

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département : Génie des Procédés

Mémoire du Projet de fin d'étude

2^{ème} Année Master

***Optimisation des paramètres d'extraction de l'huile essentielle de
Lavandula stoechas .L
et son application comme antifongique***

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Présenté par :

***BOUALLEG Meriem
BOUSNOBRA Rania***

Sous la Direction de :

Pr. BENHAMIDA Aida

Promotion 2020/2021

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier *Dieu* tout puissant, de nous avoir accordés la force, le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail de fin d'étude de master.

Nous exprimons d'abord nos profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre encadreur *Pr Aida BENHAMIDA*, pour aide précieuse durant la réalisation de ce travail. Elle nous a orientées vers le succès avec ses connaissances, sa disponibilité, sa gentillesse, ses conseils et en partageant des idées et aussi l'encouragement tout on long de notre épreuve.

Nous remercions très sincèrement *Mr BENHAMZA H.* directeur de laboratoire de recherche LAIGM de l'Université de Guelma, pour nous avoir donné la possibilité de faire des analyses spectroscopiques IRTF dans son laboratoire.

Nous tenons également à remercier *Mr CHERAITIA A.* pour son aide très précieuse concernant la réalisation des analyses spectroscopiques UV des huiles essentielles.

Nous souhaitons aussi remercier *Mme BENGOURNA N.* pour nous avoir fait bénéficier de ses conseils, son expérience et de ses compétences scientifiques et professionnelles. Elle a contribué grandement à l'aboutissement de ce mémoire.

Nous adressons nos chaleureux remerciements à *Mme ALLIOUI N* qui nous a accueillie dans son laboratoire au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma, afin de réaliser les tests sur l'activité antifongique et pour ses orientations et conseils sur la collecte de la matière première. La collaboration avec elle a été très enrichissante et nous a permis d'élargir le champ de nos connaissances.

Un grand merci que nous adressons aux ingénieures du laboratoire pédagogique « Génie des procédés », *MERIEM BOUYEDA*, *NISSA* et *SIHAM* pour leur collaboration et leur aide.

A notre collègue *SERSAR CHAYMA* pour son soutien moral plus que matériel, son partage des idées et des bons moments et son encouragement tout au long de notre travail au laboratoire.

Enfin, une profonde gratitude à tous ceux qui nous aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et qui ne sont pas mentionnés ici, nous leurs adressons nos plus sincères remerciements.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère,

A mon cher père,

Qui n'ont jamais cessé, de prier pour moi, qui sont l'origine de ma réussite par leur amour, leur soutien, leur confiance et leur abnégation depuis ma naissance, que Dieu les gardent et les protègent.

A mes frères et mes sœurs,

Qui m'ont accordée leur soutien moral dans les instants les plus difficiles, et m'ont toujours encouragée et pour leur conseils précieux durant mes longues études.

A ma chère binôme, Meriem,

Pour sa patience, sa sympathie et sa compréhension tout au long de ce travail.

A ma meilleure amie, Omaima,

Qui n'a jamais cessé de me soutenir.

A tous mes amis et mes collègues de la promotion de 2020/2021,

Pour leur compagnie et bons moments passés ensemble au cours de mon cursus de l'université.

Enfin,

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, car un projet ne peut pas être le fruit d'une seule personne.



Rania



Dédicaces

A l'aide de Dieu tout puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère **Fatiha** qui m'a apportée son appui durant toutes mes années d'étude, pour tous les sacrifices qu'elle me contente, toute la confiance qu'elle m'accorde et tout l'amour dont elle m'entoure.

A mon honorable père **Saïd**, qui m'a appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, qui représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement que le Dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A ma très chère sœur **Zeyneb** et mon cher frère **Ibrahim** qui m'ont toujours soutenue et encouragée, vous savez que l'affection et l'amour fraternel que je vous porte sont sans limites. J'implore Dieu qu'il vous apporte bonheur et vous aide à réaliser vos vœux.

A ma merveilleuse binôme Rania, pour son aide, sa encouragement et sa présence dans les moments les plus difficiles tout au long de ce travail.

A mes chères amies avec qui j'ai passé des moments inoubliables qui resteront dans ma mémoire : **Nora** et **Besma**

A tous mes camarades de la promotion 2020/2021

A mes oncles et mes tantes et mes cousins et cousines

A tous ceux qui m'ont soutenue et m'ont donnée des conseils et contribué à terminer cet humble travail.



Meriem

Liste des abréviations

HE	Huile essentielle
AFNOR	Association française de normalisation
PAM	Plantes aromatiques et médicinales
COV	Composés organiques volatiles
UV	Ultra-violet
°C	Degré Celsius
kHz	Kilohertz
°F	Degré fahrenheit
CO ₂	Dioxyde de carbone
µm	Micromètre
CCM	Chromatographie sur couche mince
KOH	Hydroxyde de potassium
RHE %	Rendement en huile essentielle
MHE	Masse d'huile essentielle
M _s	Quantité de la matière végétale sèche
IA	Indice d'acide
g	Gramme
ml	Millilitre
N	Normalité
V	Volume
m	Masse
I _{d20}	Indice de réfraction à 20°C
pH	Potentiel d'hydrogène
d ₂₀	Densité relative à 20°C
cm	Centimètre
nm	Nanomètre
R _f	Rapport frontal
IRTF	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
µL	Microlitre
PDA	Potatoes dextrose agar
Zi	Zone d'inhibition

Listes des figures et tableaux

➤ Liste des figures

Chapitre I : Les huiles essentielles

Figure		Page
Figure I.1	Structure de quelques monoterpènes	5
Figure I.2	Exemples de sesquiterpènes entrant dans la composition chimique des huiles essentielle	6
Figure I.3	Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïde	6
Figure I.4	Montage-d'entraînement-a-la-vapeur-d'eau	9
Figure I.5	Montage de l'hydrodistillation	11
Figure I.6	Montage de l'hydro diffusion	12
Figure I.7	Schéma d'une installation de distillation sèche	13
Figure I.8	Montage de l'extraction par ultrason	15
Figure I.9	Montage d'extraction par micro-onde	16
Figure I.10	Procédé d'extraction au CO ₂ supercritique	17

Chapitre II : *Lavandula stoechas* .L

Figure II.1	Feuilles de <i>Lavandula stoechas</i>	22
Figure II.2	Fleur de <i>Lavandula stoechas</i>	23
Figure II.3	Bractées de <i>Lavandula stoechas</i>	24
Figure II.4	Distribution géographique de <i>L. stoechas</i> .	24
Figure II.5	Structures chimiques des composés majoritaires et de certains composés détectés pour la première fois dans des HEs de <i>L. stoechas</i> d'Algérie	26
Figure II.6	Chromatogramme de l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas</i>	27

Chapitre III : Matériel et méthodes

Figure III.1	Les feuilles et fleurs de <i>Lavandula stoechas</i> au moment du séchage	29
Figure III.2	Dispositif du Clevenger	30
Figure III.3	L'HE de <i>Lavandula stoechas.L</i> se flotte à la surface de l'eau	31
Figure III.4	Dispositif de l'hydro-distillation	32
Figure III.5	L'huile essentielle extraite	32
Figure III.6	(a) : avant le changement de couleur, (b) : après le changement de couleur après un certain volume de KOH	34
Figure III.7	Le réfractomètre	34
Figure III.8	La gamme de couleur selon le pH	35
Figure III.9	La lampe UV	37
Figure III.10	Spectromètre infrarouge	38
Figure III.11	Spectroscopie UV-visible	39
Figure III.12	La pourriture grise sur les fraises	40
Figure III.13	(a) : solution sporale, (b) : la cellule de malassez	41
Figure III.14	L'étude de l'activité antifongique de l'HE de <i>Lavandula stoechas</i> sur <i>botrytis cinerea</i>	43

Chapitre IV : Résultats et discussion

Figure IV.1	Résultats de l'analyse CCM pour les deux méthodes réalisés. (a) : Méthode 01, (b) : Méthode 02	48
Figure IV.2	Spectres IRTF de l'HE de <i>Lavandula stoechas. l</i> enregistré entre dans la région 4000 et 400 cm^{-1} .	49
Figure IV.3	Spectre UV visible de l'HE de <i>Lavandula stoechas</i>	52
Figure IV.4	Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de <i>Botrytis cinerea</i> avec l'huile essentielle de <i>Lavandula stoechas. l</i> .	53
Figure IV.5	Activité antifongique de l'huile de lavande <i>Lavandula stochas. l</i> contre <i>Botrytis cinerea</i> après 72h de confrontation (a) : Résultat de 10 μ L d'huile par disque/ Témoin, (b) : Résultat de 20 μ L d'huile par disque / Témoin et (c) : Résultat de 40 μ L d'huile par disque / Témoin.	55

➤ Liste des Tableaux

Chapitre I : Les huiles essentielles

Tableau		Page
Tableau I.1	Activités biologiques de certains composés terpéniques des HEs	19

Chapitre II : *Lavandula stoechas* .L

Tableau II.1	Classification botanique de <i>Lavandula stoechas</i> L	23
--------------	---	----

Chapitre III : Matériels et méthodes

Tableau III.1	Matériel et produits chimiques utilisés dans la présente étude.	30
Tableau III.2	Matériel utilisé pour l'étude de l'activité antifongique	40

Chapitre IV : Résultats et discussion

Tableau IV.1	Rendement d'huile essentielle de <i>lavandula stoechas</i> .l.	44
Tableau IV.2	Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de <i>Lavandula stoechas</i> L.	45
Tableau IV.3	Caractéristiques physico-chimique de l'HE de <i>Lavandula stoechas</i> L.	46
Tableau IV.4	Fractionnement par CCM des extraits de Lavande dans le système d'élution.	48
Tableau IV.5	Groupement fonctionnelles de l'HE de <i>Lavandula stoechas</i> L déterminer par IRTF.	50
Tableau IV.6	Calcul du diamètre en (mm) de la zone d'inhibition (Zi) pour le champignon <i>Botrytis cinerea</i> après 3 jours d'incubation à 24°C.	55

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Sommaire

Page

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre I : les huiles essentielles

I.1. Bref historique.....	3
I.2. L'aromathérapie	3
I.3. Définition d'HE.....	4
I.4. Localisation des huiles essentielles dans les plantes.....	4
I.5. Composition chimique des huiles essentielles	4
I.5.1 Les terpènes.....	5
I.5.1.1. Monoterpènes	5
I.5.1.2. Sesquiterpènes	6
I.5.2. Composés aromatiques	6
I.5.3. Composés d'origines diverses.....	7
I.6. Facteurs influençant la composition chimique	7
I.7. Propriété physico-chimiques des huiles essentielles	8
I.8. Conservation des huiles essentielle	8
I.9. Toxicité des huiles essentielles	8
I.10. Méthodes d'extractions d'une huile essentielle	9
I.10.1. L'entraînement à la vapeur	9
I.10.2. L'hydro-distillation.....	10
I.10.3. L'hydro-diffusion	11
I.10.4. L'enfleurage	12
I.10.5. Distillation « sèche »	13
I.10.6. Expression à froid.....	13
I.10.7. Extraction par ultrasons	14
I.10.8. Extraction par solvant.....	15
I.10.9. L'extraction au four à micro-ondes	15
I.10.10. Extraction par dioxyde de carbone gazeux supercritique	16
I.11. Les critères de qualité.....	17
I.11.1. L'origine géographique.....	17

I.11.2. Partie de la plante	18
I.11.3. Le mode de récolte ou de culture	18
I.11.4. Méthode d'extraction.....	18
I.12. Activités biologiques des HEs	18

Chapitre II : *Lavandula Stoechas. L*

II.1. Généralités sur la famille de lamiacées.....	20
II.2. Historique de la lavande.....	20
II.3. Monographie de <i>Lavandula stoechas L</i>	21
II.3.1. Étymologie.....	21
II.3.2. Synonymes.....	21
II.4. Description botanique	21
II.5. Position Systématique	21
II.6. Caractéristiques des différentes parties de <i>L. stoechas L.</i>	22
II.6.1. Feuille.....	22
II.6.2. Fleurs.....	23
II.6.3. Bractéoles et bractées	23
II.6.4. Tiges	24
II.7. Origine et répartition géographique	24
II.8. Culture.....	25
II.9. L'HE de <i>Lavandula stoechas. L</i>	25
II.10. Utilisation d'HE de <i>Lavandula stoechas .L</i>	27
II.11. Toxicité de la lavande	28
II.12.2. Pouvoir antioxydant	28

Chapitre III : Matériel et méthodes

PARTIE 01 : Extraction de l'huile essentielle

III.1.1. Matériel végétal	29
III.1.2. Matériel et produits du laboratoire.....	29
III.1.3. L'extraction de l'HE de <i>lavandula stoechas</i>	30
III.1.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue	33
III.1.5. Détermination de rendement	33
III.1.6. Caractérisation de l'HE extraite.....	33
III.1.6.1. Tests organoleptiques.....	33
III.1.6.2. Caractéristiques physico-chimiques.....	33

III.1.6.3. Analyse chromatographique.....	36
III.1.6.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	37
III.1.6.5. Spectroscopie UV-visible.....	38
PARTIE 02 : Evaluation de l'effet fongicide de l'HE extraite de <i>lavandula stoechas</i> .l	
III.2.1. Matériel fongique.....	39
III.2.2. Matériel utilisé.....	40
III.2.3. Milieu de cultures	41
III.2.4. Préparation de suspension sporale de la souche fongique	41
III.2.5. Concentrations des huiles essentielles testés.....	41
III.2.6. Mise en œuvre pratique.....	41
III.2.7. Lecture	43
Chapitre IV : Résultats et discussion	
PARTIE I : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de <i>lavandula stoechas</i> .l	
IV.1.1. Le rendement des huiles essentielles	44
IV.1.2. Propriétés organoleptiques	45
IV.1.3 Analyse des caractéristiques physico-chimiques	46
IV.1.4. Analyse chromatographique sur couche mince CCM	48
IV.1.5. Analyse spectroscopique	49
IV.1.5.1. Analyse par spectroscopie IRTF.....	49
IV.1.5.2. Spectroscopie UV visible.....	51
PARTIE II : Application de l'huile essentielle en tant que antifongique.....	52
Conclusion générale.....	56

Bibliographie et webographie

Introduction Générale

Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et de soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et ils possèdent un très large éventail d'activité biologique [1].

Plus récemment, les plantes médicinales et leurs extraits telles les huiles essentielles, ont regagné l'intérêt des chercheurs et des industriels et ce en raison d'une prise de conscience et le besoin de revenir aux moyens de traitement naturels et efficaces. En effet, les plantes offrent un espoir de guérison dans le domaine des maladies contemporaines, et le besoin d'information sur les nouveaux produits phytothérapeutiques s'accroît. Le malade tend de plus en plus à fuir les substances chimiques et à éviter les éventuels effets secondaires qu'elles peuvent induire [2]. L'utilisation de ces essences précieuses nous aide également à nous équilibrer et à nous mettre en harmonie avec la nature. Elles nous protègent grâce à leurs propriétés antibactériennes, réduisent notre stress, et nous apportent confort, du réconfort et souvent même du plaisir [3].

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition que de leur rendement. Cette variabilité est fondamentale car les activités qui découlent de ces huiles peuvent être très différentes [4].

Actuellement, une augmentation de l'utilisation de composés d'origine naturelle est observée, justifiant l'accroissement de la production de certaines plantes aromatiques et médicinales (PAM). Parmi ces PAM de nombreuses Lamiacées méditerranéennes sont utilisées pour leurs propriétés de leurs huiles essentielles (HE). Ces HE sont le résultat de la synthèse et de l'accumulation des composés organiques volatils (COV) qui, *in planta*, agissent dans les interactions de la plante avec son environnement biotique (attraction de pollinisateurs, défense contre des pathogènes) et abiotique (protection contre les UV). Les HE des Lamiacées sont composées principalement de terpènes de bas poids moléculaire, de phénylpropanoïdes et de dérivés d'acides gras [5]. Les huiles essentielles de cette famille sont très recherchées, car elles sont généralement dotées des propriétés biologiques très intéressantes [6].

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phytogénétiques à intérêt aromatique et médicinal, vu la diversité de ses étages

bioclimatiques. On dénombre à plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique existant parmi les 3150 espèces végétales que compte notre pays [7].

Le genre *Lavandula*, de la famille des Lamiaceae, comprend environ 20 espèces avec plus de 100 variétés de lavande. La *Lavandula stoechas.L.*, est une espèce de plante aromatique à fleurs de la famille des Lamiaceae.

L. stoechas est un arbuste toujours vert, qui atteint généralement un mètre de haut, avec des fleurs violettes en épi, et qui se trouve naturellement dans les pays méditerranéens. Elle a été utilisée comme épice de cuisine et parfum, et son huile essentielle (HE) est l'un des ingrédients aromatiques dans la production d'aliments, de boissons, de savons, de parfums, de cosmétiques et de produits pharmaceutiques.

Ces applications ont été liées à leurs bioactivités en tant qu'antibactériens naturels, antifongique, insecticide, antioxydant et anti-inflammatoire, avec une faible toxicité pour les cellules de la peau humaine [8].

Dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales de la flore nationale, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les lamiacées, nous nous sommes intéressés dans notre travail, à l'extraction de l'huile essentielle de la plante *lavandula stoechas.l* qui largement disponible en Algérie.

L'objectif assigné à ce travail consiste à extraire l'HE de *lavandula stoechas.l* par deux méthodes d'extraction et une étude comparative de leurs propriétés physicochimiques ainsi que l'évaluation de leur activité antifongique sur le champignon *Botrytis cinerea*.

Ce champignon est un phytopathogène ubiquiste, responsable de la pourriture grise, et est un microorganisme polyphage qui cause d'énormes dégâts sur plus de 230 espèces de plantes : sur cultures maraîchères, viticoles et horticoles, en pré- ou en post-récolte [9].

Ce mémoire est divisé en deux grandes parties :

- ❖ Première partie constitue une synthèse bibliographique, subdivisée en deux chapitres :
 - Le premier chapitre regroupe des généralités sur les huiles essentielles, ainsi que leurs propriétés et leurs méthodes d'extraction.
 - Le deuxième chapitre est dédié à l'étude botanique de l'espèce étudiée (*Lavandula stoechas.L.*).
- ❖ Deuxième partie concerne la partie expérimentale, subdivisée en deux chapitres :
 - Le troisième chapitre présente les matériels et méthodes utilisées pour réaliser cette étude.
 - Le dernier chapitre est consacré à une discussion qui synthétise l'ensemble des résultats obtenus sur la caractérisation de l'HE extraite et l'étude de son effet antifongique.

Chapitre I :
Les huiles essentielles

Chapitre I : Les huiles essentielles

I.1. Bref historique

L'art d'extraire les essences volatiles des plantes a été initié par les Égyptiens, qui les chauffaient dans des récipients en argile. Deux siècles plus tard, les alchimistes grecs ont inventé le processus de distillation, qui a permis de développer l'utilisation des essences à des fins religieuses et thérapeutiques. Vers l'an 1000, le médecin arabe Avicenne a perfectionné la méthode d'extraction en introduisant le système de refroidissement dans le processus de distillation, créant ainsi les essences les plus puissantes et les plus parfumées [3].

