



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.



كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et protection des végétaux

Thème

**Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles
essentielles de *Lavandula stoechas* L.**

Présenté par : ABOU Hanane

BENABIDA Wissem

Devant le jury :

Président: M^{me} SIOUDA Wafa.

MAA (Univ Mohamed El bachir EL Ibrahimi BBA).

Encadrant: M^{me} BOUMERFEG Sabah.

MCA (Univ Mohamed El bachir EL Ibrahimi BBA).

Examineur: M^{me} BENOUADAH Zohra.

MAA (Univ Mohamed El bachir EL Ibrahimi BBA).

Année universitaire : 2016/2017

Dédicace



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

Avec un énorme plaisir et une immense joie que je dédie ce modeste travail

Aux deux êtres qui me sont très chers dans ma vie ; mon père et ma mère.

Je les remercie pour leur éducation, leur sacrifice et leur assistance, et pour ce que vous m'avait fait et qui m'a permis d'avoir cette réussite et ce bonheur.

A ma cher sœur : Samia

M'a donnée par Dieu et qui m'a accompagné dans les moments les plus difficiles de ma carrière et le meilleur et la longueur de l'école a toujours tendu une main secourable à moi et est l'une des raisons pour les quelles je suis arrivé ici.

Toute la chance et le bonheur

A mes frère: Taher, Mahfoude, Hamza, Oussama.

A mon grand père et grande mère.

A mes ancles et mes tantes.

A ma meilleure amie « Wissem» que j'aime et laquelle j'ai souris et à sa famille.

A ma chandelle avec qui j'ai passé des moments inoubliables, ma chère amie « Faiza».

Merci d'être à mes cotés dans les plus dures moments.

A tous mes amis et camarades je vous remercie de votre patience vous m'avez toujours aidé.

A toute personne que n'ai pas cité et qui m'a aidé de près ou de loin, je vous remercie.

Hanane

Dédicace



On tient à remercier le bon Dieu ﷻ le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie ce travail

A mes très chers parents Toumi et Fatiha qui ont toujours été moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance,

Je le dois, que Dieu vous garde, leur prête bonheur et longue vie et merci d'avoir fait de moi la princesse de votre royaume.

A mes chers frères : Toufik, Chouaib et Mohammed pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

A celle qui ont coloré ma vie par leurs sourires, par leurs esprits et par leurs bontés, à mes deux sœurs : Hanane et Samira.

A la fleure Malak, de ma sœur, c'est la lumière de mes yeux et de ma, vie je t'aime mon bébé et je te souhaite tout le bonheur du monde....

A mon grand père, à tous mes oncles, tantes, cousins et cousines.

A tous les familles BENABIDA, DEGHACHE et LOUNICI.

A ma coencadrant BAALI Faiza et ma binôme Hanane, je ne peux vous remercier autant pour votre précieuse aide et vos encouragements, je serais toujours reconnaissante, milles merci.

A mes meilleures amies «Khalissa et Siham» que j'aime merci d'être à mes cotés dans les moments les plus dures inoubliables.

A tous mes amis ma plus belle histoire d'amitié pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité, j'espère que vous prés de moi tout le reste du ma vie.

A toute personne que n'ai pas cité et qui m'a aidé de prés ou de loin et toute la promotion de Master 2, je vous remercie.

Wissem.

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier le Dieu "ALLAH" le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail avec succès.

*Nous exprime d'abord mes profonds remerciements et nos vive reconnaissance à notre encadrant M^{me} **BOUMERFEG Sabah** Maitre de Conférences au Département des Sciences Biologiques, Faculté d'SNV, Université de Bordj-Bou-Arréridj pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qui nous a accordée afin de réaliser ce travail.*

*Un grand remerciement à la doctorante Mademoiselle **BAALI Faiza** pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.*

Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous votre direction, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide qui nous a reçus en toute circonstance avec sympathie, sourire et bienveillance. Votre compétence professionnelle incontestable ainsi que vos qualités humaines vous valent l'admiration et le respect de tous.

*Nous exprimons nos vifs remerciements à M^{me} **SIOUDA Wafa**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.*

*Nous tiens également à adresser nos vifs remerciements à M^{me} **BENOUADAH Zohra** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Nous tenons aussi à remercier l'ensemble des techniciens de laboratoire de chimie, biochimie et phytopathologie surtout (Foued, Wassima, Wahiba et Khalil), pour leur gentillesse et leur aide durant la période que nous avons passé dans le laboratoire.

Nous voudrions désormais à remercier toutes les personnes administratives du département SNV, Ainsi que tous nos enseignants qui nous enseigné durant nos études.

Et enfin, nous remercions nos familles respectives ainsi que nos proches et nos amis pour le soutien infaillible qu'ils nous ont apporté tout au long de nos études, sans oublier la confiance et la sérénité dont ils ont fait preuve et toutes les personnes de près ou de loin qui nous aident, soutenues, et encouragées pour la réalisation de ce travail.

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des activités biologiques des huiles essentielles (HEs) d'une plante médicinale la lavande (*Lavandula stoechas* L.) de la wilaya de Bouira d'Algérie.

Lavandula stoechas L. est une plante aromatique spontanée répandue en Algérie, appartenant à la famille des Labiées (Lamiaceae) appelée communément «khûzama ou Elhelhal». Elle est encore utilisée dans la médecine traditionnelle comme antispasmodique, cicatrisante, ingrédients en produits cosmétique aussi bien dans la conservation des produits alimentaires.

Les huiles essentielles de la partie aérienne de la plante étudié, obtenues par hydrodistillation révélée un rendement de $1,33 \pm 0,035$ %. L'étude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. ont montré un pouvoir remarquable de piégeage du radical libre DPPH ($IC_{50} = 4140 \pm 0,05$ µg/ml) par rapport à celui du l'antioxydant de référence BHT ($IC_{50} = 29,62 \pm 0,13$ µg/ml).

D'autre part l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. vis-à-vis cinq souches bactériennes *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Bacillus subtilis* ; *Pseudomonas aeruginosa* et *Micrococcus luteus* a été réalisé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles présentent une activité variable en fonction des différentes concentrations.

L'évaluation du pouvoir antifongique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. par la méthode de contact direct a révélé une activité inhibitrice contre les champignons *Fusarium moniliform* ; *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*.

Cette étude démontre que la plante étudiée possède des activités biologiques considérables.

Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour des applications de cette plante en santé ou dans le secteur agroalimentaire.

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

ملخص

يهدف هذا البحث الى دراسة الفعالية البيولوجية للزيوت الأساسية للنبتة الطبية الخزامة *Lavandula stoechas* L. التي تم جلبها من منطقة البويرة (الجزائر).

Lavandula stoechas L. الخزامة نبات عطري ينتمي إلى عائلة الشفويات، ينمو بصفة تلقائية وهي منتشرة في الجزائر تدعى محليا بالخزامة أو الحلال. تستخدم في الطب التقليدي كمضاد للتشنج و محو آثار الجروح و في تركيب المواد التجميلية و كذلك في حفظ المواد الغذائية.

تم إستخلاص الزيوت الأساسية لهذه النبتة بواسطة تقنية التقطير hydrodistillation ، و التي أعطت مردود يساوي $0,035 \pm 1,33\%$. أظهرت هذه الزيوت فعالية ملحوظة مضادة للأكسدة إتجاه الجذر الحر DPPH حيث أعطت نسبة تثبيط معتبرة مساوية $0,05 \pm 4140$ ميكروغرام/ملييلتر مقارنة بمضاد الأكسدة المرجعي BHT ($IC_{50} = 0,13 \pm 29,62$ ميكروغرام / ملييلتر).

من جهة أخرى أظهرت نتائج الدراسة أن لهذه الزيوت تأثير كبير على فعالية البكتيريا المختبرة *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ; *Bacillus subtilis* ; *Pseudomonas aeruginosa* و *Micrococcus luteus* باستعمال طريقة الإنتشار في وسط هلامي ، و قد لوحظ أن هذا النشاط هو نشاط مرتبط بالتركيز.

كما بينت دراسة الفعالية المضادة للفطريات للزيوت الأساسية بطريقة الإحتكاك المباشر أن لها نشاط مضاد للفطريات ضد *Aspergillus niger* و *Aspergillus flavus* ; *Fusarium moniliform*.

على ضوء نتائج هذه الدراسة يمكننا القول أن نبتة *Lavandula stoechas* L. تملك فعالية بيولوجية معتبرة. كما يمكن إعتبار هذه النتائج كنقطة إنطلاق لإستعمال هذه النبتة في مجال الصحة أو في القطاع الزراعي الغذائي.

الكلمات المفتاحية : *Lavandula stoechas* L.، الزيوت الأساسية ، الفعالية المضادة للأكسدة، الفعالية المضادة المضادة للبكتيريا، الفعالية المضادة للفطريات.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale..... 01

Chapitre I : synthèses bibliographique

I.1. Généralités..... 03

I.2. Monographie de *Lavandula stoechas* L..... 04

I.2.1. Étymologie..... 04

I.2.2. Synonymes..... 04

I.2.3. Description botanique..... 04

I.2.4. Position systématique..... 05

I.2.5. Aire de répartition..... 06

I.2.6. Utilisation en médecine traditionnelle..... 06

I.2.7. La composition chimique de l'huile essentielle..... 07

I.3. Les huiles essentielles..... 07

I.3.1. Définition..... 07

I.3.2. Procédés d'extraction..... 08

I.3.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante..... 08

I.3.4. Les composants chimiques des huiles essentielles..... 09

I.3.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles..... 10

I.3.5.1. Activité antioxydante..... 11

I.3.5.1.1. Les radicaux libres..... 11

I.3.5.1.2. Le stress oxydatif..... 11

I.3.5.1.3. Les antioxydants.....	12
I.3.5.2. Activité antimicrobienne.....	13
I.3.5.2.1. Activité antibactérienne.....	13
I.3.5.2.2. Activité antifongique.....	14
I.3.6. Toxicité des huiles essentielles.....	14

Chapitre II : Matériel et Méthodes

II.1. Matériel.....	15
II.1.1. Matériel biologique.....	15
II.1.1.1. Matériel végétal.....	15
II.1.1.2. Microorganismes utilisés.....	15
II.1.2. Matériel non biologique.....	16
II.2. Méthodes.....	16
II.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	16
II.2.2. Calcul du rendement des huiles essentielles.....	17
II.2.3. Conservation des huiles essentielles obtenue.....	18
II.2.4. Caractères organoleptiques des huiles essentielles	18
II.2.5. Taux d'humidité.....	18
II.2.6. Activités biologiques des huiles essentielles	19
II.2.6.1. Activité antioxydante.....	19
II.2.6.1.1. Test de DPPH.....	19
II.2.6.2. Activité antimicrobienne.....	22
II.2.6.2.1. Activité antibactérienne.....	22
II.2.6.2.2. Activité antifongique.....	24

II.3. Analyses statistiques.....	26
----------------------------------	----

Chapitre III : Résultats et Discussion

III.1. Extraction des huiles essentielles	27
III.2. Détermination des paramètres organoleptiques des huiles essentielles.....	28
III.3. Détermination du taux d'humidité des huiles essentielles	28
III.4. Evaluation de l'activité biologique des huiles essentielles	29
III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante.....	29
III.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	32
III.4.2.1. Activité antibactérienne.....	32
III.4.2.2. Activité antifongique.....	37
Conclusion et perspective.....	41

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

N ^o	Titre	Page
01	<i>Lavandula stoechas</i> L.	05
02	Dispositif d'extraction par hydrodistillation (Appareil de type Clevenger)	17
03	Structure chimique du radical libre DPPH' (2,2 DiPhenyle-1-Picryl Hydrazyle)	19
04	Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	20
05	Le taux d'humidité et la matière sèche de <i>L. stoechas</i> L.	29
06 a	Activité anti-radicalaire au DPPH des HEs de <i>L. stoechas</i> L.	30
06 b	Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT	30
07	IC ₅₀ en µg/ml des HEs de <i>L. stoechas</i> L. et de standard (BHT).	31
08	Effet antimicrobien des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> L.	35
09	Effet des HEs de <i>L. stoechas</i> L. sur les souches testées	39
10	Effet antifongique des huiles essentielles de <i>L. stoechas</i> L.	39

Liste des tableaux

N^o	Titre	page
I	Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 µl des huiles essentielles	24
II	Rendement en HEs de <i>Lavandula stoechas</i> L.	27
III	Caractéristiques organoleptiques des HEs de <i>L. stoechas</i> L	28
IV	Résultat du test antioxydant exprimant l'IC ₅₀ en µg /ml et AAI	31
V	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les antibiotiques exprimée en mm (moyenne ± SD), transcrite en sensibilité	33
VI	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les HEs exprimée en mm (moyenne ± SD), transcrite en sensibilité	34

Liste des abréviations

AA(%) : Activité antioxydante.

AAI : Indice de l'activité antioxydante.

Abs : Absorption.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ATCC : American Type Culture Collection (catalogue de microorganismes).

BHT: Butyl hydroxy toluène.

CHL: Chloramphénicol.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

DO : Densité optique.

DPPH: 2, 2 -diphényl -1- picrylhydrazyl.

GM: Gentamicine.

HEs : Huiles essentielles.

IC₅₀ : Concentration à 50% de DPPH perdu.

mg/ml : milligramme par millilitre.

MH: Muller Hinton.

PDA: Potato Dextrose Agar.

PI% : Pourcentage d'inhibition.

OFL : Ofloxacin.

Rdt: Rendement.

SD : Déviation standard.

UFC: Units Forming Colony.

Introduction Générale

Introduction Générale

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

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales par l'homme est une pratique antique (**Majinda et al., 2001**), du fait de leurs abondances dans la nature et de leurs propriétés aromatiques présentent des sources potentielles très riches en molécules bioactives. Ces plantes possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles. Aujourd'hui encore, la science confirme les différentes vertus des plantes aromatiques et de leurs huiles essentielles obtenues généralement par hydrodistillation dont les domaines d'application sont très variés qui possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques telle que la propriété antioxydante qui a attiré l'attention de nombreux laboratoires et chercheurs dans le cadre de la recherche d'antioxydants naturels utilisés dans les industries alimentaires comme additifs (**Kezzouna, 2015**) pour retarder l'oxydation des aliments. De plus, la propriété antimicrobienne, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques (**Essawi et Srour, 2000**). Donc ces huiles rentrent également dans la composition de plusieurs médicaments pour le traitement de diverses manifestations pathologique. Aussi dans les cosmétiques, les parfumeries, les industries de savon et de détergents en volume impressionnant, ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (**Yahyaoui, 2005**).

