

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ahmed Draïa Adrar



Faculté des Sciences et de la Technologie
Département d'Hydrocarbures et Energies Renouvelables

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :
Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie Chimique

Thème :

**Caractérisation de l'huile essentielle et évaluation de
l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de
l'espèce " *Lavandula stoechas L*"**

Préparé par :

M. MESSIKH Yacine

Membres de jury d'évaluation :

M. ABDELAZIZ Nabile	Président	MAA	Univ. Adrar
M^{elle} TEHAMI Wafâa	Promotrice	MCB	Univ. Adrar
M^{elle} CHERGUI Yamina	Co-promotrice	MCB	Univ. Adrar
M. NANI Abdelhafid	Examineur	MCA	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2020/2021



شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): **تعمامي وفاق**

المشرف مذكرة الماجستير.

الموسومة بـ: **Caractérisation de l'huile essentielle et évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique de l'espèce "Lavandula stoechas L"**

من إنجاز الطالب(ة): **مسليخ ياسين**

و الطالب(ة):

كلية: **علوم وتكنولوجيا**

القسم: **محرقات والعلاقة المتحددة**

التخصص: **هندسة كيميائية**

تاريخ تقييم / مناقشة: **19 جوان 2021**

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها. وإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والأليكترونية (PDF).

= امضاء المشرف:

ادرار في: **07 جويلية 2021**

مساعد رئيس القسم:

و: خليفي عصام

رئيس قسم المحرقات والطائيات المتحددة
بكلية العلوم والتكنولوجيا

Dr. TEHAMI Wafaa

Remerciements

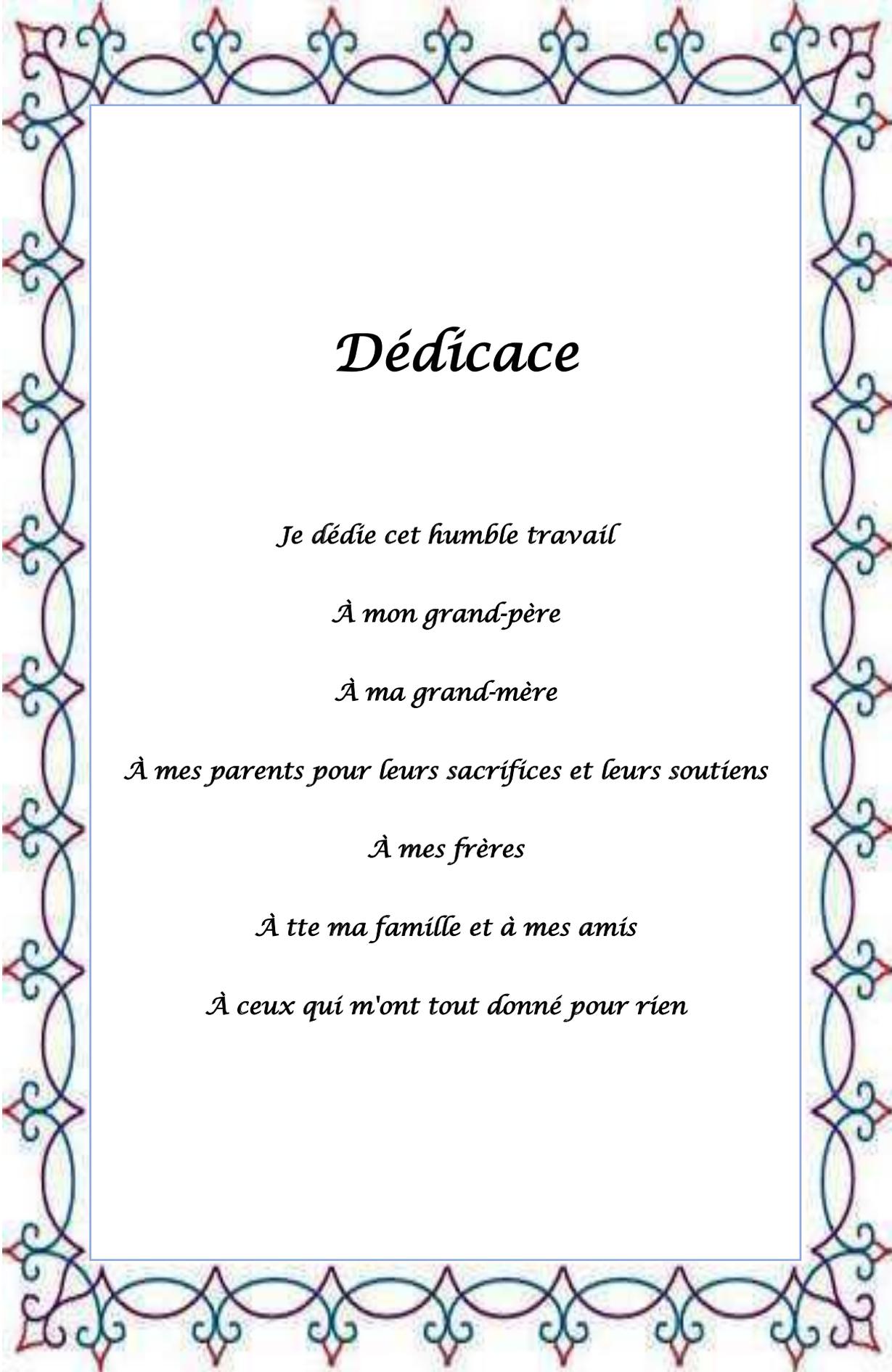
*Je remercie en tout premier lieu **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir donné la force et l'aide afin de pouvoir accomplir ce travail et de le terminer à temps.*

*Cette recherche a été menée sous la supervision de **Dr. TÉHLAMI Wafâa** Maître de conférences (B), j'adresse mes sincères remerciements pour ses compétences et ses conseils précieux, sa disponibilité et sa grande simplicité, son respect ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche.*

*J'exprime mes vifs remerciements à mon co-promoteur **Dr. CHERGUI Yamina** Maître de Conférences (B) à l'Université Ahmed DRAIA-Adrar pour sa précieuse collaboration.*

*Je tiens à remercier **M. ABDELAZIZ Nabile** Maître assistant (A) à l'Université Ahmed DRAIA-Adrar, de m'avoir honoré en acceptant la présidence de ce jury.*

*Je tiens également à adresser mes sincères remerciements à **Dr. NANI Abdelhafid**, Maître de conférences (A) à l'Université Ahmed DRAIA-Adrar pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*



Dédicace

Je dédie cet humble travail

À mon grand-père

À ma grand-mère

À mes parents pour leurs sacrifices et leurs soutiens

À mes frères

À tte ma famille et à mes amis

À ceux qui m'ont tout donné pour rien

Liste des abréviations

A	Alcalinité des cendres
Abs	Absorbance
AFNOR	Association Française de Normalisation
AG	Acide gallique
d_{20}^{20}	Densité relative
DO	Densité optique
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EEL	Extrait ethanolique de <i>L.stoechas</i> L
FeCl₃	Chlorure de fer
FRAP	Ferric ion Reducing Antioxidant Power
H%	Humidité
HCl	Chlorure d'hydrogène
HEL	Huile essentielle de <i>L.stoechas</i> L
HEs	Huiles essentielles
IA	L'indice d'acide
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
KOH	Hydroxide de potassium
K₃Fe(CN)₆	Ferricyanure de potassium
n_D^T	Indice de refraction
Na₂HPO₄	Disodium phosphate
NaH₂PO₄	Monosodium phosphate
NaOH	Sodium hydroxide
pH	Potentiel d'hydrogène
R_{HE}%	Rendement de l'huile essentielle

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
01	Antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées (Koechlin-Ramonatxo., 2006)	14
02	La composition chimique de l'huile essentielle de la partie florale de <i>L. stoechas L</i> (Asghari et al., 2016)	18
03	Taux d'humidité, de cendres et de l'alcalinité des cendres	30
04	Les paramètres organoleptiques de l'HE de <i>Lavandula stoechas L</i>	32
05	Propriétés physico-chimiques de l'HEL	33
06	Concentration d'inhibition médiane de l'extrait éthanolique de <i>L.stoechas L</i>	36

Liste de figures

N°	Titres	Pages
01	Montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	4
02	Montage d'hydro diffusion	5
03	Structure de quelques monoterpènes	7
04	Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïdes	7
05	Origine des espèces réactives de l'oxygène	11
06	Système de défense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al, 2015)	13
07	Répartition géographique de <i>L.stoechas L</i> (Upson et Andrews, 2004)	16
08	L'espèce <i>Lavandula stoechas L</i>	17
09	(1-3 et 10) Structure des principaux composés de <i>L.stoechas L</i> d'origine Algérienne, (4-9) les composés détectés pour la première fois (Benabdelkader et al., 2011)	19
10	Localisation de la zone d'étude	20
11	A. <i>Lavandula stoechas L</i> séchée, B. <i>Lavandula stoechas L</i> moulue	21
12	Montage d'hydro-distillation utilisé pour l'extraction des huiles essentielles	22
13	Montage d'hydro-distillation utilisé pour l'extraction d <i>L.stoechas L</i> .	23
14	Evaporateur rotatif (Nahito)	24
15	Papier pH	25
16	Refractomètre d'ABBE	26
17	Spectromètre FT-IR- Cary-660	27
18	Principe de piégeage du radical DPPH (Teixeira et al., 2013)	28
19	Test de DPPH	28
20	<i>Rendements d'extraction de L. stoechas L.</i>	31
21	Huile essentielle de <i>L.stoechas L</i>	32
22	Spectre IR de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas L</i> .	34
23	Activité antioxydante au DPPH de l'extrait éthanolique de <i>L.stoechas L</i> .	36
24	Pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique de <i>L. stoechas L</i>	37

Résumés

Résumé

La présente étude vise à la caractérisation physique et chimique de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas L* obtenue par hydrodistillation, la détermination de leurs groupements fonctionnels par la spectroscopie infrarouge ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique. La partie aérienne (feuilles, tiges, fleurs) sèche de cette espèce contient une humidité de $11,05\% \pm 3,2$ et un taux de cendres de $12,99\% \pm 0,68$. Les rendements d'extarction obtenus par hydrodistillation et par mécération dans l'éthanol sont respectivement 0,41% et 5,2%. Le pouvoir antioxydant de *L.stoechas L* a été estimé par le test de piégeage des radicaux libres (DPPH) et le test de réduction de fer (FRAP). L'extrait testé présente une activité antioxydante appréciable avec IC_{50} de 113,041 μ g/ml et 62,62 mg / ml respectivement.

Mots clés : *Lavandula stoechas L*- huile essentielle - activité antioxydante - partie aérienne - extrait éthanolique.

ملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى التوصيف الفيزيائي والكيميائي للزيت العطري *Lavandula stoechas L* تم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي ، وتحديد مجموعاتها الوظيفية عن طريق التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء وكذلك تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الإيثانولي. يحتوي الجزء العلوي الجاف (الأوراق ، السيقان ، الزهور) من هذا النوع على رطوبة $11,05 \pm 3,2\%$ و محتوى الرماد $12,99 \pm 0,68\%$. حسيلة الاستخلاص التي تم الحصول عليها بالتقطير المائي والميكروش في الإيثانول هي $0,41\%$ و $5,2\%$ على التوالي. تم تقدير القوة المضادة للأكسدة لـ *L.stoechas L* من خلال حصر الجذور الحرة (DPPH) واختبار إرجاع الحديد (FRAP). يُظهر المستخلص الذي تم اختباره نشاطًا مضادًا للأكسدة مع تركيز IC_{50} بنسبة 113,041 ميكروغرام / مل و 62,62 مجم / مل على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Lavandula stoechas L* - زيت أساسي - نشاط مضاد للأكسدة - الجزء العلوي - مستخلص إيثانولي.

Abstract

The present study aims at the physical and chemical characterization of the essential oil of *Lavandula stoechas L* obtained by hydrodistillation, the determination of their functional groups by infrared spectroscopy as well as the evaluation of the antioxidant activity of the ethanolic extract. The dry aerial part (leaves, stems, flowers) of this species contains $11,05\% \pm 3,2$ of moisture and $12,99\% \pm 0,68$ of an ash content of $12,99\% \pm 0,68$. The extraction yields obtained by hydrodistillation and by maceration in ethanol are 0,41% and 5,2% respectively. The antioxidant activity of *L.stoechas L* was estimated by the free radicals scavenging test (DPPH) and the ferric reduction test (FRAP). The extract tested exhibits appreciable antioxidant activity with IC_{50} of 113,041 $\mu\text{g/ml}$ and 62,62 mg/ml respectively.

Key words: *Lavandula stoechas L* - essential oil - antioxidant activity - aerial part - ethanolic extract.

