République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ YAHIA FARÈS DE MÉDÉA

Département de Génie des Procédés et Environnement

Mémoire de Master

Licencié en Génie des Procédés et Environnement : Université de Médéa, Algérie

En vue de l'obtention de diplôme de Master en Génie des Procèdes

Option : Génie chimique

Thème

Extraction des métabolites bioactifs à partir de *LAVANDULA ANGUSTIFOLIA* et l'évaluation de leurs activités biologiques ;antioxydante et antibactérienne

Présenté par :

Mlle : ACHOURI Asmaa

Mlle: BAIZID Ahlam

Proposé et dirigé par :

Dr. RAHAL Soufiane

Mr. MAZIGHI Houssam

2023/2024

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier notre Dieu Tout-puissant qui nous a donné la force, la volonté et la santé pour réaliser ce travail de recherche.

Un remerciement spécial pour notre promoteur Dr. Rahal Soufian qui a accepté de nous encadrer.

Nous sommes profondément reconnaissants au co-promoteur Dr. Mezighi Hossam, Qui a fait de son mieux pour l'élaboration de ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier Mme Hadjira Guenane pour sa coopération avec nous.

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de ce mémoire et qui nous ont beaucoup aidé et appris pendant notre parcours universitaire. Au terme de ce modeste travail, nous tenons à adresser nos remerciements avec une profonde reconnaissance et gratitude à tous les professeurs de l'université de YAHIA FARES-MEDEA qui ont veillé à tout nous donner avec générosité durant notre cursus.

Enfin, nous remercions le directeur du laboratoire de l'Université de ouzera, M. Soufain, l'ingénieur du laboratoire de chimie 1, M. Zouhir, M. Mossaab et l'ingénieur du laboratoire de chimie 4, Fouzia, pour leur coopération avec nous.

Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail : A mes chers parents, pour leur amour et leurs encouragements durant toutes mes années d'études. Que Dieu le tout puissant les garde pour moi.

À mon mari, je te remercie pour tout ce que tu m'as aidé.

À mes frères Abed allah, Khalil, et mes soeurs wissal et Israa.

A mes amis Sarah, Khadidja, Abir, Nassira ,Khadidja,Besma, Ikram ,Assia.

A mon binôme Asmaa .

A toute la famille « Baizid et Zenati »

A mon Co-promoteur Dr. MAZIGHI Houssam, à tous mes professeurs qui m'ont fait Confiance tout au long de mon cursus universitaire, et qui m'ont fait acquérir des Compétences et un savoir dont je serai éternellement reconnaissante

Baizid Ahlam

Dédicace

Avec tous mes sentiments de respect et d'expérience de reconnaissance, je dédie ce modeste travail de master.

À celui qui a fait de moi une femme, ma source de vie, d'amour et d'affection, à mon soutien qui était toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager, à mon cher ***Papa****.*

À mon paradis, à la prunelle de mes yeux, à la source de ma vie et de mon bonheur, ma lune et le fil d'espoir qui éclaire mon chemin, ma moitié, ***Maman****.*

À mon petit frère ***Yacine*** *pour l'amour qu'il m'a réservé.*

À mes sœurs ***Sirine*** *et* ***Meriem****, qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion, de joie et de soutien lors de la réalisation de ce travail.*

À mon grand-père et mes grands-mères.

À toute la famille ***ACHOURI*** *et* ***TERKMANE****.*

À Dr . ***Mazighi Houssam Eddine.***

À ma chère amie et binôme ***Ahlam****.*

À tous mes collègues, plus particulièrement ***Soumia****,* ***Imène*** *et* ***Ikram****, pour les merveilleux souvenirs que nous avons partagés ensemble.*

Achouri Asmaa

الملخص

ينتمي نبات Lavandula angustifolia Mill. إلى عائلة Lamiaceae، وهو نبات غني بمركبات الميثابوليزم الثانوية مثل المركبات الفينولية والزيت الاساسي. ركزنا في عملنا على الفحص اللوني للمركبات الفينولية لهذا النبات وتقييم نشاطها البيولوجي، وخاصة النشاط المضاد للأكسدة والمضاد للبكتيريا. تم تحديد محتوى البوليفينولات الكلي ومحتوى الفلافونويدات بواسطة كواشف Folin-Ciocalteu و$AlCl_3$ على التوالي. أظهرت النتائج أن محتوى البوليفينولات كان أكبر بكثير من محتوى الفلافونويدات، بقيم 8.993 ملغ GAE/غم DW و1.225 ملغ GAE/غم DW على التوالي. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة بواسطة اختباري DPPH وFRAP، وأظهرت النتائج أن المركبات الفينولية تمتلك نشاط مضادة للأكسدة مهم، حيث سجلت IC_{50} بقيمة 0.428 ملغ/مل وVCEAC بقيمة 0.024 ملغ/مل. تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا في المختبر للمستخلصات بواسطة طريقة الانتشار في الاقراص، ووجد أن البكتيريا Gram+ كانت أكثر حساسية من Gram-. سجلت أعلى مناطق تثبيط للزيت الاساسي والمركبات الفينولية، مع تأثير مضاد للبكتيريا مثير للاهتمام على S. aureus (16 ملم عند 0.5 ملغ/مل) وSt. sap 10 pyk (15 ملم عند 5.618 ملغ/مل) على التوالي. هذا يشير إلى أن المستخلصات تمتلك فعالية مضادة للميكروبات عالية. بالإضافة إلى ذلك، الزيت الاساسي والمركبات الفينولية لنبات Lavandula angustifolia Mill. لديهم نشاط مضاد للأكسدة كبير.

الكلمات المفتاحية: Lavandula angustifolia Mill ، المركبات الفينولية، الزيت الاساسي، الفحص اللوني للمركبات الفينولية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

La plante Lavandula angustifolia Mill, appartenant à la famille des Lamiacées, est riche en métabolites secondaires tels que les composés phénoliques et l'huile essentielle. Notre travail porte sur le dosage colorimétrique des composés phénoliques de cette plante et l'évaluation de leur activité biologique, notamment l'activité antioxydante et antibactérienne. La teneur en polyphénols totaux et la teneur en flavonoïdes ont été quantifiées par les réactifs Folin-Ciocalteu et $AlCl_3$ respectivement. Les résultats obtenus ont révélé que la teneur en polyphénols était significativement plus importante que celle des flavonoïdes, avec des valeurs de 8,993 mg GAE/g DW et 1,2225 mg GAE/g DW respectivement. L'activité antioxydante a été évaluée par les tests DPPH et FRAP, et les résultats ont montré que les composés phénoliques possédaient un pouvoir antioxydant

important, enregistrant un IC_{50} de 0,42848993±0,07513394 mg/ml et un VCEAC de 0,02396189±0,00021415. L'activité antibactérienne in vitro des deux extraits a été évaluée par la méthode de diffusion en puits, et il a été constaté que les bactéries $Gram^+$ étaient plus sensibles que les $Gram^-$. Les zones d'inhibition les plus élevées ont été enregistrées pour l'huile essentielle et les composés phénoliques, avec un effet antibactérien très intéressant sur S. aureus (16 mm pour 0,5 mg/ml) et sur ST. Sap 10 pyk (15 mm pour 5,618 mg/ml) respectivement. Cela indique que les extraits ont une efficacité antimicrobienne élevée. De plus, l'huile essentielle et les composés phénoliques de Lavandula angustifolia Mill ont un pouvoir antioxydant notable.

Mots clés : Lavandula angustifolia Mill, huile essentielle, composés phénoliques, dosage des composés phénoliques, l'activité antioxydante, l'activité antibactérienne.

Abstract

The Lavandula angustifolia Mill plant, belonging to the Lamiaceae family, is rich in secondary metabolites such as phenolic compounds and essential oil. Our work focuses on the colorimetric dosage of the phenolic compounds of this plant and the evaluation of their biological activity, in particular the antioxidant and antibacterial activity. The total polyphenol content and the flavonoid content were quantified by Folin-Ciocalteu and $AlCl_3$ reagents respectively. The results obtained revealed that the polyphenol content was significantly higher than that of flavonoids, with values of 8.993 mg GAE/g DW and 1.2225 mg GAE/g DW respectively. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH and FRAP tests, and the results showed that the phenolic compounds possessed significant antioxidant power, registering an IC_{50} of 0.42848993±0.07513394 mg/ml and a VCEAC of 0.02396189±0.00021415. The in vitro antibacterial activity of the two extracts was evaluated by the well diffusion method, and it was found that Gram+ bacteria were more sensitive than Gram-. The highest inhibition zones were recorded for the essential oil and the phenolic compounds, with a very interesting antibacterial effect on S. aureus (16 mm for 0.5 mg/ml) and on St. saprophyticus (15 mm for 5.618 mg/ml) respectively. This indicates that the extracts have a high antimicrobial efficacy. In addition, the essential oil and phenolic compounds of Lavandula angustifolia Mill have a notable antioxidant power.

Key words: Lavandula angustifolia Mill, essential oil, phenolic compounds, dosage of phenolic compounds, antioxidant activity, antibacterial activity.

Liste des figures

Figures	Titre de la figure	page
	Chapitre I	
Figure I.1	Morphologie de Lavandula angustifolia Mill.	**6**
Figure I.2	Structure de quelques monoterpènes.	**9**
Figure I.3	Exemples des sesquiterpènes entrant dans la composition chimique des huiles essentielles.	**10**
Figure I.4	Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïde.	**10**
Figure I.5	Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.	**13**
Figure I.6	Schéma du montage d'extraction au CO2.	**15**
Figure I.7	Schéma de l'Extraction Assistée par Micro-Ondes.	**16**
Figure I.8	Extraction par expression à froid.	**17**
Figure I.9	Structure du noyau phénol.	**20**
Figure I.10	Structures chimiques des principaux acides phénoliques.	**22**
Figure I.11	Structure générale de la coumarine.	**22**
Figure I.12	Structures chimiques des stilbènes.	**23**
Figure I.13	Squelette de base des Flavonoïdes.	**24**
Figure I.14	Structures chimiques typiques des tanins.	**24**
Figure I.15	Réduction du radical libre DPPH.	**27**
Figure I.16	Paroi cellulaire des bactéries Gram positif et Gram négatif	**30**
	Chapitre II	
Figure II.1	Le site de la récolte (Ouled Messaoud, Oued Harbil, Médéa).	**43**
Figure II.2	Etuve ventilée MEMMERT.	**44**
Figure II.3	L'appareil Clevenger.	**44**
Figure II.4	Balance analytique.	**45**
Figure II.5	Evaporateur rotatif STUART.	**45**
Figure II.6	Plaque chauffante STUART.	**46**
Figure II.7	Vortex HEIDOLPH.	**46**

Figure II.8	Bain-marie MEMMERT.	**47**
Figure.II.9	pH-métre OHAUS.	**47**
Figure.II.10	L'appareil de viscosimètre.	**48**
Figure II.11	Spectrophotomètre uv-visible SHIMADZU.	**48**
Figure II.12	Acetone C_3H_6O EDEN-LABO.	**49**
Figure II.13	Chloroforme HONEYWELL.	**49**
Figure II.14	Méthanol HONEYWELL.	**50**
Figure II.15	Hydroxyde de sodium NaOH CHEM-LAB NV.	**50**
Figure II.16	Chlorure de fer (III) $FeCl_3$ BIOCHEM.	**51**
Figure II.17	Acide chlorhydrique HCl.	**51**
Figure II.18	Ethanol SPECILAB.	**52**
Figure II.19	Hydroxyde de potassium KOH BIOCHEM.	**52**
Figure II.20	Diethyl ether BIOCHEM.	**53**
Figure II.21	Chlorure d'aluminium hexahydraté $AlCl_3.6H2O$ BIOCHEM.	**53**
Figure II.22	n-Hexane 99% BIOCHEM.	**54**
Figure II.23	Carbonate de sodium Na_2CO_3.	**54**
Figure II.24	Acide trichloroacétique (TCA) FLUKA.	**55**
Figure II.25	Processus de stérilisation au four étuve.	**57**
Figure II.26	Matière végétale broyée (lavandula angustifolia).	**58**
Figure II.27	Montage de l'extraction par hydro-distillation de type Clevenger.	**59**
Figure II.28	L'huile extraite de lavandula angustifolia Mill.	**60**
Figure II.29	Filtration du macérât.	**60**
Figure II.30	a. le solvant éliminer, b. le solide récupérer.	**61**
Figure II.31	Processus de Lavage des pigmentes des composés phénoliques.	**66**
Figure II.32	La couleur visible dans le dosage des polyphénols.	**68**
Figure II.33	La couleur visible dans le dosage des flavonoïdes.	**69**
Figure II.34	Réfractomètre CAUTON.	**73**
Figure.II.35	Le changement de couleur du DPPH lors de la réaction avec l'extrait.	**78**

Figure II.36	Le changement de couleur du FRAP lors de la réaction avec l'extrait.	**80**
Figure II.37	La gélose de Muller Hinton.	**82**
Figure II.38	Le processus de l'ensemencement.	**83**

Chapitre III

Figure III.1	Le taux d'humidité en fonction du temps.	**88**
Figure III.2	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	**98**
Figure III.3	Courbe d'étalonnage de la rutine.	**100**
Figure III.4	Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C rea des composés phénoliques (1er essai).	**104**
Figure III.5	Linéarisation de l'histogramme d'inhibition (1er essai) des composés phénoliques.	**104**
Figure III.6	Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C rea des composés phénoliques (2ème essai).	**105**
Figure III.7	Linéarisation de l'histogramme d'inhibition (2ème essai) des composés phénoliques.	**105**
Figure III.8	Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C rea d'huile essentielle (1er essai).	**108**
Figure III.9	Linéarisation de l'histogramme d'inhibition d'huile essentielle (1er essai).	**108**
Figure III.10	Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C rea d'huile essentielle (2ème essai).	**109**
Figure III.11	Linéarisation de l'histogramme d'inhibition d'huile essentielle (2ème essai).	**109**
Figure III.12	Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.	**111**
Figure III.13	Linéarisation de la courbe de l'absorbance 1 en fonction de C rea des composés phénoliques.	**112**
Figure III.14	Linéarisation de la courbe de l'absorbance 2 en fonction de C rea des composés phénoliques.	**113**

Figure III.15	Linéarisation de la courbe de l'absorbance 1 en fonction de C rea De l'huile essentielle.	**115**
Figure III.16	Linéarisation de la courbe de l'absorbance 2 en fonction de C rea de l'huile essentielle.	**115**

Liste des tableaux

Chapitre I

Numéro	Titre du tableau	Page
Tableau I.1	Classification botanique de Lavandula angustifolia Mill.	**6**
Tableau I.2	Principales classes des composés phénoliques.	**20**

Chapitre II

Tableau II.1	Référence et origine des souches bactériennes utilisées.	**81**

Chapitre III

Tableau III.1	La masse et le taux d'humidité de la plante de lavandula angustifolia Mill.	**88**
Tableau III.2	Criblage phytochimiques de la plante L. angustifolia Mill.	**89**
Tableau III.3	Caractéristique organoleptique d'huile essentielle de L. angustifolia Mill.	**92**
Tableau III.4	Les caractéristiques organoleptiques d'extrait.	**93**
Tableau III.5	Rendement en HE de lavandula angustifolia Mill obtenu par hydrodistillation de type clevenger.	**93**
Tableau III.6	Rendement en extrait de lavandula angustifolia Mill obtenu par macération.	**94**
Tableau III.7	Propriétés physiques de l'huile de Lavandula angustifolia Mill.	**95**
Tableau III.8	Propriétés chimiques de l'huile de L.angustifolia Mill.	**96**
Tableau III.9	Les absorbances de différentes concentrations d'acide gallique.	**98**
Tableau III.10	Les absorbances et les concentrations de notre échantillon pour la teneur des polyphénols.	**98**
Tableau III.11	Les absorbances de différentes concentrations de la rutine.	**100**
Tableau III.12	Les absorbances et les concentrations de notre échantillon pour la teneur des flavonoïdes.	**100**
Tableau III.13	Les valeurs d'absorbance des essais, les valeurs d'inhibitions et les concentrations réactionnels pour le test de DPPH des composés phénoliques.	**103**
Tableau III.14	Les IC_{50} de chaque essai et l'écartype des composés phénoliques.	**106**
Tableau III.15	Les valeurs d'absorbance des essais, les valeurs d'inhibitions et les concentrations réactionnels pour le test de DPPH d'huile essentielle.	**107**

Tableau III.16	Les EC_{50} de chaque essai et l'écartype de l'huile essentielle.	**110**
Tableau III.17	Les valeurs d'absorbances des essais et les concentrations de l'acide ascorbique.	**111**
Tableau III.18	Les valeurs d'absorbance des essais et les concentrations réactionnels pour le test de FRAP des composés phénoliques.	**112**
Tableau III.19	Les VCEAC de chaque essai, VCEAC m et l'écartype.	**113**
Tableau III.20	Les valeurs d'absorbance des essais et les concentrations réactionnels pour le test de FRAP de l'huile essentielle.	**114**
Tableau III.21	Les VCEAC de chaque essai, VCEAC m et l'écartype.	**116**
Tableau III.22	Diamètre des zones d'inhibitions de l'huile de lavandula angustifolia Mill.	**117**
Tableau III.23	Diamètre des zones d'inhibitions de l'extrait phénolique de lavandula angustifolia Mill.	**119**

Nomenclatures et Symboles

A: Absorbance.

C: Concentration.

d: La masse volumique en g/l.

D : Densité.

D^{20}: Densité relative.

F: Facteur de dilution.

IA: Indice d'acide.

IC_{50}: Concentration inhibitrice médiane.

IE: Indice d'ester.

IS: Indice de saponification.

Ih %: Pourcentage d'inhibition.

R (%): Rendement exprimé en %.

VcEAC: Vitamin C equivalent antioxidant capacity.

VE: volume d'extrait en ml.

Vtot: Volume totale, (cm^3).

Abréviations

%: Pourcentage .

°C: Degré Celsius.

ABTS: 2,2- azinobis 3-ethylbenzothyazoline 6- sulphonate.

AFNOR :Association française de normalisation.

AINS: Anti-inflammatoires non stéroïdiens.

BSA: Bovine Sérum Albumine.

CCM: Chromatographie sur Couche Mince.

COX: Cyclo-Oxygenase 1, 2.

DMSO: Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényle-1-picryl hydrazyl.

ERO: Espèces réactives d'oxygènes.

FRAP: Pouvoir réducteur du fer.

g: Gramme.

HE: Huile essentielle.

M : Masse molaire.

m: Masse (g).

mg: Milligramme.

ml: Millilitre.

mm: Millimètre.

nm: Nanomètre.

Pa .s: Pascal .seconde.

pH: Potentiel d'Hydrogène.

Rf : Rapport frontal.

UV: Ultra-violet.

V/V: Volume/Volume.

µl: Microlitre.

Table des Matières

Table des Matières
Abréviations
Nomenclature et symbole
Liste des tableaux
Liste des figures

Introduction Générale 1

Chapitre I : Synthèse Bibliographique

I.1.Introduction 3

I.2. Plantes médicinales 4

I. 3. Origine des plantes médicinales 4

I.3.1. Les plantes spontanées 4

I.3.2. Les plantes cultivées 4

I.4. La famille lamiacées 4

I. 5. Lavandula 5

I.5.1. Généralites sur la lavande 5

I.5.2. Lavandula officinalis 5

I.5.2.1. Classification botanique 6

I.5.2.2. Propriétés médicinales 6

I.6.les huiles essentielles 7

I.6.1. Définition 7

I.6.2. Role d'huile essentielle 8

I.6.3. Caractéristiques physiques des huiles essentielles 8

I.6.4. Composition chimique des huiles essentielles 8

1.6.4.1. Les terpènes 8

1.6.4.1.1. Monoterpènes 9

I.6.4.1.2. Sesquiterpènes 10

I.6.4.2. Composés aromatiques 10

I.6.4.3. Composés d'origines diverses 11

I.6.5. Toxicite des huiles essentielles 11

I.6.6. Huile essentielle de lavandula officinalies 12

I.6.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles 12

I.6.7.1. Entrainement a la vapeur d'eau 12

I.6.7.1.1. Hydrodistillation 13

I.6.7.1.2. Distillation à vapeur saturée 14

I.6.7.1.3. Hydro-diffusion 14

I.6.7.2. Extraction Co_2 supercritique 14

I.6.7.3. Extraction par micro-onde 15

I.6.7.4. Extraction par solvants volatils 16

I.6.7.5. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles 16

I.6.7.5.1. Expression mécanique à froid 16

I.6.7.5.2. Macération 17

I.7.1. Définition 18

I.7.2. Historique 18

I.7.3. Les composés phénoliques 19

I.7.3.1. Définition des composés phénolique 19

I.7.3.2. Classification des composés phénoliques 20
I.7.3.2.1. Acide phénolique 21
I.7.3.2.1.1. Acides hydroxybenzoïques 21
I.7.3.2.1.2. Acides hydroxycinnamiques 21
I.7.3.2.2. Les coumarines 22
I.7.3.2.3. Les stilbènes 23
I.7.3.2.4. Les flavonoïdes 24
I.7.3.2.5. Tanins 24
I.7.3.3. Les méthodes d'extraction des composés phénoliques 25
I.7.3.4. Les effets therapeutiques des composés phénoliques 25
I.8. Les activites biologiques 26
I.8.1. Activite antioxydants 26
I.8.1.1. Antioxydants 26
I.8.1.2. Les radicaux libres 27
I.8.1.3. Evaluation de l'activite antioxydant 27
I.8.1.3.1. Teste de DPPH 27
I.8.1.3.2. Teste de FRAP 27
I.8.1.3.3. Teste de l'ABTS 28
I.8.2. L'activite anti-inflammatoire 28
I.8.2.1. Inflammation 28
I.8.2.2. Les anti-inflammatoires 28
I.8.2.3. L'evaluation de l'activite anti-inflammatoire in vitro 29

I.8.2.3.1. Evaluation de l'activite anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la denaturation thermique des proteines (BSA)..... 29

I.8.2.3.2. Evaluation de l'activite anti-inflammatoire in vitro par la methode de stabilisation des membranes (activite anti-hemolytique)..... 29

I.8.3. L'activite antibactérienne 30

I.8.3.1. Généralites sur les bactéries..... 30

I.8.3.2. L'évaluation de l'activite antibactérienne 31

I.8.3.2.1. Méthode de dilution 31

I.8.3.2.2. Méthode de diffusion de disques..... 31

I.9. Techniques d'analyse physico-chimiques 32

I.9.1. Spectroscopie uv-visible..... 32

I.9.2. Spectroscopie infrarouge IR..... 32

I.9.3. Chromatographie sur couche mince (CCM)..... 32

I.9.4. Chromatographie en phase gazeuse (GPC) 32

I.9.5. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)..... 33

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1. Matériel..... 42

II.1.1. Matériel végétale..... 42

II.1.2 appareillage et réactifs chimiques 43

II.1.2.1. Appareillage 43

II.1.2.2. Produits et réactifs chimiques 49

II.2. Méthodes 55

II.2.1. Séchage 55

II.2.2. L'extraction 56

II.2.2.1. Extraction par macération a froide 56
II.2.2.2. Extraction par hydro-distillation de type clevenger 58
II.2.3. Evaporation 60
II.2.4. Criblage phytochimique 62
II.2.4.1. Identifications des métabolites primaires 63
II.2.5. Caractéristiques organoleptiques des composés phénoliques 65
II.2.6. Lavage des pigmentes des composés phénoliques 65
II.2.7. Dosage des composés phénoliques 66
II.2.7.1. Dosage des polyphénols totaux 67
II.2.7.2. Dosage des flavonoïdes 68
II.2.8. Caractérisation de l'huile extraite 69
II.2.8.1. Caractéristiques organoleptiques 69
II.2.8.2. Caractérisation physique 70
II.2.8.3. Caractérisation chimique 74
II.3. Activite biologique 77
II.3.1. Activite antioxydante 77
II.3.2. Activite antibactérienne 80
II.4. Formulation de crème 84

Chapitre III : Résultats et discussion

III.I. Taux d'humidite 88
III.2. Criblage phytochimique 89
III.3. Analyse quantitative 92
III.3.1. Les tests organoleptiques 92

III.3.2. Rendement 93

III.3.3. Les propriétés physiques de l'huile de l.angustifolia Mill..... 94

III.3.4. Les propriétés chimiques de l'huile de l.angustifolia Mill 96

III.3.5. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes..... 97

III.3.5.1. Dosage des polyphénols totaux 97

III.3.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux 99

III.4. Analyse biologique..... 101

III.4.1. Evaluation de l'activite antioxydants 101

III.4.1.1. Test DPPH 101

III.4.1.2. Test FRAP 109

III.4.2. Evaluation de l'activite antibacterienne 115

III.5. Test emulsion..... 120

Conclusion générale..... 124

Introduction Générale

Les plantes médicinales ont été utilisées par les êtres humains depuis l'Antiquité afin de soulager et de guérir les maladies humaines. Ces plantes sont des plantes supérieures qui sont employées en raison de leurs vertus thérapeutiques. Ces plantes forment le fondement de la phytothérapie, une médecine traditionnelle qui utilise les plantes pour traiter différentes affections. En raison de leur abondance en métabolites secondaires, les plantes médicinales offrent une source exceptionnelle de substances naturelles qui ont des propriétés antibactériennes, antidiabétiques, anti-Alzheimer et anti-inflammatoires. Lavandula angustifolia Mill, une plante aromatique de la région méditerranéenne, est l'une des plus fréquentes.

Cette plante est connue pour sa parfume floral relaxante. Elle possède également de nombreuses propriétés médicinales telles que des propriétés antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et anti-anxiété. Les feuilles, les fleurs et l'écorce de cette plante contiennent une variété de composés chimiques bénéfiques, notamment des huiles essentielles utilisées depuis des siècles pour leurs effets thérapeutiques.

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'essences ou d'huiles volatiles, sont des extraits volatils odorants obtenus à partir de plantes aromatiques. Elles sont fréquemment utilisées en aromathérapie et proviennent de diverses parties végétales telle que les fleurs, les feuilles, le bois, les racines, l'écorce et les fruits. Ces extraits sont obtenus par distillation à la vapeur d'eau ou par extraction mécanique.

Les huiles essentielles sont un assemblage de molécules complexes, chacune possédant des propriétés distinctes. Ces huiles essentielles sont extraites avec des rendements très faibles (environ 1%), ce qui en fait des substances fragiles, rares mais précieuses.

Les composés phénoliques forment une catégorie de composés naturels qui possèdent de nombreuses propriétés avantageuses pour la santé. On les retrouve dans de nombreux aliments et ils peuvent jouer un rôle dans la prévention de nombreuses maladies chroniques.

Les huiles essentielles et les composés phénoliques font l'objet d'analyses physico-chimiques pour évaluer leur pureté et leurs caractéristiques physiques telles que densité,

viscosité et solubilité. Ces analyses impliquent des techniques comme la chromatographie, la spectrométrie de masse et la spectroscopie infrarouge. Les analyses biologiques se concentrent sur les effets de ces composés sur les organismes vivants, incluant des tests d'activité antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobienne.

Notre recherche s'est concentrée sur les plantes de la famille des Lamiaceae, car elles referment une grande quantité de métabolites secondaires (huile essentielle et composés phénoliques) qui permettent de résoudre différents problèmes tels que la résistance bactérienne aux antibiotiques ou la toxicité des antioxydants synthétiques. Dans le cadre de notre étude, nous avons choisi d'étudier la plante Lavandula angustifolia Mill afin d'atteindre ces objectifs :

-Extraction des métabolites secondaires, l'huile essentielle et les composés phénoliques, de lavandula angustifolia Mill par deux méthodes hydrodistilation de type Clevenger et macération, respectivement.

- Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles et des composés phénoliques.

- Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits testés.

Le présent travail est réparti en trois parties.

Dans une première partie, une synthèse bibliographique sera présentée tout d'abord sur les plantes médicinales ; en particulier la plante Lavandula angustifolia Mill, la description des huiles essentielles, des composés phénoliques, et enfin les analyses biologiques et physico-chimiques.

La deuxième partie décrit les essais expérimentaux réalisés pour atteindre notre objectif, qui consiste en un criblage phytochimique, le dosage des composés phénoliques, l'étude physico-chimique et la caractérisation de l'huile extraite des graines de Lavandula angustifolia Mill, ainsi que les activités biologiques et l'activité antioxydante des extraits étudiés.

La troisième partie est consacrée aux résultats obtenus, suivis de la discussion, puis de la conclusion générale, ouvrant la voie sur les perspectives d'avenir pour une poursuite des études sur cette espèce.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1.Introduction :

La famille des Lamiaceae est riche en espèces aromatiques utilisées en médecine traditionnelle et en pharmacie, dont la plupart ont une signification économique et écologique car elles produisent des huiles essentielles [1], les composés phénoliques, les terpènes, les alkanoides ……..etc De nombreux genres de la famille des Lamiaceae sont des sources importantes de terpenoïdes glycosylés, de flavonoïdes et d'iridoïdes. En conséquence, l'attention est concentrée sur une espèce de la famille des Lamiaceae : la lavande (Lavandula officinalis), l'une des plantes aromatiques les plus importantes au monde. C'est l'une des principales plantes aromatiques et médicinales utilisées et cultivées dans la région méditerranéenne. Il est utilisé comme source mondiale d'épices et d'extraits avec de fortes propriétés antibactériennes et antioxydantes [2].

Les plantes est le siège d'une activité métabolique aboutissant à la synthèse des métabolites primaires (les protéines, les glucides et les lipides) et de métabolites secondaires. Ces derniers sont des molécules organiques complexes synthétisées et accumulées en petites quantités par les plantes, et bien qu'indirectement essentielles à leur survie, ils jouent des rôles variés. Parmi ces métabolites secondaires, on distingue les huiles essentielles et les composés phénoliques. Les huiles essentielles, dites volatiles, sont produites en très faible quantité et sont accumulées dans des cellules sécrétrices, donnant à la plante une odeur caractéristique. En revanche, les composés phénoliques, dits non volatiles, ces métabolites secondaires jouent un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante.

Les analyses biologiques et physico-chimiques des composés phénoliques et des huiles essentielles sont essentielles pour comprendre leurs propriétés et leurs applications. Ces composés présentent de nombreuses propriétés intéressantes, notamment sur le plan biologique et chimique, ce qui les rend utilisés dans une large gamme d'applications, telles que l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique, cosmétique et chimique. Il existe deux types principaux d'analyses pour ces composés : l'analyse biologique, qui comprend souvent des études sur leur activité antioxydante, antibactérienne et anti-inflammatoire, et l'analyse physico-chimique, réalisée à l'aide de diverses techniques telles que la chromatographie, la spectrométrie et les mesures physico-chimiques pour déterminer leurs

propriétés physiques et chimiques, telles que la densité, l'indice de réfraction et le pH. Ces analyses approfondies sont cruciales pour évaluer la qualité, l'efficacité et les applications des composés phénoliques et des huiles essentielles dans différents domaines.

