d'HE de *L. officinalis* et d : la valeur de la densité relative selon les normes.

Mode opératoire

Peser successivement des volumes égaux d'HE et d'eau à la température de 20 °C à l'aide d'une balance analytique, et noter à chaque fois leurs poids.

b) Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle 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 essentielle maintenue à une température constante [40]. L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe à la température ambiante puis ramené à 20 °C.



Figure III.2 : Réfractomètre d'Abbe

c) Potentiel d'hydrogène pH

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'acidité ou la basicité d'une solution ou bien l'activité chimique des ions hydrogène H^+ en solution. Le pH d'HEL est déterminé à l'aide d'un papier pH.

III.2.4.3. Propriété chimique de l'HE

- **Indice d'acide**

L'indice d'acide est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle (Pharmacopée européenne 2008).

Mode opératoire

- ✓ Peser 1g d'HE dans un erlenmeyer.
- ✓ Ajouter 5ml d'éthanol.
- ✓ Ajouter 5gouttes de phénol phtaléine, puis agiter jusqu'à la dissolution.
- ✓ Titrer avec une solution de potasse éthanoïque à 0,1 N jusqu'à l'apparition d'une coloration rose persistante.

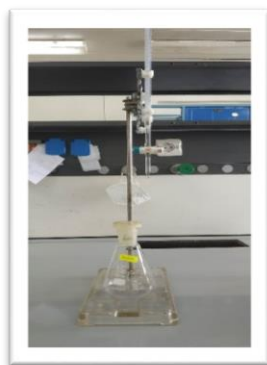


Figure III.3 : Montage de titrage de l'indice d'acide.

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante :

$$I_A = (V_{ech} - V_b) \frac{56.11}{m} \quad \text{III.4}$$

Avec

V_{ech} : le volume d'échantillon ; V_b (ml) : le volume d'hydroxyde de potassium à blanc utilisé pour le titrage et M (g) : masse de la prise d'essai.

III.2.4.4. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

La composition chimique de l'huile essentielle de la lavande officinale a été déterminée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Figure III.4).



Figure III.4 : Equipement de CG-SM.

Cette analyse a été effectuée au niveau de laboratoire de recherche C.R.A.P.C Bousmail. Les conditions opératoires sont résumées dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Conditions opératoire de l'analyse CG-SM.

	Paramètre	
Injecteur	Température	250 °C
	Mode d'injection	Split 1 ; 80
	Volume injecté	0.2 µl
Colonne	Type	HP-5MS
	Dimension	Long 30m, D int 0.25mm, ep film 0.25µm
	Phase stationnaire	5% Phenyl 95 % dimethylpolysiloxane
Four	Temperature	45°C pendant 8min, 2°C/min jusqu'à 250°C ; isotherme 10min
	Durée d'analyse	120min
	Gaz vecteur	Hélium pur 6.0
	Débit	0.6 ml/min
Détecteur de masse	Mode d'analyse	Scan
	Délai de solvant	3.5 min
	Température de l'interface	270 °C
	Type d'ionisation	Impact électronique
	Intensité de filament	70 év
	Type de l'analyseur de masse	Quadripôles
	Température de la source	230 °C

III.2.5. Analyse biologique de l'huile de *Lavandula officinalis*

III.2.5.1. Activité antibactérienne

- **Les souches microbiennes**

Nous avons utilisé 4 souches bactériennes de références : 2 de gram (+) ; 2 de gram (-)

- ✓ (+) *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) ;
- ✓ (+) *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) ;
- ✓ (-) *Escherichia Coli* (ATCC 8739) ;
- ✓ (-) *Salmonella TyphiSnusium* (ATTC 14028);

Nous avons utilisé une souche fongique

✓ *Candida albicans* (ATCC 10231)**a) Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'HE de *Lavandula officinalis* par la méthode de l'aromatogramme**

La FDA (*Food and Drug Administration*) a approuvé cette méthode comme standard pour le comité national de laboratoire clinique. Cette technique, fiable et reproductible, est souvent la plus utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne. Elle constitue une étape préliminaire à des études plus approfondies car elle donne des résultats qualitatifs. Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé de l'huile essentielle, sur la surface de géloseensemencée de bactérie tout au début de sa croissance [42].

✓ **Préparation de milieu de culture**

Nous avons pesé 40g de poudre de Sabouraud dextrose agar diluer dans 1l d'eau distillé et fait bouillir pendant 10min après (Figure III.5), versé dans des flacons et les mis dans l'autoclave à T= 121°C pendant 1h30min.



Figure III.5 : Préparation de milieu de culture.

b) Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne de l'HEL par la méthode de CMI

La méthode de dilution consiste à faire une série de dilution d'une gamme de concentration en huile essentielle à laquelle une suspension bactérienne est inoculée. Le but est de déterminer la concentration la plus faible de l'HE qui inhibe la croissance de la bactérie testée exprimée en $\mu\text{L/ml}$ ou mg/ml . Cette technique est utilisée pour les bactéries qui ont présenté une sensibilité aux HE par les méthodes de diffusion [42].

Mode opératoire

- ✓ Réaliser une série de dilutions de HE dans le DMSO (diméthylsulfoxyde) commençant par une dilution à 1/2 jusqu'à la dilution de 1/16 à partir de la solution mère (500µl DMSO+ 500µl HE), dans des tubes en verre stériles (Figure III.6 (a)).
- ✓ Dans le premier tube on a versé 500µl d'HE avec 500µl DMSO.
- ✓ 500 µl de la première dilution ont été transférés dans la deuxième dilution auquel on a rajouté 500 µl de DMSO, puis agiter. Des dilutions à 1/8 et 1/16, sont préparées de la même manière.
- ✓ Les suspensions bactériennes ont été ensemencées sur la surface étalée dans des boîtes de pétrie dans des conditions stériles (Figure III.6 (b)).
- ✓ A l'aide d'un bec bunsen et pince stérile, un disque (9 mm de diamètre) qui a été déjà imbibé de chaque solution est déposé dans chaque boîte de pétrie.
- ✓ Après diffusion, les boîtes sont incubées pendant 24h et 37°C.

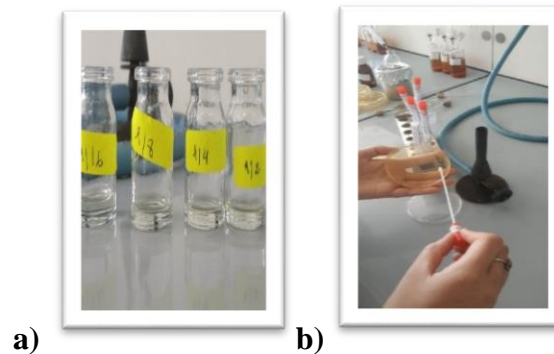


Figure III.6 : Dilutions préparées et l'ensemencement des suspensions bactériennes.

La concentration minimale inhibitrice CMI est la plus basse concentration d'HE qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après 24 heures d'incubation [42].