L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques et médicinales (lavande entre autres), *Lavandula stoechas* L. ou lavande papillon (**Benabdelkader, 2012**), sous le nom de "Khûzama ou Helhal", se présente sous forme d'un arbrisseau et très ramifié, à des fleurs de couleur violet et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Cette plante est connue par sa richesse en huile essentielle et par ses propriétés antibactériennes,

Introduction Générale

antifongiques (Cavanagh et Wilkinson, 2002), antioxydant et désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques (Gören et al., 2002),

De nombreux chercheurs s'intéressent aux plantes médicinales pour leur richesse en antioxydants naturels et qui possèdent des activités antimicrobiennes.

Cette étude est menée dans le cadre d'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L.

Pour se faire, plusieurs étapes ont été suivies :

- Préparer les huiles essentielles des parties spécifiques de *Lavandula stoechas* L.
- Détermination de l'activité antioxydante *in vitro* des essences précédentes.
- Tester *in vitro* l'effet antimicrobien des huiles essentielles.
- Analyse statistique permettant de regrouper et de résumer l'ensemble de données ayant des objectifs comparables.
- Analyse des résultats obtenus tout en comparant par ceux obtenues par d'autres auteurs.
- Par la suite une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus suivi par des perspectives importantes qui font suite à ce travail.

Chapitre I

Synthèse

bibliographique

I.1. Généralités

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comprend environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentre dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin (**Botineau, 2010**). La plupart des genres ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles et leur utilisation en tant que condiments ainsi que infusions très prisées. Ainsi, ils ont fait l'objet de plusieurs études scientifiques dans le but d'évaluer la présence de certains métabolites secondaires typiques (**Wink, 2003**). L'ancien nom des Lamiacées : Labiées dérive du nom latin "*labium*" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles.

Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées (Labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs) (**Benabdelkader, 2012**), ces arbustes sont des plantes mellifères et célèbres pour leurs fleurs en épis blancs, roses, bleus ou violets, elles sont agréablement parfumées de mars à septembre (**Philippe, 1993**). On compte 39 espèces de lavandes, toutes originaires des régions sèches, ensoleillées et rocailleuses du monde (**Saadatian et al., 2013**).

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

Selon **Quezel et Santa (1963)** le genre *Lavandula* de la famille des Lamiacées ne regroupe que cinq (5) espèces :

- *L. Stoechas* L : "Helhal", "Amezzir".
- *L. dentata* L : " Djaïda ".
- *L. coronopifolia* Poiret (= *L. stricta* Del) : " Ehrer".
- *L. multifida* L : "Kammoun el djmel".
- *L. pubescens* Dec : "Tehenok".

Notre travail porte sur l'étude d'une espèce de la famille des lamiacées: *L. stoechas* L.

I.2. Monographie de *Lavandula stoechas* L.

I.2.1. Étymologie

Le mot *lavande* dérive du verbe laver, il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) mais peut remonter au latin *lavare* qui signifie laver et aussi se baigner (Ryley, 1998).

Le Dr T. B. (1926) donne comme définition du mot *Stoechades* : vient du grec *stoechades* et signifie «rangées en lignes» (Barbier, 1963).

I.2.2. Synonymes

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

I.2.3. Description botanique

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

-Fleurs : de couleur mauve foncé (figure 01), en épis courtement pédonculés, ovales ou oblongs, compacts, quadrangulaires, surmontés d'une houppe de grandes bractées stériles violettes. Bractées fertiles larges, obovales-subtrilobées, membraneuses, veinées, plus courtes que le calice très velu. Carpelles ovales à 3 angles (Jullien, 2016).

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

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

La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne (**Giray et Kirici, 2008**).

I.2.4. Position systématique

D'après **Quezel et Santa (1963)**, la systématique de *L. stoechas* L. est la suivante :

Règne : plantes.

Embranchement : Phanérogames ou Spermaphytes.

Sous-embranchement : Angiospermes.

Classe : Dicotyledones.

Sous-classe : Astéridées.

Ordre : Lamiales (Labiales).

Famille : Lamiaceae ou Labieae.

Genre : *Lavandula*.

Espèce : *Lavandula stoechas* L.

Nom vernaculaire algérien : "Helhal", "Amezzir", "Khûzama".

Nom français : 'Lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet' (figure 01).



Figure 01. *Lavandula stoechas* L. (**Originale, 2017**).

I.2.5. Aire de répartition

La répartition du genre *Lavandula* est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient), largement distribué dans les Iles canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, Sud West de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde (**Quezel et Santa, 1963 ; Upson et al., 2000**).

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

I.2.6. Utilisation en médecine traditionnelle

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

L. stoechas L. possède des propriétés thérapeutiques remarquables ; La décoction des feuilles est utilisée dans le cas d'infections intestinales, de gastralgies ; mais c'est surtout pour ses propriétés antitussives qu'il est largement recommandé. Les fleurs en décoction apaisent l'hystérie, ingérées telles quelles, elles seraient également efficaces pour calmer la toux, l'asthme (**Beloued, 2005**) et pour la lutte contre les insectes comme insectifuge (**Skoula et Abidi, 1996 ; Mennal et Chennafi, 2015**) ou insecticide (**Gören et al., 2002**).

Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruant, et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques (**Said, 1996**).

La plante est également employée traditionnellement dans la médecine populaire comme anti-inflammatoire (**Sosa et Altinier, 2005**), antispasmodique (**Gören et al., 2002**) dans les douleurs des coliques (**Nadkarni, 1982 ; Usmanghani et al., 1997 ; Siddiqui et al., 2016**), anti-carcinogène, antidépresseur, antioxydant (**Gören et al., 2002**), expectorant et stimulant (**Giray et Kirici, 2008**).

L'HEs est un précieux remède des premiers secours, elle est accélère la guérison des brûlures des plaies (action cicatrisante, réparatrice (**Mennal et Chennafi, 2015**) et désinfectant des plaies contre les problèmes dermiques (**Gören et al., 2002**), a aussi des effets

positifs sur les infections urinaires, les maladies cardiaques, l'eczéma (Baytop, 1999), spasmolytiques, contre le diabète, la fièvre (Chu et Kemper, 2001), les douleurs menstruelles féminines, les calculs rénaux, l'anthrax, l'otite, l'hypertension (Skoula et Abidi, 1996) et pour traiter l'infertilité (Chu et Kemper, 2001). Il est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie. En effet, celle-ci analgésiques (calmante), antiseptiques (Baytop, 1999 ; Beloued, 2005) sédatives (Baytop, 1999; Gören et al., 2002 ; Siddiqui et al., 2016), antimicrobiennes (Asimgil, 1997; Gören et al., 2002), antibactériens, antifongiques et antidépresseurs (Cavanagh et Wilkinson, 2002).

I.2.7. La composition chimique des huiles essentielles

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

L. stoechas L. renferme comme composés phytochimiques : α pinène, β pinène, β santalène, borneol, camphre, caryophyllène, coumarine, geraniol, limonène, linalol, luteoline, 1,8-cinéole, acide rosmarinique, tannin, umbellifère, acide ursolique (Esiyok, 2004). Le fenchone et le myrtenyl acétate constituent les composés majoritaires avec des pourcentages importants des HES des boutons floraux (rendement : 1,3 %), le β -pinène, le 1,8 cinéole, le camphor et le borneol sont les composés majoritaires des HES des tiges et des feuilles (rendement : 0,885%) (Skoula et Abidi, 1996).

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

I.3. Les huiles essentielles

I.3.1. Définition

Plusieurs définitions sont disponibles des HES.

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

AFNOR (1996) donne une définition des HEs qui est la suivante : «Les HEs sont des produits obtenus à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche».

Les HEs sont des composés naturels, complexes, de structures organiques variées, liquide, odorantes, volatiles, synthétisées par les plantes aromatiques et médicinales (PAM) comme métabolites secondaires (Bakkali et al., 2008) et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches et les bois. Elles sont très sensibles aux variations de température, à la lumière et à l'oxygène (Cherrat, 2013) et présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal (Padrini et Lucheroni, 1996).

I.3.2. Procédés d'extraction

Il existe plusieurs méthodes pour l'extraction des HEs. Elles incluent l'utilisation de méthodes nouvelles telles que l'extraction par le Dioxyde de Carbone (CO₂) liquide ou l'extraction assistée par ultrasons ou microondes (Kimbaris et al., 2006) et des méthodes plus générales à savoir l'entraînement par la vapeur, l'hydro-distillation, par expression à froid pour les Citrus ou effleurage pour les fleurs. L'hydro-distillation et l'entraînement par la vapeur sont les plus utilisés au niveau laboratoire et commercial puisqu'ils ne requièrent pas de technologie sophistiquée et un bon rendement est obtenu (Burt, 2004 ; Kulisic et al., 2004).

I.3.3. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Il arrive très fréquemment que la composition de l'HEs d'une plante est très variable, selon qu'elle soit extraire de l'un ou l'autre organe de cette plante (Chemloul, 2014).

Dans certaines plantes, l'essence est produite par des tissus sécréteurs. Dans d'autres, elle se trouve en liaison glucosidique à l'intérieur des tissus et ne se manifeste que lorsqu'on froisse, écrase, sèche ou distille la plante (Schauemberg et Paris, 2010).

Les essences sont sécrétées dans différentes parties variant selon la plante aromatique. Ce peuvent être de minuscules cellules épidermiques dans les pétales de la rose ou des poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les Labiées ou de grosses cellules disposées au sein des tissus végétales : tiges, écorces, racines, feuilles, semences (Scimeca et Tétou, 2005).

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

I.3.4. Les composants chimiques des huiles essentielles

Les HEs sont des produits de composition assez complexe et plus ou moins modifiés au cours de la préparation qui sont présentes, à l'état naturel, en faible quantité dans le végétal (**Bruneton, 1999**). Chaque huile est caractérisée par quelques composantes majoritaires qui peuvent atteindre des concentrations assez élevées par rapport à d'autres composants présents à des quantités infimes (**Zouari, 2012**). Ces composants peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (**Buchanan et al., 2000**).

I.3.4.1. Les terpénoïdes

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal dont la majorité est rencontrée dans les HEs 90% (**Padua et al., 1999**). Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique IPP (iso-pentényl-pyrophosphate) à cinq atomes de carbone (C₅H₈) reconnue par Wallach dès 1887 in Lamarti et al. (1994). Leur classification est basé sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C₅), monoterpènes (C₁₀), sesquiterpènes (C₁₅), diterpènes (C₂₀), sesterpènes (C₂₅), triterpènes (C₃₀), tétraterpènes (C₄₀), polyterpènes (**Maleeky et al., 2007**). Dans la composition de la plupart des HEs, les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie (**Calsamiglia et al., 2007; Benchaar et al., 2008**).

Les terpénoïdes sont responsables de la couleur et l'odeur des plantes et des épices (piments, curies) (**Langenheim, 1994**) et ont des propriétés biologiques et pharmacologiques variées : cytostatiques, antiviraux, anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, cytoprotectives, immunomodulatrices, analgésiques, antibactériennes et antifongiques (**Eder et al., 2008; Bruneton, 2009**).

I.3.4.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes (**Baser et Buchbauer, 2010 ; Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). Ils sont caractérisés par un noyau aromatique lié

à une chaîne de trois atomes de carbone propène (Hyldgaard *et al.*, 2012). Très souvent, il s'agit d'allyle et de propénylphénol.

Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HEs (Kunle et Okogum, 2003).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les HEs d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc (Scimeca, 2007).

I.3.5. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens. Dans les domaines phytosanitaires et agro-alimentaires, les HEs ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. Les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc (El kalamouni, 2010).

Dans la nature, les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes en tant que substances antibactérienne, antiviral, antifongique, insecticide (Nerio *et al.*, 2010), et aussi contre les herbivores en réduisant leur appétit pour une telle plante. Elles peuvent attirer aussi des insectes en favorisant la dispersion de pollens et graines, ou au contraire repousser d'autres indésirables (Bakkali *et al.*, 2008), elles exercent aussi un effet allélopathique en inhibant la germination et le développement d'autres espèces dans leur voisinage (De feo *et al.*, 2002).

I.3.5.1. Activité antioxydante

I.3.5.1.1. Les radicaux libres

Un radical libre est défini comme toute molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés (**Jacques et André, 2004**), cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre (**Martinez-Cayuela, 1995**).

I.3.5.1.2. Le stress oxydatif

a. Définition

Le stress oxydatif est défini comme étant le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (**Boyd et al., 2003**).

b. Les conséquences du stress oxydatif

La production des radicaux libres provoque des lésions directes de molécules biologiques (oxydation de l'ADN, des protéines, des lipides, des glucides), mais aussi des lésions secondaires dues au caractère cytotoxique et mutagène des métabolites libérés notamment lors de l'oxydation des lipides (**Favier, 2003**). Les radicaux libres peuvent induire l'arrêt des réplifications de l'ADN. Ils agissent en provoquant des altérations de bases, des pontages ADN-protéines ou des ruptures de brins (**Hadi, 2004 ; Shimizu, 2004**). Ils inhibent la sécrétion d'insuline (**Krippeit-Drews et al., 1994**), modifient les structures primaire, secondaire et tertiaire des protéines (**Pincemail et al., 1999**). Par ailleurs, le glucose peut s'oxyder dans des conditions physiologiques, en présence de traces métalliques, en libérant des cétoaldéhydes, peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et le radical hydroxyle (OH^*), qui entraîneront la coupure de protéines ou leur glycation par attachement du cétoaldéhydes. Ce phénomène de glycosoxydation est très important chez les diabétiques et contribue à la fragilité de leurs parois vasculaires et de leur rétine (**Favier, 2003**).

Le stress oxydant, principale cause initiale de plusieurs maladies: cancer, cataracte, sclérose latérale amyotrophique, syndrome de détresse respiratoire aigu, œdème pulmonaire, vieillissement accéléré, le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies

cardiovasculaires (**Favier, 2003**), maladie de Parkinson, les inflammations gastro-intestinale, ulcère (**Atawodi, 2005**), les œdèmes et vieillissement prématuré de la peau (**Georgetti et al., 2003**).