I.2. Plantes médicinales :

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie [3]. Ces plantes médicinales peuvent également avoir des usages alimentaires, condimentaires ou hygiéniques [4].

La population africaine utilise la médecine traditionnelle à 80%, et l'Algérie et par sa situation géographique, est considérée comme l'un des pays arabes les plus importants et les plus riches en plantes médicinales avec 3164 espèces [5]**.**

Ces plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et la synthèse des médicaments, non seulement lorsque leurs constituants sont utilisés directement comme agents thérapeutiques mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou modèle pour les composés pharmaco-**l**ogiquemen**t** actifs [6].

I. 3. Origine des plantes médicinales :

- On distingue deux origines des plantes médicinales :

I.3.1. Les plantes spontanées : Autrefois les plantes spontanées les seules plantes utilisées, et aujourd'hui représentent un pourcentage notable du marché européen. Leur répartition dépend du sol et surtout du climat [7].

I.3.2. Les plantes cultivées : Ce mode de production assure une matière première en quantité suffisante pour répondre aux besoins et les drogues recueillies sont homogènes de par leur aspect et leur composition chimique [7].

I.4. La famille Lamiacées :

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles [8].

La famille des Lamiacées est l'une des premières familles à être distingués par les botanistes, les Lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces [9].

I. 5. Lavandula :

I.5.1. Généralités sur la Lavande :

Le nom Lavande dérive du latin" lavare " qui signifie lavé, appartenant à la famille des Labiées. Le genre Lavandula se compose d'environ 28 espèces, qui sont dans la plupart d'origine méditerranéenne, c'est un sous-arbrisseau à tiges et feuilles persistantes jusqu'à 1 mètre de longueur étroit et vert pâle, peuvent s'étendre du gris bleuâtre profonde au vert à brun pâle, les fleurs présenten – violet, cependant il existe d'autre variétés à fleurs blanches et roses, l'ensemble de la plante est très aromatique [10].

Il y a diverses espèces et variétés de lavande, mais on peut les classer généralement en quatre catégories principales :

- Lavandula angustifolia (Lavande vraie ou Lavande officinale): Utilisée couramment en aromathérapie et dans la fabrication d'huiles essentielles, cette variété est appréciée pour son parfum apaisant.
- Lavandula stoechas (Lavande papillon): Caractérisée par ses bractées colorées ressemblant à des ailes de papillon, cette lavande est souvent cultivée à des fins ornementales.
- Lavandula x intermedia (Lavandin): Un hybride naturel entre Lavandula angustifolia et Lavandula latifolia, le lavandin est souvent cultivé pour sa production d'huiles essentielles à des fins commerciales.
- Lavandula latifolia (Lavande aspic): Cette variété a des feuilles plus larges que la lavande vraie et est également utilisée dans la production d'huiles essentielles, mais son profil olfactif diffère de celui de la lavande angustifolia.

I.5.2. Lavandula officinalis :

La Lavande officinale ou Lavande vraie, Lavandula angustifolia Mill (Figure 1), est une espèce végétale de la famille des Lamiacées. Elle pousse à l'état sauvage en Provence mais peut être cultivées dans des régions plus septentrionales. Les petits rameaux portent les feuilles à de couleur mauve pale à violette au sommet. On dénombre plus d'une centaine

de variétés de Lavande dont les propriétés sont très différentes. Les dénominations latines Lavandula angustifolia Mill et Lavandula officinalis désignent la même plante [11].



Figure I.1. Morphologie de Lavandula angustifolia Mill [12].

I.5.2.1. Classification botanique :

La classification botanique de Lavandula angustifolia Mill est la suivante :

Tableau I.1 : Classification botanique de Lavandula angustifolia Mill [13].

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Lavandula
Espèce	Lavandula officinalis / Lavandula Angustifolia

I.5.2.2. Propriétés médicinales :

La Lavande est utilisée contre plusieurs maladies, y compris, les spasmes, les insomnies, les maladies infectieuses, les affections des voies respiratoires (asthme, bronchite,

tuberculose…). Pour cela, il est possible de l'utiliser sous forme d'infusion, ou d'utiliser ses huiles essentielles. Sa toxicité est quasiment nulle, d'où l'usage sécuritaire de cette huile essentielle devenue incontournable [14].

Elle possède des propriétés antimicrobiennes, anti-carcinogènes [15], anxiolytiques, analgésiques, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et insecticides.

I.6.Les huiles essentielles :

I.6.1. Définition :

Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues des végétaux. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des mélanges liquides très complexes. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance de la nouvelle branche de la phytothérapie : l'aromathérapie [16].

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne de l'homme qui les utilisait autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner [16].

En 1998, l'AFNOR par sa norme AFNOR NF T 75-006 définit une huile essentielle comme étant un « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entrainement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entrainant pas de changement significatif de sa composition comme par exemple, redistillation, aération,…» [17].

Du point de vue physico-chimique : une huile essentielle est un mélange complexe d'éléments chimiques qui sont nécessairement volatils de poids moléculaire souvent inferieur à trois cent Daltons et hydrophobes mais il est à noter que cette hydrophobie n'est pas totale car il y a bien formation d'azéotropes et évaporation avec de l'eau [17].

I .6.2. Rôle d'huile essentielle :

Les huiles essentielles sont des informations chimiques qui interagissent avec l'environnement elles aident à lutter contre les maladies, les parasites. Ils protègent les cultures en inhibant la croissance des bactéries et des champignons. Ils empêchent les plantes de se dessécher (perte d'eau) en raison d'une évaporation excessive et protègent les plantes de la lumière en réduisant ou en se concentrant [18].

I.6.3. Caractéristiques physiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques [19].

- Elles sont solubles dans : l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques.
- La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles sont très altérables et sensibles à l'oxydation.
- Elles sont liquides à température ambiante.
- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes.

I.6.4. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes. Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phynèlopropane [20].

1.6.4.1. Les terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C_2H_8). Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes. Les terpénes sont de structures très diverses (acycliques,

monocycliques, bicycliques,) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques [21].

1.6.4.1.1. Monoterpènes :

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$. Ces composés peuvent être : monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α- et γ-terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ3-carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999) [22], la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions : alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

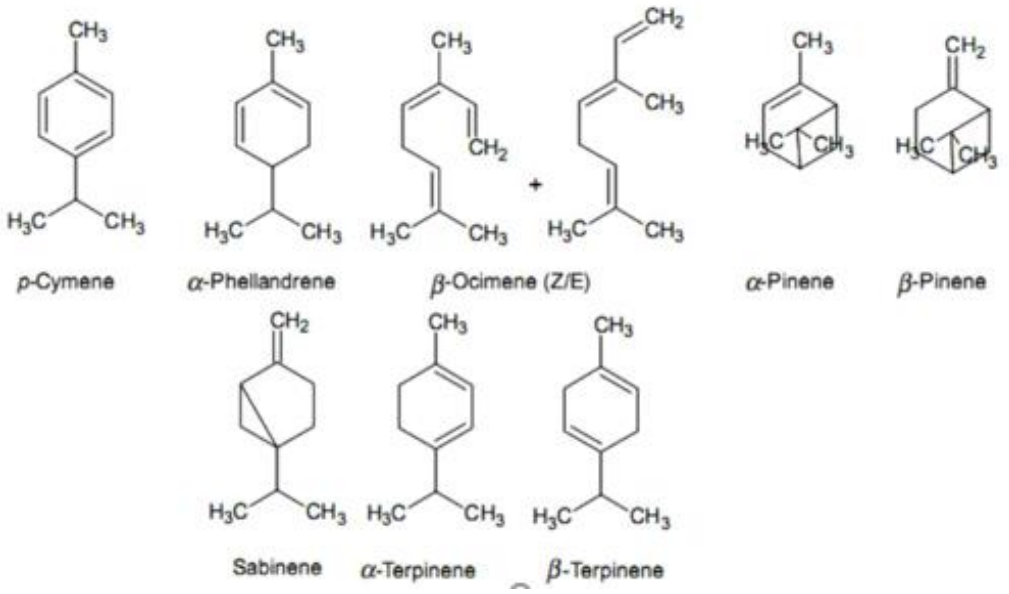


Figure. I.2: Structure de quelques monoterpènes [23].

I.6.4.1.2. Sesquiterpènes :

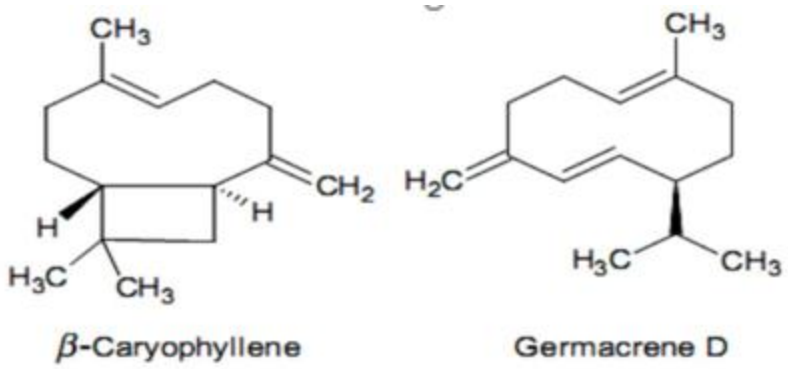


Figure.I.3 : Exemples des sesquiterpènes entrant dans la composition chimique des huiles essentielles.

Ce sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées par trois unités isopréniques, ils forment un sous-groupe réparti de la même façon que les monoterpènes. Ils sont abondants dans les essences dont ils constituent parfois une partie considérable, se distinguent des autres terpènes par leur point d'ébullition plus élevé (250 à 280°C), par une densité plus forte d>0,9 et par un indice de réfraction plus élevé. Exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : Hydrocarbures (β-bisabolènelongifolène..), alcools (carotol, farnesol...) aldéhydes (sinensal..) et d'esters (acétate de cedryle) [23].

I.6.4.2. Composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes. On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), l'anéthol et l'aldéhyde ainsi que (HE de badiane, d'anis et de fenouil) qui sont les principaux membres de cette famille [24].

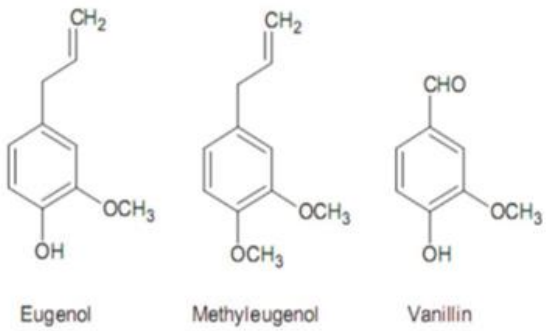


Figure I.4 : Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïde [23].

I.6.4.3. Composés d'origines diverses :

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînables par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares. Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînables lors de l'hydrodistillation. Ces produits peuvent être azotés ou soufrés

- Alcools : menthol, géraniol, linalol ;

- Aldéhydes : géranial, citronellal ;

- Cétones : camphre, pipéritone ;

- Phénols: thymol, carvacrol ;

- Esters : acétate de géranyle

- Ethers : R1-O-R2 [25].

I.6.5. Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules ; dont la structure et les propriétés chimiques permettent de dégager des caractéristiques communes (lipophilie, faible poids moléculaire) leur assurant une bonne diffusion dans l'organisme. Malgré le peu d'études sur ces molécules, il faut retenir leur pouvoir toxique. Notamment leur hépatotoxicité, neurotoxicité et toxicité cutanée récemment. Leur utilisation très variée constitue un fort potentiel d'intoxication, que cette dernière soit accidentelle ou par utilisation erronée [26]. Les signes cliniques que nous avons répertoriés à partir des cas cliniques sont peu caractéristiques de ces intoxications. Il reste donc difficile pour le clinicien de faire un diagnostic différentiel. Le traitement reste symptomatique, mais on peut espérer qu'il sera un jour plus ciblé et donc plus efficace. Il convient de rester vigilant et de faire évoluer cette idée qu'aujourd'hui, tout produit « naturel » est forcément bon et dénué de toute toxicité [26].

I.6.6. Huile essentielle de lavandula officinalies :

L'huile essentielle de Lavandula offcinalis, également appelée Lavande vraie, est appréciée pour ses qualités apaisantes. Il peut être utilisé en aromathérapie, dilué dans une huile de porteur pour des massages apaisants, ou ajouté à des diffuseurs pour créer une atmosphère calmante. Veuillez lire attentivement les instructions d'utilisation et, en cas de doute, consulter un professionnel de la santé.

Les huiles essentielles de lavande sont largement utilisées dans l'industrie de l'aromathérapie et la recherche a montré qu'ils possèdent une gamme de propriétés biologiques qui peuvent les rendre utiles dans un environnement médical. De nombreux chercheurs ont montré l'activité antibactérienne des huiles de lavande Parmi eux, **Lis-Balchin (1998)** et **Svoboda et Deans (1995)**, **Goren (2002)**. Autre Des chercheurs ont étudié l'activité antifongique des huiles essentielles de lavande. Par exemple, inouïe, L'huile de Lavandula angustifolia s'est avérée efficace contre une gamme de champignons Les plus importants sont Trichophytonrubrum et Aspergillus fumigatus. Des huiles essentielles de lavande ont également été utilisées Il a été démontré qu'il inhibe la croissance d'Aspergillus niger, d'Aspergillus ochraceus et de Fusarium culmorum, avec Le taux d'inhibition varie de 29 à 93 % [27].

I.6.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles :

Il existe de nombreuses techniques d'extraction qui sont choisies en fonction de la section de la plante qui contient l'huile essentielle ainsi que de sa qualité et de sa valeur thérapeutique. Chaque processus produit un produit unique. En raison de la libération souvent lente de molécules aromatiques, tout système d'extraction a besoin d'une méthodologie précise. La quantité de matières premières nécessaires pour fabriquer une huile essentielle est importante.

I.6.7.1. Entrainement à la vapeur d'eau :

Il existe trois méthodes de distillation qui repose sur le principe d'entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau : l'hydrodistillation, la distillation à la vapeur saturée et l'hydro-diffusion. La différence entre ces trois modes réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériel végétal [28].

I.6.7.1.1. Hydrodistillation :

Distillation à l'eau ou « hydrodistillation » dont le matériel végétal est en contact direct avec l'eau. Lorsque le végétal est broyé on parle de turbo distillation. L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. Les inconvénients de cette méthode sont : la calcination du matériel végétal, ce qui entraîne une modification de la composition et des caractéristiques chimiques de l'huile essentielle, La non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de l'odeur, de la couleur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées. Parmi les huiles extraites par cette méthode, on cite l'huile de menthe, de myrte et de l'herbe à citron [29].

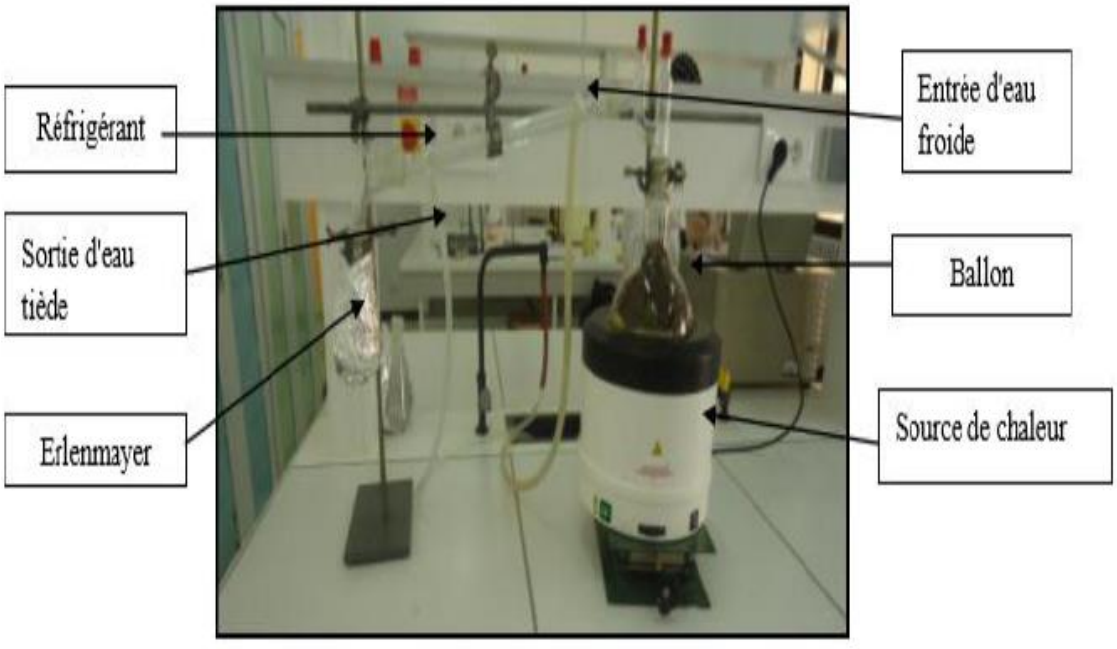


Figure I.5: Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle [30].

I.6.7.1.2. Distillation à vapeur saturée :

Datant de plus d'un millénaire, il s'agit de la méthode la plus ancienne et la plus utilisée pour obtenir une huile essentielle de qualité. Le principe est simple :

Il consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentin refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentin, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier. L'ensemble du dispositif utilisé pour l'hydrodistillation est l'alambic :

Ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distiller. Les plantes sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier, muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentiel [28].

I.6.7.1.3. Hydro-diffusion :

L'hydro-diffusion consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, du haut vers le bas. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile produit sous la grille retenant la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. De plus, l'hydro-diffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur [28].

I.6.7.2. Extraction CO_2 supercritique :

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvatation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés,

90% des SFE sont réalisées avec le dioxyde de carbone (CO_2), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO_2 est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait La SFE est une technique dite » verte « utilisant pas ou peu de solvant organique et présentant l'avantage d'être bien plus rapide que les méthodes traditionnelles. Les compositions chimiques des HE ainsi obtenues peuvent présenter des différences, qualitatives et quantitatives, avec celles issues de l'hydrodistillation [31].

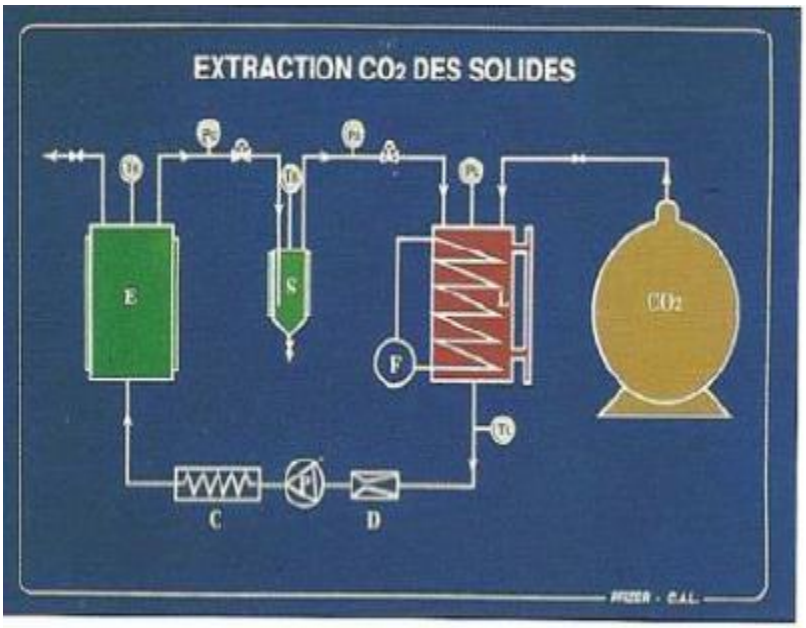


Figure I.6. Schéma du montage d'extraction au CO2 [32].

I.6.7.3. Extraction par micro-onde :

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées [33].

L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Extraction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et

de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant (Figure I.7). Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des récipients oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante [33].

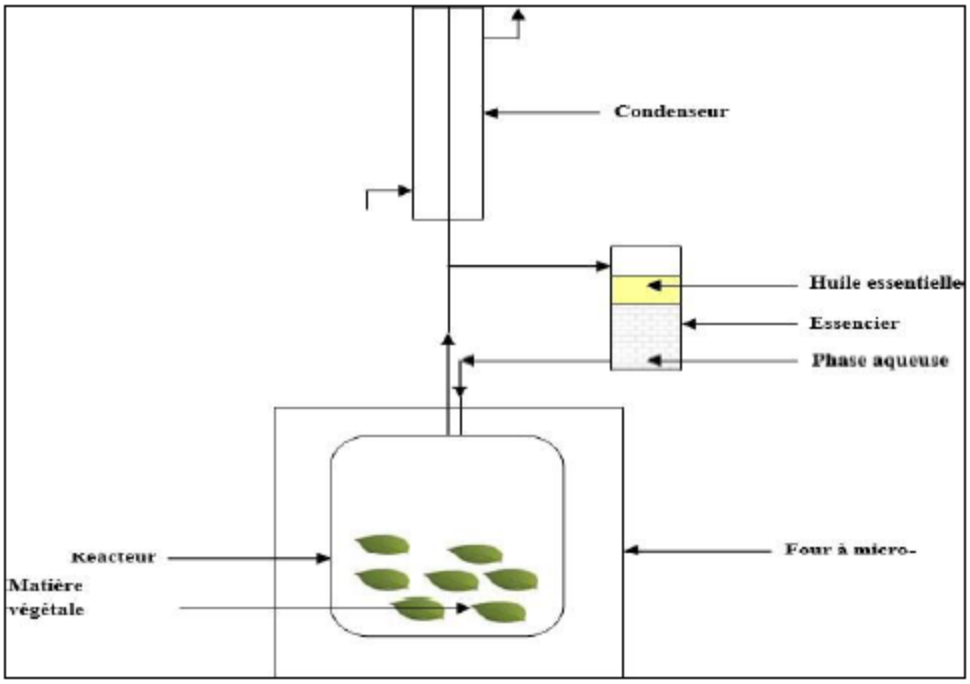


Figure I.7 : Schéma de l'Extraction Assistée par Micro-Ondes [32].

I.6.7.4. Extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction par solvant volatil, consiste à placer dans un extracteur la matière végétale à traiter et un solvant volatil. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en huiles essentielles, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé sous pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone [34]. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

I.6.7.5. Autres méthodes d'obtention des huiles essentielles :

I.6.7.5.1. Expression mécanique à froid :

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste

sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification. Les essences de Citrus ont longtemps été extraites manuellement, la mécanisation et l'industrialisation de la technique d'expression à froid ne s'étant effectuées qu'au début du XXe siècle, afin de diminuer les coûts de production et d'améliorer les rendements pour faire face à l'augmentation de la demande. Les systèmes récents, comme la « Food Machinery Corporation-in-line » (FMC), permettent d'extraire le jus de fruit et l'essence de manière quasi-simultanée sans contact des deux. C'est pourquoi l'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur [31].



Figure I.8 : Extraction par expression à froid [31].

I.6.7.5.2. Macération :

On laisse macérer 10g de fleurs broyées et de tiges finement découpées dans 100 ml de deux types de solvants : un mélange hydro-alcoolique (Méthanol/eau) (80/20 v/v) et un mélange hydro-acétonique (Acétone/eau) (70/30 v/v) pendant 48 heures à température ambiante. Ensuite, on filtre les extraits, séparant les solvants organiques (Méthanol et Acétone). La phase aqueuse de chaque extrait est recueillie dans un flacon [35].

I.7.La phytochimie :

I.7.1. Définition :

C'est la science qui étudie la composition, le métabolisme et la fonction des plantes ainsi que les méthodes utilisées dans l'analyse, la purification et l'extraction de composés végétaux naturels. Elle ne peut être séparée d'autres sciences comme la pharmacognosie [36].

I.7.2. Historique :

Une brève histoire de la phytochimie moderne l'étude ethnobotanique des plantes médicinales pour le traitement des maladies existe depuis l'antiquité. Par exemple, la découverte de la quinine marque la première utilisation réussie de composés chimiques pour traiter les maladies infectieuses. Elle est considérée comme la découverte médicale la plus importante du XVIIe siècle. Mais en réalité, l'utilisation de la source de quinine, l'écorce du quinquina, remonte au 16ème siècle. Cependant, le début de la séparation des composés végétaux marque les premiers stades de la chimie végétale moderne. Un tel exemple est l'isolement des alcaloïdes par Friedrich Wilhelm Adam sörtner (1783 - 1841), un pharmacien remarquable de la seconde moitié du XVIIIe siècle. Cette séparation a conduit non seulement à la synthèse de nouveaux médicaments, mais aussi à la purification d'extraits de plantes utilisées comme médicaments. Il est important de noter qu'en plus d'être le premier à isoler l'alcaloïde morphine, Friedrich Williams a été le premier à isoler un principe actif associé à une plante médicinale ou à une plante médicinale. Bientôt, ses découvertes ont transformé la chimie médicinale de l'alchimie à une branche scientifique reconnue.

Dans des circonstances similaires, les scientifiques Pierre - Joseph Pelletier et Joseph Caventou ont isolé la quinine en 1820 à partir de l'herbe quinquina, un médicament unique avec des indications contre le paludisme. Depuis lors (au cours des 300 dernières années), de nombreux autres composés ont été isolés et caractérisés avec succès, tels que la digitale (1785), l'apitoxine amère (1812 - 1884), le curare (1856 - 1958), Et l'acide salicylique (1860 - 1877). Avec les progrès de la biotechnologie dans les années 1970, la tendance à synthétiser divers dérivés de métabolites végétaux en imitant les voies de biosynthèse a conduit à la production de composés plus stables, plus efficaces, mais moins toxiques, qui

ont une valeur commerciale. Le volume 3 de ce livre détaille la synthèse in vitro de substances phytochimiques.

Parce que les terpènes représentent une classe d'extraction diversifiée mais problématique, les scientifiques des années 1980, Croteau et Cane, sont devenus les premiers à identifier une enzyme appelée terpène synthase, découvrant ainsi une voie alternative pour la synthèse des terpènes, monoterpènes, diterpènes, etc. Grâce au développement de technologies de pointe, 1990 est devenue une période importante pour la chimie végétale moderne [37].

I.7.3. Les composés phénoliques :

I.7.3.1. Définition des composés phénolique :

Les polyphénols sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires**.** Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines et la maturation des fruits [38].

Ils forment une immense famille de plus de 8000 composés naturels, sont divisés en plusieurs catégories : les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols; les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables [39].

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure I.9**)**, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [40].

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et pro-anthocyanidines) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes [38].

Ces composés sont synthétisés par toutes les plantes, dont certaines contribuent à leurs propriétés médicinales et sont utilisées comme médicaments depuis l'Antiquité.

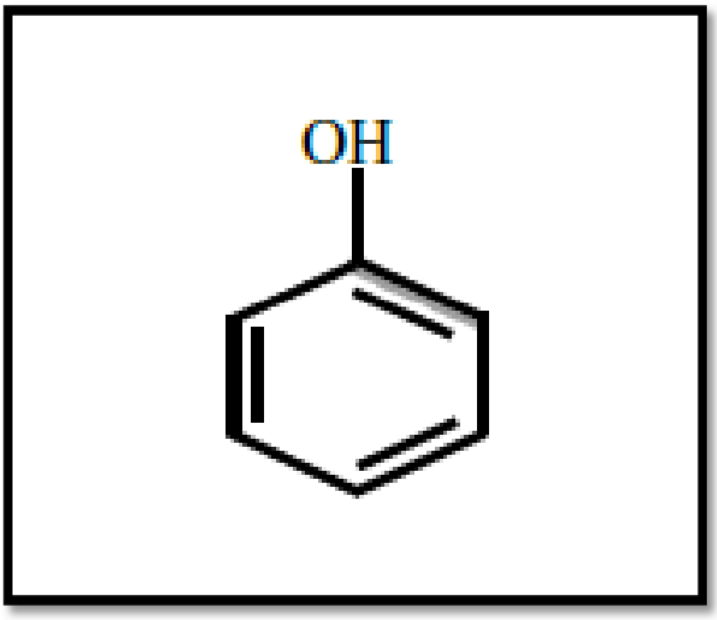


Figure I .9 : Structure du noyau phénol [40].

I.7.3.2. Classification des composés phénoliques :

Tableau I.2 : Principales classes des composés phénoliques [38].

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	Plantes
6	C6	Phénols simples	Cathécol, hydroquinone	Busserole
7	C6-C1	Acides phénols Benzoiques	Ac. Gallique, Ac.Salysalique, vaniline	Artichaut Saule
8	C6-C2	Acétophénones	3-acétyl6-méthoxybenzaldehyde	Saule
9	C6-C3	Acides phénols Cinnamiques	Ac. Coumarique Ac. Caféique	Romarin Marronnier d'inde
10	C6-C4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp.
13	C6-C1-C6	Xanthones	Bellidifoline, mangoctine	Racine de gentiane, Centaurée

14	C6-C2-C6	Stilbènes	Hydrangénol, Pinosylvine	Raisin, pin
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Isoflavonoïdes	Quercétine, Roténoide	Ginkgo Thym camomille
18	(C6-C3)2	Lignanes	Matairésinol	Chardon
30	(C6-C3-C6)2	Bi flavonoïdes	Amentoflavone, Hinokiflavone	Carcinia Hypeicum
N	(C6-C3-C6)n	Taninscondensés (proanthocyanidols)	Aesculitanins	Marronnier d'inde, vigne

I.7.3.2.1. Acide phénolique :

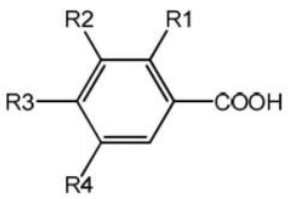
Les acides phénoliques sont abondants dans les aliments et sont divisés en deux classes : les dérivés de l'acide benzoïque et les dérivés de l'acide cinnamique. Les acides hydroxycinnamiques sont plus courants que les acides hydroxybenzoïques et comprennent principalement l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide sinapique [42].

I.7.3.2.1.1. Acides hydroxybenzoïques :

Acides hydroxybenzoïques (C6-C1): dérivent de l'acide benzoïque, exemple: l'acide gallique, Vanillique [43] (Figure I.10).