III.2.5.2. Activité antioxydante

Le test DPPH [1, 1-diphényl-2-picrylhydrazyl (α , α -diphényl- β -picrylhydrazyl)] est basé sur la réduction du DPPH, un radical libre stable. Il est basé sur la réduction du DPPH. Le radical libre DPPH avec un électron impair donne une absorption maximale à 517nm (couleur violette). Lorsque les antioxydants réagissent avec le DPPH, qui est un radical libre stable, s'apparie à un donneur d'hydrogène (par exemple, un antioxydant piégeant les radicaux libres) et est réduit en DPPHH ayant pour conséquence la diminution de l'absorbance à cause du DPPH. Le radical DPPH est un radical stable en vertu de la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule, de sorte que les molécules ne se déméritent pas, comme c'est le cas pour la plupart des autres radicaux libres. La délocalisation est également à l'origine de la couleur violette profonde, caractérisée par une bande d'absorption dans une solution de méthanol. Les radicaux

de la forme DPPH se décolorent (couleur jaune) en fonction du nombre d'électrons capturés. Plus la décoloration est importante, plus le pouvoir réducteur est élevé. [44].

Mode opératoire

- ✓ Solubiliser 0.004 g de DPPH dans 100 ml d'éthanol
- ✓ Dans des tubes, préparer des solutions de concentrations (40, 60, 80, 100, 250, 500 µl/ml) de l'huile essentielle diluée par 1 ml d'éthanol.
- ✓ Mettre dans chaque tube 1 ml de la solution de DPPH préparée
- ✓ Incuber pendant 30 min à une température ambiante
- ✓ L'absorbance a été mesurée à 517 nm dans le spectrophotomètre.
- ✓ Une réaction de contrôle a également été effectuée sans l'échantillon testé.

Le pourcentage d'inhibition a été calculé en comparant les valeurs d'absorbance de l'échantillon de contrôle et de l'échantillon testé.

L'activité de piégeage des radicaux libres a été exprimée en pourcentage d'inhibition (I%) et calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (I\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100 \quad \text{III.6}$$

Où :

I%: Pourcentage de réduction du radical DPPH ; **Abs contrôle** : Absorbance du contrôle (DPPH + éthanol) et **Abs échantillon** : Absorbance de l'échantillon.

Différentes concentrations d'échantillons ont été utilisées afin d'obtenir des courbes d'étalonnage et de calculer les valeurs IC₅₀. (IC₅₀ - concentration requise pour obtenir une activité de piégeage des radicaux de 50 %) radicaux) [44].

III.7. Conclusion

Ce chapitre était consacré à la présentation des méthodes et le matériel utilisé dans ce travail, commençant par l'extraction de l'huile essentielle de la plante étudiée (*Lavandula officinalis*) : l'étude de ses propriétés physicochimiques (pH, densité...), analyse CG-SM, les activités biologiques (activité antibactérienne, antioxydante...).



Chapitre IV
Résultats & Discussion

IV.1. Introduction

Après avoir présenté le protocole expérimental dans le chapitre précédent, ce chapitre sera consacré à la présentation et l'interprétation des résultats expérimentaux. Rappelons que le travail expérimental repose sur les parties suivantes :

- ✓ Extraction de l'huile essentielle de lavande HEL ;
- ✓ Propriétés organoleptiques et physicochimiques ;
- ✓ Identification de la composition chimique par CG/SM ;
- ✓ Activité antibactérienne de l'HEL ;
- ✓ Activité antioxydante de l'HEL ;

IV.2. Etude de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*

IV.2.1. Extraction d'HEL

De nos jours, il existe plusieurs méthodes d'extraction technologiquement développées pour augmenter le rendement d'extraction des huiles essentielles, mais l'hydrodistillation reste la technique la plus utilisée à cause de sa simplicité et sa fiabilité. Elle est employée dans ce travail en utilisant le montage de Clevenger [46-47].

IV.2.2. Etude de la cinétique d'extraction

Il est intéressant d'optimiser le temps d'extraction. La figure IV.1 illustre le volume d'HEL obtenue en fonction du temps.

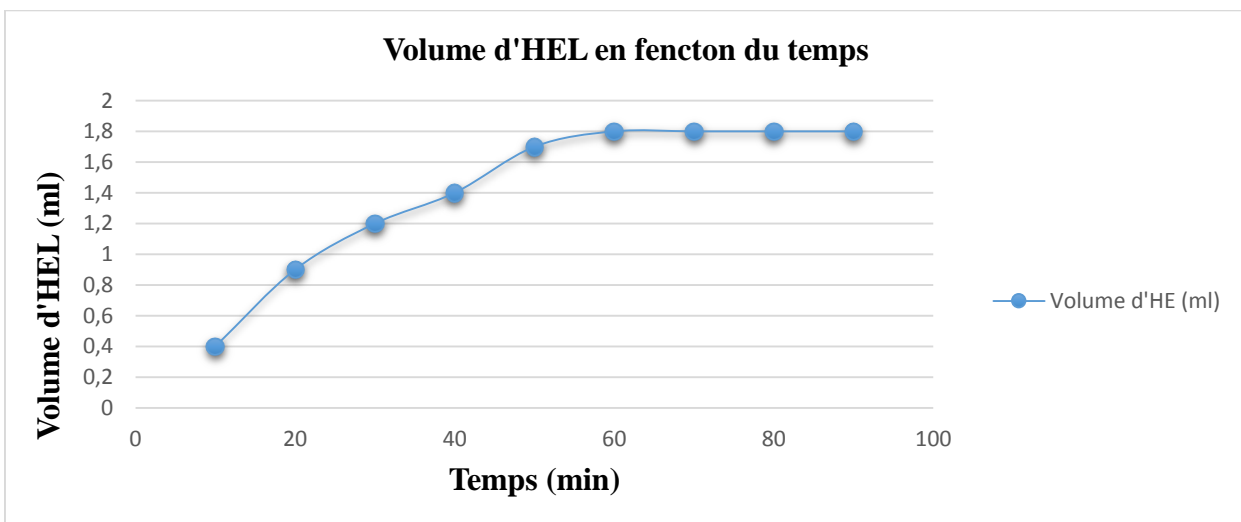


Figure IV.1 : Représentation de la cinétique d'HE en fonction de temps.

On peut constater une croissance rapide de volume d'HE en fonction du temps jusqu'à atteindre un maximum pour une valeur de 1.8 ml, en plus il y a un équilibre entre 60 et 90 minutes. Cette cinétique nous permet de dire que la totalité de l'huile essentielle est extraite au bout de 90 minutes.

IV.2.3. Rendement d'extraction

Les résultats obtenus dans cette étude montrent que le rendement d'extraction d'HE de la lavande officinalis de la partie aérienne sèche récoltée dans la wilaya de Bejaia est de 1,2 %. La valeur est presque égale (1.3%) à celle trouvée dans le cas de la lavande de France [48]. Une étude réalisée sur des plantes du *L. officinalis* de différentes régions d'Algérie [49], a montré que les fleurs sèches de la lavande présentent un rendement de 1.36%. De même, une autre étude révèle que les fleurs sèches de la lavande provenant de la région d'Ouchba et Zarifet (wilaya de Tlemcen) présentent des teneurs en huile essentielle respectivement 0,94% et 0,70% [50]. Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs : la région, la période de récolte, le climat et la technique d'extraction.

IV.2.4. Caractéristiques d'huile essentielle de *Lavandula officinalis*

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nos essais ont été effectués selon un protocole précis et obéissent aux normes édictées par l'ISO.

IV.2.4.1. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques d'HEL extraites sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : Propriétés organoleptiques de l'HE

Propriétés	Résultats	AFNOR [51]
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile, limpide
Couleur	Jaune clair	Jaune clair
Odeur	Forte, caractéristique de l'odeur de la lavande	Caractéristique, fraîche, florale, rappelant celle des sommités fleuries de la plante



Figure IV.2 : HE de la lavande officinale.

