



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de

la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ D'ELOUED



FACULTE DES SCIENCES ET DE LA TECHNOLOGIE

N° d'ordre :

N° Série :

Mémoire de fin d'étude

Présenté pour l'obtention du diplôme de

LICENCE ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie organique

Présenté par :

BEN MOUSSA ZOHRA

MEISSA FATMA

Thème :

**Etude Chromatographique et biologique de
l'huile essentielle de lavande**

Devant le jury :

Président : Mr. OUCHE Rachid

Discussion: Mr. KHIOUANI Adel

Encadreur: Mr. BEN MOUSSA Mohamed taher

Année Universitaire : 2012/2013

SOMMAIRE

SOMMAIRE

Titre	Page
Introduction	
Partie théorique	
I.1. Bref historique	01
I.2. Définition des huiles essentielles	02
I.3. Localisation	02
I.4. Propriétés physico-chimiques	02
I.5. Composition chimique	03
I.5.1. Terpénoïdes	03
I.5.1.1. Composés aromatiques	11
I.5.1.2. Composés d'origines diverses	13
I.6. Méthodes d'extraction	16
I.6.1. Enfleurage et Macération	16
I.6.2. Expression	16
I.6.3. Distillation : Hydrodistillation	16
I.6.4. L'entraînement à la vapeur sèche	17
I.6.5. L'extraction aux solvants volatils	17
I.6.6. L'extraction au CO ₂ supercritique	17
I.6.7. Extraction assistée par Micro-Onde	18
I.7. Toxicité des huiles essentielles	18
I.8. Activités biologiques des huiles essentielles	19
I.8.1. Activité antioxydant	20
I.8.2. Activité antibactérienne	20
I.8.3. Activité antifongique	21
I.9. Le couplage Chromatographie Phase Gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)	23

Partie pratique	
Objectif	24
Chapitre I : MATERIELS ET METHODES	
I.1. Matériels	
I.1.1. Matériel végétal	25
I.1.1.1. Description de la plante	25
I.1.1.2. La classification de cette plante est la suivante	25
I.1.2. Matériels de laboratoire	26
I.2. Méthodes	28
I.2.1. Méthodes botaniques	28
I.2.2. Méthode physicochimique	30
I.2.3. Extraction et dosage de l'HE	32
I.2.4. La couleur	33
I.2.5. Odeur	33
I.2.6. Densité	34
I.2.7. Indice de réfraction	34
I.2.8. Indice de polarisation	36
I.2.9. Chromatographie sur couche mince	37
I.2.9.1. Définition et principe de la CCM	37
I.2.9.2. Mode opératoire	39
I.2.10. CPG-SM	39
I.2.11. Aromatogramme	41
I.2.11.1. Préparation des disques	41
I.2.11.2. Préparation des milieu de culture	41
I.3. Inoculum	41
I.4. Ensemencement	42
I.5. Application des disques	42
I.6. Incubation	42
Chapitre II: RESULTATS ET DISCUSSION	

II.1. Résultats	43
II.1.1. Résultats botaniques	43
II.1.2. Méthode physicochimique	46
II.2. Discussion	57
II.2.1. Discussion botaniques	57
II.2.2. Méthode physicochimique	57
II.2.3. Extraction	57
II.2.4. Densité	58
II.2.5. Indice de réfraction	58
II.2.6. Indice de polarisation	58
II.2.7. CPG-SM	58
II.2.8. Aromatogramme	59
Conclusion	60
Références bibliographiques	
Annexes	
Resume	

LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

%	Pourcentage
° C	Degré CELSIUS
MI	Microlitre
AFNOR	la norme de l'Association Française de Normalisation
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
HE	Huile essentielle
UV	Ultra-violet visible
CCM	Chromatographie sur couche mince
Rf	Le facteur de retardement
SM	Spectroscopie de masse

LISTE DE FIGURES

Numéro	Titre	Page
Fig(I-1)	photo de la plante Lavandula officinalis	30
Fig(I-2)	Chromatographie sur couche mince	42
Fig(I-3)	Poil tecteur	49
Fig(I-4)	Grain de pollen	49
Fig(I-5)	Petale avec cellule en papillon	50
Fig(II -6)	Le chromatogramme l'HE de la lavande CPG-SM	52
Fig(II -7)	Les spectres de masse de 3-CARÈNE ; 13466-78-9	54
Fig(II -8)	Les spectres de masse de CAMPHÈNE ; 5794-03-6	54
Fig(II -9)	Les spectres de masse de BÊTA-PHYLLANDRÈNE ; 555-10-2	55
Fig(II-10)	Les spectres de masse de ALPHA-PINÈNE ; 80-56-8	55
Fig(II-11)	Les spectres de masse de D-LIMONÈNE ; 5989-27-5	55
Fig(II-12)	Les spectres de masse de EUCALYPTOL ; 470-82-6	56
Fig(II-13)	Les spectres de masse de LINALOOL OXIDE TRANS ; 23007-29-6	56
Fig(II-14)	Les spectres de masse de SANTOLINA TRIÈNE ; 2153-66-4	56
Fig(II-15)	Les spectres de masse de CAMPHRE ; 76-22-2	57
Fig(II-16)	Les spectres de masse de BORNÉOL ; 507-70-0	57
Fig(II-17)	Les spectres de masse de ALPHA-TEROINÉOL ; 10482-56-1	57
Fig(II-18)	Les spectres de masse de CYCLOPENTA[C] PYRAN-1, 3-DIONE, 4, 4A, 5, 6-TETRAHYDRO-4, 7-DIMETHYL; 66407-26-9	58
Fig(II-19)	Les spectres de masse de DIPENTÈNE 138-86-3	58
Fig(II-20)	Les spectres de masse de BICYCLOOCTANE	58

	METHYLÈNE; 54211-15-3	
Fig(II-21)	Les spectres de masse de CARYOPHYLLÈNE; 87-44-5	59
Fig(II-22)	Les spectres de masse de ALPHA-FARNESÈNE ; 502-61-4	59
Fig(II-23)	Les spectres de masse de ISOLEDÈNE ; N.A	59
Fig(II-24)	Les spectres de masse de ISOCARYOPHILLÈNE ; N.A.	60

LISTE DES TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau (II-1)	Les constituants de <i>l'HE</i>	53
Tableau (II-2)	Représentés les résultats obtenus	61
Tableau (II-3)	La qualite de l HE ne répond pas aux normes exigees par la pharmacopee europeenne.	63

INTRODUCTION

INTRODUCTION

La phytoaromathérapie est la plus vieille thérapeutique du monde. Elle a toujours existé puisque les plantes n'ont jamais cessé d'être utilisées comme plantes condimentaires, médicinales et rituelles (thym, estragon, basilic, lavande).

Par opposition aux drogues obtenues par synthèse chimique ou par extraction des principes actifs, la phytoaromathérapie est la médecine naturelle par excellence. La structure d'une huile essentielle est complexe et ne possède jamais une seule propriété thérapeutique mais bien plusieurs. Il existe dès lors, des possibilités de synergie et de potentialisation qui permettent une individualisation de la thérapeutique.

Il ne s'agit pas d'opposer le "tout chimique" contre le "tout naturel". Les substances chimiques de synthèse ont permis des résultats exceptionnels que tout le monde reconnaît. Ces succès brillants furent à l'origine de l'oubli des plantes médicinales pendant de nombreuses années.

Mais l'action brutale et brève des drogues chimiques, les effets recherchés souvent dépassés et les effets secondaires fréquents expliquent la désaffection du public pour les médicaments allopathiques classiques. Aussi, après le "raz-de-marée" chimiothérapeutique et dans un contexte général d'écologie, les patients aspirent à des médicaments certes efficaces mais plus simples et plus naturelles. Cette tendance très actuelle est la raison principale du renouveau d'une phytoaromathérapie scientifique crédible.

L'utilisation à bon escient des huiles essentielles (le terme "essence" utilisé autrefois est aujourd'hui définitivement abandonné) peut faire merveille, et dans des cas où d'autres thérapeutiques ont échoué. A l'inverse, leur ingestion anarchique peut exposer à des incidents lourds de conséquences. Dans le doute, adressez-vous selon le cas à votre pharmacien, médecin ou aromatologue averti. Il saura vous conseiller utilement.

Les huiles essentielles de composition chimique très souvent complexe constituent des médicaments réactives, puissantes et d'une richesse thérapeutique insoupçonnée qui laisse augurer un avenir prometteur.

Ce fascicule présente l'huile essentielle de lavande officinale. Elle nous offre la période de récolte pour le meilleur rendement en huile essentielle ainsi que quelques propriétés physico-chimiques, et les doses pour les quelles l'huile essentielle est doué d'activité anti-microbienne. Les doses préconisées, fruit d'une expérience faite au niveau de laboratoire de microbiologie au niveau de faculté de médecine, paraîtront dérisoires aux yeux de certains. Respectez donc scrupuleusement les doses prescrites. Un excès n'apporterait rien de plus sur le plan thérapeutique mais pourrait, au contraire, causer des effets indésirables.

PARTIE
THEORIQUE

I. 1. Bref historique

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. [2] Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines: parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques.

Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique. Parallèlement, leur utilisation a aussi tiré profit de l'avènement de l'aromathérapie. René-Maurice GATTEFOSSE a créé, en 1928, le terme de l'aromathérapie et il a mené de nombreux travaux concernant les huiles essentielles, notamment leurs propriétés; ces résultats seront à l'origine de nombreuses autres recherches.[2]

I.2. Définition des huiles essentielles

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme: « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. [2]

I.3. Localisation

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes fleurs (origan), feuilles (citronnelle, eucalyptus), écorces (cannelier), bois (bois de rose, santal), racines (vétiver), rhizomes (acore), fruits (badiane) ou graines (carvi). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles, classées parmi les métabolites secondaires, se font généralement au niveau des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur la surface de la plante. Par exemple, pour la famille des *Lamiaceae*, elle se situe dans les poils sécréteurs, chez les *Myrtaceae* au niveau des poches sécrétrices ou encore des canaux sécréteurs pour les *Asteraceae*. [4]

I.4. Propriétés physico-chimiques

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène. Les principales caractéristiques sont [5] [6]:

- Liquides à température ambiante .
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes .
- Volatiles et très rarement colorées.

Partie théorique

- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse .
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau .
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques .
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air. [6]

I.5. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et éminemment variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Elles peuvent également renfermer divers produits issus d processus dégradatifs mettant enjeu des constituants non volatils.

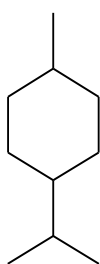
I.5 .1. Terpénoïdes

Dans le cas des huiles essentielles, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée : mono- et

Partie théorique

sesquiterpènes. On a vu précédemment comment la haute réactivité des espèces cationiques intermédiaires explique la variété structurale : plusieurs milliers de composés ont été décrits dans ces deux séries. [7]

➤ **Monoterpènes:** Les carbures sont presque toujours présents.



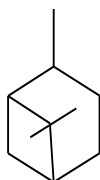
Pinane

1-isopropyl-4-methylcyclohexane

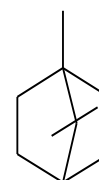


Bornane

1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexane



Menthane

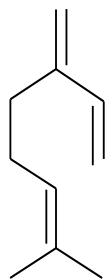


Thuyane

↪ **Les carbures**

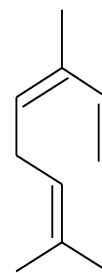
Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimènes)

Partie théorique



Myrcène

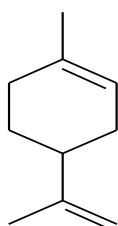
7-methyl-3-methylenoocta-1,6-diene



Ocimènes

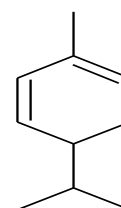
(Z)-3,7-dimethylocta-1,3,6-triene

Monocycliques (limonène, phellandrène)



Limonène

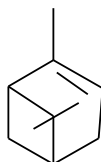
1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-1-ene



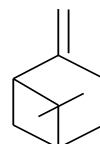
Phellandrène

5-isopropyl-2-methylcyclohexa-1,3-diene

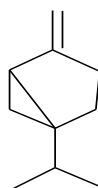
ou bicycliques (pinènes, Δ^3 -carène, camphène, sabinène).



α et β Pinène



Partie théorique



Sabinène

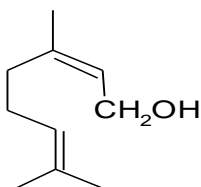
1-isopropyl-4-methylenebicyclo[3.1.0]hexane

Ils constituent parfois plus de 90 % de l'huile essentielle (*Citrus*, térébenthines).

La réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules fonctionnalisées :

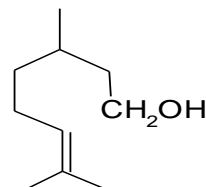
↪ Alcools :

Acycliques (gérianiol, linalol, citronellol)



Géraniol

(Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-ol

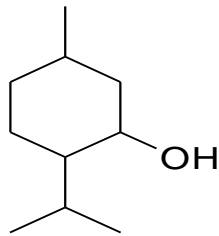


Citronellol

3,7-dimethyloct-6-en-1-ol

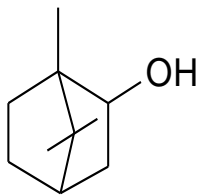
Partie théorique

Monocycliques (menthol, α -terpinéol, terpin-1-én-4-ol)



Menthol

Bicycliques (bornéol, fenchol)

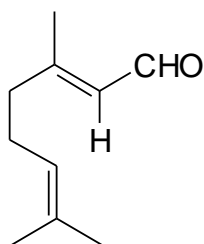


Bornéol

↳ **Aldéhydes** : le plus souvent;

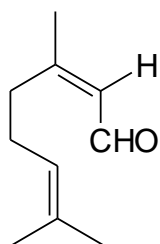
Acycliques (géranial, néral, citronellal)

Partie théorique



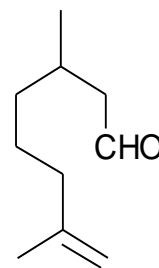
Géraniol

(E)-3,7-dimethylocta-2,6-dienal



Nérol

(Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dienal

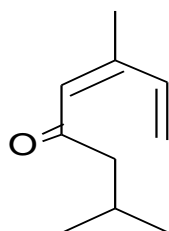


Citronellal

3,7-dimethyloct-7-enal

↪ Cétones :

Acycliques (tagétone)

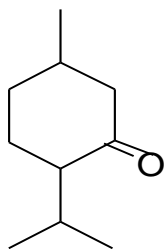


Tagétone

(Z)-2,6-dimethylocta-5,7-dien-4-one

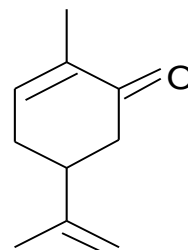
Monocycliques (menthone, isomenthone, carvone, pulégone)

Partie théorique



Menthone

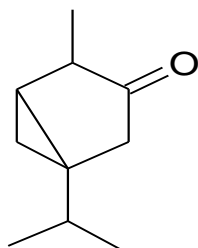
2-isopropyl-5-methylcyclohexanone



Carvone

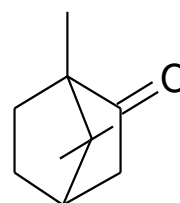
2-methyl-5-(prop-1-en-2-yl)cyclohex-2-enone

bicycliques (camphre, fenchone, thuyones) ;



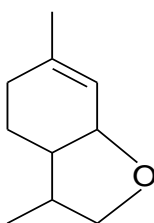
thuyone

1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hexan-3-one

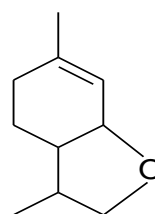


Camphre

↪ **Ethers** : 1,8-cinéole (on dit aussi eucalyptol), *dill-éther*



1,8-Cinéole



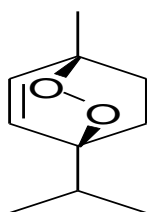
Dill-éther

2,3,3a,4,5,7a-hexahydro-3,6-dimethylbenzofuran

Partie théorique

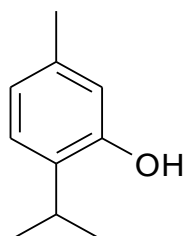
mais aussi les éthers cycliques, tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui, pour certains, jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxydes de linalol, oxydes de rose) ; [8]

↳ **Peroxydes:** Ascaridole



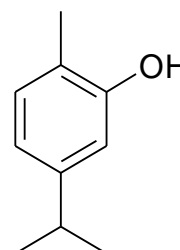
Ascaridole

↳ **Phénols :** thymol, carvacrol.



Thymol

2-isopropyl-5-methylphenol



Carvacrol

5-isopropyl-2-methylphenol

↳ **Esters :** acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle, acétate d'a-terpinyle), bicycliques (acétate d'isobornyle).

Partie théorique

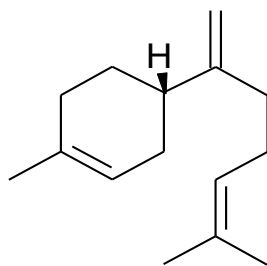
Lorsque la molécule est optiquement active — ce qui est presque toujours le cas, la proportion des deux énantiomères varie considérablement selon l'espèce végétale considérée. L'un des deux peut être très largement majoritaire, voire pratiquement seul (i.e. > 99 %) : (-)-A³-carène de la fraction volatile de l'oléorésine de poivre noir, (+)-A³-carène de l'huile essentielle de térébenthine, (+)-(S)-linalol majoritaire de la coriandre, (-)-(R)-linalol presque pur du basilic et de la lavande, linalol presque racémique de fruit de la passion ; (+)-(S)-terpin-1-én-4-ol presque pur de la lavande, (-)-R)-terpin-1-én-4-ol prépondérant de *Eucalyptus globulus*, etc.

➤ Sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents. Il convient de remarquer que l'allongement de la chaîne (FPP) accroît le nombre des cyclisations possibles, d'où la très grande variété des structures connues (plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits). On trouvera ci-contre quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles : [9]

↪ **Carbures mono-ou polycycliques** (B-bisabolène, P-caryophyllène, longifolène)

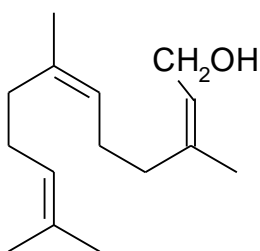
Partie théorique



B-bisabolène

1-methyl-4-(5-methyl-1-methylidenehex-4-en-1-yl)cyclohexene

↪ **Alcools** (farnésol, carotol, p-santalol, patchoulol),

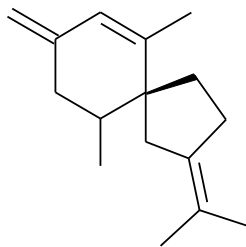


Farnésol

(2*E*,6*Z*)-3,7,11-trimethyldodeca-2,6,10-trien-1-ol

↪ **Cétones** (nootkatone, c«-longipinane-2,7-dione,B-vétivone),

Partie théorique

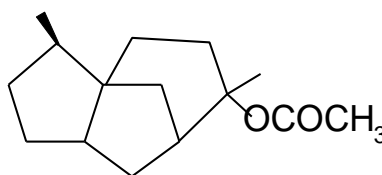


B-vétivone

6,10-diméthyl-2-(1-méthylethylidène)-8-méthylidènespiro[4.5]déc-6-ène

↪ **Aldéhydes** (sinensals).

↪ **Esters** (acétate de cédryle).



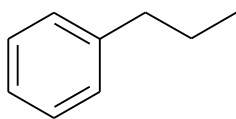
Acétate de cédryle

(2*R*)-2,8-diméthyltricyclo[5.3.1.0^{1,5}]undéc-8-yl acetate

I.5.1.1. Composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyl- et propénylphénols, parfois

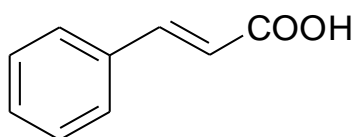
Partie théorique



Phénylpropane

1-propylbenzene

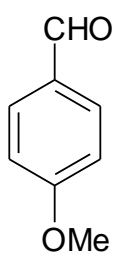
Des acides des (acide cinnamique de baumes de Pérou, de Tolu et de Benjoin)



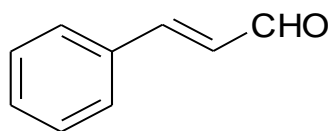
Acide cinnamique

cinnamic acid

Aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles (anisaldéhyde , cinnamaldéhyde et la vanilline)

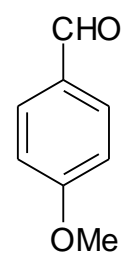


Anisaldéhyde



Cinnamaldéhyde

(cannelle)



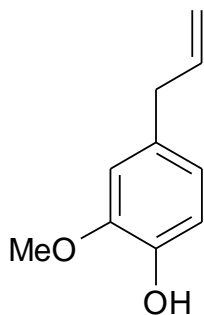
Vanilline

(badiane, anis et fenouil)

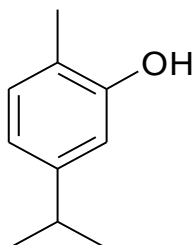
4-methoxybenzaldehyde 4-methoxybenzaldehyde

Partie théorique

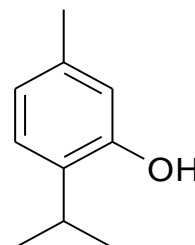
Les phénols : eugénol, thymol et carvacrol



Eugénol,



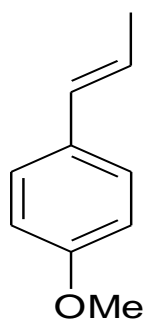
Thymol



Carvacrol

4-allyl-2-methoxyphenol 5-isopropyl-2-methylphenol

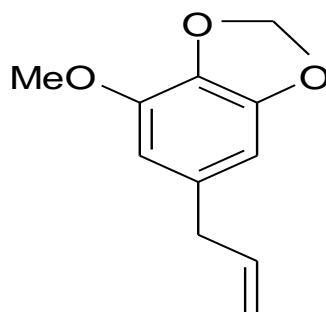
Les éthers oxydes : anéthole (badiane, anis vert et fenouil)



Anéthole

1-methoxy-4-((*E*)-prop-1-enyl)benzene

Les peroxydes : apiole



Apiole

6-allyl-4-methoxybenzo[*d*][1,3]dioxole

Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) étant, au moins pour les plus simples d'entre elles, entraînaibles par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines huiles essentielles.

I.5.1.2. Composés d'origines diverses

Il s'agit là de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles. Ces composés contribuent souvent aux arômes de fruits. Compte tenu de leur mode de préparation, les concrètes et les absolues peuvent en renfermer. Il en est de même pour les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînaibles par la vapeur d'eau.

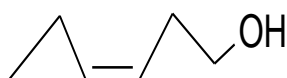
➤ Composés issus de la dégradation d'acides gras :

La peroxydation des acides linoléique et α -linoléique induit leur coupure, la formation d'acides en C₉ ou C₁₂ et, ultérieurement, celle d'alcools, d'aldéhydes et d'esters de faible masse moléculaire, ex. : (3Z)-hexén-1-ol, (2E)-hexénals et leurs isomères responsables de l'odeur « verte » des feuilles, octanal, décanal, acétate d'hexényle, *etc.* Ce type de dérivé, comme les méthyl-cétones, peut aussi provenir d'un

Partie théorique

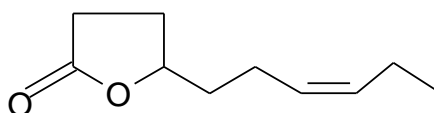
classique mécanisme de (5-oxydation. L'hydroxylation de l'insaturation d'un acide gras est pour sa part nécessaire pour justifier l'existence de γ et de δ -lactones, ex. :

massoialactones de l'écorce du *Cryptocarya massai* (Oken) Kosterm. de l'Irian Jaya (Lauraceae), tubérolactone, etc.



(3Z)-hexén-1-ol

C'est également à partir d'acides gras que sont formés des composés comme les acides jasmoniques et leurs esters ou les γ -jasminlactones : (-)-(R) jasmin-lactone du jasmin (*Jasminum grandiflorum* L.) ou (+)-(S)-jasmin-lactone de la tubéreuse (*Polianthes tuberosa* L.). L'un des mécanismes proposés pour expliquer la formation de ces produits est analogue à celui qui, chez les animaux, conduit aux prostaglandines.



γ -jasminlactones

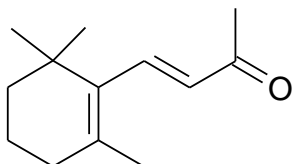
5-((Z)-hex-3-enyl)-dihydrofuran-2(3H)-one

➤ Composés issus de la dégradation de terpènes :

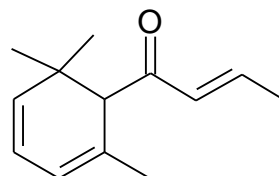
C13-norisoprénoïdes. Les principaux constituants de ce groupe les ionones --- proviennent de l'autoxydation des carotènes. Largement distribuées (ex.

Partie théorique

violette), elles sont fréquentes dans les arômes de fruits. Les damascénones (rose, géranium) et les damascones ont une origine voisine (caroténoïdes alléniques).



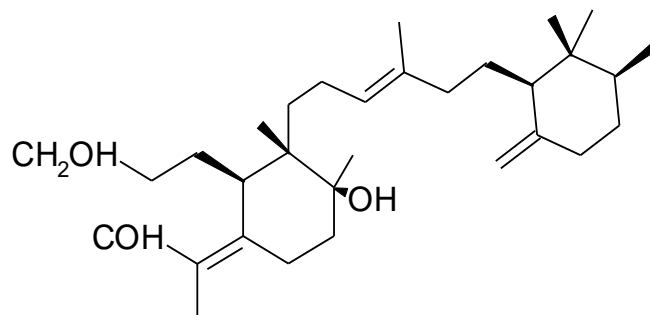
β -ionone



Damascénone

(3E)-4-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)but-3-en-2-one

Irons. Ces cétones en C₁₄ sont également des produits de dégradation. Caractéristique de l'absolue d'iris (*Iris florentina* L., *Iris pallida* Lamk., *Iris germanica* L.), elles ne sont pas préformées, mais apparaissent lors du vieillissement du rhizome. Elles proviennent de l'oxydation de triterpènes bicycliques, les iridals (iripallidal, iriflorentinal, irigermanal libres ou estérifiés par des acides gras).



Irigermanal

(2Z)-2-((2R,3S,4S)-4-hydroxy-2-(3-hydroxypropyl)-3,4-dimethyl-3-((E)-4-methyl-6-((1R,3S)-2,2,3-trimethyl-6-methylenecyclohexyl)hex-3-enyl)cyclohexylidene)propanal

➤ **Autres composés :** Les composés azotés ou soufrés, caractéristiques des produits torréfiés, grillés ou rôtis, sont plutôt rares dans les huiles essentielles : pyrazines et butènethioates du galbanum (*Ferula* spp.), 2-acétyl-4-isopropénylepyridine et autres pyridines de l'huile essentielle de menthe crépue.

Signalons enfin que, dans les concrètes, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante, non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants : homologues des phénylpropanes, diterpènes. [7] [8] [9].

I.6. Méthodes d'extraction

I.6.1. Enfleurage et Macération

Cette technique, la plus ancienne, très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé.