L'étude de l'efficacité thérapeutique des huiles essentielles a été poussée plus loin par René-Maurice Gattefosse, un chimiste cosmétique français. Au début des années 1920, alors qu'il travaillait dans son laboratoire, Gattefosse s'est accidentellement brûlé la main et l'a immédiatement immergée dans le liquide froid le plus proche, qui se trouvait être un récipient d'huile de lavande. Étonnamment, la douleur s'est atténuée et la réaction de rougeurs, inflammations et cloques ont été considérablement réduites. De plus, la blessure a guéri très rapidement et aucune cicatrice ne s'est développée. Après cet incident, Gattefosse a décidé de consacrer le reste de sa vie à l'étude des remarquables propriétés curatives des huiles essentielles et invente le terme "aromathérapie" en 1928 [3].

Un autre médecin et scientifique français, le Dr Jean Valnet, a utilisé des huiles essentielles dans le cadre de son programme qui lui a permis de traiter avec succès certains troubles médicaux et psychiatriques spécifiques, dont les résultats ont été publiés en 1964 sous le nom d'"Aromathérapie" [10].

I.2. L'aromathérapie

L'aromathérapie est l'art de soigner par les huiles essentielles. C'est une « super-phytothérapie » [11]. L'aromathérapie peut se définir comme une méthode thérapeutique naturelle utilisant les extraits de plantes aromatiques (essences et huiles essentielles) dotées de vertus médicinales pour soigner ou prévenir les maladies. Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante [12].

Pour une utilisation des huiles essentielles dans le domaine de la beauté et du bien-être, on parle plutôt **d'aromatologie** (Logie = science, connaissance ; donc la connaissance des huiles essentielles). Et lorsqu'on ne s'intéresse qu'à l'odeur de l'huile essentielle, toujours dans un objectif de bien-être et non de soin, on parle **d'aromachologie** [11].

I.3. Définition d'Huile Essentielle (HE)

Selon AFNOR NF T 75-006 (1998) : l'huile essentielle est définie comme étant : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premiers modes d'obtention; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [par exemple, redistillation, aération, ...] » [13].

Les huiles essentielles sont les essences précieuses extraites des herbes, des fleurs et des arbres. Ces huiles merveilleuses, pures et parfumées contiennent une substance vivante naturelle appelée "essence", qui est le pouvoir concentré et la force vitale de la plante [3].

Le terme « huile » s'explique par leur caractère hydrophobe 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 [14].

Les huiles essentielles sont plus légères que l'eau et non miscibles ce qui permet de les séparer dans l'essencier de manière totalement naturelle. En revanche, elles se mélangent à l'alcool, à n'importe quel corps gras et à certains solvants [11].

I.4. Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Il arrive très fréquemment que la composition de l'HEs d'une plante soit très variable, selon qu'elle soit extraite de l'un ou l'autre organe de cette plante. 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 [14].

Elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant en fonction de la zone productrice du végétal [15].

L'HE peut être extraite de différentes parties d'un végétal : les feuilles (ex : eucalyptus), les fleurs (ex : camomille), l'écorce (ex : la cannelle), le bois (ex : le cèdre), le zeste (ex : le citron) et bien d'autres encore : les graines, les baies, les fruits, le bulbe... [11].

I.5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes. Ce sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants appartenant exclusivement à

deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpénoïdes et les composés aromatiques dérivés du phynélopropane [12].

I.5.1 Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C₅H₈). Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes. Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, monocycliques, bicycliques,..) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques [16].

I.5.1.1. Monoterpènes

Les composés monoterpéniques sont constitués de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est C₁₀H₁₆. Ces composés peuvent être: monoterpènes acycliques (myrcène, ocimènes), monoterpènes monocycliques (α - et γ -terpinène, p-cymène) et aux monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène). Selon Bruneton (1999) [17], la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions: alcools, cétones, esters, aldéhydes, éthers, peroxydes, phénols.

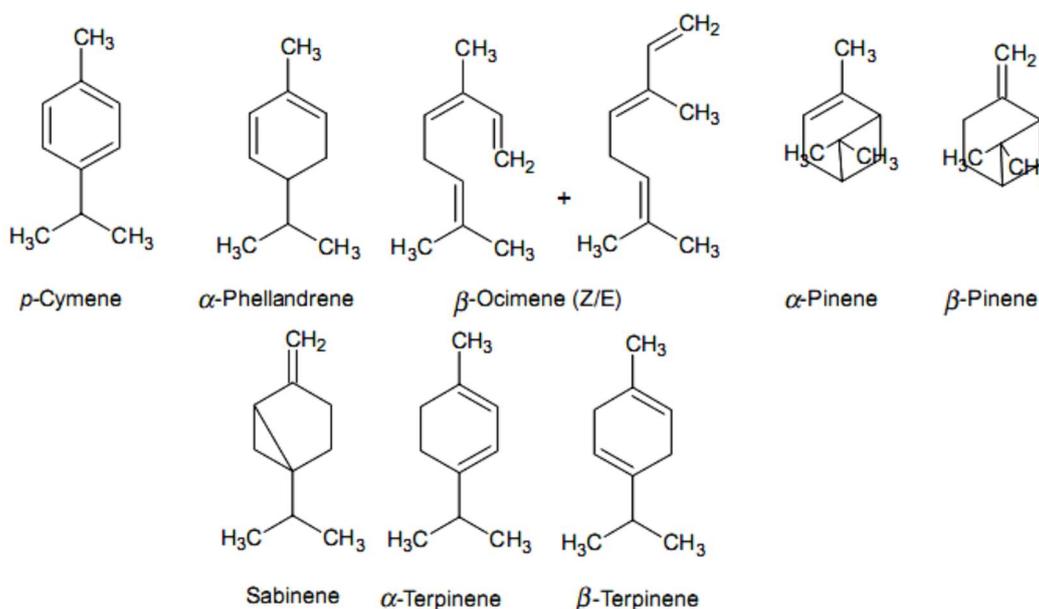


Figure I.1 : Structure de quelques monoterpènes [18].

I.5.1.2. Sesquiterpènes

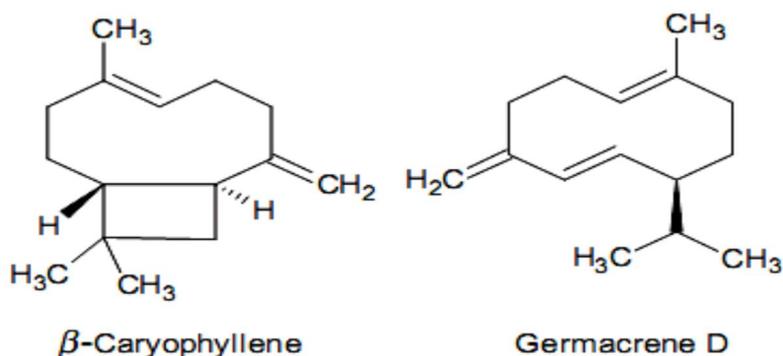


Figure I.2 : Exemples de sesquiterpènes entrant dans la composition chimique des huiles essentielles.

Ce sont des molécules à 15 atomes de carbone constituées par trois unités isopréniques, ils forment un sous-groupe réparti de la même façon que les monoterpènes. Ils sont abondants dans les essences dont ils constituent parfois une partie considérable, se distinguent des autres terpènes par leur point d'ébullition plus élevé (250 à 280°C), par une densité plus forte $d > 0,9$ et par un indice de réfraction plus élevé. Exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles: Hydrocarbures (β -bisabolène longifolène..), alcools (carotol, farnesol...) aldéhydes (sinensal..) et d'esters (acétate de cedryle) [18].

I.5.2. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane ont une biogenèse différente de celle des terpènes. On peut citer l'acide et l'aldéhyde cinnamique (HE de cannelle), l'eugénol (HE de girofle), le carvacrol (HE d'origan), l'anéthol et l'aldéhyde anisique (HE de badiane, d'anis et de fenouil) qui sont les principaux membres de cette famille [19].

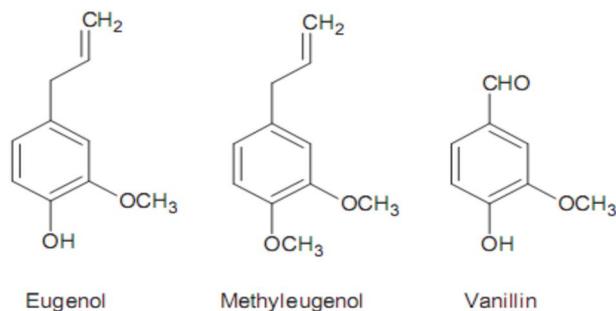


Figure I.3 : Structure de quelques dérivés du phénylpropanoïde [18].

I.5.3. Composés d'origines diverses

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

- Alcools : menthol, géraniol, linalol ;
- Aldéhydes : géraniol, citronellal ;
- Cétones : camphre, pipéritone ;
- Phénols: thymol, carvacrol ;
- Esters : acétate de géranyle
- Ethers : R_1-O-R_2 [20].

I.6. Facteurs influençant la composition chimique

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

- **Facteurs intrinsèques** : Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. [12,21]

Les travaux de Maffei et Sacco, (1997) [12], ont montrés des différences de composition des huiles essentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et à leur interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, température, l'humidité ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée.

Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes de Lavandula obtenus par clonage [21].

-**Facteurs extrinsèques** : Les méthodes d'extraction ont une influence sur la composition des huiles essentielles. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première [12,21].

Par ailleurs le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention car, avec le temps leurs propriétés tendent à décroître [12,21].

I.7. Propriété physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques et huile végétales [4].

- La plupart des huiles sont légères, leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0,75 à 0,99 (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions), leurs points d'ébullition varient de 160° à 240°C [22].
- Les huiles essentielles s'oxydent facilement et sont à la fois photosensibles et thermosensibles. C'est pourquoi, il faut les conserver à l'abri de la lumière, de la chaleur mais surtout de l'oxygène de l'air, prévenant les risques d'acidification de ses composés (aldéhydes, cétones, phénols...) [12].

I.8. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances sensibles et très délicates, ce qui rend leur conservation difficile et obligatoire dans le but de limiter les risques de dégradation, ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons opaques à l'abri de la chaleur et de la lumière [23].

Il est nécessaire de conserver les huiles essentielles : à l'abri de l'air, et de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydables) ou en verre teinté, à froid (à 4 °C). Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et, d'autre part d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu [1].

I.9. Toxicité des huiles essentielles

Il faut savoir que les huiles essentielles, bien que produits issues de plantes, peuvent présenter une certaine toxicité. Il faudra donc toujours bien expliquer au patient ou à l'utilisateur qu'il est important de respecter scrupuleusement les voies d'administration, les posologies, les durées de traitement, les contre-indications de chaque huile essentielle [24].

Les huiles essentielles semblent n'être toxiques par ingestion que si celle-ci est faite en de grandes quantités et en dehors du cadre classique d'utilisation. Les huiles ne seront

toxiques par contact que si des concentrations importantes sont appliquées. Elles sont des substances très puissantes et très actives, c'est la puissance concentrée du plant aromatique, il ne faut donc jamais exagérer les doses, quelle que soit la voie d'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à dose élevée ou répétée [25].

I.10. Méthodes d'extraction d'une huile essentielle

Il existe diverses méthodes d'extraction des huiles essentielles à partir du matériel végétal : l'entraînement à la vapeur, l'hydro-distillation, l'hydro-diffusion, l'expression à froid, l'extraction au four à micro-ondes. Si chacune d'elles a été expérimentée, toutes n'ont pas la même importance à l'égard de leur exploitation industrielle. Généralement, le choix technologique dépend non seulement des normes liées à leur utilisation industrielle mais aussi de la localisation des principes odorants dans le végétal. Il est à noter que la composition aromatique, du point de vue quantitatif, diffère selon le procédé d'extraction utilisé [26].

I.10.1. L'entraînement à la vapeur

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. Le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation [27].

L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [28].

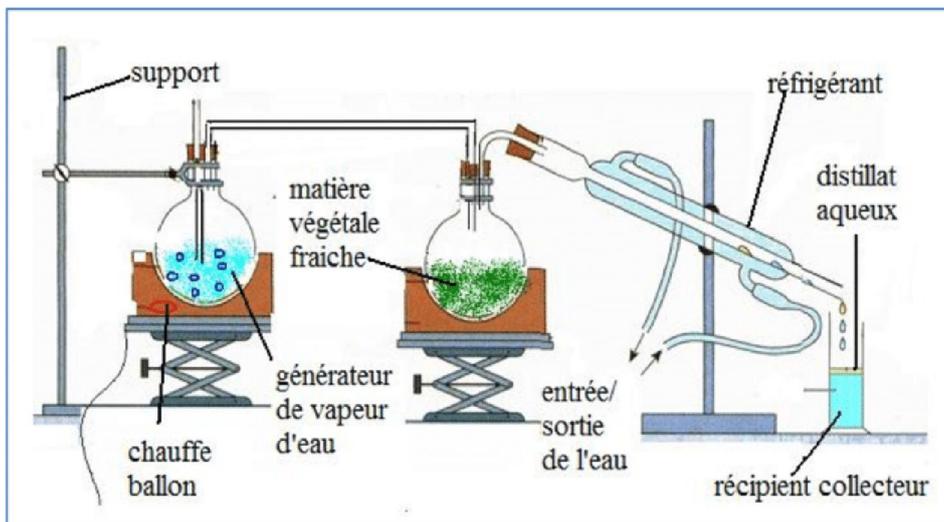


Figure I.4 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [29].

I.10.2. L'hydro-distillation

C'est le procédé d'extraction le plus ancien. Le principe est de placer directement le matériel végétal à extraire dans l'eau puis de porter l'ensemble à ébullition en chauffant par le bas en vue d'une distillation. Les poches à essences, soumises à l'action de l'humidité et de la chaleur, éclatent. Les vapeurs d'eau entraînent avec elles l'essence, alors, le mélange distille. Entraîné vers le système de refroidissement, le mélange se condense. A la sortie du condenseur, il y a séparation des deux liquides par différence de densité. Un essencier ou un vase florentin est également utilisé à cet effet. Ce procédé présente cependant des inconvénients qui affectent la qualité finale de l'huile essentielle. L'action prolongée de la température et le contact de l'eau peuvent mener à l'hydrolyse des esters, à la polymérisation des aldéhydes donnant naissance à la formation de produits résineux ou encore à la décomposition des autres composés comme par exemple les cétones en diols ou la saturation de certains composés insaturés. Ces réactions chimiques d'altération dépendent de l'acidité de l'eau dans laquelle est immergé le végétal, cependant le temps de distillation reste le facteur déterminant de la composition de l'huile essentielle. L'apparition d'artéfacts est bien souvent constatée et même parfois leur présence est souhaitée pour la typicité, c'est le cas de la camomille romaine bleue (*Anthemis nobilis* avec la présence de chamazulène)[26].

- **Le système de thermopompage** : consiste à pomper la chaleur du condenseur et à l'utiliser pour la production de vapeur. Les économies d'énergie calorifique et d'eau de refroidissement se situeraient entre 60 et 90%.

- **Turbodistillation** : Pour activer la distillation à la pression atmosphérique, l'alambic est équipé d'une turbine qui permet d'une part, la dilacération des matières végétales, d'autre part une agitation turbulente, d'où un meilleur coefficient de transfert thermique et une augmentation de la surface de vaporisation [2].

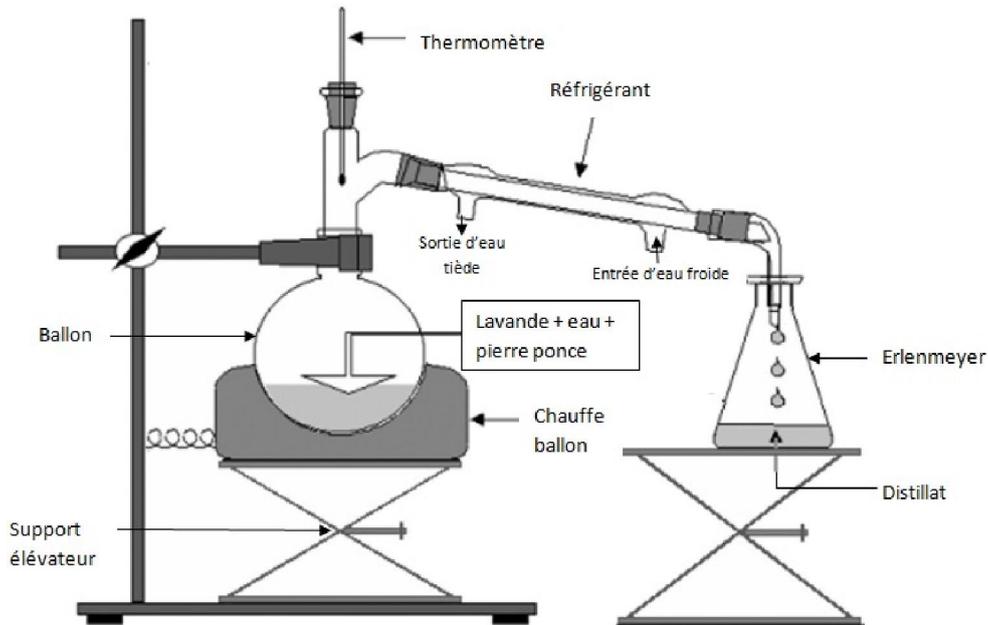


Figure I.5 : Montage de l'hydro-distillation [30].

I.10.3. L'hydro-diffusion

Ce type d'extraction consiste à envoyer de la vapeur du haut vers le bas, à travers le végétal. Dans ce cas, la vapeur peut saturer la plante en peu de temps. Le concept des extracteurs à hydro-diffusion exploite l'action osmotique de la vapeur d'eau, qui libère sous forme azéotrope, l'huile essentielle contenue dans la plante. Ce processus d'osmose constitue l'hydro-diffusion. Le principe est de dégager et de condenser, en utilisant la pesanteur, l'azéotrope produit par la vapeur et dispersé dans la masse du végétal. La diffusion des huiles essentielles est donc favorisée par le phénomène de gravité. L'huile essentielle est recueillie au bas de l'alambic. Ce procédé, plus puissant que l'hydro-distillation, permet d'obtenir les huiles essentielles avec des rendements plus importants. Les autres avantages sont l'économie d'énergie calorifique due à la réduction de la durée de distillation et l'absence d'hydrolyse des composés aromatiques car le matériel n'est pas en contact direct avec l'eau, mais uniquement avec la vapeur [26].