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumés

Table des Matières

Introduction.....1

Partie théorique

Chapitre I: *Les huiles essentielles*

I.1 Généralités sur les plantes médicinales2

I.2. Historique2

I.3. Définition3

I.4. Localisation et lieux de synthèse3

I.5. Techniques d'extraction3

I.5.1. Entrainement à la vapeur d'eau :.....3

I.5.2. Expression à froid4

I.5.3. Distillation sèche4

I.5.4. Hydrodiffusion5

I.5.5. Hydrodistillation assistée par micro-ondes5

I.5.6. Extraction au CO₂ supercritique5

I.6. Conditions de conservation et de stockage6

I.7. Composition chimique des huiles essentielles6

II.7.1. Les terpènes6

II.7.2. Les composés aromatiques7

II.7.3. Les composés d'origine variée7

II.8. Identification et analyses chromatographiques.....8

II.9. Activités biologiques des huiles essentielles8

II.10. Toxicité des huiles essentielles8

Chapitre II : *L'activité antioxydante*

II.1. Le stress oxydatif.....10

II.1.1. Définition10

II.1.2. Les Espèces réactives de l'oxygène et radicaux libres	10
II.2. Les antioxydants.....	11
II.2.1. Les antioxydants enzymatiques	11
II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques	12
Chapitre III: Monographie de <i>Lavandula stoechas L</i>	
III.1 Généralités	15
III.2. Nomenclature de <i>Lavandula stoechas L</i>	15
III.3. Taxonomie	15
III.4. Répartition géographique	16
III.5. Caractères généraux	16
III.6. Composition	17
III.7. Les propriétés d'utilisations	19

Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétal	20
II.2. Préparation de la plante	20
II.3. Evaluation de la teneur en eau	21
II.4. Evaluation du taux de cendres.....	21
III.4.1. L'alcalinité des cendres	22
II.5. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation ..	22
II.6. Extrait éthanœique	23
II.6.1. Extraction par macération	23
II.7. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle.....	24
II.7.1. Les caractéristiques organoleptiques	24
II.7.2. Analyses physico-chimiques	24
II.7.2.1. La densité.....	24
II.7.2.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)	25
II.7.2.3. L'indice de réfraction.....	25
II.7.2.4. L'indice d'acide	26
II.8. Analyse par spectroscopie infrarouge	26
II .9. Evaluation de l'activité antioxydante .	27

II.9.1. Piégeage du radical 2-diphényl-1- picrylhydrazyl (<i>DPPH</i>)	27
II.9.2. Le pouvoir réducteur du fer ferrique (<i>FRAP</i>).....	29

Chapire II: *Résultats et discussion*

II.1. Détermination du taux d'humidité et du taux de cendres	30
II.2. Rendements d'extraction	30
II.3. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>L.Stoechas L</i>	31
II.4. Analyses physico-chimiques	32
II.5. Analyse par spectroscopie infrarouge	33
II.6. Evaluation du potentiel antioxydant	35
II.6.1. Test au <i>DPPH</i>	35
II.6.2. Pouvoir de réduction du fer (<i>FRAP</i>)	37
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	39

Introduction

Introduction

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit côte à côte avec les plantes, est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tel que le domaine pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, et phytosanitaire (Dufaut et Véronique, 2001). La découverte des ressources naturelles du monde végétal reste cruciale pour le développement de nouveaux remèdes thérapeutiques (Tehami et al., 2016).

L'Algérie est célèbre pour la diversité des plantes médicinales et aromatiques et les habitants des campagnes sont réputés pour leur utilisation en raison de leur facilité d'utilisation, de leur efficacité, de leur prix bas et de la réduction du risque d'effets secondaires des produits chimiques et médicaments industriels (Mohammedi, 2012).

De nos jours, les huiles essentielles (HEs) suscitent de plus en plus l'intérêt des scientifiques en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies. Aussi la connaissance précise de la composition chimique des HEs est un critère par excellence d'appréciation et de caractérisation des produits. Plusieurs facteurs permettent de définir la qualité d'une huile en interagissant sur la composition chimique.

Lavandula stoechas L est une espèce permanente qui pousse dans la plupart des régions du monde et est abondante dans le bassin méditerranéen, elle appartient à la famille des Lamiaceae (Asghari et al., 2016 ; Goren et al., 2002) et est largement utilisée pour ses propriétés antiseptique, bactéricide, désinfectante et calmante (Sahraoui et al., 2010).

Dans ce sens, l'objectif général de ce travail est d'étudier les propriétés physico-chimiques ainsi que les caractères organoleptiques de l'huile essentielle et d'évaluer le potentiel antioxydant (en utilisant les tests de DPPH et FRAP) de l'extrait hydro-alcoolique de la plante médicinale *Lavandula stoechas L* de la région de Collo (Skikda), l'une des plus importantes des plantes du genre lavande utilisée à des fins thérapeutiques et culinaires.

Partie théorique

Chapitre I: Les huiles essentielles

I.1. Généralités sur les plantes médicinales

L'utilisation des plantes est apparue dans le passé, à l'époque de la Grèce, des pharaons, de la Chine et de l'Inde, et les savants - disent que l'utilisation des plantes existait bien avant cela, et étaient utilisées dans plusieurs domaines, de la phytothérapie et de la pharmacognosie, comme ils ont été trouvés dans les fouilles et les anciens livres médicaux, et l'utilisation des plantes n'était pas limitée uniquement dans le traitement, mais aussi dans les rituels alimentaires et religieux (Figuier, 2011).

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales "sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses .C'est un groupe de plantes médicinales qui portent dans leurs feuilles, tiges ou racines le traitement est soit pour l'homme, soit pour l'animal, le traitement est extrait par traitées (Chabrier, 1980). Les métabolites secondaires peuvent être classés en plusieurs grands groupes, dont les plus importants en termes de nombre de structures connues sont les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins...), les composés terpéniques et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Krief, 2003 ; Bahorun, 1997).

I.2. Historique

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations, dans toutes les régions du monde. L'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médicinale dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (Maan Bahadur *et al.*, 2010).

La première HE, celle de rose, aurait été extraite par le plus grand médecin arabe du Moyen Âge, Avicenne, qui fut le premier à mettre au point le fonctionnement de l'alambic suite à des enseignements perses. Ce sont en effet les Arabes qui sont considérés comme les vrais fondateurs de l'aromathérapie (Couic-Marinier *et al.*, 2013).

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.

I.3. Définition

« Huiles essentielles » est un terme général pour les composants liquides et hautement volatils des plantes Certains arbres et certaines plantes sont des liquides volatils, aromatiques, concentrés et hydrofuges. On les trouve dans différentes parties de la plante (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, rameaux, écorce, bois, fruits et racines) (Bayala, 2015; Bouzid, 2012)

La norme ISO 9235, a défini une huile essentielle comme étant : «Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

I.4. Localisation et lieux de synthèse

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de certaines cellules végétales spécialisées. (Farhat, 2010). Elles peuvent être stockées et emmagasinées dans diverses structures de la plante telles que les poils sécréteurs ou trichomes, les cellules épidermiques, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs.

Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'huile essentielle. En conséquence, la dynamique du développement de ces structures ainsi que le mécanisme ont une incidence indirecte avec la production d'huile et le potentiel du producteur (Sharma et al, 2003).

I.5. Techniques d'extraction

L'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité (Boukhatem et al., 2019 ; Richter et al., 2007).

I.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau

L'extraction à la vapeur remonte à l'antiquité, elle est considérée comme l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans contact préalable avec la plante (Muther, 2015; Raaman, 2006).

L'entraînement à la vapeur d'eau correspond à la vaporisation en présence de vapeur d'eau d'une substance peu ou pas miscible à l'eau. La matière première est mise en présence d'eau

portée à ébullition ou de vapeur d'eau dans un alambic. La vapeur d'eau entraîne la vapeur d'huile essentielle qui est condensée dans le réfrigérant pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier) où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation (AFSSAPS, 2008). Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques: le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme et Pénéol, 1990).

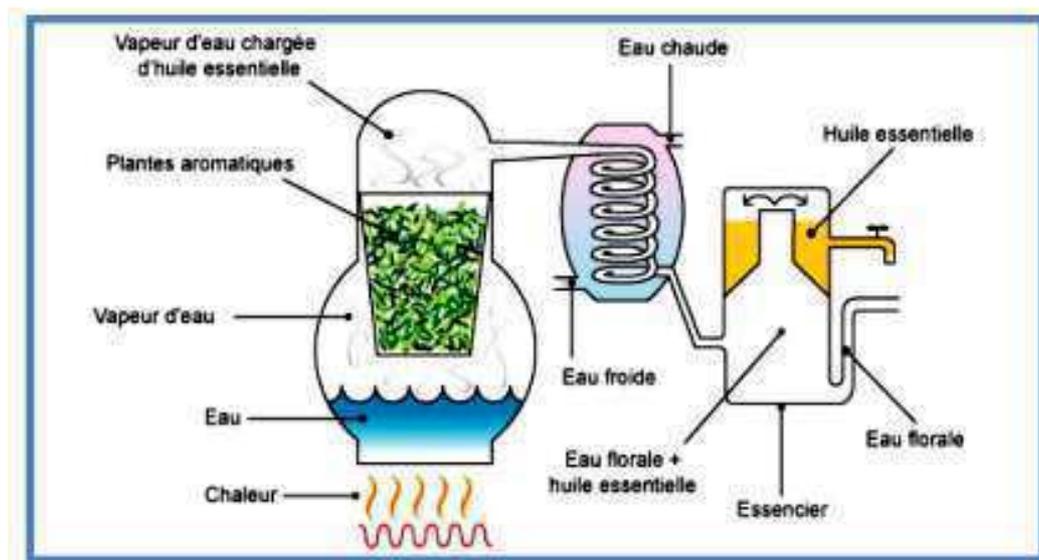


Figure 01: Montage d'extraction par d'entraînement à la vapeur d'eau

I.5.2. Expression à froid

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes par des procédés mécaniques à température ambiante (AFSSAPS, 2008). Le principe de la méthode est basé sur la rupture ou la délibération des poches sécrétrices contenues dans l'écorce des fruits, cela en faisant tourner ou en écrasant les écorces pour extraire les essences des poches des fruits par des presses pour libérer les huiles essentielles (Kimball, 1999 ; Paul et Toulouse, 2017).

I.5.3. Distillation sèche

Le procédé d'extraction le plus sophistiqué est celui basé sur l'utilisation de la vapeur générée dans un réacteur séparé. A cet effet le réacteur est muni d'une plaque perforée en dessous de laquelle un anneau perforé est monté pour l'admission de vapeur. Le grand avantage de ce système est la rapidité avec laquelle le réacteur peut être chargé et déchargé (Kone, 2001).

I.5.4. Hydrodiffusion

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

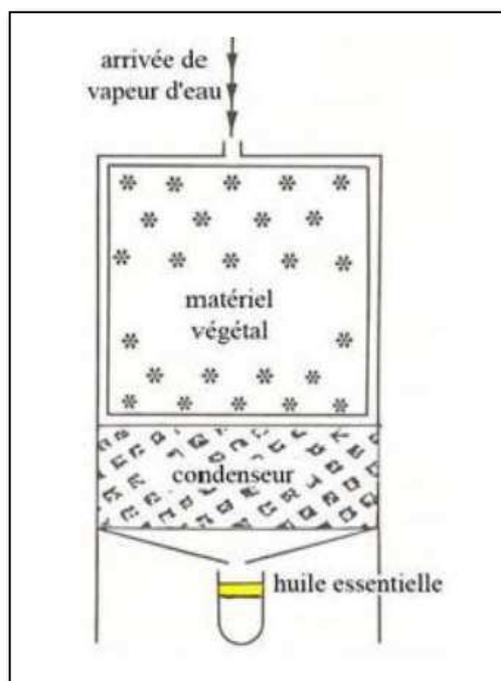


Figure 02: Montage d'hydro diffusion

I.5.5. Hydrodistillation assistée par micro-ondes

C'est une méthode rapide et moderne qui est en cours de développement et qui renverse l'ancien processus de distillation. Ceci afin d'extraire les substances volatiles des huiles essentielles. Le principe est de faire chauffer la plante par rayonnement micro-ondes dans un récipient dont la pression est réduite successivement et les substances volatiles sont piégées dans le mélange azéotrope contenant la vapeur d'eau de la plante utilisée (Salvia et al., 2017).

Par conséquent, l'extraction consomme moins d'énergie car elle ne nécessite pas de chauffer l'eau couvrant le végétal. De plus, le volume de condensats est alors réduit à la seule eau de constitution du végétal (Anizon et al., 2002).

I.5.6. Extraction au CO₂ supercritique

C'est un procédé qui a pris ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. (Piochon, 2008). Pour l'extraction de l'huile essentielle,

il faut broyer la plante puis la mettre dans le dispositif d'extraction, ensuite chauffer le gaz de dioxyde de carbone avec pression pour atteindre le point critique supercritiques ($P = 78,8$ bars $T = 31,1^{\circ}\text{C}$), l'huile de base se dissout dans le dioxyde de carbone et ce processus est fermé, le dioxyde de carbone retourne à son état gazeux, qu'il est facilement séparé du dioxyde de carbone (Laetitia, 2015).

I.6. Conditions de conservation et de stockage

La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles implique des précautions particulières pour leur conservation (AFSSAPS, 2008). En effet, les possibilités de dégradation sont nombreuses, facilement objectivées par la mesure d'indices chimiques, par la détermination de grandeurs et/ou par l'analyse chromatographique. Les conséquences sont multiples par exemple, photo-isomérisation, photocyclisation, coupure oxydative, peroxydation et décomposition en cétones et alcools, thermo-isomérisation, hydrolyse, transestérification. Ces dégradations pouvant modifier les propriétés et /ou mettre en cause l'innocuité de l'huile essentielle, il convient de les éviter en utilisant des flacons propres et secs en aluminium vernissé, en acier inoxydable ou en verre teinté anti-actinique, presque entièrement remplis et fermés de façon étanche, stockage à l'abri de la chaleur et de la lumière. Dans certains cas, un antioxydant approprié peut être ajouté à l'huile essentielle.

I.7. Composition chimique des huiles essentielles

L'huile essentielle est un produit caractérisé d'une complexité de composés chimiques, où ces derniers peu varier dans la même plante au niveau de la fleur, des feuilles ou dans les racines (Muther, 2015; Guignard, 2000). Les huiles essentielles sont constituées de trois catégories de composés : *terpéniques, aromatiques et variés*.

I.7.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques dont la formule brute de l'isoprène (C_5H_8). Selon le nombre d'unités associées, on peut distinguer : le mono (C_{10}); les sesqui (C_{15}); les di (C_{20}); les tri (C_{30}); les tétra (C_{40}) et les poly.