I.3.5.1.3. Les antioxydants

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (**Halliwell et Gutteridge, 2007**). Ainsi, ils servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (**Tang et Halliwell, 2010**).

Les antioxydants piègent les radicaux libres en inhibant les réactions à l'intérieur des cellules provoquées par les molécules de dioxygène et de peroxyde, aussi appelées espèces oxygénées radicalaires (ERO) et espèces azotées radicalaires (ERN) (**Benbrook, 2005**).

Les molécules impliquées dans la défense antioxydante peuvent se diviser en des antioxydants endogènes (superoxyde dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathion peroxydase (GPX)...) et des antioxydants naturels (vitamine E, vitamine C, les caroténoïdes, des composés phénoliques, HEs...). Un régime alimentaire optimisé et riche en antioxydants naturels peut jouer un rôle primordial dans le système de défense antioxydant (**Willcox et al., 2004**). Récemment, la recherche d'antioxydants naturels spécialement à partir de plantes a largement augmenté et apparaît comme une alternative attractive pour substituer les antioxydants synthétiques (**Cherrat, 2013**).

Les antioxydants ont été largement utilisés comme additifs alimentaires pour fournir une protection contre la dégradation oxydative des aliments, la décoloration et pour allonger leur durée de vie surtout les aliments gras. Les antioxydants les plus utilisés commercialement sont synthétiques ex. hydroxytoluènebutylé (BHT) et hydroxyanisolebutylé (BHA) et le butyle hydroquinone tertiaire (TBQH); toutefois ils peuvent provoquer des effets secondaires toxiques sur la santé (**Dorman et Hiltunen, 2004 ; Tepe et al., 2006 ; Nickavar et al., 2008**).

I.3.5.2. Activité antimicrobienne

Les HEs ont été considérées comme les agents antimicrobiens les plus efficaces présents dans les plantes aromatiques (**Essawi et Srour, 2000**). Ces plantes aromatiques ainsi que leurs HEs contiennent un grand nombre de substances actives ayant des propriétés létales

ou inhibitrices de l'activité métabolique des bactéries, levures et moisissures (**Reichling et al., 2009**).

Dans les années 1990, Muanza et ses collaborateurs ont recherché des extraits de plantes potentiellement bioactifs contre les bactéries et les moisissures (**Muanza et al., 1995**). Depuis, beaucoup d'autres chercheurs ont rapporté l'effet antimicrobien (**Cowan, 1999 ; Mau, 2001; Hoffman, 2004**) et antifongique (**Deferera et al., 2000 ; Sridhar et al., 2003 ; Rakotonirainy et Lavedrine, 2005**) des HEs dans l'application agroalimentaire, la recherche pharmaceutique et dans d'autres domaines. Plusieurs composés sont souvent cités comme responsable des propriétés antiseptiques des HEs : le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (**Hubert, 2008**).

I.3.5.2.1. Activité antibactérienne

Les HEs ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celle des moisissures et des levures. Elles ont une action sur les bactéries Gram +, Gram ⁻ et les entérocoques (**Raymond, 2005**). Leur activité antibactérienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**) et à leur effet synergique (**Zhiri, 2006**).

La connaissance des molécules porteuses de l'activité antibactérienne est de première importance. Elles appartiennent, entre autre, au groupe des phénols (le carvacrol, le thymol et l'eugénol) (**Francomme et Penoel, 1990**). Les phénols entraînent notamment des lésions irréversibles sur les membranes et sont utiles dans les infections bactériennes, quelle que soit leur localisation. Le thymol et l'eugénol sont responsables des activités bactéricides des HEs qui en contiennent. La molécule de thymol exerce un effet inhibiteur et létal sur différentes souches et, parmi elles, *Echerichia coli* et *Staphylococcus aureus*, sur lesquelles elle provoque des fuites d'ions potassium. Par contre, elle n'est pas active sur *Pseudomonas aeruginosa* (**Zhiri, 2006**).

Les alcools à dix atomes de carbone (géraniol, linalol, terpinéol, menthol...) et l'aldéhyde cinnamique viennent immédiatement après les phénols et possèdent une activité anti-infectieuse. De nombreuses autres molécules comme les aldéhydes (néral, citral), les cétones (bornéone du camphre), les éthers, les oxydes, les phtalides et les terpènes ont des activités antibactériennes non négligeables (**Francomme et Penoel, 1990**).

I.3.5.2.2. Activité antifongique

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

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

Chao et al. (2000) ont expliqués que l'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale.

I.3.6. Toxicité des huiles essentielles

Les HEs contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxique (**Kezzouna, 2015**).

Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des HEs est d'autant plus important que leur utilisation, de plus en plus populaire, tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie.

Les HEs de Lamiaceae peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles ingérées à forte dose (**Kezzouna, 2015**). Certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) (**Smith et al., 2000**) ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines (**Naganuma et al., 1985**)). D'autres HEs ont un effet neurotoxique (**Guba, 2001**). Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Franchomme et Pénéol, 1990**). Il existe aussi quelques HEs dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et al., 1968**).

Chapitre II

Matériel et méthodes

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel biologique

II.1.1.1. Matériel végétal

a. Critères de choix de la plante

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

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

b. Récolte, identification et conservation

La partie étudiée de la plante *L. stoechas* L. est la partie aérienne (sommités fleurées). Cette plante a été récolté le mois de Mars 2017 au stade de floraison, où il y'a accumulation importante des substances bioactives, à partir de la population végétale spontanée de la wilaya de Bouira, Algérie.

L'identification botanique de l'espèce a été effectuée par le botaniste Mr SARRI Djamel au niveau du département de sciences de la nature et de la vie, Université de Mohammed Boudiaf M'sila (Algérie).

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

II.1.1.2. Microorganismes utilisés

a. Souche bactériennes

Le choix des microorganismes a été porté sur cinq souches de collection internationale ATCC (American type culture collection) fréquentes en pathologie humaine. Certaines d'entre eux sont souvent responsables de toxi-infections alimentaires constituant ainsi un problème majeur de santé publique, et sont caractérisées par leur résistance naturelle à divers agents antimicrobiens.

Deux groupes de bactéries ont été sélectionnés:

- Des bactéries Gram positif (Gram+): *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 65 38, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) ATCC 66 33.
- Des bactéries Gram négatif (Gram-): *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 90 27, *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 87 39, *Micrococcus luteus* (*M. luteus*) ATCC 469.

Ces souches ont été fournies aimablement par les responsables du laboratoire de Microbiologie du complexe Antibiotical SAIDAL de Médéa, et de l'Institut Pasteur.

b. Souche fongiques

Les souches fongiques testées (*Fusarium moniliform* (*F. moniliform*), *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) et *Aspergillus niger* (*A. niger*) dans le présent travail sont provenues du laboratoire de microbiologie de département des Sciences de la Nature et de la Vie à l'Université de Mohamed Boudiaf de M'sila.

c. Conservation des souches

Elle a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose nutritive inclinée dans des boîtes de pétri, les cultures pures sont conservées à + 4 °C à l'obscurité.

II.1.2. Matériel non biologique

Des antibiotiques ont été utilisés comme références (témoins positifs). Les équipements, la verrerie et les milieux de culture utilisés sont mentionnés dans l'Annexe 1.

II.2. Méthodes

II.2.1. Extraction des huiles essentielles

II.2.1.1. Principe

Les huiles essentielles de la plantes (*L. steochas* L.) sont extraites par le procédé d'hydrodistillation, grâce à un appareil du type Clevenger qui est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée et une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) (**Clevenger, 1928**).

II.2.1.2. Mode opératoire

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

Les vapeurs chargées des HEs passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. Les HEs de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium (Na_2SO_4), pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile (Figure 02). Les HEs obtenues ont été pesées et conservées dans des flacons en verre.

L'opération d'extraction dure trois heures (h) à partir du début d'ébullition (**Bajpai et al., 2008**).



Figure 02. Dispositif d'extraction par hydrodistillation (Appareil de type Clevenger)
(Originale, 2017).

II.2.2. Calcul du rendement de l'huile essentielle

Le rendement en HEs est défini comme étant le rapport entre la masse des HEs obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée (**AFNOR, 2000**). Le rendement (Rdt) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante (**Selvakumar et al., 2012**) :

$$\text{Rdt}_{\text{HE}} = \text{M}_{\text{HEs}} / \text{M}_{\text{vg}} \times 100$$

Où :

Rdt_{HE}: Rendement de l'extraction d'HE en pourcentage (%).

M_{HE} : Masse de l'HE récupérée en gramme (g).

M_{vg} : Masse d'essai de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

II.2.3. Conservation des huiles essentielles obtenues

La conservation des HEs exige certaines précautions indispensables (Burt, 2004). C'est pour cela nous avons conservé les HEs des fleurs du *L. stoechas* L. à une température basse voisine de (4°C), dans un flacon en verre stérile, opaques, fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (en utilisant le papier d'aluminium).

II.2.4. Caractères organoleptiques des huiles essentielles

Les différentes caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) de l'HEs de *L. stoechas* L., ont été notées.

II.2.5. Taux d'humidité

Le taux d'humidité ou la teneur en eau est définie comme étant la perte de poids subit lors de la dessiccation (Audigié et al., 1978) et a été déterminée par le procédé de séchage dans l'étuve à 105 °C, 2g de la matière fraîche été étuvé pendant 4 heure ; trois répétitions ont été réalisées, dont la moyenne représenterait le taux d'humidité (Simpson, 1999 ; Twidwell et al., 2002).

Le taux d'humidité de cette plante est calculé par la formule suivante (Simpson, 1999; Twidwell et al., 2002) :

$$\text{H\%} = (\text{Poids } \alpha - \text{Poids } \beta) / \text{Poids } \alpha \times 100$$

H% : taux d'humidité exprimé en %.

α : Poids de l'échantillon « plante fraîche » en g.

β : Poids de l'échantillon « plante sèche » en g.

II.2.6. Activités biologiques des huiles essentielles

II.2.6.1. Activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes (Doukani et al., 2014). L'activité antioxydante *in vitro* des HEs de *L. stoechas* L. a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage d'un radical en utilisant le réactif " 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle " (DPPH) comme radicale stable.

II.2.6.1.1. Test de DPPH

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres et il s'agit la méthode la plus largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure. 03) (Popovici et al., 2009). Ce test vise à mesurer la capacité de l'huile à piéger le radical relativement stable (DPPH).

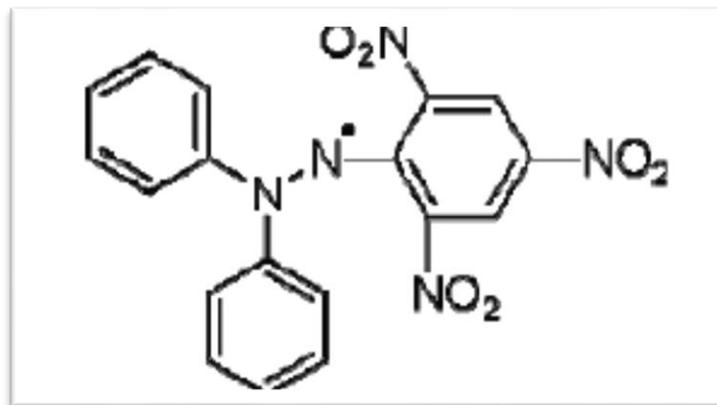


Figure 03. Structure chimique du radical libre DPPH' (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle) (Popovici et al., 2009).

a. Principe de la méthode

La réduction du radical libre DPPH' (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV- Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance (Abs) à 517 nanomètre (nm) provoquée par les antioxydants (Molyneux et Songklanakarinn, 2004). En présence des piègeurs des radicaux libres, le DPPH provoque un changement de couleur de la solution initiale du violet foncé au jaune suite à la réduction du DPPH en DPPH-H (diphényl-picrylhydrazine) (Figure 04) (Maataoui et al., 2006).

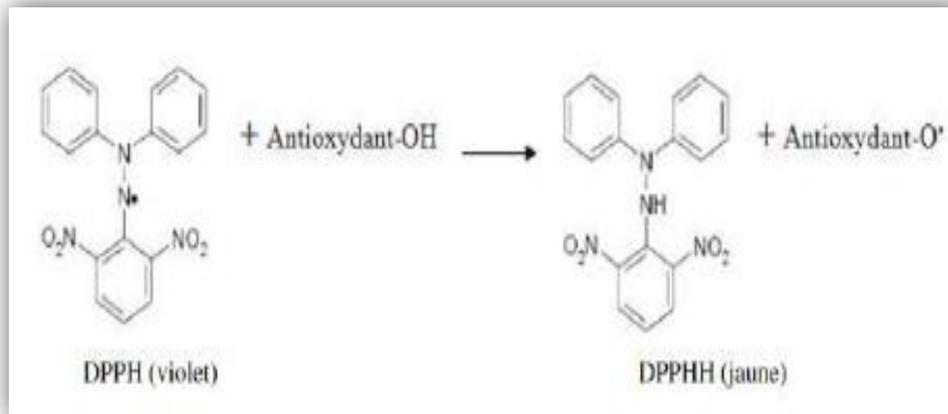


Figure 04. Réaction de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) (Congo, 2012).

b. Mode opératoire

La capacité des HEs de la plante à piéger le radical libre DPPH est évalué en utilisant la méthode décrite par **Blois 1958**, suivi du calcul de l'IC₅₀ et de l'indice de l'activité antioxydante (AAI) (**Scherer et Godoy, 2009**).

Les solutions mères des HEs ont été préparées dans l'éthanol à une concentration de 15 mg/ml. 1,5 ml de chaque solution sont mélangés avec 0,5 ml d'une solution éthanolique de DPPH (0,1mM).

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 1,5ml d'éthanol avec 0,5ml d'une solution éthanolique de DPPH.

Une expérience de contrôle positif a été effectuée en utilisant le BHT dont les concentrations varient entre 1 et 60 µg/ml.