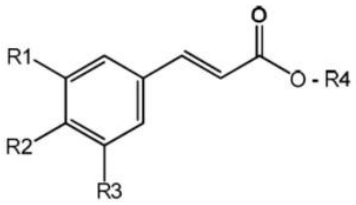
I.7.3.2.1.2. Acides hydroxycinnamiques :

Acides hydroxycinnamiques (C6-C3): dérivent de l'acide cinnamique, exemple: l'acide p-coumarique, l'acide férulique, l'acide caféique [43] (Figure I.10).



R1 = R2 = R3 = R4 = H : acide benzoïque (non phénolique)
R1 = R2 = R4 = H, R3 = OH : acide *p*-hydroxybenzoïque
R1 = R4 = H, R2 = R3 = OH : acide protocatéchique
R1 = R4 = H, R2 = OCH_3, R3 = OH : acide vanillique
R1 = H, R2 = R3 = R4 = OH : acide gallique
R1 = H, R2 = R4 = OCH_3, R3 = OH : acide syringique

Acides hydroxybenzoïques



R1 = R2 = R3 = R4 = H : acide cinnamique (non phénolique)
R1 = R3 = R4 = H, R2 = OH : acide *p*-coumarique
R1 = R2 = OH, R3 = R4 = H : acide caféique
R1 = OCH_3, R2 = OH, R3 = R4 = H : acide férulique
R1 = R3 = OCH_3, R2 = OH, R45 = H : acide sinapique
R1 = R2 = OH, R3 = H, R4 = acide quinique : acide chlorogénique

Acides hydroxycinnamiques

Figure I.10: Structures chimiques des principaux acides phénoliques [45].

I.7.3.2.2. Les coumarines :

Les coumarines sont des substances aromatiques naturelles très largement distribuées dans le règne végétal. La coumarine est issue du métabolisme de la phénylalanine par l'acide cinnamique, que l'on trouve dans toutes les parties de la plante et notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines.

Les coumarines qui sont aussi les dérivés de C6-C3, sont des substances phénoliques, formées de l'union de noyau benzénique et α –pyrone, donc connue dans la nomenclature internationale comme 2H-1-benzopyran-2-one et leur Formule brute : $C_9H_6O_2$.

Les coumarines sont des hétérocycles oxygénés, Leur squelette de base est constitué de deux cycles accolés avec neuf atomes de carbone [43] (figure I.11).

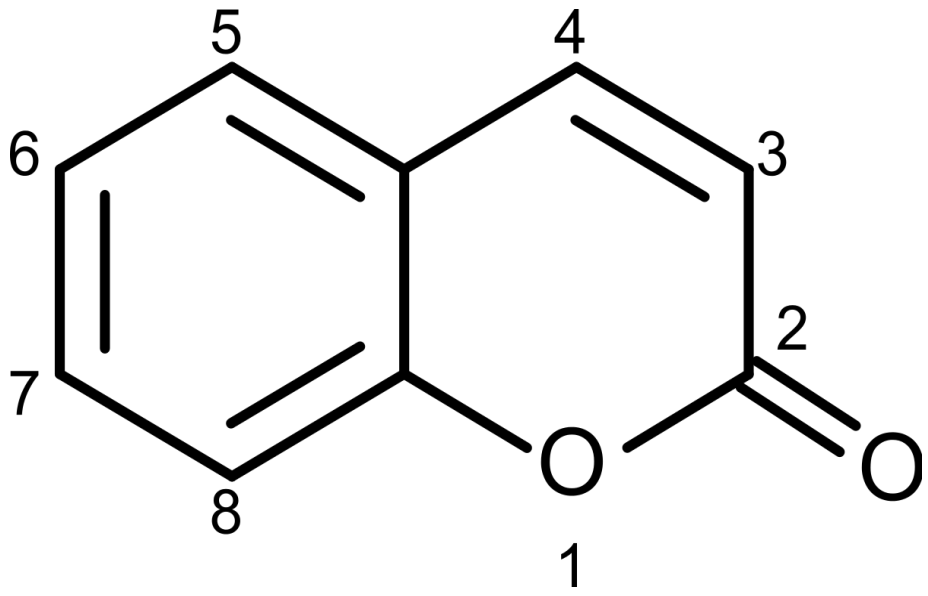
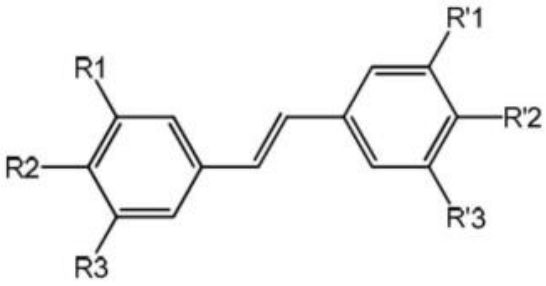


Figure I.11: Structure générale de la coumarine [43].

I.7.3.2.3. Les stilbènes :

Les stilbènes répondent à une représentation structurale de type C6-C2-C6 (FigureI.12). Ils dérivent des acides hydroxycinnamiques et regroupent des dérivés hydroxy- et méthoxy- du stilbène simple, ainsi que leurs formes hétérosidiques et polymériques. Ils se trouvent en petites quantités dans l'alimentation humaine. Parmi ces composés, on trouve le resvératrol, un anticancéreux présent dans certaines plantes [45].



R1 = R3 = R'2 = OH, R2 = R'1 = R'3 = H : resvératrol
R1 = R3 = OCH_3, R2 = R'1 = R'3 = H, R'2 = OH : ptérostilbène
R1 = glucose, R2 = R'3 = OH, R2 = R'1 = OH, R'2 = OCH_3 : rhapontine
R1 = glucose, R2 = R'1 = R'3 = H, R3 = R'2 = OH : picéide

Figure I.12 : Structures chimiques des stilbènes [44].

I.7.3.2.4. Les Flavonoïdes :

Ce sont des pigments universels des végétaux responsables de la coloration des fruits, des fleurs et parfois des feuilles. Ce sont des composés polyphénoliques constitués de deux noyaux benzéniques A et B reliés par une chaîne en C3 de trois atomes de carbone. Ils proviennent de l'addition de trois groupements en C2 à de l'acide coumarique. On en a dénombré actuellement plus de trois mille. On distingue deux catégories de flavonoïdes: La première catégorie avec le cycle C insaturé (flavonols, flavones et anthocyanines), et la seconde catégorie a le cycle C saturé (flavanes et flavanones) [45].

On attribue à ces flavonoïdes des propriétés variées : Antitumorales, Anticarcinogènes, Anti-inflammatoires Hypotenseurs et Antioxydants [46].

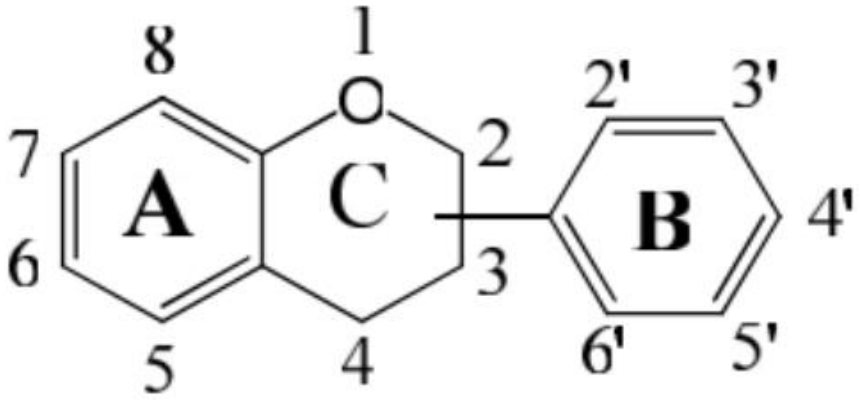
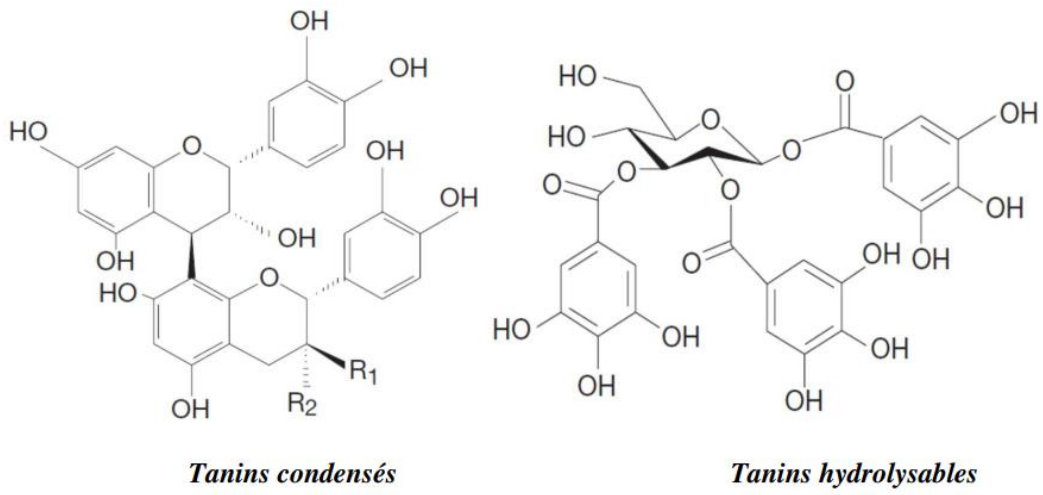


Figure I.13: Squelette de base des Flavonoïdes [47].

I.7.3.2.5. Tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Ces substances ont en effet la propriété de se combiner aux protéines, ce qui explique leur pouvoir tannant. Très répandus dans le règne végétal ils peuvent exister dans divers organes, mais on note une accumulation plus particulièrement dans les tissus âgés ou d'origine pathologique. Ils sont localisés dans les vacuoles, quelque fois combinés aux protéines et aux alcaloïdes.

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables [48] (Figure I.14).



Tanins condensés *Tanins hydrolysables*

Figure I.14 : Structures chimiques typiques des tanins [44].

I.7.3.3. Les méthodes d'extraction des composés phénoliques :

Les méthodes d'extraction des composés phénoliques sont les mêmes que les méthodes d'extraction des huiles essentielles mentionnées précédemment.

I.7.3.4. Les effets thérapeutiques des composés phénoliques :

Les composés phénoliques peuvent être trouvés dans divers fruits et légumes, en particulier les raisins, les baies et les tomates. Les composés phénoliques peuvent être bénéfiques pour la santé en réduisant le risque de troubles métaboliques tels que le diabète de type 2. Leurs effets contre le vieillissement ont également été étudiés, Et des propriétés antioxydants, anti - inflammatoires et antiprolifératives. Les propriétés biologiques des composés phénoliques sont diverses, mais les mécanismes spécifiques par lesquels ils jouent un rôle préventif des maladies sont inconnus. De nombreuses études ont rapporté la présence de composés phénoliques dans diverses sources alimentaires et leurs avantages pour la santé humaine. Selon de nombreuses études, les composés phénoliques ont montré une activité antimicrobienne. La consommation de composés phénoliques est liée au microbiote intestinal. Cependant, les études in vivo et in vitro Un effet Prébiotique possible des composés polyphénoliques a été montré. Récemment, la consommation d'un régime riche en polyphénols (~ 3 g / jour) a été étudiée et il a été constaté que la consommation de polyphénols chez l'homme augmentait considérablement. La diversité microbienne, qui est liée à l'amélioration de la santé métabolique. En outre, la recherche sur les composés phénoliques in vivo et in vitro a également attiré l'attention. Les composés phénoliques peuvent inhiber l'activité des enzymes gastriques telles que l'amylase et la lipase, Réduit l'absorption des graisses et des glucides alimentaires dans l'intestin et entraîne une diminution du métabolisme des lipides et du glucose. Cette activité pourrait expliquer les effets des composés phénoliques sur la phase postprandiale. La composition des lipoprotéines peut également être influencée par les composés phénoliques, car ils régulent les enzymes importantes impliquées dans l'échange dynamique des lipides [49].

I.8.Les activités biologiques :

I.8.1. Activité antioxydants :

I.8.1.1. Antioxydants :

Les antioxydants sont définis comme des substances capables de retarder ou d'empêcher l'oxydation de substances biologiques, de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres et de maintenir des niveaux d'ERO non cytotoxiques dans les cellules [50]. Les molécules impliquées dans la défense antioxydante peuvent se diviser en des antioxydants naturels (vitamine E, vitamine C, les caroténoïdes, des composés phénoliques, HEs...) et des antioxydants endogènes (superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), gluthation peroxydase (GPX)...). Un régime alimentaire optimisé et riche en antioxydants naturels peut jouer un rôle primordial dans le système de défense antioxydant. Récemment, la recherche d'antioxydants naturels spécialement à partir de plantes a largement augmenté et apparait comme une alternative attractive pour substituer les antioxydants synthétiques [51].

Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (telles que les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives, l'inflammation et le diabète) et le vieillissement. Elle est causée par une formation excessive de radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement et la décoloration causée par l'oxydation par la lumière, la chaleur et certains métaux [51].

I.8.1.2. Les radicaux libres :

Un radical libre est un atome ou une molécule qui porte un électron non apparié (électron unique). Cette propriété rend ces éléments très réactifs du fait de la tendance de cet électron à se ré-apparier, déstabilisant ainsi d‘autres molécules. Les molécules ainsi transformées deviennent à leur tour d‘autres radicaux libres et initient ainsi une réaction en chaîne. C‘est typiquement ce qui se passe lors de la peroxydation lipidique [52].

I.8.1.3. Évaluation de l'activité antioxydant :

I.8.1.3.1. Teste de DPPH :

Le 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), est un radical libre stable, violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparait rapidement lorsque le DPPH est réduit en 2.2 Diphenyl-1-picrylhydrazine par un composé à propriété antiradicalaire, entrainant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [53] (Figure I. 15).

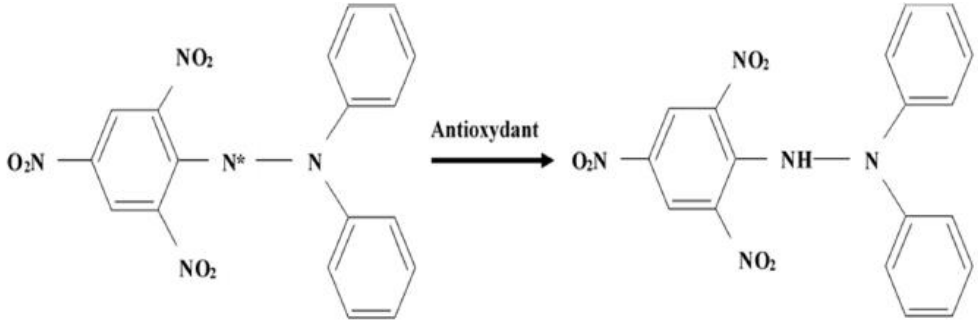


Figure I.15 : Réduction du radical libre DPPH [54].

I.8.1.3.2. Teste de FRAP :

La méthode de détermination du pouvoir réducteur du fer est basée sur le changement de couleur lors de la réduction des ions fer (Fe^{3+}) en ions fer (Fe^{2+}) par transfert d'électrons en présence de fer. Antioxydants. La forme réduite est de couleur verte et est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait. L'absorbance est mesurée à 700 nm. Ce test est bon marché, facile, reproductible et rapide. Utilisé pour indique la présence de composés phénoliques [32].

I.8.1.3.3. Teste de l'ABTS :

L'activité antiradicalaire des extraits est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS « 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) » qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydant des échantillons. Ce radical cationique est facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleue [55]. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce radical cationique entraine la réduction de ce radical [56].

I.8.2. L'activité anti-inflammatoire :

I.8.2.1. Inflammation :

L'inflammation est la réponse de défense de l'organisme face à diverses attaques qui peuvent être physiques, chimiques, biologiques (réponse immunitaire) ou infectieuses. La fonction principale de l'inflammation est d'éliminer l'agent agresseur et de permettre la réparation des tissus. L'inflammation de courte durée, appelée inflammation aiguë, est un phénomène positif pour l'organisme qui rétablit son intégrité physiologique. En revanche, les inconvénients de l'inflammation surviennent lorsqu'elle persiste et devient chronique [57]. Les signes cliniques de ce processus sont : De la fièvre, des rougeurs, un gonflement et des douleurs peuvent survenir, ainsi qu'un dysfonctionnement des organes affectés. Au niveau tissulaire, la réponse inflammatoire est caractérisée par une perméabilité vasculaire accrue, une dénaturation accrue des protéines et des modifications des membranes cellulaires [58,59].

I.8.2.2. Les anti-inflammatoires :

Les anti-inflammatoires sont des médicaments qui s'opposent aux processus inflammatoires [60], c'est à dire les substances chimiques luttant contre les phénomènes inflammatoires généraux ou secondaires [sont des réactions systématiques qui se développent à distance chroniques et locaux ou primaires (aiguës)] d'origine diverses (infections, brûlures, irritations, troubles métaboliques, etc.) par inhibition de la Cyclooxygénase (COX). En particulier la COX-2 [61,62].

I.8.2.3. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

I.8.2.3.1. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (BSA) :

Il est bien établi que la dénaturation des protéines est l'une des causes de l'inflammation à l'origine de diverses maladies inflammatoires. Par conséquent, la capacité des substances à inhiber la dénaturation de la protéine implique un potentiel évident d'activité anti-inflammatoire [63,64].

I.8.2.3.2. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) :

Lors de l'inflammation, la membrane lysosomale est lysée et ses composants enzymatiques sont libérés, ce qui peut entraîner divers troubles. L'AINS agit en inhibant la libération d'enzymes lysosomales ou en stabilisant les membranes lysosomales. Lorsque les globules rouges sont exposés à des contaminants, une lyse des membranes des globules rouges et une oxydation de l'hémoglobine due à une hémolyse peuvent se produire. Les substances toxiques comprennent un environnement hypotonique, la chaleur, le salicylate de méthyle et la phénylhydrazine. Étant donné que les membranes des globules rouges humains ressemblent aux membranes lysosomales, l'hypotension induite par la chaleur et la suppression de la lyse des membranes des globules rouges peuvent constituer une mesure mécaniste de l'activité anti-inflammatoire. La solution hypotonique provoque une accumulation de liquide en excès dans les globules rouges, entraînant une rupture de la membrane. Enfin, une hémolyse des globules rouges se produit. Les dommages causés à la membrane des globules rouges rendent les cellules sensibles aux dommages secondaires dus à la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres. Des enzymes et protéases bactériennes sont présentes dans les lysosomes des neutrophiles activés. La fuite des composants lysosomals provoque une inflammation supplémentaire et des lésions tissulaires lorsqu'elles sont libérées de manière extracellulaire. Par conséquent, la stabilisation de la membrane lysosomale est importante pour contrôler les réponses inflammatoires. Cela évite les fuites de composants [65].

I.8.3. L'activité antibactérienne :

En Algérie, tout comme dans d'autres nations en développement, les maladies infectieuses et parasitaires posent un défi majeur en matière de santé publique en raison de leur fréquence et de leur gravité.

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité, mais ce n'est qu'au début du 20e siècle que les scientifiques ont commencé à s'y intéresser. Un grand nombre de plantes, telles que les aromatiques et les épices, présentent des propriétés biologiques importantes, trouvant des applications dans divers domaines tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture [66].

Les recherches actuelles se concentrent principalement sur les molécules antimicrobiennes d'origine naturelle provenant des plantes, car elles peuvent être acquises plus facilement et seront sélectionnées sur la base de leur utilisation en médecine traditionnelle [67]. Aujourd'hui, leur utilisation est basée sur des fondements scientifiques et rationnels, puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des plantes médicinales [68,69].

I.8.3.1. Généralités sur les bactéries :

Les bactéries sont des microorganismes unicellulaires qui sont classés parmi les procaryotes parce qu'ils n'ont pas de membrane nucléaire. Leur taille typique est inférieure à 1µm, et elles sont visibles au microscope optique. Les bactéries peuvent avoir différentes formes, telles que sphériques (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvées (vibrions) ou spiralées (spirochètes) [70].

Les bactéries sont classées en gram positif et gram négatif (avec quelques exceptions, comme les mycobactéries) en fonction de la structure de leur membrane cellulaire procaryote. Les bactéries gram positives possèdent une paroi cellulaire épaisse constituée de couches de peptidoglycane et l'acide teichoïque ancrées sur la membrane cytoplasmique. D'autre part, les bactéries gram négatives ont une fine couche de peptidoglycane qui est entourée d'une membrane interne (IM) et d'une membrane externe (OM) formant ainsi l'espace périplasmique [71].

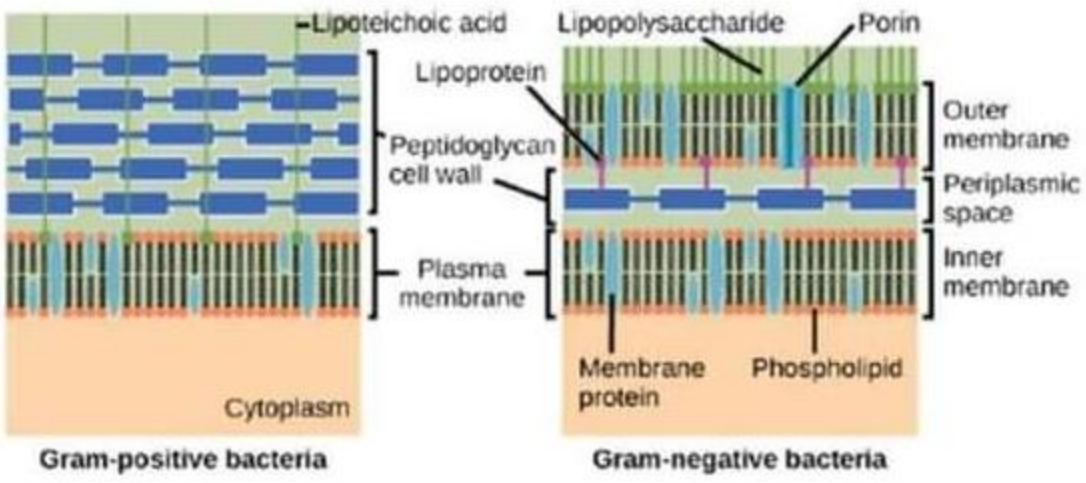


Figure I.16: Paroi cellulaire des bactéries Gram positif et Gram négatif [72].

I.8.3.2. L'évaluation de l'activité antibactérienne :

I.8.3.2.1. Méthode de dilution :

Les techniques de dilution sont utilisées avec des milieux solides ou liquides. Le principe de ces méthodes est de mettre en contact un inoculum bactérien standardisé avec des concentrations croissantes de la substance antimicrobienne à tester selon une évolution précisément définie afin de déterminer la CMI de cette dernière [73].

I.8.3.2.2. Méthode de diffusion de disques :

Cette méthode implique l'utilisation de disques de papier saturés avec différentes substances à tester. Ces disques sont placés sur une gélose uniformément ensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique ou substance diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine une zone d'inhibition en fonction de la concentration de l'antibiotique ou de la substance. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition. Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. Plus il est petit, plus la bactérie est résistante [74].

I.9.Techniques d'analyse physico-chimiques :

I.9.1. Spectroscopie UV-visible :

La spectroscopie UV-visible est une méthode analytique quantitative qui mesure l'absorption du rayonnement par les espèces chimiques présentes en solution à chaque longueur d'onde de bandes ultraviolettes et visibles du spectre électromagnétique. L'absorption dans cette région est due à la transition d'un niveau électronique à un autre d'énergie plus élevé avec une modification du niveau de vibration et de rotation. Au cours de ce processus, les électrons se déplacent d'une orbitale moléculaire à une autre avec une énergie plus élevée [75].

I.9.2. Spectroscopie infrarouge IR :

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique analytique principalement utilisée pour déterminer la présence de groupes fonctionnels dans les structures de molécules organiques

et de certaines molécules simples. Il est basé sur l'absorption du rayonnement infrarouge par l'échantillon analysé. Les fonctions chimiques présentes dans l'échantillon ont été analysées [76].

I.9.3. Chromatographie sur couche mince (CCM) :

Chromatographie sur couche mince (CCM) La chromatographie sur couche mince est une technique analytique rapide, simple et peu coûteuse pour séparer et parfois identifier les métabolites. Elle repose principalement sur des phénomènes d'adsorption [77].

Principe : La chromatographie sur couche mince est basée sur les phénomènes d'adsorption, d'interaction et de polarité. Un mélange de composés est déposé sur un support solide (phase stationnaire) et immergé dans un solvant (phase mobile). Le solvant se déplace le long de la phase stationnaire par capillarité. La phase mobile contient des composés dont la hauteur varie en fonction de leur affinité pour les phases stationnaire et mobile. Par conséquent, les composés peuvent être caractérisés en fonction de leur Rf [78].

I.9.4. Chromatographie en phase gazeuse (GPC) :

La chromatographie en phase gazeuse (GPC) est une méthode de séparation et d'analyse qui peut être appliquée à des mélanges complexes. Il est idéal pour les composés volatils et peut détecter et individualiser des composants chimiques traces depuis un échantillon jusqu'au niveau du milligramme ou du microgramme, en particulier lorsqu'il est utilisé en conjonction avec des détecteurs ou des appareils spécifiques. Une phase stationnaire est un liquide non volatil dispersé ou greffé sur un support inerte. La phase mobile est constituée de gaz inertes (H_2, N_2, He). La solution est injectée manuellement à l'aide d'une seringue ou d'un injecteur automatique pour améliorer la reproductibilité. La chambre d'injection est maintenue à une température qui fait évaporer l'échantillon en très peu de temps. La séparation de composés dépend du type de colonne utilisée et de la polarité de la phase stationnaire [79].

I.9.5. Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :

La chromatographie en phase liquide à haute pression - souvent appelée chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP ou CLH) est la principale technique analytique utilisée dans l'analyse pharmaceutique, principalement dans l'industrie pharmaceutique [80].

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase mobile qui l'entraîne à travers la colonne les constituants du mélange injectés sont soumis à un phénomène appelé rétention et se déplacent tous plus vite que la phase mobile et que leur vitesse de déplacement sont différents. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés. Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme. Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté [81].

Les références bibliographiques :

[1]: Marin, M.V., Koko, S., Deuletié-Lensevic., P.D, Marin., D, rancic., Z, Djic- Stevanovic., (2005). South African Journal of Botany, 72.

[2]: Bouhdid, S., Idomar, M., Zhiri, A., Baudoux, D., SkaliN, S., Abrini, J., (2006). Thymusessential oils chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterialactivities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006.

[3]: https://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-plante-medicinale-11529/

[4]: J. CHABRIER., plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, thèse de doctorat, université Henri Poincare - NANCY 1, France, 2010.

[5]: Benarba, B. Medicinal plants used by traditional healers from South-West Algeria: An ethnobotanical study. 2016. *Journal of Intercultur al Ethnopharmacology* ,5(4),(2016): 320–330

[6]: Amenah G-F. (2006). Medecinal plants: tradition of yesterday and drugs of Tomorrow Molecular Aspects of medicine. 27:1-93.

[7]: Grenez. E .B, 2019.Phytothérapie exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation, Université de Lille, 17-26p.

[8]: Bouhaddouda, N., (2016). Activités antioxydants et antimicrobienne de deux plantes du sol local: Origanuim vulgaire et Menthapulegium. thèse doctorat, univ. Annaba, p.24, 10, 19.

[9]: Spichiger, R.-E., Vincent, V.-S., Figeat M., et Jeanmonod D. (2004). Botanique systématique des plantes a fleurs « une approche polygénétique nouvelle des angiospermes des régions tempères et tropicales. 3emeEd.press polytechniques et universitaire romandes Lausanne, Suisse, p.328.

[10]: BOUAZIZ.L et LAHEG.M, 《Evaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale Lavandula stoechas L.», Mémoire de Master, Université de 08 mai 1945 Guelma,2013/2014.

[11] : Toninolli, F., Meglioli, V., (2013). Huiles Essentielles L'encyclopédie. JUDENA . France .p 37,38, 202.

[12] : Anonyme 1 : https://www.gettyimages.com, consulté le 01 juin 2022.

[13] : Quézel, P., & Santa S. (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

[14] : Iserin, P. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. Ed : Larousse Bourdasse. Paris, P. 335.

[15] : Gören, A.C., Topçu, G., Bilsela, M., Aydogmus, Z., Pezzuto, J. M. (2002). The chemical constituents and biological activity of Essential oil of Lavandula stoéchas ssp. Stoéchas. Z. Nature. 570 :797- 800.

[16] : El Haib A(2011), valorisation de terpenes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, Université Toulouse,p :4-12 .

[17] : Benazouz M.A,(2011),les huiles essentielles,importance et potentialités :mise a jour bibliographique des derniers recherches sur leurs emplois et toxicité et analyse de la composition des huiles essentielles de quinz plants des plus consommées au Maroc ,UNIVERSITE MOHAMMED V-SOUISSIp :6.

[18]: Belghomari, R., Belakhdar, I. (2020). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la plante médicinale Lavandula dentata de la région D'Ain T'émouchent. Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain-Temouchent. P :74.

[19]: Roux, D., Catier, O. (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie, France:WoltersKluwe, 146 :32-34.

[20]: I. Ferdes, N. Saidia . « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de Lavandula stoechas L. Et d'Origanum floribundum Munby. Sur des agents d'otomycoses : Cas d'Aspergillus niger ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie), 2019.

[21]: R. Yaacoub, I. Tlidjane. « Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de Cuminum cyminum L. Et de Foeniculum : supercritique extraite par hydrodistillation et CO2. Vulgareetude comparative ». Mémoire de Master. Université de Oum El Bouaghi (Algérie), 2018.

[22]: M. Lamamra. « Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de Tinguarra sicula (L.) Parl. Et de Filipendula hexapetala Gibb ». Mémoire de Master. Universite de Setif (Algérie).

[23]: F. Menaceur. « Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier ». Thèse de Doctorat. Ecole nationale superieure agronomique El-Harrach –Alger (Algérie),2015.

[24]: M. Nasri , A. Smati. « Activité antifongique d'huile de cade sur deux champignons pathogènes de la tomate; Botrytis cinerea et Fusariumoxysporum ». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2017.

[25]: K, Remmit , R. Hezil. «Activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : Lavandula stoechas L., Myrtus communis L., Pistacia lentiscus L. en vue d'une valorisation phytopharmaceutique ». Mémoire de Master. Université de Ji-jel(Algérie), 2019.