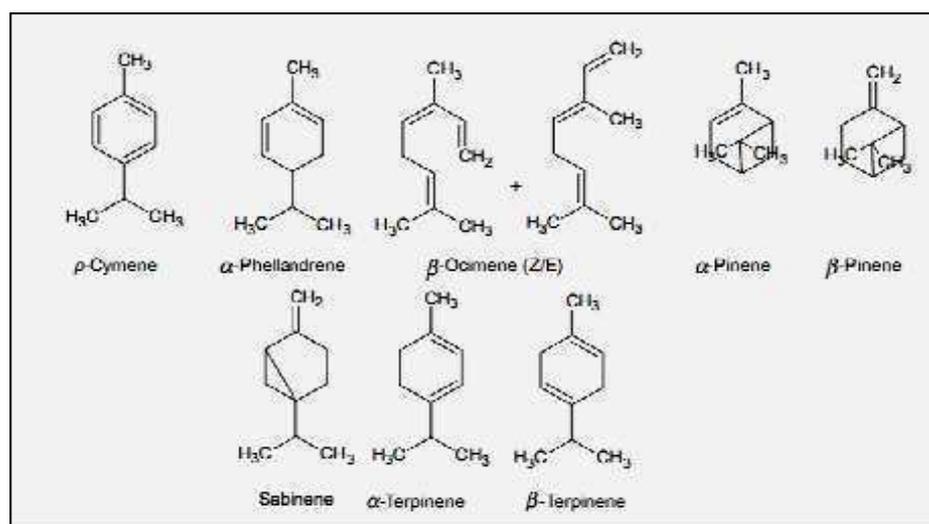


Figure 03: Structure de quelques monoterpènes

I.7.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropanoïdes (C_6-C_3). Ils sont moins fréquents ainsi que la biogénèse est différente de celle des terpènes (Bernard et al., 1988 ; Bruneton, 1999).

Les composés aromatiques peuvent être :

- Des aldéhydes (cinnamique, cuminique, anisique).
- Des phénols et éthers (thymol, eugénol, anéthol).
- Des coumarines et des alcools.

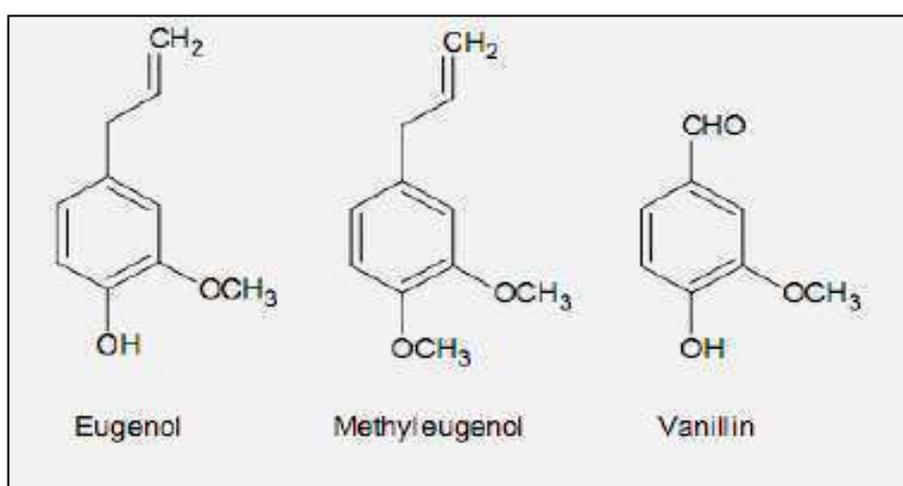


Figure 04: Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïdes

I.7.3. Les composés d'origine variée

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés de types hydrocarbures aliphatiques (à chaîne linéaire ou ramifiée), généralement de faible poids moléculaire entraînés lors de l'hydrodistillation (Bruneton, 1995).

I.8. Identification et analyses chromatographiques

L'analyse des huiles essentielles, l'identification des constituants, la recherche d'éventuelles falsifications peuvent se faire à l'aide de techniques telles que la chromatographie en phase gazeuse sur phases stationnaires polaires, apolaires ou chirales, couplée avec une détection par spectrométrie de masse ou IRTF (Infrarouge à transformée de Fourier) (Wagner et al., 1996 ; Rastogi et al., 1998).

Cependant, en routine et selon les référentiels classiques (Pharmacopée Européenne, ISO, AFNOR), l'évaluation de la qualité des huiles essentielles est réalisée par la mesure d'un certain nombre d'indices et des analyses chromatographiques simples :

- Indices physiques : densité relative, indice de réfraction, angle de rotation optique, point de solidification, résidu d'évaporation, solubilité dans l'alcool.
- Indices chimiques : indice d'acide, indice d'esters, indice de peroxyde.
- Analyses chromatographiques : chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) dans le cas des furocoumarines dans les HE de *Citrus*, chromatographie en phase gazeuse (Pharmacopée, ISO, AFNOR).

I.9. Activités biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antioxydantes, antitoxiques antivenimeuses, antivirales et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses (Lahlou, 2004).

I.10. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Cependant, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nuisible. Elle cause des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme

(allergies, coma, épilepsie, etc...) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) ([Degryse et al., 2008](#)).

L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées. L'ingestion de plus de 10 ml d'huile essentielle est neurotoxique et épileptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques ([Baudoux, 1997](#)).

Chapitre II: L'activité antioxydante

II.1. Le stress oxydatif

II.1.1. Définition

Le stress oxydant ou le stress oxydatif, est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxydants et les mécanismes de défense antioxydant au sein d'un même organisme, ce qui conduit à des dommages dans les biomolécules comme les lipides, les protéines et les acides nucléiques (Niki, 2018; Tu et al., 2019). Ces dommages sont impliqués dans le développement de nombreuses pathologies chroniques notamment le cancer, le diabète, les maladies inflammatoires, les maladies cardiovasculaires, le vieillissement prématuré et les maladies neurodégénératives (Matschke et al., 2019; Guillouty, 2016). Le stress oxydatif devient anormal lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité des radicaux libres à éliminer, soit ne disposent pas de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) suffisantes pour les éliminer (Niki, 2018; Tu et al., 2019).

II.1.2. Les Espèces réactives de l'oxygène et radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atome ou molécule) contenant un ou plusieurs électrons non appariés dits électrons célibataires, ces radicaux peuvent se former par transferts mono-électroniques ou par scission homolytique de liaison covalente. Cette molécule est extrêmement instable et réagit rapidement avec les molécules voisines non radicalaires (hocine & Gorinec, 2017). La formation des radicaux libres se fait de manière spontanée et continuellement dans l'organisme humain. Le maintien d'un niveau non cytotoxique de ROS est assuré par des systèmes antioxydants (Garait, 2006). Plus de 90% de l'oxygène consommé par les cellules est catalytiquement réduit par quatre électrons pour produire deux molécules d'eau. Cependant, l'O₂ peut être réduit par moins de quatre électrons, par certaines oxydases, donnant ainsi naissance à des espèces oxygénées partiellement réduites et hautement réactives appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO). Les espèces réactives oxygénées (ERO) incluent les radicaux libres comme le radical hydroxyl (OH·), le radical superoxyde (O₂^{·-}) et sa forme protonnée (HO₂[·]), le radical peroxy (ROO·) et les espèces non radicalaires comme le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et l'oxygène singulet (¹O₂) sont des molécules hautement réactives produites dans les organismes vivant sous des conditions physiologiques et pathologiques (Patterson et al., 2019). D'autres espèces radicalaires dérivent de l'azote nommés les espèces réactives du nitrogène incluent le radical monoxyde d'azote (NO·), l'anion peroxydrite (ONOO⁻), le radical dioxyde d'azote (NO₂[·]) et d'autres oxydes

d'azote sont produits par la réaction du monoxyde d'azote avec O₂. (Singh et al, 2019).

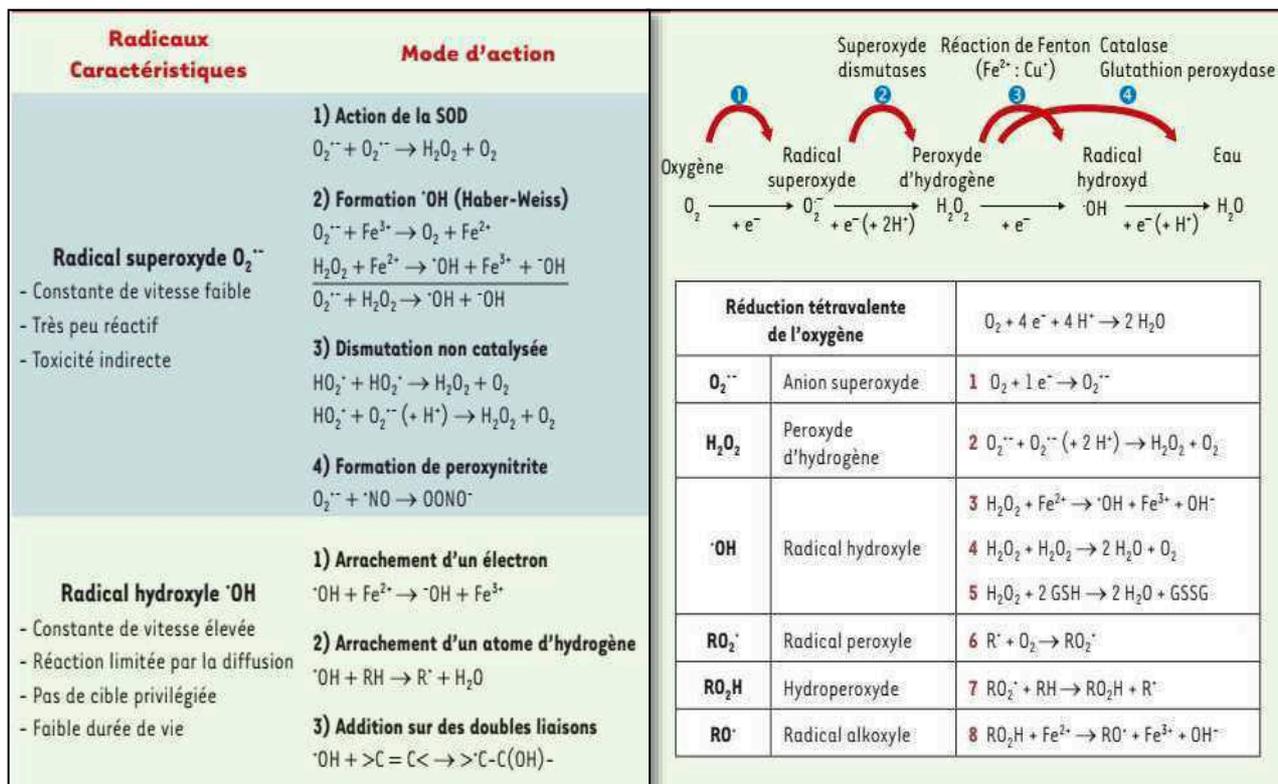


Figure 05 : Origine des espèces réactives de l'oxygène

II.2. Les antioxydants

Le système de défense antioxydant correspond l'ensemble des moyens mis en œuvre pour contrôler l'oxydation et ses effets négatifs. Il comprend plusieurs lignes de défenses qui visent à prévenir la formation des radicaux libres, les neutraliser quand ils sont déjà formés, réparer leurs dégâts et/ou prévenir les conditions favorables à leur formation, comme par exemple, en bloquant/séquestrant les atomes de fer, qui agissent comme des catalyseurs dans la formation de radicaux libres (réaction de Fenton). Ainsi, les antioxydants servent à contrôler le niveau des espèces réactives pour minimiser le dommage oxydatif (Dias, 2019). Il existe deux principaux types d'antioxydants.

II.2.1. Les antioxydants enzymatiques

❖ *Le superoxyde dismutase (SOD)* catalyse la dismutation de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot -}$) en oxygène et hydrogèneperoxyde (H_2O_2). Cette enzyme existe sous trois isoformes deux sont présentes à l'intérieur des cellules (SOD mitochondriale ayant le manganèse dans son site actif (MnSOD), ainsi qu'une enzyme cytosolique, ayant le zinc dans

son site actif (ZnSOD), tandis que l'autre est situé dans l'espace extracellulaire (SOD ayant le cuivre et le zinc (Cu-ZnSOD) (Younus, 2018).

❖ *La catalase (CAT)* est une enzyme qui catalyse la transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène moléculaire (Ighodaro et Akinloye, 2018). Elle est présente dans de nombreux tissus et particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Les catalases sont localisées dans les peroxysomes, cette compartimentation l'empêche d'être un accepteur pour l' H_2O_2 formé dans le cytosol et les mitochondries (Awad et al., 2018).

❖ *La Glutathion peroxydase (GPx)* et la Glutathion réductase (GR) sont localisées dans le cytosol et les mitochondries. La glutathion peroxydase est une sélénoenzyme (Se-GPx) qui joue un rôle très important dans la détoxification du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), mais aussi d'autres hydroperoxydes résultants de l'oxydation du cholestérol ou des acides gras en couplant la réduction de ces dérivés réactifs avec l'oxydation de substrats réducteurs comme le glutathion (GSH) (Benhar, 2018).

II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

De nombreuses molécules issues de notre alimentation : vitamines, nutriments, composés naturels,...etc. sont considérés comme des antioxydants. Citons à titre d'exemples les plus courants :

❖ *L'acide ascorbique ou vitamine C* est le principal acide des cellules végétales, il est faible à pH physiologique et se dissocie en anion ascorbate. Il perd un électron à la réaction d'oxydation de l'ascorbate. C'est un radical monohydro ascorbate (MDHA).(Pourrut, 2008)

❖ *La vitamine E ou ou tocophérol:* est un antioxydant liposoluble majeur. C'est l'un des principaux antioxydants de la famille des tocophérols et sa structure moléculaire a une extrémité hydrophile et hydrophobe et a la capacité de pénétrer dans l'épithélium des cellules (Bougrine, 2012; Pastre, 2005).