Les mélanges réactionnels est agités vigoureusement et incubé 30 min à l'obscurité et à température ambiante. Les absorbances sont mesurées à 517 nm. L'expérience est réalisée en triplicata.

c. Expression des résultats

- **Calcul de pourcentage d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition (P I %) du radical libre DPPH a été calculé avec la formule suivante (Leitao et al., 2002 ; Wang et al., 2002) :

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

PI : Pourcentage d'inhibition exprimé en %.

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

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

- **Calcul de concentration inhibitrice IC₅₀**

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

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

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

- **L'indice de l'activité antioxydante**

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

$$\text{AAI} = \text{concentration finale de DPPH } (\mu\text{g/ml}) / \text{IC}_{50} (\mu\text{g/ml}).$$

Les résultats d'AAI sont exprimés comme suite:

AAI < 0.5 → faible activité antioxydante.

1 > AAI > 0.5 → activité antioxydante modérée.

2 > AAI > 1 → forte activité antioxydante.

AAI > 2 → très forte activité antioxydante.

II.2.6.2. Activité antimicrobienne

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

Nous envisageons dans ce présent travail, l'étude *in vitro* de l'activité antimicrobienne (l'activité antifongique et l'activité antibactérienne) des HEs isolés à partir de *L. stoechas* L.

II.2.6.2.1. L'activité antibactérienne

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

a. Principe de la méthode

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

Pour obtenir des résultats fiables, il faut travailler dans des conditions standardisées car plusieurs facteurs peuvent influencer les résultats: la densité de l'inoculum, la température, le temps d'incubation, la concentration du produit à tester, la composition du milieu de culture ainsi que l'épaisseur de la gélose (**Guerin-Fauble et Carret, 1999**).

b. Mode opératoire

La méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé est utilisée pour la détermination de l'activité antibactérienne des HEs selon la méthode décrite par **Gulluce et al. (2007)**.

▪ Préparation de l'inoculum

Les espèces cibles (souches bactériennes choisies) ont été revivifiées et repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à des températures optimales de développements (37 °C) pendant 18 heures pour l'obtention d'une culture jeune. Par la suite, des suspensions troubles de ces souches seront réalisées en prélevant 3 à 5 colonies bien isolées et identiques. On les dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. Les concentrations

bactériennes de l'inoculum sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre. Une DO de 0,08 à 0,1 correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml (units forming colony/ ml) (Sarac et Ugur, 2007 ; Athamena *et al.*, 2010 ; Karatas et Ertekin, 2010).

- **Ensemencement**

Dans des boîtes de Pétri, le milieu de culture gélosé MH en surfusion est coulé aseptiquement à raison de 15 ml par boîte. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum. On laisse sécher les boîtes pendant 15 à 20 min.

- **Test de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme**

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer avec l'effet des HEs. Les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papiers imprégnés d'huile essentielle.

Nous avons utilisé trois antibiotiques différents, Ofloxacin 5µg (Ofl), Gentamicine 10µg (GM), Chloramphénicol 30µg (CHL). Le choix a été fait en fonction de la disponibilité.

- **Test de sensibilité aux huiles essentielles : Aromatogramme**

La solution mère est préparée par solubilisation de l'HEs brute dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) à 10%, pour atteindre une concentration initiale de 100 mg/ml.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre stérilisés de 6 mm de diamètre (Whatman n°1), stérile sont déposés à la surface de la gélose ensemencée à raison de quatre disques par boîte. Chaque disque est ensuite imprégné d'une quantité de 10 µl de l'HEs de différentes concentrations.

Les disques de papier filtre stérilisés de 6 mm de diamètre (Whatman n°1), imprégnés de 10 µl de DMSO sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince bactériologique stérile. Le DMSO est utilisé comme contrôle négatif.

- **Incubation**

Toutes les boîtes de Pétri sont scellées avec du parafilm stérile pour éviter l'évaporation éventuelle de l'HEs. Elles sont maintenues à 4 °C pendant 2 heures, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures.

- **Expression des résultats**

Les résultats des aromatogrammes sont exprimés exclusivement à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions, en millimètre et enregistrée en tant que moyenne \pm Erreur standard. Tous les tests sont effectués en triplicata.

Cette mesure est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité antimicrobienne (Tableau I).

Tableau I. Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés de 10 μ l des HEs (Belaiche, 1979).

INHIBITION* mm	TRANSCRIPTION	SENSIBI LITE
0	0	Résistant
<5	\pm	Peu sensible
>10	+	Sensible
20 à 30	++	Assez sensible
> 30	+++	Très sensible

* valeur du diamètre du disque imbibé soustraite

II.2.6.2.2. L'activité antifongique

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

a. Principe de la méthode

L'HEs à tester est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Après solidification, le milieu estensemencé et incubé.

Les résultats donnent la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle nous n'observons pas de croissance à l'œil nu (Tantaoui et al., 1992 ; Kuete et al., 2004).

b. Protocole expérimental

- **Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentration d'huiles essentielles**

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

Les milieux de différentes concentrations de 0,1 % ; 0,25 % et 0,75% en HEs avec le tween 20, sont incorporées dans le milieu de culture PDA puis on agite pendant 5 minutes par une plaque chauffante pour homogènes le milieu de PDA avec l'HEs.

Ces concentrations sont préparées de la façon suivante :

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

- **Ensemencement et incubation des boîtes de pétri**

Le mélange de chaque un milieu, est coulé dans des boites de Pétri de 9 cm de diamètre puis laisse ces boites sur la pailleasse pour le refroidissement et la solidification.

A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, nous découpons un fragment de culture fongique d'environ 6 mm de diamètre à partir d'un tapis mycélien âgée de 7 jours, est déposé au centre de la boîte de pétri (1 disque/boite).

Nous opérons de la même façon pour chaque champignons et chaque concentration d'HEs, les boites de pétri sont ensuite fermées hermétiquement par le parafilm et incubées à 25°C, pendant 7 jours.

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

- **Expression des résultats**

a. Taux d'inhibition (TI%)

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

$$TI \% = 100 \times (dC - dE) / dC$$

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

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

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

ddi = Diamètre de disc initiale (6mm).

b. Détermination des concentrations inhibitrices (CMI)

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

Les boites de Pétri dont les concentrations ayant montré une absence totale de la croissance mycélienne; ont été sélectionnées pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI).

II.3. Analyses statistiques

Les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne \pm erreur standard à la moyenne. L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Graph pad Prism. Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour $p < 0,05$ dans l'ensemble des analyses statistiques en utilisant l'analyse de la covariance « One way » le test de Tukey et de Dunnette.

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation conventionnelle des parties aériennes fleuries de *L. stoechas* L. ont été optimisées puis réalisées dans des conditions opératoires strictement identiques sur une population algérienne sauvage. Le rendement en HEs de cette population de *L. stoechas* L. est exposé dans le tableau suivant (Tableau II) dont la valeur représente la moyenne des rendements d'extraction obtenue sur 3 extractions indépendantes.

Tableau II. Rendement en l'HEs de *L. stoechas* L.

Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

Espèce	Essai	Rdt (%)	
<i>L. stoechas</i> L.	1	1,37	1,33 \pm 0,035
	2	1,33	
	3	1,30	

Cette population étudiée est présentée un rendement important $1,33 \pm 0,035$ % par rapport aux résultats obtenus par **Benabdelkader (2012)** indiquent que les fleurs sèches de la lavande provenant de six (6) wilaya d'Algérie (Skikda, Jijel, Boumerdes, Médéa, Ain Defla, Chlef et trois régions presque de la même localité de wilaya de Bouira (Lakhedaria, Ain Bessam, Taguedit)) présentent des teneurs en HEs respectivement (0,71% ; 0,79% ; 1,16% ; 0,34% ; 0,36% ; 0,52% ; 0,52 % ; 1,63% ; 0,6%).

Même si toutes ces études indiquent une forte variabilité dans la teneur en HEs de populations sauvages de *L. stoechas* L., elles sont toutes d'accord pour dire que cette espèce, comme quelques autres espèces de lavande est riche en HEs et permet de la considérer comme une plante aromatique (**Lis-Balchin, 2002**).

Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs : l'organe de la plante (**Vekiari et Protopapadakis, 2002**) notamment le degré de maturité des fleurs, l'interaction avec l'environnement (type de climat, sol), le génotype, l'origine géographique de la plante, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Svoboda et Hampson, 1999; Smallfield, 2001**), le moment de la récolte et la méthode d'extraction (**Botton, 1990**). Plusieurs travaux aussi relatifs au séchage des plantes aromatiques et médicinales indiquent des modifications considérables, particulièrement sur le plan quantitatif au niveau des HEs. Or, une plante si elle

n'est pas séchée dans de bonnes conditions, elle risque de se dégrader et par suite, la perte de la totalité de ses HEs (Aghfir *et al.*, 2007).

III.2. Détermination des paramètres organoleptiques des huiles essentielles

Les paramètres organoleptiques de nos HEs (Tableau III) sont en accord avec les travaux de Benabdelkader (2012):

Tableau III. Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *L. stoechas* L.

Origine d'huile	Aspect	Couleur	Odeur
Essentielle			
Benabdelkader (2012)	Liquide mobile, Limpide	Jaune claire à jaune relativement foncé	Très forte et persistante
HE de <i>L. Stoechas</i> L.	Liquide Limpide	Jaune foncé	Forte odeur et persistante

III.3. Détermination du taux d'humidité des huiles essentielles

Les végétaux sont riches en eau, les analyses de notre échantillon ont révélé un taux d'humidité important correspond à environ 74,62 %. Cela signifie approximativement plus de la moitié du poids de la plante fraîche est constituée par l'eau et le reste du poids de la plante (25,38 %) c'est la matière sèche (figure 05).

Parallèlement Bachiri *et al.* (2016) au Maroc montre aussi le taux d'humidité de cette espèce est constituée plus de la moitié du poids frais (64 %). L'inversement de Mohammedi (2006) illustre le taux d'humidité de la plante fraîche de la région d'Oum el Alou de Tlemcen (Algérie) est constitué la moitié (52,5 %) du poids.

Plusieurs facteurs pourraient influencer la teneur en eau et en matière sèche des plantes comme la nature des fibres, l'âge des plantes, l'état du sol et la durée de conservation du végétal après récolte (Bachiri *et al.*, 2016).

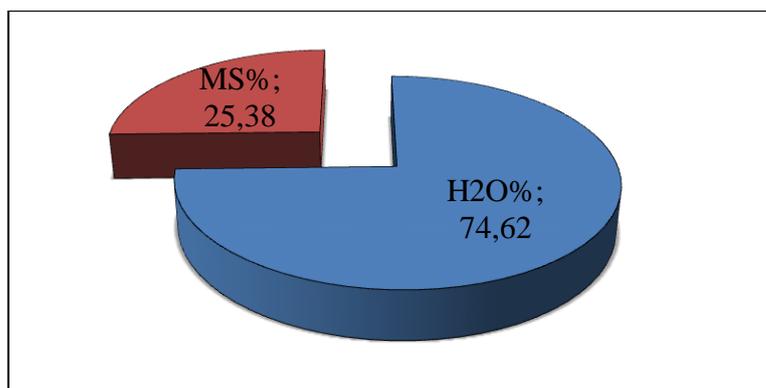


Figure 05. Le taux d'humidité et la matière sèche de *L. stoechas* L.

III.4 Evaluation de l'activité biologique des huiles essentielles

III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante

L'utilisation de plusieurs méthodes analytiques complémentaires est recommandée pour l'évaluation de l'efficacité antioxydante des HEs (Sacchetti et al., 2005 ; Sarikurkcu et al., 2010).

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

Dans notre travail l'objectif est évaluer l'AA des HEs de *L.stoechas* L. par le test de piégeage du radical DPPH pour déterminer l'IC₅₀, cette dernière a été employé par plusieurs groupes de chercheurs afin de pour présenter leurs résultats (Abdulmajed et al., 2005 ; Ranga et al., 2009 ; Ahmad et al., 2012).

Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violet foncé) est converti en 2,2-diphényl-1-picryle hydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm (Molyneux, 2004).

A partir des valeurs obtenues de l'Abs (ou DO), les PI des HEs et l'antioxydant standard (BHT) ont été calculés. Les résultats lors de ce test ont permis de tracer les courbes de la figure 06 (06 a, 06 b), qui représente le PI en fonction de la concentration.

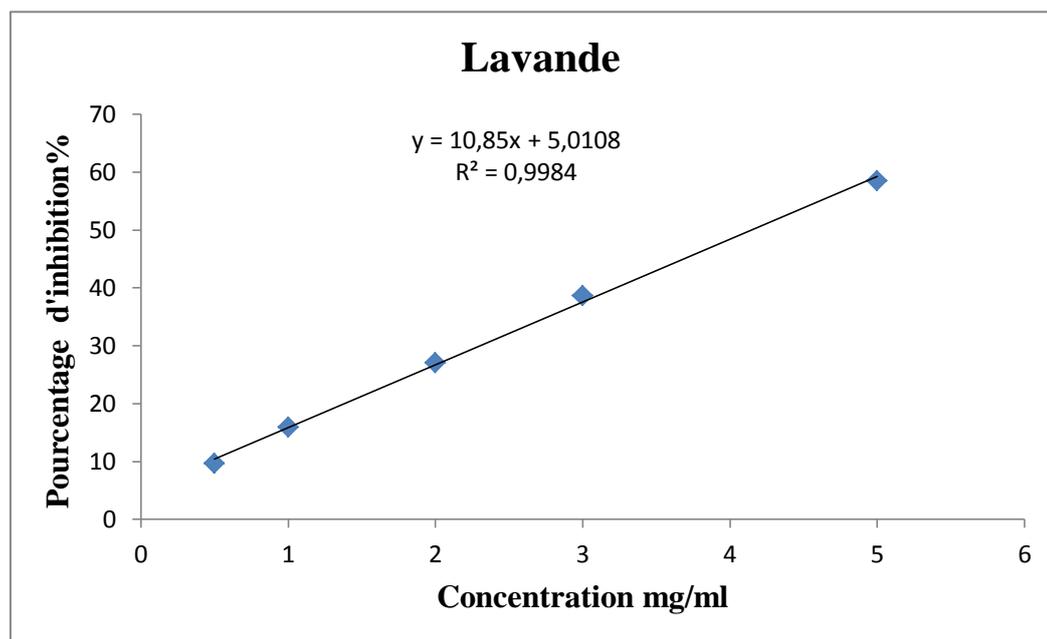


Figure 06 a. Activité anti-radicalaire au DPPH des HEs de *L. stoechas* L.