[26]: lucette couderc V(2001),Toxicite des huiles essentielles,l'universitépaul-sabatier de toulouse, p :3-55

[27]: Moon, T., Cavanagh, H., Wilkinson, J. Activity of Australian grown Lavandula spp. essential oils against Aspergillus nidulans, Trichophyton mentagrophytes, Le ptosphaeria maculans and Sclerotinia sclerotiorum .Journal of Essential Oil Research. 19.(2004):171175.

[28]: YOUNES.F, « Étude botanique, phytochimique et activités biologiques d'une espèce végétale utilisé au médecine traditionnelle Algérienne (teucrium polium) », Mémoire de master, Université Mohamed Khider de Biskra, 2019/2020.

[29]: CH. Guemidi., et N. Djerourou., Effets antimicrobiens de l'extrait à l'éthanol de Thymusvulgaris (Thym) récolté dans la région de Naama sur la croissance des germes spé-cifiques duyaourt : Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus, mémoire de master, université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 2017.

[30] : BOUZIDI Nebia, Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « Artemisia herba alba Asso », diplôme de Doctorat, Sciences de la Vie, universite Mustapha STAMBOULI de MASCARA, (2016), p 51.

[31]: BARA.A et HAMEURLAINE.I et KHELIFA.R, « Étude comparative de l'activité biologie et du rendement en huile essentielle de Foeniculium vulgare de deux sites Franda et Ain Mesbah », Mémoire de master,Université Ibn Khaldoun-Tiaret-,2022/2023.

[32]:. AZZIZI. S et RAMOUL. L, « Extraction des métabolites bioactifs à partir de Mentha pulegium et Lavandula angustifolia Mill et mise en évidence de leurs activités biologiques; anti-oxydante et antibactérienne », Mémoire de master, Université Frères Mentouri Constantine I, 2021/2022.

[33]: BOUKHATEM et al. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature, Revue Agrobiologia (2019) , p1655.

[34]: KIM, N.S., Lee, D.S., CHROM, J. (2002). 982, 31.

[35]: CHAOUAK .C et HEMAM.F et TAHER.H, « Contribution à l'étude des activités biologiques des extraits de la plante Chamaerops humilis en zones semi-arides», Mémoire de master, Université Ibn Khaldoun-Tiaret-, 2022/2023.

[36]: www.svt.ac-orleans-trous.fr/fileadmin.../défense. (Consulté le : 26-03- 2014).

[37]: Chukwuebuka et al .Fundamentals, Modern Techniques, and Applications ,Revue Phytochemistry (2020), p35.

[38]: ZERGUI. F, « Contribution à l'étude phytochimique et possibilités de valorisation d'une espèce dunaire du littoral oranais Matthiola sinuata (L).RBr.1812», Mémoire de master, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, 2016/2017.

[39] : Dacosta, Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs, Ed Yves Dacosta, Paris, 317 p.

[40] : Bruneton, J. (1999), Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Edition: Tec & Doc Lavoisier. Paris. 1120 p.

[41] : Sarni-Manchado, P. & Cheynier, V. (2006). Les polyphenols en agroalimentaire. Ed Tec et Doc Lavoisier, 02-11.

[42] : Pandey KB et Rizvi SI. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2009, Vol. 2 (5): pp 270-278.

[43] : BEKKOUCHE.A et SEGHAIER.S, « Contribution à l'étude phytochimique et l'activité biologique des extraits de Matthiola livida DC. de la région d'Oued Souf »,Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, 2019/2020.

[44] : SAIDI.I , « Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: Gleditsia triacanthos de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives», Thèse de doctorat ,UNIVERSITÉ DJILLALI LIABÈS Sidi Bel Abbés,2018/2019.

[45] : DJOUKENG JD. étude phytochimique et activité biologique de quatre espèces camerounaises de la famille de myrtaceae eucalyptus saligna sm, callistemon viminalis W., Syzygium guineense W. et Syzygium aromaticum M. et Perry. Université de Neuchâtel 2005.

[46]: Ren W., Qian Z., Wang H., Zhu L., Zhang L. (2003). Flavonoids:Promis-ing anticancer agents. Medicinal Res Rev, 23(4), 519-534.

[47]: BENAYACHE F. Étude phytochimique et biologique de l'espèces thymus numidicus Poiret université Constantine 2013 pp 23-34.

[48]: ABBASSI.L et TOUIL.H, « Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de Pergularia tomentosa L. dans la région d'El-Oued »,Mémoire de master, Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED,2018/2019.

[49] : M. Abd Elgadir et al ,Selected potential pharmaceutical and medical benefits of phenolic compounds: Recent advance ,Functional Food Science (2023),p128.

[50]: MAZIGHI.Y, « Etude expérimentale de l'effet antibactérien, antifongique et antioxydant de l'huile extraite des graines de figue barbarie», Mémoire de Master, UNIVERSITÉ YAHIA FARÈS DE MÉDÉA, 2022/2023.

[51]: Kouidri.Ch et Rahali.T, « Screening phytochimique et activités antimicrobienne, antioxydants des huiles essentielles de deux plantes médicinales de la région de Saida », Mémoire de master, Université MOULAY Tahar, Saida,2022/2023.

[52]: Dacosta Y., 2003. Les phytonutriments bioactifs. Ed Yves Dacosta. Paris, 317 p.

[53]: Benslama A., Harrar A. (2016). Free radicals scavenging activity and reducing power of two Algerian Sahara medicinal plants extracts. International Journal of Herbal Medicine, 4(6), 158- 161.

[54]: Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C, (1995) "Use of free radical method to evaluate antioxidant activity". Lebensm Wiss. Technol. 28: 25-30.

[55]: Prouillac C. (2009). Synthèse et évaluation de nouveaux composés organique et phosphores contre les effets des rayonnements ionisants. Etude de leur mécanisme d'action in vitro. Thèse de doctorat. Université Panl Sabatier Toulouse III.

[56]: Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M et Rice-Evans C. (1999), Antioxydant activity applying and inapoved ABTS radical cation decolorization assay free radical biology and medicine, 26: 1231-1237.

[57]: Weill, B., Batteux, F., Dhainaut. J. (2003). Immunopathologie et reactions inflammatoires. Ed: De Boeck Université, Paris, 12-23.

[58]: Scott, A., Khan, K.M., Cook, J.LL., Duronio, V. (2004). What is (inflammation)? Are we ready to move beyond Celsus?. British journal of sports medicine. 38(3), 248-249.

[59]: Stankov, S.V. (2012). Definition of inflammation, causes of inflammation and possible anti- inflammatory strategies. The Open Inflammation Journal. 5. 1-9.

[60]: Y. Cohen, C. Jacquot; abréges pharmacologie; 5 édition (2001) 326-327.

[61]: J. P. Grunfeld; Dictionnaire médecine Flammarion; 7cme édition (2002) 66.

[62]: S. Gobec, P. Brozica and T. L. Riznerb; Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and their analoguesas inhibitors of aldo-keto reductase AKR1C3: New lead compounds for the development of anticancer agents; Bioorganic Medicinal Chemistry Letters 15 (2005) 5170- 5175.

[63]: Habibur, R., Eswaraiah, M. C., et Dutta, A. M. (2015). In-vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic Activity of Oryza sativa Var. Joha Rice (An Aromatic Indigenous Rice of Assam). American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. 15. 115-121.

[64]: Osman, N. I., Sidik, N. J., Awal, A., Adam, N. A., et Rezali, N. I. (2016). In vitro xanthine oxidase and albumin denaturation inhibition assay of Barringtonia racemosa L.

and total phenolic content analysis for potential anti-inflammatory use in gouty arthritis. Journal of intercultural ethnopharmacology, 5(4), 343–349.

[65]: Sarveswaran, R., Jayasuriya, W. J. A. B., & Suresh, T. S. (2017). In vitro assays to investigate the anti-inflammatory activity of herbal extracts a review.

[66]: Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. AMAS. Food and Agricultural Research Council. Réduit. Mauritius, 83-94.

[67]: Yano, Y., Satomi, M., Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on Vibrio parahaemolyticus. International Journal of Food Microbiology, 111, 6-11.

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

[69]: Flamini, G. Cioni, P.L., Pulcio, R., Morelli, L., Panizzi, L. (1999). Antimicrobial activity of the essential oil of Calamintha nepeta and its constituent pulegone against bacteria and fungi. Phytotherapy Research. 13 (4), 349-351.

[70]: Nauciel, C. et Vildé, J.L. (2005). Bactériologie médicale. 2èmeEd. Masson, Paris, 5,10.

[71]: Domalaon, R., Idowu, T., Zhanel, G. G., &Schweizer, F. (2018). Antibiotic Hybrids: the Next Generation of Agents and Adjuvants against Gram-NegativePathogens?, Journal of clinical microbiology reviews, 31(2), e00077-17.

[72]: Samanthi., (2018). Difference Between Gram Positive and Gram Negative Cell Wall, Biology of the Cell.thèse, Salton, Milton RJ «Structure». Microbiologie médicale. 4e edition.

[73]: Burnichon, N., Texier A. (2003). L'antibiogramme la détermination de la sensibilité aux antibiotiques. DES bactériologie

[74]: Fauchère J.L. & Avril J.L., 2002.- "Bactériologie générale et médicale" Ellipses Editions Paris, 365 p.

[75]: M. Rabiai « Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus de la région M'sila ».Mémoire de Master. Université de M'sila(Algérie), 2014.

[76]: Peter, K, Vollhardt, C, Schore, N, "Traité de chimie organique", 4me Ed. De Boeck. Bruxelles, 2004,p.444-49.

[77]: Diallo, D., Sanogo, R., Yasambou, H., Traore, A., Coulibaly, K., & Maïga, A. (2004). Étude des constituants des feuilles de Ziziphus mauritiana Lam. (Rhamnaceae), utilisées traditionnellement dans le traitement du diabète au Mali. C.R. Chimic, 7:1073-1080.

[78]: Abedini. A. (2013). Évaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de doctorat. Universite du Droit et de la Sante, Lille II. HAL 2014. p 84-85.

[79]: Moghaddam, M., and Mehdizadeh, L. (2017). "Chemistry of essential oils and factors influencing their constituents," in Soft Chemistry and Food Fermentation, the Handbook of Food Bioengineering, eds A. M. Grumezescu and A. M. Holban (Academic Press; Elsevier Amsterdam Inc.), 379-419.

[80]: Satinder ahuja michael.W.dong" Hndbook of pharmaceutical analysis by HPLC", vol 6, 2005.p: 350. livre.

[81]: HPLC principe et appareillage. [Extrait du Biotechnologie & Biologie et physiopathologie humaine-Académie de Rouen. http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9/ressources pédagogiques-Biochimie et Biomoléculaire/ Date de mise en ligne: Mercredi 20 janvier 2010.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Le travail expérimental de ce mémoire a été effectué au sein du laboratoire Chimie 1 de l'Université de Ouzera à Médéa.

L'espèce que nous avons étudié Lavandula angustifolia, de la famille des Lamiacée, le matériel végétal est constitué de feuilles et de fleurs qui sont découpées, séchées à température ambiante.

- **Objectif :**

Les buts de notre étude sont :

- Extraction de l'huile essentielle de la plante de la famille de lamiacée par hydro distillation de type Clevenger.
- Préparation des extraits (Méthanol / Chloroforme) par macération.
- Etude phytochimique des extraits pour la recherche de certains composés actifs.
- Etude des caractérisations de l'huile extraite.
- Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne d'HE et des extraits de l'espèce Lavandula angustifolia

II.1. Matériel :

II.1.1. Matériel végétale :

A. Zone d'échantillonnage :

La plante de lavandula angustifolia a été récoltée en enlevant les tiges fleuries du buisson à Ouled Messaoud, Oued Harbil, dans la province de Médéa, Au début du printemps, lorsque la plante fleurit à cette période, elle se caractérise par sa couleur violette.

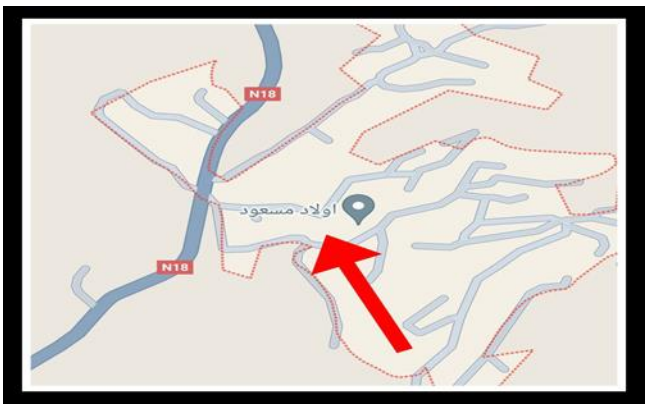


Figure II.1 : Le site de la récolte (Ouled Messaoud, Oued Harbil, Médéa).

II.1.2 Appareillage et réactifs chimiques :

Dans notre travail, nous avons utilisé un ensemble d'équipements de qualité analytique et de produits chimiques, qui sont les suivants :

II.1.2.1. Appareillage

- **Etuve**

L'étuve est une chambre de chauffage principalement utilisée dans les laboratoires pour effectuer des traitements thermiques à température contrôlée. Il opère généralement à la pression atmosphérique, parfois sous vide.

Les étuves sont couramment utilisées pour :

- Séchage (élimination de l'humidité d'un échantillon).
- Stérilisation (tuer les micro-organismes par la chaleur).
- Incubation (maintenir une température constante pour faire croître des micro-organismes ou des cellules).



Figure II.2 : Etuve ventilée MEMMERT.

- **Clevenger**

L'appareil de Clevenger est un dispositif en verrerie utilisé en laboratoire pour extraire les huiles essentielles des plantes. Il se compose d'un ballon de distillation, d'un réfrigérant et d'un Clevenger.

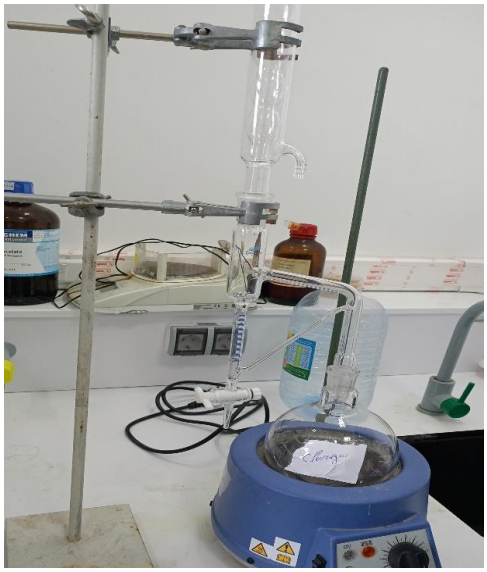


Figure II.3 : L'appareil Clevenger.

- **Balance analytique**

Une balance analytique est un instrument très précis utilisé en laboratoire pour mesurer la masse des échantillons. La balance SARTORIUS que nous avons utilisée est équipée d'un écran numérique qui affiche des valeurs claires, en plus d'un bouton de tare qui permet de régler le zéro du poids net.



Figure II.4 : Balance analytique

- **Evaporateur rotatif**

Un évaporateur rotatif est un appareil de laboratoire utilisé pour évaporer rapidement un solvant afin de concentrer partiellement une solution ou de concentrer à sec une solution ou une suspension. Il fonctionne sur le principe de la distillation sous vide. Dans la plupart des cas, les évaporateurs de solvant fonctionnent sous pression réduite, générée à l'aide de pompes à eau ou à vide.



Figure.II.5 : Evaporateur rotatif STUART.

- **Plaque chauffante**

Une plaque chauffante est un appareil de laboratoire portable qui sert de source de chaleur pour chauffer divers objets. Elle peut être couplée avec un système d'agitation magnétique afin d'assurer une homogénéisation efficace du contenu d'un récipient.

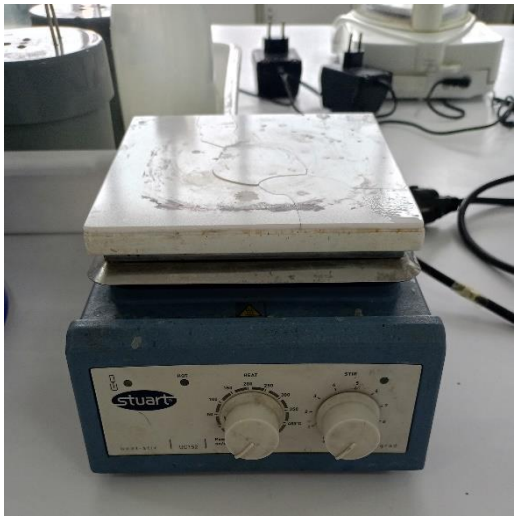


Figure II.6 : Plaque chauffante STUART.

- **Agitateur vortex**

C'est un appareil de laboratoire courant utilisé pour mélanger des liquides dans des tubes.



Figure II.7 : Vortex HEIDOLPH.

- **Bain-marie**

Un bain-marie en laboratoire est un appareil utilisé pour chauffer des échantillons ou des substances à une température constante et précise.



Figure II.8: Bain-marie MEMMERT.

- **pH-mètre**

Le pH-mètre est un dispositif qui sert à évaluer le niveau de pH d'une solution, indiquant son degré d'acidité ou d'alcalinité sur une échelle de 1 à 14. Il se compose habituellement d'une sonde munie d'une électrode en verre et d'une électrode de référence plongée dans la solution.



Figure.II.9 : pH-métre OHAUS.

- **Viscosimètre**

Un viscosimètre est un appareil utilisé pour mesurer la viscosité des fluides, c'est-à-dire la résistance d'un fluide à l'écoulement.



Figure.II.10: L'appareil de viscosimètre.

- **Spectrophotomètre uv-visible**

Un spectrophotomètre uv-visible est un appareil utilisé en laboratoire pour déterminer l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée dans les domaines de l'ultra-violet et du visible.



Figure II.11 : Spectrophotomètre uv-visible SHIMADZU.

II.1.2.2. Produits et réactifs chimiques

- **Aceton C_3H_6O**



Figure.II.12: Acetone C_3H_6O EDEN-LABO.

- **Chloroforme**

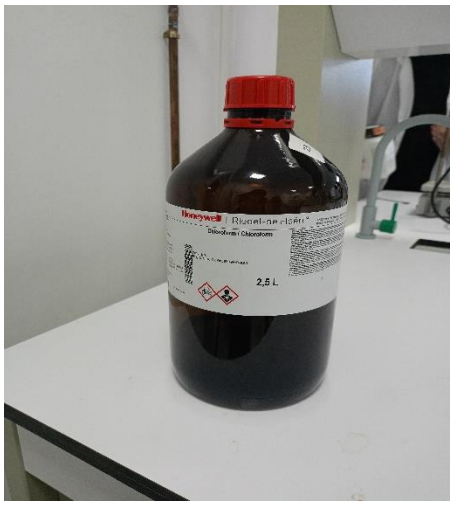


Figure.II.13 : Chloroform HONEYWELL.

- **Méthanol**

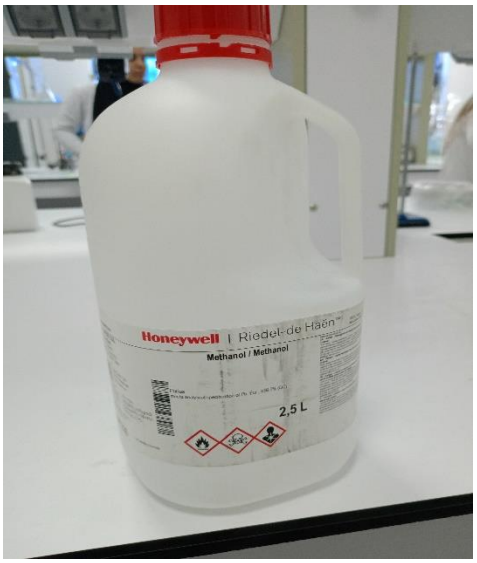


Figure.II.14 : Méthanol HONEYWELL.

- **Hydroxyde de sodium NaOH**

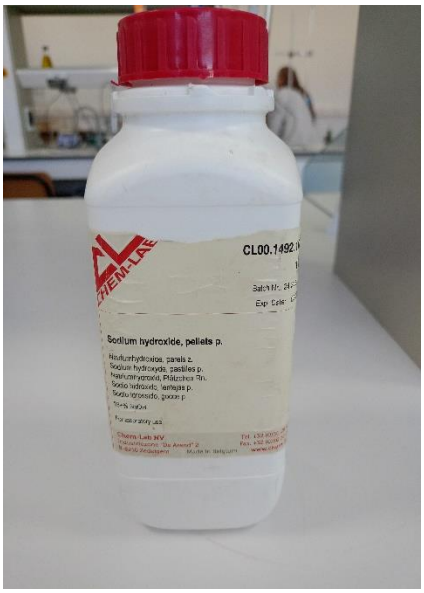


Figure.II.15 : Hydroxyde de sodium NaOH CHEM-LAB NV.

- **Chlorure de fer (III) $FeCl_3$**



Figure.II.16 : Chlorure de fer (III) $FeCl_3$ BIOCHEM.

- **Acide chlorhydrique HCl**

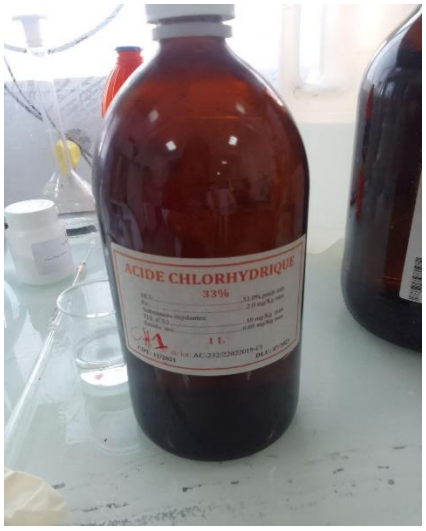


Figure.II.17 : Acide chlorhydrique HCl.

- **Ethanol**



Figure.II.18: Ethanol SPECILAB.

- **Hydroxyde de potassium KOH**



Figure.II.19 : Hydroxyde de potassium KOH BIOCHEM.

- **Diethyl ether**



Figure.II.20: Diethyl ether BIOCHEM.

- **Chlorure d'aluminium hexahydraté $AlCl_3.6H_2O$**



Figure.II.21 : Chlorure d'aluminium hexahydraté $AlCl_3.6H_2O$ BIOCHEM.

- **n-Hexane**

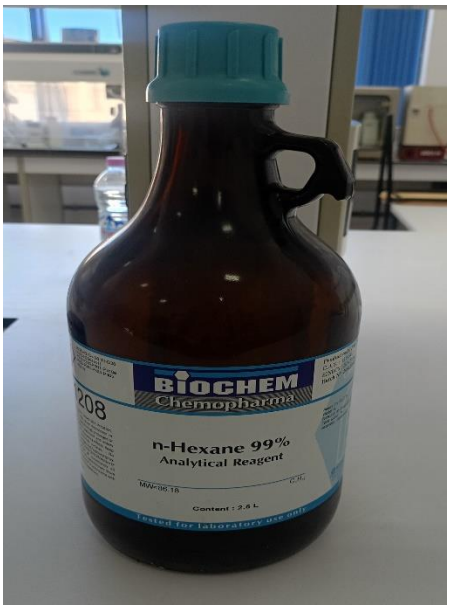


Figure.II.22: n-Hexane 99% BIOCHEM.

- **Carbonate de sodium Na_2CO_3**

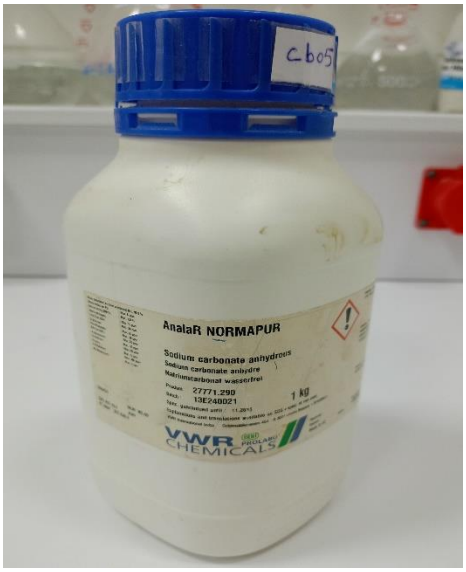


Figure.II.23 : Carbonate de sodium Na_2CO_3.

- **Acide trichloroacétique (TCA)**

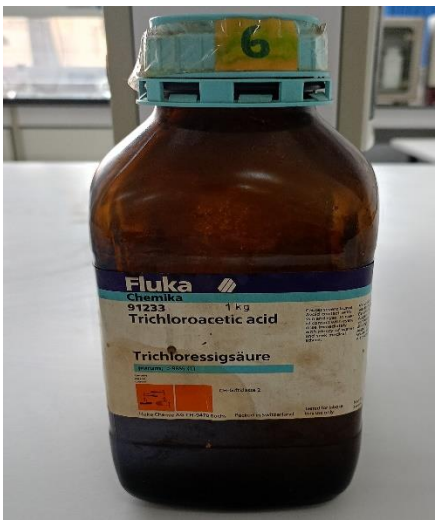


Figure.II.24 : Acide trichloroacétique (TCA) FLUKA.

- **Sulfate de cuivre (II) $CuSO_4$**
- **Phosphate de sodium**
- **Ferricyanure de potassium**
- **Diméthyl sulfoxyde DMSO (C_2H_6OS)**
- **2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).**
- **Phénolphtaléine**
- **Réactif de Fehling**

II.2. Méthodes :

II.2.1. Séchage :

1. Préchauffez l'étuve à une température de 50°C.
2. Récoltez les tiges de Lavandula angustifolia Mill et retirez les feuilles et les fleurs des tiges.
3. Disposez les parties de la plante sur des plateaux d'étuve en une couche mince et uniforme pour assurer un séchage homogène.
4. Placez les plateaux dans l'étuve préchauffée.
5. Laissez sécher à 50°C pendant 30 minutes. Toutes les 5 minutes, sortez le plateau et pesez la masse de la plante pour calculer le taux d'humidité.
6. Surveillez attentivement le processus de séchage pour éviter tout sur-séchage ou dégradation des composés volatils.

7. Après 30 minutes, retirez les plateaux de l'étuve et laissez la Lavandula angustifolia Mill refroidir à température ambiante.
8. Une fois refroidie, vérifiez la texture et l'humidité de la lavande séchée pour vous assurer qu'elle est bien sèche.
9. Stockez la lavande séchée dans un contenant hermétique à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation.

II.2.2. L'extraction :

L'objectif de l'extraction est d'isoler le plus grand nombre possible de molécules bioactives présentes dans la plante de lavandula angustifolia Mill en utilisant diverses méthodes et solvants. Dans cette étude, on a employé deux méthodes distinctes et deux solvants différents pour obtenir les extraits végétaux : la macération à froid avec une solution de (méthanol /chloroforme), ainsi que la méthode L'hydro-distillation de type Clevenger.

II.2.2.1. Extraction par macération à froide :

A. La stérilisation :

C'est la première étape que nous prenons pour stériliser les flacons avant de les utiliser pour la macération.

- **L'équipement nécessaire pour stériliser les flacons :**

- Quantité d'acétone et eau distillée.
- Four étuve.
- Pince (pour retirer les flacons de l'étuve).

- **Procédure :**

1. Apportez 7 flacons de sirop et assurez-vous de les nettoyer soigneusement à l'eau et au savon.
2. Videz une petite quantité d'acétone dans chaque flacon pour éliminer les éventuelles impuretés solides coincées dans le verre.
3. Nettoyez ensuite à l'eau du robinet jusqu'à disparition de l'odeur d'acétone.
4. Après vous être assuré de l'absence d'impuretés ou d'odeurs inhabituelles, nettoyez-les à l'eau distillée.
5. Couvrez les bouteilles et les bouchons d'aluminium et placez-les au four étuve à une température de 105 °c pendant 24 heures (figure II.25).



Figure II.25 : Processus de stérilisation au four étuve.

B. Macération à froid

La macération (extraction solide-liquide) est le processus où le broyat de matière végétale est laissé à reposer dans une solution (méthanol et chloroforme) afin d'extraire les principes actifs tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes.

- **Matériel et produites requis au processus de macération :**

- Deux béchers de 500 ml.
- Deux éprouvettes (50 ml, 100 ml).
- Balance analytique, broyeur, tamis, entonnoir, papier filtre, spatule.
- Solution de méthanol.
- Solution de chloroforme.
- Matière végétale broyée (lavandula angustifolia).

- **Procédure :**

1. Séparer les brins de lavande séchée.
2. Broyer et tamiser la lavande.
3. Mettre 10 grammes de matière végétale broyée dans chaque flacon.
4. Ajouter dans chaque flacon un solvant constitué d'un mélange (méthanol:chloroforme) (70 : 30/v : v).
5. Agiter chaque flacon pendant 2 minutes.

6. Laisser macérer pendant 15 jours en agitant de temps en temps, ensuite filtrer sur un papier filtre Wathman (n°1).
7. Récupérer le filtrat dans un flacon.

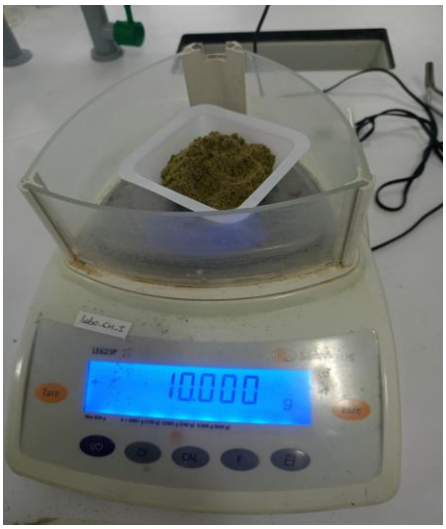


Figure II.26 : Matière végétale broyée (lavandula angustifolia).

II.2.2.2. Extraction par hydro-distillation de type Clevenger :

L'hydro-distillation de type Clevenger est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Cette approche exploite a capacité de la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. Elle implique l'immersion d'une quantité de matière végétale dans un ballon en verre de grande taille, contenant de l'eau distillée mais pas complètement rempli pour éviter les débordements lors de l'ébullition. Le mélange est chauffé jusqu'à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers un tube vertical, puis à travers un réfrigérant où elles se condensent. Les gouttelettes ainsi formées s'accumulent dans un tube préalablement rempli d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle remonte à la surface de l'eau distillée. Ensuite récupérée l'huile essentielle.

A. Matériel requise pour l'extraction de l'huile de lavandula angustifolia Mill :

- Appareil de Clevenger complet (Clevenger, ballon de distillation, réfrigérant).
- Équipement de laboratoire standard (chauffe-ballon, balance, entonnoir, élévateur, pompe à eau, deux béchers, deux tuyaux).
- Tube à essai stérile pour l'huile extraite.
- Échantillon de lavandula angustifolia Mill.
- Solvant d'extraction (l'eau distillée).