Partie théorique

comme par exemple le jasmin, la violette et la rose .Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles et chauffées (bain –marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours . Une fois gorgés de parfum , les corps gras sont filtrés au travers de tissus de lin ou de coton . Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool pur, filtrées et évaporées. [9]

I.6.2. Expression

C'est une technique simple où les écorces des agrumes sont pressées à froid pour extraire leurs huiles essentielles. [6]

I.6.3. Distillation et hydrodistillation

La distillation est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles.les extraits végétaux sont chauffés jusqu'à ébullition ;l'huile essentielle s'évapore par les vapeurs dégagées , et puis condensés(elle redevient liquide lorsqu'on la refroidit)et séparée de l'eau. [11]

I.6.4. L'entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats ,le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche a été mis au point .la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée.les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent.ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré.la récupération l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydrodistillation. [10]

I.6.5. L'extraction aux solvants volatils

Cette technique est aussi utilisée avec des fleurs ne supportant pas la chaleur, la distillation ne convient que pour les végétaux dont le rendement en huile essentielle est suffisamment important, les solvants très volatils par exemple l'éther, et l'hexane que subira après décantation et concentration, une distillation partielle. Ce solvant est alors séparé de la "concrète" par filtrage, puis glaçage de -12°C à -15°C . La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression. [11]

I.6.6. L'extraction au CO_2 supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières végétales utilisant le gaz carbonique : le CO_2 . Sous pression et à température à 31°C , le gaz carbonique se trouve dans un état "supercritique", la matière végétale est chargée dans l'extracteur puis le CO_2 est introduit sous pression et réfrigéré. Le mélange est recueilli dans un vase d'expansion. La pression y étant réduite, le CO_2 reprend sa forme gazeuse et est complètement éliminé. L'extrait végétal est isolé, les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine sans trace résiduelle de solvant. [6] [10][11][12],

I.6.7. Extraction assistée par Micro-Onde

La technique d'extraction par micro-onde a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé d'extraction est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal

et qui sont mesurées par une constante diélectrique, cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal.[13] [14]

I.7.Toxicité des huiles essentielles

Alors que de nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont aussi peu mentionnées[33]

Cependant quelques informations sur certaines toxicités sont décrites par la littérature :

- En règle générale, les huiles essentielles d'usage commun ont une toxicité par voie orale faible ou très faible avec des DL50 supérieures à 5g/kg. En ce qui concerne la lavande la toxicité est faible autour des 5g/kg (donnée observée chez l'animal)[33]

- Chez l'homme des intoxications aiguës sont possibles. Les accidents graves, les plus souvent observés chez les petits enfants, sont provoqués par l'ingestion en quantité importante d'huiles essentielles.

- Certains auteurs se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent. [35]

- Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxique selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande. [36]

I.8. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre elles, ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuse , antivirales, anti-oxydantes, et antiparasitaires. Plus récemment, on leur reconnaît également des propriétés anticancéreuses. [15]

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants. Sa valeur tient à son «totum» ; c'est-à-dire, l'intégralité de ses constituants et non seulement à ses composés majoritaires. [16]

I.8.1. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir. [17]

Lorsque l'on parle d'activité antioxydante, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne autocatalytique de l'oxydation[17]. En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels

que la complexation des ions métalliques ou la réduction d'oxygène... etc [19]. Des études de l'équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l'Alimentation (RESALA) de l'INRS-IAF, ont montré que l'incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts...) où l'application par vaporisation en surface de l'aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers...) contribuent à préserver l'aliment des phénomènes d'oxydation. [20]

I.8.2. Activité antibactérienne

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HES, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire [21]. De façon générale, il a été observé une diversité d'actions toxiques des HES sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules. [22]

Le mode d'action des HES dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane [23]. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée [24]. Les HES peuvent aussi inhiber la synthèse de DNA, ARN, des protéines et des polysaccharides. [25]

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides pariétales grâce à leurs groupes fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable. [26]

I.8.3 Activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agro alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire [27].

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des *Labiatae* : thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc... Etant donnée la grande complexité de la composition chémotypique des huiles essentielles, malgré de possibles synergies certains auteurs préfèrent étudier l'effet d'un composé isolé pour pouvoir ensuite le comparer à l'activité globale de l'huile. Ainsi l'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques [28]. Ils concluent que les phénols (eugénol, chavicol 4-allyl-2-6- diméthoxyphénol) sont plus antifongiques et que les aldéhydes testés (cinnamique et hydro cinnamique). Ils présentent également des propriétés fongistatiques très marquées. Les groupements méthoxy, à l'inverse, ne semblent pas apporter à ce type de molécules une fongitoxicité significative.

Cette activité est estimée selon la durée d'inhibition de la croissance déterminée par simple observation macroscopique. L'activité antifongique décroît

selon le type de fonction chimique:

Phénols› **Alcools**› **Aldéhydes**› **Cétones**› **Ethers**› **Hydrocarbures**

Parmi les aldéhydes aliphatiques, le cinnamaldéhyde s'est révélé le plus actif. En ce qui concerne les composés phénoliques, l'activité antifongique augmente avec l'encombrement stérique de la molécule (p-n-propylphénol› thymol› isoeugénol› eugénol) [29].

L'addition de groupements alkyls au noyau benzène du phénol augmente le caractère antifongique. Par conséquent, un certain degré d'hydrophobicité des composés phénoliques ou aldéhydes aromatiques paraît donc requis pour exprimer une caractéristique antifongique optimale. L'activité des terpènes des huiles essentielles est en corrélation avec leur fonction chimique. Les travaux de ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait. [30]

I.9. Le couplage Chromatographie phase gazeuse / Spectrométrie de masse (CPG/SM)

Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence[31].Lorsqu'on soumet un composé moléculaire à cette analyse, on déclenche un processus à plusieurs étapes [31].

➤ **Ionisation:** les molécules présentes dans l'échantillon se volatilisent sous l'effet du vide et de la haute température (200°C), il en résulte un mélange d'ions issus de la fragmentation de l'échantillon de départ.

Partie théorique

- **Accélération:** Les ions formés se dirigent vers le dispositif de séparation sous l'effet d'un champ magnétique augmentant ainsi leurs énergies cinétiques.
- **Séparation:** Les ions seront distribués suivant leur rapport masse/charge.
- **Détection:** après séparation, les ions sont recueillis par un détecteur sensible aux charges électriques transportées.
- **Traitement du signal:** le signal de sortie de l'appareil conduit au spectre de masse qui constitue la représentation conventionnelle de l'abondance des ions en fonction de leurs rapports : masse/charge.

L'appareillage CPG/SM permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse correspondants à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la CPG. [32]

Partie pratique

Partie pratique

Objectif

Dans le cadre d'un contrôle botanique, chimique, chromatographique et microbiologique de la lavande ainsi que son huile essentielle, on a réalisé une étude qui engloberait :

- Une histologie des feuilles de la dite plante comportant une coupe anatomique ainsi qu'une étude de sa poudre végétale.
- Extraction des HE de la plante achetée.
- Analyse des HE par CPG-SM.

CHAPITRE I :
MATÉRIELS ET
MÉTHODES

CHAPITRE I : MATÉRIELS ET MÉTHODES

I.1 Matériels

I.1.1 Matériel végétal

La plante a été achetée le centre ville de la Wilaya de BATNA le 15 avril 2013. L'huile essentielle étudiée est extraite à partir des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* (la lavande).

I.1.1.1 Description de la plante

La lavande est un arbrisseau buissonnant pouvant atteindre 1 m de hauteur. Les feuilles, linéaires et de couleur gris vert, ont une longueur variant entre 3 et 5 cm. Lors de la floraison, la plante développe de longs pédoncules non ramifiés terminés par des épis dont la couleur varie du mauve pâle au violet.

I.1.1.2 La classification de cette plante est la suivante :

Règne	Plantes
Sous règne	plantes vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	<i>Lamiales (Labiales)</i>
Famille	<i>Lamiacées</i>
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula officinalis</i>



Fig(I-1): *photo de la plante Lavandula officinalis*

I.1.2. Matériels de laboratoire

- Boite de Pétri.
- Creuset de silice.
- Rasoir (Gillette).
- Tamis.
- Lame et lamelle.
- Becher.
- Erlen Meyer.
- Pissette.
- Ballon.
- Pince.
- Pipette.
- Éprouvette graduée.
- Tube à essai + support.
- Verre de montre.
- Tube opaque.
- Étiquette.
- Stylo.
- Spatule.
- Cuve.

- Feuille en aluminium (SIL G UV254 Alugram R).
- Pipette Pasteur.
- Écouvillon.
- Gélose Mueller Hinton.
- Gélose nutritive.
- Papier buvard
- Marqueur (Schneider).
- Micropipettes 2 μ l , 5 μ l, 50 μ l, 100 μ l, 500 μ l.
- Mortier.

➤ **Réactifs utilisés**

- Eau physiologique.
- Eau distillée.
- Eau de javel.
- NaOH.
- Vert de méthyle.
- Rouge de Carmen.
- Acide acétique.
- Acide sulfurique.
- Acétone.
- Thiosulfate de sodium anhydre.
- Éthanol.
- Toluène.
- Acétate d'éthyle.
- Vanilline sulfurique.
- Acide phosphomolibdique.
- Hexane.
- Hydrate chlorale.

➤ **Appareillage**

- Microscope optique.

- Appareil normalisé de Likens-Nickerson.
- Chauffe ballon (Barnstead/Electrothermal).
- Pompe.
- Balance (Sartorius).
- Étuve (Ecocell).
- Four (Protherm furnaces).
- Réfrigérateur.
- Appareil de Dean-Stark.
- Lampe UV (Vilber lourmat).
- Chambre noire CN-6 (Grosseron).
- Appareil photo (Sony).
- Dessiccateur.
- Bec bunsen.
- Densitomètre.
- Pied à coulisse.
- Appareil pour fabrication des disques.
- Refractomètre.
- Polarimètre.
- Appareil de CPG-SM (CLARUS 500 GC & CLARUS 600 D MS).
- Loupe binoculaire (Stemi DRC ZEISS).

I.2 Méthodes

I.2.1 Méthodes botaniques

Étude morphologique

L'étude de la morphologie générale des fleurs s'est faite grâce à l'observation des fleurs à l'œil nu et sous la loupe binoculaire.

Étude anatomique :

L'étude histologique des coupes anatomique des feuilles de *Lavandula officinalis* L a été réalisée par la technique de double coloration.

Principe

Sur une coupe aussi fine que possible, on fait agir successivement des solutions d'hypochlorite de Sodium et d'Hydroxyde de Sodium diluées. Les contenus cellulaires sont détruits. Les parois cellulaires sont respectées. En faisant agir successivement vert d'Iode et carmin, les parois celluloses se colorent en rose, les parois lignifiées ou sclérifiées se colorent en vert.

Mode opératoire

- Réaliser des coupes transversales aussi fine que possible sur l'échantillon végétal à l'aide d'un rasoir. La coupe doit être aussi mince que possible. Une coupe un peu déchirée est souvent plus facile à observer qu'une coupe trop épaisse.
- Mettre les coupes dans un tamis, placer les successivement pendant 15 à 20 minutes dans l'hypochlorite de Sodium dilué au ½ (pour détruire le contenus cellulaires).
- Laver une fois à l'eau distillée.
- Laver une fois avec la solution d'Hydroxyde de Sodium à 5% (Si la coupe est riche en amidon : racine, rhizome).
- Laver 2 fois à l'eau distillée.
- Laver 1 fois dans un bain d'eau additionné de quelques gouttes d'acide acétique (pour enlever l'excès d'hypochlorites de Sodium).
- Traiter au vert de méthyle pendant 1 minute.
- Laver rapidement à l'eau distillée.
- Traiter par le rouge de Carmin aluné pendant 15 minutes.
- Laver rapidement à l'eau.
- Introduire la coupe entre lame et lamelle additionnée d'une goutte d'eau distillée. Observer au microscope au Gx10.

- Dessiner au Gx40 puis schématiser.

Examen microscopique de la poudre

- Sur une lame porte objet, déposer une goutte d'eau, hydrate chlorale.
- À l'aide d'une pince, prélever une petite quantité de poudre et la délayer dans l'eau, sur la lame, jusqu'à ce que la poudre soit mouillée.
- Recouvrir d'une lamelle en appuyant légèrement avec le doigt.
- Observer au Gx10 et dessiner la poudre au Gx40.

I.2.2 Méthode physicochimique

Teneur en cendres

a) Cendres totales

- Chauffez au rouge un creuset de silice ou de platine pendant 30 min.
- Laissez refroidir dans un dessiccateur, puis pesez.
- Sauf indication contraire, introduisez dans le creuset 1,00 g de substance ou de drogue pulvérisée.
- Distribuez uniformément la prise d'essai à l'intérieur du creuset.
- Desséchez pendant 1 h à 100-105 °C, puis incinérez dans un four à moufle, à une température de 600 ± 25 °C. L'échantillon ne doit s'enflammer à aucun moment de l'opération.
- Continuez l'incinération jusqu'à masse constante.
- Après chaque incinération, laissez refroidir le creuset au dessiccateur.
- Si les cendres contiennent encore des particules noires, après une incinération prolongée, reprenez-les à l'eau chaude et filtrez sur un filtre sans cendres. Incinérez à nouveau le résidu avec le filtre.
- Réunissez le filtrat et les cendres, évaporez prudemment à siccité et incinérez jusqu'à masse constante.

b) Cendres sulfuriques

- Chauffez un creuset approprié (de silice, de platine, de porcelaine ou de quartz, par exemple) à 600 ± 50 °C pendant 30 min.