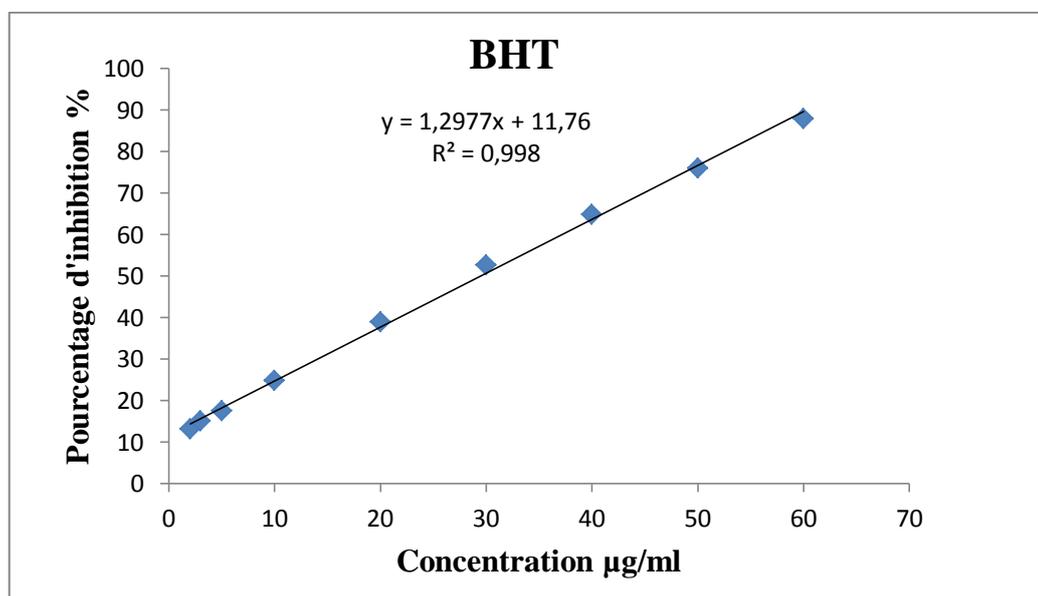


Figure 06 b. Activité anti-radicalaire au DPPH de standard BHT.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour les HEs ou pour le BHT.

La cinétique du pourcentage d'activité antiradicalaire nous a permis de déterminer l'IC₅₀, qui correspond à la concentration d'HEs, ou de BHT nécessaire à l'inhibition de 50% du DPPH présent dans le milieu. Notant que plus l'IC₅₀ est faible plus l'activité antioxydante

du composé est importante. Les résultats des propriétés antioxydantes des HEs de la plante étudiée et le BHT sont présentés dans le tableau IV et figure 7. L'activité est exprimée sous la forme de valeurs d'IC₅₀ et d'indice d'activité antioxydant (AAI).

Tableau IV. Résultat du test antioxydant exprimant l'IC₅₀ en µg/ml et AAI.

Extrait/substance chimique	IC ₅₀ ± SD	AAI
Huile essentielle de <i>L. stoechas</i> L.	4140 ± 0,05	0,001
BHT	29,62 ± 0,13	1,35

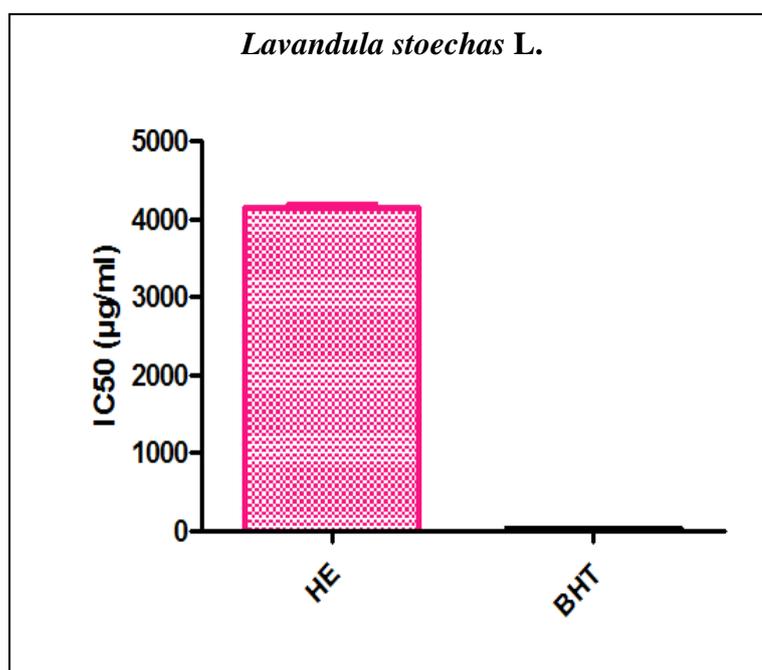


Figure 07. IC₅₀ en µg/ml des HEs *L. stoechas* L. et de standard (BHT).

Chaque valeur représente la moyenne ± SD (n = 3).

Les HEs présentent une activité antioxydante modéré avec une IC₅₀ de 4140 ± 0,05 µg/ml et un AAI de 0,001 par rapport à l'antioxydant synthétique de référence, le BHT (IC₅₀= 29,62 ± 0,13µg/ml et AAI = 1,35) (P< 0,0001). Et plus élevé que celles menée par **Benabdelkader (2012)** sur les HEs de *L. stoechas* L. de trois régions de la wilaya de Bouira (Algérie) (Lakhedaria, Ain Bessam, Taguedit) avec des valeurs d'IC₅₀ de (5100µg/ml ; 32420 µg/ml ; 26800µg/ml).

L'AA des HEs peut être attribuée à divers mécanismes, de nombreuses études ont montré que les activités biologiques des HEs sont liées à leur composition chimique telle que les composés majoritaires. Cependant ce n'est pas uniquement ces dernières qui sont responsables de cette activité, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (**Sidi Boulenouar et Ziane, 2003**).

Cette activité peut être entendue à la forte proportion de sesquiterpènes oxygénés (**Cherrat, 2013**). En outre, la présence du méthyl de l'eugénol peut jouer un rôle important dans les propriétés antioxydantes de cette HEs (**Ruberto et Baratta, 2000**), ce qui peut mener à des résultats variables selon le test employé.

Néanmoins, des substances supplémentaires, même à l'état de trace, participent à cette activité, ainsi, la présence de carvacrol même à faible concentration dans les HEs peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH (**Economou et Venskutonis, 1991**).

D'après les résultats de **Benabdelkader (2012)**, il semble que l'AA des HEs de *L. stoechas* L. algériennes peut être due à la présence de différentes molécules. En accord, l'HEs qui contient le plus grand nombre de molécules antioxydantes s'est avérée être également la plus antioxydante.

III.4.2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

III.4.2.1. Activité antibactérienne

L'étude *in vitro* du pouvoir antibactérien des HEs de *L. stoechas* L. est expérimentée et évaluée en premier qualitativement par la méthode de diffusion sur un milieu gélosé solide, MH.

L'activité antibactérienne des HEs vis-à-vis les cinq germes pathogènes testées où *S. aureus* (Gram+), *B. subtilis* (Gram+), *P. aeruginosa* (Gram-), *E. coli* (Gram-), *M. luteus* (Gram-), est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les HEs de *L. stoechas* L. ces diamètre entourant les disques est alors mesuré. Chaque zone est claire, montre la destruction des germes pathogènes et donne une indication précise de l'activité antibactérienne des HEs utilisées.

Après 24 h d'incubation à une température adéquate de 37 °C, le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre (Tableau V, VI).

Tableau V. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les antibiotiques exprimée en mm (moyenne \pm SD), transcrite en sensibilité.

Souches/ /Test		Antibiotiques			
		Antibiotiques utilisés	Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité
Gram+	<i>S. aureus</i>	GM 10 μ g	18.67 \pm 0.58	+	sensible
		CHL 30 μ g	21.33 \pm 1.15	++	Assez sensible
		OFL 5 μ g	20.67 \pm 1.15	++	Assez sensible
	<i>B. subtilis</i>	GM 10 μ g	20 \pm 1	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	30.33 \pm 0.58	+++	Très sensible
		OFL 5 μ g	20 \pm 0	++	Assez sensible
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	GM 10 μ g	24.33 \pm 0.58	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	25.33 \pm 0.58	++	Assez sensible
		OFL 5 μ g	21 \pm 1	++	Assez sensible
	<i>E. coli</i>	GM 10 μ g	21 \pm 1	++	Assez sensible
		CHL 30 μ g	30.33 \pm 0.58	+++	très sensible
		OFL 5 μ g	21. \pm 1	++	Assez sensible
	<i>M. luteus</i>	GM 10 μ g	19.50 \pm 0.5	+	sensible
		CHL30 μ g	23.33 \pm 1.15	++	Assez sensible
		OFL5 μ g	27.50 \pm 0.5	++	Assez sensible

Tableau VI. Diamètre des zones d'inhibition de la croissance microbienne par les HEs exprimée en mm (moyenne \pm SD), transcrite en sensibilité.

Souches/ /Test		Huile Essentielle 100 mg/ml			Huile Essentielle 50 mg/ml		
		Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité	Diamètres d'inhibition	Transcription	Sensibilité
Gram+	<i>S. aureus</i>	15 \pm 1	+	Sensible	10 \pm 1	+	Sensible
	<i>B. subtilis</i>	18 \pm 0	+	Sensible	13.67 \pm 0,58	+	Sensible
Gram-	<i>P. aeruginosa</i>	15.67 \pm 0,58	+	Sensible	12.33 \pm 1,53	+	Sensible
	<i>E. coli</i>	13.83 \pm 0,29	+	Sensible	10.33 \pm 0,58	+	Sensible
	<i>M. luteus</i>	18.33 \pm 0.58	+	Sensible	9.83 \pm 0,29	+	Sensible

Pour l'antibiotique Gentamicine les souches bactériennes, l'*E. coli* ; *B. subtilis* et *P. aeruginosa*, sont assez sensibles avec des zones d'inhibition de 21,00 \pm 1,00 mm ; 20,00 \pm 1,00 mm et 24,33 \pm 0,58 mm respectivement et sont sensibles avec des zones d'inhibition de 18,67 \pm 0,57 mm pour *S. aureus* et 19,50 \pm 0,5 mm pour *M. luteus*.

Pour le chloramphénicol les deux bactéries l'*E. coli* et *B. subtilis* sont très sensibles avec des zones d'inhibition de 30,33 \pm 0,57 mm et 30,33 \pm 0,58 mm respectivement et assez sensible avec des zones d'inhibition de 21,33 \pm 1,15 mm pour *S. aureus* ; 25,33 \pm 0,58 mm pour *P. aeruginosa* et *M. luteus* de 23,33 \pm 1,15mm.

Finalement, Tous les souches bactériennes étudiées (*E. coli* ; *S. aureus* ; *B. subtilis* ; *P. aeruginosa* et *M. luteus*) sont assez sensibles à l'antibiotique ofloxacin avec des zones d'inhibition de 21,00 \pm 1mm ; 20,67 \pm 1,15 mm ; 20,00 mm ; 21,00 \pm 1 mm ; 27,50 \pm 0,5mm respectivement (P<0,05).

Les résultats des aromatoigrammes de nos HEs montrent que toutes les souches bactériennes apparaissent presque sensibles pour les C= 50 mg/ml et C= 100 mg/ml dont les

diamètres des zones d'inhibition de la croissance sont variés entre $10,33 \pm 0,58$ mm et $13,83 \pm 0,29$ mm pour *E. coli*, varie entre $10,00 \pm 1,00$ mm et 15 ± 1 mm pour *S. aureus*, $13,67 \pm 0,58$ mm et $18,00 \pm 0,00$ mm pour *B. subtilis*, atteint $12,33 \pm 1,53$ mm et $15,67 \pm 0,58$ mm pour *P. aeruginosa* tandis que le diamètre d'inhibition de *M. luteus* varie entre $9,83 \pm 0,29$ et $18,33 \pm 0,58$ mm. Ces diamètres des zones sont proches ou inférieure à celle des zones des antibiotiques.

Afin de tester l'effet du DMSO sur les souches bactériennes, une culture témoin a été réalisée. Les résultats auxquels nous avons abouties font apparaitre que le DMSO n'a aucune activité antibactérienne dont les zones d'inhibition sont totalement absentes (figure 08).

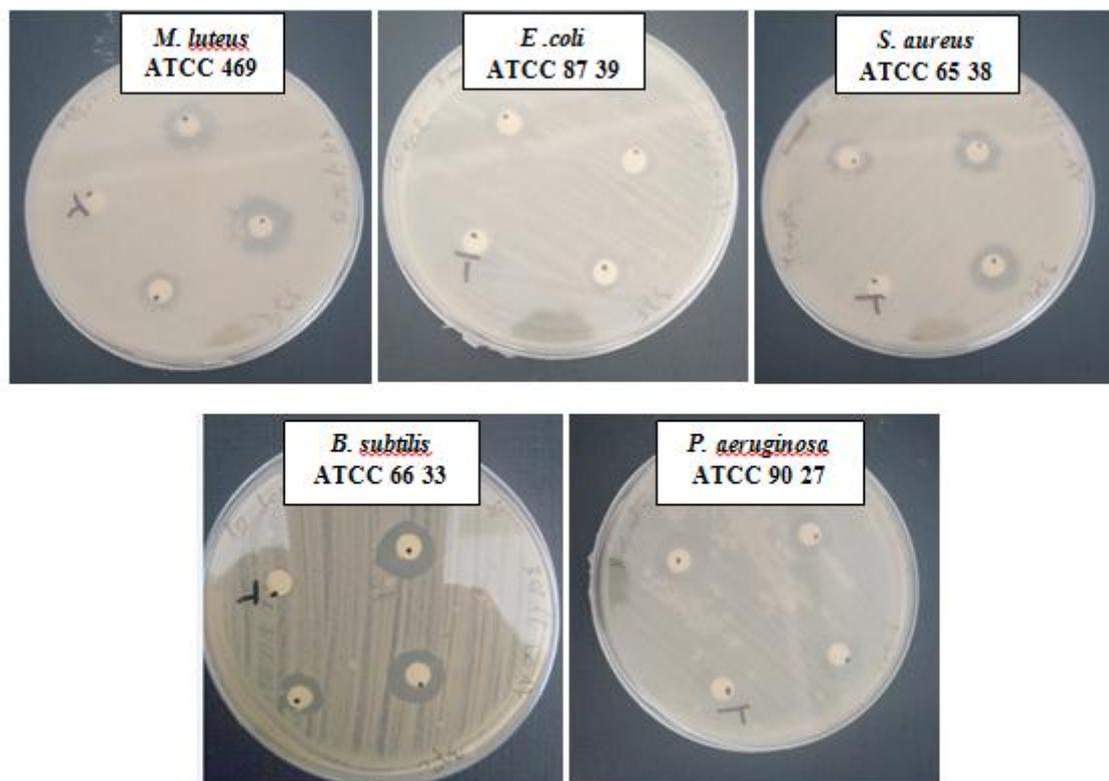


Figure 08. L'effet antimicrobien des HEs de *L. stoechas* L. (Originale, 2017).

