



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



## **Université Amar Telidji- Laghouat**

**FACULTÉ : Filière :** Sciences Biologiques

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

### **MÉMOIRE DE MASTER**

**FILIÈRE :** Sciences Biologiques

**OPTION :** Biochimie Appliquée

#### **Thème**

Etude *in vitro* des activités antioxydante et antibactérienne  
d'huiles essentielles et de l'extrait méthanolique de l'espèce  
cultivé *Lavandula latifolia Medik*

**Présenté par :** MAYOU Ahlam  
BELKESSA Sofiane  
CHEROUIK Rania

#### **Jury de soutenance :**

**Présidente :** M<sup>me</sup>NIA Samira

**Examineur :** Mr BERRAMDANE Tayeb

**Encadreur :** M<sup>me</sup>. BOUSSOUSSA Hadjer

**Co-encadreur :** M<sup>me</sup>. GUELLOUMA Fatima Zohra

**Promotion : JUIN 2022**

# *Remerciements*

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

*Ce travail n'aurait pas été possible sans l'intervention consciente, d'un grand nombre de personnes, Nous souhaitons ici les remercier.*

*Il ne nous serait pas possible de présenter ce mémoire sans témoigner notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à nos promotrices Mme BOUSSOUSSA Hadjer et Mme GUELLOUMA Fatima Zohra pour avoir accepté de nous encadrer et dirigé. Notre reconnaissance va à Mme AOUISSI Fatima pour leur aide remarquable et leur soutien.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury: Mme NIA Samira et Mr. BERRAMDANE Tayeb pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Ahlam, Sofiane ET Rania*

# ***Dédicaces***

*En ce moment particulier dans ma vie,*

*Je tiens à dédier ce modeste travail à :*

## ***Mon cher papa***

*Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaire pour que je réussisse, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me*

*Donner l'aide et à me protéger*

## ***Ma chère maman***

*Qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère et ma Gratitude profonde que dieu vous*

*gardes et protèges pour moi inchallah.*

## ***A mes chères sœurs :***

*Mebarka, Asma, Faiza , Zineb, Soumaia, Nardjes et Yasmine*

## ***A mes chers frères :***

*Oussama, Omar*

## ***Mes belles fleurs :***

*Nour et Rihab*

*A tout ma famille*

*A mon promotrice*

*A tous mes amis et camarades*

***AHLAM***

# **Dédicace**

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce travail à ceux qui quels que soient les termes embrassés je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère. J'implore Dieu le tout puissant de vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A la femme, que ses dévouements et ses sacrifices firent pour moi un encouragement, celle qui a guetté mes pas et m'a couvé de tendresse : ma chère maman. Vous m'avez aidé et soutenu dès ma naissance avec une affection renouvelée. Je ne pourrais jamais vous exprimer la profondeur des sentiments que je vous éprouve.*

*A l'homme, mon précieux offre de Dieu, qui doit ma vie, ma réussite et mon respect : mon cher papa. Ce mémoire est le résultat de sacrifice dont vous avez fait preuve de l'encouragement et le soutien que vous ne cessez de manifester, j'espère que vous y trouverez le fruit de votre semence et le témoignage de ma grande fierté de vous avoir*

*A mes deux frères, mes soldats et mes protecteurs, qui ont le luxe de me procurer le bonheur et la joie de vivre.*

*A ma très chère sœur*

*A mes chers amis Nabila et Khadidja qui m'ont encouragé à réaliser ce travail.*

**Rania**

## ***Dédicaces***

*Je remercie, tout d'abord dieu tout puissant de nous avoir donné la persévérance et l'obstination de parcourir notre chemin scientifique*

***A mon père « Qu'Allah lui fasse miséricorde et fasse de sa demeure le paradis »***

*J'ai toujours souhaité t'avoir avec moi en ces moments de gloire, que faire devant la volonté du tout puissant qui t'a choisi pour être auprès de lui inchallah dans son vaste paradis , mais je sais que tu nous observe de là ou ,je veux que tu sois fier de moi et de ce que j'ai accompli grâce à tes encouragement. « tu seras toujours vivant à l'intérieur de nous papa »*

***A ma chère maman « ma vie »***

*A toi qui m'as tout donné, sans rien demander, tu es le secret de mon succès, Tu as toujours été derrière moi pour me motiver, tu m'as toujours aidé à me relever , tu étais le bouclier qui m'a protégé*

*Maman tu es la personne la plus précieuse dans ma vie, les mots ne suffiront jamais a raconté le rôle que tu as joué Je t'amie maman*

***À mon cher oncle« Hocine »***

*Je te dédie mon travail, Tu as toujours été mon deuxième père , tu as énormément contribué à ce que je termine mes études et à la réalisation de ce travail.*

***A mes frères, A ma sœur, A toute ma famille, A mes amies***

*Je tiens également à ne pas oublier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la bonne réalisation de ce travail*

***Sofiane***

## Résumé

Notre étude vise à connaître les activités biologiques du plant de (*Lavandula latifolia* L), et nous nous sommes concentrés dans notre travail sur l'activité antibactérienne et l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles.