- Laissez refroidir dans un dessiccateur sur du gel de silice ou autre desséchant approprié puis pesez.
- Dans le creuset, introduisez la prise d'essai puis pesez.
- Humectez la substance à examiner avec un peu d'acide sulfurique R (généralement 1 ml) et chauffez doucement, à une température aussi faible que possible, jusqu'à carbonisation complète de l'échantillon.
- Après refroidissement, humectez le résidu avec un peu d'acide sulfurique R (généralement 1 ml).
- Chauffez doucement jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement de fumées blanches, puis calcinez à 600 ± 50 °C jusqu'à incinération complète du résidu.
- Veillez à ce qu'il n'y ait aucune émission de flammes lors du procédé.
- Laissez refroidir le creuset dans un dessiccateur sur du gel de silice ou autre desséchant approprié, puis pesez à nouveau et calculez le pourcentage de résidu.
- Si la quantité du résidu ainsi obtenue dépasse la limite indiquée, répétez l'addition d'acide sulfurique R, puis la calcination comme précédemment pendant des périodes de 30 min jusqu'à ce que 2 pesées ne diffèrent pas de plus de 0,5 mg ou que le pourcentage de résidu soit conforme à la limite prescrite.
- La quantité de substance utilisée pour l'essai (habituellement 1-2 g) est choisie de façon à obtenir, à la limite prescrite, un résidu (habituellement de l'ordre de 1 mg) qui peut être pesé avec une exactitude suffisante.



Teneur en eau

- Nettoyez le tube collecteur et le réfrigérant de l'appareil, rincez-les soigneusement à l'eau, puis séchez.
- Dans un ballon séché, introduisez 200 ml de toluène et 2 ml d'eau distillé environ ; distillez pendant 2 h, laissez refroidir pendant 30 min environ et lisez le volume d'eau à 0,05 ml près.

- Introduisez ensuite dans le ballon une prise d'essai de la substance à examiner, pesée à 1 pour cent près, susceptible de donner 2 ml à 3 ml d'eau environ. Si la substance est pâteuse, pesez-la dans une nacelle constituée par une feuille de métal.
- Chauffez doucement le ballon pendant 15 min en présence d'une substance assurant une ébullition régulière.
- Lorsque le toluène commence à bouillir, distillez à la vitesse de 2 gouttes environ par seconde jusqu'à ce que la plus grande partie de l'eau soit entraînée, puis augmentez la vitesse de distillation jusqu'à 4 gouttes par seconde.
- Lorsque toute l'eau a été entraînée, rincez l'intérieur du tube réfrigérant au toluène.
- Continuez la distillation pendant 5 min, arrêtez le chauffage et laissez refroidir le tube collecteur à température ambiante. Faites tomber les gouttelettes d'eau adhérant encore à la paroi du tube. Lorsque l'eau et le toluène se sont séparés, lisez le volume d'eau et calculez la teneur en eau de la substance à examiner, en millilitre par kilogramme à l'aide de la relation : $\frac{1000 (n2-n1)}{m}$

m = masse en grammes de la prise d'essai de la substance à examiner.

$n1$ = nombre de millilitres d'eau obtenus dans la première distillation.

$n2$ = nombre total de millilitres d'eau obtenus dans les 2 distillations.

I .2.3. Extraction et dosage de l'HE

- L'entraînement à la vapeur (par hydro distillation ou entraînement à la vapeur sèche) est la seule méthode admise par la pharmacopée.
- La distillation permet de plus, de doser les HE dans les drogues.
- Le dosage des HE dans les drogues végétales se fait par hydro distillation dans un appareil normalisé comportant :
 - Un ballon dans lequel on introduit la drogue et l'eau.
 - Un appareil de condensation qui comporte à la sortie du réfrigérant un tube gradué dans lequel on recueille le distillat.

○ Si la densité de l'huile est nettement inférieure à celle de l'eau, l'HE se sépare parfaitement dans le tube gradué, et en fin de distillation, la quantité d'HE peut être mesurée par lecture directe.

○ Si la densité de l'HE est voisine ou plus élevée que celle de l'eau, une quantité connue de xylène est ajoutée dans le tube gradué. À la fin de la distillation, on mesure l'augmentation de volume de xylène, l'essence s'étant dissoute dans celui-ci au fur et à mesure de son arrivée dans le tube gradué.

I.2.4. La couleur

- Pour apprécier le degré de coloration des liquides dans les teintes brun-jaune-rouge, utilisez l'un des 2 procédés ci-dessous, précisé dans la monographie.

- Une solution est dite incolore si elle a l'aspect de l'eau R ou du solvant, ou si elle n'est pas plus colorée que la solution témoin B9.

PROCÉDÉ I

- Dans des tubes à essai identiques, de verre neutre, incolore et transparent, d'un diamètre extérieur de 12 mm, comparez 2,0 ml du liquide à examiner à 2,0 ml d'eau R, de solvant ou de la solution témoin prescrite dans la monographie. Appréciez les nuances à la lumière diffuse du jour par examen horizontal sur fond blanc.

PROCÉDÉ II

- Dans des tubes à essai identiques, de verre neutre, incolore et transparent, d'un diamètre intérieur de 15 mm à 25 mm et à fond plat, comparez le liquide à examiner à l'eau R, au solvant ou à la solution témoin prescrite dans la monographie, l'épaisseur de la couche étant de 40 mm. Appréciez les nuances à la lumière diffuse du jour par examen dans l'axe du tube sur fond blanc.

I.2.5. Odeur

Sur un verre de montre de 6 cm à 8 cm de diamètre, étalez en couche mince 0,5 g à 2,0 g de la substance à examiner.

Après 15 min, cherchez à en définir l'odeur ou à vous assurer de l'absence d'odeur.

I.2.6. Densité

La densité d'une substance est le rapport entre la masse d'un volume donné de cette substance à une température t_1 et la masse d'un volume égal d'eau à une température t_2 .

- Poser un petit flacon vide sur la balance.
- Tarer la masse de ce flacon.
- À l'aide d'une micropipette, prendre 100 μl de l'HE.
- Verser l'HE dans le flacon et noter la masse obtenue.

I.2.7. Indice de réfraction

Définition

L'indice de réfraction d'une substance est une de ses constantes physiques susceptible de la caractériser au même titre que sa densité ou son point de fusion ou d'ébullition. Sa détermination présente donc un grand intérêt.

Utilisation de l'appareil

Réglages préliminaires

- Diriger l'appareil vers la lumière.
- Ouvrir et orienter convenablement le volet d'éclairage de l'échelle des indices.
- Régler le tirage des oculaires pour avoir une vision nette du réticule et de l'échelle de lecture.
- Repérer la température à l'aide du thermomètre.
- Relever le prisme mobile d'éclairage et nettoyer soigneusement les deux faces de verre apparentes (papier Joseph imprégné d'alcool).
-

Mise en place de la substance

- Déposer le liquide en quantité suffisante à l'aide d'une pipette (si possible en matière plastique) sur la face horizontale du prisme de référence. Éviter tout contact entre la pipette (si celle-ci est en verre) et le prisme pour ne pas rayer ce dernier.
- Rabattre doucement le prisme mobile.

Mesure de l'indice de réfraction

- En regardant dans l'oculaire (droit) :
 - Agir sur le bouton moleté de droite de façon à amener dans le champ de vision la limite de séparation des deux zones (claire et obscure). Cette ligne de séparation est plus ou moins nette (irisation).
 - Agir sur le bouton moleté de gauche pour rendre nette cette ligne de séparation (suppression des irisations).
 - Ajuster cette ligne à l'intersection du réticule par action sur le bouton moleté de droite.
- En regardant dans l'oculaire (gauche) lire la valeur de l'indice de réfraction. (On peut apprécier la quatrième décimale).

Nettoyage de l'appareil

- Une fois la mesure faite soulever le prisme mobile, essuyer une première fois, délicatement, les deux prismes avec un morceau de papier Joseph propre imbibé d'alcool, puis sécher avec un papier Joseph sec.
- Refermer lentement les prismes, en prenant soin d'interposer un morceau de papier Joseph sec entre les deux faces.

I.2.8. Indice de polarisation

Définition

Est la propriété qu'ont certains milieux de faire tourner le vecteur lumineux d'un faisceau lumineux les traversant. Les composés induisant une déviation du vecteur vers la droite (quand on fait face à la lumière) sont qualifiés de dextrogyres (exemple : saccharose). Les composés induisant une déviation du vecteur vers la gauche (quand on fait face à la lumière) sont qualifiés de lévogyres (exemple : fructose).

Méthode

Préparation du polarimètre

a) La lampe

- Allumer la source lumineuse (lampe à vapeur de sodium) dès le début de la séance. La lampe a besoin de chauffer.
- Celle-ci ne supportant pas les allumages et extinctions successifs, la laisser allumer pendant toute la durée de l'expérience.

b) Remplissage des tubes de mesure

- Fermer une des extrémités avec un obturateur propre et sec (pastille de verre) et une bonnette.
- Rincer avec le solvant utilisé l'intérieur du tube, puis avec un peu de solution à étudier.
- En tenant le tube vertical, verser la solution jusqu'à ce que se forme un ménisque débordant de l'extrémité ouverte.
- Glisser un obturateur propre et sec, de façon à trancher ce ménisque et l'immobiliser en plaçant la bonnette.
- Vérifier si il n'y a pas de bulle d'air qui diaphragmerait le faisceau et gênerait la mesure. En présence de bulles d'air recommencer l'opération de remplissage.

- Attention ; l'obturateur est une pièce très fragile ; ne pas le laisser tomber.

c) Mesures Démarche

- Remplir le tube de solution à étudier, après l'avoir rincé à l'eau et avec un peu de solution à tester.
- Rétablir l'égalité d'éclairement minimum des deux plages avec la mollette. La déviation correspondante est lue dans le viseur de graduation sur la graduation circulaire à l'aide du vernier.

d) Outil méthodologique

- Le cercle mobile (à gauche) est gradué de 0° à 180° vers le haut et vers le bas, pour les lectures d'angles positifs et d'angles négatifs.
- Lorsque le zéro du vernier (à droite) se trouve devant une région du cercle où la graduation croît vers le bas, l'angle de déviation est positif et l'affinement de la valeur se fera avec le vernier (+).
- Lorsque le zéro du vernier (à droite) se trouve devant une région du cercle où la graduation croît vers le haut, l'angle de déviation est négatif et l'affinement de la valeur se fera avec le vernier (-).
- Chacune des divisions de la graduation mobile (à gauche) représente 0.5 degré. Donc 10 graduations du vernier (à droite) correspondent à 0.5 degré, ainsi chaque graduation du vernier (à droite) représente 0.05 degré. On dit que le vernier est au 1/20 en lecture directe.

I.2.9. Chromatographie sur couche mince

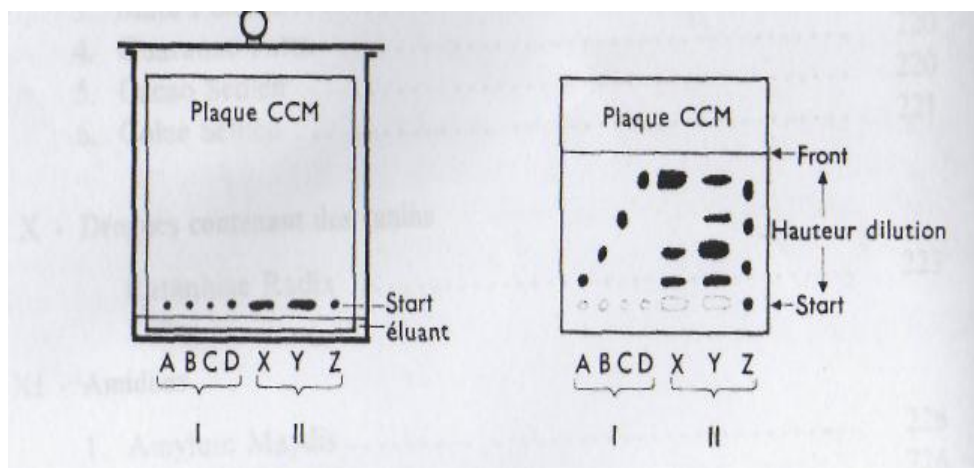
I.2.9.1. Définition et principe de la CCM

- La chromatographie sur couche mince est une méthode de séparation physico-chimique et de caractérisation par rapport à un témoin.
- La couche mince (phase stationnaire), constituée d'une substance finement pulvérisée, est appliquée sur une plaque de verre, de métal ou sur une feuille appropriée.
- La solution du mélange inconnu est déposée à la ligne de départ sous forme d'un point ou d'un trait.

➤ La plaque ou la feuille est introduite dans une cuve étanche contenant l'éluant approprié (phase mobile).

➤ La séparation des constituants du mélange s'effectue grâce à l'ascension par capillarité de la phase mobile le long de la phase stationnaire (développement)

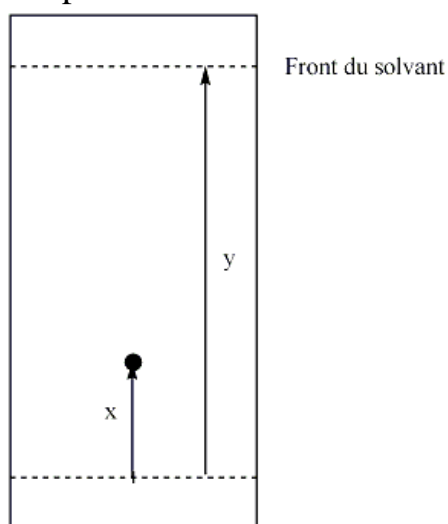
Ensuite, les substances incolores seront rendues visibles (détection).



Fig(I-2): *Chromatographie sur couche mince*

➤ **Le facteur de retardement (Rf)**

Rf= distance parcourue par la substance / distance parcourue par le solvant



x: Distance parcourue par la substance

y : Distance parcourue par le solvant.

$$Rf = x/y$$

I.2.9.2. Mode opératoire

a) Extraction et dosage de l'huile essentielle

Introduire dans le ballon de l'appareil normalisé, 150ml d'eau et 150ml de glycérol. Mélanger. Par la tubulure latérale, introduire successivement la quantité d'eau nécessaire pour remplir le tube gradué. Introduire alors dans le ballon 10gr de feuilles contusées d'Eucalyptus. Procéder à l'entraînement à la vapeur pendant 3H. Lire le volume d'huile essentielle recueillie après refroidissement et en déduire la teneur de la drogue en huile essentielle. La feuille d'Eucalyptus doit contenir au minimum 2% v/m d'huile essentielle.

b) Identification des constituants de l'huile essentielle par CCM

Support : gel de silice, F254.