Les résultats montrent que les huiles de la plante étudiées sont efficace dans l'inhibition du développement bactérienne soit Gram+ ou Gram- en accord avec les travaux de **Benabdelkader (2012)** qui ont confirmé aussi la sensibilité des souches bactériennes (*B. subtilis*; *P.aeruginosa*) aux HEs de *L. stoechas* L., où la CMI est égale $29,65$ mg/ml ; $36,57$ mg/ml en parallèle avec ces deux souches.

Bouzouita et al. (2005) il a été rapporté que l'huile volatile de plantes de *L. stoechas* L. en provenance de Tunisie a une activité antibactérienne envers *S. aureus*. De même, des activités antibactériennes ont été signalées pour l'HEs de *L. stoechas* L. sauvage de Turquie (**Görenet al., 2002 ; Dadalioglu et Evrendilek, 2004**), Cagliari, Italie (**Angioni et al., 2006**) ou à partir de plantes cultivées en Australie (**Moon et Cavanagh, 2007**).

L'activité antibactérienne est due essentiellement à la présence des molécules antibactérienne, il est bien connu que cette activité des HEs de *L. stoechas* L. réside généralement dans les monoterpènes (spécialement oxygénés) plutôt que dans les sesquiterpènes (**Burt, 2004; Tajkarimi et al., 2010**). Cependant, cette huile est formée d'une grande proportion de composés sesquiterpéniques (63,99%) et seulement de 18,62% de composés monoterpéniques (**Cherrat, 2013**), cependant elle exprime des activités antimicrobiennes intéressantes spécialement vis-à-vis les souches Gram+ similairement à d'autres HEs riches en sesquiterpènes (**Demerci et al., 2008 ; Maxia et al., 2009**), **Delaquis et al. (2002)** ont estimé aussi que la présence des composés mineurs présents à l'état de trace, tels que le linalol, l'aldéhyde de cinnamyl, le carvacrol, le géraniol, le myrténal et l'eugénol connus pour avoir une activité antibactérienne.

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

Certains agents antimicrobiens détruisent la membrane plasmique de manière irréversible conduisant ainsi à la mort cellulaire par un processus lytique (**Hamouda et Baker, 2000 ; Song & Kim, 2003 ; Razzaghi-Abyaneh et Shams-Ghahfarokhi, 2006**). D'autres agents ne lysent pas les cellules bactériennes mais compromettent l'intégrité structurale de la membrane plasmique en induisant une perte du matériel cytoplasmique (**Carson et Hammer, 2002 ; Reichling et Weseler, 2002**).

A des concentrations relativement faibles, les monoterpénols, grâce à leur groupement hydroxyle et à leur cycle ouvert pour certains, agissent sur les enzymes impliquées dans la respiration cellulaire et modifient la perméabilité membranaire par action directe sur les porines et les phospholipides membranaires des procaryotes. A de fortes concentrations, ils provoquent une perte totale de l'homéostasie, ce qui entraîne la destruction des membranes cellulaires (**Carson et Hammer, 2002**). En plus, la cible des molécules antibactériennes des

HEs serait probablement l'ADN bactérien. Leur action sur l'ADN serait favorisée par leur bonne diffusion à travers les membranes bactériennes (**Guessennd et Kacou-N'douba, 2008**). Compte tenu de la diversité moléculaire des HEs, il semble plus probable que leur activité antimicrobienne résulte de l'association de plusieurs mécanismes qui s'exercent conjointement sur différentes cibles cellulaires (**Burt, 2004**).

D'après **Kalemba et Kunicka (2003)**, la sensibilité d'un microorganisme aux HEs dépend des propriétés de l'HE et du microorganisme lui-même. Il est bien connu que les bactéries Gram+ sont plus sensibles aux HEs que les bactéries Gram-. Plusieurs études testant l'activité inhibitrice des HEs confirment ce phénomène (**Poole, 2001; Cimanga et Kambu, 2002 ; Burt, 2004**). Selon ces auteurs la grande résistance des bactéries Gram- est liée, en partie, à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des bactéries Gram+.

III.4.2.2. Activité antifongique

L'activité antifongique des HEs étudiées a été déterminée *in vitro* par la méthode de contact direct en milieu gélosé. Cette activité vis-à-vis les trois germes pathogènes testés où *F. moniliform*, *A. flavus*, *A. niger* est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne de disques de champignons déposés au centre des milieux gélosés additionnés de différentes concentrations en HEs de *L. stoechas* L.

La croissance mycélienne a été évaluée à la fin de l'expérience (7 jour d'incubation) en mesurant la moyenne de diamètre où trois répétitions ont été effectuées. Cette lecture est réalisée en comparaison avec les cultures témoins qui sont effectuée le même jour et dans les mêmes conditions.

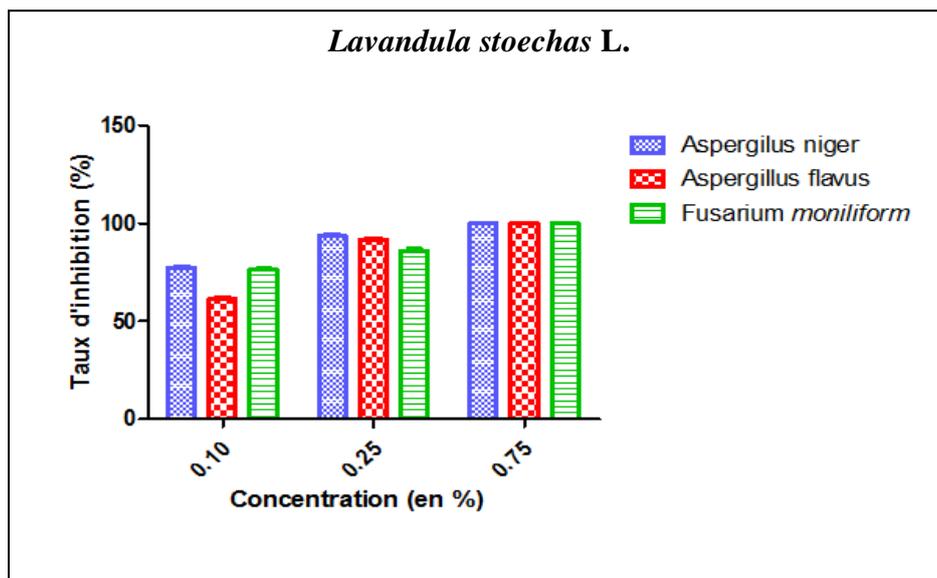


Figure 09. Effet des HEs de *L. stoechas* L. sur les souches testées. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).



Figure 10. L'effet antifongique des HEs de *L. stoechas* L. (Originale, 2017).

Les taux d'inhibition de HEs de *L. stoechas* L. est consignés dans la figure 09. L'analyse des résultats indique une différence significative ($P < 0,05$) accrue aux *F. moniliform*, *A. flavus* et *A. niger* en fonction de concentration. Cette sensibilité dépend de la composition chimique des métabolites secondaires à caractère antifongique, qui sont présentes et caractérisent l'HEs de notre plante.

Le plus grand diamètre de croissance mycélienne a été enregistré à l'absence des HEs (témoin) avec un diamètre de croissance de 50 à 70 mm pour les trois souches.

À la concentration 0,1% et 0,25% les diamètres sont réduits avec un taux d'inhibition de 76,52% et 85,97% pour *F. moniliform* ; 61,25% et 91,61% pour *A. flavus* et 77,38% et 93,62 pour *A. niger*. La croissance mycélienne est diminuée par l'augmentation de la concentration des HEs par rapport au témoin d'une manière dose dépendante dont la concentration 0,75% a donné une inhibition totale (100 %) des trois souches testée (figure 09).

A partir des résultats enregistrés dans les figures 09 et 10, on trouve que la concentration minimale inhibitrice des huiles de *L. stoechas* L. est 0,75% pour toutes les souches.

De nombreuses études ont été faites sur l'inhibition de la croissance mycélienne d'*A. flavus* par les HEs (Tatsadjieu et al., 2010 ; Tian et al., 2011 ; Gonçalves et al., 2012). D'après Cherrat (2013) l'activité antifongique des HEs testées (*Laurus nobilis*, *L. stoechas* L., *Mentha pulegium*, *Myrtus communis*, *Satureja calamintha* Scheele) a été étudiée contre divers souches fongiques mais peu de travaux ont été trouvés sur l'activité de ces huiles contre des souches d'*A. flavus*. Les HEs de *L. stoechas* L. d'origine italienne a été trouvée efficace dans l'inhibition de la croissance de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* et *A. flavus* (Angioni et al., 2006). Une autre étude a confirmé l'efficacité antifongique de l'huile de la lavande qui était capable d'inhiber totalement la croissance radiale de *Botrytis cinerea* à 1000 mg/ml (Dimitra et al., 2003).

D'après les études de Mohammedi (2006), la souche *Aspergillus* a présenté des CMI élevé par rapport aux *Alternaria* et *Penicillium* dont les valeurs sont 6 µl/ml, 5 µl/ml et 5,5 µl/ml respectivement, mais reste faible puisque cette moisissure n'a pas pu se développer et germer dans un milieu renfermant une quantité basse d'HEs de *L. stoechas* L.

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

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

Les terpènes affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autres fonctions sans les membranes cellulaires des champignons, ces composés peuvent traverser les membranes cellulaires, pénètrent ainsi à l'intérieur de la cellule et interagissent avec des sites critiques intracellulaire tels que les enzymes et les protéines, ce qui conduit à la mort cellulaire (**Omidbeygi et al., 2007**). Les travaux de **Scalbert (1991)** ont démontré que les tanins isolés des plantes médicinales possèdent une activité toxique contre les champignons.

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

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'Algérie dispose de grande variation climatique et de grandes ressources hydriques, ce qui en fait un pays qui regorge d'espèces végétales dotées de pouvoirs thérapeutiques divers.

Dans le présent travail, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique *Lavandula stoechas* L. utilisée en médecine traditionnelle pour son vertu thérapeutique. L'analyse bibliographique de la plante récoltée de la wilaya de Bouira en Mars 2017 ressort que cette plante, appartenant à la famille des Lamiacées, porte de nombreux synonymes végétaux.

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation a permis de montrer que la plante *Lavandula stoechas* L. est riche en huiles essentielles avec un rendement estimé de $1,33 \pm 0,035\%$, ce rendement est important par rapport à d'autres travaux similaires.

L'activité antioxydante des huiles essentielles et du l'antioxydant de référence BHT étudiée par la méthode de réduction du radical libre 2,2-diphényl-1-picryl-hydrasyl (DPPH), démontre que les huiles essentielles de la plante étudiée ont une capacité antiradicalaire modéré où l' $IC_{50} = 4140 \pm 0,05 \mu\text{g/ml}$ par rapport à celui du l'antioxydant de référence BHT ($IC_{50} = 29,62 \pm 0,13 \mu\text{g/ml}$).

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

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies à différents niveaux de l'approche à travers une caractérisation fine et poussée de ces huiles essentielles par d'autre techniques telles que la CPG/SM ou l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité. Les activités antimicrobienne et antioxydante doivent être évaluées dans d'autres systèmes *in vitro* (cellulaires et enzymatiques) comme *in vivo* afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles. Etude de l'efficacité de cette l'huile dans le domaine alimentaire afin d'établir leur utilité comme agents antioxydants ou antimicrobiens naturels dans la sécurité alimentaire.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdulmajed K., McGuigan C. and Heard C. M. 2005:** Topical delivery of retinyl ascorbate: 4. Comparative anti-oxidant activity towards DPPH. *Free Radic. Res*; 39: 491-498.
- AFNOR. 1996:** *Huiles essentielles, recueil de normes françaises*. AFNOR, Paris La Défense, France.
- AFNOR. 2000 :** Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2). Paris.
- Aghfir M., Kouhila A et Ait M L. 2007 :** Séchage solaire convective pour la conservation des feuilles du romarin (*Rosmarinus officinalis*). 13eme journée internationale de séchage thermique. Albi, France.
- Ahmad N., Fazal H., Abbasi B. H., Anwar S. and Basir A. 2012:** DPPH free radical scavenging activity and phenotypic difference in hepatoprotective plant (*Silybum marianum* L.). *Toxicol. Ind. Health*.
- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P. 2006:** Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 54:4364–4370.
- Asimgil A. (1997):** *Sifali Bitkiler*. İstanbul Timas Yayınları. pp. 147–148.
- Atawodi S.E. 2005:** Antioxidant potential of African medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*. 4 (2), 128-133.
- Athamena S., Chalghem I., Kassah-Laouar A., Laroui S., & Khebri, S. 2010 :** Activité anti-oxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminumcyminum* L. *Lebanese Science Journal*, 11 (1), pp. 69-81.
- Audigié C., Figarella J., Zonszain, F. 1978.** Manipulation d'analyse biochimique. Doin (Ed). Paris p 247.
- Bachiri Lamiae., Echchegadha Ghizlane., Ibjibjen Jamal., Nassiri Laila. October 2016 :** Etude Phytochimique Et Activité Antibactérienne De Deux Espèces De Lavande Autochtones Au Maroc : «*Lavandula stoechas* L. et *Lavandula dentata* L.». *European Scientific Journal* edition vol.12, No.30 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e - ISSN 1857- 7431. 313.
- Bajpai V.K., Skukla S and Kang S.C. 2008:** Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. *Bioresource Technology* 99: pp 8903- 8908.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. 2008:** Biological effects of essential oils – A. review. *Food and Chemical Toxicology* 46: 446–475.
- Balouiri Mounyr. 2011 :** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de Plantes Médicinales et Aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques– Taounate. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Faculté des Sciences et Techniques – Fès.
- Barbier E. 1963 :** LES LAVANDES ET L'APICULTURE DANS LE SUD-EST DE LA FRANCE. *Les Annales de l'Abeille*. INRA Editions, 6 (2). pp.85-159.
- Baser K.H.C & Buchbauer G. 2010 :** *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. Ed Taylor & Francis Group .994 p.
- Baytop T. 1999:** *Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present)*. Istanbul: Publications of the Istanbul University. No. 3255 (2nd ed., pp. 244–245).
- Belaiche P. 1979 :** «*Traité de phytothérapie et d'aromathérapie Tome 1: L'Aromatogramme*», Ed. Maloine, France. 204 p.
- Beloued A. 2005 :** Plante médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires. p. 20-150.
- Benabdelkader Tarek. 2012 :** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt

Références bibliographiques

pharmacologique. Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne, Français, France; Ecole normale supérieure de Kouba, Alger, Algérie.