D'après les résultats du tableau IV.1 et ce qu'elle montre la figure IV.2, l'HE du la *Lavandula officinalis* est un liquide mobile qui possède une couleur jaune pâle et une odeur très caractéristique, rappelant celle de fleurs de la plante. Ces résultats sont en accord à ceux cités dans les normes AFNOR [51].

IV.2.4.2. Propriétés physicochimiques de l'HEL

Le contrôle des propriétés physico-chimiques d'HEL a été déterminé. Selon la comparaison aux normes AFNOR [51]. Les résultats sont présentés dans le tableau IV.2.

Tableau. IV.2 : Propriétés physico-chimiques de l'HE.

Propriétés	Résultats	NORME AFNOR [51]
Densité relative à 20 °C	0,8813	0,880 0 à 0,892 0
pH	5	4-6
Indice de réfraction à 20 °C	1.4580	1,4550 à 1,4660
Indice d'acide	0.561	< 1

A partir de ces valeurs, les chiffres montrent que les propriétés physicochimiques d'HE que nous avons évaluées sont conformes à ceux mentionnés par les normes AFNOR [51].

- ✓ **La densité relative** de l'HE testée est égale à 0,8813, elle est dans les normes AFNOR (0,880à 0,8920) et inférieure à celle de l'eau. Il s'agit donc d'une huile légère, stable et difficile à oxyder [51].
- ✓ La valeur **de pH** indique que l'HE a un caractère acide (5). Cet aspect acide est connu chez les huiles essentielles en général. Il est dû à la présence de molécules comme les acides gras et leurs dérivées. Ce résultat est proche de celui donné par la norme AFNOR.

- ✓ L'indice de réfraction dépend de la composition chimique et la température, L'indice obtenu dans cette étude est proche à celui donné par la norme AFNOR [51].
- ✓ L'indice d'acide I_a ou le taux d'acides gras libres obtenu pour cette HE est inférieur à 1, comme indiqué dans les normes AFNOR, cela signifie qu'il contient de faible quantité d'acides libres. En d'autre thème, il possède un taux d'oxydation faible. Ce dernier indique que l'HE a été bien conservé, ceci permet de dire que cette HE est stable et de bonne qualité [51].

IV.2.4.4. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

Les résultats de l'analyse par Chromatographie gazeuse - Spectrométrie de masse de la composition chimique de l'HE sont présentés dans le tableau IV.3

Tableau IV.3 : Constituants chimiques de l'HEL analysée par CG-SM.

Composés	TR (min)	Pourcentage
Linalol	31.508	21.44
Linalyle acétate	21.490	14.79
Bicyclo [2.2.1] heptan-2-one	22.962	8.31
Bornéol	25.299	5.36
α -terpinolene	27.253	4.85
CaryophylleneOxide	50.744	3.22
α -Bisabolol	57.272	3.37
1,8-Cineole	14.333	3.54
Acide Propanoïque	26.870	2.04
Nerol	32.015	2.53

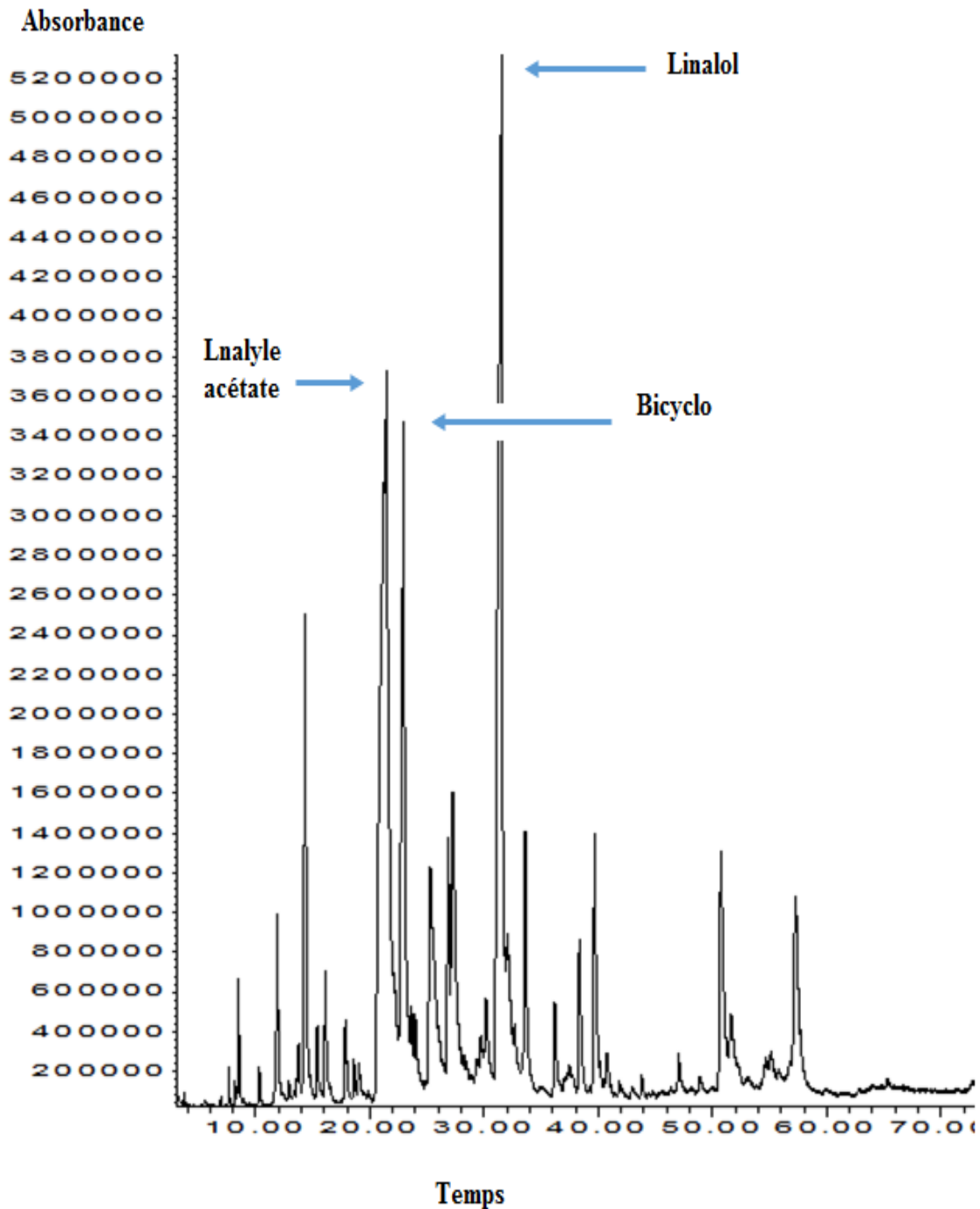


Figure IV.3 : Chromatogramme d'HEL obtenue par CG-SM.

L'analyse de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* par Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de masse a permis d'identifier au total 54 composés, ce qui correspond à un pourcentage de 99,91% par rapport à l'ensemble des constituants. Le Linalol (ou linalool) apparaît comme le constituant majoritaire de l'HEL (21,44%), suivi de l'acétate de linalyle (14,79%), Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one (8,31%), Bornéol (5,36%) et de α -Terpinolène (Figure IV.3). Le Linalol, acétate de linalyle, Bicyclo et le Bornéol constituent un taux de 49,9% (presque la moitié de la composition).