Solvant : 5 volumes d'*acétate d'éthyle R* et de 95 volumes de *toluène R*.

Dépôts

- Solution d'huile essentielle recueillie, dans l'acétate d'éthyle à 1% v/v 5 μ l.

Révélation

- Après développement du chromatogramme,
- Sécher la plaque sous haute ventilation,
- Révéler par pulvérisation, sous hotte ventilée, par l'un des réactifs suivants :
- la vanilline sulfurique
- l'acide phosphomolybdique
- puis portée à 100- 105°C.

I.2.10. CPG-SM

✚ Conditions opératoires

CPG

- Température de l'injecteur 250°C
- Le four

- La température initiale est de 60°C pendant 1 minute.
- Un gradient de température de 3°C par minute une température de 200°C, et on maintient en isotherme pendant 13 minutes.
- Gaz vecteur est l'hélium avec débit de 1 ml/min
- Colonne capillaire (**RESTEK Rtx[®]-5MS**)
- La phase stationnaire : **Cross bond[®]** : 5% diphenyl, 95% dimethyl polysiloxane.
- Longueur: 30 m.
- Diamètre externe : 0.25 mm.
- Diamètre interne : 0.25 µm.
- La ligne de transfert température de 250°C

SM

- Température de la source 200°C
- Temps de solvant 5mn
- L'acquisition est réalisée en mode Scan (de 40 jusqu'à 600)
- Le temps de l'analyse est de 60 minutes.
- Mode d'ionisation E+
- Data centroide
- Durée de scan est 0,4 seconde (temps de scan 0,39 et le temps entre les scans 0,01)

Injection

- Dilution de 2 µl de l'HE dans 2 ml de l'alcool.
- Injection, à l'aide d'une microsiringue, de 1 µl de la solution diluée.

I.2.11 Aromatogramme

Mode opératoire

On a réalisé l'aromatogramme en milieu solide avec des dilutions décroissantes de l'huile essentielle de la lavande avec le DMSO (diméthyl sulfoxyde)

Le DMSO est choisi pour les raisons suivantes :

Permet de solubilisation et la diffusion de l'huile essentielle à travers les membranes bactériennes

Son activité anti-microbienne est nulle.

Les différentes dilutions sont $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$ et $\frac{1}{32}$.

I.2.11.1 Préparation des disques

Nous avons imprégnés plusieurs disques stérilisés par les différentes dilutions et nous avons bien goûtés les disques de l'huile essentielle.

I.2.11.2. Préparation des mileus de culture

Gélose nutritif, coulée en boîtes de pétri sur une épaisseur de 4mm.

Les géloses sont séchées avant l'emploi.

I.3. Inoculum

A partir d'une culture pure de 18H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques *Escherichia coli* ATCC, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC, *Staphylococcus aureus*.

Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,1 lue à 625 nm.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

L'ensemencement doit se faire dans les 15mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

I.4 . Ensemencement

Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne. L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin le décharger au maximum.

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

I.5. Application des disques

On met 7 disques imprégnés d'huile essentielle sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques doivent être espacés de 24mm, centre à centre.

Tester les dilutions déjà faites de l'huile essentielle.

Presser chaque disque imprégné à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.

I .6 Incubation

18 heures à 35°C.

La durée d'incubation peut être prolongée dans certains cas.

Chapitre II:
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

Chapitre II: RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1 Résultats

II.1.1 Résultats botaniques

+ Caractères morphologiques



On observe la presence surtout des fleurs quelques feuilles et des fragments d autres plante meme on a trouve des corps etrangers et d un petit rat



+ Caractères histologiques :



Poil tecteur

Poil secreteur

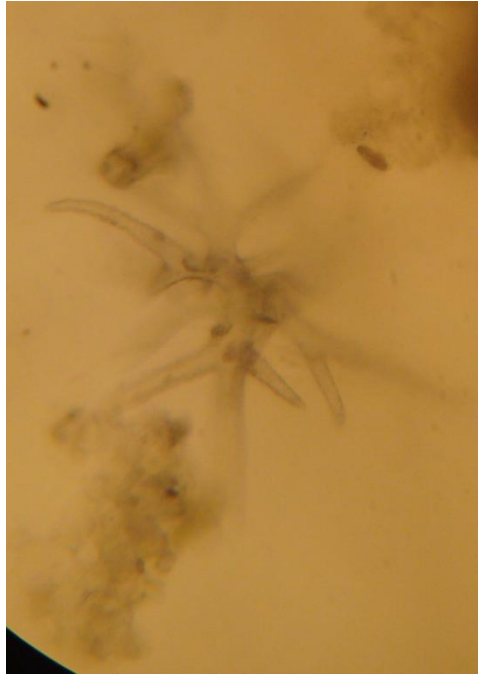
Epiderme

Faisceaux libero-ligneux (bois et liber)

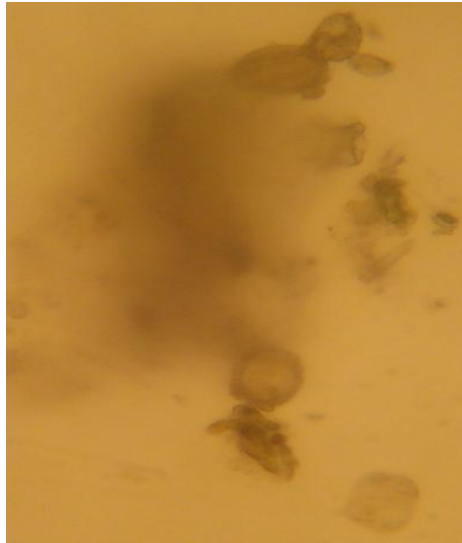
Collenchyme

Parenchym

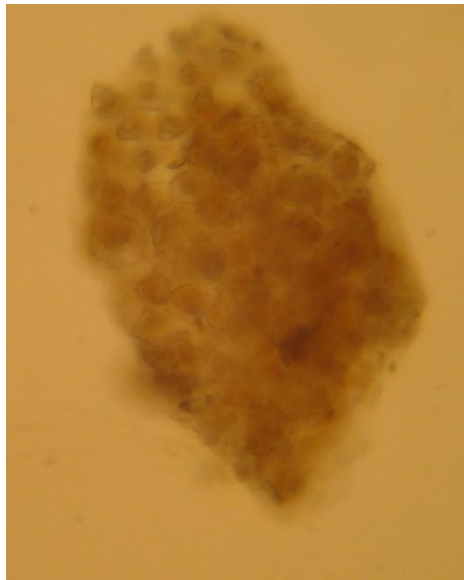
+ La poudre végétale



Fig(I-3): *POIL TECTEUR*



Fig(I-4): *GRAIN DE POLLEN*



Fig(I-5): *PETALE AVEC CELLULE EN PAPILLON*

II.1.2. Méthode physicochimique

+ Teneur en cendres

1g de matière \longrightarrow 0.1204 g de cendres totales

a) Cendres totales

$$\text{Teneur} = \frac{\text{masse des cendres}}{\text{masse de la matière}} \times 100$$

$$\text{Teneur} = \frac{0.1204}{1} \times 100$$

$$\text{Teneur} = 12.04 \text{ g}/100 \text{ g m.v.}$$

1g de matière \longrightarrow 0.1345 g de cendres sulfuriques

b) Cendres sulfuriques

$$\text{Teneur} = \frac{\text{masse des cendres}}{\text{masse de la matière}} \times 100$$

$$\text{Teneur} = \frac{0.1345}{1} \times 100$$

$$\text{Teneur} = 13.45 \text{ g/100 g}$$

+ Teneur en eau

a) La première distillation

$$n_1 = 2 - 0.05$$

$$n_1 = 1.95 \text{ ml.}$$

b) La deuxième distillation

$$n_2 = 3.9 \text{ ml.}$$

n : nombre de millilitre.

$$\text{Teneur en eau} = 1000 \cdot (3.9 - 1.95) / 20$$

$$\text{Teneur en eau} = 97.5 \text{ ml/kg de m.v}$$

1. Extraction

Rendement de matière \longrightarrow 12 ml d'HE

2. Couleur

Jaune pale

3. Odeur

Piquante.

4. Densité

$$D = 0.883$$

5. Indice de réfraction

$$\text{Indice de réfraction} = 1.465$$

6. Indice de polarisation

+ Dilution de 100 μl d'HE dans 5 ml d'alcool

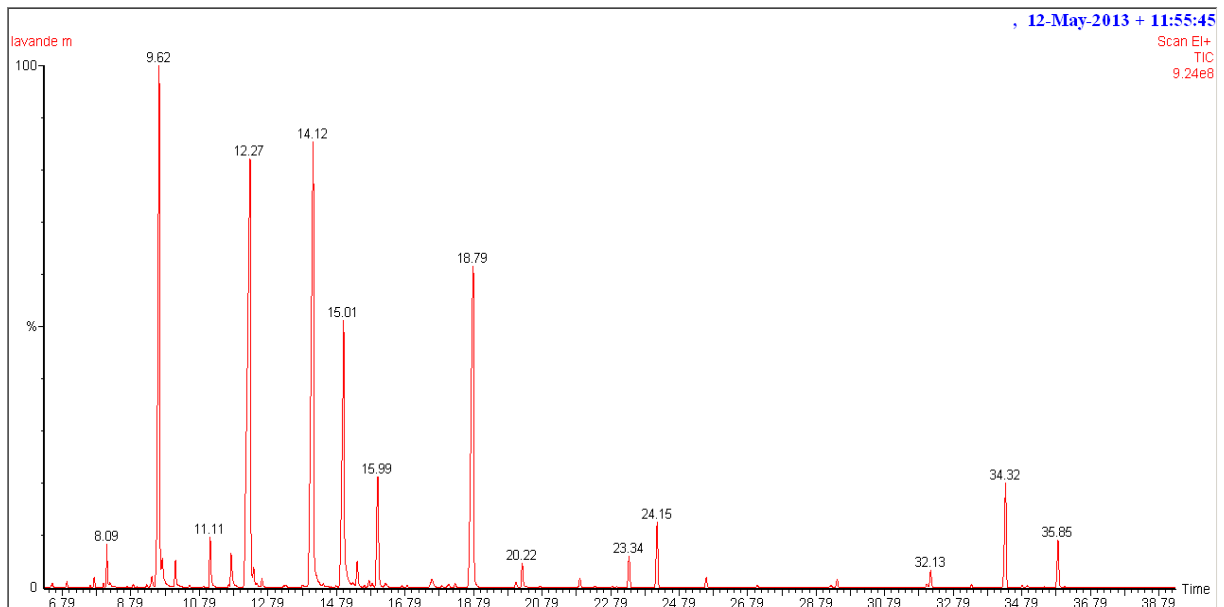
Indice de polarisation = -12°

+ Dilution de 50 μl dans 5 ml d'alcool

Indice de polarisation = -11.5°

7. CPG-SM

Le chromatogramme de l'analyse de l'HE de la lavande est représenté ci-dessous :



Fig(II -6): Le chromatogramme l'HE de la lavande CPG-SM

Après intégration de l'aire de chacun des pics des constituants de l'HE,

on obtient le tableau suivant :

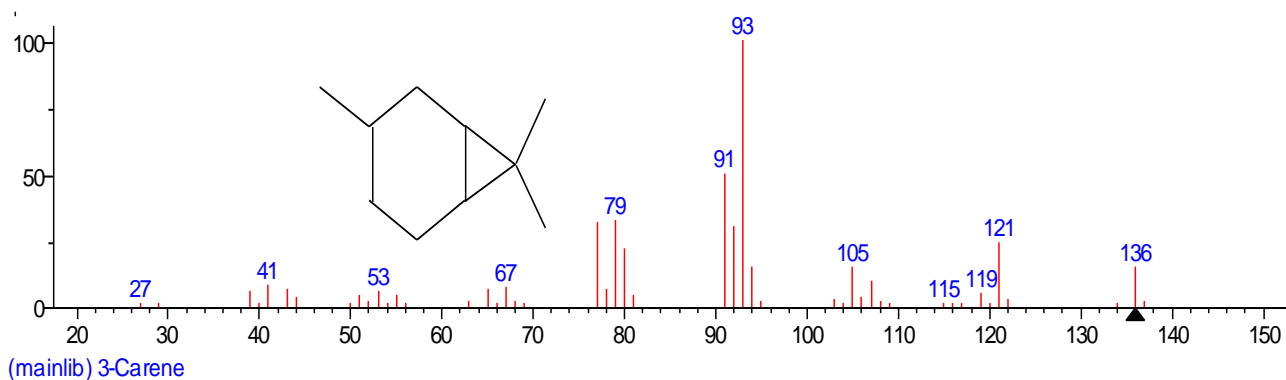
tableau(II-1): les constituants de l'HE

	Nom de constituant	Temps de rétention	Aire	Réponse	% de l'aire
	3-Carène	6.512	-	-	-
	Camphène	6.919	-	-	-
	Bêta- Phyllandrène	7.721	-	-	-
	Alpha-Pinène	8.095	954872	954872.43 8	1.5
	D-Limonène	9.413	2219034	2219034	3.4
	Eucalyptol	9.611	5081732	5081731.5	7.7
	Linalol oxide trans	11.112	941875	941875.31 3	1.4
	Santolina triène	12.264	1348714 8	13487148	20.5
	Camphre	14.106	1215202 9	12152029	18.5
0	Bornéol	14.993	1342407 4	13424074	20.4
1	Alpha-terpinéol	15.996	1979174	1979173.7 5	3
2	Cyclopenta	18.772	1099375 0	10993750	16.7
3	Dipentène	20.218	715057	715057.31 3	1.1
4	Bicyclo	24.147	1312515	1312514.5	2
5	Caryophillène	25.591	-	-	-