Benbrook M. 2005 : Accroître la teneur antioxydants des aliments grâce à l'agriculture et à la transformation alimentaire biologiques. Ed. The organic center: 6-8.

Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves AV., Fraser GR., Colombatto D., McAllister TA. 2008: Plantderived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*.145: 209-228.

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

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

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

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

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

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

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

Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., McAnalley S., and McAnalley B. 2003: Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé. *Glycoscience & Nutrition*. **4 (6)**: 7. (cited in Mohammedi Z, 2005).

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

Bruneton J. 1999 : «Pharmacognosie», Plantes médicinales. Ed. Lavoisier. Techniques et documentation. Paris. 405.

Bruneton J. 2009 : Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème Edition, lavoisier. Paris.

Buchanan B.B., Gruissem W., Jones R.L. 2000: Biochemistry & Molecular Biology of plants. *American Society of plant Physiologists*: Rockville, MA, p 1367.

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

Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo PW., Castillejos L., Ferret A. 2007: Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580-2595.

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

Cavanagh H. M. A and Wilkinson J. M. 2002: "Biological activities of Lavender essential oil." *Phytotherapy Research* **16(4)**: 301-308.

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

Références bibliographiques

- Chao S.C., Young D.G. & Oberg G.J. 2000:** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. *Journal of Essential oil Research*. 12, p: 639-649.
- Cherrat Lamia. 2013 :** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des science et techniques- Tanger.
- Chemloul Feyza. 2014 :** Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *lavandula officinalis* de la région de Tlemecen.
- Cherrat Lamia. 2013 :** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles de 5 plantes aromatiques et médicinales du Maroc et évaluation de leurs effets combinés avec des méthodes de conservation alimentaire. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des sciences et techniques- Tanger.
- Chu C. J. et Kemper K. J. 2001 :** *Lavender (Lavandula spp.)*. Longwood Herbal Task. Force. 32 p.
- Cimanga K. et Kambu K. 2002:** Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *J. Ethnopharmacol.* **79**, 213-220.
- Clevenger JF. 1928:** Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am Perf Ess Oil Review* 467–503.
- Couic-Marinier F. & Lobstein A. 2013:** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques.* **52**, 525 : 22–25.
- Cowan M.M. 1999:** Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews* **12** 564–582.
- Dadalioglu I. and Evrendilek G. A. 2004 :** Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (*Origanum minutiflorum*), Bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *J. Agr. Food Chem.* **52**(26), 8255-8260.
- Dayal B. & Purohit R.M. 1971:** Screening of some Indian essential oils for their antifungal activity. *flavourind.* **2**: 484-485.
- Deba F., Xuan Trang Dang., Yasuda Masaaki. and Tawata Skinkichi. 2008:** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control*, **19** : 346-352.
- Deferera D.J., Ziogas B.N. and Polissiou M.G. 2000:** “GC-MS Analysis of essential oil from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 2576–2581.
- De feo V., De simone F. and Senatore F. 2002:** Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, **61**, 573-578.
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G. 2002:** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, **74**:101-109.
- Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. and Mazza G. 2002:** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *Interational Journal of Food Microbiology*, **74**, 101-109.
- Demirci F., Guven K., Demirci B., Dadandi M.Y. and Baser K.H.C. 2008:** Antibacterial activity of two *Phlomis* essential oils against food pathogens. *Food Control*, **19**, 1159-1164.

Références bibliographiques

- Denyer, S. P. and Hugo W. B. 1991:** *Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. Mechanisms of action of chemical biocides: their study and exploitation.* Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom, p 171-187.
- Dimitra J.D., Basil N.Z. and Moschos G.P. 2003:** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection*, 22, 39-44.
- Dorman H.J.D. and Hiltunen R. 2004:** Fe (III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions. *Food Chemistry*, 88, 193-199.
- Doukani K., Tabak S., Derriche A., Hacini Z. 2014 :** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* (10). Pp : 37-49.
- Doumbouya M., Abo kouabenan. L., Nicaise A., Camara B., Kanko K., Aidara D. and Kone D. 2012 :** Activités comparées in vitro de deux fongicides de synthèse et de deux huiles essentielles sur des champignons telluriques des cultures maraîchères en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.* P 3523-3530.
- Economou L et Venskutonis R. 1991:** Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs. *J. Sci. Food Agr.* 77, 140-146.
- Eder B., Walmir SG., Lidilhone H., Caroline T., Fernanda RG. 2008:** Bioactive Pentacyclic Triterpenes from the Stems of *Combretum laxum*. *Molecules*. 13: 2717-2728.
- El kalamouni Chaker. Le 13 Décembre 2010 :** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, thèse de Doctorat. Toulouse. France.
- Esiyok D. 2004:** Herbs as a Food Source in Turkey. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. N° 5, p. 334-339.
- Essawi T et Srouf M. 2000:** "Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity." *Journal Of Ethnopharmacology*, 70: 343-349.
- Favier. A. 2003 :** Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. pp 108- 115.
- Franchomme. P et Penoel. D. 1990 :** L'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Ed Jollois, Limoges.
- Franchomme P et Penoel D. 1990 :** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges. 445 p.
- Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini Ana ECS et Fonseca Maria JV. 2003 :** Evaluation of the Antioxidant Activity of Different Flavonoids by the Chemiluminescence Method. *AAPS PharmSci.* 5 (2), 5p.
- Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. 2008 :** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79 : pp199-203.
- Giray E. S et Kirici S. 2008:** Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta* 74, 930-935.
- Gonçalves M.J., Tavares A.C., Cavaleiro C., Cruz M.T., Lopes M.C., Canhoto J. and Salgueiro L. 2012:** Composition, antifungal activity and cytotoxicity of the essential oils of *Seseli tortuosum* L. and *Seseli montanum* subsp. *peixotoanum* (Samp.) M. Laínz from Portugal. *Industrial Crops and Products*, 39, 204-209.

Références bibliographiques

- Gören A.C., Topçu G., Bilsela G., Bilsela M., Aydoğmus Z et Pezzuto J.M.Z. 2002:** The chemical constituents and biological activity of essential oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Z.Naturforsch.* 57c 797-800.
- Guba R. 2001:** Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential. *Int. J. Aromather.* **11:** 76-83.
- Guerin-Fauble V. & Carret G. 1999 :** L'antibiogramme, principes, méthodologies, intérêts et limites. Journées nationales GTV-INRA, Nantes, France. pp: 5-12.
- Gulluce M., Şahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. & Ozkan H. 2007 :** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chem.* **103:** 1449–1456.
- Guessennd N., Kacou-N'douba A. 2008 :** Prévalence et profil de résistance des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargie (BLSE) à Abidjan Côte d'Ivoire de 2005 à 2006. *J. Sci. Pharm. Biol.* **9(1)**, 63-70.
- Hadi M. 2004 :** La quercétine et ses derives: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences de l'Université Louis Pasteur. Domaine : Pharmacochimie. 115p.
- Halliwell B and Gutteridge J M C. 2007:** Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford University Press, Oxford (fourth edition).
- Hamouda T. and Baker J. R. 2000 :** Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric Gram-negative bacilli. *J. Applied Microbiol.* **89**, 397-403.
- Haussein M.H. 2000:** A review of beekeeping in Arab countries, *Bee World* **81**,56_71.
- Hoffman B.R., DelasAlas H., Wiederhold R.E and William L. 2004 :** "Screening of antibacterial and antifungal activities of ten medicinal plants from Ghana" *Pharmaceutical Biology* 42 (1), 13–17.
- Homburger F., Boger E. 1968 :** The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices: A review. *Cancer Res.* 28, 2372-2374.
- Hubert Richard. Avril 2008 :** « Épices et herbes aromatiques » © "Vie", site ressource en Sciences de la Vie.
- Hyldgaard M., Mygind T. and Meyer R.L. 2012:** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3, 1-24.
- Jacques B, and André R. 2004 :** Biochimie métabolique Ed ellipses .Paris. pp: 217-219-220-223-225.
- Jullien J – DGAL. Juillet, 2016 :** Guide de reconnaissance Plantes hôtes potentielles de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* en France, *Surveillance biologique du territoire (SBT) dans le domaine végétal*, Symptôme d'une infection de *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* sur *Polygala myrtifolia* – 1ère édition.
- Kalemba D. and Kunicka A. 2003:** Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem.* **10**, 813-829.
- Karatas, H., & Ertekin, S. 2010 :** Antimicrobial activities of the essential oils of four *Salvia* species from Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (12), pp. 1238-1240.
- Kezzouna Radja. Juin 2015 :** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phonicea* .L. Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie, Faculté des Sciences et de la technologie. Département : Chimie Industrielle. Mémoire présentée en vue de l'obtention du diplôme de Master en : Génie des Procédés. Option : Génie Chimique.
- Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S. and Polissiou M.G. 2006:** Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem*, 13, 54-60.

Références bibliographiques

- Kirmizibekmez H., Demirci B., Yeşilada E., Başer K.H. and Demirci F. 2009:** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. *Natural Product Communications* , 4(7), 1001-1006.
- Koleva II., Van Beek TA., Linssen JPH., Groot A De., Evstatieva LN. 2002 :** Dépistage des extraits de plantes pour l'activité antioxydante : étude comparative Sur trois méthodes d'essai. Analyse phytochimique. 13. 8-17.
- Krippel-Drews P., Lang F., Haussinger D et Drews G. 1994 :** H₂O₂ induced hyperpolarization of pancreatic B-cells. *Pflugers Arch.* 426, 552-554.
- Kuete V., Penlap Beng V., Etoa f-X., Modjo S.L., Bogne P., Assob J.C. et Lontsi D. 2004:** Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medical* in (Rutaceae). *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Vol. 13, 91-101.
- Kulisic T., Radonic A., Katalinic V. and Milos M. 2004:** Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85, 633-640.
- Kunle et Okogum. 2003:** Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract *Phytomedicine*. Vol 10. P59-61.
- Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., et Carde J .P. 1994 :** Biogénèse des monoterpènes I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: 69-78
- Langenheim JH. 1994:** Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*. 20: 1223-1280.
- Leitao G.G., Leitao S.G., and Vilagag W. 2002:** Quick preparative separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high-speed counter-current chromatography. *Z. Naturforsch. J.*, **57**, 1051-1055.
- Lis-balchin M. 2002:** *Lavender, the genus Lavandula*. London & New York: Taylor and Francis, 268p.
- Maataoui B. S., Hmyene A., Hilali S. 2006:** Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*. (1):3-8.
- Maganga A. 2004 :** Influence of Variety and Organic Cultural Practices on Yield and Essential Oil Content of Lavender and Rosemary in Interior BC. (STOPA). *Ecorational Technologies*. Kamloop. BC. 23p.
- Majinda R.R.T., Abegaz B.M., Bezabih M. 2001:** Resent resultants from naturel product resarch at the university of Botswana, *Pure. Appl. Chem.* **73** (7) : 1197-1208.
- Maleeky M., Enjalbert F. Feinberg M. 2007 :** Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. INRA, UMR 791 Physiologie de la Nutrition et Alimentation, F-75231 Paris.
- Mansouri Nazik., Satrani Badr., Ghanmi Mohamed., El ghadraoui Lahsen., Guedira Abdelhamid., Aafi Abderrahman. 2001.** composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de l'huile essentielle de *juniperus communis* du maroc. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, **Vol. 80**, p. 791 – 805.
- Martinez-Cayuela M. 1995:** Oxygen free radicals and human disease. *Biochem.***77**: 147-161.
- Mau J.L., Chen C.P., and Hsieh P.C. 2001:** "Antimicrobial effect of extracts from Chinese chive, cinnamon and *Corni fructus*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 183–188.
- Maxia A., Marongiu B., Piras A., Porcedda S., Tuveri E., Gonçalves M.J., Cavaleiro C. and Salgueiro L. 2009:** Chemical characterization and biological activity of essential oils from *Daucus carota* L. subsp. *carota* growing wild on the Mediterranean coast and on the Atlantic coast. *Fitoterapia*, 80, 57-61.