Une étude réalisée également en Algérie portant sur la composition des fleurs de *Lavandula officinalis* récoltées de l'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agroalimentaires (INATAA), Université de Constantine [52], a montré que les composants majeurs de cette huile sont : acétate de linalyle (15.26 %), Linalol (10.68%), 1,8-cineole (10.25%), γ -terpinène (11.2%) et camphre (11.25%). La composition de notre HE est proche à celle trouvée avec la lavande de Tébessa (Algérie) qui est riche en linalol (20.40%), camphre (13.50%), acétate de linalyle (13.24%), puis le 1,8-cineole (12.96%) [53]. Cependant, la lavande de Batna (Algérie) est dominée par le 1,8-cineole (29.4%) et le camphre (24.6%) [54]. Une étude marocaine antérieure a montré des résultats différents, dans lesquels les principaux composants étaient composés de linalol (21,81 %), de 1,8-cinéole (18,07 %), de camphre (11,89 %), d'acétate de linalyle (10,21 %) [55].

La composition de notre HE est presque similaire (à des teneurs différentes) à une HE cultivée en Bosnie-Herzégovine qui contient le linalol (27,72 %) et l'acétate de linalyle (22,82 %), qui représentaient tous deux près de la moitié de la teneur. Les composés suivants étaient l' α -pinène (9,82 %), l'acétate de lavandulyle (7,32 %), le trans-caryophyllène (5,70 %), le terpinène-4-ol (5,20 %), le bornéol (4,20 %), le 4-carène (2,50 %), et β -myrcène (2,15 %) [56].

Une autre étude sur une lavande de Turquie a montré quatre composants principaux : linalool (22,1 %), acétate de lavandulyle (15,3 %), acétate de linalyle (14,7 %), et (E) β -ocimène (10,4 %) [57]. Plusieurs travaux ont rapporté que la composition chimique de l'HE est influencée par la situation géographique, les conditions climatiques pendant la croissance et les caractéristiques morphologiques [58-61].

Tous ces travaux montrent que la composition chimique de l'HE de l'espèce *Lavandula officinalis* cultivée à Bejaia et dans plusieurs régions dans le monde, est caractérisée par une forte teneur en Linalol et acétate de linalyle à des proportions mutuelles.

IV.2.5. Analyse biologique de l'huile de *Lavandula officinalis*

IV.2.5.1. Activité antibactérienne

a) Evaluation qualitative de l'activité antibactérienne de l'HEL par la méthode de l'aromatogramme

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme) estime l'activité antibactérienne en déterminant le diamètre d'inhibition. La sensibilité des souches bactériennes est présentée dans le tableau (IV.4).

Tableau IV.4 : Sensibilité des souches bactériennes en fonction des zones d'inhibition [62].

Diamètre (mm)	Bactérie sensible ou résistante
-	Résistant (-)
5	Peu sensible (±)
10	Sensible (+)
20-30	Assez sensible (++)
>30	Très sensible (+++).

Ceci va permettre de distinguer cinq (5) classes d'HE selon les diamètres D des zones d'inhibition [63] :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm
- Fortement inhibitrice : $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice : $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice : $D \leq 10$ mm

Nous avons testé l'effet de l'huile essentielle de *L. officinalis* sur cinq bactéries (deux Gram négatif, deux Gram positifs et une levure) les résultats sont présentés dans le tableau IV.5 qui montre l'effet inhibiteur de l'HE sur chaque souche bactérienne testée.

Tableau IV.5 : Résultats de diamètre d'inhibition de chaque souche bactérienne.

Souche bactérienne	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Classement	
		SB	HE
<i>E. coli</i> -	19	Sensible (+)	Modérément inhibitrice
<i>S. aureus</i> +	32	Très sensible (+++)	Très fortement inhibitrice
<i>B. subtilis</i> +	40	Très sensible (+++)	Très fortement inhibitrice
<i>S. typhimurium</i> -	23	Assez sensible (++)	Fortement inhibitrice
<i>C. albicans</i>	40	Très sensible (+++)	Très fortement inhibitrice

Les résultats présentés dans le tableau IV.4 et la figures IV.4 (a) montrent que l'HE a une activité plus grande contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et la levure *Candida albicans* avec un diamètre variant entre 32 mm et 40 mm qui est supérieure à 30mm, on déduit qu'il s'agit d'une HE Très fortement inhibitrice. Pour les souches *Escherichia coli* et

Salmonella typhimurium qui ont moins d'activité par rapport aux autres souches, le diamètre de leur inhibition est respectivement 19 mm et 23 mm ce qui nous a permis de dire que l'HEL est modérément inhibitrice pour *Escherichia coli* et fortement inhibitrice pour *Salmonella*. Cela indique que l'huile essentielle testée présente une activité antibactérienne importante contre les bactéries gram-positives par rapport aux bactéries gram-négatives.

Concernant la souche *S. aureus*, nos résultats sont en accord avec une étude qui a montré la sensibilité importante de cette souche avec l'HEL [64].

Une étude réalisée au Maroc indique que le Linalol seul, composant principal de *Lavandula angustifolia*, montre une meilleure activité antibactérienne que l'huile essentielle de *Lavandula* [65].

Plusieurs études [66-68] ont rapporté que les bactéries Gram (+) sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram (-) (connues par la présence d'une membrane externe, imperméable aux composés hydrophobes grâce à son revêtement lipopolysaccharide). L'absence de cette barrière, chez les bactéries Gram (+) permet le contact direct des constituants hydrophobes de l'huile essentielle avec la bicouche phospholipidique de la membrane cellulaire, provoquant ainsi soit, une augmentation de la perméabilité des ions et la fuite des constituants intracellulaires vitaux, soit une déficience au niveau du système enzymatique.

L'activité de notre HE sur les sensibilités bactérienne serait principalement due au composé majoritaire Linalol 21,44% identifié par CG/SM. Il a été montré que le linalol inhibe diverses bactéries présentes dans les cavités orales, la peau et le tractus respiratoire notamment *Haemophilus influenza*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* et *Escherichia coli* [20]. Ainsi, les huiles essentielles de Lavande présente une activité supérieure aux antibiotiques conventionnels envers *S. aureus*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* [20]. Le linalol, camphre et 1-8 cinéole, montrent une activité légèrement plus élevée que la streptomycine sur *P. aeruginosa* et *Proteus mirabilis*. La Lavande officinale a une action anti-infectieuse intéressante à cause de la présence de 1- 8 cinéole/camphre/linalol. Donc peut être utilisée en prophylaxie et en alternative contre les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques [20].

b) Evaluation quantitative de l'activité antibactérienne CMI de l'HEL par la méthode des disques

Les résultats des dilutions sur l'activité antibactérienne de l'HEL sont représentés dans le tableau IV.6 :

Tableau IV.6 : Diamètres des zones d'inhibition à différentes concentrations de l'HE testée : (+) : effet, (-) : pas d'effet, (/) : lecture impossible.

	1/2	1/4	1/8	1/16
<i>E. coli</i>	11	/	/	/
<i>S. aureus</i>	12	/	/	/
<i>C. albicans</i>	14	13	/	/
<i>B. subtilis</i>	12	11	10	9
<i>S. typhimurium</i>	/	/	/	/

On remarque que la concentration de l'huile essentielle est en relation directe avec la zone d'inhibition où les effets inhibiteurs augmentent considérablement avec l'augmentation de la concentration d'HE.