B. Procédure :

1. Assurez-vous que le ballon de distillation est propre et sec.
2. Placez 100 grammes de matière végétale (feuilles, brindilles, fleurs) dans un ballon de distillation.
3. Ajoutez 500 ml d'eau distillée dans le ballon de distillation.
4. Placez le ballon de distillation dans un chauffe-ballon.
5. Fixez le Clevenger sur le ballon de distillation de manière étanche.
6. Commencez à chauffer doucement le ballon de distillation pour permettre l'évaporation de l'eau et des huiles essentielles de l'échantillon végétal.
7. Les vapeurs d'eau et les huiles essentielles sont entraînées à travers le tube de condensation où elles se condensent en liquide. L'huile essentielle, étant moins dense que l'eau, flotte à la surface de l'hydrolat et est collectée dans le Clevenger.
8. Laissez l'extraction se poursuivre pendant deux heures et récupérez l'hydrolat de temps en temps.
9. À la fin du processus d'extraction, récupérez l'huile essentielle extraite dans un tube stérile et recouvrez-la de papier d'aluminium.
10. Stockez le tube à l'abri de la lumière et de la chaleur pour conserver la qualité de l'huile essentielle extraite.



Figure II.27 : Montage de l'extraction par hydro-distillation de type Clevenger.



Figure II.28: L'huile extraite de lavandula angustifolia Mill.

II.2.3. Evaporation :

La solution obtenue par macération à froid (après la filtration (FigureII.29)) a été évaporée à l'aide d'un évaporateur rotatif (rotavapeur), qui permet d'éliminer le solvant sous vide.



Figure II.29 : Filtration du macérât.

A.Matériel requis pour l'évaporation rotatif :

- Appareil d'évaporateur rotatif complet (bain-marie, ballon de récupération, ballon d'évaporation, réfrigérant).
- Pompe sous vide.
- Balance analytique.

- Pompe à eau.
- Entonnoir.
- Spatule.
- Solution de méthanol.
- Solution obtenue par la macération à froid (Le macérât).

B. Procédure :

1. Déposer le macérât à évaporer dans le ballon d'évaporation.
2. Plonger le ballon d'évaporation contenant le macérât dans un bain-marie.
3. Mettre le ballon d'évaporation en rotation et ouvrir le robinet d'eau froide connecté au réfrigérant.
4. Fermer la vanne reliant le montage à la pression extérieure (vanne de fermeture) et créer le vide à l'intérieur de l'appareillage en utilisant une trompe à eau.
5. Continuer l'évaporation jusqu'à ce que le solvant disparaisse complètement (à une température de 45°C).
6. Ouvrir la vanne de fermeture pour rétablir la pression atmosphérique à l'intérieur du dispositif.
7. Retirer le ballon d'évaporation et le laisser refroidir.
8. Peser le ballon pour déterminer le rendement d'extraction.
9. Récupérer le solide en ajoutant quelques gouttes de méthanol.
10. Transférer la solution dans une boîte de Pétri et la laisser sécher à l'air.

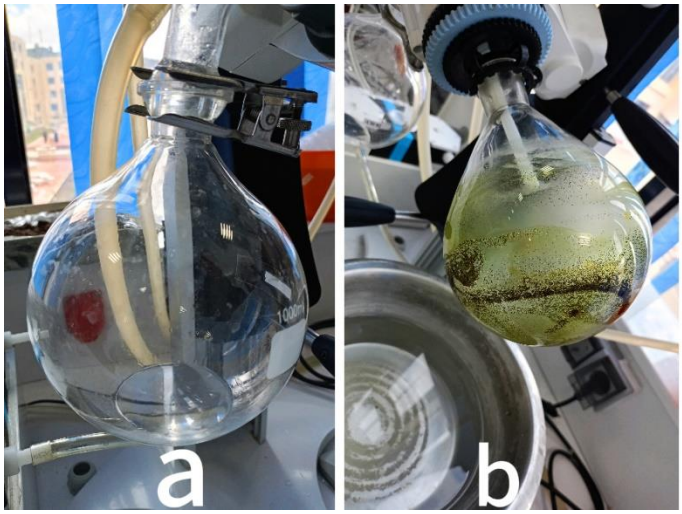


Figure II.30 : a. le solvant éliminer, **b.** le solide récupérer.

C.Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction est le rapport entre la masse d'extraite sec obtenue et la masse de la plante sèche à traiter. Il est exprimé en pourcentage et se calcule selon la formule suivante :

$$R(\%) = (Me/Mm) \times 100$$

Avec :

R (%) : le rendement d'extraction (%).

Me : la masse d'extrait sec obtenue (g).

Mm : la masse de la plant sèche à traiter (g).

II.2.4. Criblage phytochimique :

Le criblage phytochimique est un moyen de mettre en évidence la présence des groupes de métabolites primaires et secondaires dans la partie examinée d'une plante grâce à des réactions qualitative de caractérisation [1].

La Phytochimie qualitative basée sur des réactions colorées ou des précipitations utilisant des réactifs chimiques spécifiques réalisées sur des extraits [2].

- **Matériel requis pour le criblage phytochimique :**

  - Équipement de laboratoire standard (pipette graduée, bécher, cristallisoir, fiole jaugée, micropipette, spatule)
  - Tubes à essai stériles.
  - Thermomètre.
  - Plaque chauffante.
  - Balance analytique.
  - Vortex.

- **Produits requis pour le criblage phytochimique :**

  - L'hydroxyde de sodium NaOH (5%, 10%).
  - Réactif de Fehling.

- Sulfate de cuivre $CuSO_4$ (2%).
- Chlorure de fer (III) $FeCl_3$ (2%).
- L'hydroxyde de potassium KOH.
- Eau distillée.

II.2.4.1. Identifications des métabolites primaires :

A. Test de Fehling (sucres réducteurs) :

- **Procédure :**

1. Dans un tube à essai (stérile), mettre 1 ml du réactif de Fehling préalablement préparé (mélange de 5 ml de solution A et 5 ml de solution B)
2. Ajouter 1 ml d'extrait.
3. Préparer un autre tube à essai, y mettre 1 ml du réactif de Fehling et 1 ml d'eau distillée. Cet échantillon est un tube blanc.
4. Chauffer les deux tubes dans un bain-marie à 100 °C pendant 3 minutes. La formation d'un précipité rouge brique indique la présence de sucres réducteurs [3].

B. Test de Biuret (protéines) :

- **Procédure :**

1. Dans un tube à essai stérile, mettre 5 à 6 gouttes de NaOH (5 %), puis ajouter-y 2 ml de l'extrait.
2. Agiter un peu le tube, puis ajouter 5 à 7 gouttes de $CuSO_4$.
3. Répéter le processus dans un autre tube à essai, mais ajouter 2 ml d'eau distillée à la place de l'extrait. Cet échantillon est un tube blanc.
4. L'apparition d'une couleur rose ou violette indique la présence de protéines [4].

II.2.4.2. Identification des métabolites secondaires :

A. Test de chlorure ferrique (composé phénolique) :

- **Procédure :**

1. Dans un tube à essai, verser quelques gouttes de $FeCl_3$ (2%), puis ajouter 2 ml d'extrait.
2. Dans un autre tube, mettre quelques gouttes de $FeCl_3$ (2%) avec 1 ml d'eau distillée (tube blanc)
3. L'apparition de la couleur verte bleue foncée indique la présence des polyphénols [5].

B. Coumarines :

- **Procédure :**

1. Ajouter dans un tube à essai 2 ml d'extrait avec 3 ml de solution de NaOH (10%).
2. Dans un autre tube à essai, répéter les mêmes étapes en remplaçant l'extrait par de l'eau distillée.
3. La formation de couleur jaune indique la présence des coumarines [6].

C. Tanins :

- **Procédure :**

La détection des tanins est réalisée en procédant comme suit :

1. Tout d'abord, mettre 1 ml de l'extrait dans un tube à essai.
2. Ajouter ensuite quelques gouttes de $FeCl_3$.
3. Répéter le même processus pour le tube blanc (mettre de l'eau distillée à la place de l'extrait).
4. L'apparition de la couleur verte à bleu-noir indique la présence de tanins galliques, et la couleur brun verdâtre indique la présence de tanins catéchiques [7].

D. Glysides de flavonoïdes :

- **Procédure :**

1. Procurer-vous deux tubes à essai stériles et mettre 1 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) dans chacun des tubes.
2. Ajouter 1 ml d'extrait dans le premier tube et 1 ml d'eau distillée dans le deuxième tube.
3. L'apparition d'une coloration jaune indique la présence des flavonoïdes glycosides [4].

E. Flavonoïdes :

- **Procédure :**

1. Obtenir deux tubes à essai stériles.
2. Placer 1 ml d'extrait dans le premier tube et 1 ml d'eau distillée dans le deuxième tube.
3. Ajouter 1 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) dans les deux tubes.
4. Mélanger les deux tubes à l'aide d'un vortex.
5. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes [4].

II.2.5. Caractéristiques organoleptiques des composés phénoliques :

Pour les tests organoleptiques des composés phénoliques, concentrez-vous sur les aspects suivants :

- **La couleur :** Afin de distinguer la couleur des composés phénoliques, nous avons placé l'extrait dans un tube à essai, en notant la couleur de l'échantillon, son pigment et sa teinte.
- **L'odeur :** Pour détecter l'odeur caractéristique des composés phénoliques, nous les sentons attentivement (en tenant compte de la toxicité des solvants chloroforme/méthanol) et les comparons à l'odeur de la plante avant la macération.
- **Aspect :** dépend de la précision de l'observation, car nous assurons la présence d'éléments ou de dépôts dans l'échantillon, ce qui fournit des indications sur la qualité et la pureté d'un composé phénolique.

II.2.6. Lavage des pigmentes des composés phénoliques :

A. Matériel et produits requis pour le lavage des pigments des composés phénoliques :

- Ampoule à décanter.
- Éprouvette graduée.
- Support.
- Solution extraite (le macérât).
- Solution d'hexane.

B. Procédure :

1. Placer dans une ampoule à décanter 10 ml d'extrait (le macérât).
2. Ajouter 30 ml d'hexane.
3. Agiter le mélange vigoureusement.
4. Laisser reposer le mélange jusqu'à ce que deux phases (non miscibles) distinctes se forment.
5. Ouvrir le robinet de l'ampoule à décanter et séparer chaque phase individuellement.

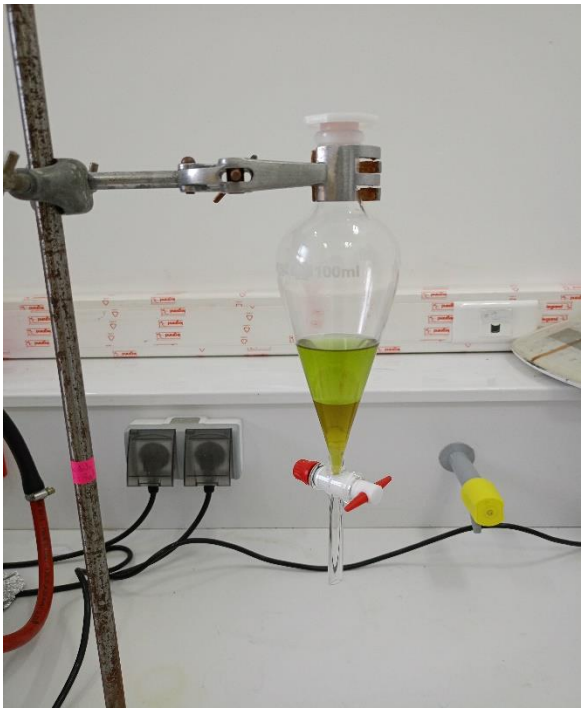


Figure II.31: Processus de Lavage des pigmentes des composés phénoliques.

II.2.7. Dosage des composés phénoliques :

- **Matériel requis pour le dosage des composés phénolique :**

- Micropipette.
- Tube à essai.
- Spectrophotomètre uv-visible.
- Bain-marie.
- Pipette graduée.

- **Produits requis pour le dosage des composés phénolique :**

- Extrait (obtenu après le lavage des pigmentes).
- L'eau distillée.
- Folin 10%.
- Carbonate de sodium Na_2CO_3 7,5%.
- Aluminum chloride hexahydrate $AlCl_3$-$6H_2O$ 3,6%.
- Acide gallique.
- La rutine.

II.2.7.1. Dosage des polyphénols totaux :

A. Principe :

Les polyphénols totaux sont analysés quantitativement dans les différents extraits en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu [8]. Le réactif Folin-Ciocalteu est un acide jaune, est composé d'un mélange d'acide phospho-tungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Lorsque les polyphénols sont oxydés, ils réduisent le réactif Folin-Ciocalteu en un complexe bleu composé d'oxyde de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}) [9]. La couleur produite, dont l'absorption maximale est d'environ 760-765 nm, est directement proportionnelle à la quantité de polyphénols totaux présents dans les extraits végétaux [10]. Le phénol standard utilisé dans cette méthode et l'acide gallique.

B. Procédure :

La teneur totale en composés phénolique a été identifiée par le protocole suivant :

1. Utilisez une micropipette pour prélever 100 microlitres de l'extrait (obtenu après le lavage des pigments) et transférez-le dans un tube à essai.
2. Ajoutez ensuite 200 microlitres de solution de Folin 10% (très sensible à la lumière) et assurez-vous de bien mélanger.
3. Ajoutez ensuite 2 ml d'eau distillée et 1 ml de Na_2CO_3 dans le tube à essai.
4. Répétez les étapes précédentes dans trois tubes à essais.
5. Incubez le mélange à l'abri de la lumière à température ambiante pendant environ 30 minutes jusqu'à ce qu'il prenne une couleur bleue.
6. Après l'incubation, mesurez l'absorbance de la solution à une longueur d'onde 760 nm [11].

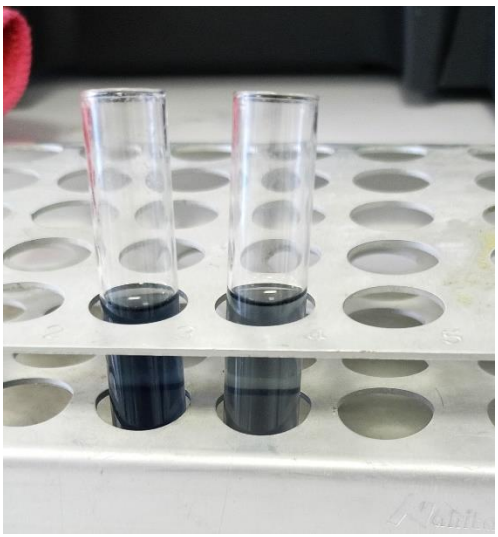


Figure II.32: La couleur visible dans le dosage des polyphénols.

II.2.7.2. Dosage des flavonoïdes :

La méthode utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les différents extraits est la méthode du trichlorure d'aluminium.

A. Principe :

Les flavonoïdes ont un groupe hydroxyle (OH) libre en position 5, ce qui peut former un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) en présence du groupe (CO). Ce complexe, lorsqu'il se forme avec l'aluminium, généralement sous forme de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), confère à la solution une teinte jaunâtre qui absorbe la lumière visible à une longueur d'onde de 420 nm [12,13].

B. Procédure :

La teneur en flavonoïde a été identifiée par le protocole suivant :

1. Utilisez une micropipette pour prélever 60 microlitres d'extrait (après le lavage des pigments) et transférez-le dans un tube à essai.
2. Ajoutez ensuite 1,44 ml d'eau distillée et 1,5 ml d'$AlCl_3.6H_20$ 3,6% au tube contenant l'extrait, puis mélangez soigneusement.
3. Laissez incuber le mélange à l'abri de la lumière à température ambiante pendant environ 15 minutes.
4. Après l'incubation, mesurez l'absorbance de la solution à une longueur d'onde de 430 nm [11].

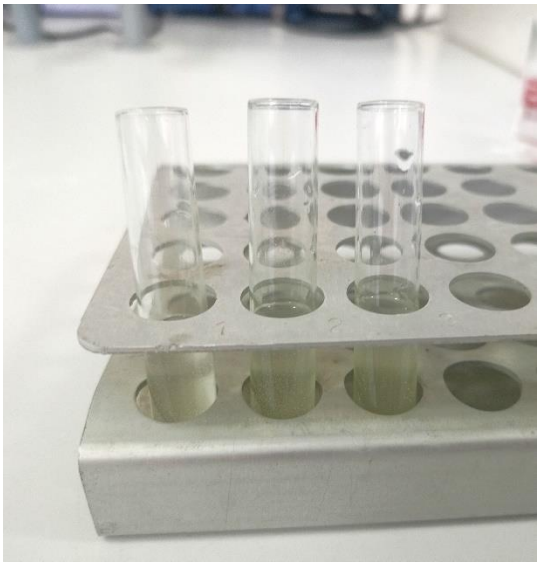


Figure II.33: La couleur visible dans le dosage des flavonoïdes.

II.2.8. Caractérisation de l'huile extraite :

Les huiles essentielles doivent répondre à des caractéristiques analytiques établis par des commissions d'experts nationales et internationales. Selon les normes, chaque huile est évaluée en fonction de ses caractéristiques organoleptiques et de ses propriétés physico-chimiques pour déterminer sa qualité [14].

II.2.8.1. Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle. Notre étude s'est concentrée pour tester quatre paramètres clés : l'aspect la texture la couleur et l'odeur.

- **L'aspect :** Pour évaluer l'aspect, on place l'huile dans un tube à essai et on observe la pureté de l'huile essentielle en la regardant à la lumière. On note si l'huile essentielle est claire, trouble ou contient des particules en suspension.
- **La texture :** pour évaluer la texture, on touche directement l'huile et on note tout changement dans sa consistance.
- **La couleur :** pour déterminer la couleur, les échantillons sont disposés sur des assiettes blanches afin d'accentuer le contraste et permettre une évaluation visuelle claire.

- **L'odeur :** pour évaluer l'odeur, on sent les échantillons et on les compare à l'odeur de l'huile avant le processus d'extraction. On peut également les comparer à des parfums bien connus pour mieux identifier les nuances d'odeur.

II.2.8.2. Caractérisation physique :

A. La densité relative :

La densité relative d'une huile essentielle à 20 °C est définie comme le rapport entre la masse d'un certain volume de cette huile essentielle à 20 °C et la masse du même volume d'eau distillée à la même température.

- **Matériel requis :**

- Balance analytique.
- Pycnomètre.
- Bécher graduée.
- Pipette graduée.
- Échantillon d'huile de lavandula angustifolia.

- **Procédure :**

1. Nettoyez méticuleusement le pycnomètre en le rinçant avec l'eau distillée, puis assurez-vous de le sécher complètement.
2. Procédez à une pesée précise du pycnomètre vide et enregistrez cette mesure.
3. Remplissez partiellement le pycnomètre avec l'eau distillée, en veillant à éliminer toutes les bulles d'air.
4. Placez le pycnomètre à température ambiante et laissez l'eau distillée s'équilibrer thermiquement. Veillez à maintenir une température stable tout au long du processus.
5. Complétez le remplissage du pycnomètre avec le liquide jusqu'à ce qu'il dépasse légèrement. Ensuite, éliminez délicatement l'excès de l'eau à la surface du pycnomètre.
6. Remettez le pycnomètre à température ambiante et laissez-le équilibrer pendant un certain temps pour s'assurer que la température est uniforme.
7. Effectuez une pesée précise du pycnomètre rempli de liquide et enregistrez cette mesure.
8. Videz le pycnomètre de l'eau distillée et assurez-vous de bien le sécher.

9. Assurez-vous que le pycnomètre est complètement rempli avec l'huile extraite, puis le laisser reposer à température ambiante jusqu'à ce que sa température soit stable. Ensuite, procédez à une pesée précise du pycnomètre rempli d'huile et enregistrez cette mesure.
10. Une fois que vous avez mesuré les masses du pycnomètre vide, du pycnomètre rempli d'eau distillée et du pycnomètre rempli d'huile extraite, vous pouvez calculer la densité relative en utilisant la formule suivante :

$$D^{20} = (m_2 - m_0)/(m_1 - m_0)$$

Avec :

D^{20} : La densité relative.

m_0 : La masse de pycnomètre vide.

m_1 : La masse de pycnomètre rempli d'eau distillée.

m_2 : LA masse de pycnomètre rempli d'huile extraite.

B. La viscosité :

L'un des moyens les plus courants de mesurer la viscosité consiste à utiliser un viscosimètre.

- **Matériel requis :**

- Bécher.
- Viscosimètre.
- Thermomètre.
- Échantillon d'huile de lavandula angustifolia.

- **Préparation de l'échantillon :**

1. Peser soigneusement la quantité d'huile de lavande nécessaire à l'analyse.
2. Transférer l'huile dans un bécher ou un flacon gradué.

- **Préparation du viscosimètre :**

1. Nettoyer soigneusement le viscosimètre, puis assurez-vous de le sécher complètement.

2. Régler la température du viscosimètre selon les instructions du fabricant. La viscosité peut varier en fonction de la température, il est donc important de mesurer à une température spécifiée.

- **Mesurer de la viscosité :**

1. Remplir le viscosimètre avec de l'huile de lavande jusqu'au niveau spécifié.
2. Régler le chronomètre au moment où vous commencer à mesurer la viscosité.
3. Surveiller le mouvement de l'huile à travers les capillaires pour mesurer la viscosité.
4. Arrêter le chronomètre lorsque l'huile atteint le repère spécifié sur le viscosimètre.
5. Le temps écoulé représente la viscosité de l'huile de lavande.

C. Le potentiel hydrogène pH :

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH-mètre selon le protocole suivant.

- **Matériel requis :**

- Bécher.
- pH-mètre.
- Solution tampon.
- Échantillon d'huile de lavandula angustifolia.

- **Procédure :**

1. Calibrer le pH-mètre en utilisant des solutions tampon.
2. Après calibrage, nettoyer les électrodes avec de l'eau distillée.
3. Verser une quantité adéquate de l'échantillon dans le récipient de mesure.
4. Plonger l'électrode dans l'échantillon.
5. Lire la valeur du pH affichée sur l'écran de l'appareil.

D. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction (changement de direction de la lumière au passage d'un milieu à un autre) d'une huile essentielle est défini comme le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux spécifique, lorsqu'il passe de l'air à cette huile maintenue à une température constante.

- **Matériel nécessaire :**

- Réfractomètre.
- Bain-marie.
- Thermomètre.

- Echantillon d'huile de Lavandula angustifolia.
- Pipette pasteur en verre pour prélever l'échantillon.
- Papier absorbant pour nettoyer le réfractomètre.

- **Calibrage du réfractomètre :**

1. Assurez-vous que le réfractomètre est propre et calibré selon les instructions du fabricant.
2. Utilisez un liquide de référence pour calibrer le réfractomètre afin d'obtenir des mesures précises

- **Mesure de l'indice de réfraction :**

1. Prélevez une petite quantité d'huile de Lavandula angustifolia à l'aide d'une pipette pasteur.
2. Placez-le dans un tube à essai puis placez-le dans un bain-marie à 20 °C
3. Déposez soigneusement l'échantillon d'huile sur la plaque de mesure du réfractomètre.
4. Fermez le couvercle du réfractomètre pour éviter toute interférence de lumière extérieure.
5. Lisez l'indice de réfraction sur l'échelle du réfractomètre.
6. Nettoyez la plaque de mesure du réfractomètre avec du papier absorbant imbibé d'alcool entre chaque mesure pour éviter toute contamination.
7. Répétez les étapes 2 à 3 fois pour obtenir une moyenne fiable de l'indice de réfraction de l'huile de Lavandula angustifolia [15].

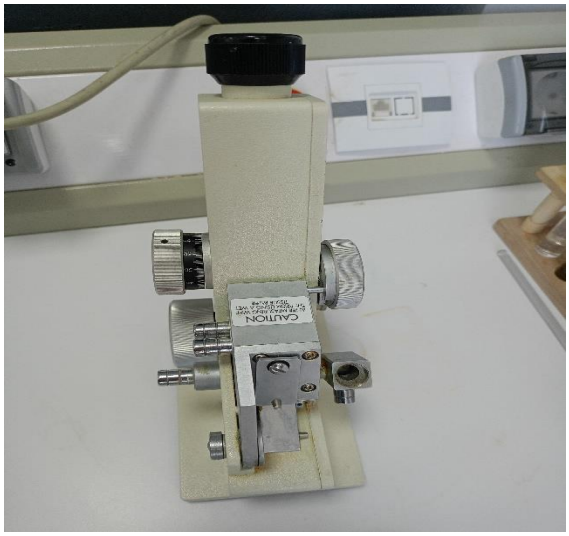


Figure.II.34 : Réfractomètre CAUTION.

II.2.8.3. Caractérisation chimique

- **Matériel nécessaire :**

- Bécher.
- Pipette graduée.
- Erlenmeyer de 250 ml.
- Cristallisoir.
- Balance analytique.
- Plaque chauffante.
- Barreau magnétique.
- Thermomètre.
- Burette graduée.

- **Produits nécessaires :**

- L'huile de lavandula angustifolia.
- Solvant (d'éthanol 95% et d'éther).
- Hydroxyde de potassium KOH 0,5 M.
- Phénolphtaléine.
- Chlorure d'hydrogène HCl 0,5 M.

A. Indice de saponification IS :

L'indice de saponification (IS) est une mesure qui indique la quantité de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire pour saponifier 1 gramme de matière grasse, d'après les réactions :

RCOOH + KOH → RCOOK + H2O (réaction à froid)

RCOOR´ + KOH → RCOOK + R´OH (réaction à chaud)

En général, les huiles végétales ont un indice de saponification compris entre 190 et 200. Un indice plus élevé est associé à des glycérides formées d'acides gras de faible poids moléculaire. Cette valeur est précieuse pour estimer le poids moléculaire et prévoir la longueur moyenne des chaînes d'acides gras [16].

- **Procédure :**

1. Apportez un bécher stérilisé et séché et mettez-y 1 gramme de corps gras (huile de lavadula angustifolia). Ajoutez 3 ml de solvant (d'éthanol à 95 % et d'éther) et agitez vigoureusement.
2. Versez le contenu du bécher dans un erlenmeyer stérilisé de 250 ml.
3. Rincez le bécher avec quelques gouttes de solvant pour récupérer toute la matière grasse.
4. Ajoutez 25 ml de KOH alcoolique et fermez correctement l'erlenmeyer.
5. Procurez-vous un autre erlenmeyer et versez-y 25 ml de KOH et 3 ml de solvant, puis fermez correctement l'erlenmeyer. Cet échantillon constitue un témoin.
6. Chauffez les deux solutions dans les erlenmeyers au bain-marie à une température de 100 °C pendant 30 minutes.
7. Laissez refroidir les erlenmeyers jusqu'à la température ambiante et ajoutez-y quelques gouttes de phénolphtaléine (coloration rose).
8. Effectuez le processus de titrage en même temps et dans les mêmes conditions en titrant avec HCI jusqu'à la disparition de la couleur rose (répéter le même processus pour la solution de témoin).
9. Noter les volumes d'HCI versés pour chacun des deux tests [15].

- **Expression des résultats :**

$$IS = ((V_T - V_E) \times C_{HCl} \times M_{KOH}/m$$

Avec :

IS : Indice de saponification.

V_T : Volume d'HCl versé, témoin (ml).

V_E : Volume d'HCl versé, essai (ml).

C_{HCl} : Concentration de la solution d'acide chlorhydrique (mol /L).

M_{KOH} : Masse molaire du KOH (56,1 g/mol).

m : Masse d'huile de lavandula angustifolia (g).

B. Indice d'acide IA :

L'indice d'acide IA indique combien de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) sont nécessaires pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de matière gras. Cet indice fournit une estimation de la teneur en acides gras libres. Le concept repose sur un dosage acido-basique, qui implique la neutralisation à travers la réaction suivante :

RCOOH + KOH → RCOOK + H2O (réaction à température ambiante)

- **Procédure :**

1. Mesurer précisément 2 ml d'huile et les transférer dans un bécher.
2. Verser délicatement 6 ml de solution alcoolique de KOH 0,5 N dans le bécher et agiter vigoureusement pendant 30 secondes.
3. Ajouter deux gouttes de phénolphtaléine dans la solution.
4. Titrer l'excès de KOH en utilisant une solution d'acide chlorhydrique 0,5 N.
5. Préparer deux témoins en ajoutant 6 ml de KOH dans des béchers et noter le volume (VT) [15].

C. Indice d'ester IE :

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour saponifier les acides gras liés sous forme d'ester présents dans un gramme de corps gras, d'après la réaction :

RCOOR´ + KOH → RCOOK + R´OH (réaction à chaud)

Cet indice est donné par la différence entre l'indice de saponification et l'indice d'acide, et est calculé selon la formule suivante :

$$IE = IS - IA$$

Avec :

IE : indice d'ester.

IS : indice de saponification.

IA : indice d'acide.

II.3. Activité biologique :

II.3.1. Activité antioxydante :

A. Le test de piégeage du radical 2,2-diphényl-1-pikrylhydrazyl (DPPH) :

L'activité antioxydante d'un composé est sa capacité à inhiber l'oxydation, et plusieurs techniques sont employées pour l'évaluer. Le radical DPPH est souvent utilisé pour évaluer l'activité antiradicalaire des extraits végétaux.

La capacité des extraits à piéger les radicaux libres a été testée par le test de piégeage des radicaux DPPH. La capacité de donneur d'atomes d'hydrogène des extraits végétaux a été déterminée par la décoloration d'une solution méthanolique de 2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Le DPPH produit une couleur violet/violet dans une solution de méthanol et passe à des nuances de couleur jaune en présence d'antioxydants.

- **Matériel et produit requis :**

- Les tubes à essais.
- Pipette graduée, micropipette, bécher, balance analytique.
- L'appareil de spectrophotomètre.
- Solution de DPPH.
- Solution de méthanol.
- Les échantillons (l'extrait phénolique et l'huile essentielle).

- **Procédure :**

Une solution de DPPH dans du méthanol a été préparée en mélangeant 2.4 mg de DPPH avec 100 ml de méthanol. Ensuite, 1.8 ml de cette solution ont été combinés avec 0.2 ml d'extraits (phénoliques pour le premier essai et huile essentielle pour le deuxième essai) dans du méthanol à différentes concentrations. Après agitation vigoureuse, le mélange a été laissé dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes. Ensuite, l'absorbance du mélange a été mesurée à 517 nm par spectrophotométrie. L'expérience a été répétée deux fois à chaque concentration [11].