Références bibliographiques

- Mennal Houria et Chennafi Samia. 02/ 06/ 2015** : Synthèse bibliographique des résultats de recherche sur l'application des huiles essentielles de quelques espèces de la famille de Lamiacées obtenues à l'Université de Khemis Miliana. Faculté : Science de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre.
- Mohammedi Zohra. 2006** : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Algérie. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. Thèse de Magistère En Biologie. Option : Produits Naturels, Activités biologiques et Synthèse.
- Molyneux P et Songklanakarín J. 2004** : The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *SciencesTechnology* .Vol 26 (2): 211-219.
- Moon T., Cavanagh H. M. A. 2007**: Antifungal activity of Australian grown *Lavandula* ssp. essential oils against *Aspergillus nidulans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Leptosphaeria maculans* and *Sclerotinia sclerotiorum*. *J. Essent. Oil Res.* **19**, 171-175.
- Moon J-K. and Shibamoto T. 2009** : Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem.*, 57 (5), pp.1655-1666.
- Muanza D.N., Euler K.L and William L. 1995**: 'Screening for antitumor and anti-HIV activities of nine medicinal plants from Zaire', *International Journal of Pharmacology* **33**, pp. 98–106. Oussalah M., S. Caillet, L. SAUCIER and M. Lacroix. *Food Control*. **18** (5) (2007), 414-420.
- Nadkarni, K. M. 1982**: *Indian Materia Medica*, third ed. Popular Prakashan, Bombay. P 730.
- Naganuma M., Hirose S., Nakayama Y., Nakajima K., Someya T. 1985** : A study of the phototoxicity of lemon oil. *Arch. Dermatol. Res.* 278, 31-36.
- Nerio L. S., Olivero-Verbel J. & Stashenko E. 2010** : Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372–378.
- Nickavar B., Alinaghi A. and Kamalinejad M. 2008**. Evaluation of the Antioxidant Properties of Five *Mentha* Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 7 (3), 203-209.
- Ouraïni D., Agoumi A., Alaoui M.I., Alaoui K., Cherrah Y., Benlemlih M., Alaoui M., Belabbas. 2005** : Approche thérapeutique des dermatophyties par les huiles essentielles de plantes aromatiques marocaines phytothérapie numéro. 1: 3-12.
- Oussou K.R., Yolou, S., Boti, J.B., Kouadio Guessenn N., Kanko C., Ahibo, C. and Casanova J. 2008** : Etude chimique et Activité Antidiarrhéique des Huiles essentielles de deux Plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne ; *European Journal of Scientific Research*. 24(1) : 94-103.
- Padrini F & Lucheroni M. T. 1996** : Le grand livre des huiles essentielles : Guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences et l'aromomassage énergétique avec plus de 100 photographies. *Ed. De Vecchi*, 15 p.
- Padua L.S., Bunyapraphatsara N., Lemmens R.H.M.J. 1999** : *Plant Resources of South- East Asia*. 12.
- Pattnaik ., Subramanyam S., V.R. et Kole C. 1996** : Antibacterial and antifungal activity of ten essential oils in vitro. *microbios* .86 : 237-246.
- Philippe Jean-Marie. 1993** : Le guide de l'apiculture. La Calade: Edisud.
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R et Defraigne J O. 1999** : L'évaluation du stress oxydatif d'un individu: une réalité pour le médecin. *Vaisseaux, Coeur, Poumons*, **4** (5).
- Poole K. 2001** : Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* **4**, 500-508.
- Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. 2009** : Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. *Revue de Génie Industriel*. (4): 8p.

Références bibliographiques

- Quezel P et Santa S. 1963 :** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. Préface du P^f L. EMBEGER. Edition du Centre National de la Recherche Scientifique. 15, quai Anatole- France-Paris 7.
- Rakotonirainy M.S and Lavedrine B. 2005 :** "Screening for antifungal activity of essential oils and related compounds to control the biocontamination in libraries and archives storage areas", *International Biodeterioration and Biodegradation* **55**, 141–147.
- Ranga R. R., Tiwari A. K., Prabhakar R. P., Suresh B. K., Ali A. Z., Madhusudana K. and Madhusudana R. J. 2009:** New furanoflavanoids, intestinal alpha-glucosidase inhibitory and free-radical (DPPH) scavenging, activity from antihyperglycemic root extract of *Derris indica* (Lam.). *Bioorg. Med. Chem.* **17**: 5170-5175.
- Raymond Myriam. 2005 :** L'aromathérapie chez le nourrisson et le petit enfant. Université de Nantes. Faculté de pharmacie. N° 70.
- Razzaghi-Abyaneh M et Shams-Ghahfarokhi M. K. 2006:** Ultrastructural evidences of growth inhibitory effects of a novel biocide, Akacids®plus, on an aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*. *Toxicon* **48**, 1075-1082.
- Reichling J. et Weseler A. 2002:** Bioactive essential oils used in phytomedicine as anti-infective agents: Australian tea tree oil and manuka oil. *Act. Pythoter.* **1**, 26-32.
- Reichling J., Schnitzler P., Suschke U and Saller R. 2009:** Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties - an Overview. *Forsch Komplementmed*, **16**, 79-90.
- Remmal A., Tantaoui-Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K et Ettayebi M. 1993 :** Improve method for determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium. *J. Ess. Oils Res.* **5**:179-184.
- Ruberto G. and Baratta M.T. 2000.** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, **69**, 167-174.
- Ryley C. 1998:** Roman gardens and their plants. Sussex Archaeological Society, Lewes England. 56 pp.
- Saadatian M., Aghaei M., Sarahpour M et Balouchi Z. 2013 :** Global Journal of Medicinal Plant Research, **1**(2) "Chemical composition of lavender (*Lavandula officinalis* L.) Extraction extracted by two solvent concentrations". p. 214-217.
- Scalbert A. 1991:** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* ; **30**: P 3875- 3883.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. and Bruni R. 2005:** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chemistry*, **91**, 621-632.
- Said H. M. 1996:** *Medicinal Herbs*, Vol. 1. Bait al-Hikmah, Madinat al-Hikmah: Pakistan.
- Sarac N. & Ugur A. 2007:** Antimicrobial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey. *EurAsian Journal of BioSciences*, **4**, pp. 28-37.
- Sarikurkcu C., Ozer M.S., Eskici M., Tepe B., Şendil C. and Mete E. 2010 :** Essential oil composition and antioxidant activity of *Thymus longicaulis* C. Presl subsp. *longicaulis* var. *longicaulis*. *Food and Chemical Toxicology*, **48**, 1801-1805.
- Satrani B., Farah A., Fechtal M., Blaghen M et Chaouch A. 2001 :** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du maroc. *ann. fais. exp. chim.* **94**(956) :241-250.
- Schauenberg P. et Paris F. 2010 :** Guide des plantes médicinales : Analyse, description et utilisation de 400 plantes, Ed. Delachaux et Niestlé, p.396.

Références bibliographiques

- Scherer R. et Godoy H.T. 2009:** Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.*, 112 pp. 654-658.
- Scimeca D. 2007 :** Les plantes du bonheur, Ed. Alpen. p.12-17.
- Scimeca D. et Tétou M. 2005 :** Votre santé par les huiles essentielles, Guide pratique pour prévenir et guérir tout les maux quotidiens, Ed. Alpen, p. 12, 13.
- Sebai Hichem., Selmi Slimen., Rtibi Kais., Souli Abdelaziz., Gharbi Najoua., Sakly Mohsen. 28 Décembre 2013 :** Les huiles essentielles de lavande (*Lavandula stoechas* L.) atténuent l'hyperglycémie et protègent contre le stress oxydatif chez les rats diabétiques induits par l'alloxane.
- Selvakumar P., Edhaya Naveena B et Prakash D.S. 2012:** Studies on the antidandruff activity of the essential oil of coleus amboinicus and eucalyptus globules, *asian pacific journal of tropical biomedicine* s715-s719.
- Shimizu H. 2004.** Relationship between plasma glutathione levels and cardiovascular disease in a defined population: the Hisayama study, *Stroke*, 35 (9): 2072-2077.
- Siddiqui Mohd Aftab., Khalid Mohd., Akhtar Juber., Siddiqui HH., Baadruddeen., Usma Ahmad., Farah Ahsan., Khan Mohd Muazzam., Mohammed Ahamd et Asad Ali. 2016:** *Lavandula Stoechas* (Ustukhuddus): Une plante miracle. Faculté de pharmacie. Université intégrale. Dasauli. Kursi Road. Lucknow (UP) 226026.
- Sidi Boulenuar. K & Ziane. A. 2003:** Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen. Mémoire de DES en Biochimie. Université Abou Baker Belkaid, Tlemcen, 54 p.
- Simpson William T. 1999:** Drying and Control of Moisture Content and Dimensional Changes. Gen. Tech. Rep. FPL- GTR- 113. Madison, Forest Products Laboratory.463 p.
- Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R et Sarkinas A. 2006 :** "Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils." *Journal of Essential Oil Research*, 18: 698-703.
- Skoula M et Abidi C. 1996 :** Essential oil variation of *Lavandula stoechas* L. ssp. *Stoechas* growing wild in Crete (Greece). *Biochem. Syst. Ecol.* **24**, 255-260.
- Smallfield B. 2001:** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop et Food Research* (45): 1-4.
- Smith C.K., Moore C.A., Alahi E.N., Smart Â.T., Hotchkiss S.A. 2000:** Human skin absorption and metabolism of the contact allergens, cinnamic aldehyde and cinnamic alcohol. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 168,189-99.
- Song M. J. and Kim N. M. 2003:** Antimicrobial action of *p*-hydroxyphenyl acrylate. *Int. Biodeter. Biodegr.* **52**, 107-113.
- Sosa S et Altinier G. 2005 :** "Extracts and constituents of *Lavandula multifida* with topical anti-inflammatory activity." *Phytomedicine* **12**(4): 271-277.
- Sridhar S.R., Rajagopal R.V., Rajavel R., Masiilamani S and Narasimhan S. 2003:** "Antifungal activity of some essential oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* **512**, 7596-7599.
- Suhar K.I. et Nielsen P.V. 2003:** Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. *Journal of Applied Microbiology* .94: 665-674.
- Svoboda K.P. et Hampson J.B. 1999:** Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW.
- Dr T. B. 1926 :** La lavande dans l'antiquité. *Parfumerie Moderne.* 167- 168.

Références bibliographiques

- Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A. and Cliver D.O. 2010:** Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control* , 21, 1199-1218.
- Tang S Y and Halliwell B. 2010:** Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **394**, 1-5.
- Tantaoui-Elaraki A., Lattaoui N., Benjilali B et Errifi A. 1992:** antimicrobial activity of four chemically different essential oils. *rivista italiana e.p.p.o.s.* 6:13-22.
- Tatsadjieu N.L., Yaouba A., Nukenine E.N., Ngassoum N.B. and Mbofung C.M.F. 2010 :** Comparative study of the simultaneous action of three essential oils on *Aspergillus flavus* and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Food Control* , 21, 186.190.
- Tepe B., Akpulat H. K., Sokmen M., Daferera D., Yumrutas O., Aydin E., Polissiou M. and Sokmen A. 2006:** Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from Turkey. *Food Chemistry*, 97, 719-724.
- Tian J., Ban X., Zeng H., He J., Huang B. and Wang Y. 2011:** Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Cicuta virosa* L. var. *latisecta* Celak. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 464-470.
- Tharib S.M., Gnan S.O. & Veitch G.B.A. 1983:** Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. *J. Food. Prot.* **46:** 681-685.
- Twidwell E.K., Wagner J.J., and Thies Nancy J. 2002:** Use a Microwave Oven to Determine Moisture Content of Forages. 8077p.
- Utree A., Slump R.A., Steging G et Smid E.J. 2002:** Antimicrobial activity of carvacrol on rice. *Journal of food protection.*63, p. 620-624.
- Upton T. M., Grayer R. J., Greenham J. R., Williams C. A., Al-ghamdi F et Chen F.H. 2000:** Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Biochemicals Systematics and Ecology*. n. 28, p. 991-1007.
- Upton T. 2002:** *The taxonomy of the genus Lavandula* L. In Lis-balchin, M. *Lavender, the genus Lavadula*. London & New York: Taylor and Francis, pp 2-34.
- Upton T and Andrews S. 2004:** *The genus Lavandula*. Portland and Oregon, USA: Timber Press. P 442.
- Usmanghani K et Saeed A. 1997:** *Indusynic Medicine. Traditional Medicine of Herbal, Animal and Mineral Origin in Pakistan*, University of Karachi. University of Karachi Press, p 273.
- Vekiari S A., Protopapadakis E F. 2002:** Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety. *J. Agr. Food Chem.* **5**(1), 147-153.
- Wang S.Y., Wu J.H., Shyur L.F., Kuo L.H., and Chang S.T. 2002:** Antioxidant activity of Abietane-Type Diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata, *Holzforschung*, p. 56.
- Weber F. J. and de Bont J. A. M. 1996.** Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. *Biochimi. Biophys. Acta* **12**, 225- 245.
- Willcox J.K., Ash J.L and Catignani G.L. 2004:** Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 275-295.
- Wink M. 2003.** Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective. *Phytochemistry*. **64:** 3–19.

Références bibliographiques

yahyaoui n. 2005 : Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de menthe spicata *Isurrhyzoperlhu dominicu* (f .) (coleoptera, bostrychidae) et *triboium confusm* (duv.) (coleoptera, tenebrionidae). Thèse de magister en sciences agronomiques, option ecologie, ina, el-harrach (Algérie).

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

Zouari Nacim. 24 décembre 2012 : Potentialités technofonctionnelles et biologiques de certaines agroressources. Rapport des Activités Pédagogiques et Scientifiques présenté à l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Sfax en vue de l'obtention d'habilitation universitaire en Génie Biologique. Université de Sfax. Tunisienne.

Annexes

Annexes

Appareillage, verrerie et consommables, milieux de culture

▪ **Appareillage**

- Autoclave
- Balance de précision
- Balance de paillasse
- Bec bunsen
- Chauffe ballon 1 L
- Cryostat
- Etuve isotherme
- Hotte à flux laminaire avec lampe UV
- Hydrodistillateur type Clevenger
- incubateur bactériologique (25°C, 35°C, 42°C)
- Plaque chauffante
- Spectrophotomètre
- Vortex

▪ **Verrerie et consommable**

- Anse de platine
- Ballons à fond plat à col rodé
- Bêchers : 100 ml, 250 ml, 500 ml
- Boîtes de pétri stériles de 90 mm de diamètre
- Disques d'antibiotiques
- Disques d'aromatogramme Whatman n°1, 6 mm
- Écouvillons Stériles
- Epprouvettes
- Erlenmeyer 100 ml, 250 ml
- Fioles
- Flacons avec bouchon
- Pincés
- Pipettes graduées stériles
- Pipettes Pasteurs
- Seringues
- Spatule inox
- Tubes à essai
- Verres de montre

Annexes

▪ Solutions et réactifs

- 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH)
- Butylated hydroxytoluene
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Ethanol 95°, 96°.
- Dimethyl sulfoxide

▪ Milieux de culture

- PDA (Potato dextrose agar)
- Milieu Miller Hinton (MH)
- Eau physiologique
- Gélose de conservation
- Bouillon Gélose nutritive
- Milieu Gélose nutritive (GN)