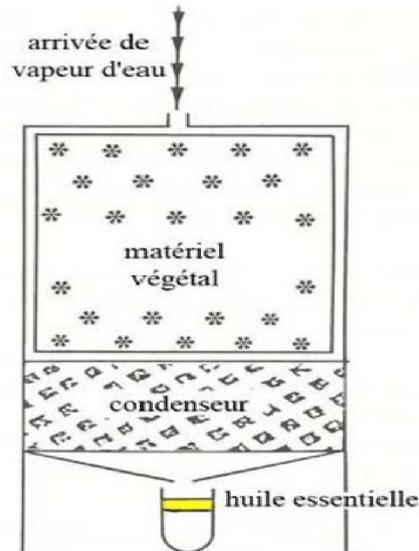


Figure I.6 : Montage de l'hydro-diffusion [31].

I.10.4. L'enfleurage

Il s'agit d'une extraction à froid par la graisse. Celle-ci est étalée sur une surface plate (tamis ou plateau), les fleurs sont déposées une à une et à la main à sa surface. Par son grand pouvoir d'absorption, la graisse fixe le parfum. On pratique des remplacements successifs des fleurs jusqu'à saturation de la graisse. La matière grasse est ensuite récupérée pour former une « pommade ». Cette pommade subit des traitements successifs à l'alcool qui permettent un passage progressif des substances odorantes de la graisse vers l'alcool, qui sera par la suite éliminé pour donner l'absolu d'enfleurage. L'enfleurage n'est donc pas une technique d'obtention des huiles essentielles, mais de bases parfumées utilisées dans le domaine de la parfumerie.

Cette technique est particulièrement intéressante pour les fleurs qui continuent à dégager leur parfum après la cueillette, comme par exemple la fleur de jasmin (*Jasminum grandiflorum* L.). Dans le cas de cette espèce, les fleurs sont remplacées toutes les 24h pendant environ 70 jours.

L'enfleurage est une méthode pour laquelle le travail manuel nécessite une main-d'oeuvre expérimentée et qualifiée, la rendant particulièrement longue et onéreuse.

L'extraction par les graisses chaudes suit le même principe : l'extraction des substances odorantes des fleurs par de la graisse, réutilisée jusqu'à saturation. Dans le cas de l'extraction à chaud, la matière végétale et la graisse sont chauffées à une température de quelques dizaines de degrés, pendant une à deux heures. Après filtration, la graisse est de

nouveau chauffée avec des fleurs fraîches jusqu'à saturation. Elle est ensuite traitée comme dans l'enfleurage mais donnera cette fois-ci l'absolue de macération. L'intérêt de la méthode réside dans la diminution du temps de contact fleur/graisse et le moindre besoin en main-d'œuvre [32].

I.10.5. Distillation « sèche »

La distillation sèche est une méthode d'extraction des huiles essentielles reconnue par la pharmacopée européenne mais on ne retrouve dans la pratique que peu de documents s'y rapportant. Cette technique, très peu utilisée, consiste en un chauffage doux de la matière première, sans eau ni solvant organique. Les substances volatiles sont ensuite condensées et récupérées. La température est ici inférieure à 100°C, ce qui limite une nouvelle fois les phénomènes de dénaturation liés au chauffage. L'absence d'eau permet également de préserver les substances volatiles de l'hydrolyse. On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières premières particulièrement fragiles [33].

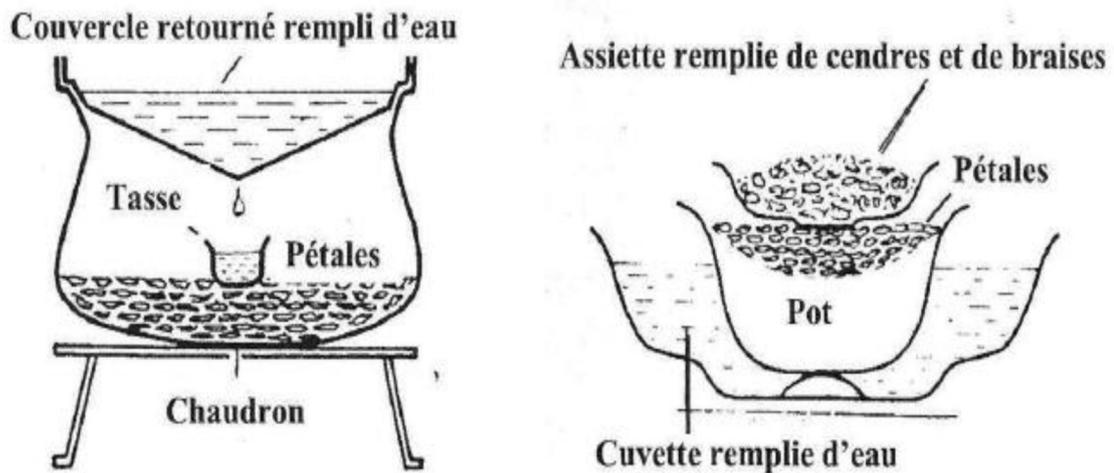


Figure I.7 : Schéma d'une installation de distillation sèche [33].

I.10.6. Expression à froid

L'expression à froid est la technique la plus simple mais la plus limitée car elle n'est applicable qu'aux fruits de la famille des Rutacées : citron, oranges douce et amère,

mandarine, bergamote, lime, pamplemousse, cédrat... En effet, les huiles essentielles d'agrumes sont facilement peroxydables et ne supportent pas les préparations à chaud [26].

Le principe de l'extraction consiste à rompre les poches à essence par un moyen mécanique, pression, incision ou abrasion à froid. L'huile essentielle mélangée à l'eau cellulaire est séparée par décantation ou centrifugation. Le procédé classique consiste à exercer sous un courant d'eau, une action abrasive sur la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation.

D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau. L'extraction par expression est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles d'agrumes (citron, orange, bergamote, mandarine, etc.)[34].

I.10.7. Extraction par ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatiques ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique. Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides.

Les mécanismes d'extraction impliquent deux phénomènes physiques :

- Les molécules peuvent parfois traverser la paroi cellulaire par simple diffusion ;
- Le contenu des cellules peut être « lessivé » après destruction des parois cellulaires, afin de récupérer l'ensemble des composés d'intérêt.

Les ultra-sons permettent d'améliorer ces deux phénomènes. Ils pourraient augmenter le rendement, diminuer la quantité de solvant nécessaire et/ou le temps de traitement [35].

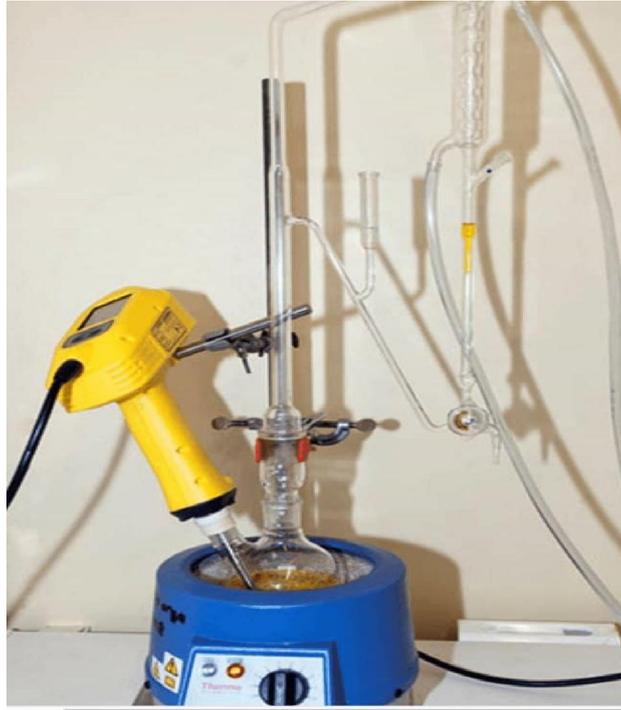


Figure I.8 : Montage de l'extraction par ultrason [36].

I.10.8. Extraction par solvant

Cette méthode en trois étapes a été utilisée pour la première fois sur des fleurs par le chimiste et pharmacien français Pierre Jean Robiquet en 1835 et elle est rapidement devenue une méthode populaire . L'avantage était que l'extraction pouvait se faire à température ambiante. Cependant, il s'agit d'un processus compliqué nécessitant un appareil coûteux.

- 1^{ère} étape : Des solvants tels que le benzène, l'éther de pétrole et, plus récemment, l'hexane ont été utilisés pour extraire les parties volatiles des plantes. Cette première étape produit un mélange cireux appelé concrète (souvent environ 50% d'huile essentielle et 50% de cire). L'hexane est considéré comme sans danger et est utilisé dans plusieurs procédés d'extraction des aliments. Cependant, il est impossible d'éliminer tout le solvant après l'extraction.
- 2^{ème} étape : Un solvant, généralement de l'éthanol, est utilisé pour dissoudre la cire. Cette étape est répétée plusieurs fois.
- 3^{ème} étape : Le mélange alcool/cire est évaporé sous vide [37].

I.10.9. L'extraction au four à micro-ondes

Sous vide cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques et est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une

distillation à la pression atmosphérique qui consiste à placer le matériel végétal seul dans un réacteur microondes. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est entraînée par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante, elle est ensuite récupérée à l'aide des procédés classiques de condensation/refroidissement et décantation [4].

En outre, la technique est extrêmement rapide car elle est cinq à dix fois plus courte que les méthodes courantes comme l'entraînement à la vapeur ou l'hydro-distillation [26].

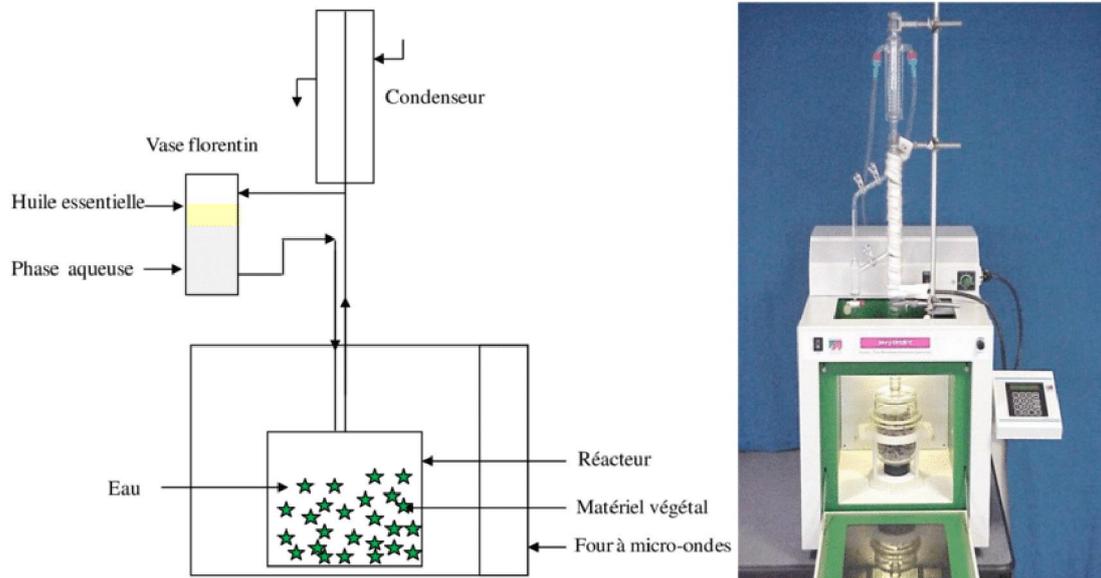


Figure I.9 : montage d'extraction par micro-onde [38].

I.10.10. Extraction par dioxyde de carbone gazeux supercritique

Un équipement coûteux de haute technologie est utilisé pour extraire les huiles essentielles. Il utilise du dioxyde de carbone (CO_2), une haute pression et une basse température. Ce procédé permet d'obtenir une huile qui conserve une plus grande quantité de composants aromatiques que l'huile dérivée du gaz carbonique. Une plus grande quantité de composants aromatiques que l'huile obtenue par distillation à la vapeur. L'odeur de l'huile extraite au CO_2 est plus identique à celle de la plante d'origine.

-Extraction sélective au CO_2 : Dans la méthode sélective, l'huile est extraite à une température d'environ 31°C (88°F). Le matériel végétal est placé dans une chambre, puis le gaz CO_2 comprimé est libéré. Lorsque le gaz traverse la matière végétale, il entraîne les composants de la plante en solution. Lorsque le processus est terminé, la pression est abaissée, les matières extraites précipitent et sont recueillies. Le gaz CO_2 est ensuite recomprimé et recyclé pour être réutilisé, sans laisser aucun résidu dans l'huile extraite. L'huile extraite contient des composants sélectionnés similaires aux huiles distillées à la vapeur.

-Extraction totale du CO₂: Dans la méthode totale, le matériel végétal est traité à une température plus élevée. L'huile extraite contient plus de composants végétaux que dans la méthode sélective [1].

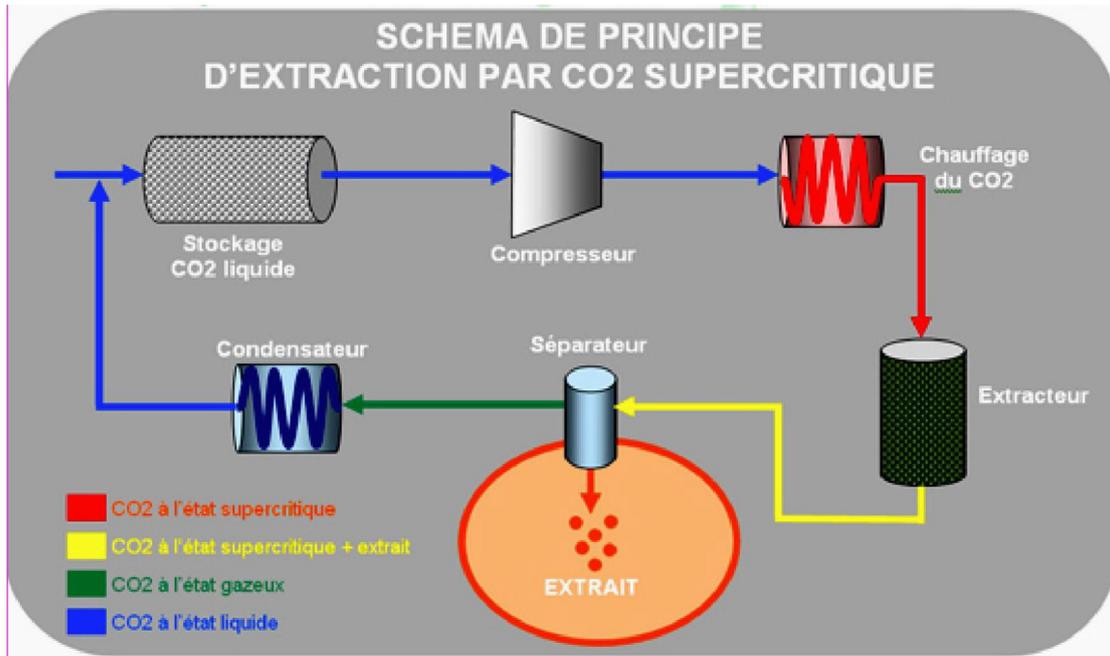


Figure I.10 : Procédé d'extraction au CO₂ supercritique [39].

I.11. Les critères de qualité

Il existe un grand nombre d'étapes, menant de la plante jusqu'à l'utilisation de l'huile essentielle, susceptibles d'être à l'origine d'une modification de sa qualité. Produire une huile essentielle de qualité n'est donc pas une chose aisée. Les critères de qualité qui vont être détaillés dans ce qui suit permettent d'identifier les points clés de la production d'une huile essentielle de la meilleure nature possible [32].

I.11.1. L'origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. Une même plante grandissant dans des lieux différents avec un changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyle la remplacera en été [13].

I.11.2. Partie de la plante

Comme chacune des parties d'une même plante ne possède pas le même équipement enzymatique, elles ne produisent pas toutes les mêmes composés ; la connaissance de la partie de la plante qui est utilisée pour l'extraction : feuille, écorce, racine, brindille ou résine nous permet de comprendre la qualité énergétique, les propriétés et la note dominante de l'huile essentielle [32].

I.11.3. Le mode de récolte ou de culture

Les conditions de culture, de récolte, de séchage, de fragmentation et de stockage ont une action déterminante sur la qualité de végétaux. Ces dernières sont, dans la mesure du possible, exemptes d'impuretés telles que la terre, les poussières, les souillures, ainsi que d'infections fongiques. Elles ne doivent pas présenter des signes de pourriture ou d'endommagement. Le mode de récolte indique également si la plante est sauvage ou cultivée, si la récolte se fait de manière manuelle ou mécanisée et si elle est issue ou non d'une culture biologique. Tous ces paramètres jouent un rôle important dans l'aspect qualitatif et quantitatif de l'HE obtenue [40].

I.11.4. Méthode d'extraction

Le choix de la méthode d'extraction dépend essentiellement de la drogue végétale, de son état, de ses caractéristiques. Cependant, le coût parfois élevé de certaines techniques d'extraction ainsi que les modifications indésirables de la qualité de l'huile essentielle peuvent également influencer le choix de la méthode.

Ce choix conditionne un grand nombre de caractéristiques de l'huile essentielle : sa viscosité, sa couleur, sa solubilité, sa volatilité mais aussi son enrichissement ou son appauvrissement en certains constituants. Le producteur d'huile essentielle devra donc choisir une méthode offrant à la fois une grande qualité d'huile essentielle et un coût de production modéré [32].

I.12. Activités biologiques des HEs

L'activité biologique d'une huile essentielle est en relation avec sa composition chimique, dont ses composés majoritaires comme les terpènes, les aldehyde, les phénols souvent responsables de cette activité. Il est cependant connu que les composés minoritaires agissent de manière synergique et exercent une activité importante [20].

Tableau I.1 : Activités biologiques de certains composés terpéniques des HEs [20].

Familles	Exemple	Propriétés
Hydrocarbure aliphatique monoterpènes	Limonène, α et β -pinène	Fongistatique Bactériostatique Insecticide Nematicide Antimutagenique Herbicide Stimulation générale
Sesquiterpènes	Bisabolème, α -humulème, β -caryophyllène (pin)	Calmants Anti-inflammatoire Antiallergique Antibactériens et Antifongique
Phénols	Thymol (thym) Carvacrol (origan), Eugénol (clou de girofle)	Antioxydant Stimulantes Antiseptiques Bactéricides Fongicides Antivirale Antiparasitaires Irritantes
Alcool	Linalol (bois de rose), Gerniol (palmarosa),	Anti-inflammatoire Antiseptiques Bactéricides Fongicides
monoterpéniques	Menthol (menthe poivrée), citronellol (citronelle)	Antivirale Antiallergique Immunostimulants Neurotoxiques
Cétones	Carvone (carvi), menthone (menthe poivrée), camphre (romarin), thuyone (sauge).	Calmantes Antivirales Antifongiques Neurotoxiques Antiépileptique Dépresseurs à dose Elevées

Chapitre II

Lavandula Stoechas. L

Chapitre II : Lavandula stoechas.L

II.1. Généralités sur la famille de lamiacées

La famille des Lamiacées est connue également sous le nom des Labiées, Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. La famille des Lamiacées est l'une des premières familles à être distinguées par les botanistes, les lamiacées sont des angiospermes dicotylédones appartenant à l'ordre des Lamiales. Cette famille comprend environ 260 genres et plus de 6500 espèces. Ce sont des plantes à fleurs herbacées ou arborescentes très parfumées. 40% des espèces de la famille des Lamiacées contiennent des composés qui possèdent des propriétés aromatiques [6].