Figure II.35 : le changement de couleur du DPPH lors de la réaction avec l'extrait.

- **Expression des résultats :**
- **Calcul des pourcentages d'inhibition :**

Les résultats peuvent être représentés comme une activité anti-radicalaire, mesurée par l'inhibition des radicaux libres en pourcentage (Ih%), selon la formule suivante :

$$\mathbf{Ih\%} = ((\mathbf{AC} - \mathbf{AE})/\mathbf{AE}) \times 100$$

Avec :

Ih % : pourcentage d'inhibition.

AC : l'absorbance de la solution DPPH.

AE : l'absorbance de l'échantillon.

- **Calcul des IC_{50} :**

Les valeurs des concentrations inhibitrices nécessaires pour le piégeage et la réduction de 50% de moles du radical libre DPPH (IC_{50}) sont déterminés par des régressions linéaires des graphiques montrant les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées. Plus la valeur d'IC_{50} est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande.

B. Le test de la réduction de fer (FRAP) :

Le pouvoir réducteur d'un extrait est lié à son pouvoir antioxydant. Cette technique a été développée pour mesurer la capacité des extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Le fer ferrique est initialement jaune mais devient bleu lorsqu'il est réduit en présence d'atomes d'électrons. Le changement de couleur du jaune au bleu est proportionnel à l'activité antioxydante.

- **Matériel et produits nécessaires :**

- Les tubes à essais.
- Pipette graduée, micropipette, erlenmeyer, bécher, balance analytique.
- Les échantillons (l'extrait phénolique et l'huile essentielle).
- Solution tampon phosphate de sodium.
- Solution de ferricyanure de potassium 1%.
- Solution d'acide trichloroacétique (TCA) 10 %.
- Solution de $FeCl_3$ à 0,1 %.
- Eau distillée.

- **Procédure :**

Le test de la réduction de fer (FRAP) est effectué selon le protocole suivant : 0,1 ml d'extraits (phénoliques pour le premier essai et huile essentielle pour le deuxième essai) a été combiné avec 2 ml de tampon phosphate de sodium 200 mM (pH 6,04) et 2 ml de solution contenant 1% de ferricyanure de potassium. Ensuite, le mélange a été incubé à 50 °C pendant 30 min. 0,2 ml d'acide trichloroacétique (TCA) à 10 % ont été ajoutés, suivi d'une centrifugation à 3 000 x g pendant 10 min. Une portion de 2 ml a été prélevée avec soin de la couche supérieure, mélangée avec 0,2 ml d'eau distillée et 0,4 ml de solution de $FeCl_3$ à 0,1 %. L'absorbance du mélange a été mesurée à 700 nm par rapport à un blanc réactif [11].

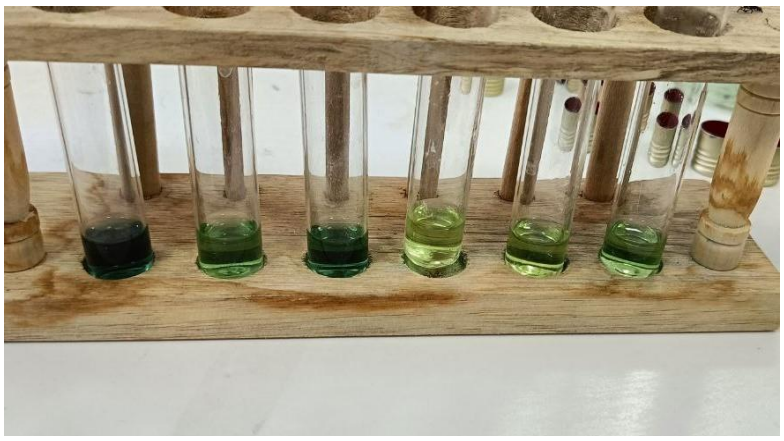


Figure II.36 : le changement de couleur du FRAP lors de la réaction avec l'extrait.

II.3.2. Activité antibactérienne :

- **Méthode de diffusion :**

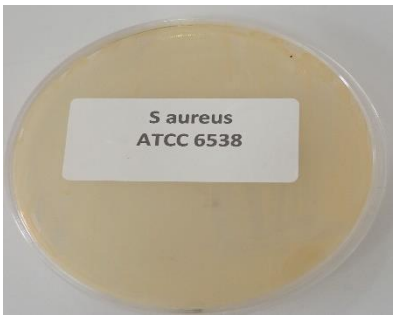
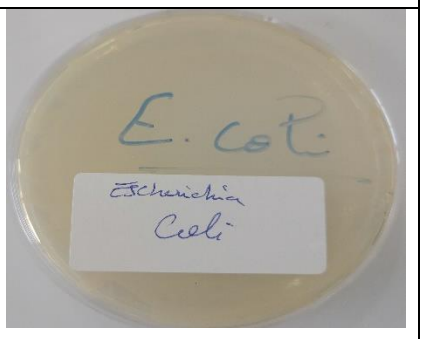
Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de Lavandula angustifolia Mill, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé

Principe :

La méthode fonctionne en diffusant le composé antimicrobien dans un milieu solide dans une boîte de Pétri, créant ainsi un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. On interprète les zones d'inhibition en utilisant une règle basée sur les diamètres, ce qui permet de classer les germes en sensibles, intermédiaires ou résistants [17].

Les souches bactériennes sélectionnées sont présentées dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Référence et origine des souches bactériennes utilisées.

	Souches	Référence	Origine	
Gram$^+$	Staphylococcus aureus	**ATCC6538**	SAIDAL-Médéa	
	ST. Sap10pyk	**AB42**	Laboratoire médi-cal SHEFA Médéa	
Gram$^-$	Escherichia coli	**NAR (** Nalidixic Acid resistant**) E47** résistant au céfotaxime **ATC**	SAIDAL-Médéa	
	S typhimurium	**ATCC 14028**	SAIDAL-Médéa	

A. **Milieux de culture :**

Dans ce travail, nous avons utilisé les milieux des cultures suivants :

- ❖ Gélose nutritive pour les souches bactériennes.
- ❖ Gélose Muller Hinton pour la réalisation de l'antibiogramme et l'activité antibactérienne.

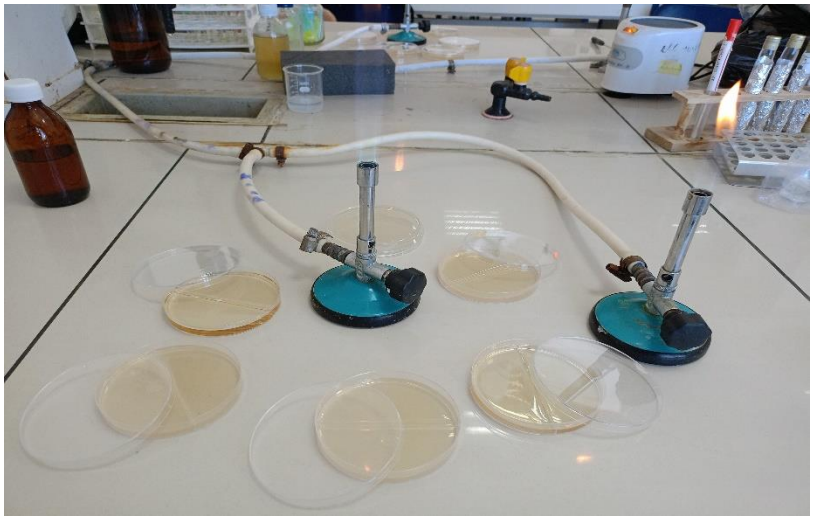


Figure II.37 : La gélose de Muller Hinton.

B. **Stérilisation du matériel :**

- L'eau distillée était stérilisée.
- Les tubes à essai utilisés dans la préparation des solutions bactériennes ont été stérilisés à sec dans un four pasteur.
- La gélose nutritive ont été stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 minutes.

C. **Préparation des concentrations des extraits :**

Les extraits de la plante (l'extrait des composés phénoliques obtenus après évaporation et l'huile essentielle obtenu après l'extraction) ont été dissous dans du diméthyl sulfoxyde DMSO (C_2H_6OS) pour les extraits bruts dans l'eau distillée afin de préparer les différentes concentrations d'huile essentielle sont les suivantes (1; 0.5; 0.25; 0.125 mg/ml) ,Et aussi les concentrations de composés phénoliques (5.618 ;1.124 ;0.225 ;0.045 mg /ml) avec des dilutions successives, sachant que la concentration de la solution mère de chaque extrait est de 1 g/ml.

D. **Préparation de l'inoculum :**

Les souches bactériennes sont placées en culture dans des bouillantes nutritives et incubées à une température de 37°C pendant 24 heures, avec une opacité de 0,5 Mc Farland.

E. **Ensemencement :**

Dans un délai de 15 minutes après avoir ajusté la turbidité de l'inoculum, un écouvillon a été plongé dans la suspension et utilisé pour étaler uniformément la gélose Muller Hinton pour les souches bactériennes. La boîte a été tournée à environ 60 degrés après chaque application pour assurer une répartition égale de l'inoculum. Ensuite, le bord de la surface de la gélose a été écouvillonné.

A l'aide d'une micropipette ont été déposés avec précaution 20µl de différentes solutions d'extraits à des concentrations croissantes. Les boîtes ont ensuite été incubées à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes. Enfin, la lecture des résultats s'est faite en mesurant le diamètre, en millimètres, de la zone d'inhibition après une incubation de 24 heures à 37°C.

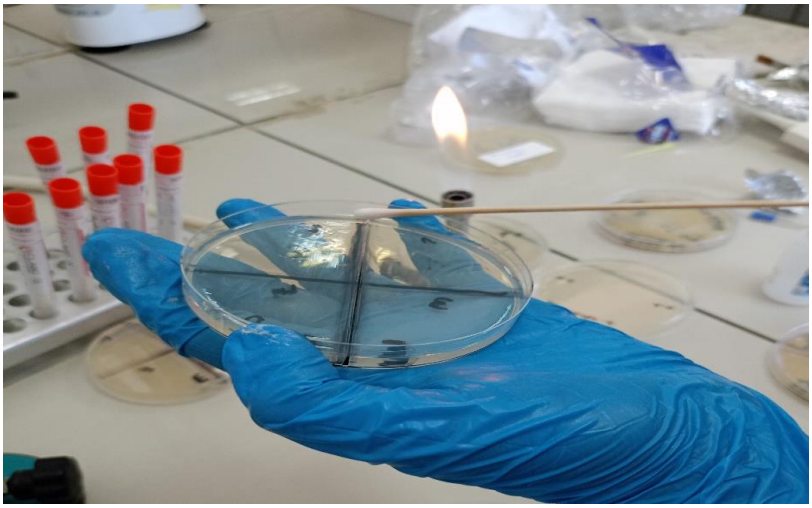


Figure II.38 : Le processus de l'ensemencement.

F. **Lecture :**

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques à l'aide d'un pied à coulisse après 24 h d'incubation à 37°c. Les résultats sont indiqués par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être représentés par des symboles en fonction de la sensibilité des souches aux extraits [18].

La bactérie est classée dans l'une des catégories suivantes :

- 6mm < x < 7mm Résistante (-).
- 7mm < x < 8mm Intermédiaire (+).
- 8mm < x < 9mm Sensible (++).
- x > 9mm Très sensible (+++).

II.4. Formulation de crème :

A. Matériels et produits :

- Pipette de 5 ml.
- Bécher de 25ml.
- Homogénéisateur.
- Echantillon de l'HE de lavandula officinalis.
- Biosurfactant twin 80.
- Eau distillée.

B. Procédure :

1. Ajoutez 11 ml d'eau distillée dans un bécher.
2. Ajoutez ensuite 4 ml de Biosurfactant twin 80 et remuez bien jusqu'à obtenir un mélange homogène.
3. Ajoutez 5 ml d'huile essentielle au mélange et mélangez à l'aide d'un homogénéisateur.
4. Continuez à mélanger jusqu'à ce que le mélange devienne crémeux au toucher.
5. Ensuite, versez une petite quantité du mélange crémeux dans de l'eau distillée et notez si le mélange est homogène ou hétérogène.

Les références bibliographiques II:

[1]: Haoulia Amina, (2015), Tests phytochimiques, dosage et recherche d'effet hémolytique des polyphenols totaux extraits de la partie aérienne d'Ammoïdes verticillata, Mémoire En vue de l'obtention du diplôme Master en biologie, université abou bekr balkaid, p21.

[2]: Mohammedi, Z, (2013). Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat." Substances naturelles, Activités Biologiques et Synthèses". Université Abou BekrBelkaid - Tlemcen, p.52.

[3] : El Yahyaoui O, Ait Quaaziz N, Guinda I, Sammama A, Kerrouri S. Bouabid B, El Bakkall M. Quyou A, Lrhorfi A, Bengueddour R. (2017). Phytochemical screening and thin layer chromatography of two medicinal plants: Adansoniadig-itata (Bombacaceae) and Acacia raddiana (Fabaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry .6(1): 10-15.

[4]: Cherfia R. Kara Ali M, Talhi I, Benaissa A, Kacem Chaouche N (2017). Phytochemical analysis, antioxidant and antimi-crobial activities of leaves and flowers ethyl acetate and nbutanol fractions from an Algerian endemic plant Calycotome spinose (L.). Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy.9 (12):185-196. DOI: 10.5897/JPP2017.0471.

[5]: N'guessan K., Kadja B., Zirihi G., Traoré D., Aké-Assi.L. (2009). Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). Sciences & Nature. 6 (1): 115. http://dx.doi.org/10.4314/scinat.vbi1.48575.

[6]: Bekro Y-A, Mamyrbekova J. Boua BB, Bi FT. Ehile EE. (2007). Étude ethnobotanique et screening phytochimique de Caesalpinia benthamiana (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpiniaceae). Sciences & Nature. 4(2): 217-225.

[7]: Qnais E A, Elokda A S. Abu Ghalyun YY & Abdulla F A. (2008). Antidiarrheal Activity of the Aqueous Extract of Punica granatum. (Pomegranate) Peels. Pharmaceutical Biology 45 (9). DOI:https://doi.org/10.1080/13880200701575304.

[8]: Singleton, V. L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299: 152-178. doi: 10.1016/s0076-6879(99)99017-1

[9]: Bonnaillie, C., Salacs, M., Vassiliova, E. & Saykova, I. (2012). etude de l'extraction de composés phénoliques a partir de pellicules d'arachide (Arachis Hypogaea L.). Revue de Génie Industriel, 7:35-45. En Ligne: Http://Www.RevueGenie-Industriel.Info

[10]: Boizot, N. & Charpentier, J.P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. Le Cahier Des Techniques De l'Inra, 79-82.

[11]: Hadjira guenane antibacterial, antioxydant activities and mineral content from the algerian medicinal plants (article in scientific study and research: chemistry and chemical engineering july 2020).

[12]: Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of food and drug analysis, 10(3): 178-182.

[13]: Khelef, Y., Chouikh, A., Rebiai, A., Neffar, S., Chefrour, A., Adjal, E.H. & Alia, F. (2019). Biochemical, quantitative and qualitative phenolic compounds, anti-free radical's activities of Calligonum comosum collected from different sites in the Algerian Desert. BIHAREAN BIOLOGIST. 13(2): 71-76.

[14] : H. Laama., étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de Petroselinum Sativum de la région d'Ain Defla, mémoire de master, université Djilali Bounaama Khemis Miliana, 2015.

[15] : Norme des indices: organisation mondiale de la santé programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires comité du codex sur les grasses et les huiles essentielles mars 2017.

[16] : Bousdira, K.H. (2000). Contribution à l'étude de l'activité oléicole dans la wilaya de Jijel: proposition d'une démarche pour l'amélioration de la qualité de l'huile d'olive. Thèse de magistère en Technologie Alimentaire, université de Jijel, Algérie. 102 p.

[17]: Biondi, D., Cianci, P., Geraci, C., Ruberto, G., & Piattelli, M. (1993). Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Sicilianaromatic plants Flavour and fragran ce journal, 8(6), 331-337.

[18]: Gómez-Caravaca AM. Gomez-Romero M. Arraez-Roman D. Segura-Carretero A. Fernandez-Gutierrez A. Avancées dans l'analyse des composés phénoliques dans les produits dérivés des abeilles. J.Pharmac. Biomed.Analy., 2006, 41:1220-1234.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.I. Taux d'humidité :

Le test d'humidité est réalisé afin d'estimer la teneur en humidité de la plante testée et de déterminer le temps nécessaire pour son séchage. La teneur en humidité est cruciale lors de l'extraction des polyphénols, car une humidité excessive peut entraîner la dégradation des antioxydants.

Tableau III.1 : La masse et le taux d'humidité de la plante de lavandula angustifolia Mill.

t(min)	0	5	10	15	20	25	30
la masse g	50	38,26	31,74	28,45	27,02	25,17	25,16
taux H %	0	23,48	36,52	43,1	45,96	49,66	49,68

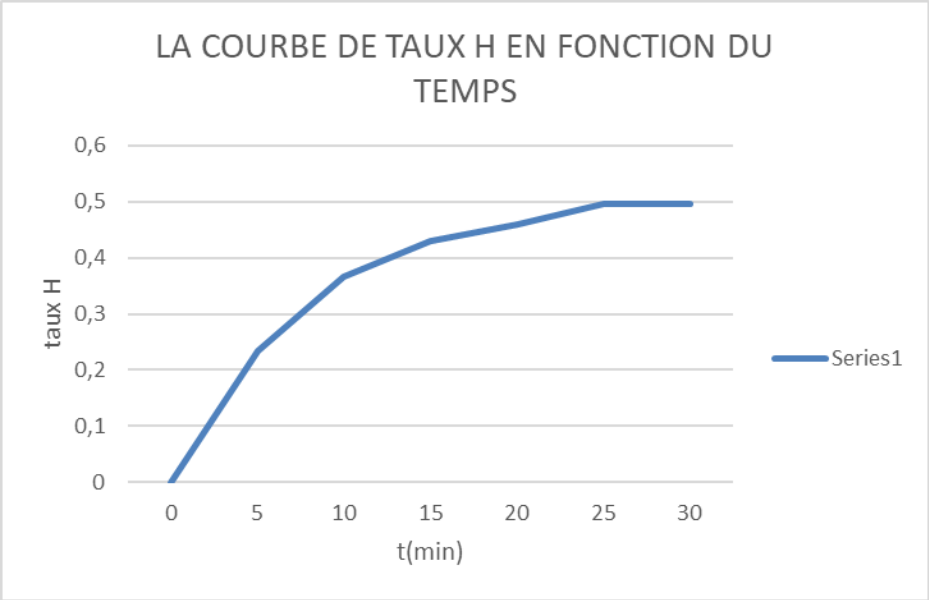


Figure III.1 : le taux d'humidité en fonction du temps.

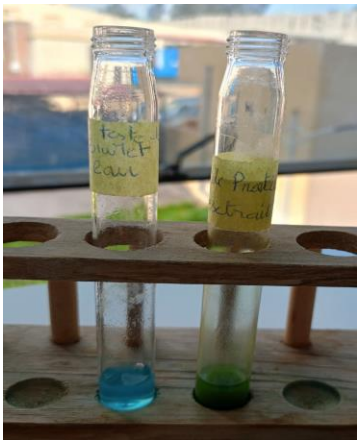
Après avoir observé la courbe présentée dans la figure III.1, nous remarquons que le taux d'humidité de Lavandula angustifolia Mill augmente avec le temps jusqu'à se stabiliser à

une valeur de 49,68 %. L'analyse de l'échantillon de la plante Lavandula angustifolia Mill a révélé un taux d'humidité important de 49,68 % et un taux de matière sèche de 50,32 %. Cela signifie que cette plante contient une quantité d'eau.

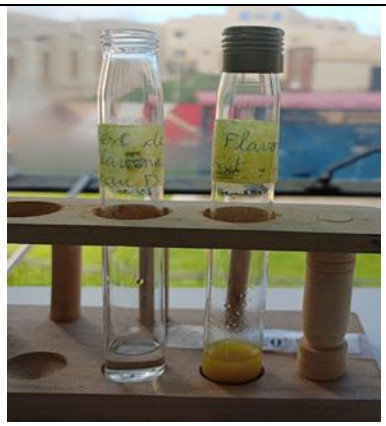
III.2. Criblage phytochimique :

L'évaluation préliminaire de la composition phytochimique de la plante L.angustifolia Mill. Cette évaluation a impliqué la détection des métabolites primaires et secondaires à l'aide de tests spécifiques adaptés à chaque groupe chimique. Pour valider les résultats, des standards ont été utilisés et la confirmation s'est parfois faite par changements de couleur. Les résultats de ces tests phytochimiques sont synthétisés dans le tableau suivant (tableau III.2).

Tableau III.2 : Criblage phytochimiques de la plante L. angustifolia Mill.

Test et groupe phytochimique	Résultats	Résultats observés
Fehling (sucres)	Rouge brique (+)	
Protéines	Rose au voillet (-)	

Test au chlorure ferrique (polyphénols)	Verte bleu foncée (+++)	
Tannins galliques, Tannins catéchiques	Bleu noir (++) Brun verdâtre (-)	
Coumarines	Jaune (+++)	

Flavonoïdes	Jaune (+++)	
Glysides de flavonoïdes	Jaune (++)	

- : Test négatif.

+ : Test faiblement positif.

++ : Test positif.

+++ : Test fortement positif.

Le tableau présente les résultats du criblage phytochimique qui révèlent la présence de divers groupes de métabolites primaires et secondaires dans L. angustifolia Mill.

Les résultats du criblage phytochimique indiqués dans le tableau III.2 démontrent la présence de divers groupes de métabolites secondaires dans la plante, notamment les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines et les glysides des flavonoïdes, ainsi que la présence de sucres en tant que métabolites primaires. Ces résultats ont montré que la plante contient une grande quantité de polyphénols, de coumarines et de flavonoïdes, tandis que les sucres, les tanins et les glycosides de flavonoïdes sont présents

mais en faible quantité. En revanche, on remarque l'absence de protéines dans la plante L. angustifolia Mill.

Nos résultats peuvent être comparés à ceux obtenus par [1] sur L. angustifolia, qui ont également révélé la présence de composés phénoliques et de tanins en quantité élevée, ainsi qu'une faible présence de coumarines, flavonoïdes, glysides des flavonoïdes et sucres, avec absence de protéine. Cependant, une étude récente menée par [2] sur la même plante a mis en évidence la présence de tanins galliques et de flavonoïdes libres.

Les différences observées dans les résultats du criblage phytochimique dans les études antérieures sont le résultat de divers facteurs, tels que la période de récolte, la localisation géographique, la partie de la plante utilisée, ainsi que le choix du solvant d'extraction [3].

III.3. Analyse quantitative :

III.3.1. Les tests organoleptiques :

- **L'huile de L. angustifolia Mill :**

Les différentes caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, texture, odeur, transparent) de l'HE de lavandula angustifolia Mill ont été notées et présentés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Caractéristique organoleptique d'huile essentielle de L. angustifolia Mill.

Aspect	Couleur	Texture	Odeur	Transparent
Liquide, mobile, limpide, brillance.	Jaune pâle.	Huileuse, fluide.	Caractéristique, fraiche, florale.	Transparent à légèrement opaque.

- **L'extrait :**

Les différentes caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur) de l'extrait sont présentés sur le tableau III.4.

Tableau III.4 : les caractéristiques organoleptiques d'extrait.

Aspect	Couleur	Odeur
Liquide, mobile, légère.	Vert foncé.	Aromatique, phénolique.

III.3.2. Rendement :

- **Le rendement de l'huile extrait :**

Le rendement de l'huile obtenu à partir de lavandula angustifolia Mill sont présentés sur le tableau III.5.

Tableau III.5 : Rendement en HE de lavandula angustifolia Mill obtenu par hydrodistillation de type clevenger.

Masse de plante (g)	Masse d'HE extrait (g)	Rendement (%)
100	2,58	2,58

Rendement :

$$\mathbf{R = 2.58\%}$$

Les résultats obtenus montrent que Huile essentielle de L.angustifolia Mill présente un rendement importante de 2.58 % d'un poids égale à 100 g de la matière sèche.

Ce résultat est proche de celui trouvé par [2], qui ont utilisé le même protocole d'extraction sur la plante L. angustifolia Mill, estimant le rendement en huile à 2,1 %. Cependant, il est supérieur à celui trouvé par [4] et [5] (1,11 % et 0,5 %, respectivement).

Cette différence des teneurs est probablement due à diverses conditions, notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction.

- **Le rendement de l'extrait des composés phénoliques :**

Le rendement de l'extrait des composés phénoliques de lavandula angustifolia Mill sont présentés sur le tableau III.6.

Tableau III.6 : Rendement en extrait de lavandula angustifolia Mill obtenu par macération.

Masse de plante (g)	Masse d'extrait (g)	Rendement (%)
10	2	20

Rendement :

$$R = 20\,\%$$

Les résultats obtenus indiquent qu'un rendement de 20 % est obtenu lors de l'extraction (solide/liquide) des composés phénoliques à partir de 10 g de matière sèche et broyée.

Ce résultat est significativement plus élevé que celui rapporté par [2], qui a estimé un rendement de 15,82 % pour des extraits Méthanoliques utilisant la même méthode d'extraction mais avec des solvants différents, obtenu à partir d'une plante récoltée en 2023 dans la wilaya de Tébessa.

Les rendements peuvent être impactés par divers facteurs, tels que la composition chimique et les caractéristiques physiques de la matière végétale, ainsi que la méthode et les conditions dans lesquelles l'extraction a été réalisée [6,7].

III.3.3. Les propriétés physiques de l'huile de L.angustifolia Mill :

Les différentes propriétés physiques de l'huile de Lavandula angustifolia Mill sont présentés dans le tableau III.7.

Tableau III.7 : propriétés physiques de l'huile de Lavandula angustifolia Mill.

Densité relative	Indice de réfraction	PH	Viscosité
0,86	1,463	6	9,8 Pa.s

A. Densité :

La densité des HEs obtenues dans notre travail a été déterminée en comparant la masse d'un volume de notre huile à la masse du même volume d'eau distillée prise à la même température. On suppose que c'est un paramètre physique utilisé pour évaluer la pureté de l'huile extraite.

Dans notre étude, la densité mesurée est de 0,86. Cette valeur est très proche de celles rapportées par [8] (0.871). Mais elle est inférieure à celle trouvée par [9] (0,893), et confirme à la norme [10]. D'après les résultats, nous pouvons dire que notre huile est d'une pureté acceptable.

B. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction dépend de la densité, de la composition chimique de l'huile et de la température [11]. Ce critère joue également un rôle crucial dans la pureté de l'huile. Il correspond au poids moléculaire des acides gras présents dans l'huile. Il présente une variation intéressante en fonction du degré d'instauration des lipides, ce qui peut nous donner une idée de la prédominance d'un acide gras insaturé sur un autre dans l'huile [12].

L'indice de réfraction déterminé à la température de 20 °C est de 1,463. Cette valeur est proche de celle rapportée par [9] (1,465), mais elle est inférieure à celle rapportée par [8] (1,47798). C'est un résultat qui répond à la norme [10] pour l'huile de lavandula angustifolia Mill (1.458-1.464).

C. PH :

Le pH, qui signifie potentiel hydrogène, est une mesure de l'acidité ou de l'alcalinité d'une solution, indiquant la concentration en ions hydrogène (H+) dans cette solution. Plus le pH est élevé plus le taux d'acidité est faible. Cette mesure est également applicable aux huiles, où un pH plus bas peut indiquer une meilleure qualité sanitaire de l'huile [13].

Les résultats de pH de l'huile de Lavandula angustifolia Mill montrent que cette huile est acide avec une valeur d'environ 6. En comparant avec d'autres travaux, cette valeur est similaire à celle donnée par [11].

D. Viscosité :

La viscosité des huiles essentielles est une caractéristique physique importante qui influence leur écoulement, leur texture et leur application. Etant généralement plus élevée que celle de l'eau, ce qui signifie qu'elles s'écoulent plus lentement et qu'elles sont plus épaisses. Dans cette étude, une valeur de viscosité de 9,8 Pa.s a été obtenue.

III.3.4. Les propriétés chimiques de l'huile de L.angustifolia Mill :

Les différentes propriétés chimiques de l'huile de L.angustifolia Mill sont résumés dans le tableau III.8.

Tableau III.8 : propriétés chimiques de l'huile de L.angustifolia Mill.

Indice de saponification (mg de KOH / g)	Indice d'acide (mg de KOH / g)	Indice d'ester (mg de KOH / g)
19.54	1,444	18.1

A. Indice de saponification IS :

L'indice de saponification permet de classer les huiles en fonction de la longueur de leurs chaînes d'acides gras. Plus l'indice de saponification d'une huile est élevé, plus les acides gras qu'elle contient sont courts [14].

La détermination du coefficient de saponification de l'huile de Lavandula officinalis récoltées à Médéa a donné une valeur égale à 19.54 mg de KOH/g, ce qui est une valeur très faible par rapport à la norme de l'indice de saponification pour cette plante. Cela est dû à plusieurs raisons, notamment l'utilisation de produits obsolètes et des erreurs de mesure dans les équipements de laboratoire.

B. Indice d'acide IA :

Le corps gras est un des composés le plus altérable, la présence d'eau ou d'air peut entrainer respectivement des phénomènes d'hydrolyse et d'oxydation [12]. La quantité d'acides gras libres dans une huile est mesurée par l'indice d'acidité, qui peut révéler la fraîcheur et la qualité de l'huile, une acidité libre très élevée rend l'huile très fragile à l'oxydation.

L'indice d'acide de l'huile de Lavandula officinalis étudiée est de 1,44 mg de KOH/g de corps gras. Cette valeur est inférieure aux résultats trouvés par [15] et [16], qui sont respectivement de 2 mg de KOH/g et 1,683 mg de KOH/g.

C. Indice d'ester IE :

L'indice d'ester est égal à l'indice de saponification pour les glycérides pures. Il permet de trouver la masse molaire.

L'indice d'ester de l'huile de Lavandula officinalis a été calculé, et la valeur obtenue est de 18,1 mg de KOH/g, ce qui est très faible comparé à la norme [10], qui devrait se situer entre 108 et 165 mg de KOH/g. Cette valeur faible est due à la diminution de l'indice de saponification.

III.3.5. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes :

L'estimation quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans l'extrait phénolique de la plante de lavandula angustifolia Mill a été réalisée en utilisant la méthode Folin-Ciocalteu et la méthode au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), respectivement. L'acide gallique et la rutine ont été utilisés comme standards.