❖ *Le sélénium:* Il neutralise les métaux toxiques (plomb, mercure). Il aurait aussi une action préventive sur certains cancers.

❖ *Le glutathion (GSH)* : est un tripeptide (L- γ -glutamyl-L-cysteinyl-glycine) dont la fonction thiol lui confère un rôle d'antioxydant (Pacula et al., 2017). Le glutathion intervient comme agent détoxiquant dont il participe à la neutralisation de certains radicaux libres et il agit comme cofacteur de l'enzyme glutathion peroxydase (GPx). Le glutathion réduit (GSH), réduit le H_2O_2 et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la

GPx. Le glutathion peut aussi réduire d'autres radicaux libres tels que $LO\cdot$, $LOO\cdot$ et $l'O_2\cdot^-$, comme il peut réduire d'autres radicaux de nitrogène et de carbone pour former le radical thiyl ($GS\cdot$) (Figure 06).

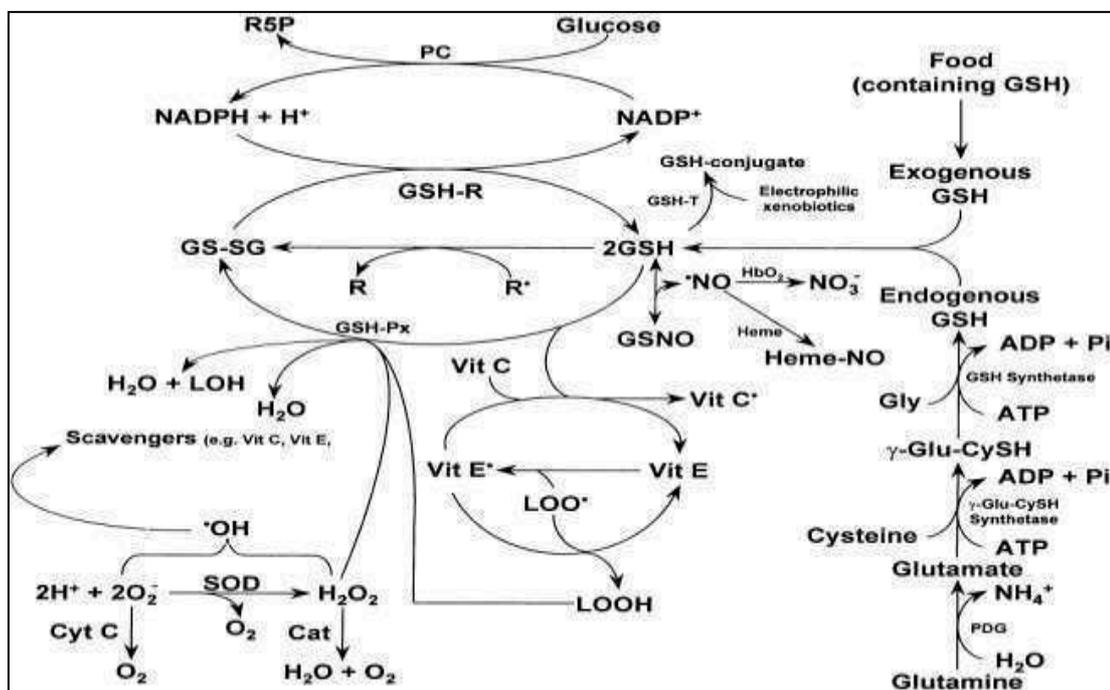


Figure 06: Système de défense antioxydant (Enzymatique et non-enzymatique) (Mazzetti et al., 2015).

- ❖ *Les phénols*: sont des molécules contenant un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plus de groupes hydroxyle (OH) et l'effet est plus grand que les vitamines en tant qu'antioxydant (Richard, 2013)

- ❖ *Les flavonoïdes*: comme l'hespéridine et la rutine, présents dans plusieurs plantes, dont le Sarrasin et le Citronnier, renforcent les parois capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins.

- ❖ *Les coumarines*: existent en plusieurs types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses. Ils sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

- ❖ *Les tanins*: Ce sont des composés polyphénoliques qui permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour rendre les tissus souples, comme dans le cas des veines variqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure.

Les sources alimentaires des antioxydants naturelles sont présentées dans le (Tableau 01)

Tableau 01: Antioxydants non enzymatiques et sources alimentaires associées
(Koechlin-Ramonatxo., 2006)

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

Chapitre III: Monographie de *Lavandula stoechas* L

III.1. Généralités

Le mot *lavande* provient du terme laver en latin (*lavare*) (Chu et Kemper, 2001), il est peut être issu de l'italien *lavando* (action de laver) (Reley, 1998). Cette étymologie laisse penser que très tôt la lavande a été utilisée pour parfumer le linge fraîchement lavé.

Le genre *lavandula* est un membre important de la famille des Lamiacées (Labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs) (Barrett, 1996 ; Maganga, 2004), originaire du sud de l'Europe et la plupart de la région méditerranéenne, pousse en plein soleil sur des sols secs et rocaillieux bien drainé (Saadatian et al., 2013).

La classification du genre *Lavandula* a subi de nombreuses modifications et le nombre d'espèces décrites n'a cessé d'augmenter au fil des travaux botaniques. Historiquement, *L.stoechas* L a été décrite à l'époque romaine (Lis-Balchin, 2002). Une des premières classifications modernes majeures du genre *Lavandula* se trouve dans "A Taxonomic Study of the Genus *Lavandula*" de (Chaytor, 1937), sa révision reconnaît 28 espèces. Récemment, la classification phylogénétique du genre *Lavandula* a été réexaminée par (Upson et Andrews, 2004), cette étude a conduit à reconnaître 39 espèces différentes.

Le terme *stoechas* désigne en grec l'espèce de lavande qui croissait abondamment dans les îles d'Hyères (France), lesquelles avaient reçu pour cette raison le nom d'îles *Stoechades* (Beniston, 1984).

III.2. Nomenclature de *Lavandula stoechas* L

- **Arabe** : Khuzama, Amezzir, Helhal
- **Français** : Lavande des stoechades, lavande papillon, lavande maritime, lavande à toupet.
- **Anglais**: Spanish lavender, topped lavender (U.S.), french lavender (U.K.)

III.3. Taxonomie

Selon (Quezel et Santa, 1963), l'espèce *Lavandula stoechas* L appartient à la classification suivante :

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Sous-classe : Astéridées

Ordre : Lamiales (Labiales)

Famille : Lamiaceae ou Labieae

Genre : *Lavandula*

Espèce : *Lavandula stoechas* L

III.4. Répartition géographique

Elle a été historiquement la première lavande à être formellement décrite et elle est aussi la lavande dont le territoire géographique est le plus vaste. Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte (**Figure 07**). Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie ([Benabdelkader, 2012](#)).

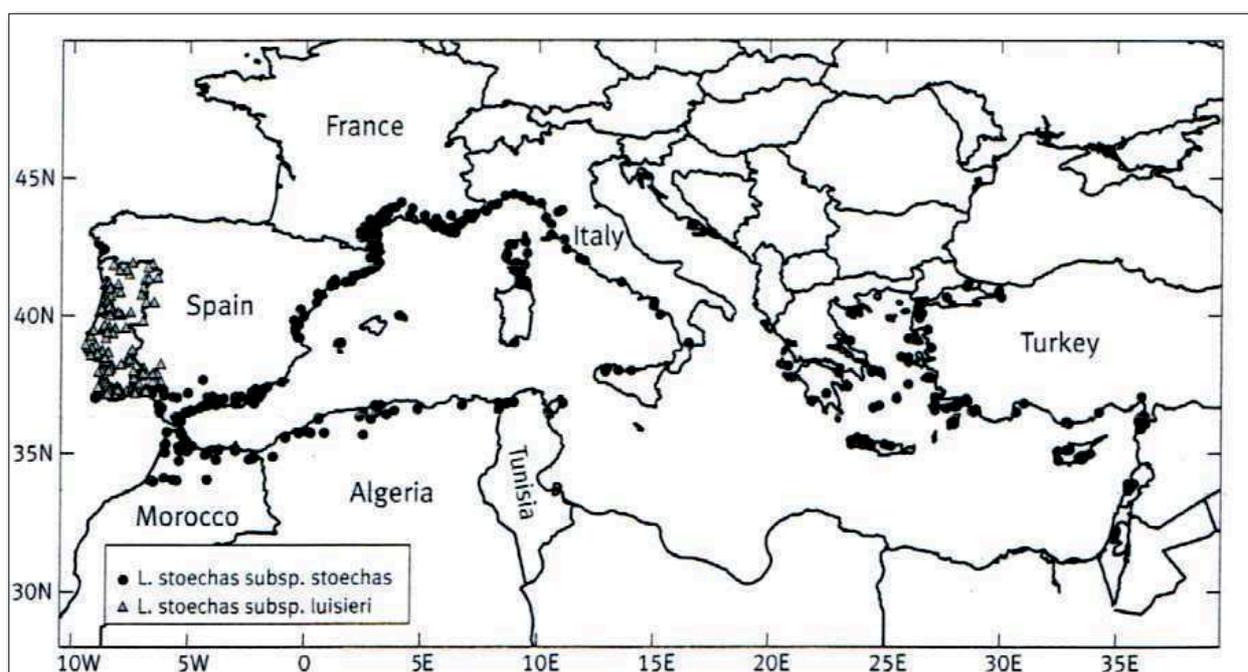


Figure 07: Répartition géographique de *L.stoechas* L ([Upson et Andrews, 2004](#))

III.5. Caractères généraux

L. stoechas L (**Figure 08**) se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin. Les feuilles opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites et recourbées sur les bords et sont souvent grises. Les inflorescences de coupe carrée sont sessiles, compactes et surmontées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovales ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur ([Mohammedi et al, 2012](#)). Les bractées fertiles sont largement ovales à obovales-subtrilobées,

brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Contrairement à beaucoup d'autres lavandes, cette lavande préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle supporte la mi-ombre et tolère le froid jusqu'à -5°C . La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'Avril à Mai puis en automne (Galoul & Touahria, 2018).



Figure 08: L'espèce *Lavandula stoechas* L

III.6. Composition

Les études sur la composition chimique des huiles essentielles des espèces du genre *Lavandula* montrent qu'elles sont plus riches en monoterpènes qu'en sesquiterpènes et que ces deux groupes de molécules constituent la majeure partie des HEs.

La composition chimique de l'HE de *L. stoechas* a été largement étudiée sur une grande partie de son aire de répartition et de son utilisation traditionnelle très ancienne. Il a été démontré que l'espèce *L. stoechas* L synthétisent plus de 100 terpènes différents. Les principaux composants de l'huile essentielle renferme le camphre (71.86%), cineole, 1,8-cineole (4.08%), linalool (3.77%) et borneol (3.19%) (Tableau 2, Figure 09).

Tableau 02: La composition chimique de l'huile essentielle de de la partie florale de *L. stoechas L* (Asghari et al., 2016)

Composés	Teneur (%)
α -Pinene	1,17
Camphene	1,21
Verbenene	0,38
β -Pinene	1,06
β -Trans- Ocimene	0,18
Cymene	0,3

Composés	Teneur (%)
1.8-Cineole	4,08
Linalool Oxide	0,85
O-Methylphenylol	0,14
α -Thujone	0,72
Linalool	3,77
Camphor	71,86
Borneol	3,19

Composés	Teneur (%)
Citromellal	0,33
Cryptone	0,6
Bicyclo[3,1,1]hept-2- ene-2- carboxaldehyde,6,6- dimethyl-	0,4
Myrtenol	0,16
Eucarvone	0,18
Carveol	0,44
Propamal 2-methyl- 3-phenyl-	0,63

Composés	Teneur (%)
1-Carvone	0,39
Phellandral	0,77
Anethole	0,19
Cuminol	0,37
Neryl alcohol	0,15
β -Selinene	1,35
Alpha-Terpinene	0,34
Caryophyllene oxide	1,05
Delta-Cadinene	0,16
β -Eudesmol	1,2
α -Bisabolol	

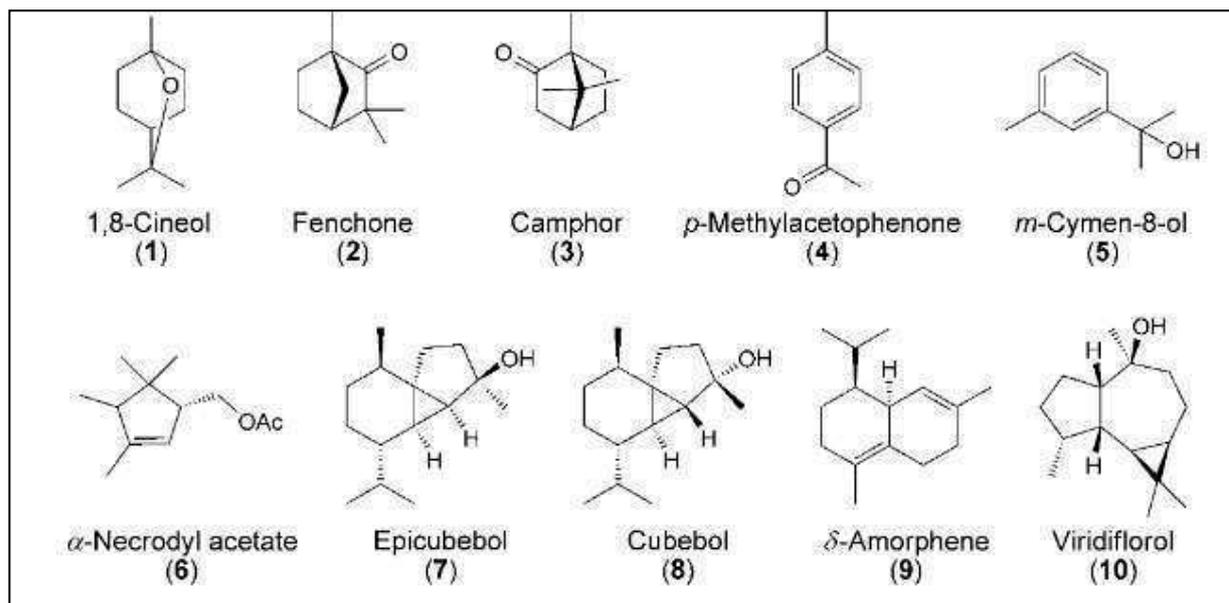


Figure 09: (1-3 et 10) Structure des principaux composés de *L.stoechas* L d'origine Algérienne, (4-9) les composés détectés pour la première fois (Benabdelkader et al., 2011)

III.7. Les propriétés d'utilisations

L. stoechas L est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en HE.

En Algérie, *L. stoechas* est très connue sous le nom local "Helhal" et est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays. Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant (Mahmoudi, 1982). Dans la cuisine, elles sont également utilisées comme herbe culinaire pour préparer un type particulier de couscous.