Une grande partie de ces plantes sont aromatiques et riches en huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinale.

Entre autres, un grand nombre de genre de la famille Lamiaceae sont des sources de terpénoïdes, flavonoïdes, et des iridiodes glycosylés [41].

II.2. Historique de la lavande

L'utilisation de la lavande remonte à des temps très anciens. Dans l'antiquité, on l'employait en parfumerie et en médecine, ainsi qu'en cosmétique, pour parfumer l'eau du bain et adoucir le linge.

Au XIV^{ème} siècle, on commence la culture de la lavande dans la région de Bourgogne en France et les médecins la recommandent dans la liste des plantes antiseptiques avec le laurier, le thym et le romarin. On la retrouve dans jardins où toutes les bonnes herbes étaient réunies en une sorte d'armoire à pharmacie naturelle [42].

En 1952, les premiers essais de coupe mécanique et le développement des cultures de lavandin entraînent le déplacement des cultures. Dans le même temps, deux autres facteurs ont contribué à la diminution constante des surfaces cultivées en lavande : le développement de produits de synthèse et l'application d'une maladie encore mal expliquée : le dépérissement des plants qui affecte directement la durée de vie et la productivité des plantations. L'HE de lavande fine n'est plus utilisée dans les produits de grande consommation, où les produits de synthèse moins coûteux l'ont remplacée. Elle demeure irremplaçable dans les deux domaines prestigieux de son histoire : la parfumerie de luxe et la sphère médicale avec le développement de la phytothérapie et de l'aromathérapie [42].

II.3. Monographie de *Lavandula stoechas* L

II.3.1. 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. Le Dr T. B. (1926) a donné comme définition du mot *Stoecha* des: vient du grec *stoecha* des et signifie «rangées en lignes» [14].

II.3.2. Synonymes

L. stoechas (syn. *Stoechas officinarium* Moench) est communément appelée 'lavande française', 'lavande italienne', 'lavande espagnole', 'lavande des stoechades', 'lavande maritime', 'lavande papillon' ou 'lavande à toupet' [1,5,14].

II.4. Description botanique

La lavande papillon, *L. stoechas* L. est une espèce végétale bien connue et qui fait également partie de la famille des Lamiacées ou Labiées. Elle possède ainsi les mêmes caractéristiques morphologiques et communes à l'ensemble de cette famille [16].

Les lavandes sont des herbes annuelles ou le plus souvent des arbustes ligneux, aromatiques, touffus et vivaces hauts de 40 à 80 cm à feuilles persistantes opposées qui peuvent être entières ou dentées. Les fleurs sont organisées en une inflorescence mixte, un caractère commun à l'ensemble des lavandes. L'inflorescence principale ressemble donc à un épi plus ou moins lâche. L'inflorescence secondaire est une cyme. Les bractées sont situées à la base de chaque cyme. Le fruit est un tétrachène. Une abondante floraison bleu violet clair est observée en saison printanière. La corolle monopétale est renversée, à tube plus long que calice et à limbe partagé en cinq lobes inégaux, arrondis, imparfaitement divisés en deux lèvres [44].

II.5. Position Systématique

La position systématique de *Lavandula stoechas* L, est la suivante :

Tableau II.1 : Classification botanique de *Lavandula stoechas* L. [45-47]

Règne	Plantes
Embranchement	Phanérogames ou Spermaphytes
Sous- embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula stoechas</i> (L)

II.6. Caractéristiques des différentes parties de *L. stoechas* L

Nous avons opté pour une description de chaque organe afin d’aboutir à une description complète de la plante d’une manière détaillée.

II.6.1. Feuille

Il existe une grande variété de forme et de couleur des feuilles selon les espèces. Elles sont persistantes, opposées, sessiles ou pétiolées, simples ou composées, poilues et le plus souvent grisâtres ou argentées et parfois verte sombre. Elles sont longues et étroites chez la plupart des espèces mais, chez certaines espèces, elles sont pennées ou pennées dentées et parfois pennées multiples et entièrement ou profondément découpées [48].



Figure II.1 : Feuilles de *Lavandula stoechas* [48].

II.6.2. Fleurs

Les fleurs, avec pédicelle, sont disposées en verticilles, tenues en grappes de cymes cylindriques ou quadrangulaires, à l'extrémité de tiges rarement feuillées [5]. L'épi floral est court, oblong, brièvement pédonculé; verticilles foliaires espacés. Chaque verticille est composé de 2 feuilles opposées, linéaires, acuminées au sommet, longues de 3 à 4 cm et larges de 2 à 3 mm, hispides en dessus, incanescents en dessous, dépassant les entre-nœuds, et de 6 à 8 petites feuilles linéaires-filiformes, naissant à l'aisselle des 2 feuilles opposées composant le verticille, et 3 à 4 fois plus courtes que celles-ci [49]. Elles peuvent être le plus souvent mauves, bleues, violettes pourpres, roses ou lilas et parfois blanches, probablement suite à une mutation [5,49].



Figure II.2 : Fleur de *Lavandula stoechas*. l .

II.6.3. Bractéoles et bractées

Les bractéoles sont petites, souvent négligeables. Les bractées sont portées au niveau des points de ramification, à la base de chaque cyme de fleurs. Chez les espèces *L. stoechas*, des bractées très développées sont également présentes à l'apex de l'inflorescence. Ces dernières sont allongées, colorées, stériles et très attractives pour les pollinisateurs [49].

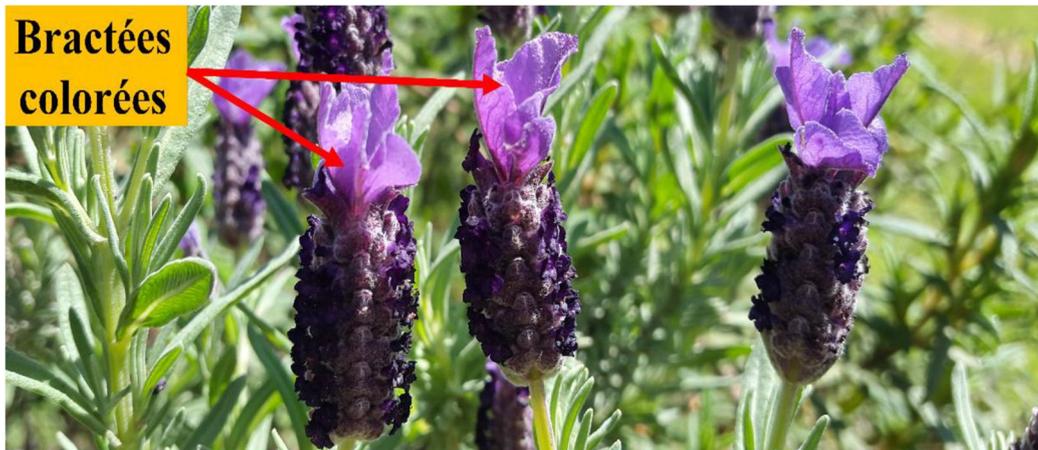


Figure II.3 : Bractées de *Lavandula stoechas* [49].

II.6.4. Tiges

De longueur allant de 20 à 40 cm, 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. La floraison, plus précoce que chez les autres lavandes, se déroule d'avril à mai puis en automne [14].

II.7. Origine et répartition géographique

▪ **Dans le monde :** De nombreuses espèces de Lavande sont largement distribuées dans la région méditerranéenne et cultivées en France, en Espagne et en Italie.

En Turquie, principalement deux espèces, de *Lavandula stoechas* et *Lavandula angustifolia* et leurs sous-espèces y poussent spontanément ou sont cultivées.

Largement distribuées dans les îles Canari, Islande et à travers tout le tell méditerranéen, l'Afrique du Nord, Sud West de l'Asie, Afrique tropicale avec une disjonction vers l'Inde [18,46].

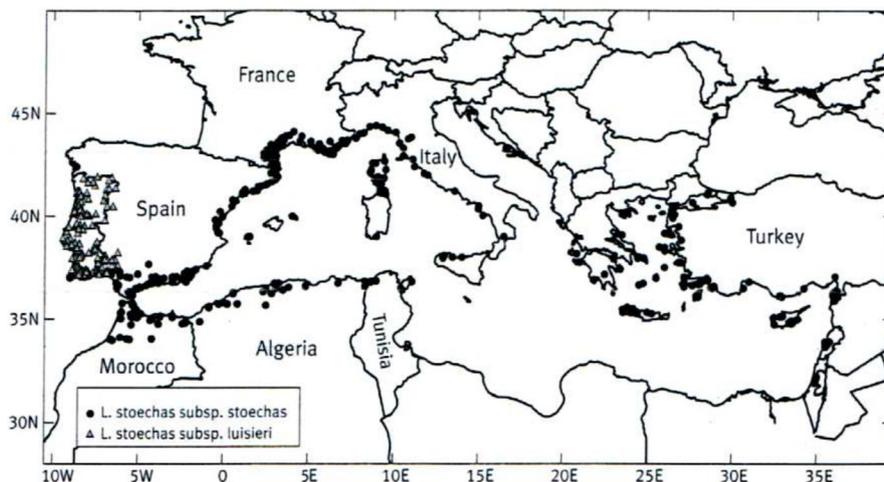


Figure II.4 : Distribution géographique de *L. stoechas* [5].

- **En Algérie :** *Lavandula stoechas.l* est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays [5]. Elle fut localisée dans les collines sèches pierreuses, les maquis des contreforts; partout à Fort-National, 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 [49].

II.8. Culture

Il est à noter que les lavandes se plaisent en plein soleil où elles développent pleinement leurs fragrances caractéristiques. Comme de nombreuses plantes à feuilles velues, voire grises, elles n'aiment guère les sols lourds, argileux et sont capables de prospérer dans la pierraille. Elles sont employées en massif, talus, rocaille, en muret fleuri, couronnement de muret ou en pots et bacs [50].

La *lavandula stoechas. l* a besoin de la chaleur, de soleil et d'un sol bien drainant, calcaire et même caillouteux. Il faudra surtout veiller à ce qu'elle ne souffre pas d'excès d'humidité [42].

II.9. L'HE de *Lavandula stoechas. L*

Le constituant principal du genre *Lavandula* est l'huile volatile. En effet, toutes les espèces de *Lavandula* sont des plantes fortement aromatiques, qui produisent des mélanges complexes d'huiles essentielles. Les constituants chimiques potentiellement actifs du genre *Lavandula* sont :

- **Monoterpènes :** α -pinène, β -pinène, β -ocimène, camphre, limonène, p-cymène, sabinène, terpinène
- **Monoterpènes alcools:** α -terpinéol, bornéol, lavandulol, linalool, p-cymène-8-ol, transpivocarveol
- **Monoterpènes aldéhydes:** aldéhyde de cumin
- **Monoterpènes éthers:** 1,8-cinéole
- **Monoterpènes esters:** acétate de linalyl, acétate de terpényl
- **Monoterpènes cétones:** carvone, coumarine, cryptone, fenchone, methylheptenone, noctanone, nopinone, p-méthylacétophénone
- **Benzoïdes:** eugénol, coumarine, carvacrol, acide hydroxycinnamique, acide rosmarinique, thymol

- **Sesquiterpenes:** caryophyllène, oxyde de caryophyllène, α -photosantanol, α -santalal, α -norsantalénone
- **Traces de nombreux autres composés.**

L'huile essentielle de *Lavandula stoechas* de l'Algérie, analysée au stade de pleine floraison, contient: α -Pinène à 1.0 %, p-Cymène à 6.5%, Fenchone à 31.6%, Camphre à 22.4%, et Lavandulyl acétate à 3.0 %, comme principaux constituants avec une variation quantitative et qualitative par rapport à d'autres pays.

Le genre *Lavandula* est relativement riche en constituants phénoliques. Environ dix-neuf flavones et huit anthocyanines ont été trouvées dans cette plante. Deux esters de l'acide hydroxycinnamique, l'acide rosmarinique et l'acide chlorogénique, sont régulièrement présents dans les feuilles des espèces de *Lavandula*. Les flavonoïdes identifiés de *L.stoechas* sont: apigénine 7-glucoside, lutéoline, lutéoline 7-glucoside et lutéoline 7-glucuronide [51].

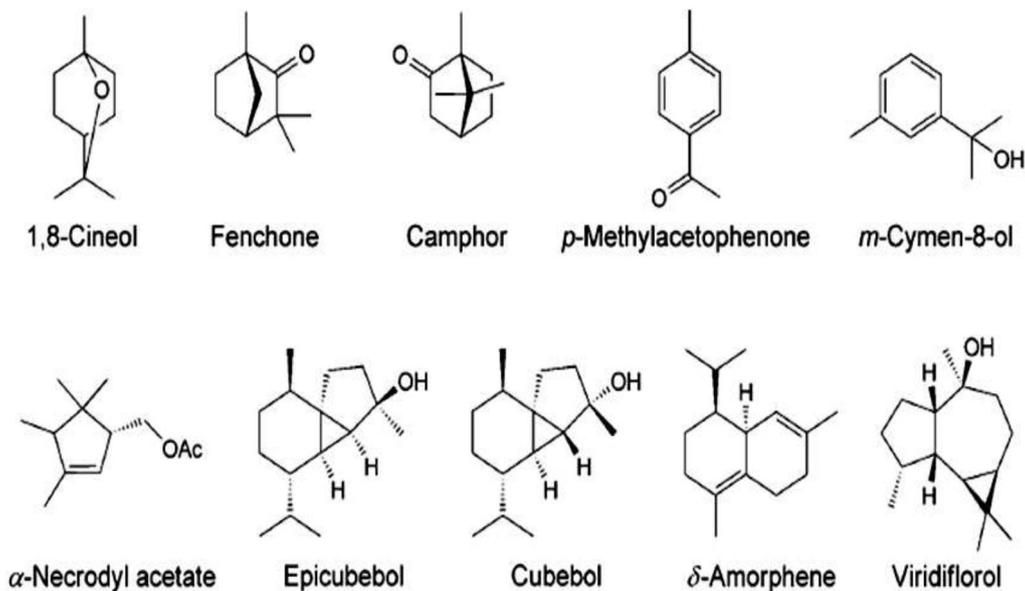


Figure II.5 : Structures chimique des composés majoritaires et de certains composés détectés pour la première fois dans des HEs de *L. stoechas* d'Algérie [44].

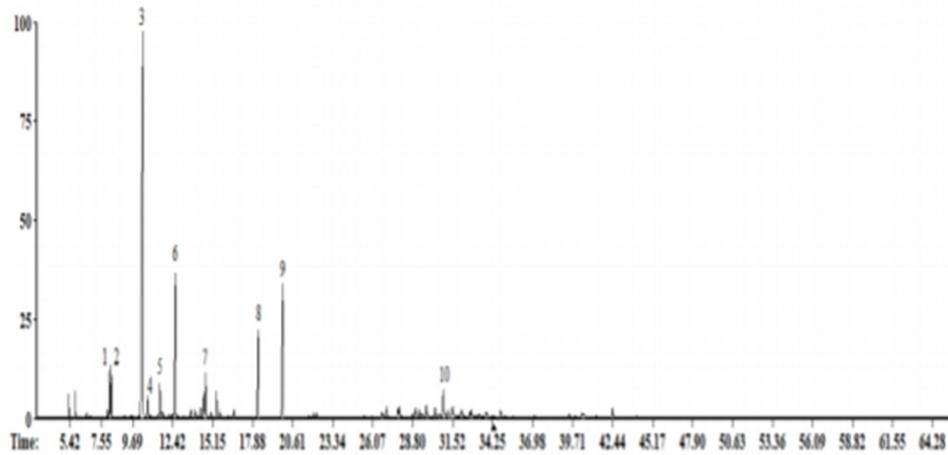


Figure II.6 : Chromatogramme de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* [52].
 1: Limonène, 2: 1.8-Cinéole; 3: Fenchone, 4: Linalool, 5: α-Fenchol, 6:Camphre,7:
 Myrtenal,8:Bornyl acetate, 9 Myrtenyl acétate, 10: Viridiflorol

II.10. Utilisation d'HE de *Lavandula stoechas* .L

L. stoechas est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région Méditerranéenne pour ses vertus médicinales principalement attribués à sa teneur en HE [5].

➤ **En parfumerie :**

- Utilisée pour parfumer le linge fraîchement lavé, pour éloigner les mites et parfumer la garde-robe ;
- Parfumer les savonnettes, les détergents et le papier hygiénique. Dans les parfums proprement dits, la lavande est surtout réservée aux hommes.

➤ **En médecine :**

- Propriétés antiseptiques, bactéricides, désinfectantes, calmantes, antispasmodiques, des vertus cicatrisantes, antivenimeuses, pour combattre les mites et les poux ;
- Combattre l'anxiété, la nervosité et les insomnies, ainsi que pour soulager les rhumatismes et soigner les infections des voies respiratoires ;
- L'huile essentielle de lavande est antiseptique et bactéricide. Appliquée pure sur la peau elle soulagerait les brûlures et les piqûres d'insectes. Appliquée sur les tempes, elle soulagerait les douleurs migraineuses ;
- Utilisée dans quelques préparations culinaires [53].

➤ **En protection des végétaux :**

Les extraits végétaux sont riches en principes utiles à la simulation des défenses immunitaires des plantes et à la lutte contre les insectes et les champignons (pesticide naturel, répulsif). Elles sont utilisées en prévention ou en lutte contre les nuisibles (après l'attaque

pour réduire les dégâts occasionnés sur les cultures), ces extraits varient selon la plante utilisé et le dosage réalisé [42].

II.11. Toxicité de la lavande

L'essence de la lavande en usage interne doit être employée avec prudence car, à fortes doses, elle peut produire de la nervosité et même des convulsions.

Les HEs de la lavande à forte dose sont considérées comme des poisons narcotiques. Elles peuvent causées de grave dermatoses.

La *L.stoechas* est plus toxique que les autres espèces de la lavande. Elle est contre-indiquée pour les bébés, les enfants et les femmes enceintes [41].

II.12. Activités biologiques

II.12.1. Pouvoir antifongique, antibactérienne

Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* sont des antifongiques naturels très efficaces et peuvent être une source très importante de constituants phytopharmaceutiques utilisés pour éradiquer les infections d'origine fongique. Ce mérite revient à la composition chimique de l'HE et peut être aux composés majoritaires, essentiellement le cinéole et le camphre [54].

De par sa composition en 1,8-cinéole et fenchone, l'huile essentielle de lavande papillon possède des propriétés antibactériennes marquées sur une multitude de pathogènes: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ainsi que sur des levures et des champignons (*Rhizoctonia solani* et *Fusarium oxysporum* par exemple) [55].