III.3.5.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux est effectué en utilisant la méthode qui repose sur leurs réactions avec le réactif de Folin-Ciocalteu. La présence de polyphénols, qui ont réduit le réactif, est confirmée par la formation d'une couleur bleue après incubation. L'intensité de la couleur, allant du bleu clair au bleu foncé, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présente. Cette quantification est réalisée en utilisant une courbe d'étalonnage basée sur les absorbances de différentes concentrations d'acide gallique, considéré comme

un standard (0.25 ;0.5 ;0.75 ;1 mg /ml), et déterminée par l'équation y =0,82x + 0,018 (figure III.2).

La teneur totale en phénols des parties de la plante a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique Par gramme de poids sec (mg GAE / g DW).

Tableau III.9 : les absorbances de différentes concentrations d'acide gallique.

C(mg/ml)	0	0.25	0.5	0.75	1
A	0	0.2	0.49	0.65	0.8

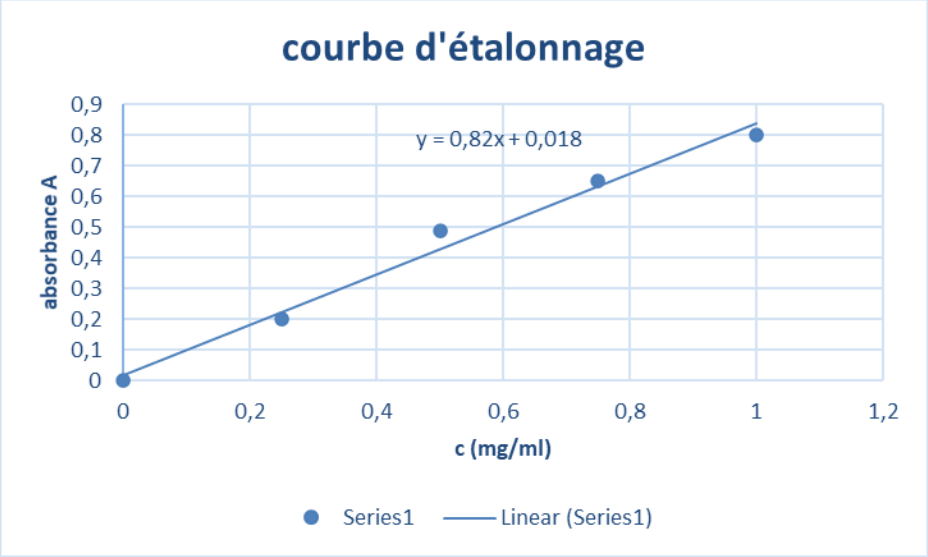


Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Tableau III.10 : Les absorbances et les concentrations de notre échantillon pour la teneur des polyphénols.

Essais	1	2	3
Absorbance	0,492	1,085	0,690
C(mg/ml)	0.578	1.301	0.819
C (mg/g)	5.78	13.01	8.19
C moy	8.993		

Les concentrations sont calculés selon les équations suivantes :

$$c = (A - 0.018)/0.82$$

Avec :

c : la concentration en (mg/ml).

A : Absorbance.

$$C = (c \times v)/m$$

Avec:

C: la concentration en (mg/g).

v: volume total (solvant + plante) en ml.

m: la masse de plante en g.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux (Tableau III.10) révèlent que l'extrait phénolique de Lavandula angustifolia Mill contient une teneur en polyphénols égale à 8,993 mg GAE/g DW. Cette valeur a été obtenue pour une quantité de 0,1 ml d'extrait phénolique dilué.

La teneur en polyphénols totaux de L. angustifolia Mill dans cette étude est nettement supérieure à celle rapportée par [17] (0,078 mg EAG/mg d'extrait), mais elle est inférieure à celle trouvée par [1] pour les extraits hydro MeOH et hexane (41,975±0,01mg EAG/g MS et 28,334±0,06 mg EAG/g MS, respectivement).

III.3.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Les flavonoïdes sont les composés phénoliques les plus courants, et leur dosage a été effectué en utilisant la méthode d'$AlCl_3$. Cette quantification utilise une courbe d'étalonnage basée sur les absorbances de différentes concentrations de la rutine (Figure III.3), un standard (0.01 ;0.02 ;0.03 ;0.04 ;0.05 ;0.06 ;0.07 ;0.08 ;0.09 ;0.1 mg/ml), avec une équation $y = 9,3061x + 0,0334$.

Tableau III.11: les absorbances de différentes concentrations de la rutine.

C(mg/ml)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.1
A	0.12	0.25	0.319	0.395	0.478	0.573	0.691	0.800	0.852	0.981

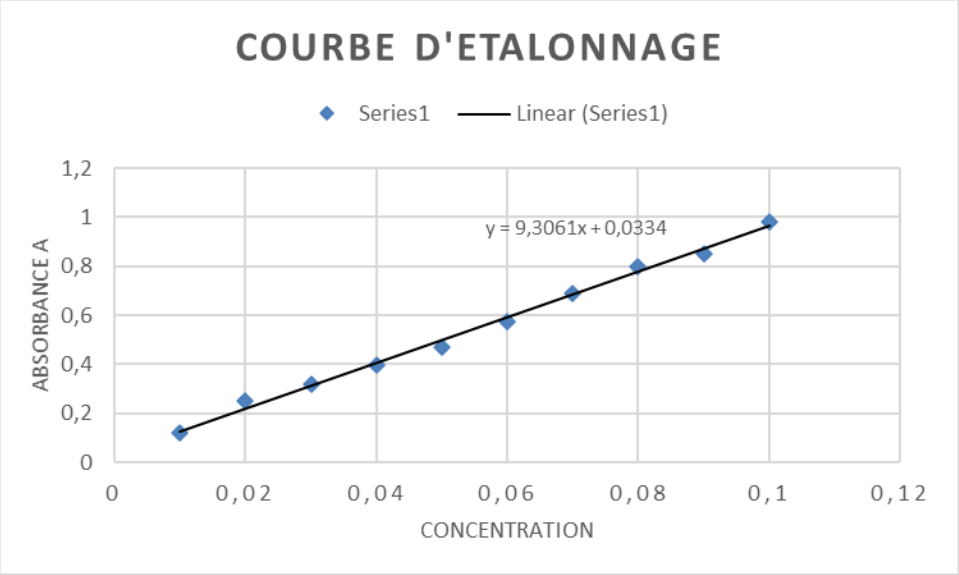


Figure III.3 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

Tableau III.12 : Les absorbances et les concentrations de notre échantillon pour la teneur des flavonoïdes.

Essais	1	2	3
Absorbance	0,01	0,126	0,054
C (mg /ml)	0.00251	0.00995	0.00221
C (mg/g)	0.6275	2.4875	0.5525
C moy	1.2225		

Les résultats des concentrations obtenues dans le tableau précédent sont calculés selon les équations suivantes :

$$c = (A - 0.0334)/9.3061$$

Avec :

c : la concentration en (mg/ml).

A : Absorbance.

$$C = (c \times F \times v)/m$$

Avec :

C: la concentration en (mg/g).

F : le facteur de dilution.

v : volume total (solvant + plante) en ml.

m: la masse de plante en g.

Les résultats du dosage des flavonoïdes (voir Tableau III.12) indiquent que l'extrait phénolique de lavandula angustifolia Mill présente une teneur en flavonoïdes de 1.2225 mg GAE/g DW. Cette valeur a été obtenue pour une quantité de 60 µl d'extrait phénolique dilué 25 fois.

Dans la présente étude, les teneurs en flavonoïdes totaux de L. angustifolia Mill étaient significativement plus élevées que celles trouvées par [17] (FT=0,001 mg EQ/mg extrait), mais elles étaient inférieures à celles trouvées par [1] pour l'extrait hydro MeOH (19,24±0,01 mg EQ/mg).

Le teneur de flavonoïdes et polyphénols varie selon la polarité des solvants utilisés lors de la préparation des extraits, ainsi que selon la méthode d'extraction. De nombreuses études antérieures ont démontré que l'extraction hydroalcoolique est le solvant le plus couramment utilisé pour obtenir une concentration élevée en flavonoïdes et polyphénols.

L'estimation quantitative des composés phénoliques Dans l'extrait de plante de lavandula offcinalis indique que le teneur polyphénols totaux sont plus élevées que celles des flavonoïdes totaux.

III.4. Analyse biologique :

III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydants :

III.4.1.1. Test DPPH :

Nous avons évalué le pouvoir antioxydant des deux extraits (les composés phénoliques et l'huile essentielle de Lavandula angustifolia Mill) en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Cette méthode est couramment employée pour évaluer les activités antioxydantes.

La mesure de l'absorbance a été réalisée par spectrophotométrie à 517 nm. En utilisant les valeurs obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition selon une formule préalablement définie. Ces valeurs ont ensuite été utilisées pour tracer les courbes représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des différents extraits de la plante. Nous avons identifié graphiquement la concentration correspondante à 50 % d'inhibition (IC_{50}), ce qui indique l'activité antioxydante des extraits (l'extrait phénolique et l'huile essentielle de Lavandula angustifolia Mill).

A. Les composés phénoliques :

Après avoir utilisé 10 tubes d'essai deux fois, les résultats du premier tube ont été supprimés en raison de l'absorption excessivement faible même en présence de DPPH. C'était un mélange turbulent où un taux d'absorption très élevé se produirait malgré l'existence du DPPH. Comme le montre le tableau III.13, les résultats commencent à apparaître dans le deuxième tube, et l'absorbance de DPPH est 0.750.

Tableau III.13 : Les valeurs d'absorbance des essais, les valeurs d'inhibitions et les concentrations réactionnels pour le test de DPPH des composés phénoliques.

Tube	Dilutions	C	C rea	abs1	abs2	inib1	inib2	inib moy
10	1024	0,09765625	0,00976563	0,749	0,722	0,13333333	3,73333333	1,93333333
9	512	0,1953125	0,01953125	0,702	0,687	6,4	8,4	7,4
8	256	0,390625	0,0390625	0,683	0,661	8,93333333	11,8666667	10,4
7	128	0,78125	0,078125	0,627	0,64	16,4	14,6666667	15,5333333
6	64	1,5625	0,15625	0,551	0,57	26,5333333	24	25,2666667
5	32	3,125	0,3125	0,441	0,478	41,2	36,2666667	38,7333333
4	16	6,25	0,625	0,321	0,322	57,2	57,0666667	57,1333333
3	8	12,5	1,25	0,06	0,074	92	90,1333333	91,0666667
2	4	25	2,5	0,041	0,043	94,5333333	94,2666667	94,4

Les résultats obtenus dans le tableau III.13 sont calculés à l'aide des équations suivantes :

- **La concentration C:**

$$C = (m/v)/D$$

Avec :

C : la concentration en g/l.

m :La masse de plante en g.

v : Volume de solvant + plante en L.

D : Dilution.

- **La concentration C rea :**

$$C\,rea = C/F$$

Avec :

F : le facteur de dilution est calculé selon l'équation suivant

$$F = V_T/V_E$$

Avec :

V_T : volume totale en ml.

V_E : volume d'extrait en ml.

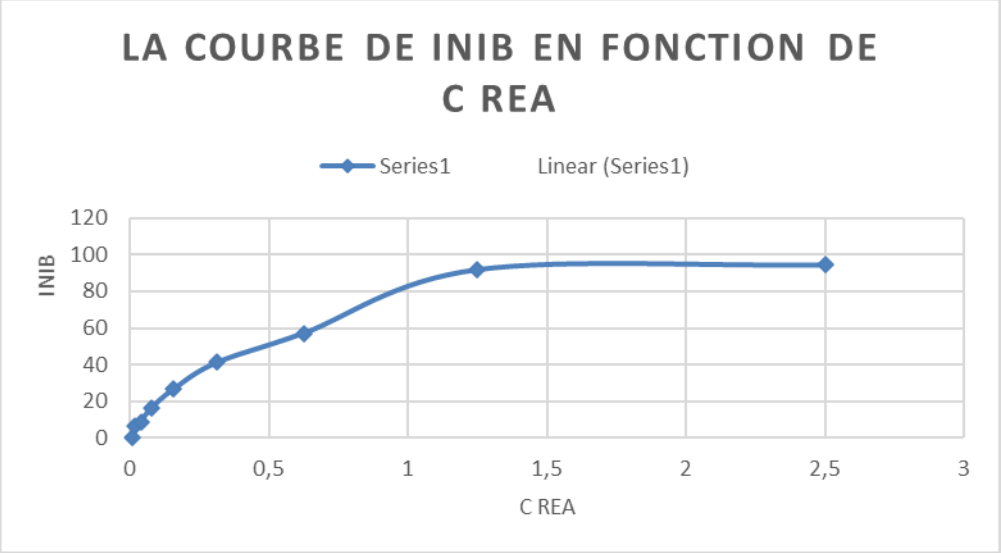


Figure III.4: Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C REA des composés phénoliques (1er essai).

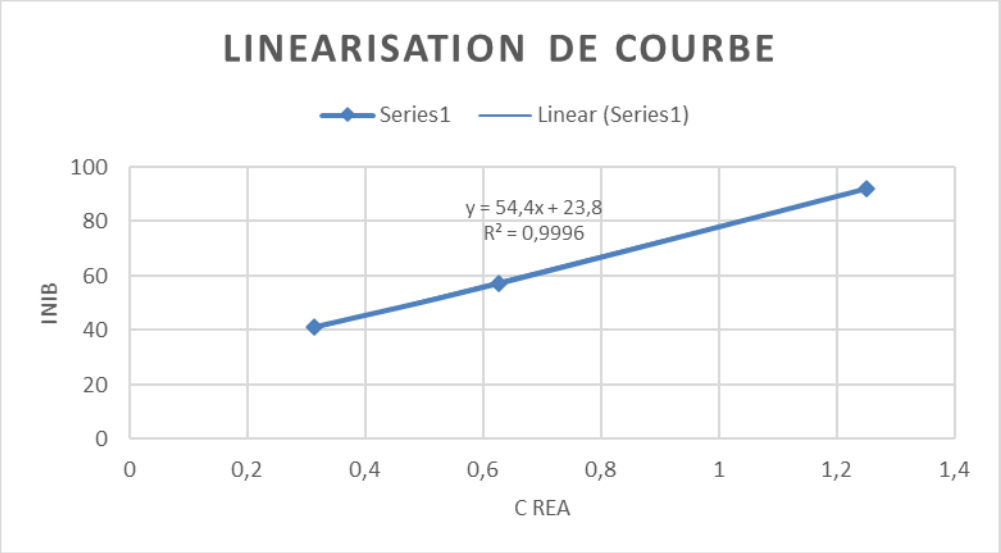


Figure III.5: Linéarisation de l'histogramme d'inhibition (1er essai) des composés phénoliques.

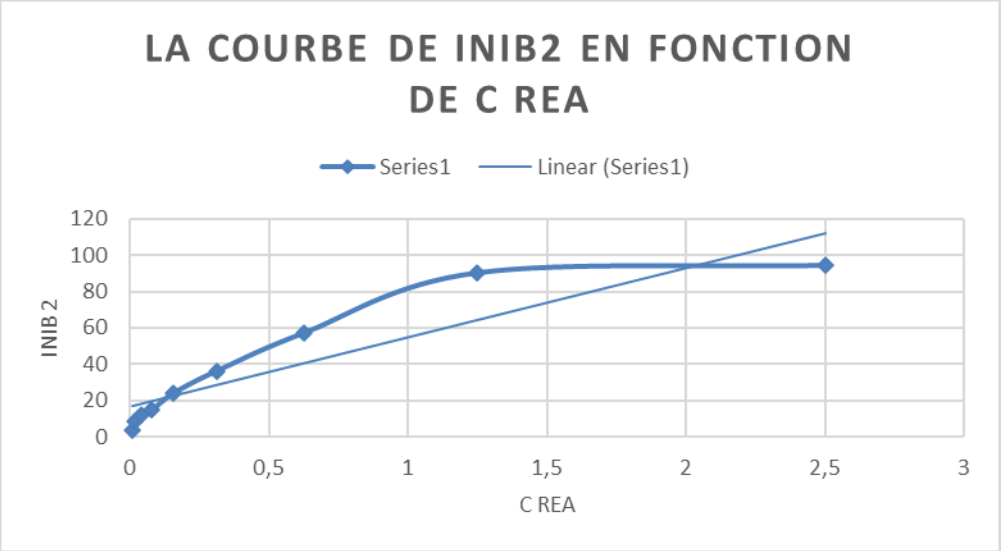


Figure III.6 : Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C REA des composés phénoliques (2ème essai).

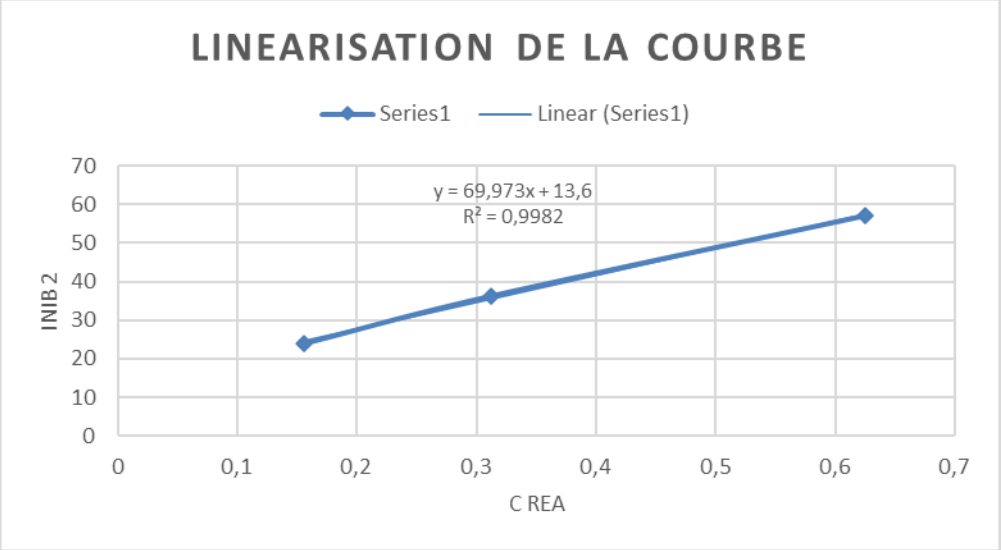


Figure III.7 : Linéarisation de l'histogramme d'inhibition (2ème essai) des composés phénoliques.

Nous avons graphiquement identifié la concentration à laquelle 50 % d'inhibition (IC_{50}) a été atteinte, représentant l'efficacité et l'activité antioxydante des composés phénoliques, comme indiqué dans le tableau III.14.

Tableau III.14 : Les IC_{50} de chaque essai et l'écartype des composés phénoliques.

	C(mg/ml)	C(ug/ml)
IC_{50} 1	0,48161765	481,617647
IC_{50} 2	0,37536221	375,362214
IC_{50} M	0,42848993	428,489931
Ecartype	0,07513394	75,1339371

D'après les résultats obtenus dans le tableau III.14, nous remarquons que l'extrait phénolique de Lavandula angustifolia a montré une activité antioxydante élevée sur les radicaux DPPH, avec une IC_{50} de 428.48±75.133931 µg/ml. Les résultats de la recherche menée par [18] sur l'extrait méthanolique de Lavandula officinalis de la région de Tébessa peuvent être comparables à ceux de notre travail. Ils ont trouvé une IC_{50} de 636.83 µg/ml, ce qui est une valeur beaucoup plus élevée que celle obtenue dans notre étude. Le travail de [19] sur les composés phénoliques a révélé des valeurs de IC_{50} de 34.2 µg/ml, ce qui est également beaucoup moins que le résultat que nous avons obtenu. L'évaluation de l'activité antioxydante par le paramètre IC_{50} est inversement proportionnelle à l'action antiradicalaire (anti-DPPH) : un IC_{50} faible correspond à une activité antioxydante élevée, et vice versa.

B. L'huile essentielle :

Pour tester cet extrait, nous avons utilisé deux fois 15 tubes. Le premier tube a été éliminé en raison d'une absorbance trop faible, comme le montre le tableau III.15. Pour l'huile L'absorbance de DPPH est 0.8.

Tableau III.15 : Les valeurs d'absorbance des essais, les valeurs d'inhibitions et les concentrations réactionnels pour le test de DPPH d'huile essentielle.

Tube	Dilutions	C	C rea	abs1	abs1	inib1	inib2	inib moy
14	8192	0,10339355	0,00516968	0,8	0,8	0	0	0
13	4096	0,20678711	0,01033936	0,798	0,8	0,25	0	0,125
12	2048	0,41357422	0,02067871	0,793	0,799	0,875	0,125	0,5
11	1024	0,82714844	0,04135742	0,789	0,798	1,375	0,25	0,8125
10	512	1,65429688	0,08271484	0,781	0,775	2,375	3,125	2,75
9	256	3,30859375	0,16542969	0,774	0,762	3,25	4,75	4
8	128	6,6171875	0,33085938	0,762	0,736	4,75	8	6,375
7	64	13,234375	0,66171875	0,745	0,698	6,875	12,75	9,8125
6	32	26,46875	1,3234375	0,732	0,647	8,5	19,125	13,8125
5	16	52,9375	2,646875	0,632	0,599	21	25,125	23,0625
4	8	105,875	5,29375	0,588	0,552	26,5	31	28,75
3	4	211,75	10,5875	0,487	0,445	39,125	44,375	41,75
2	2	423,5	21,175	0,321	0,313	59,875	60,875	60,375

On obtient les résultats mentionnés dans le tableau III.15 grâce aux équations mentionnées précédemment dans les composés phénoliques avec un changement dans la méthode de calcul de la concentration.

- Calcule de concentration :

$$C = d/D$$

Avec :

d : La masse volumique d'huile de lavandula angustifolia Mill en g/l.

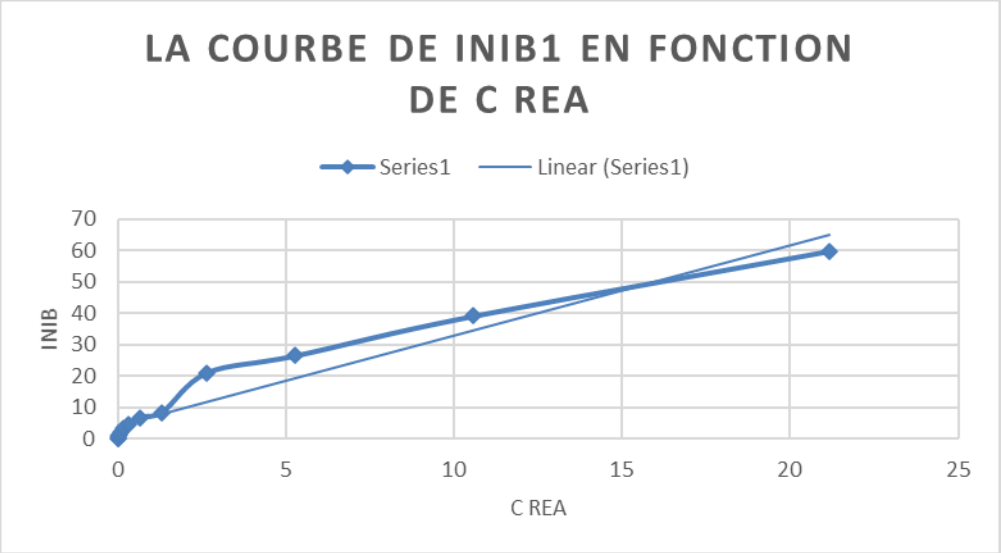


Figure III.8: Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C REA d'huile essentielle (1er essai).

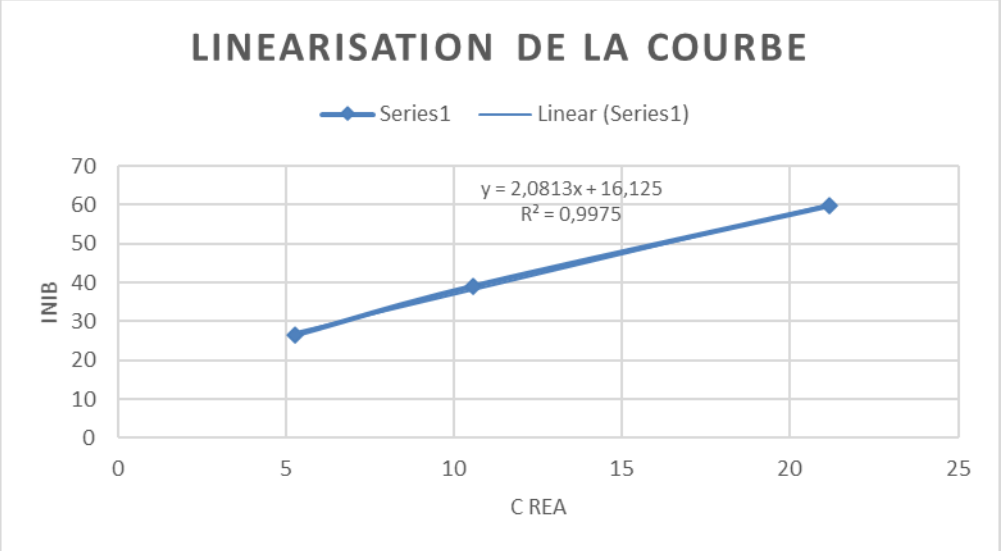


Figure III.9: Linéarisation de l'histogramme d'inhibition d'huile essentielle (1er essai).

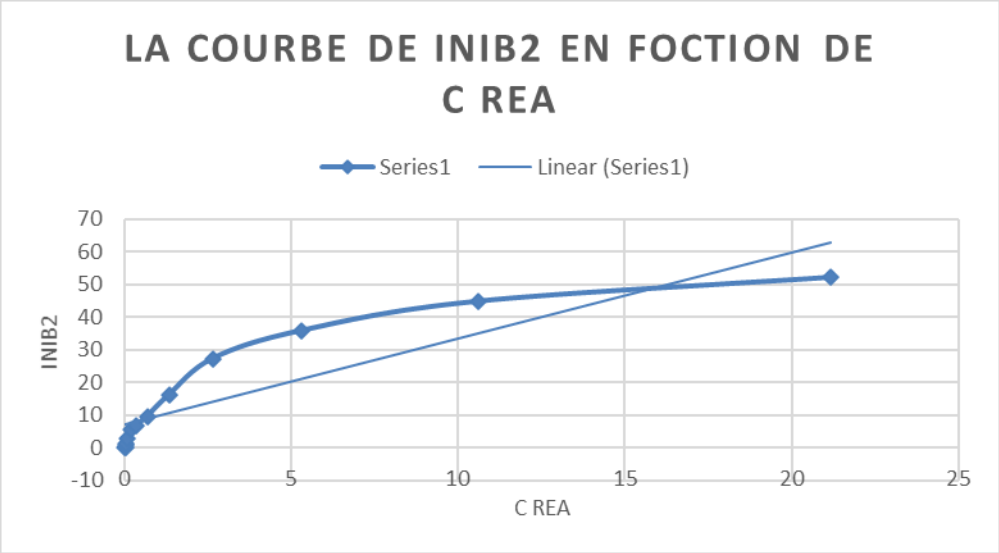


Figure III.10: Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction de C REA d'huile essentielle (2ème essai).

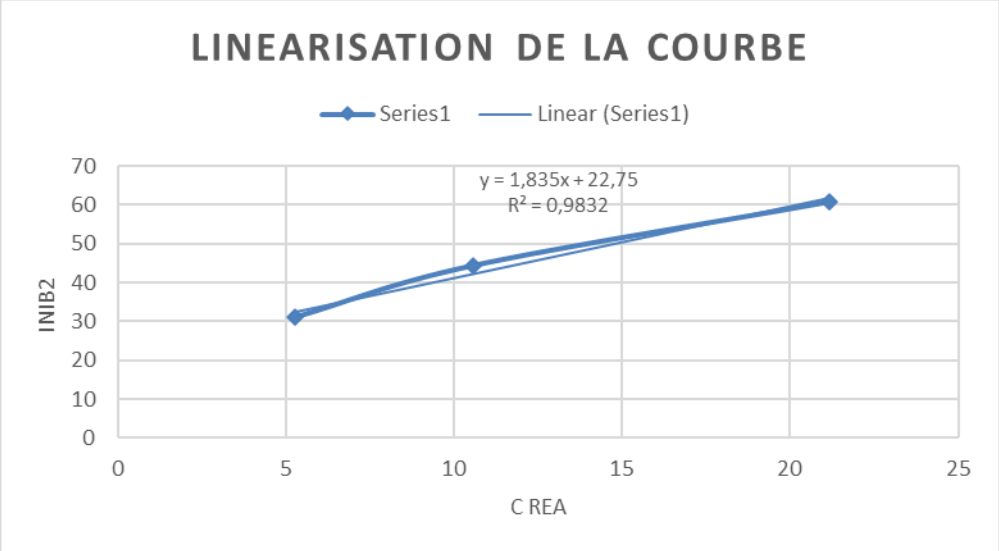


Figure III.11 : Linéarisation de l'histogramme d'inhibition d'huile essentielle (2ème essai).

Nous utilisons la même méthode que celle utilisée pour calculer IC_{50} des composés phénoliques pour calculer EC_{50} d'huile essentielle indiquée dans le tableau III.16.

Tableau III.16 : Les EC_{50} de chaque essai et l'écartype de l'huile essentielle.

	C(mg/ml)	C(µg/ml)
EC50 1	16,2758853	16275,8853
EC50 2	14,8501362	14850,1362
EC50 M	15,5630108	15563,0108
Ecartype	1,0081568	1008,1568

D'après les résultats consignés dans le tableau III.16, l'huile de Lavandula angustifolia possède un faible pouvoir antioxydant. Leur EC_{50} est :15.5630108±1.0081568, Cela est dû à la valeur élevée obtenue, qui dépasse la limite comprise entre 0,1 et 0,6. Ces résultats montrent que l'huile essentielle de Lavandula officinalis a une activité antioxydante, même si elle est moins efficace, comme le montre le changement de couleur du violet au jaune dans les trois premiers tubes à essai.

III.4.1.2. Test FRAP :

Nous avons évalué l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'extrait phénolique de Lavandula angustifolia en utilisant le test FRAP, un essai simple, rapide et reproductible. La spectrophotométrie à 700 nm a été utilisée pour mesurer l'absorbance. En utilise l'acide ascorbique comme un standard

A. Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique :

Nous utilisons l'acide ascorbique comme un standard avec une concentration C= 1 mg/ml.

Tableau III.17 : Les valeurs d'absorbances des essais et les concentrations de l'acide ascorbique.