Elle est utilisée comme antispasmodique, carminative, expectorant et comme stimulant. L'huile essentielle fournie à partir des sommités fleuries a été employée comme un remède contre la colique afin de soulager les maux de tête ainsi que pour le nettoyage des blessures (Gulcin et al, 2004).

Partie Expérimentale

Chapitre I: Matériel et Méthodes

II.1. Matériel végétal

La partie aérienne de *Lavandula stoechas L* a été récoltée au mois de Mars 2021, dans les forêts de Cheraïa, wilaya de Skikda (Figure 10), (nord 37 ° 00'16.1064 ", Est 6 ° 31'10.11"). (Latitude : 37°00'16.1"N, longitude : 6°31'10.0"E, l'altitude : 306 m.

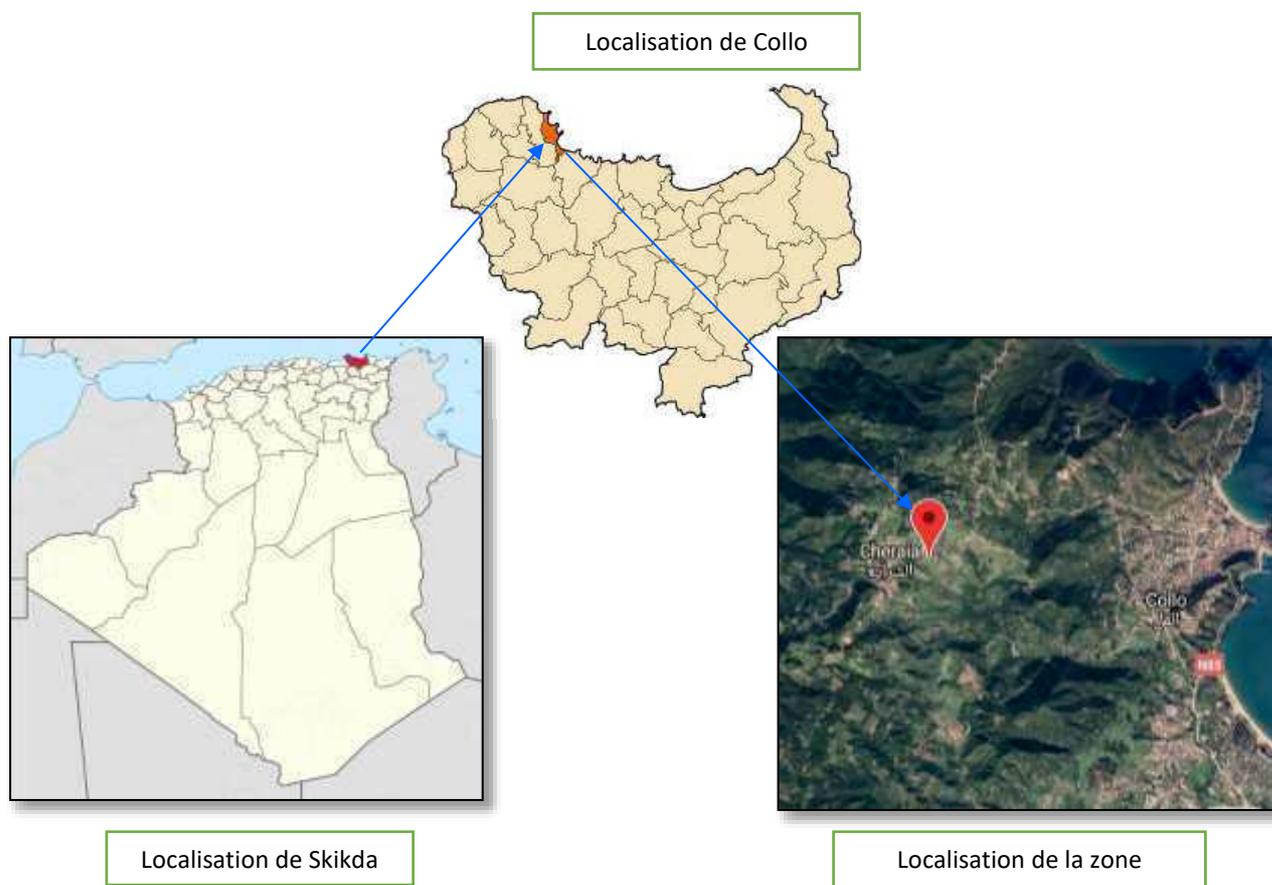


Figure 10: Localisation de la zone d'étude

II.2. Préparation de la plante

Le séchage de *Lavandula stoechas L* a été réalisé à température ambiante et à l'abri de la lumière et de l'humidité afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules ensuite une partie est réduite en poudre à l'aide d'un broyeur (Figure 11) et conservée jusqu'à utilisation.



Figure 11: A. *Lavandula stoechas* L séchée, B. *Lavandula stoechas* L moulue.

II.3. Evaluation de la teneur en eau

La teneur en eau est la différence entre le poids de l'échantillon avant et après la dessiccation jusqu'à poids constant (Audigie et al., 1980). On procède à une dessiccation de l'échantillon dans une étuve (Memmert UF 110) aux températures de 103°C à 105°C, sous la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Trois répétitions ont été réalisées, dont la moyenne représente le taux d'humidité.

1. 2g de la matière végétale en poudre ont été étuvé pendant 3 h à 105°C, trois répétitions ont été réalisées, dont la moyenne représenterait le taux d'humidité.

1. Expression des résultats

Le calcul est effectué à l'aide de la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{M_2 - M_3}{M_2 - M_1} \times 100$$

Dont :

H(%) : Teneur en eau ou taux d'humidité (en %)

M₁ : Masse de la capsule vide (en g).

M₂ : Masse de la capsule avec l'échantillon avant dessiccation (en g).

M₃ : Masse de la capsule avec l'échantillon après dessiccation (en g).

II.4. Evaluation du taux de cendres

Le principe consiste en une incinération du matériel biologique au four à moufle, dans un creuset en porcelaine, à une température de 900°C pendant 1h30 (AOAC, 1990). Le taux de cendre est calculé par la formule suivante :

$$\text{Le taux de cendre (\%)} = \frac{M_1 - M_0}{P} \times 100$$

Dont :

M_1 : Masse du creuset avec l'échantillon après l'incinération (en g).

M_0 : Masse du creuset vide (en g).

P : Masse de la prise d'essai (en g).

III.4.1. L'alcalinité des cendres

A un échantillon cendré à sec, 10 ml de HCl 0,1N puis de l'eau bouillante sont ajoutées. Cet échantillon est titré avec NaOH 0,1N en utilisant l'indicateur méthyle orange.

Le volume de NaOH requis dans le titrage détermine l'alcalinité de cendre (AOAC, 2016 ; Suzanne Nielsen, 2017).

2. Expression des résultats

L'alcalinité de cendre exprimée en milliéquivalents par litre (Jaulmes, 1951) :

$$A = 5 (10 - n)$$

n = nombre de millilitres d'hydroxyde de sodium.

II.5. Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation

3. Principe

Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon (Figure 12) rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (Bruneton;1993).

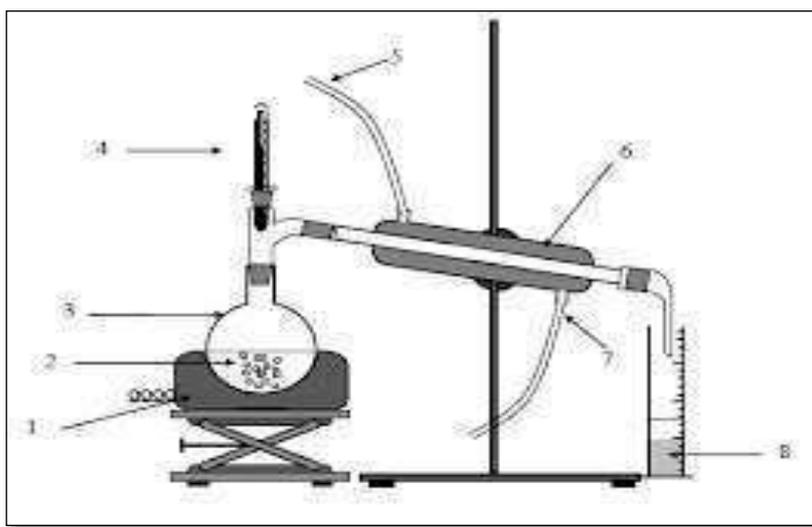


Figure 12: Montage d'hydro-distillation utilisé pour l'extraction des huiles essentielles

1. Chauffe ballon, 2.Eau+plante, 3-Ballon, 4- Thermomètre, 5- Sortie d'eau, 6- Réfrigèrent, 7- Arrivée d'eau, 8.Huile + eau

2. Mode opératoire

L'opération consiste à introduire 170g de la partie aérienne de *L.stoechas L* séchée dans un ballon puis on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée, sans remplir le ballon pour éviter le débordement lors de l'ébullition.

Les vapeurs chargées d'huile essentielle passe à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent et chutent dans l'ampoule à décanter. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de la phase aqueuse. L'extraction se poursuit pendant 3 heures.

L'huile essentielle obtenue est conservée à 4°C, dans un flacon en verre stérile, fermé hermétiquement en utilisant le papier aluminium afin de la préserver de l'air et de la lumière.



Figure 13: Montage d'hydro-distillation utilisé pour l'extraction de *L.stoechas L*

3. Calcul du rendement

Selon la norme le rendement en pourcentage ($R_{HE} \%$) d'une plante est le rapport entre le poids de l'huile extraite (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée sèche (M_{mv}) (AFNOR, 2000). Le rendement, exprimé en pourcentage, est calculé par la formule suivante:

$$R_{HE} \% = \frac{M_{HE}}{M_{mv}} \times 100$$

II.6. Extrait éthanoïque

II.6.1. Extraction par macération

Une prise d'essai de 10g de la partie aérienne de *L.stoechas L* en poudre a été extraite avec 100 ml d'éthanol à 70%. Le mélange est laissé sous agitation pendant 24 heures à

température ambiante. Le mélange est filtré et concentré à l'aide un évaporateur rotatif (Nahito).

Le résidu obtenu est déterminé en poids pour calculer le rendement de l'extrait éthanolique EEL (Majhenic et al., 2007).



Figure 14: Evaporateur rotatif (Nahito)

II.7. Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de l'huile essentielle

II.7.1. Les caractéristiques organoleptiques

L'aspect, la couleur et l'odeur de l'huile essentielle de *L. stoechas* L., ont été déterminés par l'examen sensoriel afin de déterminer macroscopiquement l'aspect la couleur ainsi que l'odeur.

II.7.2. Analyses physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles sont importantes surtout du point de vue commercial, car elles sont soumises à une législation et une normalisation. Elles sont déterminées par une série d'analyses qui sont indiquées par la norme (AFNOR).

II.7.2.1. La densité

La densité est le rapport entre la masse d'un volume de l'huile essentielle et la masse du même volume d'eau distillée, à une température (20°C).

A l'aide d'un pycnomètre, on pèse deux volumes égaux d'eau distillée et de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* L puis on calcule la densité, en appliquant la formule suivante:

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : La masse du pycnomètre vide (g) ; m_1 : La masse du pycnomètre rempli d'eau distillée (g);
 m_2 : La masse du pycnomètre rempli d'HE (g).

II.7.2.2. Le potentiel d'hydrogène (pH)

Pour mesurer le pH de l'huile essentielle, on a utilisé le papier pH (Figure 15).



Figure 15 : Papier pH

II.7.2.3. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux d'une longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile maintenue à une température constante (Fernandez ; 2017). Il permet de vérifier la pureté de l'huile. Sa détermination est réalisée suivant les indications de la norme AFNOR NF-T 75-112.

La mesure de l'indice de réfraction est effectuée en utilisant le refractomètre d'ABBE (Figure 16) et calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004 (T-20)$$

n_D^T : Indice de réfraction à la température de l'expérience



Figure 16 : Refractomètre d'ABBE

II.7.2.4. L'indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g de l'huile essentielle (AFNOR ;1999). Cet indice est déterminé selon les indications de la norme AFNOR, NF-T 75-103

4. Mode opératoire

1. On mélange 0,5g de l'échantillon (l'huile extraite) avec 5ml d'éthanol et quelques gouttes d'indicateur coloré (la phénolphtaléine).
2. La neutralisation est effectuée à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de Potassium 0.1N.
3. Une fois la couleur rose apparaît, on arrête le titrage. - On note le volume de KOH consommé.