II.12.2. Pouvoir antioxydant

Des études antérieures ont montré que la lavande présente des propriétés antioxydantes, où les extraits aqueux et éthanolique de *Lavandula stoechas* L. montrent une activité antioxydante puissante sur la peroxydation de l'émulsion de l'acide linoléique, un potentiel réducteur, une forte activité antiradicalaire exercée contre les anions de superoxyde et une activité de chélation et de capture d'ions ferreux [51].

C'est dans ce contexte que nous avons situé notre étude en nous focalisant sur l'étude de l'effet fongicide de la lavande extraite par nos soins sur une espèce de champignon *Botrytis cinerea*.

Chapitre III
Matériel et méthodes

CHAPITRE III : Matériel et méthodes

Ce chapitre a pour objectif de présenter le matériel et les méthodes d'extraction de l'huile essentielle de *lavandula stoechas* réalisées et la caractérisation physicochimique de l'huile extraite, ainsi que la méthodologie et conditions de l'étude de l'effet fongicide sur un champignon de type *Bortitys cinerea*.

Partie I : Extraction de l'huile essentielle

III.1.1. Matériel végétal

Dans notre étude, la plante *Lavandula stoechas* utilisée a été collectée de la région de Guelma, en mois d'avril 2021. La partie aérienne (fleurs et feuilles) de la plante a été nettoyée et séchée à l'ombre à une température ambiante pendant dix jours.



Figure III.1 : Les feuilles et fleurs de *lavandula stoechas* au moment du séchage

III.1.2. Matériel et produits du laboratoire

Le tableau suivant regroupe le matériel et les produits chimiques utilisés dans notre travail.

Tableau III.1 : Matériel et produits chimiques utilisés

Matériel	Réactifs chimiques
- Un ballon	- Eau distillée
- Un réfrigérant	- L'éthanol
- Une ampoule à décantation	- Indicateur coloré
- Tubes en verre	- KOH
- Pipette pasteur	- n-Hexane
- Erlenmeyer	- Dichloro-méthane
- Une balance	- Cyclohexane
- Une burette	

III.1.3. Extraction de l'HE de *lavandula stoechas*

L'extraction de l'huile essentielle de *lavandula stoechas* a été effectuée par deux méthodes d'extraction différentes, l'hydro-distillation et la méthode de Clevenger afin de comparer le rendement des deux procédés d'extraction.

❖ **Méthode 01 :**

L'huile essentielle de *lavandula stoechas* a été extraite par le procédé d'extraction en utilisant le montage Clevenger (**Figure III.2**).



Figure III.2 : Dispositif du Clevenger.

- **Mode opératoire :**

Dans un ballon en verre d'une capacité de 2 litres, on introduit 150g de matière végétale (fleurs et feuilles), puis on ajoute un volume d'eau qui correspond à 2/3 de la capacité du ballon pour éviter le débordement lors de l'ébullition. A l'aide d'un chauffe ballon, on chauffe le mélange pendant 3 heures.

Pendant l'ébullition, les cellules végétales s'éclatent et libèrent leurs contenus, qui par la suite sont transportés par les vapeurs d'eau générés dans le ballon vers le réfrigérant où ils se condensent. Les gouttelettes ainsi chutent dans une ampoule à décanter et forment deux phases qui se séparent par différence de densité, l'HE flotte à la surface de l'eau.



Figure III.3 : L'HE de *lavandula stoechas* se flotte à la surface de l'eau.

- ❖ **Méthode 02 :**

L'extraction des huiles essentielles a été également extraite par le procédé classique d'hydro-distillation en utilisant le dispositif représenté dans la **figure III.4** ci-dessous.

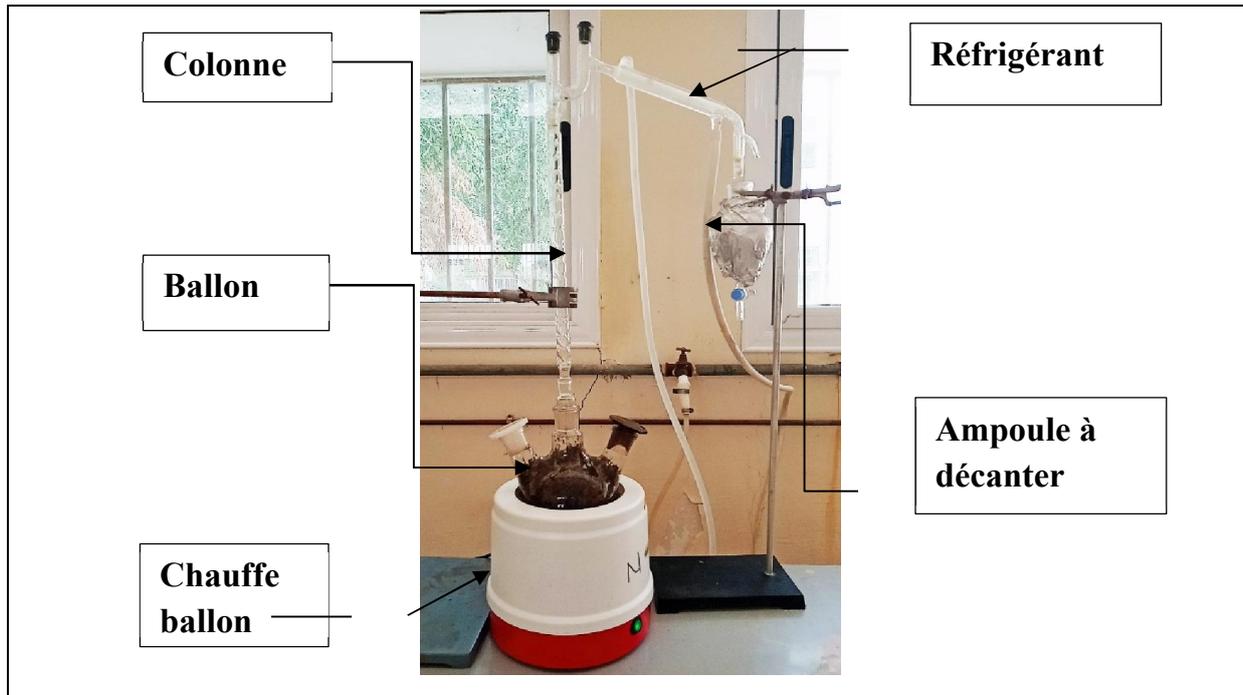


Figure III.4 : Dispositif de l'hydro-distillation

- **Mode opératoire :**

Dans un ballon de 1000 ml, on introduit 100g de masse végétale broyée et une quantité suffisante d'eau distillée sans le remplir pour éviter les débordements qui peuvent se passer lors de l'ébullition. Le tout est ensuite porté à ébullition, la vapeur d'eau formée va entraîner les molécules odorantes libérées et passe par le serpentin de refroidissement où le mélange se condense et chute dans une ampoule à décanter. Enfin, deux phases se forment (une phase aqueuse et une phase organique), l'huile essentielle qui est moins dense que l'eau est récupérée par une simple décantation (Figure III.5).



Figure III.5 : L'huile essentielle extraite

III.1.4. Conservation de l'huile essentielle obtenue

Il est possible de réduire l'instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles en conservant l'huile essentielle de *Lavandula stoechas.L* dans un flacon en verre stérile fermé hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière, enveloppé de papier d'aluminium, à une température voisine de 6°C, jusqu'à son usage pour éviter toute éventuelle dégradation.

III.1.5. Détermination du rendement des deux procédés

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

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

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

M_{HE} : masse d'huile essentielle récupérée exprimée en g.

M_s : quantité de matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

III.1.6. Caractérisation de l'HE extraite

III.1.6.1. Tests organoleptiques

L'aspect, la couleur et l'odeur de l'HE ont été déterminés sans aucun équipement ni instrument.

III.1.6.2. Caractéristiques physico-chimiques

a. L'indice d'acide

L'indice d'acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres présents dans un gramme de substance.

• Mode opératoire :

On pèse avec précision 0,5 g d'HE et on les dissous dans 5 ml d'éthanol puis on ajoute 3 gouttes de phénol phtaléine comme indicateur coloré, ensuite on neutralise le liquide avec la solution de KOH (0,1N) contenu dans une burette. Nous poursuivons l'addition jusqu'à ce que la solution vire au rose, nous mettons ensuite le volume de la solution de KOH utilisé.

Calcul de l'indice d'acide :

$$I_A = \frac{V \times 56,1 \times N}{m}$$

Où :

- N : normalité de la solution de KOH.
- V : volume de KOH utilisé pour le titrage (en ml).
- m: masse de la prise d'essai.
- 56.1 : masse de KOH.

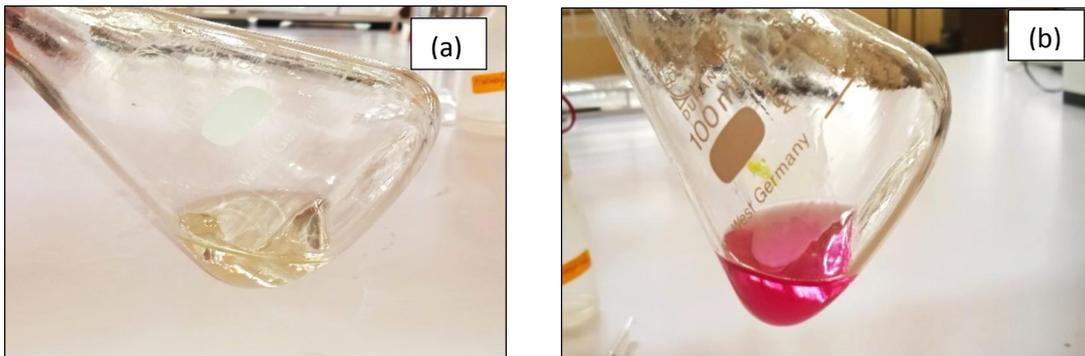


Figure. III.6 : (a) : avant le changement de couleur ; (b) : après le changement de couleur après un certain volume de KOH.

b. L'indice de réfraction

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré (HE). L'indice de réfraction a été mesuré à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe.



Figure III.7 : Le réfractomètre

- **Mode opératoire :**

- La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe.

- Après nettoyage de l'appareil avec de l'eau distillée ou de l'alcool, on place 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. Puis on regarde dans l'oculaire et la mesure se fait en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, finalement on note la valeur de l'indice.

- **Méthode de calcul :**

L'indice de réfraction, à la température de référence 20 °C, est évaluée par la formule suivante :

$$I_d^{20} = I + 0,0003 (T - 20 \text{ °C})$$

Où :

- I est l'indice de réfraction obtenu à la température de mesure T.

c. Détermination du pH

Le pH est un coefficient qui indique le degré d'acidité ou de basicité d'une solution. Cette grandeur permet d'évaluer la concentration de l'ion hydrogène d'une solution aqueuse. Nous mesurons le pH de l'HE de *lavandula stoechas* à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance d'huile essentielle disponible.



Figure III.8 : La gamme de couleur selon le pH.

d. La densité

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

- **Méthode :**

- A l'aide d'une balance électronique, On pèse un pycnomètre propre, sec et vide.
- On remplit le pycnomètre avec 1 ml d'eau distillée et on repese l'ensemble eau + pycnomètre.
- On répète avec le même volume d'huile.

- **Calcul de densité :**

La densité est donnée par la formule :

$$d^{20} = \frac{m2 - m0}{m1 - m0}$$

Où :

- m0 : masse du pycnomètre (seringue vide).
- m1 : masse du pycnomètre et de l'eau.
- m2 : masse du pycnomètre et d'huile essentielle.

Dans le cas où l'expérience est effectuée à une température (T) différente à 20°C, nous devons ajouter le facteur de correction suivant la formule ci-dessous :

$$d^{20} = \frac{(m2 - m0)}{(m1 - m0)} + 0.0007 (T - 20)$$

III.1.6.3. Analyse chromatographique

La chromatographie est une méthode physico-chimique rapide de séparation qui repose sur la différence d'affinités des composés du mélange étudié à l'aide de deux phases, l'une stationnaire, l'autre mobile.

La chromatographie sur couche mince est une méthode physico-chimique analytique de contrôle, dont la phase stationnaire est constituée d'une fine couche polaire de silice ou d'alumine déposée sur une plaque. La phase mobile ou éluant (qui est un solvant ou un mélange de solvants) migre à la surface de la plaque de CCM par capillarité. Une fois l'éluion terminée, la plaque est traitée par un révélateur chimique ou une lampe UV (si les produits absorbent dans l'UV).

Protocole de la CCM

- En premier lieu, on trace un trait à 1,5cm (la ligne de dépôt) du bas de la plaque de CCM ;
- On dépose une goutte d'huile essentielle sur la ligne de dépôt, à l'aide d'un capillaire ;

- On introduit la plaque dans une cuve qui contient de l'éluant et on s'assure que le niveau de l'éluant dans la cuve ne dépasse pas la ligne de dépôt. On couvre ensuite avec du par film et on le laisse diffuser.
- On retire la plaque de la cuve et trace le front de l'éluant.

Révélation

La plaque de chromatographie est exposée à un rayonnement ultraviolet (une lampe UV par la longueur d'onde : 254 nm).



Figure III.9 : La lampe UV

Analyse de la plaque de la CCM

Le paramètre caractérisant la migration d'une molécule vis-à-vis d'un éluant donné est le **rapport frontal (R_f)** qui est le rapport de la distance parcourue par le composé divisé par la distance parcourue par l'éluant.

$$R_f = \frac{\text{Hauteur du tache}}{\text{Hauteur du front de l'éluant}}$$

Le R_f des molécules dépend de leur affinité relative pour la phase stationnaire et la phase mobile, et il est compris entre 0 et 1.

III.1.6.4. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

On utilise le spectre infrarouge IR pour identifier les espèces présentes dans un échantillon. Le spectre est constitué de bandes que l'on appelle bandes d'absorption. L'échantillon est traversé par une lumière complexe et on détermine quelle radiation manque à la sortie, c'est-à-dire quelles fréquences ont été sélectivement absorbées par l'échantillon.

L'absorption de transition infrarouge IR d'une certaine longueur d'onde indique la présence d'un groupe donné d'atomes dans une molécule de structure inconnue. Cette absorption est caractéristique des liaisons chimiques et physico-chimiques des produits considérés.

Dans l'IR l'observation d'une bande d'absorption à une longueur d'onde spécifique provoque l'identité d'une liaison ou d'un groupe de liaison particulière dans une molécule [56].

L'appareil utilisé pour réaliser cette analyse est un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de type Perkin Elmer Spectrum One.



Figure III.10 : Spectromètre infrarouge

- **Mode opératoire :**

L'équipement a été calibré, après le nettoyage de la zone de dépôt par le Chloroforme afin d'éliminer les traces de l'échantillon précédent :

- On verse dans le cristal une goutte d'huile essentielle ;
- On introduit le cristal dans l'appareil pour l'analyse qui se fait en mode transmission.
- Le test est piloté par ordinateur pour permettre l'analyse statistique des données spectrales.

III.1.6.5. Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie UV-visible est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance du rayonnement par les espèces chimiques présentes dans une solution, à chaque longueur d'onde de bandes ultraviolettes et visibles du spectre électromagnétique.

L'absorption dans ce domaine est due au passage d'un niveau électronique à un autre d'énergie supérieure avec changement des niveaux de vibration et de rotation ; au cours de ce processus, un électron passe d'une orbitale moléculaire à une autre d'énergie supérieure [56].

Pour cette analyse, l'appareil utilisé est de type LANGE DR 6000.

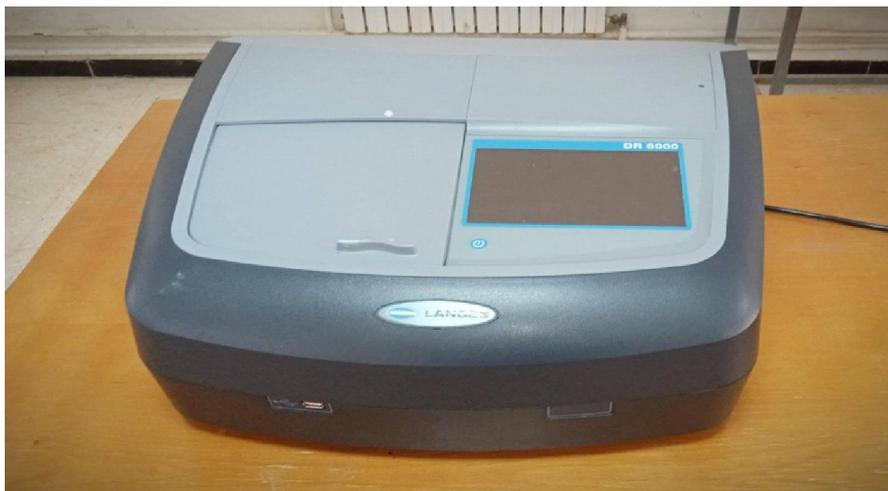


Figure III.11 : Spectroscopie UV-visible.

- **Mode opératoire :**

- On nettoie la cuve en quartz avec du solvant (cyclohexane).
- On remplit la cuve de référence avec du cyclohexane, l'introduit dans le spectromètre UV et appuyer sur zéro ;
- On remplit à nouveau la cuve avec du cyclohexane et on la met dedans quelques gouttes d'HE à analyser ;
- On met la cuve pleine dans le spectromètre UV.

Partie 02 : Evaluation de l'effet fongicide de l'HE extraite de *lavandula stoechas .L*

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers de l'Université 8 Mai 1945 de Guelma.

Le but principal de ce test est d'étudier la possibilité d'appliquer l'huile essentielle de *lavandula stoechas .l* et d'estimer son effet antifongique sur le champignon *Botrytis cinerea* s'il existe. Nous avons choisi l'HE extraite par la méthode 01 pour réaliser cette étude.

III.2.1. Matériel fongique

L'espèce fongique qui a fait l'objet de cette étude est :

- **Botrytis cinerea :** champignon ascomycète pathogène causant des maladies sur végétaux, polyphage, et ubiquiste et provoque des mortifications des tissus végétaux appelées nécrose affectant les organes aériens et fruits de plantes. Ce champignon est responsable de

pourriture sur un grand nombre de plantes hôtes d'importances économiques en agriculture. Cette maladie se développe plus facilement dans certaines circonstances liées aux conditions climatiques, à la sensibilité de la plante elle-même et aux facteurs culturaux [9].

Botrytis cinerea est l'agent causal de la pourriture grise. Ce pathogène est connu par l'importance des dégâts économiques qu'il occasionne, son cosmopolitique, sa polyphagie, sa variabilité génétique et le développement rapide de souches résistantes [20].



Figure III.12 : La pourriture grise sur les fraises [58].