Dilutions	C	C rea	ab1	ab2	ab moy
1024	0,00097656	8,8778E-05	0,01	0,011	0,0105
512	0,00195313	0,00017756	0,018	0,016	0,017
256	0,00390625	0,00035511	0,041	0,036	0,0385
128	0,0078125	0,00071023	0,054	0,046	0,05
64	0,015625	0,00142045	0,077	0,07	0,0735
32	0,03125	0,00284091	0,09	0,084	0,087
16	0,0625	0,00568182	0,32	0,378	0,349
8	0,125	0,01136364	0,533	0,527	0,53
4	0,25	0,02272727	1,46	1,287	1,3735
2	0,5	0,04545455	2,53	3,02	2,775

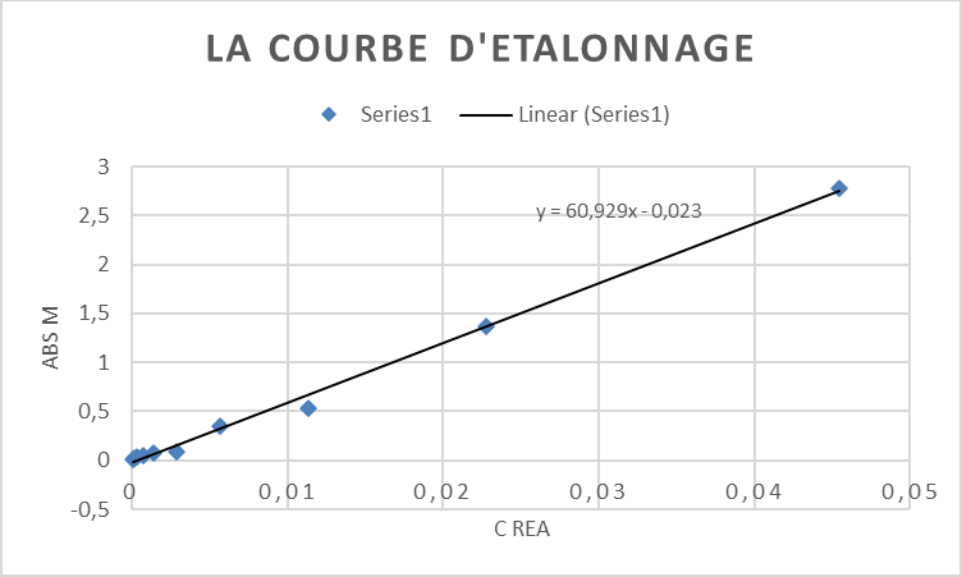


Figure III.12 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.

B. Les composes phénoliques :

Dans le test FRAP pour les composés phénoliques, nous procédons à l'utilisation de 10 tubes à essai deux fois, en mesurant l'absorbance de chaque tube avec un spectrophotomètre. Ensuite, nous calculons les concentrations et les Crea en utilisant les mêmes équations que celles appliquées dans le test DPPH pour les composés phénoliques. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III.18.

Tableau III.18 : Les valeurs d'absorbance des essais et les concentrations réactionnels pour le test de FRAP des composés phénoliques.

Tube	Dilution	C	C rea	abs1	abs2	abs moy
10	1024	0,09765625	0,00072769	0,101	0,109	0,105
9	512	0,1953125	0,00145538	0,142	0,131	0,1365
8	256	0,390625	0,00291077	0,176	0,196	0,186
7	128	0,78125	0,00582154	0,197	0,223	0,21
6	64	1,5625	0,01164307	0,236	0,261	0,2485
5	32	3,125	0,02328614	0,262	0,293	0,2775
4	16	6,25	0,04657228	0,309	0,347	0,328
3	8	12,5	0,09314456	0,357	0,377	0,367
2	4	25	0,18628912	0,497	0,482	0,4895
1	2	50	0,37257824	0,701	0,722	0,7115

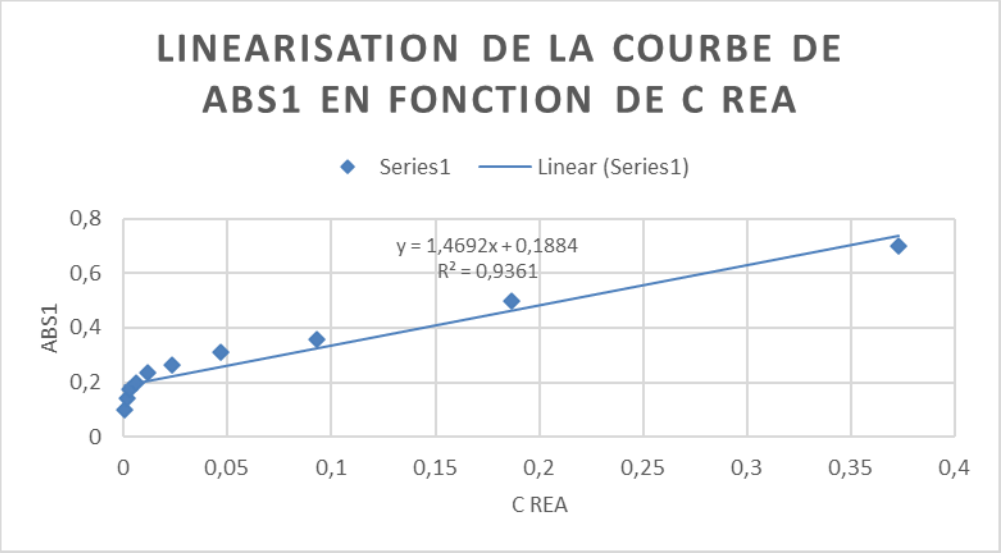


Figure III.13 : Linéarisation de la courbe de l'absorbance 1 en fonction de C rea des composés phénoliques.

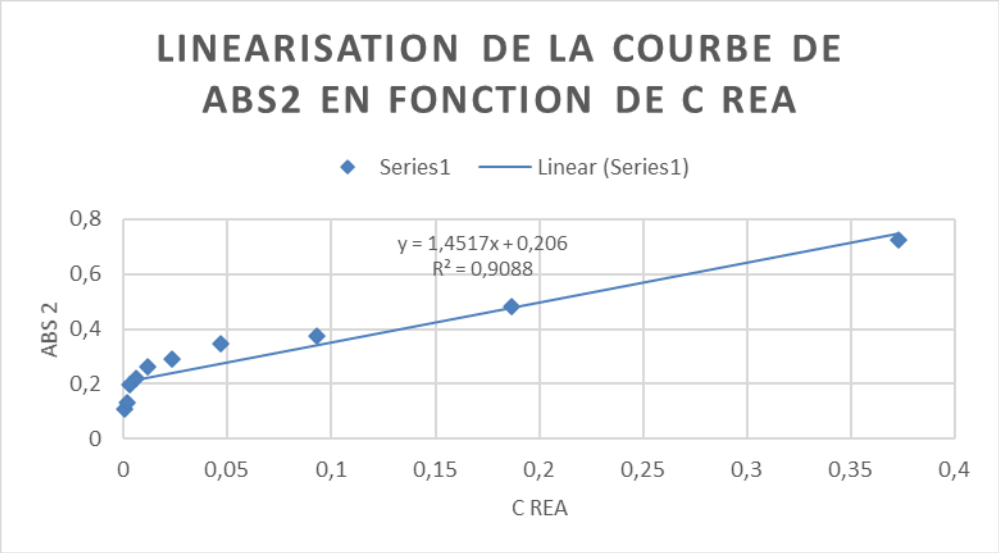


Figure III.14 : Linéarisation de la courbe de l'absorbance 2 en fonction de C rea des composés phénoliques.

Dans ce type de test, nous mesurons la VCEAC. Pour calculer ce facteur, nous devons tracer la courbe de l'absorbance de chaque essai en fonction de Crea. Nous linéarisons ensuite la courbe pour obtenir une équation, se forme y = ax + b. nous calculons ensuite la pente de la courbe d'étalonnage et celle de la courbe de l'absorbance en fonction de la C rea pour déterminer la VCEAC par l'équation suivante :

$$VCEAC = a_1/a_0$$

Avec :

a_1 : la pente de la courbe de l'absorbance de chaque essai en fonction de Crea.

a_0 : la pente de la courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Tableau III.19 : Les VCEAC de chaque essai, VCEAC m et l'écartype des composés phénoliques.

VCEAC1	0,02411331
VCEAC2	0,02381046
VCEACm	0,02396189
Ecart	0,00021415

C. L'huile essentielle :

Dans le test FRAP pour l'huile essentielle, nous utilisons 15 tubes à essai à deux fois, en mesurant l'absorbance de chaque tube. Ensuite, nous calculons les concentrations et les Crea en utilisant les mêmes équations que celles employées dans le test DPPH pour l'huile essentielle. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau III.20.

Tableau III.20 : Les valeurs d'absorbance des essais et les concentrations réactionnels pour le test de FRAP de l'huile essentielle.

Tube	Dilutions	C	C rea	abs1	abs2
15	32768	0,02584839	0,00019261	0,117	0,124
14	16384	0,05169678	0,00038522	0,127	0,127
13	8192	0,10339355	0,00077044	0,129	0,128
12	4096	0,20678711	0,00154089	0,131	0,135
11	2048	0,41357422	0,00308178	0,136	0,139
10	1024	0,82714844	0,00616355	0,143	0,146
9	512	1,65429688	0,0123271	0,154	0,152
8	256	3,30859375	0,0246542	0,168	0,165
7	128	6,6171875	0,0493084	0,174	0,177
6	64	13,234375	0,0986168	0,18	0,189
5	32	26,46875	0,19723361	0,189	0,191
4	16	52,9375	0,39446721	0,196	0,203
3	8	105,875	0,78893443	0,221	0,223
2	4	211,75	1,57786885	0,251	0,284
1	2	423,5	3,1557377	0,268	0,312

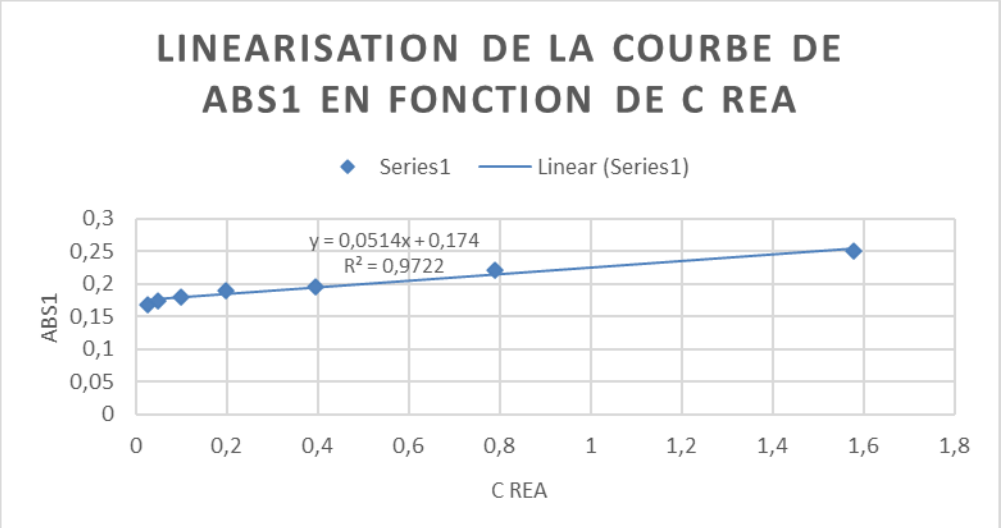


Figure III.15 : Linéarisation de la courbe de l'absorbance 1 en fonction de C rea De l'huile essentielle.

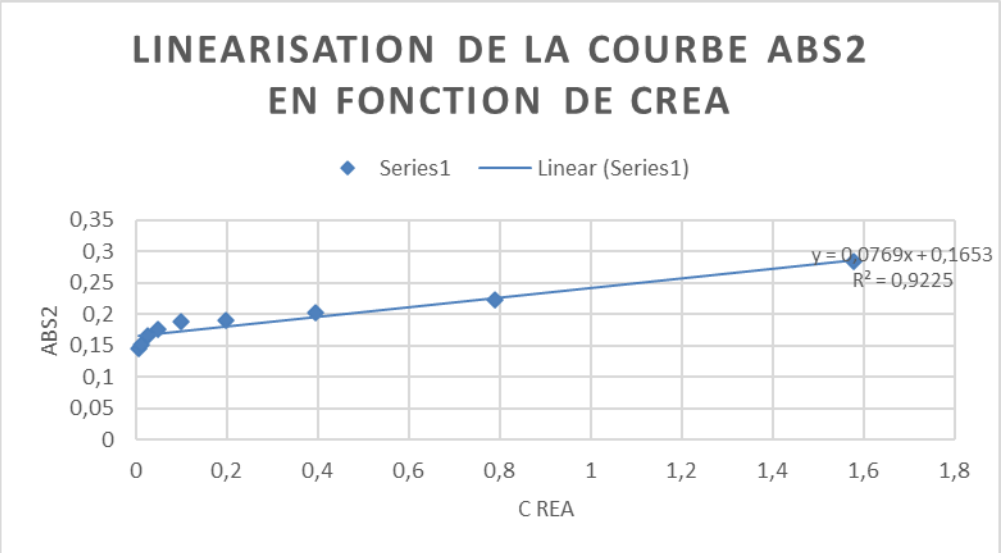


Figure III.16 : Linéarisation de la courbe de l'absorbance 2 en fonction de C rea de l'huile essentielle.

Pour calculer VCEAC en utilisant la même méthode que celle utilisée précédemment dans les tests de FRAP pour les composés phénoliques, les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau III.21.

Tableau III.21 : Les VCEAC de chaque essai, VCEAC m et l'écartype de l'huile essentielle.

VCEAC1	**0,00084305**
VCEAC2	0,0012613
VCEACm	0,00105217
Ecart	0,00029574

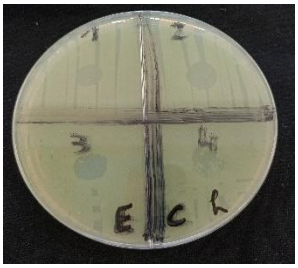
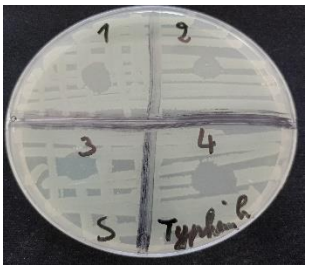
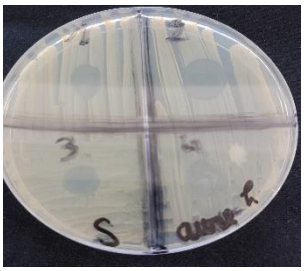
Pour la réduction de fer (FRAP), nos extraits montrent un potentiel modéré, avec une valeur de VCEAC égale à 0.02396189±0.00021415 pour l'extrait phénolique de Lavandula angustifolia Mill. Et une valeur de VCEAC égale à 0.00105217±0.00029574 pour l'huile essentielle de L.angustifolia Mill. Le protocole utilisé dans ce test n'a pas été précédemment appliqué à un moulin de Lavandula angustifolia, ce qui rend impossible la comparaison de nos valeurs avec d'autres recherches.

D'après ces résultats, on remarque que l'extrait phénolique présente une activité antioxydante plus élevée que celle trouvée dans l'huile de Lavandula angustifolia Mill. Cela est démontré par une valeur VCEAC plus élevée que celle obtenue pour l'huile de Lavandula angustifolia Mill. Ainsi, plus la valeur VCEAC est proche de 1, c'est-à-dire plus elle est proche de l'activité de l'acide ascorbique, plus l'activité antioxydante est élevée.

III.4.2. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antimicrobienne désigne la capacité d'une substance ou d'un agent à éliminer ou à freiner la croissance de microorganismes, y compris les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Cette propriété est essentielle pour combattre les infections et les maladies provoquées par ces organismes. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) et de l'extrait phénolique de la plante de Lavandula angustifolia Mill a été évaluée in vitro vis-à-vis de quatre souches bactériennes les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau III.22 et tableau III.23.

Tableau III.22 : Diamètre des zones d'inhibitions de l'huile de lavandula angustifolia Mill.

Les souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibitions				Résultats
	1mg/ml	0.5 mg/ml	0.25mg/ml	0.125mg/ml	
Escherichia coli Gram$^-$	10	11	11	-	
Salmonella typhimurium Gram$^-$	12	8	9	10	
ST. Sap 10 pyk Gram+	12	11	10	11	
Staphylococcus aureus Gram$^+$	13	16	10	12	

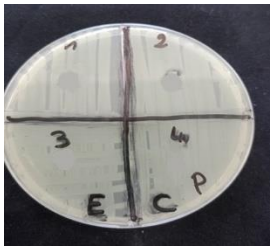
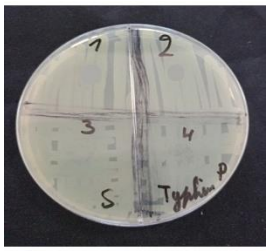
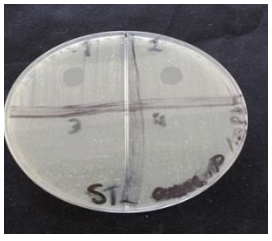
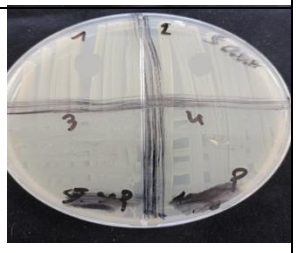
A partir des résultats trouvés dans le tableau III.22, l'extrait de l'huile essentielle de Lavandula angustifolia Mill a inhibé la croissance de la bactérie Staphylococcus aureus avec les diamètres suivants : 13 mm pour 1 mg/ml, 16 mm pour 0,5 mg/ml, 10 mm pour 0,25 mg/ml et 12 mm pour 0,125 mg/ml. Contre ST.sap10 pyk, les diamètres d'inhibition étaient de 12 mm pour 1 mg/ml, 11 mm pour 0,5 mg/ml, 10 mm pour 0,25 mg/ml et 11 mm pour 0,125 mg/ml. Ces résultats indiquent que l'extrait d'huile de Lavandula angustifolia Mill a une grande efficacité sur ces bactéries malgré les différentes concentrations. Par conséquent, ces résultats suggèrent que cette huile pourrait être utilisée comme antibiotique contre ces souches, même à faibles concentrations.

Quant à Escherichia coli, nous constatons que l'huile extrait de lavandula angustifolia Mill inhibe légèrement sa croissance (10 mm pour 1 mg/ml ; 11 mm pour 0,5 mg/ml et 11 mm pour 0,25 mg/ml). En revanche, pour la bactérie Salmonella typhimurium, elle empêche sa croissance de manière plus significative (12 mm pour 1 mg/ml ; 8 mm pour 0,5 mg/ml ; 10mm pour 0,25 mg/ml).

Les résultats obtenus dans notre étude contre les bactéries Salmonella aureus et Escherichia coli sont plus élevés que ceux obtenus par [1] contre les bactéries S. aureus (14 mm pour 25 mg/ml ; 20 mm pour 50 mg/ml ; 24 mm pour 100 mg/ml) et Escherichia coli (15 mm pour 25 mg/ml ; 20 mm pour 50 mg/ml ; 24 mm pour 100 mg/ml).

Les résultats montrent qu'il existe des différences dans les sites d'inhibition de l'extrait pour ces bactéries. Ces différences sont attribuées à la méthode d'ensemencement des bactéries sur des boîtes de Pétri, qui ne tient pas compte de la densité bactérienne. Cependant, il a été observé que l'extrait d'huile de lavandula angustifolia Mill présente une résistance contre ces bactéries.

Tableau III.23 : Diamètre des zones d'inhibitions de l'extrait phénolique de lavandula angustifolia Mill.

Les souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibitions				Résultats
	5.618mg/ml	1.124mg/ml	0.225mg/ml	0.045mg/ml	
Escherichia coli Gram-	9	7	7	7	
Salmonella typhimurium Gram-	11	10	-	-	
ST. Sap 10 pyk Gram+	15	12	11	-	
Staphylococcus aureus Gram+	11	10	-	-	

D'après les résultats obtenus dans le tableau III.23, l'extrait phénolique de L. angustifolia Mill a légèrement inhibé la croissance des bactéries Escherichia coli (9 mm pour une concentration de 5,618 mg/ml et 7 mm pour les concentrations de 1,124; 0,225; et 0,045 mg/ml) et a inhibé Salmonella typhimurium (11 mm pour une concentration de 5,618 mg/ml et 10 mm pour 1,124 mg/ml).

L'extrait des composés phénoliques de Lavandula angustifolia Mill ont inhibé la croissance de la bactérie Staphylococcus aureus, avec des diamètres d'inhibition de 11 mm pour une concentration de 5,618 mg/ml, et de 10 mm pour une concentration de 1,124 mg/ml. Contre ST. sap10 pyk, les diamètres d'inhibition étaient de 15 mm pour 5,618 mg/ml, 12 mm pour 1,124 mg/ml, et 11 mm pour 0,225 mg/ml.

D'autre part, selon nos résultats consignés dans les tableaux précédents, l'HE de L. angustifolia Mill est plus efficace que l'extrait phénolique. L'huile de lavande étudiée a inhibé la croissance de diverses bactéries même à faibles concentrations. En revanche, de nombreuses bactéries ont montré une résistance à l'extrait phénolique, notamment à de faibles concentrations.

Les études récentes [20,21] ont montré que les bactéries à Gram positif (Gram $^{+}$) sont généralement plus sensibles aux huiles essentielles et extraits végétaux que les bactéries à Gram négatif (Gram $^{-}$). Cette différence de sensibilité est due aux distinctions structurales de leurs couches externes. Les huiles essentielles et extraits végétaux exercent leur activité antimicrobienne principalement par la perturbation de l'intégrité membranaire des micro-organismes [22].

Chez les bactéries à Gram $^{-}$, la membrane externe riche en lipopolysaccharides constitue une barrière de perméabilité efficace. Les charges négatives des lipopolysaccharides empêchent la diffusion des molécules hydrophobes [23]. Cependant, certains composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent interagir avec ces bactéries en se fixant aux protéines et aux lipopolysaccharides de la membrane grâce à leurs groupes fonctionnels [24].

À l'inverse, les bactéries à Gram^{+} possèdent une paroi cellulaire épaisse composée principalement de peptidoglycane, ce qui facilite la pénétration des phytomolécules. Ces composés peuvent ainsi atteindre plus facilement leurs cibles intracellulaires, rendant les bactéries à Gram^{+} plus vulnérables à l'action des huiles essentielles et extraits végétaux.

III.5. Test émulsion :

Les résultats de test réalisé sur le type d'émulsion par Eau distillée a donné Sens inverse, Ceci explique pourquoi le mélange ne se transforme pas en crèmes et l'absence du processus de chauffage peut également en être la raison.

Les références bibliographiques III:

[1] : AZZIZI. S et RAMOUL. L, « Extraction des métabolites bioactifs à partir de Mentha pulegium et Lavandula angustifolia Mill et mise en évidence de leurs activités biologiques; anti-oxydante et antibactérienne », Mémoire de master, Université Frères Mentouri Constantine I, 2021/2022.

[2] : AQUES. L et SEDIRA. N, « ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELE DE LA PLANTE: Lavandula angustifolia L », Mémoire de master, Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa, 2022/2023.

[3] : Whitehead, S. R., Schneider, G. F., Dybzinski, R., Nelson, A. S., Gelambi, M., Jos, E., & Beckman, N. G. (2022). Fruits, frugivores, and the evolution of phytochemical diversity. Oikos, 2022(2). https://doi.org/10.1111/oik.08332

[4] : BENAICHE. H, « Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de certaines espèces végétales poussant dans le littoral Ouest algérien et gestion des risques liés à leur utilisation », Thès de Doctorat, Université des Sciences et technologies d'Oran Mohamed Boudiaf,2021/2022.

[5] : CHARIK. S et KADRI. Y, « Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce lavandula officinalis », Mémoire de master, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA, 2019/2020.

[6] : Lee K. W., Kim Y. J., Lee H. J. and Lee C. Y., 2003. Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine. J. Agric. Food. Chem.: 51: 7292-7295.

[7] : Deghima I. et Haif N., 2018. Etude phytochimique, activité antioxydante et antimicrobienne des composés phénoliques de Lavandula stoechas L. Mémoire, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, P 16.

[8] : RADI et al.Volatile and Non-Volatile Chemical Compounds and Biological Power of the genus Lavandula: Case of two Moroccan Lavenders Lavandula angustifolia Mill. (Cultivated Lavender) and Lavandula pedunculata (Mill.) Cav. (Spontaneous Lavender).Revue Egyptian Journal of Chemistry (2022), p 273.

[9]: Lahkimi et al.Antibacterial, antifungal and antioxidant activity of lavandula angustifolia of the middle atlas central (Morocco). Revue Moroccan Journal of Chemistry (2020),p918.

[10]: https://www.iso.org/obp/ui?_escaped_fragment_=iso:std:iso:3515:ed-3:v1:fr.

[11] : Boukelouaa, A; Belkhirib,A; Djerroua,Z; BahricL; Boulebdad, N; Hamdi, Y. Acute Toxicity of Opuntia Ficus Indica and Pistacia Lentiscus Seed Oils in Mice., Afr Journal Tradit Complement Altern Med (2012), 9(4): 607-611.

[12] : Ollë, M. (2002). Direction de la concurrence, de la consummation et de repression des faudes interregional de Montpellier, Dossier P3325, Technique d'analyse Vol papier n° :TA4.

[13] : Ait Athmane, A. (2002). Caractérisation physico- chimiques de trois variétés locales d'huiles. Mémoire de magistère, université de Bejaia, Bejaia. 118 p.

[14] : BENTEKAYA , I ; HASSOUNA,M. (2005). Etude de la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge.

[15] : BOUALLEG. M et BOUSNOBRA.R, « Optimisation des paramètres d'extraction de l'huile essentielle de Lavandula stoechas.L et son application comme antifongique »,Mémoire de master,Université 8 Mai 1945 Guelma,2020/2021.

[16] : BENMOUSSA.F et BOUGOFFA.A, « Contribution à l'étude de l'huile essentielle de la plante de Lavandula pubescens Decne »,Mémoire de master,Université Kasdi Merbah-Ouargla,2016/2017.

[17] : Chenih, H.; Haouache, L. (2021) Etude phytochimique d'une plante médicinale et quelques formes galéniques d'utilisation en phytothérapie Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique en Chimie pharmaceutique. Algérie : université Mohamed Boudiaf Msila : p 52-61.

[18] : AQUES .L et SEDIRA.N, « ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELE DE LA PLANTE: Lavandula angustifolia L »,Mémoire de master,Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi-Tébessa,2022/2023

[19] : Messaoud C., Chograni H. et Boussaid M, 2011. Chemical composition and antioxidant activities of essential oils and methanol extracts of three wild Lavandula L species, Natural Prod Res, 26: 1976-1984.

[20]: Mansour I. (2021). Chemical Composition; Antioxidant and Antibacterial Activity of Lavandula officinalis Flowers Essential Oil.

[21] : Jebali, J., Ghazghazi, H., Aouadhi, C., El Bini-Dhouib I., Ben Salem R.; Srairi-Abid, N.; Marrakchi, N., Rigane, G.(2022).Tunisian Native Mentha pulegium L. Extracts : Phytochemical Composition and Biological Activities. Molécules. 27- 314. https://doi.org/10.3390/molecules27010314.

[22] : Knobloch, KA.; Pauli, B.; Iberl, H.; Weigand, N. (1989) : Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. J. of Ess. Oil Res. 1 : 119-123.

[23] : Nikaido H., Vaara M. (1985): Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. Microbiology and Molecular Biology Reviews 67 : p 593-656.

[24] : Dorman H. J. D.; Deans S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.p : 308-316.

Conclusion Générale

Notre objectif est d'extraire les métabolites secondaires et d'étudier leur activité antioxydante et antibactérienne, ainsi que de déterminer les indices physico-chimiques. L'extraction des huiles essentielles et des composés phénoliques de Lavandula officinalis a été réalisée par hydro-distillation de type Clevenger et par macération à froid. Les résultats du criblage phytochimique confirment la richesse de cette plante en polyphénols et en tanins, avec une présence modérée de coumarines et de sucres.

La détermination des caractéristiques physiques des huiles essentielles (indice de réfraction, densité relative, pH et viscosité) révèle qu'elles sont conformes aux normes établies par les différentes pharmacopées et proches de certains travaux antérieurs. La détermination des indices chimiques (indice d'acide, d'ester et de saponification) a fourni des informations sur la pureté de nos huiles essentielles, la quantité d'acides libres présents dans notre huile, etc. Subséquemment, on peut dire que l'étude a donné des résultats acceptables en termes de rendement d'extraction et d'analyse physique.

Nous avons également étudié l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des composés phénoliques extraits de la plante Lavandula officinalis. Ces tests ont été réalisés sur des germes bactériens pathogènes (Escherichia coli, Salmonella typhimurium, ST. Sap 10 pyk, Staphylococcus aureus) par la méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits).

L'activité antioxydante a été évaluée par deux tests : l'inhibition du radical DPPH et le pouvoir réducteur FRAP. Les résultats ont montré que les extraits possèdent une activité antioxydante et anti-radicalaire plus importante que les huiles essentielles, grâce à leurs constituants (composés polyphénoliques). Il a été noté que les composés phénoliques ont une meilleure activité antibactérienne que les huiles essentielles. Les résultats montrent que l'extrait a un effet et une efficacité remarquable contre Staphylococcus aureus et ST. Sap 10 pyk, tandis que l'effet de l'huile essentielle était perceptible contre ST. Sap 10 pyk. Il apparaît que l'inhibition de la croissance varie en fonction de l'espèce bactérienne, de la concentration du produit testé, du milieu de culture utilisé, de la composition chimique, des composants phénoliques et de la sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux bactéries Gram (-).

Ces résultats sont prometteurs. D'autres études complémentaires pourront être envisagées :

- ✓ Utiliser cette plante comme nouvelle source d'antibiotiques dans les domaines pharmacologique et médical.
- ✓ Développer des agents antioxydants pouvant servir d'alternative à certains additifs synthétiques pour une utilisation dans le secteur agroalimentaire, ainsi que dans des applications thérapeutiques et cosmétiques.
- ✓ Etude de la composition chimique des huiles essentielles par GC/MS pour trouver la fraction la plus antioxydante.
- ✓ Etudier d'autres activités biologiques telles que les activités anti-inflammatoires et antifongiques.
- ✓ Etudier la toxicité des huiles essentielles et réaliser des essais in vivo en utilisant des formulations à base de ces substances.