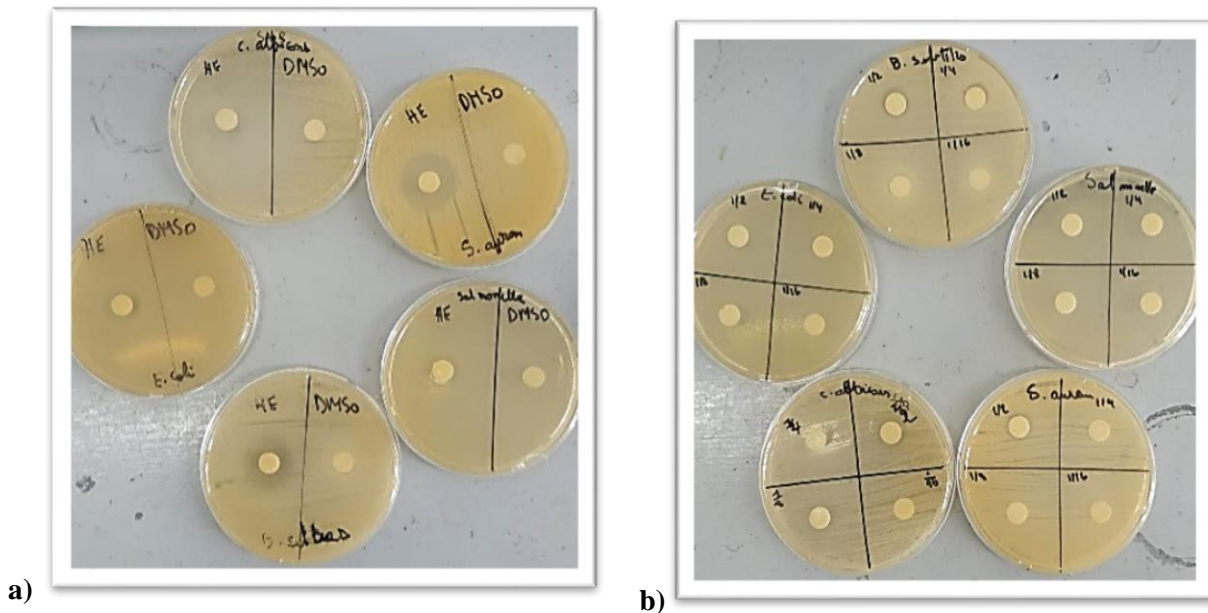


Figure IV.4 : Résultats des zones d'inhibition pour chaque souche bactérienne.

La lecture de ces résultats montre que les concentrations minimales inhibitrices obtenues de l'HE sont 1/2 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$ pour *E. coli* et *S. aureus*, 1/4 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$ pour *C. albicans*. Notons que pour *S. typhimurine* la CMI est supérieure à 1/2 $\mu\text{l}/\mu\text{l}$ tandis que la CMI est inférieure à 1/16 pour *B. subtilis*. Ce qui montre que l'HE montre la meilleure inhibition contre la souche *B. subtilis* (Figure IV.4 (b)), suivi par *C. albicans*.

IV.2.5.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure de la possibilité de réduction des antioxydants en présence du DPPH. Dans ce test les antioxydants réduisant le DPPH ayant une

couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 517 nm. On note que la lecture était effectuée aussi à 515 nm, mais on n'a pas pu faire plusieurs essais. La Figure IV.7 représente le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'HEL.

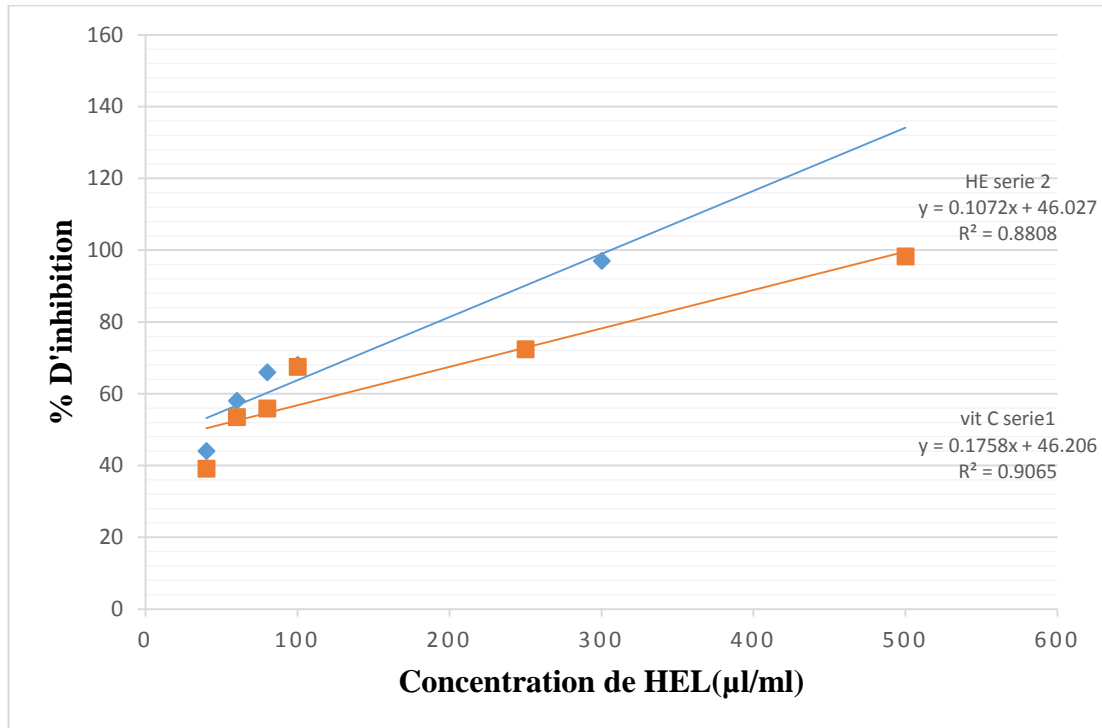


Figure IV.5 : Pourcentage d'inhibition de l'HE de la *lavande officinalis* et de vitamine C par la méthode du DPPH.

D'après les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition augmente lorsque la concentration d'HE augmente.

Détermination d'IC₅₀

Plus la valeur d'IC₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs d'IC₅₀ pour l'huile essentielle de la lavande et la vitamine C sont indiquées dans le tableau IV.4. La concentration inhibitrice (IC₅₀) a été déterminée graphiquement.

Tableau IV.7 : Résultat d'IC₅₀ de l'HE étudiée et l'acide ascorbique.