III.2.2. Matériel utilisé

Le matériel utilisé pour réaliser les différents tests est le suivant :

Tableau III.2 : Matériel utilisé pour l'étude de l'activité antifongique

Matériel

- Microscope optique
- Cellule de Malassez
- Etuve, réglée à 24 °C.
- Autoclave
- Vortex
- Boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre,
- Pipettes Pasteur
- Anse de platine
- Papier Wattman
- Tubes coniques en plastique stérile,
- Micro-pipette (2,5 µL, 10 µL, 20µL et 40µL) + embouts
- Alcool (éthanol 95°)
- Eau distillée
- Eau physiologique
- Milieux de culture : PDA
- Huiles essentielles d'espèce végétale testée.

III.2.3. Milieu de cultures

Le milieu de culture utilisé pour tester l'effet antifongique de notre huile essentielle est un Milieu PDA "potatoes dextrose agar" (Extrait de pomme de terre 4g ; Dextrose 20g ; Agar 15g).

III.2.4. Préparation de suspension sporale de la souche fongique

La solution sporale a été préparée à partir de culture jeune de *Botrytis cinerea*, âgée de 5 jours. Les spores ont été récoltées par grattage dans des tubes coniques en plastique, stériles de 15 mL, contenant une solution de l'eau physiologique à 0.9 % et 2 gouttes de Tween 20.

Après agitation au vortex, pour déterminer la concentration et en utilisant la cellule de Malassez (une lame en verre permet le comptage des cellules en suspension dans une solution) (**Figure III.13**) : une concentration sporale de 10^4 spores / mL a été utilisée .

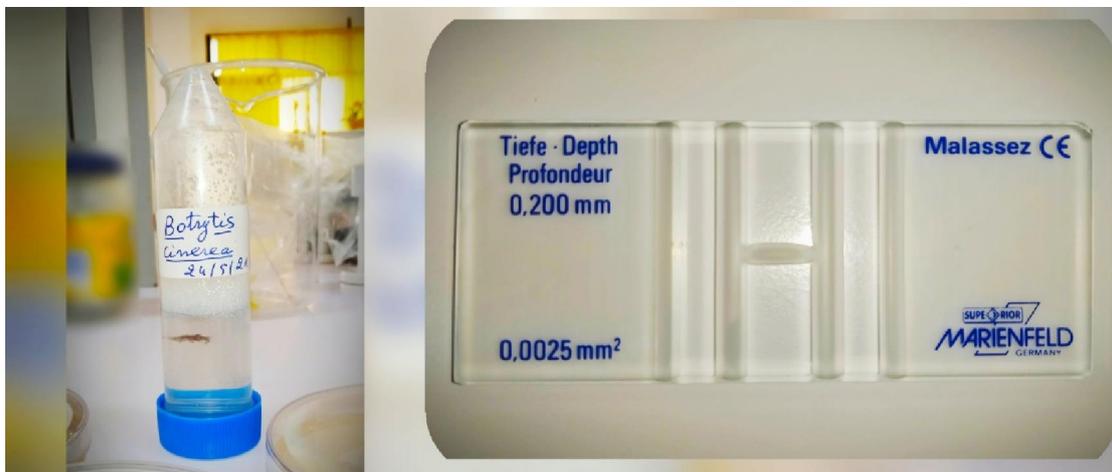


Figure III.13 : (a) : La solution sporale. (b) : La cellule de Malassez.

III.2.5. Concentrations des huiles essentielles testées

Cinq concentrations des huiles essentielles ont été testées : 0, 2.5, 5, 10, 20 et 40 (en μl) . La concentration 0 présente le témoin négatif, pour lequel, les boites sont traitées sans ajout d'huile.

III.2.6. Mise en œuvre pratique

L'activité antifongique d'HE a été testée à l'égard de la souche fongique présentée ci-dessus, par la technique de confrontation directe. La technique de confrontation consiste à une diffusion des huiles dans le milieu de culture inoculé par les champignons étudiés à travers

des disques de papier wattman de 6 mm de diamètre placés aux centres des boîtes de Pétri [59].

- On transverse le milieu de culture PDA dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre ;
- On laisse ces boîtes sur la paillasse pour solidifier,
- Puis on diffuse une quantité de 40 μ l de suspension sporale, préparée le jour même, sur la surface du milieu de culture à l'aide d'une hanse stérile afin d'avoir une croissance homogène du champignon, on laisse refroidir et solidifier quelques minutes à 24 °C à l'étuve ;
- A l'aide d'une anse stérile, on place un disque de papier Wattman de 6 mm de diamètre au centre de la boîte, puis on l'imbibe par chaque concentration de l'huile essentielle à tester, à l'aide d'une micro-pipette.
- Les boîtes préparées ont été fermées et incubées à la température de 24°C pendant 3 jours (**Figure III.14**)

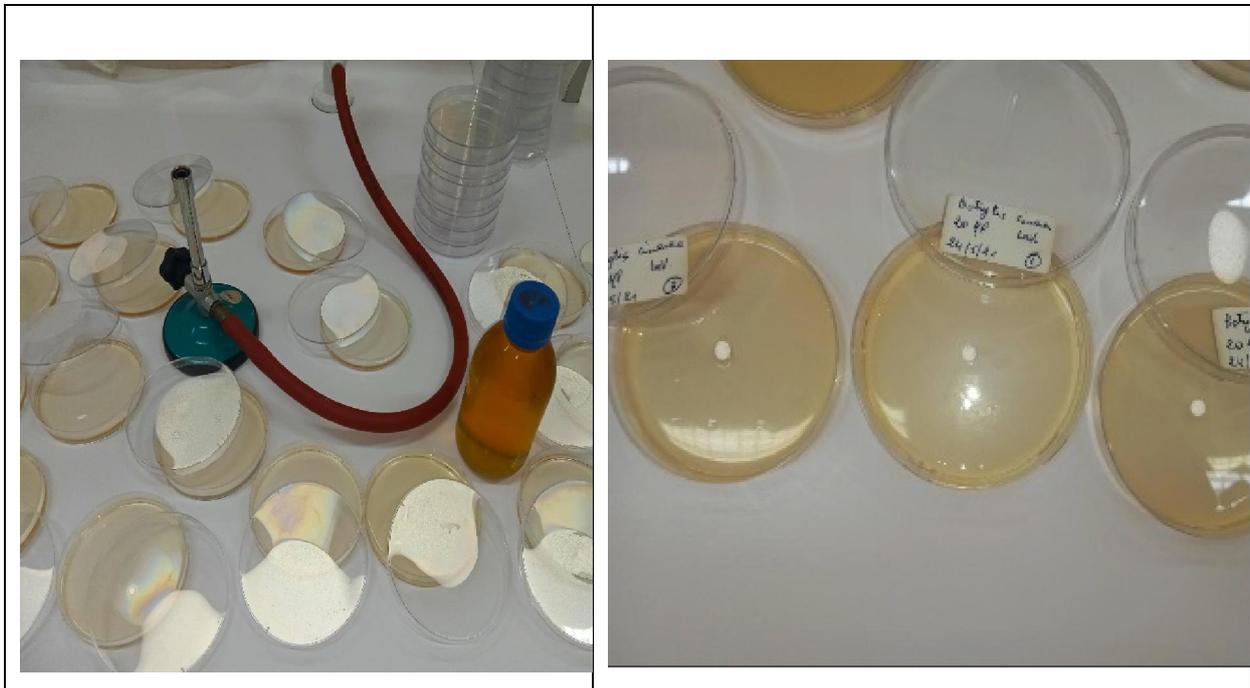




Figure III.14 : Etude de l'activité antifongique de l'HE de *lavandula stoechas* sur *Botrytis cinerea*.

Les tests réalisés sont effectués en trois répétitions pour chaque concentration d'huile testée.

III.2.7. Lecture

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance mycélienne se traduit par un halo transparent autour du disque, identique à la gélose stérile.

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition mesuré à l'aide d'une règle en (mm).

Chapitre IV

Résultats et discussion

CHAPITRE IV : Résultats et discussion

Dans ce dernier chapitre, nous présenterons les résultats des expérimentations que nous avons menées lors de notre étude comparative entre deux méthodes d'extraction de l'huile essentielle de Lavande ainsi que sur son activité antifongique. Ces résultats y seront également discutés et comparés avec ceux de la littérature.

Ce chapitre est ainsi divisé en deux grandes parties essentielles : la première consacrée à la caractérisation de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* extraite par deux procédés différents et la seconde partie portera sur les résultats de l'étude de l'activité antifongique de cette huile.

Partie I : Extraction et caractérisation de l'huile essentielle de *lavandula stoechas*. I

Cette partie regroupe les résultats obtenus lors de l'extraction de l'huile essentielle de *lavandula stoechas L* par deux méthodes à savoir la méthode Clevenger et l'hydro-distillation. Les propriétés déterminées dans le but de comparer les deux méthodes sont : rendement, propriétés organoleptiques, propriétés physico-chimiques, analyse chromatographique et analyse spectroscopique par Infra Rouge.

IV.1.1. Le rendement des huiles essentielles

Le tableau suivant regroupe les rendements en huile essentielle de la *lavande stoechas L* obtenus par les deux méthodes d'extraction.

Rappelons que la méthode 1 est la méthode Clevenger et la méthode 2 correspond à l'hydro-distillation.

Tableau IV.1 : Rendement d'huile essentielle de *lavandula stoechas .I*.

	Méthode 1	Méthode 2
Rendement (%)	0,35	0,34

Les résultats relatifs aux rendements en huile essentielle obtenus par deux des méthodes distinctes montrent que les rendements sont très faibles et ce pour les deux méthodes, néanmoins on constate que le rendement est légèrement plus élevé pour le procédé Clevenger, pour lequel nous avons enregistré une valeur de 0,35%, alors que la méthode 2 a enregistré un rendement de 0,34%.

Ces rendements sont comparables à ceux obtenus par d'autres travaux sur *lavandula stoechas. l*, puisqu'ils se rapprochent de ceux obtenus en 2012 par BENABDELKADER [5], qui a montré que le rendement des huiles essentielles extraits par hydrodistillation à partir de 11 populations de *Lavandula stoechas* poussant à l'état sauvage dans la régions du nord d'Algérie varie entre 0,34% et 1,63%.

Par contre, notre résultat est inférieur à celui obtenu par MOHAMMEDI [60] qui a obtenu des rendements qui varient entre 0,77% à 1,2%.

Ces différences des teneurs en HE peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment : le matériel et la technique d'extraction utilisé et la nature de la plante elle-même et son environnement (espèce, période de récolte, température, humidité, climat, type de sol).

IV.1.2. Propriétés organoleptiques

La détermination des propriétés organoleptiques est une étape nécessaire de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Les paramètres organoleptiques de nos échantillons des HE de *Lavandula stoechas L* sont présentés dans le **Tableau IV.2**

Tableau IV.2 : Propriétés organoleptiques de l'essence aromatique de *Lavandula stoechas L*.

Propriétés	Aspect	Couleur	Odeur
Méthode 1	Liquide mobile, limpide	Jaune	Odeur caractéristique légèrement camphré
Méthode 2	Liquide mobile, limpide	Jaune	Odeur caractéristique légèrement camphré
AFNOR (2000) [61]	Liquide mobile, limpide	Jaune claire	Odeur caractéristique de lavande, très légèrement camphré

On remarque d’après le tableau des résultats que les deux extraits en HE par les deux méthodes ont les mêmes propriétés. Ces propriétés organoleptiques de nos échantillons sont aussi en accord avec celles énumérées par la norme AFNOR (2000) [61].

IV.1.3 Analyse des caractéristiques physico-chimiques

Les huiles essentielles sont caractérisées par leurs propriétés physiques (indice de réfraction, pH, densité...) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d’acide). Les résultats des analyses physico-chimiques de l’HE de *Lavandula stoechas L* sont résumés dans le **Tableau IV.3**.

Tableau IV.3 : Caractéristiques physico-chimiques de l’HE de *Lavandula stoechas L*.

	Indice de réfraction	Indice d’acide	Densité	pH
Méthode 1	1,4824	2,00	0,951	5
Méthode 2	1,4724	2,10	0,944	5
[47]	1,488 1,486 1,468	3,37 3,37 3,74	0,874 0,881 0,813	/
[52]	1,471	/	0,946	/

Selon les résultats du **Tableau IV.3**, on note que :

- **L’indice de réfraction :**

L’indice de réfraction a été calculé à la température de 24,7°C à l’aide d’un réfractomètre d’Abbe. Les valeurs obtenues par les deux méthodes sont différentes et supérieures à l’indice de réfraction de l’eau (1,333). Les résultats obtenus dans notre étude sont conformes et en accord à ceux rapportés par des travaux antérieurs [47, 52].

L’indice de réfraction varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice plus élevé [62].

- **L'indice d'acide :**

D'après les résultats du tableau, on peut constater que les valeurs d'indice d'acide des huiles obtenues par les deux méthodes sont très proches ou quasiment identiques. Cependant, nos résultats demeurent inférieurs à ceux obtenus par une autre étude [47].

Il est connu que pendant la période de stockage, l'huile essentielle peut subir des dégradations telles que l'hydrolyse des esters provoquant ainsi des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température. En effet, des indices élevés montrent que l'huile essentielle est instable et a subi une oxydation inquiétante. Car l'huile en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide [62].

- **La densité :**

La densité des HEs obtenues dans notre travail ont été déterminées par le rapport entre la masse d'un volume de notre huile et la masse du même volume d'eau distillée pris à la même température. Nous avons remarqué que la densité des HEs obtenues par les deux méthodes d'extraction est inférieure à la densité de l'eau distillée qui est égale à 1, donc nos huiles sont moins denses que l'eau. Ces résultats de densité ont été comparés aux résultats obtenus par M. SAID ET N. TOBJI [54] où l'on trouve que ces valeurs sont très proches et conformes. Alors que ces derniers sont supérieurs aux résultats obtenus par K. BOURKACHE ET S. RAMDANI. [47] qui ont montré que la densité des huiles essentielles extraites par hydro-distillation à partir de 3 population de *lavandula stoechas .l* d'Algérie varie entre 0,813% et 0,881%.

Cette différence dans la densité peut être liée à la technique d'extraction utilisée, les conditions opératoires, la conservation et la saison de la récolte.

- **Le pH :**

Le pH de l'huile extraite par la méthode 1 est identique à celui de la méthode 2 et ils sont tous les deux inférieurs à 7, ce qui signifie que le pH est acide pour les deux huiles.

Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant dans les réactions chimiques et biochimiques et il peut influencer sur les propriétés de stabilisation d'une huile essentielle (effets antioxydant et antimicrobien). Par conséquent, ce résultat peut conduire à conclure que nos huiles ont un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes, cela permettra éventuellement d'utiliser ces HEs en qualité de conservateurs dans les produits alimentaires.

IV.1.5. Analyse chromatographique sur couche mince CCM

Les résultats de l'analyse par CCM de l'huile essentielle extraite de *lavandula stoechas.l* par les deux méthodes d'extraction sont résumés dans le tableau et les figures suivants. Il s'agit des informations sur les facteurs de rétention (R_f) des constituants chimiques et leur comportement à la lumière UV (254 nm).

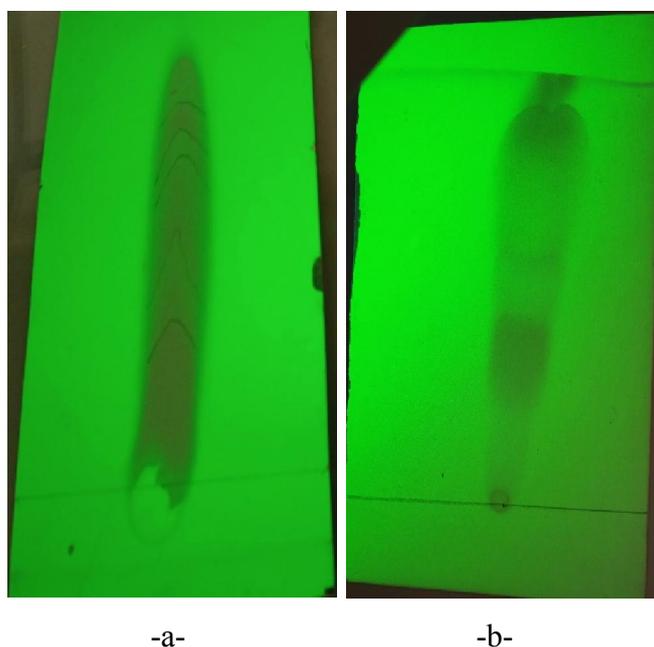


Figure IV.1 : Résultats de l'analyse CCM pour les deux méthodes réalisées.

(a) : Méthode 01, (b) : Méthode 02

Tableau IV-4 : Résultat de l'analyse par la CCM.

Facteur de rétention	R_{f1}	R_{f2}	R_{f3}	R_{f4}	R_{f5}
R_f (cm)					
Méthode 1	0,23	0,44	0,64	0,75	0,83
Méthode 2	0,23	0,45	0,65	0,73	0,84

Les chromatogrammes obtenus montrent des taches très évidentes, les deux huiles ont 5 taches avec des facteurs de rétention (R_f) différents, ce qui nous amène à conclure que l'huile de *lavandula stoechas.l* constituées de plusieurs composants.

La richesse de la composition de ces deux échantillons réside dans Le chromatogramme obtenu dans cette étude.

La comparaison entre les résultats des chromatogrammes montre :

– Les huiles essentielles des méthodes ont les mêmes taches d’après les rapports frontaux R_f , ce qui indique que ces huiles contiennent les mêmes composés chimiques et peut être une différence de pourcentage.

-Les cinq taches qui apparaissent indiquent la présence de 5 espèces chimiques majeures.

- Les composés majoritaires pourraient être : Acétate de linalyl, α -Pinène, Linalool, camphre et 1,8 cinéol(Eucalyptol).

IV.1.6. Analyse spectroscopique :

IV.1.6.1. Analyse par spectroscopie IRTF :

Afin de mettre en évidence les groupements fonctionnels constitutifs de l’HE de *lavandula stoechas*. l testée par deux méthodes d’extraction, on a eu recours à la spectrophotométrie à infrarouge IRTF qui est une méthode d’analyse rapide simple et précise.