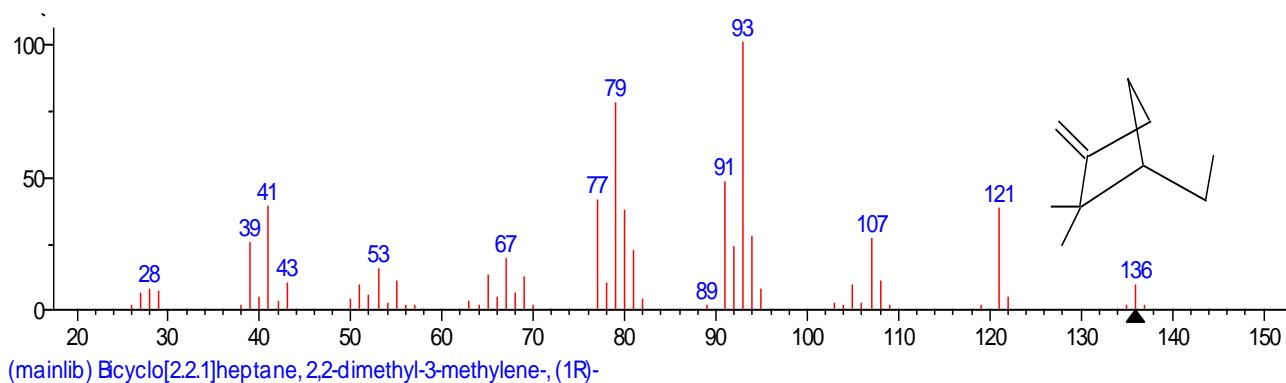
Partie pratique

6	Alpha-Farnesène	32.132	-	-	-
7	Isoledène	34.318	1848485	1848485.3 8	2.8
8	Isocaryophellène	35.853	643708	643708.37 5	1

Les spectres de masse de chacun des constituants précédents sont les suivants :



Fig(II -7): Les spectres de masse de **3-CARÈNE ; 13466-78-9**



Fig(II -8): Les spectres de masse de **CAMPHÈNE ; 5794-03-6**

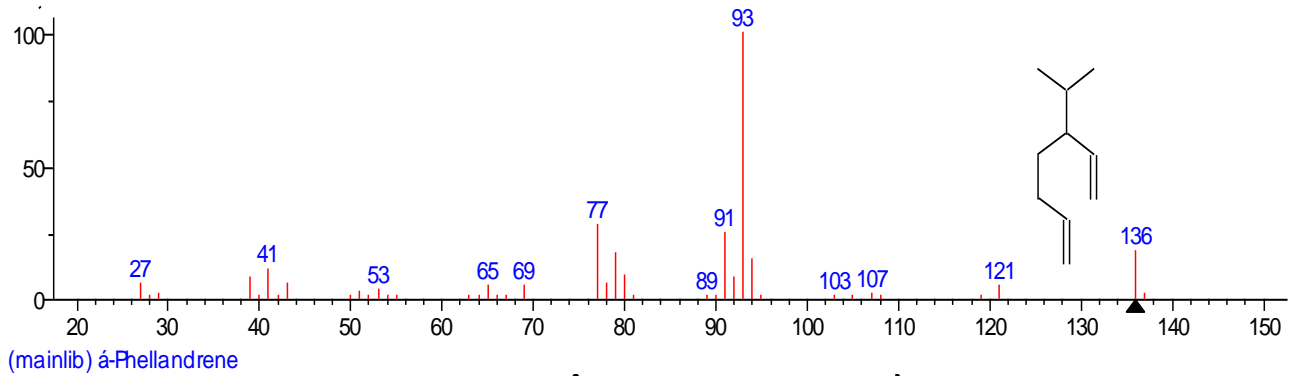
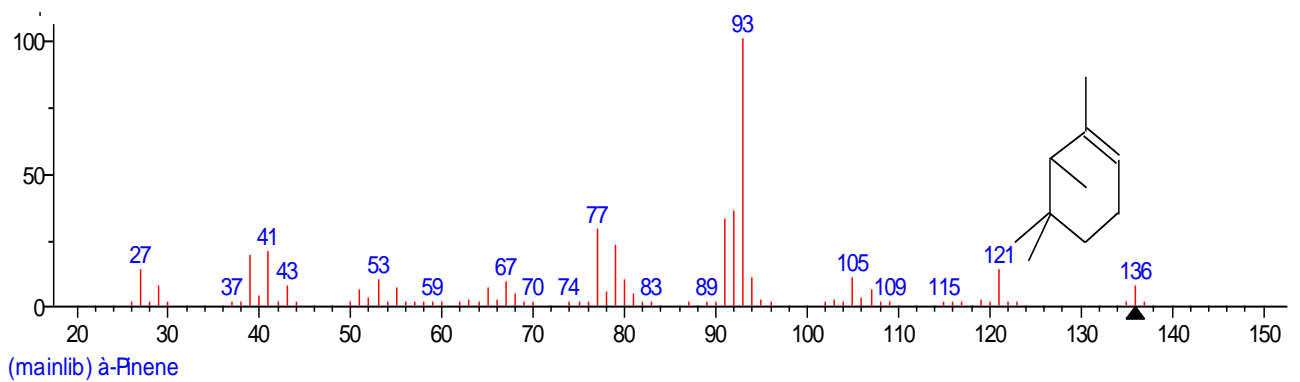
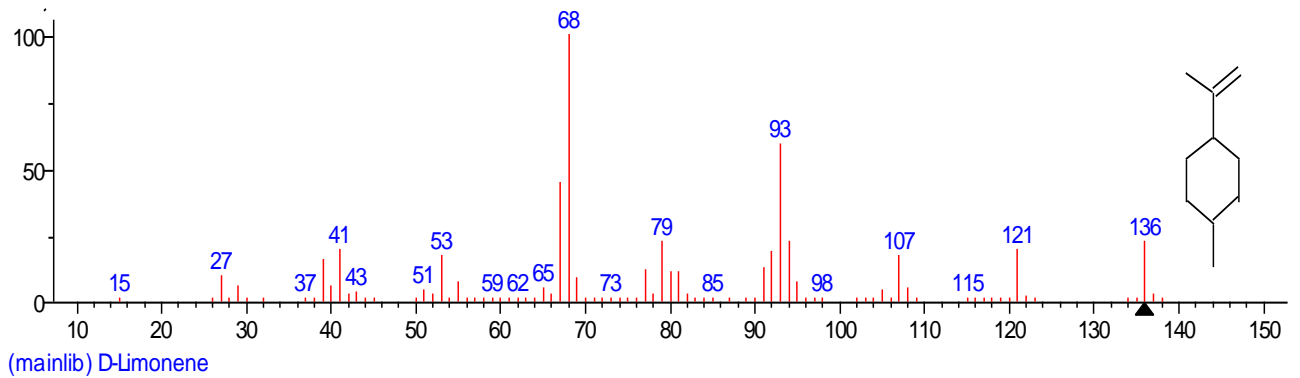


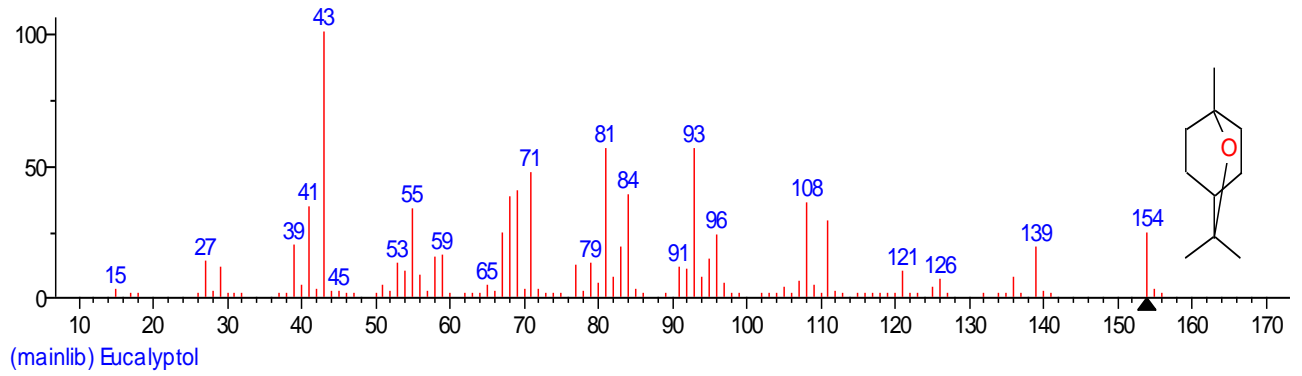
Fig (II -9): Les spectres de masse de **BÊTA-PHYLLANDRÈNE ; 555-10-2**



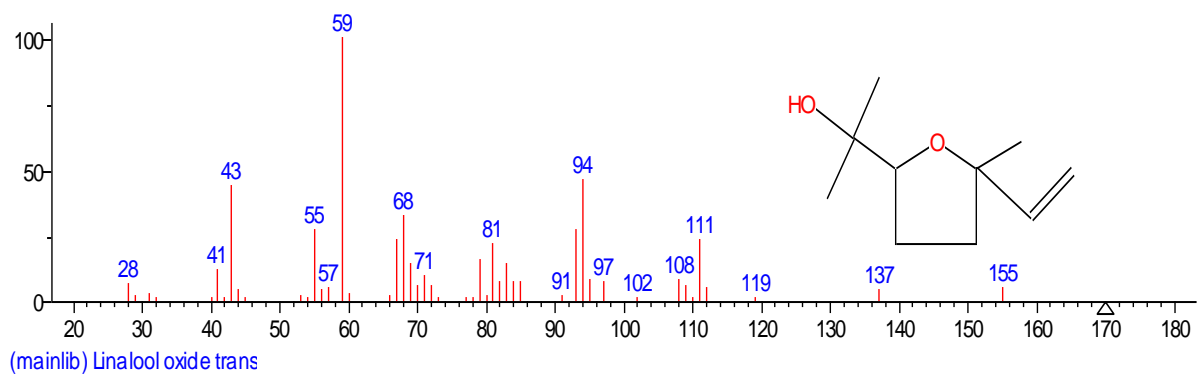
Fig(II -10): Les spectres de masse de **ALPHA-PINÈNE ; 80-56-8**



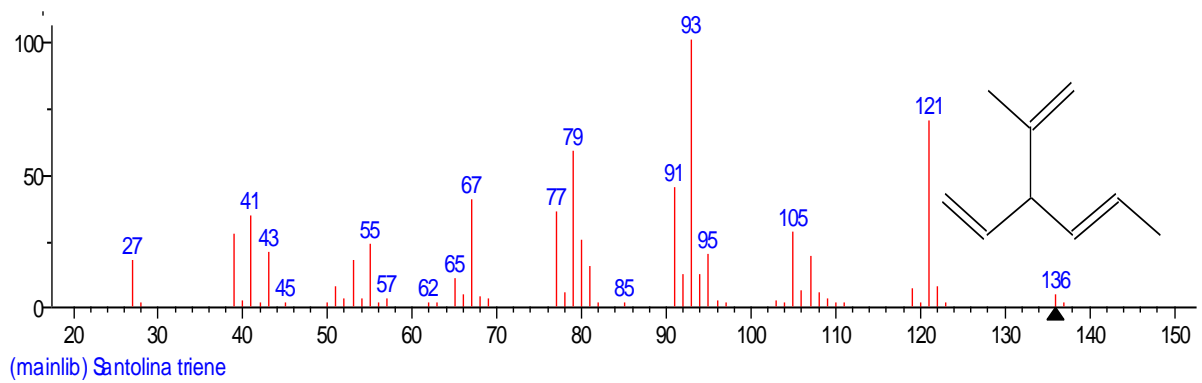
Fig(II -11): Les spectres de masse de **D-LIMONÈNE ; 5989-27-5**



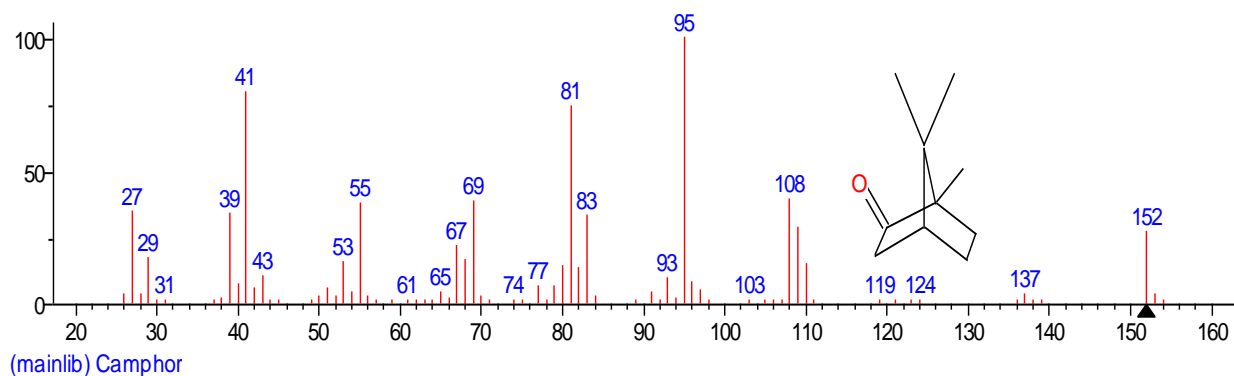
Fig(II -12): Les spectres de masse de **EUCALYPTOL ; 470-82-6**