Les composés phénoliques totaux de notre extrait méthanolique ont été quantifiés par la méthode classique de Singeteton et Rossi, Où nous avons constaté que l'extrait méthanolique de notre plante contient une quantité importante en phénols totaux que nous avons estimé à (37,5±0,272 mg EAG / g)

L'activité antibactérienne a été évaluée par deux méthodes, méthode de diffusion sur disque ce qui a été fait sur trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) par comparaison avec l'antibiotique standard (Gentamicine), où les résultats obtenus ont montré que les deux souches (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) ont une résistance à l'huile essentielle et à l'extrait méthanolique, contrairement à la souche bactérienne (*Pseudomonas aeruginosa*) qui s'est révélée sensible à l'huile essentielle de lavande. La deuxième méthode est celle de microdilution qui nous a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) et bactéricide (CMB) de nos huiles essentielles.

L'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles de notre plante a été étudiée par deux des méthodes les plus courantes : le test de DPPH et la capacité antioxydante totale (CAT), Lorsque les résultats ont été démontrés dans le test DPPH (exprimé par IC<sub>50</sub>), l'efficacité de l'extrait de méthanol a été estimée (IC<sub>50</sub>=0,152±0,001mg/ml) supérieure à celle de l'huile essentielle (IC<sub>50</sub>=5,085±0,005mg/ml). En ce qui concerne le test de la capacité antioxydante totale (CAT), les résultats ont montré que l'efficacité de l'extrait méthanolique est aussi plus forte que l'huile essentielle, on constate que l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de notre plante présentent une forte capacité antioxydante totale, (3,955±0,055 mg EAA/1g EXS) pour l'HE et (6,455±3,998 mg EAA/1g EXS) pour l'extrait méthanolique.

**Mots-clés :** *Lavandula latifolia* L, composés phénoliques, Huiles essentielles, test DPPH, la capacité antioxydante totale (CAT), l'activité antibactérienne, méthode de diffusion sur disque, méthode de microdilution.

## Abstract

Our study aims to know the biological activities of the lavender plant (*Lavandula latifolia* L), and our work has focused on the antibacterial and antioxidant activities of methanolic extract and essential oils.

The total phenolic compounds of our methanolic extract were quantified by the classical method of Singleton and Rossi, where we found that the methanolic extract contains a significant amount of polyphenols which we estimated at  $(37.5 \pm 0.272 \text{ mg EAG/g})$ .

Two methods were used for the antibacterial activity evaluation, disk diffusion method which was done on three bacterial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*) by comparison with the standard antibiotic (Gentamicin), the obtained results showed that both strains (*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) have resistance to essential oil and methanolic extract. However, *Pseudomonas aeruginosa* was found to be sensitive to lavender essential oil. The second method is that of microdilution which allowed us to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of our essential oils.

The antioxidant activity of the methanolic extract and essential oils of our plant was studied by two common methods: the DPPH test and the total antioxidant capacity (TAC), when the results were demonstrated in the DPPH test (expressed by  $IC_{50}$ ), the efficacy of the methanol extract was estimated ( $IC_{50} = 0.152 \pm 0.001 \text{ mg/ml}$ ) greater than that of the essential oil ( $IC_{50} = 5.085 \pm 0.005 \text{ mg/ml}$ ). Regarding the test of total antioxidant capacity (CAT), the results showed that the effectiveness of methanol extract is stronger than essential oil, it is found that both methanol extract and essential oil of our plant have a high total antioxidant capacity,  $(3.955 \pm 0.055 \text{ mg EAA/1g EXS})$  for the EO and  $(6.455 \pm 3.998 \text{ mg EAA/1g EXS})$  for the methanolic extract.

**Keywords:** *Lavandula latifolia* L, phenolic compounds, essential oils, DPPH test, total antioxidant capacity (TAC), antibacterial activity, disc diffusion method, microdilution method.

## المخلص

تهدف دراستنا لمعرفة الأنشطة البيولوجية لنبات الخزامة *Lavandula latifolia L*، وركزنا في عملنا هذا على النشاط المضاد للبكتيريا والنشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي والزيوت العطرية .