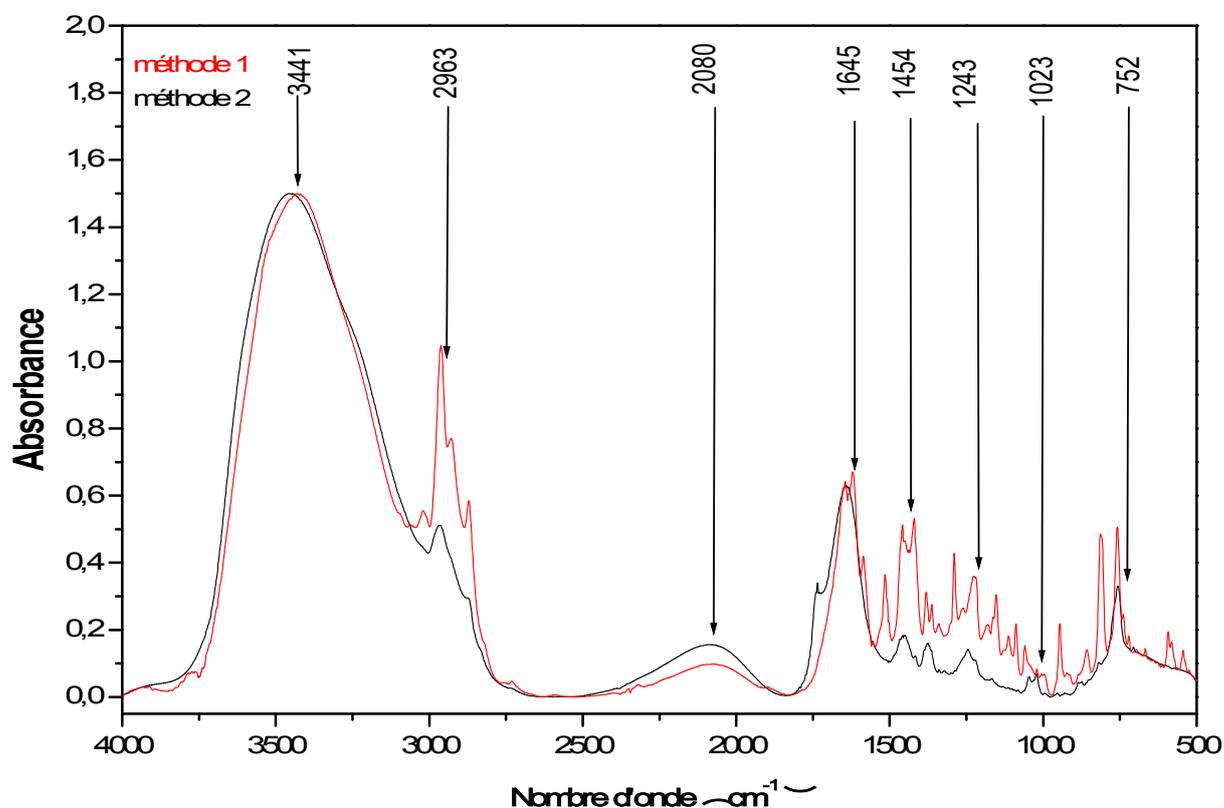


Figure IV.2 : spectres IRTF de l’HE de *Lavandula stoechas*. l enregistré entre 4000 et 500 cm^{-1} .

Les différents groupements observés sont regroupés dans le (Tableau IV.3) suivant :

Tableau IV.5 : Groupement fonctionnelles de l'HE de *Lavandula stoechas L* de spectre IRTF.

Nombres d'ondes	Groupement correspondant	Intensité de méthode 1	Intensité de méthode 2	Fonction ou liaison
3441	O-H	Forte et large	Forte et large	Alcool
2963	C-H	Intense	Faible	Alcane
2080	C≡C	Large et faible	Large et plus faible	Alcyne
1645	C=C	Intense	Intense	Alcène
1454	C=C	Intense	Faible	Aromatique
1243	C-O	Faible	Faible	Esters
1023	C-O	faible	Faible	Ethers / alcool
752	C-H	Intense	Faible	Aromatique

L'observation générale de ces spectre permet de remarquer la présence des plusieurs pics d'absorption dont les plus important sont :

- Une bande forte et large située à 3441 cm^{-1} entre [3000 et 3750] cm^{-1} pour les deux spectres IRTF présent dans la figure, cette bande attribuée à la liaison (**O-H**) d'un alcool lié.
- La partie des spectres allant de 1400 à 1500 cm^{-1} se compose de deux bandes situées à 1454 cm^{-1} avec une différence d'intensité où le pic du spectre d'huile extraite par la

méthode 1 est intense alors que l'autre méthode est faible cette bande attribuée à la liaison (C=C) d'**aromatique**.

- Une bande intense située à 1645 cm^{-1} entre $[1500\text{ et }1840]\text{ cm}^{-1}$ pour les deux spectres, cette bande attribuée à la liaison C=C d'un alcène.
- Elongation de la liaison (C-O) avec une bande entre $[1190\text{ et }1300]\text{ cm}^{-1}$ dans nos spectres, telle que la bande de la méthode 1 est moins faible que celle de la méthode 2. Cette liaison est identifiée à 1243 cm^{-1} qui correspondent aux **esters**.
- Une autre observation montre la présence d'une bande située à 1023 cm^{-1} entre $[1000\text{ et }1070]\text{ cm}^{-1}$ caractéristique de l'élongation de la liaison (C-O) de la fonction **éthers**.
- On peut également remarquer plusieurs autres bandes d'absorption, d'intensité variable entre les deux méthodes attribuées à l'élongation des liaisons (C-H) de la fonction **alcane**, (C≡C) de la fonction **alcyne** et (C-H) de la fonction **aromatique**.

l'analyse IR a relevé que l'HE de *lavandula stoechas.l* a de nombreuses fonctions chimiques qui sont principalement des alcools, des alcanes, des alcènes, des alcynes, des aldéhydes, des éthers, des aromatiques et des esters.

En effet, il est rapporté que l'HE de *lavandula stoechas.l* contient principalement : l'acétate de linalyl, linalool, camphre et 1,8 cinéol (Eucalyptol). Et d'autres autres composés sont présents avec un taux inférieur à 3%. telles que : α -pinène, camphène, acétate de bornyl, acétate de lavandulyl,.....[63].

Cette différence entre les deux spectres pourrait être expliquée par des divers facteurs, notamment : les conditions des procédés (température, humidité, climat...), les matériaux et les techniques d'extraction utilisée, en effet la dégradation de certains de molécules aromatiques et l'interaction avec l'environnement.

IV.1.5.2. Spectroscopie UV visible :

Les spectres d'absorption UV-visible de l'HE de *lavandula stoechas.l* extraite par les deux méthodes sont illustrés à la (Figure IV.3). Les spectres sont enregistrés dans la gamme de longueurs d'ondes de 200 à 600 nm.

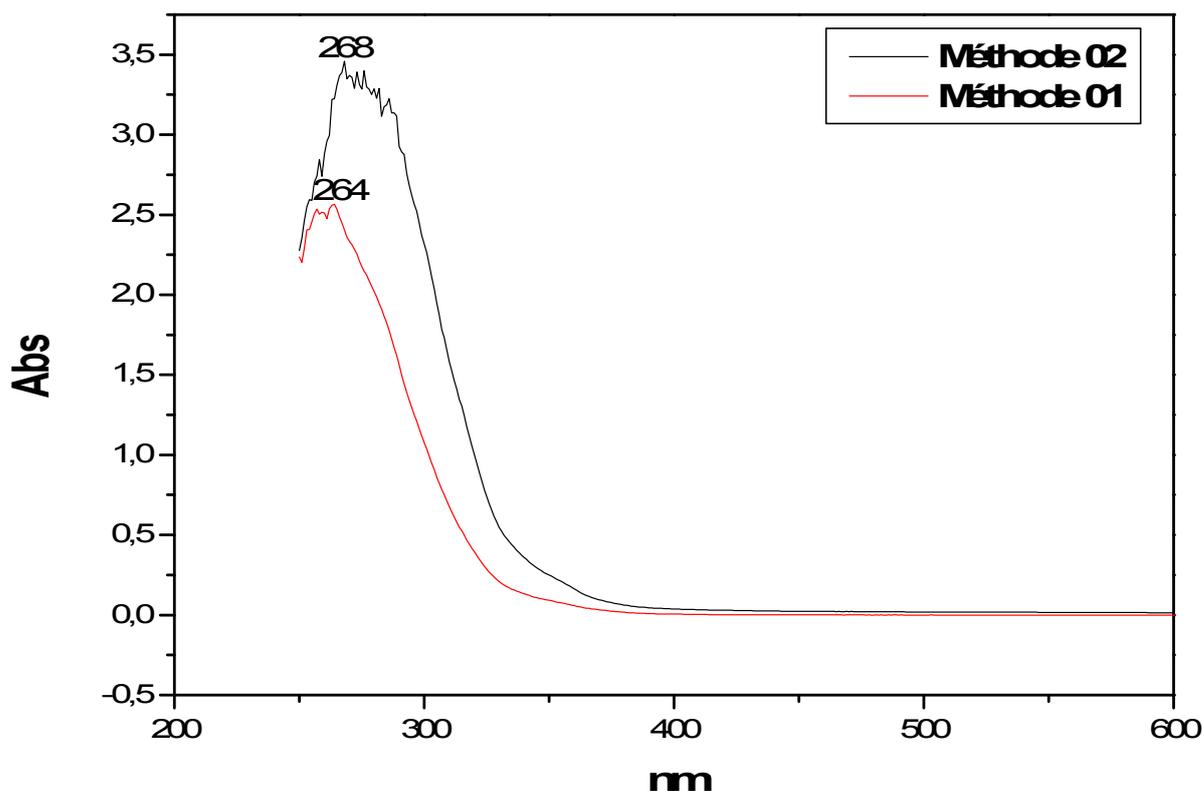


Figure IV.3 : Spectres UV visible de l'HE de *Lavandula stoechas l.*

A noter que ces deux spectres montrent clairement l'apparition de deux bandes d'absorption maximales dans le domaine UV, plus précisément : à 264 et 268 nm pour les méthodes 1 et 2 respectivement, caractéristique de la transition électronique du groupement carbonyle C=O des aldéhydes. Et en effet l'huile essentielle de *Lavandula stoechas L* contient des composés : monoterpènes aldéhydes tels que : aldéhyde de cumin.

PARTIE II :

Application de l'huile essentielle en tant que antifongique

Les résultats des tests réalisés in vitro, de l'activité d'huile essentielle de *lavandula stoechas. l* testée sur la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*, sont représentés dans le **tableau IV.6** et la **figure IV.4**.

Tableau IV.6 : Calcul du diamètre en (mm) de la zone d'inhibition (ZI) pour la champignon *Botrytis cinerea* après 3 jours d'incubation à 24°C.

Concentration (μL)	0	2.5	5	10	20	40
Répétition 1	0	0	0	1.5	2	2.7
Répétition 2	0	0	0	1.2	2.1	2.8
Répétition 3	0	0	0	1.2	2.1	3
Moyenne	0	0	0	1.3	2.06	2.83
Ecart-type	0	0	0	0.17	0.057	0.15

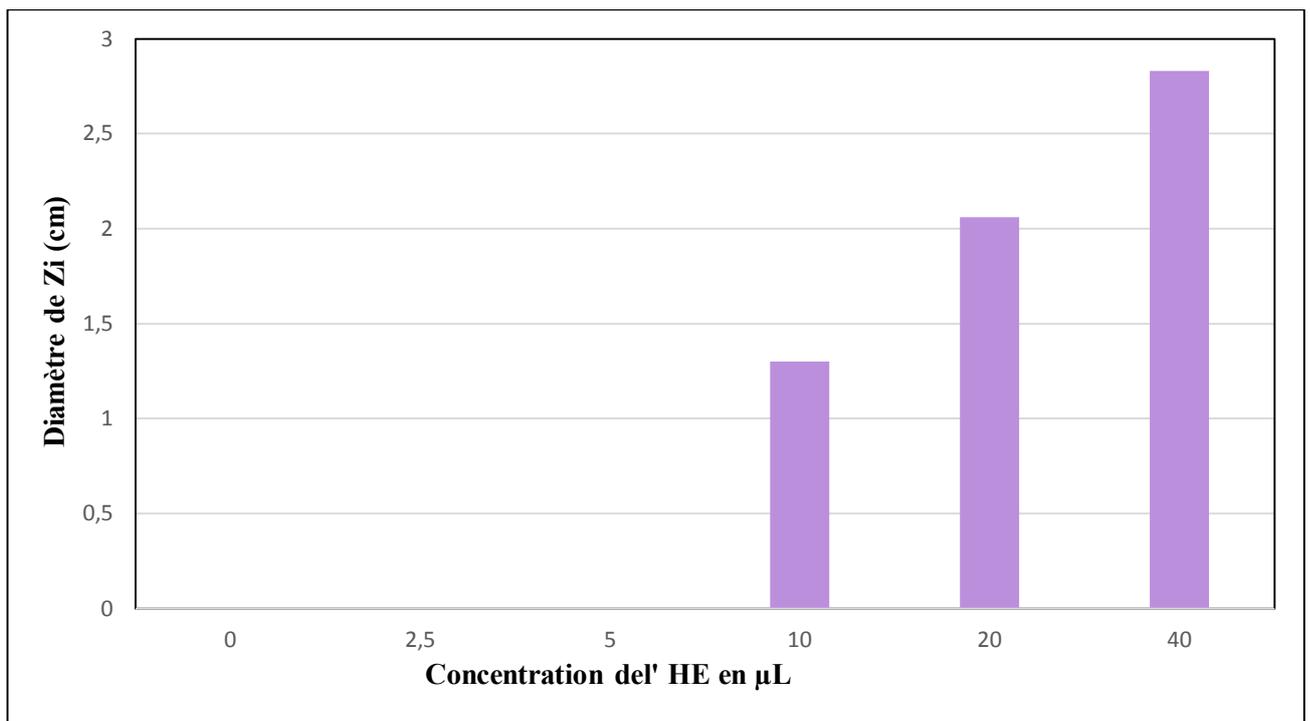


Figure IV.4 : Résultats du test de confrontation par contact direct à travers des disques de *Botrytis cinerea* avec l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*. 1.

Aucun effet inhibiteur de la croissance du champignon *Botrytis cinerea*, a été observée au voisinage du disque au niveau des boites contenant l'huile de la lavande *Lavandula stoechas*, pour la concentration de 2.5 μL et la concentrations de 5 μL , alors que pour les concentrations élevées , le diamètre de la zone d'inhibition est très important, notamment pour la

concentration 40 μ L pour laquelle une inhibition totale de la croissance du champignon a été notée (Figure IV.5).

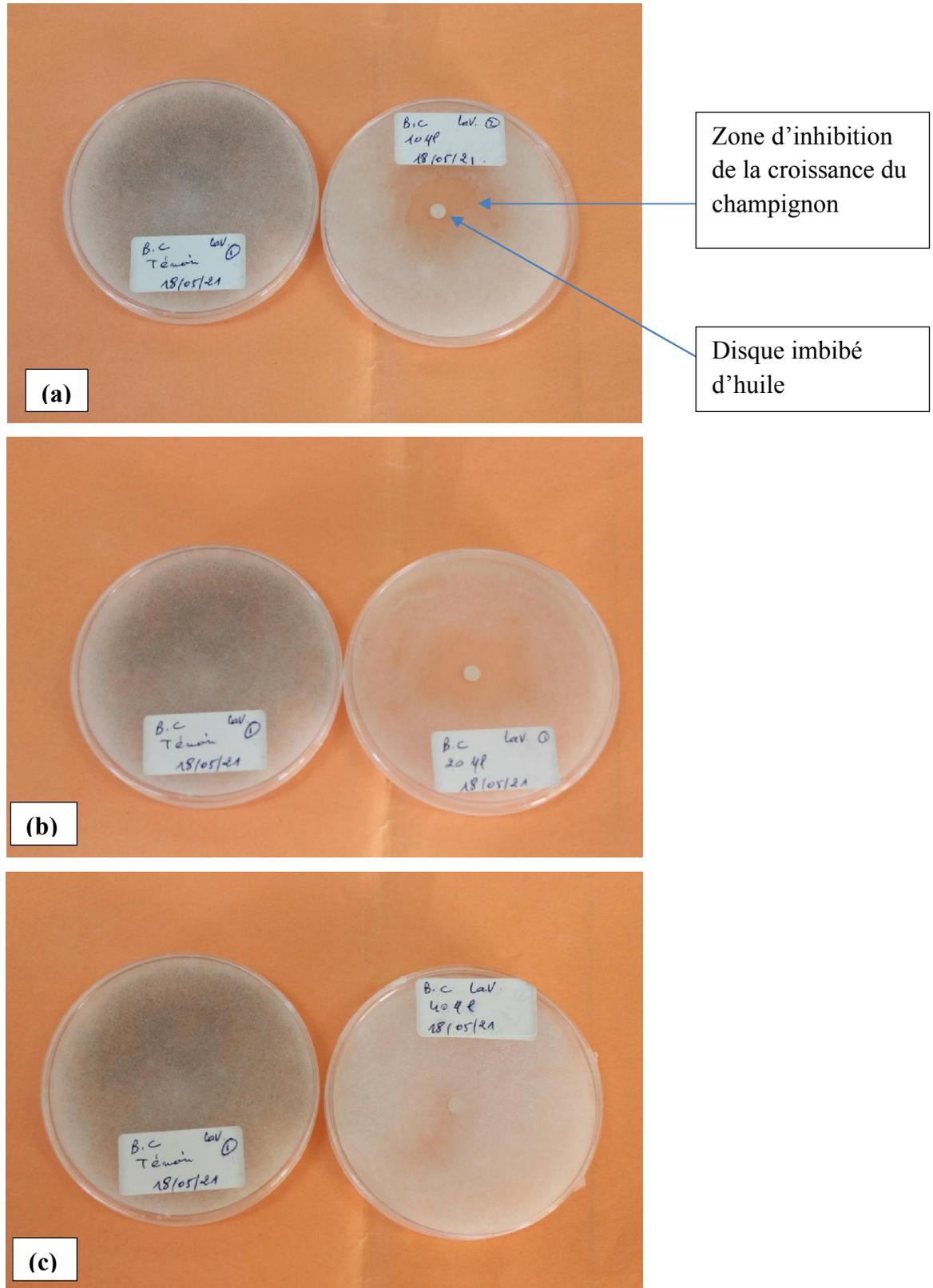


Figure IV.5 : Activité antifongique de l'huile de lavande *Lavandula stochas. l* contre *Botrytis cinerea*

(a) : Résultat de 10 μ L d'huile par disque/ Témoin, (b) : Résultat de 20 μ L d'huile par disque / Témoin et (c) : Résultat de 40 μ L d'huile par disque / Témoin.

Ces résultats nous permettent de dire que l'huile essentielle de *lavandula stoechas.l* a une activité antifongique à l'égard de *Botrytis cinerea* importante.

Conclusion générale

Conclusion générale

Depuis l'antiquité, l'homme exploite les plantes aromatiques et médicinales présentes dans son environnement. Ces plantes sont une immense source de substances et de composés naturels, avec une variété d'activités biologiques (antioxydante, antibactérienne, antifongique, etc.).

Lavandula stoechas. l de la famille des *Lamiacées*, une plante médicinale largement répandue dans le bassin méditerranéen, utilisée pour les propriétés de son huile essentielle qui est un mélange de mono et sesquiterpènes, alcools, esters, oxydes et cétones.

L'idée directrice de notre étude consiste à extraire l'huile essentielle de *Lavandula stoechas. l*, provenant de la région de Guelma, voir l'effet du procédé d'extraction, à déterminer les propriétés physico-chimiques de l'huile extraite, ainsi que l'évaluation de son effet antifongique sur un champignon phytopathogène, l'agent responsable de la pourriture grise chez beaucoup d'espèces végétales (*Botrytis cinerea*).