	IC ₅₀ (µl/ml)
HE de la <i>L. officinalis</i>	37.06
L'acide ascorbique	21.58

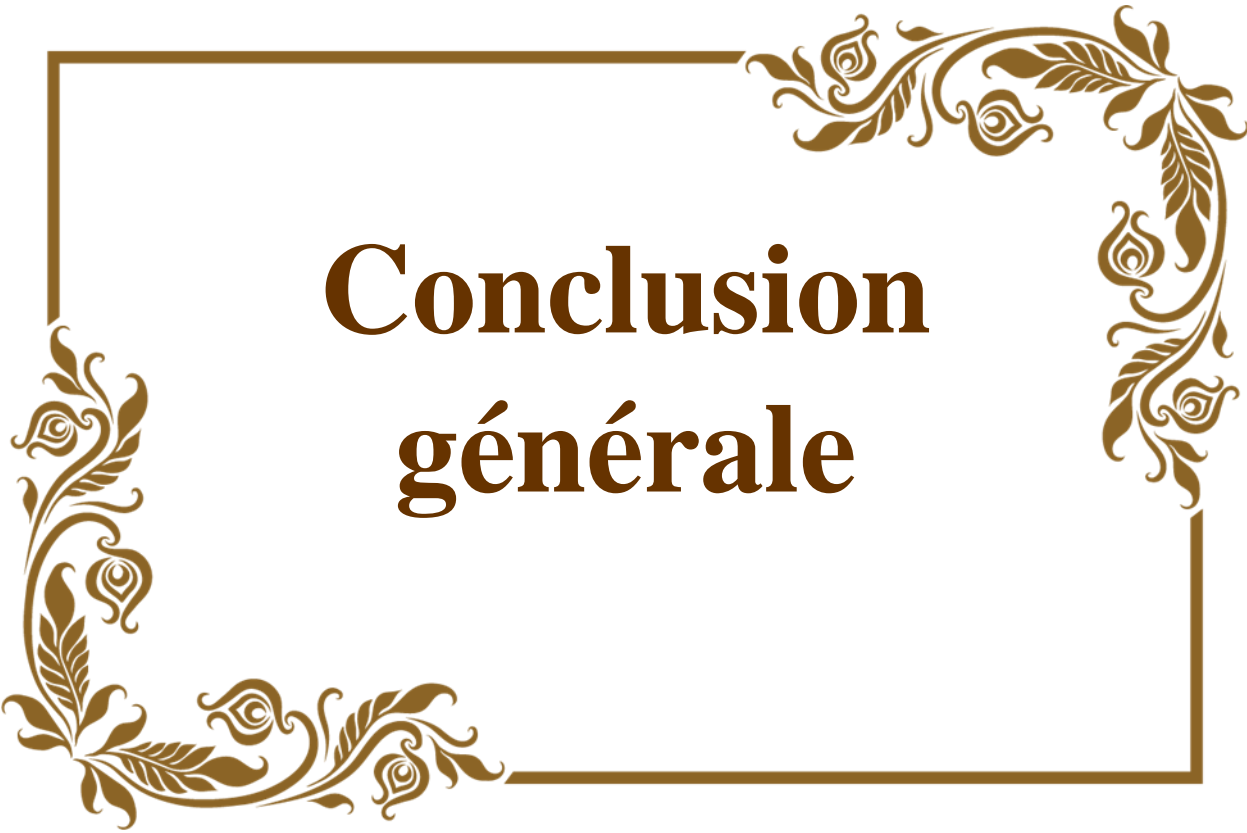
Ces résultats montrent que l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* possède une activité antioxydante. La valeur d'IC₅₀ pour la vitamine C est plus petite comparée à celle de l'HE, ce qui

est logique, puisque la vitamine C est considérée comme antioxydant standard à forte activité antioxydante.

La valeur trouvée d'IC₅₀ pour notre étude (0.033 mg/ml) est inférieure à celle trouvée dans le cas d'une lavande de Bosnie extraite par la même technique qui égale à 0.421 mg/ml, ce qui augmente l'activité antioxydante de notre plante [69]. Dans la lavande de Bosnie l'HE est riche en acétate de lavandulyle suivi par le linalol. L'activité antioxydante de l'espèce *Lavandula angustifolia* a été confirmée sur une plante d'Australie, en utilisant plusieurs techniques [70]. Cette activité est due à la présence de linalol, acétate de linalyle, camphre et bornéol dans les extraits. Grâce à cette activité, l'HE de lavande peut être utilisée comme conservateurs ou agent protecteur contre les phénomènes de dégradation.

IV.6. Conclusion

A travers les résultats obtenus dans cette étude, on peut affirmer que l'huile essentielle de la plante choisie pour ce travail peut être une bonne source de molécules bioactives. Plusieurs activités biologiques ont été testées et confirmées comme l'activité antioxydante et antibactérienne.



Conclusion générale

Conclusion générale

La flore algérienne jouie d'une biodiversité considérable, possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales riches en métabolites secondaires avec des caractéristiques thérapeutiques et pharmacologiques. Dans le cadre d'une valorisation de ces ressources naturelles, la lavande vraie *Lavandula officinalis* (*El-khouzama*) de la région de Bejaiaa fait l'objet de cette étude qui nous a permis de mettre en évidence la valeur de l'huile essentielle extraite de cette plante.

L'huile essentielle a été extraite par hydrodistillation type Clevenger avec un rendement moyen de 1,2 %. L'étude des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques de l'HE ont mis en évidence sa qualité par correspondance avec les normes AFNOR [51]. Notre HE est liquide de couleur Jaune clair et odeur de la fleur de lavande. Elle a une densité de 0,8813, un indice de réfraction de 1.4580, un indice d'acide de 0.561 et un pH acide égal à 5. L'analyse par CG-SM de l'HE a révélé la présence de 53 composés avec des pourcentages différents, en présence de linalol (21,44 %) et l'acétate de linalyle (14,79) comme composés majoritaires.

L'analyse de l'activité antibactérienne de l'HE de *L. officinalis* a été effectuée sur quatre souches bactériennes et une levure. La méthode d'aromatogramme a montré que l'HE de la lavande présente un pouvoir inhibiteur fort contre les Gram + *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*, avec une très forte inhibition de *B. subtilis*, tandis que l'activité antibactérienne est moins contre les Gram - *Escherichia coli* et *Salmonella typhimurium*. L'huile essentielle a également présenté une très forte inhibition de *Candida albicans*. Des valeurs de concentrations minimales inhibitrices CMI intéressantes ont été déterminées dans le cas de *B. subtilis* et *C. albicans*.

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure de la possibilité de réduction des antioxydants en présence du DPPH. Les résultats obtenus montrent que l'HE de *L. officinalis* présente une excellente activité antioxydante avec une valeur d'IC₅₀ de 33 µg/ml.

En perspective, Il serait intéressant de :

- Approfondir l'étude sur les activités biologiques de la pommade préparée, en gardant cette même formulation, pour confirmer que la pommade a un effet anti-inflammatoire (c'est le pouvoir anti-inflammatoire de l'HE de lavande qui nous a incités à formuler cette pommade).
- Approfondir l'étude sur la relation entre la composition chimique et les propriétés biologiques de la plante.

- Chercher d'autres propriétés pharmaceutiques chez cette espèce.
- Etudier d'autres classes de composés chimiques, issus par d'autres techniques d'extraction.
- Etudier la lavande officinale de la région d'Ain Defla si elle existe, sinon étudier d'autres espèces du genre *Lavandula....etc.*



Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- [01] **N. Bousbia**, Extraction des huiles essentielles riches en anti oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, thèse de doctorat, Université d'Avignon, Algérie, 2021.
- [02] **E. Basch, I. Foppa, R. Liebowitz, J. Nelson, M. Smith, D. Sollars et C. Ulbricht**, Lavender (*Lavandula angustifolia* Miller), HerbalPharmacotherapy, 4, 63-78, 2004.
- [03] **N.Grosjean**, Les huiles essentielles, 2eme Edition, EYROLLES, Paris, 2015.
- [04] **M.Lucchesi**, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat, Université de la Reunion, France, 2005.
- [05] **Dj. Bouzide**, « Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysumitalicum* (Roth) G. DON », Thèse doctorat, Université Ferhat Abase Sétif 1 Algérie, (2018).
- [06] **D.Mnayer**, Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens, thèse de doctorat, Université d'Avignon, France, 2014.
- [07] **W. Zaibet**, Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reuteralutea* (Desf.) Maire, et leur application comme agents antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD), Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas-Setif-, 2016.
- [08] **C.Besombes**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées, thèse de doctorat, Université de La Rochelle, Français, 2008.
- [09] **J. Bruneton**, Pharmacognosie ; phytochimie ; plante médicinale, Édition Tec & doc, 4 ème édition. Paris, 2009.
- [10] **M. Kfoury**, Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines : applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes, thèse de doctorat, L'université Du Littoral – Côte D'opale et L'université Libanaise, France, 2015.