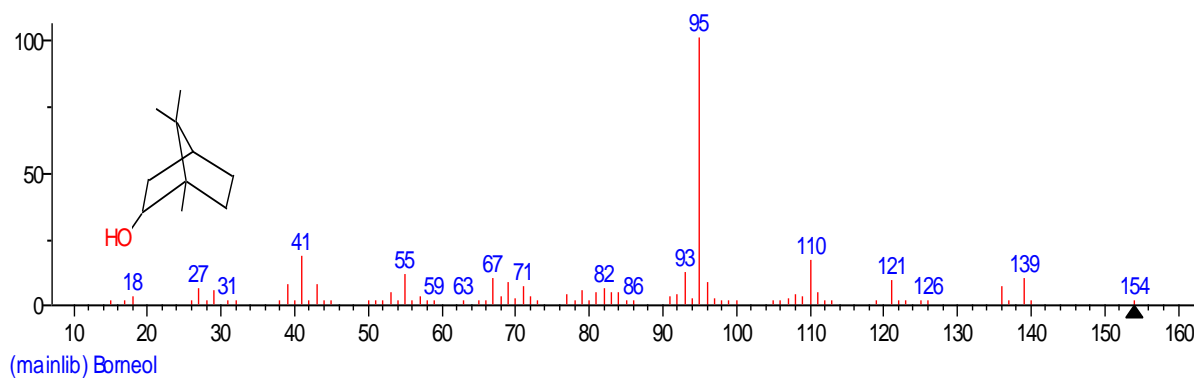
Fig(II -13): Les spectres de masse de **LINALOOL OXIDE TRANS ; 23007-29-6**



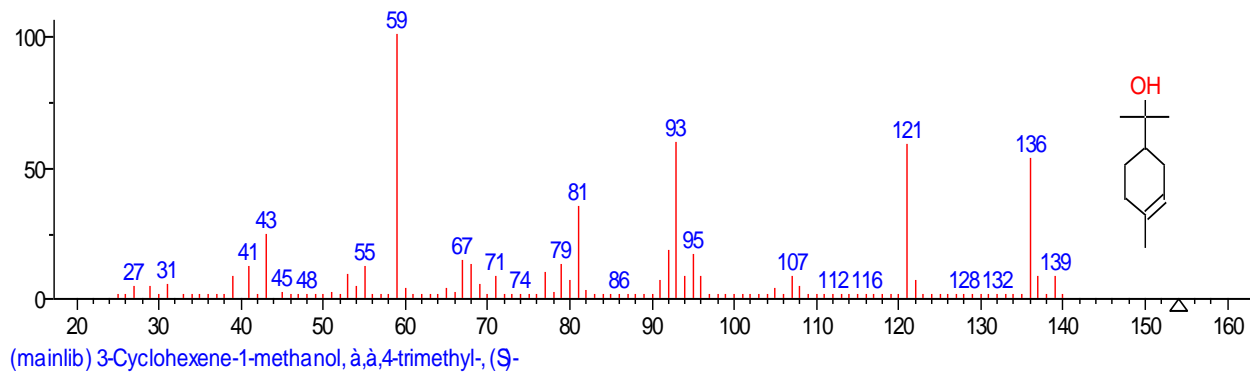
Fig(II -14): Les spectres de masse de **SANTOLINA TRIÈNE ; 2153-66-4**



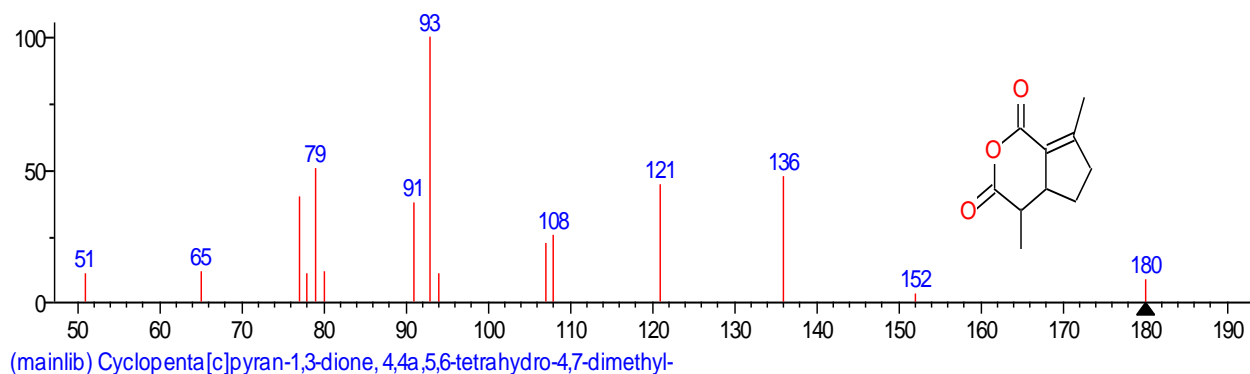
Fig(II -15): Les spectres de masse de **CAMPBRE ; 76-22-2**



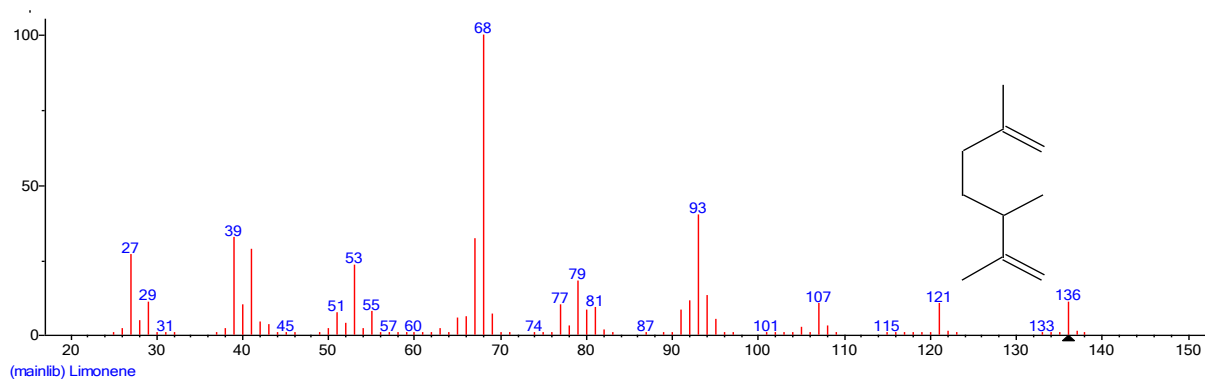
Fig(II -16): Les spectres de masse de **BORNÉOL ; 507-70-0**



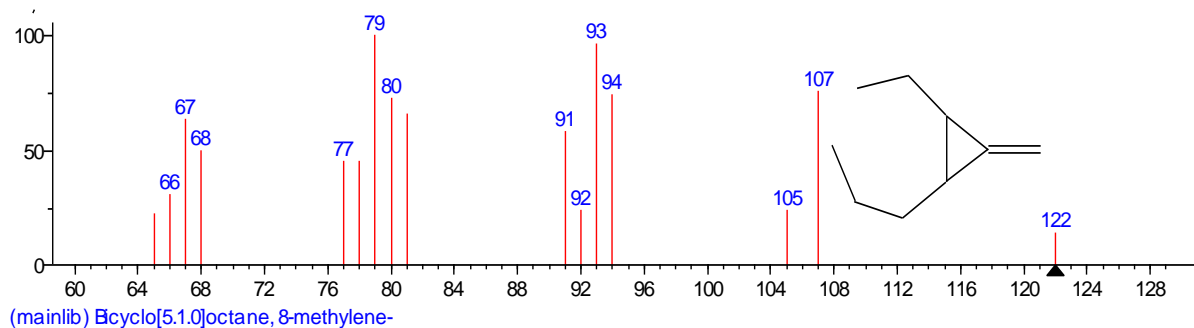
Fig(II -17): Les spectres de masse de **ALPHA-TEROINÉOL ; 10482-56-1**



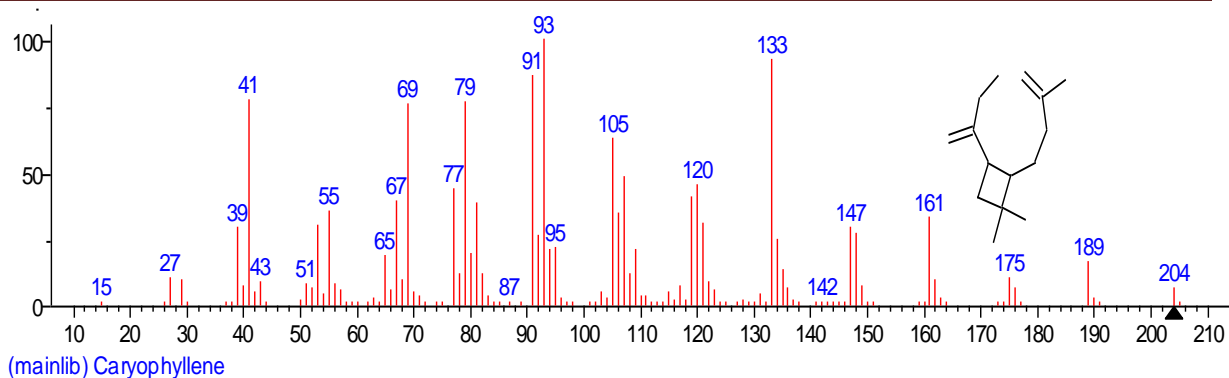
Fig(II -18): Les spectres de masse de **CYCLOPENTA[C] PYRAN-1, 3-DIONE, 4, 4A, 5, 6-TETRAHYDRO-4, 7-DIMETHYL; 66407-26-9**



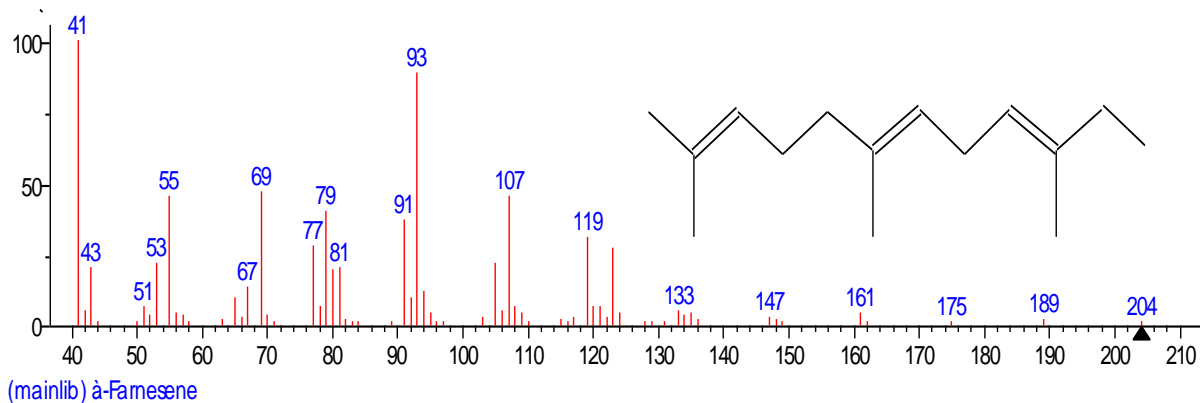
Fig(II -19): Les spectres de masse de **DIPENTÈNE 138-86-3**



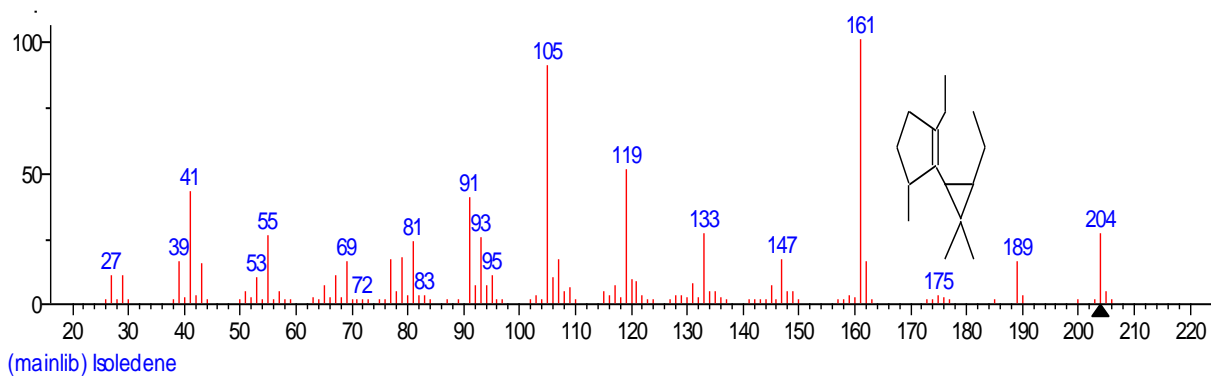
Fig(II -20): Les spectres de masse de **BICYCLO[5.1.0]OCTANE, 8-METHYLÈNE ; 54211-15-3**



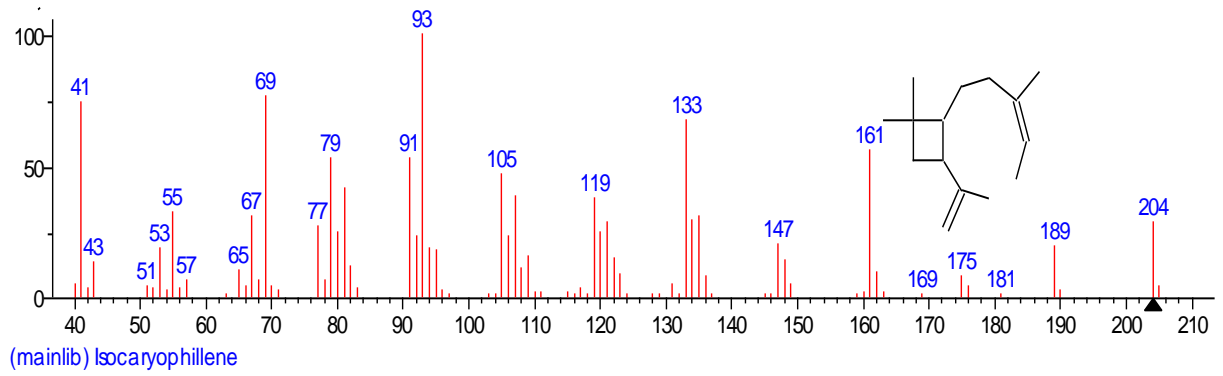
Fig(III -21): Les spectres de masse de **CARYOPHYLLÈNE**; 87-44-5



Fig(III -22): Les spectres de masse de **ALPHA-FARNESÈNE** ; 502-61-4



Fig(III -23): Les spectres de masse de **ISOLEDÈNE** ; N.A



Fig(III -24): *Les spectres de masse de ISOCARYOPHILLÈNE ; N.A.*

8. CCM

+ Révélation par la vanilline sulfurique



8 composés observés :

$$Rf1 = 1.5/8.3 = 0.18072$$

$$Rf2 = 1.9/8.3 = 0.2289$$

$$Rf3 = 3.2/8.3 = 0.3855$$

$$Rf4 = 4.7/8.3 = 0.5662$$

$$Rf5 = 5.3/8.3 = 0.6385$$

$$Rf6 = 6/8.3 = 0.7228$$

$$Rf7 = 7/8.3 = 0.8433$$

$$Rf8 = 8.1/8.3 = 0.9759$$

✚ Révélation par l'acide phosphomolybdique

5 composés observés :

$$Rf1 = 1.6/8.5 = 0.1882$$

$$Rf2 = 3.5/8.5 = 0.4117$$

$$Rf3 = 4.9/8.5 = 0.5764$$

$$Rf4 = 7.2/8.5 = 0.8470$$

$$Rf5 = 8.1/8.5 = 0.9529$$

9. Aromatogramme

Tableau (II -2): Représentés les résultats obtenus

Dilution	Diamètre du halo d'inhibition en mm		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC	<i>Staphylococcus aureus</i>
DMSO	6	6	6
HE sans dilution	12	6	13
Dilution à 1/2	11	6	10
Dilution à 1/4	10	6	8
Dilution à 1/8	6	6	6
Dilution à 1/16	6	6	6
Dilution à 1/32	6	6	6

II.2. Discussion

II.2.1. Discussion botaniques

✚ Caractères morphologiques

Les corps étrangers sont supérieurs à 3 %.