L'indice d'acide (IA) est donc donné par la formule :

$$IA = \frac{V \cdot 5.61}{m}$$

Où : **V** : Le volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée (ml), **m** : La masse de la prise d'essai (g).

II.8. Analyse par spectroscopie infrarouge

La Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (ou FTIR: Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé (Figure 17). Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques

des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans l'échantillon (Wojtkowiak et Chabanel, 1977).

Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} ($2.5 - 25\ \mu\text{m}$) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules.



Figure 17: Spectromètre FT-IR- Cary-660

II .9. Evaluation de l'activité antioxydante

II.9.1. Piégeage du radical 2-diphényl-1- picrylhydrazyl (DPPH)

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (α,α -diphényl- β -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composés phénoliques (Blois, 1958 ; Brand-Williams et al., 1995).

Le mécanisme général de cette réaction est la réduction du radical (DPPH $^{\bullet}$) ayant une couleur violette par les antioxydants en lui transférant un proton, alors il se transforme en en une molécule stable DPPH-H de couleur jaune (Figure18). L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à piéger les radicaux libres (Sanchez-Moreno., 2002 ; Molyneux, 2004).

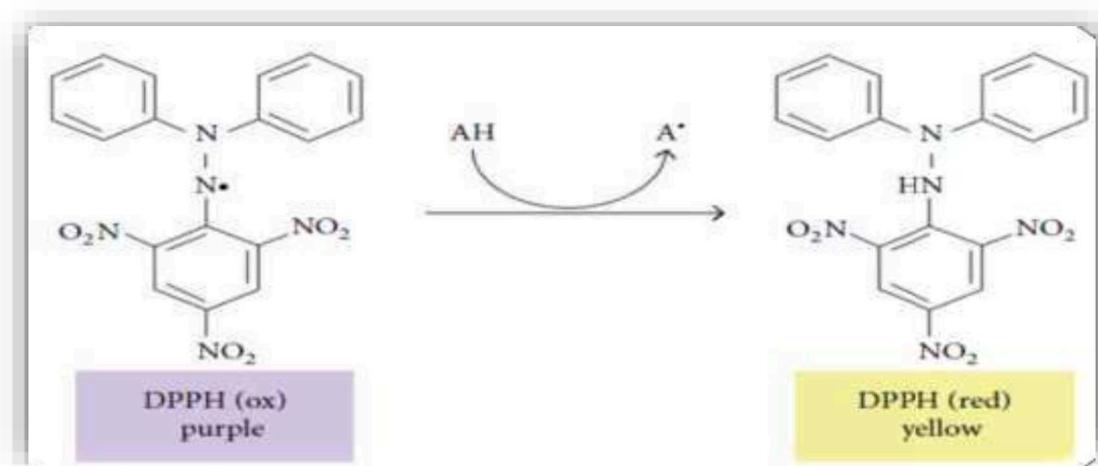


Figure 18: Principe de piégeage du radical DPPH (Teixeira et al., 2013)

L'évaluation de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH a été effectuée selon la méthode décrite par (Molyneux, 2004) légèrement modifiée. 100 µl de diverses concentrations des extraits dans l'éthanol ont été ajoutés à 1900 µl d'une solution éthanolique de DPPH à 0,004%. Les différentes concentrations de notre extrait ainsi que la référence (acide gallique) ont été laissées à l'obscurité pendant 30 min puis mesurées à 517 nm par spectrophotomètre UV-visible (sahin, 2004). Le pourcentage d'inhibition (PI) est calculé selon l'équation suivante :

$$PI\% = \frac{[Abs\ contrôle - Abs\ extrait]}{Abs\ contrôle} \times 100$$

4. Calcul de concentration inhibitrice IC₅₀

La concentration inhibitrice (IC₅₀) également appelée EC₅₀ (Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire et neutraliser 50% du radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculés graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés (Torres et al., 2006).

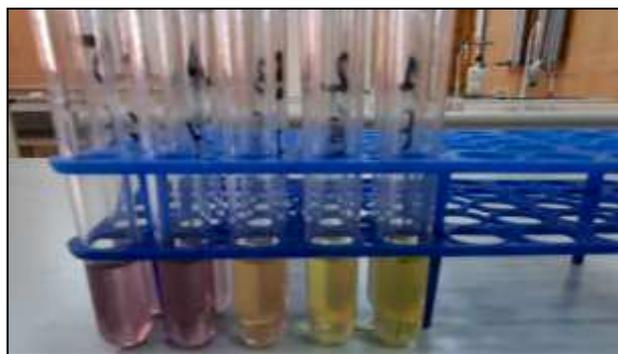


Figure 19 : Test de DPPH

II.9.2. Le pouvoir réducteur du fer ferrique (FRAP)

La méthode FRAP est basée sur la réaction de réduction de fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}) par un antioxydant, la réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique (Fe^{3+}) à la couleur bleu - vert du fer ferreux (Fe^{2+}). L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm (Chung et al.; 2002).

En d'autre terme, le système $\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ confère à la méthode la sensibilité pour la détermination « semi quantitative » des concentrations des polyphénols, qui participent à la réaction redox (Amarowicz et al., 2004).

Pour le test de FRAP, nous avons suivi la technique de (Oyaizu et al., 1986) qui consiste à prélever 0,5 ml de chaque extrait à différentes concentrations et les mélanger avec 1,25 ml d'une solution tampon phosphate à 0,2M (pH= 6,6) et 1,25 ml d'une solution de ferricyanure de potassium $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ à 1%. Le tout est incubé à 50°C pendant 20 min, puis refroidi à la température ambiante. 2,5 ml d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction, puis les tubes sont centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min. 1,25 ml du surnageant sont ajoutés à 1,25 ml d'eau distillée et 250 μl d'une solution de chlorure de fer (FeCl_3) à 0,1%. La lecture des absorbances se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700nm. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard; l'acide gallique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons.

Chapitre II: Résultats et discussion

III.1. Détermination du taux d'humidité et du taux de cendres

Les résultats sont représentés dans le (Tableau 03). La quantité d'eau présente dans la partie aérienne (feuilles, tiges, fleurs) de *L.stoechas L* préalablement séchée à température ambiante est importante ($11,05\% \pm 3,2$), à partir de cette dernière on a pu calculer la matière sèche, estimé à 88,95%. Le taux de cendres observé dans le présent travail est de $12,99\% \pm 0,68$ et pour l'alcalinité des cendres on a enregistré une valeur de 34mEq/l.

Les travaux de (Mebirouk-Boudechiche et al., 2015) ont rapportés que le taux de la matière sèche et d'humidité présentent des teneurs de 34,99% et 65,01% respectivement, effectués sur un échantillon de feuilles fraîches de la même espèce poussant à El Taref, également une teneur en cendres inférieure à celle obtenue dans notre espèce estimé à 8,22% enregistrée dans la même étude. Aussi une étude menée par (Moulay et al., 2020), indique que l'espèce *Marrubium vulgare* de la région de Tissemsilt (Algérie) renferme un taux supérieur de cendres ($17,76 \pm 1,10$).

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

Tableau 03 : Taux d'humidité, de cendres et de l'alcalinité des cendres

Paramètres	Résultats
Humidité	$11,05\% \pm 3,2$
Cendres	$12,99\% \pm 0,68$
Alcalinité des cendres	34 mEq /l

III.2. Rendements d'extraction

Les extractions par hydrodistillation et par macération de la partie aérienne fleurie de *L. stoechas L* ont fournies HEL et EEL. Les rendements d'extraction sont exposés dans la (Figure 20)

Le rendement en huile enregistré de notre plante étudiée est de 0,41% considéré comme moyen e comparant avec d'autres échantillons de la même espèce issus de plusieurs régions géographiques (Tizi-Ouzou, Oum el-Alou, Zarifet et Tlemcen) dont les rendements varient entre 0,16-2,00% (Menaceur, 2011 ; Mohammedi,2006). Une autre

étude menée par (Bachiri et al., 2016) sur *L.stoechas* originaire du maroc, indique un rendement plus important (2,5 %).

De même, on constate une différence de rendement par rapport aux autres espèces du même genre telles que *L.angustifolia* et *L.intermedia* avec des rendements de 2,70% et 8,70% respectivement (Maria, 2002).

Concernant le rendement en extrait éthanolique, on a constaté un pourcentage de 5,20 qui est un peu plus inférieure à ce trouvé par (Giray et al, 2008) sur un échantillon de *L.stoechas L* originaire de Turquie (9,40%).

Tous ces résultats corroborent la variabilité du rendement des plantes aromatiques suivant l'espèce et la distribution.

Il est à noter que ces variations dépendent de différents facteurs notamment les facteurs climatiques, la période de récolte, les pratiques culturales et la technique d'extraction. Plusieurs chercheurs ont montré que le rendement d'extraction des huiles essentielles varie en fonction de l'origine de la plante.

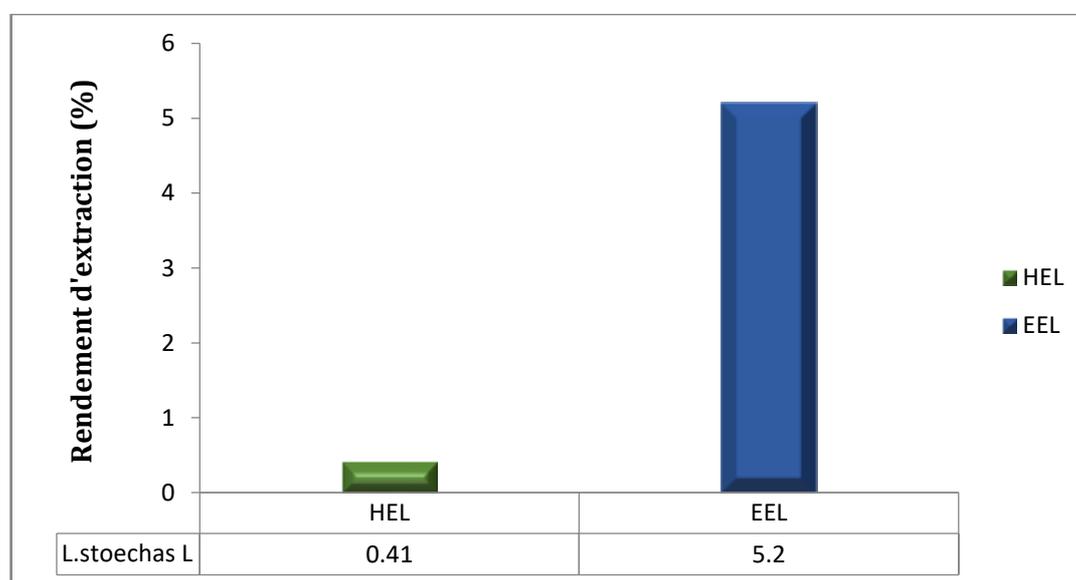


Figure 20: Rendements d'extraction de *L. stoechas L*

III .3. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Lavandula Stoechas L*

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle (Figure 21) sont résumés dans le(Tableau 04):



Figure 21: Huile essentielle de *L.stoechas L*

On note que notre huile essentielle a un aspect liquide moins visqueux, caractérisée par une odeur végétale très forte.

Tableau 04: Les paramètres organoleptiques de l'HE de *Lavandula stoechas L*

	Aspect	Couleur	Odeur
Echantillon étudié	Liquide	Jaune clair	Très forte et persistante
Benabelkader et al., 2011	Liquide mobile, limpide	Jaune foncé	Très forte et persistante
AFNOR 2000	Liquide, mobile, limpide	Jaune pâle	Caractéristique

III.4. Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas L* sont indiqués dans le (Tableau 05)

Tableau 05 : Propriétés physico-chimiques de l'HEL

<i>Lavandula stoechas L</i>	
Densité	0,700 ±0,22
Indice d'acide	3,3666
Indice de réfraction	1,471
pH	6

La densité d'une HE constitue un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle dans différents domaines (cosmétique, pharmacie, chimique, agroalimentaire, etc.). Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit ainsi que les tentatives de fraudes et d'adultération. Notre HEL a une densité de 0,700 ±0,22 une valeur proche de celle trouvée (0,813) à partir d'une prise d'essai constituée par des feuilles sèches de *L.stoechas L* issue de la région de Tlemcen (Mohammedi et Atik, 2011).

L'indice de réfraction, comme critère de pureté, est utilisé pour l'identification des huiles essentielles, on a enregistré un indice de 1,471, ce dernier est presque identique à celui trouvé par les études effectuées sur la même espèce avec une valeur de 1,478 (Menaceur, 2011) et proche de celui de l'espèce *Lavandula angustifolia* : 1,464 (Norme ISO 3515, 1987).

Selon l'agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles,. Elles sont plus ou moins colorées et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé.

III.5. Analyse par spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge se présente sous forme d'une succession de fines bandes d'absorption, plus ou moins larges. L'axe des ordonnées est orienté vers le haut et représente la transmittance en pourcentage et l'axe des abscisses représente le nombre d'onde en cm^{-1} , l'axe est orienté de la droite vers la gauche ($500 - 4500 \text{ cm}^{-1}$). Le but de cette activité est de déterminer les groupements fonctionnels contenus dans une molécule ainsi que les liaisons entre les carbones d'une chaîne (chaîne saturé, insaturé, caractère aromatique d'une molécule), par indication des principales bandes de vibration en s'appuyant sur les tables fournies.

L'étude de trois grands domaines du spectre permet de repérer les groupements fonctionnels importants.