قمنا بتقدير كمية الفينولات الكلية بطريقة Singleton et Ross والتي تعتمد على التغير اللوني لكاشف Folin-Ciocalteu، حيث وجدنا بأن المستخلص الميثانولي لنباتنا يحتوي على كمية معتبرة من الفينولات الكلية والتي قدرناها بـ  $50,37 \pm 0,272 \text{mg EAG / g}$

تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات من خلال طريقتين ، طريقة نشر قرص الأجار والتي تمت على ثلاث سلالات بكتيرية (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*) عن طريق المقارنة مع المضاد الحيوي القياسي (Gentamicine)، حيث اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها ان السلالتين (*Escherichia coli, Staphylococcus aureus*) اظهرت مقاومة ضد الزيت العطري والمستخلص الميثانولي الذين تم اختبارهما على عكس السلالة البكتيرية (*Pseudomonas aeruginosa*) التي كانت حساسة ضد الزيت العطري، اما الطريقة الثانية فكانت طريقة البئر، والتي مكنتنا من تحديد الحد الأدنى للتركيزات المثبطة (CMI) والحد الأدنى لتركيزات المبيدة للجراثيم (CMB)

تمت دراسة النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي و الزيت العطري لنباتنا بواسطة طريقتين الأكثر شيوعا وهما اختبار DPPH و اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، حيث أظهرت النتائج في اختبار الـ DPPH و المعبر عنها بـ  $IC_{50}$ ، أن فاعلية المستخلص الميثانولي و المقدره بـ  $0,152 \pm 0,001 \text{mg/mL}$  أكبر من الفاعلية الزيت الأساسي و المقدره بـ  $5,085 \pm 0,005 \text{mg/mL}$ ، أما عن اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT) فأظهرت النتائج أن فاعلية المستخلص الميثانولي و المقدره بـ  $6,455 \pm 3,998 \text{mg EAA/1g EXS}$  أكبر من فاعلية الزيت الأساسي لنباتنا و المقدره بـ  $3,955 \pm 0,055 \text{EAA/1g EXS}$

**الكلمات المفتاحية:** الخزامة، المركبات الفينولات، الزيوت العطرية، اختبار DPPH، اختبار القدرة الكلية المضادة للأكسدة (CAT)، النشاط المضاد للميكروبات، طريقة نشر قرص الأجار ، طريقة البئر،

## Table des matières

Liste des abréviations.....	<b>i</b>
Liste des tableaux.....	<b>iii</b>
Liste des figures.....	<b>iv</b>
Introduction.....	<b>2</b>

### Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques.....	<b>05</b>
I.1. Une plante médicinale.....	<b>05</b>
I.2 . Les plantes aromatiques.....	<b>05</b>
I.3. Le Métabolisme végétale.....	<b>05</b>
I.3.1.Métabolites primaires.....	<b>05</b>
I.3.2.Les métabolites secondaires.....	<b>06</b>
a. Les alcaloïdes.....	<b>06</b>
b. Les composés phénoliques.....	<b>06</b>
c. Les huiles essentielles.....	<b>07</b>
c.1.Classification des huiles essentielles.....	<b>07</b>
I.3.2.2. Les activités biologiques des métabolites secondaires.....	<b>08</b>
II. Méthodes de la détermination de l'activité antibactérienne.....	<b>09</b>
II.1. Méthodes en milieu solide (méthodes de diffusion) .....	<b>09</b>
A. La méthode de diffusion par disque.....	<b>09</b>
B. La méthode de diffusion en puits.....	<b>09</b>
II.2. Méthode en phase vapeur (ou Microatmosphère).....	<b>10</b>
II.3. Méthode macro-dilution en milieu liquide.....	<b>10</b>
II.4. Méthode en milieu liquide (Méthode de dilution).....	<b>10</b>
II.4.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).....	<b>11</b>
II.5. Méthode de diffusion en gradient (méthode E-test).....	<b>11</b>
III. Méthodes de détermination de l'activité antioxydant.....	<b>11</b>