✚ Caractères histologiques

✚ La poudre végétale

II.2.2. Méthode physicochimique

✚ Teneur en cendres

a) Cendres totales

Valeur normale : au maximum 9.0 %.

Valeur obtenue : 12.04 %.

Cette différence de valeur est due à la présence de corps étrangers.

✚ Teneur en eau

Valeur normale : au maximum 100 ml/kg.

Valeur obtenue : 97.5 ml/kg.

Valeur dans les normes ce qui reflète que notre plante a été bien conservée.

II.2.3. Extraction

Valeur normale : au minimum 13 ml/kg.

Valeur obtenue : R = 12 ml/kg.

La teneur en HE est légèrement inférieure.

II.2.4. Densité

Valeur normale : Minimum 0.878. Maximum 0.892.

Valeur obtenue : 0.883.

II.2.5. Indice de réfraction

Valeur normale : Minimum 1.455 Maximum 1.466.

Valeur obtenue : 1.465

II.2.6. Indice de polarisation

Valeur normale : Comprise entre -12.5° et -7° .

+ Dilution de 100 μ l dans 5 ml d'alcool

Valeur obtenue : -12°

+ Dilution de 50 μ l d'HE dans 5 ml d'alcool

Valeur obtenue : -11.5°

II.2.7. CPG-SM

Tableau(II -3): La qualite de l HE ne repond pas aux normes exigees par la pharmacopee europeenne.

Composé	Valeur ph eu	Valeur trouvee
Limonene	Inf 1%	3.4
Eucalyptol	Inf 2.5%	7.7
3 octanone	Inf 1%	Absent
Camphre	Inf 1.2%	18.5%
Linalol	Entre 20 – 45%	1.4%
Acetate de linalyle	25-46%	Absent
Terpineol	0.1-6%	Absent
Acetate de lavandulyle	Sup 0.2%	Absent
Lavandulol	Sup 0.1%	Absent
Alpha terpineol	Inf 2%	3

II.2.8. Aromatogramme

L HE ne possede pas une activite antibacterienne interessante.

CONCLUSION

CONCLUSION

lavande (*Lavandula officinalis*); plante très connue dans l'Algérie est utilisée pour ses propriétés culinaires et pharmacologiques; elle est surtout stomachique, cholagogue, antispasmodique, anti-vomitif, contre grippe et refroidissement et antiseptique. Selon la littérature l'huile essentielle de cette espèce renferme un grand pourcentage en pulégone.

Lavandula officinalis Notre travail a porté sur une étude botanique, analytique et microbiologique de pouliot de nord Afrique (batna).

L'huile essentielle de *Lavandula officinalis* pouliot a été soumise à des différentes méthodes analytiques; afin de contrôler sa qualité, on a essentiellement recours à des méthodes chromatographiques.

Dans notre étude, nous avons analysé l'huile essentielle de notre échantillon par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).

Le couplage CPG/SM nous permet de dire que le chémotype de cette *Lavandula officinalis* est (Santolina triène) avec des pourcentages considérables en limonène et Camphre. Ce Bornéol est totalement différent des données de la littérature et aussi à une étude tunisienne qui classe la menthe pouliot en trois chémotypes:

Notre étude microbiologique a révélé que l'huile essentielle est surtout active sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

- [1]- **Dr A.Zhiri-D. Baudoux** .Huiles essentielles chémotypées et leurs synergi
Edition inspir development
- [2]- **Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010.** Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p
- [3]-**Besombes C., 2008.** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. Thèse de doctorat. Université de La Rochelle, 289p.
- [4]-**J. Brunechon, 1987,** Pharmacognosie, Ecole technique de documentation, Ed. Ravoilie.
- [5]-**Bernard T., Periau F., Brav O., Delmas M. & Gaset A., 1988.** Extraction des huiles essentielles. Chimie et Technologie. Information chimu
- [6]- **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.p: 915.
- [7]- **Jean BRUNETON., 2003.** Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. 3eme édition. 65p.
- [8]- **Hurabielle M., 1980.** Abrégé de matière médicale pharmacognosie, tome 1. Masson . Paris. 123P.
- [9]- **Mlle SEGUIN., 1996.** l'Université V PARIS-DESCARTES. Paris.56P. M. TILLEQUIN, de l'Université Paris V PARIS-DESCARTES
- [10]-**SOUSA EMBD., chiavone – Filho .O, .Moreno .M.T.,silva .D.N., Marques.M.O.M.et Meireles .M.A.F.(2002).**Experimental .Results for Extraction of essential oil from. lippia sidoides cham .using pressurized carbon dioxide .brajilian journal of chemical engineering. 19 (02), p229-241.
- [11]-**ADIO.M.(2005)** Isolation and structure elucidation of Sesquonoids from the essential oils of some liver zorts (Hepatical), Thes pour le degree du Dr, rer, national . a l'institut de la chimie organique, universite de Hambourg, 280p.
- [12]-**PARFUM.L'EXPO.(2002)** le monde magique du parfum une exposition propossée par le comité française du parfum fondation Claude verdan .

Références Bibliographiques

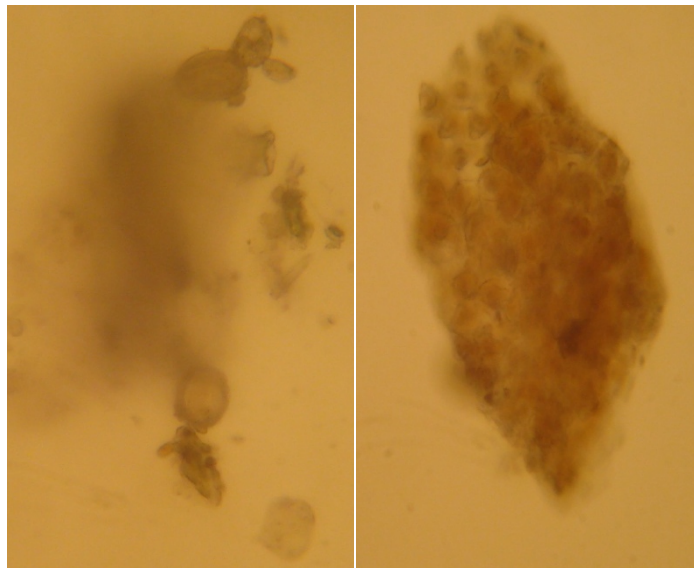
- [13]- **MAACH A.ET, JEMALI A., 1986.** Etude des caractéristiques physicochimiques des HE de deux plantes aromatiques cultivées au Maroc: Menthe Naa Naa Abdi, Coriandre. IAV Hassan II, Rabat, Maroc.
- [14]- **BLAYN J-F. (1980)** ; Parfums Cosmétique Arômes, N°117.
- [15]-**Valnet M., 2005.**Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. Journal of Food Microbiology.85,p:73-81.
- [16]- **Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18, p: 435-448.
- Références Bibliographiques
- [17]- **Richard F., 1992.** Manuel des corps gras, Paris, Ed: Lavoisier, Tec.&Doc., p :1228-1242.
- [18]- **Multon, J.L, 1982.** Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés Céréales, oléagineux, aliments pour animaux. Lavoisier Technique & Documentation ,Paris Apria. Volume 1, 576p.
- [19]- **Madhavi D. L., Deshpande S. S. & Salunkhe D. K., 1996.** Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York. P: 65
- [20]- **Caillet S. Lacroix M., 2007.** Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. INRS-Institut Armand-Frappier, (RESALA). P :1- 8.
- [21]- **Carson C.F., Rilley T.V., Bosque F., 2002.** Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, p:264-269.
- [22]- **Davidson P.M., 1997.** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology*.43, p:148-155.
- [23]- **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Malaleuca* *Microbiology* .88, p:170-175.

Références Bibliographiques

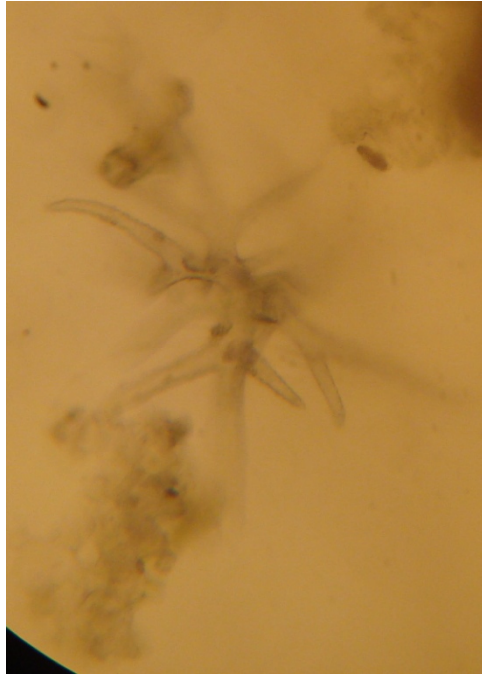
- [24]- **Wendakoon K.& Saguchi N.A., 1995.** Methods of asses quality and stability of oils and fatcontaining foods .AOCS. press, champaign
- [25]- **Cox S.D., Gustafson J.F., Warmington J.R. &Wyllie S.G.,1991.** In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Malaleuca alternifolia essential oils. Journal of Applied Microbiology .88, p:170-175.
- [26]- **Dorman H. J. D. & Deans S. G. , 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. 88,p: 308-316.
- [27]- **Lis-Balchin M.,2002.**Lavender: the genus Lavandula. Taylor and Francis, London.p: 37, 40,50, 155-20
- Références Bibliographiques
- [28]- **Vokou D., Kokkini S. & Bressiere J.M.,1988.** Origanum onites(Lamiaceae) in Greece Distribution , volatile oil yield, and composition . Economy botanic. 42, p:407-412.
- [29]- **Utree G., 2002.**
- [30]- **Chao S.C, Young D.G. &Oberg G.J., 2000.** Screening for inhibitory activity of essential oils on selected Bacteria, Fungi and viruses. Journal of Essential oil Research. 12, p:639-649.
- [31]- **Longevialle P., 1981.** Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson,Paris.p :32-35
- [33]- **Pibiri M.C, 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p :177.
- [34]- **Bruneton J. 1993.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc,
- [35]- **Franchomme P., Pénoel D. & Reverdy M.E., 1990.** Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information.L'aromathérapie exactement. R.J Editeur. Limoges. 2,p :73-227.
- [36]- **Inouye S., 2003.** Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1).International journal
- [37]- **Lis-Bachlin, 2002.** Selon **Quezel et Santana 1963)**

ANNEXES

Annexes



Annexes



RESUME

La phytoaromathérapie est la plus vieille thérapeutique du monde. Elle a toujours existé puisque les plantes n'ont jamais cessé d'être utilisées comme plantes condimentaires, médicinales et rituelles (thym, estragon, basilic, *Lavandula officinalis*). Notre travail a porté sur une étude analytique et microbiologique de la *Lavandula officinalis*, dans la région batna .

L'huile essentielle de la *Lavandula officinalis* a été soumise à des différentes méthodes analytiques; afin de contrôler sa qualité, on a essentiellement recours à des méthodes chromatographiques. Dans notre étude, nous avons analysé l'huile essentielle de notre échantillon par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM). Le couplage CPG/SM nous permet de dire que le chémotype de cette *Lavandula officinalis* est (Santolina triène -type) avec des pourcentages considérables en Bornéol et Camphre

فيتو طب الروائح هي أقدم علم المداواة عالميا , وهي موجودة دائما بما أن النباتات لا تنقطع استعمالاتها ,مثل نباتات الطهي ,الطبية والطقسية (الزعتر ,الطرخون , الريحان , الخزامى) . وقد ركز عملنا على الدراسة التحليلية والميكروبيولوجية للخزامى في منطقة باتنة. تخضع الزيوت الأساسية للخزامى إلى طرق تحليلية مختلفة لمراقبة النوعية، ونحن نستخدم بشكل رئيسي الطرق الكروماتوغرافية. في دراستنا، قمنا بتحليل الزيوت الأساسية من عينة لدينا من قبل الكروماتوغرافيا في الطور الغازي مقرونة بمطيافية الكتلة (CPG / SM)، اقتران (CPG/SM) يسمح لنا أن نقول إن أنواع العلاج الكيماوي للخزامى من نوع (سانتولينا تريان) مع نسب كبيرة البورينيول والكامفر.