- [11] **S. Bencheikh**, Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium*ssp *Aurasianum* Labiatae, thèse de doctorat, Université KasdiMerbah – Ouargla, 2017.
- [12] **A. Feurtet**, Des formes topiques classiques aux formes transdermiques : formulation et procédés, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France., 2006.
- [13] **M. Piochon**, Étude des huiles essentielles d'espèce végétale de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse, thèse de doctorat, Université du QUÉBEC, Chicoutimi, 2008.
- [14] **E.Miles**, Le grande livre des Huiles Essentielles pour les nuls, 1ère Edition France, 2016.
- [15] **A. Zhiri et D. Baudoux**, Huiles essentielles chémotypée et leurs synergies, 1^{ère} édition, Luxembourg, 2005.
- [16] **R. Wells, F. Truong, A.M. Adal, L.S. Sarker et S. S. Mahmoud**, Lavandula essential oils: a current review of applications in medicinal, food, and cosmetic industries of lavender, natural product communications journal, 13, 1403 – 1417, 2018.
- [17] **A.Le Hir, D.Brossand et J-C.Chaumeil**, Pharmacie galénique – Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, coll. Abrégés, 9^{ème} édition, Ed. Masson, 2001.
- [18] **A.Chevallier**, Encyclopedia of Medicinal Plants, 2nd Edition, Londres, 1996.
- [19] **D.Festy et C.Dupin**, Les huiles essentielles c'est malin, 1ère Edition, France 2012.
- [20] **M. Belmont**, *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E. : études botaniques, chimiques et thérapeutiques, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France, 2013.
- [21] **F. Couic-Marinier et D. Laurain-Mattar**. Tous droits réservés é nettement inférieure Actualités pharmaceutiques, 2014.
- [22] **M. Wilson**, Huiles essentielles Pour la cuisine et le bien-être, 1ere Edition, France, 2010.
- [23] **S.Kalafat Et K.Madjbar**, Extraction d'huile essentielle application à la formulation d'une pommade anti-inflammatoire, mémoire de Master, Université De Bida 1, 2017.

- [24] **A.Feurtet**, Des formes topiques classiques aux formes transdermiques : formulation et procédés, thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, France., 2006.
- [25] **M. Josaphat Elie Yao**, connaissances, attitudes et pratique personnel sur la conservation des médicaments dans les établissements d'importation et de vente en gros de produits pharmaceutiques à Bamako, thèse de doctorat, Université des sciences des techniques et des Technologies de Bamako, Mali, 2022.
- [26] **A. Le Hir, D. Brossand et J-C. Chaumeil**, Pharmacie galénique – Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, coll. Abrégés, 9ème édition, Ed. Masson, 2001.
- [27] **J. Chabrier**, Plantes médicinales et formes plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie d'utilisation en phytothérapie tothérapie, thèse de doctorat, Université Henri Poincare, NANCY 1 ,2010.
- [28] **H.V. Tran**, Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine in vivo via l'IRM. Mécanique [physics.med-ph], thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne, France, 2007.
- [29] **F. Messaoudi**, Influences des agents de viscosité sur les paramètres rhéologiques intrinsèque des mortiers des bétons autoplaçants, thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 2016.
- [30] **G. Couarraze, J-L. Grossiord et H. Nicolas**, Initiation à la rhéologie, 4eme Edition, 2014.
- [31] **F. Mordjane et S. Ikheteah**, Caractérisation rhéologique d'une solution de polymères : application au fluide de fracturation, mémoire de Master, UniversiteMhamedBougaraboumerdes, 2020.
- [32] **H-M. Benjamin**, Influence de la température sur la thixotropie des bétons autoplaçants, Thèse de doctorat, Université d'Artois, France, 2009.
- [33] **K.Ben Azouz Ahmed**, Relations entre propriétés rhéologiques et structure microscopique de dispersions de particules d'argile dans des solutions de polymères, thèse de doctorat, Université De Strasbourg, France, 2010.
- [34] **A.Estelle**, Développement d'un outil EHD microfluidique pour la mesure de propriétés physico-chimiques, thèse de doctorat, Université de recherche PSL, Paris,

2018.

- [35] **A. Boualit**, Contribution à l'étude thermo-hydrodynamique des fluides binghamiens, Thèse de doctorat, Université M'hamedBougara, Boumerdes, Algérie, 2011.
- [36] **S.A. Coulibaly**, Etude De Quelques ProprietesRheologiques D'un Gel Mixte ThermogelifiantPoloxamer 407/Amidon De Patate Douce (IpomoeaBatatas) (Convolvulaceae), thèse de doctorat, Université Felix HouphouetBoigny, Cote D'ivoire, 2018.
- [37] **A. Benslimane**, Rhéologie et écoulement de fluides chargés : Application aux réseaux d'assainissement urbains. Etude expérimentale et modélisation, Thèse de doctorat, Université de Strasbourg, France, 2012.
- [38] **K. Martin MD**, Art of Prevention: Essential Oils - Natural Products Not Necessarily Safe, International Journal of Women's Dermatology, Volume 7, 304-308, 2021.
- [39] **A. De Groot et E. Schmidt**, Essential oils, Part II, Dermatitis, 27, 43–49, 2016.
- [40] **O.Ali Saïd**, Contribution A L'étude Chimique De L'huile Essentielle De SyzygiumMicropodium Baker Variété Subrotundifolia (Myrtaceae), Thèse De Doctorat, Université D'antananarivo, Madagascar, 2008.
- [41] **C.Paquot**, Union internationale de chimie pure et appliquée (I.U.P.A.C). Commission des huiles, graisses et dérivés, méthode standard pour l'analyse des huiles, des graisses et ses dérivés, 6 émeEd,Pergamonpress, 1979.
- [42] **D. Mnayer**, Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens, Thèse de doctorat, Université d'Avignon, France, 2014.
- [43] **T. Hesses et S. Simoud**, Contribution à l'étude de la composition chimique et à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de thymus sp, Thèse doctorat en pharmacie, Faculté de médecine Tizi-Ouzou Algérie, 2018.
- [44] **L.Kousalya**, Development And Evaluation Of Poly Herbal Ointment For Wound Healing Activity, Memoire De Master, The Tamilnadu Dr. M.G.R. Medical University, 2019.