Les deux méthodes d'extraction utilisées et comparées dans notre travail sont l'hydro-distillation et la méthode Clevenger et les huiles obtenues ont été comparées sur la base des caractéristiques suivantes:

- ✓ Caractères organoleptiques (aspect, couleur et odeur) ;
- ✓ Caractéristiques physico-chimiques (Indice d'acide, indice de réfraction, densité et pH) ;
- ✓ Analyse chromatographique (Chromatographie sur couche mince) ;
- ✓ Analyses spectroscopiques (spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et spectroscopie UV-visible).

De plus, l'évaluation de l'activité antifongique *in-vitro* de l'huile essentielle de *lavandula stoechas. l* sur une espèce de champignon phytopathogène (*Botrytis cinerea*), a été réalisée par la méthode de confrontation directe, par diffusion des huiles à travers des disques de papier Wattman.

Les résultats obtenus ont permis de conclure ce qui suit :

- L'extraction des huiles essentielles par la méthode de Clevenger a donné un rendement en huile essentielle différent de celui de l'hydro-distillation. Le taux optimal est enregistré pour la première méthode avec un rendement de 0.35%.

- Les paramètres organoleptiques et physico-chimiques des huiles essentielles extraites par les deux méthodes, étaient conformes à la norme AFNOR, et sont comparables à ceux d'études antérieurs réalisés sur le même type de plante. Les deux huiles ont présenté beaucoup de similitudes et des différences minimales qui peuvent être attribuées aux conditions opératoires ainsi qu'aux conditions et degré de séchage.
- L'analyse chromatographique par CCM a montré que les deux huiles contiennent les mêmes composés chimiques avec une possible différence dans le taux de chaque espèce chimique. Les composés détectés pourraient être : acétate de linalyl, α -Pinène, linalool, camphre et 1,8 cinéol (Eucalyptol).
- Les analyses spectroscopiques par IR et UV-Visible nous ont permis d'identifier les fonctions organiques présentes dans la composition des huiles essentielles. Nous avons constaté une grande similitude entre les deux huiles avec néanmoins quelques différences qui pourraient être expliquées par l'effet de la méthode d'extraction et ses conditions sur la composition chimique d'HE_s.

Les résultats de l'étude comparative montrent que l'extraction par Clevenger semble plus adaptée pour préserver la composition en volatils des HE_s. A cet effet, l'HE extraite par Clevenger a été utilisée pour la suite de l'étude.

Afin de mieux cerner la composition de l'HE extraite, il est nécessaire de faire appel à des méthodes d'analyses séparatives chromatographiques qui permettront sans doute l'identification réelle des constituants chimiques des huiles essentielles telle que la technique CG/MS, largement utilisée de nos jours.

Les résultats obtenus dans la seconde partie de notre étude relative à l'évaluation de l'activité antifongique de notre huile, ont montré que l'huile essentielle de *lavandula stoechas. l* a enregistré une activité antifongique satisfaisante contre l'espèce fongique étudiée. Des zones d'inhibition de la croissance remarquables ont été notées autour des disques imbibés par l'huile de *lavandula stoechas. l* pour la souche testée *Botrytis cinerea* et ce même avec de faibles concentrations d'HE (40 μ L).

A la lumière de ces résultats, nous pouvons confirmer :

- ✓ L'existence d'un effet notable de la méthode d'extraction utilisée sur la composition phytochimique des HES.
- ✓ L'HE de *Lavandula stoechas. L* offre un potentiel important comme agent antifongique en inhibant la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea*, ce qui permettrait de préserver des

récoltes importantes et réduire des pertes économiques pouvant être engendrés par le pourrissement des fruits et légumes.

A l'issue de cette étude, et comme perspectives, il serait intéressant de :

- ✓ Utiliser des techniques plus précises pour identifier les composants des huiles essentielles.
- ✓ Utiliser la méthode d'extraction par micro-ondes et comparer son rendement avec ceux obtenus dans cette étude.
- ✓ Elargir l'étude sur d'autres champignons phytophages.
- ✓ Elargir la recherche et identifier le pouvoir antimicrobien, ou même insecticide de cette huile.

*Bibliographie
et webographie*

Bibliographie et webographie

- [1]- A. Ben Ramdane, H. Mouloudj. « Extraction et activité biologique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* ». Mémoire de Master. Université de Ain Defla(Algérie), 2019.
- [2]- A. Attou. « Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) étude de leurs activités antioxydante et antimicrobienne ». Thèse de Doctorat. Université de Tlemcen (Algérie), 2017.
- [3]- Schiller, C. et Schiller, D. «The Aromatherapy Encyclopedia: A Concise Guide to Over 385 Plant Oils ». 2008.
- [4]- H. Sahnoune, S. Zebboudj. « Etude des l'extractions d'huile essentielle à partir d'une plante *Mentha rotundifolia L.* de la région de Ain Defla ». Université de Ain Defla (Algérie), 2019.
- [5]]- T. Benabdelkader. « Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composes Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas* Sensu Lato , un Complexe d'Espèces Méditerranéennes d'Intérêt Pharmacologique ». Thèse de Doctorat. De l'Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger (Algérie) et de l'Université Jean-Monnet de Saint-Etienne (France), 2012.
- [6]- M. Aouina, S. Lakhdari. « Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae» . Mémoire de Master. Université de M'sila (Algérie), 2019.
- [7]- M. Midani. « Caractérisation biochimique des feuilles de *Pistacia Lentiscus* ». Mémoire de Master. Université de Mostaganem (Algérie), 2018.
- [8]- Carrasco, Alejandro, Ortiz-Ruiz, Vanessa, Martinez-Gutierrez, Ramiro, et al. *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*, 2015, vol. 73, p. 16-27.
- [9]- N. Kissoum, A. Bouzaraa. « Activité antifongique de l'extrait de l'espèce végétale *Inula viscosa L.* (*Dittrichia viscosa L.*) ». Mémoire de Master. Université de Jijel (Algérie), 2019.
- [10]- Lawless, Julia. *The Encyclopedia of essential oils: the complete guide to the use of aromatic oils in aromatherapy, herbalism, health, and well being.* Conari Press, 2013.
- [11]- Festy, Danièle. *Ma bible des huiles essentielles.* Éditions Leduc. s, 2018.
- [12]- I. Ferdes, N. Saidia . « Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas L.* Et d'*Origanum floribundum* Munby. Sur des agents d'otomycoses : Cas d'*Aspergillus niger* ». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2019.
- [13]- Y. Rehamnia, K. Khlaifia, W. Messiod. «Contribution à l'étude de l'activité acaricide des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* et *Lavandula stoechas L.* contre les tiques de genre *Rhipicephalus sp* ». Mémoire de Master. Université de Guelma (Algérie) , 2015.

- [14]- H. Abbou, W, Benabida. « Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Lavandula stoechas L* ». Mémoire de Master. Université de B.B.A(Algérie), 2017.
- [15]- L. Lakhdar. « Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans* : étude in vitro ». Thèse de doctorat. Université de Rabat (Maroc), 2015.
- [16]- R. Yaacoub, I. Tlidjane. « Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum L*. Et de *Foeniculum* : supercritique extraite par hydrodistillation et CO₂. Vulgare étude comparative ». Mémoire de Master. Université de Oum El Bouaghi(Algérie), 2018.
- [17]- M. Lamamra. « Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula (L.) Parl.* Et de *Filipendula hexapetala Gibb* ». Mémoire de Master. Université de Setif (Algérie).
- [18]- F. Menaceur. « Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier ». Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique El-Harrach –Alger (Algérie),2015.
- [19]- M. Nasri , A. Smati. « Activité antifongique d'huile de cade sur deux champignons pathogènes de la tomate; *Botrytis cinerea* et *Fusariumoxysporum* ». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2017.
- [20]- K, Remmit , R. Hezil. «Activité antifongique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques : *Lavandula stoechas L.*, *Myrtus communis L.*, *Pistacia lentiscus L.* en vue d'une valorisation phytopharmaceutique ». Mémoire de Master. Université de Jijel(Algérie), 2019.
- [21]- I , Laib. « Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs ». Mémoire de Master. Université de Mentouri Constantine (Algérie),2010.
- [22]- H. Hasni, R. Zeghba. « Evaluation de l'effet repulsif de trois huiles essentielles des plantes vis-à-vis de l'insecte des céréales stockées (*Rhizopertha dominica*) ». Mémoire de Master. Université de M'sila (Algérie), 2017.
- [23]- I. Nedjai, S. Nedjai. « Activité antimicrobienne des huiles essentielles». Mémoire de Master. Université de Bejaia(Algérie), 2017.
- [24]- V. Vangelder. « l'aromathérapie dans la prise en charge des troubles de sante mineurs chez l'adulte a l'officine ».Thèse de doctorat. Université de Lille 2 , (France), 2017.
- [25]- A. Abbas. « Evaluation de l'activité antioxydante, Huiles essentielles d'*ammoides verticillata* « noukha » de la région de Tlemcen » . Mémoire de Master. Université de Tlemcen(Algérie), 2014.
- [26]- H. Rakotomalala. « Etude des huiles essentielles de *Cedrelopsis grevei*. Caractérisation–identification des constituants, activités biologiques ». Thèse de Doctorat.université d'Antananarivo, 2004.
- [27]- H. Medjaheri, F. Mehadjri. « Etude du pouvoir antifongique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques (*Lavandula sp.*, *Origanum sp.*, *Salvia officinalis* et *Thymus sp.*)

Vis-à-vis du champignon *Fusarium sp* ». Mémoire de Master. Université de Mostaganem(Algérie), 2020.

[28]- A. Guerrouf. « Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire ». Mémoire de Master. Université de Ouargla(Algérie), 2017.

[29]- https://www.researchgate.net/figure/Figure-n-3-Montage-dentrainement-a-la-vapeur-deau_fig3_265163661.

[30]- <http://tpe-parfum2014.e-monsite.com/pages/a-hydrodistillation-de-l-huile-essentielle-delavande.html?fbclid=iwar29q1mhbu9kx6yjkx3ixq666nmeb0exmrhii9bwdq111qympukwmp0i>.

[31]- https://www.researchgate.net/figure/montage-dhydrodiffusion-Lavantage-de-cette-methode-est-detre-plus-rapide-donc-moins_fig4_325202773.

[32]- R. Deschepper. « variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie ». Thèse de Doctorat. Université d'Aix-Marseille (France), 2017.

[33]- M. Lucchesi. « Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes conception et Application à l'extraction des huiles essentielles ».Thèse de Doctorat. Université de la reunion (France), 2005.

[34]- D. A. Samate. « Compositions chimiques d'huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone saharienne du Burkina Faso: valorisation ». Thèse de Doctorat. Université de Ouagadougou, 2002.

[35]- N. Bousbia. « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants A partir de produits naturels et de co-produits Agroalimentaires ».Thèse de doctorat. L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2011.

[36]-<https://www.hielscher.com/fr/ultrasonic-hydrodistillation-of-essential-oils.htm?fbclid=iwar0bxorr5m7an7lkghow5jinbtfv8qsc5wdpwhezqowgrlcya3wj0rrzytg>.

[37]- Buckle, Jane, Kim, M. J., Han, S. H., et al. Clinical aromatherapy. Churchill Livingstone., 2003.

[38]- https://www.researchgate.net/figure/Extraction-sans-solvant-assistee-par-micro-ondes-SFME_fig9_48908267.

[39]- W. Abdelli. « Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*». Université de Mostaganem (Algérie), 2017.

[40]- J. Laurent. « Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine ». Thèse de Doctorat. Université Paul Sabatier Toulouse III (France) , 2017.

[41]- N. Khedimallah, I. N. Filali. « Etude phytochimique et activités biologiques des deux espèces : *Ocimum basilicum L* et *Lavandula angustifolia Miller*». Mémoire de Master. Université de Constantine(Algérie), 2018.

[42]- F. Belaidi. « Etude de l'activité insecticide et fongicide de l'extrait éthanolique de *Lavandula stoechas L*. ». Mémoire de Master. Université de Bouira (Algérie), 2018.

- [43]- N. Kaibouche, O. Laissaoui. « Essai d'application de l'huile essentielle de la lavande papillon (*Lavandula stoechas L.*) Sur ses activités biologiques (antimicrobienne et insecticide). Mémoire de Master. Université de Blida(Algérie), 2016.
- [44]- H. Rahou .« Estimation quantitative des polyphénols totaux et évaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de Lavandula de la région de Tlemcen ». Mémoire de Master. Université de Tlemcen(Algérie), 2017.
- [45]- N. Hafiane, D. Ounnas. « Contribution à la recherche de l'effet indésirable (hémolytique) de la patrie aérienne des trois plantes médicinales in vitro *Origanum Vulgare*, *Lavandula Steochas* et *Ammoides verticillata* ». Mémoire de Master. Université de Oum El Bouaghi(Algérie), 2018.
- [46]- F. Menaceur. « Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles et extraits du romarin (*Rosmarinus eriocalyx*) et de la lavande (*Lavandula stoechas*). Mémoire de Magister. école nationale supérieure agronomique El-Harrach –Alger (Algérie), 2012.
- [47]- K. Bourkache, S. Ramdani. « Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et des tanins extraits de *lavandula stoechas* ». Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou (Algérie), 2016.
- [48]- F. Amani. « Extraction et dosage de trois classes de flavonoïdes de la lavande (*Lavandula stoechas L.*). Estimation de l'effet insecticide de la poudre des feuilles sur les adultes de *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) ». Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou(Algérie), 2016.
- [49]- J. Mammar. « Extraction et dosage des polyphénols totaux de la lavande (*Lavandula stoechas L.*). Evaluation de leurs activités antibactériennes vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Estimation de l'effet insecticide de la poudre des feuilles sur les adultes de *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) ». Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou (Algérie), 2015.
- [50]- S. Boulahia, M. Kahleras, F. Chenikher.«Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne des deux plantes *Lavandula stoechas* et *Lavandula officinalis* ». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2020.
- [51]- Z. Boutefaha. « Effets de la quercétine, de la flavone et de l'extrait méthanolique de *Lavandula stoechas L.* Sur la motilité gastro-intestinale chez le lapin et la souris». Thèse de Magister. Université de Setif(Algérie), 2010.
- [52]- R. Loukhaoukha. « Extraction, identification et caractérisation de quelques métabolites secondaires de *lavandula stoechas* et effets biologiques ». Thèse de doctorat. Université de Blida(Algérie), 2019.
- [53]- S. Belmiloud, H. Boudali. « Essai d'amélioration de la résistance auto-oxydative et photo oxydative de l'huile « FLEURIAL » par incorporation des feuilles de Romarin et de la lavande ». Mémoire de Master. Université de Tizi-Ouzou(Algérie), 2015.
- [54]- M. Saidi, N. Tobji . « Evaluation de l'activité antibactérienne de combinaisons d'huiles essentielles et d'antibiotiques. ».Mémoire de Master. Université de Bejaia (Algérie), 2016.
- [55]- G. Audrey. « Lavandes et lavandin, utilisation en aromathérapie. Enquête auprès des pharmaciens d'officine. ». Thèse de Doctorat. Université De Bordeaux (France), 2016.

- [56]- M. Rabiai . « Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'*Eucalyptus globulus* de la région M'sila ».Mémoire de Master. Université de M'sila(Algérie), 2014.
- [57]- R. Bettahar. « Extraction des huiles essentielles Analyse par FT-IR et UV Visible».Mémoire de Master. Université de Mostaganem(Algérie), 2015.
- [58]- https://www.agro.basf.fr/Pictures/pictures_fr/cultures_legumieres/maladies_des_legumes/fraise_botrytis_1540x866.jpg.
- [59]- W. H. Boudjehem. « Etude de l'activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles pour le contrôle des agents phytopathogènes». Mémoire de Master. Université de Guelma(Algérie), 2019.
- [60]- Chekoual Lilia, Aissat Abdelkader, Ait-Kaci Aourahoun Karima & Benabdelkader Tarek (2018) The Effect of Ultrasound Pre-treatment on the Yield, Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil from Wild Lavandula stoechas L., Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21:1, 253-263.
- [61]- AFNOR. « Recueil de normes » : les huiles essentielles Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles. AFNOR. Paris (France). 661-663, 2000.
- [62]- O. Arar, T. Ghouma. « Extraction et Caractérisation physico_chimique et biologique des huiles essentielles extraits à partir d'une plante médicinale (Cotula cineria) de la région d'El oued». Université d'el-Oued. (Algérie), 2019.
- [63]- F. Benkebailli, A. Houche. «Valorisation de la fraction Aromatique de la Lavande Papillon (Lavandula stoechas) en Dermopharmacie ». Mémoire de Master. Université de Blida(Algérie), 2017.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'extraire l'huile essentielle des feuilles et des fleurs du *Lavandula stoechas.L* par deux méthodes d'extraction (méthode de type Clevenger et par hydro-distillation) et sa caractérisation physico-chimique par différentes techniques. Les résultats ont confirmé la bonne qualité de notre huile et sa conformité avec les normes standards. L'huile essentielle extraite par la méthode de Clevenger a été utilisée pour étudier son effet antifongique sur le champignon *Botrytis cinerea*. L'évaluation de cet activité confirme que cette huile a une pouvoir très important contre la souche étudiée avec des diamètres des zones d'inhibition (ZI) significatifs même à de faibles concentrations en HE. Cette étude démontre que la plante étudiée possède une activité biologique considérable et un grand potentiel pour la lutte contre les champignons ravageurs.

Abstract

The objective of this work is to extract the essential oil from the leaves and flowers of the *Lavandula stoechas.L* by two extraction methods (Clevenger method and by hydro-distillation) and its physico-chemical characterization by several technics. The results have confirmed the good quality of our oil and its conformity with the standards. The essential oil extracted by the Clevenger method was used to study its antifungal effect on the fungus *Botrytis cinerea*. The evaluation of this activity confirms that the potency of this oil is very important against the strain of *Botrytis cinerea* with significant inhibition zone (IZ) diameters even at low concentrations of EO. This study demonstrates that the studied plant has a considerable biological activity and an important potential for controlling pest fungi.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو استخراج الزيت الأساسي من أوراق وأزهار من لافاندولا ستويكاس بطريقتين (طريقة Clevenger والتقطير المائي) بالإضافة إلى دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية بواسطة تقنيات مختلفة. أكدت النتائج جودة نوعية الزيت المستخلصة و مطابقتها للمعايير المتعارف عليها.

تم استخدام الزيت الأساسي المستخرج بطريقة Clevenger لدراسة تأثيره كمضاد فطري ضد فطر من نوع *Botrytis cinerea*. يؤكد تقييم هذا النشاط فعالية هذا الزيت الأساسي ضد النشاط الفطري و بأقطار كبيرة من مناطق التثبيط حتى عند استعمال تركيزات ضعيفة من الزيت. توضح هذه الدراسة أن النبات المدروس يمتلك نشاطاً بيولوجياً مهماً و لديه القدرة في التحكم في أفات الفطريات.

Mots Clés

Lavandula stoechas.L, huile essentielle, extraction, effet antifongique, champignon, *Botrytis cinerea*