* La région $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ contient les bandes de vibration longitudinale des principaux groupements C-H, O-H, C=O, N-H

Pour O-H et N-H, on observe souvent des bandes plus ou moins larges en raison de l'existence de liaison hydrogène.

* La région $1500 - 1000 \text{ cm}^{-1}$ contient entre autre, la bande d'étirement longitudinal de la liaison C-O. c'est par ailleurs, une zone appelée « empreinte digitale » car on y trouve de nombreuses absorptions correspondant aux déformations angulaires de la molécule.

* la région $1000 - 600 \text{ cm}^{-1}$ correspond aux déformations angulaires des liaisons C-H des composés éthyléniques et des cycles aromatiques.

Le spectre infra-rouge de notre huile essentielle est représenté sur la (Figure22).

La large bande d'absorption comprise entre $3480-3300 \text{ cm}^{-1}$ correspond aux vibrations d'élongation de l'hydrogène des groupes hydroxyles O-H (carboxyles, phénols ou alcools). Elle correspond aussi à la vibration d'élongation de O-H de la cellulose, la pectine et la lignine.

Entre 2962 et 2869 cm^{-1} les bandes intenses des vibrations d'élongation qui correspondent aux vibrations d'étirage C-H asymétriques et symétriques des chaînes alkyles latérales.

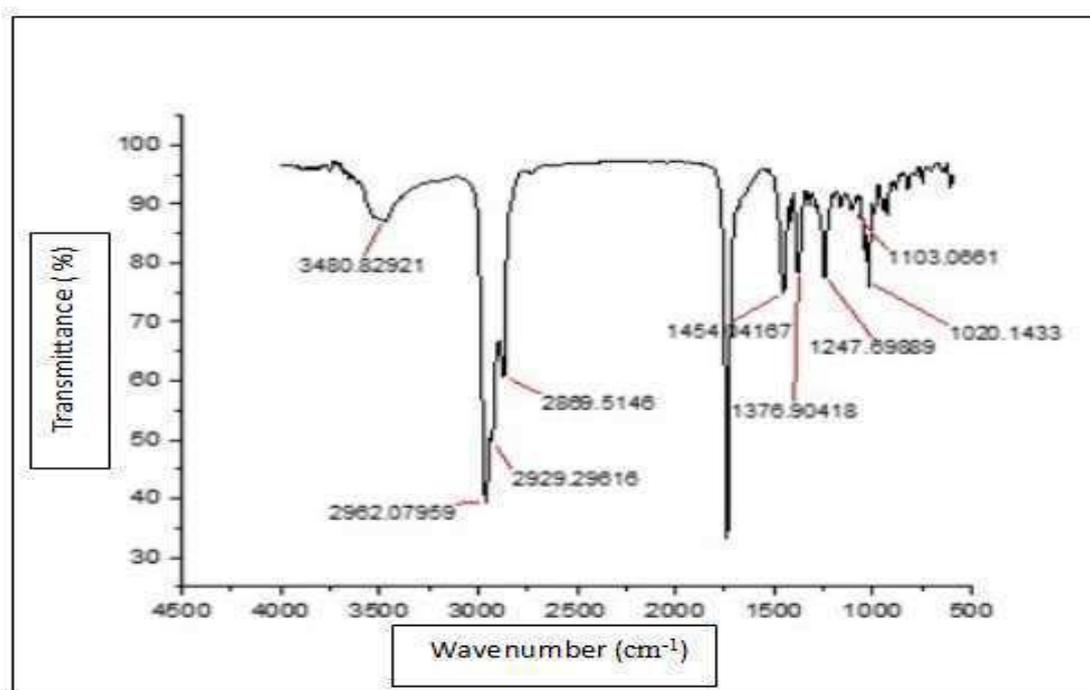


Figure 22: Spectre IR de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas L*

Le pic intense à 1725 cm^{-1} , indique la présence de la fonction ester.

Entre 1454 et 1376 cm^{-1} une bande intense des vibrations d'élongation qui correspondent aux vibrations d'étirage C-C ce qui indique l'augmentation de l'aromaticité des carbones (cycle aromatique benzénique), alors qu'une bande faible est constatée à 1620 cm^{-1} traduit probablement la présence des alcènes sous forme de terpènes.

L'apparition des bandes vers 1247 cm^{-1} , qui sont attribuée aux vibrations d'élongation des groupes C=O des cétones, aldéhydes, lactones ou des groupes carboxyliques. Les bandes comprises entre 1000 et 1350 cm^{-1} sont assignées aux vibrations des liaisons C-O.

La bande à 1620 cm^{-1} est prononcée pour notre huile, et est associée au mode d'étirement aromatique renforcé par la présence de groupes polaires. De même, la petite bande à 1376 cm^{-1} est liée à l'étirement C-O des anneaux aromatiques polarisés par des atomes d'oxygène liés à proximité des atomes de carbone.

Enfin, une large bande comprise entre $1300-900\text{ cm}^{-1}$ est attribuée à l'étirement C=O dans les alcools qui semble être le plus prononcé pour les carbones C-N.

III.6. Evaluation du potentiel antioxydant :

Deux méthodes, à savoir la réduction relative du radical (*DPPH*) et le test de réduction de fer (*FRAP*) ont été utilisées ont permis de mettre en évidence le pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique de *L.stoechas L.*

III.6.1. Test au *DPPH*:

Les mesures d'inhibition d'absorbance du radical *DPPH* provoquée par la présence de l'extrait éthanolique de *L.stoechas L* ou par la présence de l'acide gallique, après 30min de réaction, ont permis de déterminer le pourcentage d'inhibition de chaque dilution (Figure 23).

Il apparaît que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'EEL ou pour l'acide galique. On constate que la capacité de réduction de l'EEL la plus élevée est constatée à une concentration de $500\mu\text{g/ml}$ avec un pourcentage de 88,61%, tandis que la faible activité a été notée à une ($40,34\%$) pour une concentration de $31,25\mu\text{g/ml}$ et en comparant avec l'antioxydant standard, l'acide gallique dont la capacité antioxydante demeure plus élevée aux concentrations ($31,25$ à $125\mu\text{g/ml}$).

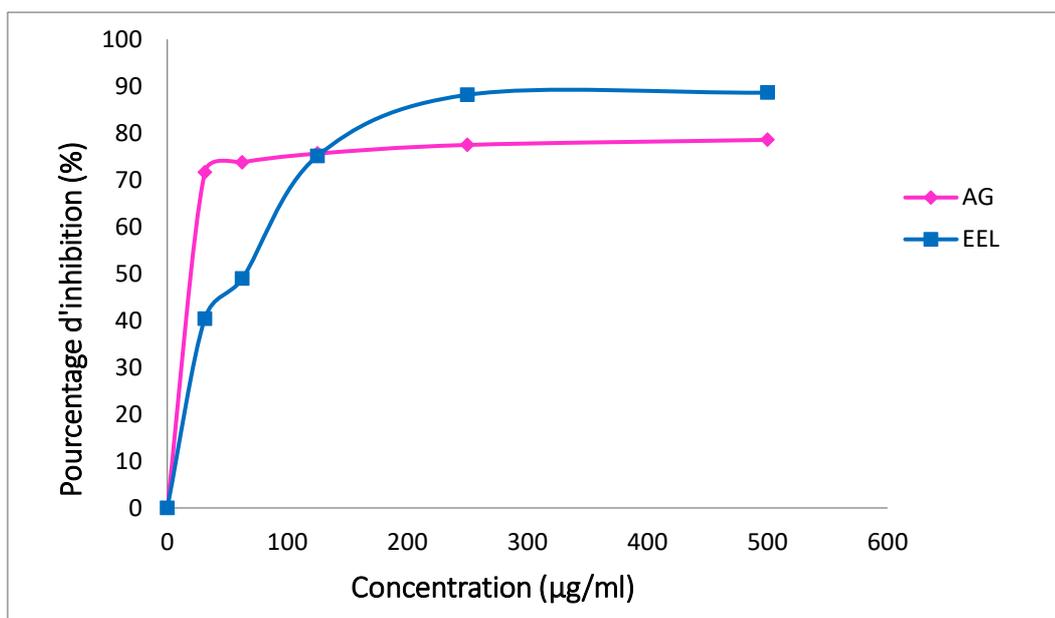


Figure 23 : Activité antioxydante au DPPH de l'extrait éthanolique de *L. stoechas L*
 AG :Acide gallique EEL :Extrait éthanolique de *Lavandula stoechas L*

La capacité antioxydante de l'EEL et l'acide gallique à été déterminée à partir des valeurs IC_{50} . L' IC_{50} est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé ou d'une HE, car il exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d' IC_{50} est basse, plus l'activité antioxydante est grande (Milladi et al., 2013).

Nos résultats (Tableau 06) révèlent que *L.stoechas L* possède une bonne activité antiradicalaire avec une concentration d'inhibition médiane (IC_{50}) de 113.041µg/ml mais en parallèle demeure inférieur en comparaison avec l'acide gallique (0.4391µg/ml).

Dans des études antérieures (Mohammadi et Atik, 2012; ABOU & Benabida, 2017)) sur l'HE de *L. stoechas L*, révèlent des valeurs d' IC_{50} de 4140 µg/ml et 1,85 mg/ml respectivement

Tableau 06: Concentration d'inhibition médiane de l'extrait éthanolique de *L .stoechas L*

	IC_{50} (DPPH) (µg/ml)	IC_{50} (FRAP) (mg/ml)
AG	0,4391	12,60
EEL	113,041	62,62

D'après Lafka et al. (2013), l'activité antiradicalaire peut être affectée par les solvants de polarité différentes. En effet, cette activité dépend surtout de la composition en flavonoïdes (Fenglin et al., 2004).

III.6.2. Pouvoir de réduction du fer (FRAP)

Réduire le pouvoir, c'est déterminer l'activité réductrice d'antioxydant et elle est évaluée par transformation de Fe^{3+} en Fe^{2+} en donnant un électron (Addab et al., 2020).

Concernant notre échantillon, des dilutions en cascade allant de 1 à 0,0625 mg/ml sont préparées et les puces réductrices sont mesurées à 700 nm.

La (figure 24) illustre les résultats du pouvoir réducteur de l'EEL, d'où on constate que la capacité de réduction est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des dilutions.

Cependant, l'extrait de la plante étudiée présente un pouvoir antioxydant nettement inférieur à celui de l'antioxydant de référence qui a enregistré une absorbance de 1,27 à 1 mg/ml.

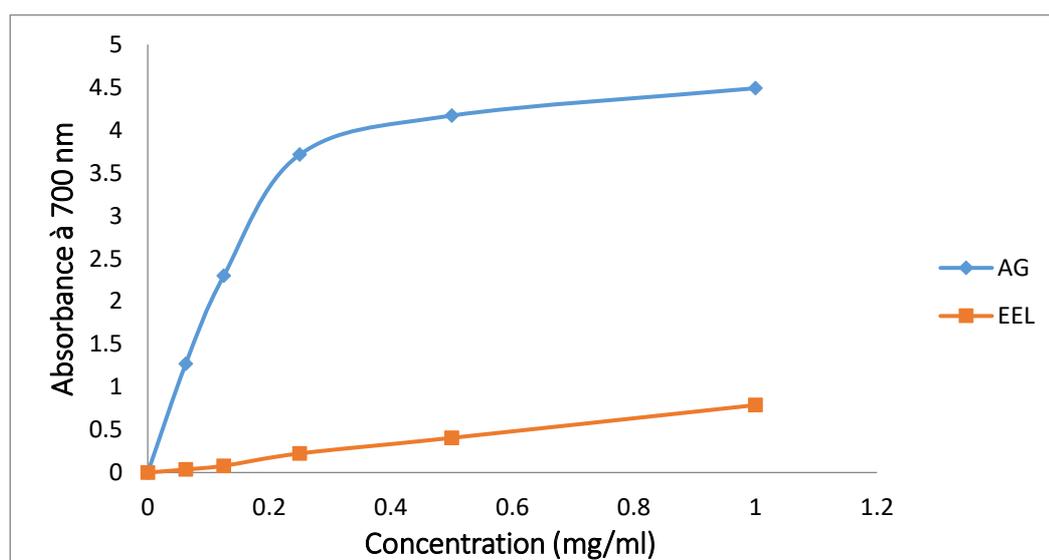


Figure 24: Pouvoir antioxydant de l'extrait éthanolique de *L. stoechas L*

A une concentration de 0,25 mg/ml on enregistré une absorbance de 0,223, en comparant avec une étude similaire (Menaceur, 2015), on remarque un effet positif inférieur à celui trouvé dans notre étude avec une DO de 0,106 à 0,2 mg/ml.

Les études menées sur l'huile essentielle d'autre espèce du même genre, *L. pubescens*, indiquent une valeur d'IC₅₀ de 26,6 µg/ml (Benmoussa et Bougoffa, 2017).

Ces propriétés antioxydantes seraient probablement liées à la présence de molécules bioactives tels que les polyphénols.

Conclusion

Conclusion

A l'heure actuelle, les huiles essentielles sont des substances très sollicitées dans divers domaines, en raison de leur grande importance car elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques.

Nous sommes intéressés à une détermination des caractéristiques organoleptiques physico-chimiques de la partie aérienne de l'espèce *Lavandula stoechas L* originaire de la région de Cheraïa (Collo-Skikda) et ce après une extraction de son huile essentielle ainsi qu'une évaluation du pouvoir antioxydant de son extrait hydro-alcoolique.

L'extraction de l'huile essentielle de *L. stoechas L* a été effectuée par hydrodistillation et les propriétés physiques y compris la densité relative, l'indice de réfraction, et les propriétés chimiques telles l'indice d'acide et le potentiel d'hydrogène ont été déterminées aussi une identification par Infrarouge à transformée de Fourier (IR) a été réalisée.