- [45] **Winter, C.A., Risley, E.A. and Nuss, G.W. Carrageenin**, Induced Edema in Hind Paw of the Rat as an Assay for Antiinflammatory Drugs, *Experimental Biology and Medicine*, 111, 544-547, 1962.
- [46] **K. Martin MD**, Art of Prevention: Essential Oils - Natural Products Not Necessarily Safe, *International Journal of Women's Dermatology*, Volume 7, 304-308, 2021.
- [47] **A. De Groot et E. Schmidt**, Essential oils, Part II, Dermatitis, 27, 43–49, 2016.
- [48] **M. Rombi et R. Domonique**, 120 plantes médicinales composition, mode d'action et intérêt thérapeutique... de l'ail à la vigne rouge, Alpent Edition, Monaco, 2007.
- [49] **I. Laib et M. Barbat**, Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*, *Revue de génie industriel*, 6, 46-54, 2011.
- [50] **K. Sidi Boulouar et A. Ziane**, Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen, Mémoire de Master, Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 2003.
- [51] **NORME AFNOR**, Huile essentielle de lavande (*Lavandula angustifolia* Mill.) ISO 3515 : 2002.
- [52] **I. LAIB**, Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs, *Revue de Nature & Technologie*, 7, 44-52, 2012.
- [53] **S. Nardjes, S. Tine, F. Tine-Djebbar et N. Soltani**, Utilisation des métabolites secondaires extraites d'une plante médicinale originaire d'une région semi-aride, *Lavandula angustifolia* dans la protection des produits agricoles, 1^{er} Séminaire National Biodiversité et valorisation des produits Biologiques dans les régions arides et semis arides, El-Oued, 2019.
- [54] **M. BelhadjMostefa, A. Kabouche1 , I. Abaza, T. Aburjai, R. Touzani, et Z. Kabouche**, Chemotypes investigation of *Lavandula* essential oils growing at different North African soils, *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (6), 1896-1901, 2014.
- [55] **R. Wells, F. Truong, A.M. Adal, L.S. Sarker et S.S. Mahmoud**, *Lavandula* Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic

Industries of Lavender, Natural Product Communications, 13, 1403 – 1417, 2018.

- [56] **T. Stanislava, O. Ilijana, M. MarkovićBorasb, A. Smoljana et A. M. Bevanda,** Essential oil and extracts from *Lavandula angustifolia* Mill. Cultivated in Bosnia and Herzegovina: Antioxidant activity and acetylcholinesterase inhibition, international journal of plant based pharmaceuticals, 3(1), 95-103, 2023.
- [57] **N. Kirimer, S. Mokhtarzadeh, B. Demirci, F. Goger, K.M. Khawar et F. Demirci,** Phytochemical Profiling of Volatile Components of *Lavandula angustifolia* Miller Propagated under in Vitro Conditions. *Ind. Crops Prod*, 96, 120–125, 2017.
- [58] **R. Prusinowska et K. Śmigielski,** Composition, Biological Properties and Therapeutic Effects of Lavender (*Lavandula angustifolia* L). A Review. *Herba Pol*, 60, 56–66, 2014.
- [59] **Y. Despinasse, S. Moja, C. Soler, F. Jullien, B. Pasquier, J-M. Bessière, S. Baudino et F. Nicolè,** Structure of the Chemical and Genetic Diversity of the True Lavender over Its Natural Range. *Plants*, 9, 1640, 2020.
- [60] **C-N. Hassiotis, F. Ntana, D-M. Lazari, S. Poullos, K-E. Vlachonassios,** Environmental and Developmental Factors Affect Essential Oil Production and Quality of *Lavandula angustifolia* during Flowering Period. *Ind. Crops Prod*, 62, 359–366, 2014.
- [61] **I. Crişan, A. Ona, D. Vârban, L. Muntean, R. Vârban, A. Stoie, T. Mihăiescu et Morea A,** Current Trends for Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) Crops and Products with Emphasis on Essential Oil Quality. *Plants*, 12, 357, 2023.
- [62] **P. Belaiche,** L'aromatogramme, Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, Édition M.S.A., Paris, tome 1, 1979.
- [63] **M.R. Meena and V. Sethi,** Antimicrobial activity of the essential oils from spices, *Food Science and Technology*, 31, 68-70, 1994.
- [64] **H. Boughendjioua,** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda – Algérie, *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 88 – 95, 2017.
- [65] **A. Lahkimi, B. Louaste, I. Nechad, M. Chaouch et N. Eloutassi,** Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of *lavandula angustifolia* of the middle atlas

central (Morocco), Moroccan Journal of Chemistry, 4, 905-918, 2020.

- [66] **I.G. Sandri, J. Zacaria, F. Fracaro, A.P.L. Delamare et S. Echeverrigaray**, Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against food borne pathogens and spoiling bacteria, Food Chemistry, 103, 823- 828, 2007.
- [67] **N. Sadou, R. Seridi, A. Djahoudi et Y. Hadeif**. Chemical composition and antibacterial activity of the needles essential oil of *Pinushalepensis* Mill from North East of Algeria, Science Technologique, 30, 33-39, 2015.
- [68] **F-A. Al-Bayati**, Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinellaanisum* essential oils and methanol extracts, Journal of Ethnopharmacology, 116, 403–406, 2008.
- [69] **H. Nikšić, E. Kovač-Bešović, E. Makarević, K. Durić , J. Kusturica , S.Muratovic**, Antiproliferative, antimicrobial, and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* Mill. essential oil, Journal of Health Sciences, 7(1):35-43, 2017.
- [70] **L. T. Danh, L. N. Han, N. D. AnhTriet, J. Zhao, R. Mammucari, N. Foster**, Comparison of Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Lavender (*Lavandula angustifolia* L.) Essential Oils Extracted by Supercritical CO₂, Hexane and Hydrodistillation, Food Bioprocess Technol, 1-9, 2012.
- [71] **S. Dharmadeva, L. Galgamuwa, C. Prasadinie et N. Kumarasinghe**, In vitro anti-inflammatory activity of *Ficus racemosa* L. bark using albumin denaturation method Ayu. 39(4), 239–242, 2018.
- [72] **F. Conforti, M.R. Perri, A. Guerrini, G. Sacchetti ret G. Statti**, *Lavandula austroapennina* and *Lavandula angustifolia* essential oils and bioactive components : in vitro anti-denaturation effect of lavender from the Pollino massif (Southern Italy) 339-345, 2023.
- [73] **M. Miastkowska, E. Sikora, A. Kulawik-Pioro, T. Kantyka, E. Bielecka, U. Kałucka, M. Kaminska, J. Szulc, J. Piasecka-Zelga, P. Zelga et Staniszevska-Słęzak**, Bioactive *Lavandula angustifolia* essential oil-loaded nanoemulsion dressing for burnwound healing. In vitro and in vivo studies, Biomaterials Advances 148, 213362, 2023.

- [74] **S. Davis**, Viscoelastic Properties of Pharmaceutical Semisolids I: Ointment Bases, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, 412-417 1969.
- [75] **P. Reeve et S. Amigoni**, La rhéologie Un outil précieux pour la formulation cosmétique, *l'actualité chimique*, n° 323-324, 89-98, 2008.
- [76] **Z. Xiangming , L. Zongjin, F. Mizi, C. Huapeng**, Rheology of semi-solid fresh cement pastes and mortars in orifice extrusion, *Cement & Concrete Composites*, 37, 304–31, 2013.
- [77] **P. Kjærgaard, C. Sanderb, F. Okkelsc, J. Vibeke, S. Baldursdottira, J. Rantanena**, On-line rheological characterization of semi-solid formulations, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 128, 36-42, 2019.
- [78] **F. El Hachimi, C. Alfaiz, A. Bendriss, Y. Cherrah et K. Alaoui**, Activité antiinflammatoire de l'huile des graines de *Zizyphuslotus* (L.) Desf. *Phytothérapie*, 15(3), 147–154, 2017.
- [79] **R. Loukhaoukha et F. Saidi**, evaluation of antimicrobial and anti-inflammatory properties of *lavandula stoechas l.* essential oil, *Revue Agrobiologia*, 7(2), 531-538, 2017.
- [80] **V. Hajhashemi , A. Ghannadi , B. Sharif**, Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill., *Journal of Ethnopharmacology* 89, 67–71, 2003.
- [81] **E.N.C. Renaud, D.J. Charles, J. E.Simon**, Essential oil quantity and composition from 10 cultivars of organically grown lavender and lavandin, *Journal of Essential Oil Research* 13, 269–273, 2001.