L'extrait hydro-alcoolique obtenue par macération dans l'éthanol, présente une importante activité anti-radicalaire en utilisant deux techniques (DPPH et FRAP) avec IC_{50} : 113,041 $\mu\text{g/ml}$ et IC_{50} : 62,62 mg/ml respectivement.

En définitive, nous envisageons de réaliser une détermination qualitative et quantitative de différentes parties de l'espèce et identifier les composés par des techniques de séparation performantes et d'étudier d'autres propriétés biologiques à savoir les propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Abbou, H., Benabida, W. (2017). Mémoire Thème Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de Lavandula stoechas L. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A. 73.

Addab N., Fetni S., Hamlaoui F., Zerguine A., Mahloul K. (2020). Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'Olea europaea L. de l'Est Algérien. J Fac Med Or, Vol 4, N 2 (9).

AFNOR. (2000) : Huiles essentielles. Échantillonnage et méthodes d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles (tome 2). Paris.

AFNOR(1992.), Recueil des normes françaises sur les huiles essentielles. Paris : Afnor.

AFSSAPS. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. 18. www.afssaps.sante.fr

Amarowicz R., Pegg R.B., Rahimi-Moghaddam P., Barl B., et Weil J.A. (2004) Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity

Amur., Dechoucha. (2018). Evaluation de l'activité antioxydante in vitro des plantes Lavandula stoechas et Curcuma longa. Master Académique. Université Mohamad Boudiaf-M'SILA. 55.

AOAC International (2016) Official methods of analysis, 20th edn. (On-line). AOAC International, Rockville, MD.

AOAC, (1990). Official methods of analyses. Washington DC: Association of Official Analytical Chemist Asghari, J., Sadani, S., Ghaemi, E., Mazaheri Tehrani, M. (2016). Investigation of Composition and Antimicrobial Properties of Lavandula stoechas Essential Oil Using Disk Diffusion and Broth Microdilution. *Medical Laboratory Journal*, 10(3), 53–58. <https://doi.org/10.18869/acadpub.mlj.10.3.53>

Athamena, S. (2009). Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et L Evaluation des L'activité. Université El-Hadj Lakhdar-Batna. . Biologique . Mémoire de Magister. 126.

Asghari, J., Sadani, S., Ghaemi, E., & Mazaheri Tehrani, M. (2016). Investigation of Composition and Antimicrobial Properties of Lavandula stoechas Essential Oil Using Disk Diffusion and Broth Microdilution. *Medical Laboratory Journal*, 10(3), 53–58. <https://doi.org/10.18869/acadpub.mlj.10.3.53>

- Awad M.A., Aldosari S.R., Abid M.R. (2018). Genetic alterations in oxidant and anti-oxidant enzymes in the vascular system. *Front Cardiovasc Med.* 5: 107-115.
- Bachiri Lamiae., Echchegadda Ghizlane., Ibjibijen Jamal., Nassiri Laila. 2016 : Etude Phytochimique et Activité Antibactérienne de deux Espèces de Lavande autochtones au Maroc : «*Lavandula stoechas L. et Lavandula dentata L.*». *European Scientific Journal edition* vol.12, No.30. doi.org/10.19044/esj.2016.v12n30p313
- Bahorun T. (1997). Substances naturelles activités: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Ed. AMAS. Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*; 83-94.
- Bayala, B. (2015). Etude des propriétés anti-oxydantes , anti-prolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes. *HAL Archives-Ouvertes.Fr*, 225.
- Belbkhari .N., Merzoug .Z.,Cheriti.A., Sekkoum K., Yakoubi.M. (2013).Etude de caractérisation et la composition qualitative des huiles essentielles de six plantes médicinales par spectroscopie IR. *PhytoChem & BioSub Journal . vol.7(1)*
- Benabdelkader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., Maitre, D., Casabianca, H., Kameli, A. (2011). Essential Oils from Wild Populations of Algerian *Lavandula stoechas L.*: Composition, Chemical Variability, and in vitro Biological Properties. *Chemistry & Biodiversity*, 8(5), 937–953. doi:10.1002/cbdv.201000301
- Benhar M. (2018). Roles of mammalian glutathione peroxidase and thioredoxin reductase enzymes in the cellular response to nitrosative stress. *Free Radic Biol Med.* 127: 160-164.
- Beniston N.T., Beniston W.S. (1984). *Fleurs d'Algérie*. Ed. Entreprise nationale du livre, Alger, 359p.
- Benmoussa, F., Bougoffa, A. (2017). *Contribution à l'étude de l'huile essentielle de la plante de Lavandula pubescens* Decne Soutenu.Mémoire de Master.Université Kasdi Merbah Ouargla Faculté. 67.
- Blois M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Bougurne, B. (2012). Conception et synthèse de dérivés phénoliques hautement fonctionnalisés et étude de leurs propriétés biologiques vis-à-vis de maladies cardiovasculaires (athérosclérose). *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(15), 3019–3026.
- Bourkache, & Kathia. (2016). Evaluation de L'activité antibactérienne de L'huile essentielle et des tanins extraits de *lavandula stoechas*. *Chimie Mémoire de Master . Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou*.80.

- Bouزيد, D. (2012). Evaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle d'une plante endémique *Hélichrysum italicum* (Roth) G. DON Soutenu.e these de Doctorat .Université Ferhat Abbas Sétif. 130.
- Brand-Williams W. 1995., Cuvelier M.E., Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel–Wissenschaft und Technologie*, 28, 25-30
- Carole, P. (2005). Interêt De La Supplémentation En Antioxydants Dans L ' Alimentation Des Carnivores Domestiques.These de Doctorat. Productions Animales, 120.
- Chekoual, L., Aissat, A., Benabdelkader, T., Ait, K., Aourahoun, K., Boumeridja, S., & Lamari, L. (2021). Effect of ultrasound pretreatment on the quality and antimicrobial activity of essential oils from four wild populations of algerian *Lavandula stoechas* L.Comparision withconvntional . *15*(1), 75–90.
- Chung Y.C., Chang C.T., Chao W.W., Lin C.F., Chou S.T. (2002) Antioxidative activity and safety of the 50% ethanolic extract from red bean fermented by *Bacillus subtilis* IMR-NK1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 : 2454-2458.
- Dias J.S. (2019). Nutritional Quality and Effect on Disease Prevention of Vegetables. In *Nutrition in Health and Disease*.
- Dufaut,ch.,Véronique,L.(2001).Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse, VUEF édition.
- Fenglin H., Ruili L.,Bao H., Liang M. (2004). Free radical scavenging activity of extracts prepared from fresh leaves of selected Chinese medicinal plant. *Fitoterapia*; 75:14.
- Fernandez (2017), X., La chimie des huiles essentielles: Tradition et innovation.: Vuibert.
- Figuier,L.(2011).Histoire des plantes. *Histoire Des Plantes*.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.12226><https://doi.org/10.5962/bhl.title.12226>
- Galoul, A., & Touahria, M. (2018). Dosage des antioxydants et l ' évaluation de l ' activité antioxydante du pollen.mémoir de Master.Université A. MIRA – Bejaia. 70.
- Georgieva S., Boyadzhiev L., Angelov G., 2010. Caractérisation des vins bulgares par leur capacité antioxydant. *Revue de génie industriel*. (5):124-132.
- Ghenaiet, I., & Saoussen, A. (2016). Etude de l'impacte des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* sur *Rhyzopertha dominica*: Aspect toxicologique et biomarqueur Ghenaiet. *Memoire de Master .Université de Larbi Tébéssi*. 61.
- Goren A, Topqu G, Bilsel G, Bisel M, Aydogmuş Z, Pezzuto MJ. 2002. The Chemical Constituents and Biological Activity of Essential Oil of *Lavandula stoechas* ssp. *stoechas*. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*.; 57(9-10): 797-800.PMID:12440714.
- Guillouty, A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. *Université de Toulouse III Paul Sabatier*, 95.

Gulcin I., Sat I., Baydemir S., Elmastas M., Kufrevioglu O.I., (2004). Food Chemistr. Vol. 87, p.393.

Hocine .,Gorine. (2017). Thème Évaluation de L'expositon au plomb et cadmium et impact sur quilques parametres du statut oxydant anti oxydant chez .les ouvrirs exposrs aux fumees de soudage .62.

Ighodaro O.M. .,Akinloye O.A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria Med J. 54(4): 287-293.

Jaulmes .P(1951)., *Analyse des vins*, Librairie Poulain, Montpellier, éd., 1951, 107.

Koehlin-Ramonatxo,C.(2006).Oxygène, stress oxydant et supplémentations antioxydantes ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. Nutrition clinique et métabolisme,20 : 165–177.

Krief S, (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 32p.

Laetitia, M. (2015). Utilisation Des Huiles Essentielles Chez L ' Enfant.Thèse De Doctorat. 18, 186.

Lafka, A. Lazou .E., Sinanoglou .V.J., Lazos .E.S. (2013). Phenolic Extracts from Wild Olive Leaves and Their Potential as Edible Oils Antioxidants. *Food.*, 2,18-31.

Majhenic L., Skerget M., Knez Z.2007- Antioxidant and antimicrobial activity of uarana seed extracts. *Food Chemistry*; 104: 1258-1268

Maliki, S. (2017). Thème Etude Morphologique , Biochimique , Physiologique et Biologique de quelques populations de *Teucrium polium L . Capitatum* dans l ' Est algérien.These diplme de doctorat .université Freres Mentouri -Constantine 1.208.

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

Matschke V., Theiss C., Matschke J. (2019). Oxidative stress: the lowest common denominator of multiple diseases.Neural Regen Res. 14 (2): 238-241.

Mazzetti A.P., Fiorile M.C., Primavera A., Lo, B.M. (2015). Glutathione transferases and neurodegenerative diseases. *Neurochem Int.* 82: 10-18.

Mebirouk-Boudechiche L., Cherif M., Abidi S., Bouzouraa. (2015). Composition chimique et facteurs antinutritionnels de quelques feuilles de ligneux fourragers des zones humides du nord-est de l'Algérie. *Fourrages.* 224, 321-328

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

Menaceur, F. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèse e de Doctorat en Sciences Agronomiques. 248.

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

Menaceur F. (2012). Comparaison chimique et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus eriocalyx*) et de la lavande (*Lavandula stoechas*). Mémoire de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach.Alger. 130p.

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

Milladi. H., Ben Slama .R., Mili .D., Zouari. S., Bakhrouf. A., Ammar .E. (2013), Chemical composition and cytotoxic and antioxydant activities of *Satureja Montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella ssp.* strains. *J. chem.*, 9-18.

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

Mohammedi Z.(2011). Pouvoir antifongique et antioxydant de l'huile essentielle de *Lavandula stoechad* L. *Nature & Technologie*. N06, 34-39.

Molyneux P(2004)., The use of stable free radical diphenylpicrilhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 26 (2), 211-219.

Moulay M.,Djrboui M.,Labdelli F.,Bouteldja R.(2020). Physicochemical and Phytochemical study of *Marrubium vulgare* L. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, V(12):2, 728-737 p. <https://doi.org/10.4314/jfas.v12i2.14>

Muther, L. (2015). Utilisation Des Huiles Essentielles Chez L ' Enfant. 18.

Niki E. (2018). Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress. *Free Radic Biol Med*. 124: 564

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reaction-Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.

- Pacula A.J., Kaczor K.B., Wojtowicz A., Antosiewicz J., Janecka A., Dlugosz A., Janecki T., Piochon, M. (2008). Étude Des Huiles Essentielles D'Espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Hémi-Synthèse. Université Du Québec à Chicoutimi (UQAC), 213.
<http://constellation.uqac.ca/331/1/030075390.pdf>
- Pourrut, B. (2008). Implication du stress oxydatif dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. 284.
- Richard, W. (2013). these de Dctorat:Nouvelle stratégie de fonctionnalisation de surfaces d'électrodes à base de sels de diazonium : application aux capteurs à antioxydants. 276.
- Sahraoui N., Chemat F., Boutekedjiret C. (2010). Mise au point d'un procédé d'extraction d'huiles essentielles par Micro-ondes. *Arta Hort* ,853.
- Sanchez-Moreno C. (2002). Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in food and biological systems. *Food Sci Tech Int*, 8(3) : 121-137.
- Scianowski J. (2017). New glutathione peroxidase mimetics-Insights into antioxidant and cytotoxic activity. *Bioorg Med Chem*. 25: 126-131.
- Souad, A. (2009). Etude quantitative des flavonoides des grines de les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et L'evaluation de l'activite Biologique .126.
- Suzanne Nielsen S. (2017). Food Analysis Fifth Edition. *Food Sciences Text Series*, Springer.647p.
- Teixeira J., Gaspar A., Garrido E.M., Garrido J., Borges F. (2013). Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International*, 2013 : 1-11.
- Tehami W., Benali M., et al. (2016). Determination of primary and functional metabolisme of *Salvia argentea* and evaluation of its leaves and roots antioxydant activity. *Der Pharma Chemica*, 8(22):1-6.
- Torres R., Faini F., Modak B., Urbina F., Labbe' C., Guerrero J., (2006): Antioxidant activity of coumarins and flavonols from the resinous exudate of *Haplopappus multifolius*. *Phytochemistry*. 67: 984–987.
- Tu W., Wang H., Li S., Liu Q., Sha H. (2019). The anti-Inflammatory and anti-oxidant mechanisms of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway in chronic diseases. *Aging Disease*. 10(3): 637-648.
- Wojtkowiak B, Chabanel M.(1977),« spectrochimie moléculaire», Technique Documentation , Imprimerie Bayeusaine, France.
- Younus H. (2018). Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci*. 12(3): 88.