III.1. Différents types d'antioxydants.....	11
III.1 .1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques).....	11
III.1.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques).....	12
<b>Matériels et méthodes</b>	
II.1.La plante étudiée.....	15
II.1.1.Description botanique de <i>Lavandula latifolia</i> L.....	15
II.1.2. Les caractéristiques systématiques de l'espèce étudiée.....	15
II.1.3. Répartition géographique et habitat.....	16
II.1.4. Utilisations .....	16
II.2. La récolte de l'échantillon.....	17
II.3. Séchage.....	17
II.4. L'extraction .....	18
II.4.1. Les huiles essentielles.....	18
II.4.1.1.Calcul des teneurs en huile essentielle.....	19
II.4.2.Les composés phénoliques.....	19
II.4.2.1. Préparation des échantillons.....	19
II.4.2 .2.Préparationdes extraits.....	19
II.4.2.3. L'estimation de la quantité d'extrait sec.....	20
II.4.2.4. Le rendement.....	20
II.4.3. Quantification des composés phénoliques.....	22
II.4.3.1.Dosage des phénols totaux.....	22
II.4.3.1.1 Principe de la méthode.....	22
II 4.3.2. Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	22
II.4.3.2.1. Principe de travail.....	22
II .4.3.3. Dosage des phénols totaux dans l'extrait méthanolique.....	22
II. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	22

III.1 .Provenance des germes utilisés .....	22
III.2. Le choix du témoin .....	23
III.3. Méthode de diffusion sur disque (méthode qualitatif) .....	24
III. 3.1. Principe.....	24
III.3.2. Protocole expérimentale.....	24
III.3.2.1 Stérilisation du matériel.....	24
III.3.2.2. Réalisation d'une suspension.....	24
III.3.2.3. Ensemencement.....	24
III.3.2.4. Application des disques.....	24
III.3.2.5 .Lecture des résultats.....	25
III.4. Méthode de microplaque (méthode quantitative) .....	25
III.4.1.Protocole .....	25
III.4.1.1.Préparation des dilutions.....	25
III.4.2.Préparation de microplaque.....	26
III.4.2.2 .Lecture et interprétation des résultats.....	26
IV. Étude de l'activité antioxydant.....	26
IV.1. Test DPPH.....	27
IV.1.1.radical libre DPPH .....	27
IV.1.2 .Préparation du réactif DPPH.....	27
V.1.3.Principe de travail pour le DPPH.....	27
IV.2.La capacité antioxydant totale (TAC).....	28
IV.2.1.Le phosphomolybdate.....	28
IV.2.1 .1 Principe.....	28
IV.2.2.Protocole .....	28
<b>Résultats et discussion</b>	
III.1 .Le Rendement d'extraction.....	31
III.1.1 .Rendement d'huile essentielle.....	31

III.1.2. Rendement d'extrait méthanolique.....	31
III.1.3.Teneur en huile essentielle et caractéristiques organoleptique.....	32
III.2.Estimation quantitative des phénols totaux.....	33
III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	35
III.3.1. Méthode de diffusion sur disque (méthode qualitatif).....	35
III.3.2.Méthode de microdilution (méthode quantitative) .....	37
III.4. Evaluation De l'activité antioxydante.....	39
III.4.1. Evaluation de l'activité antioxydante par le radical libre DPPH.....	39
III.4.1.1. L'extrait méthanolique.....	42
III.4.1.2. L' huiles essentielle.....	43
III .4. 2. Capacité antioxydante totale (CAT).....	44
III.4.2.1 L'extrait méthanolique.....	46
III.4.2.2 L'huile essentielle.....	47
Conclusion.....	47
Références Bibliographiques.....	51
Annex.....	62

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Ab** : Absorbance.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC**: American type culture collection.

**CAT** : Capacité antioxydante totale.

**CLSI**: Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CFI**: Concentration Minimal Inhibitrice.

**CMB** : Concentrations Minimales Bactéricides.

**DMSO** : Diméthylesulfoxyde.

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

**EA** : Extrait Aqueux.

**GN**: Gélose Nutritive.

**GAE** : acidegallique

**HE** : huile essentielle.

**IC50** : Concentration inhibitrice de 50% de DPPH.

**I%** : Pourcentage d'inhibition.

**L** : *Lavandula*.

**MH** : Gélose Mueller Hinton.

**Mv** : masse végétale.

**Rd** : Rendement.

**RL**: Radicale Libre.

**T** : Température.

**T(%)** : Teneur exprimé en %.

---

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 01:</b> quelques activités biologiques des métabolites secondaires.....	<b>08</b>
<b>Tableau 02 :</b> Description des deux tests antioxydants spectroscopiques utilisés dans notre étude.....	<b>13</b>
<b>Tableau 03 :</b> La classification scientifique d'espèce ( <i>Lavandula latifolia</i> Medik) .....	<b>16</b>
<b>Tableau 04 :</b> les références des souches étudiées .....	<b>23</b>
<b>Tableau 05 :</b> Le rendement, couleur et aspect de l'extrait méthanolique de la plante <i>Lavandula latifolia</i> .....	<b>31</b>
<b>Tableau06 :</b> durée d'extraction, couleur, aspect et odeur d'huile essentielle de <i>Lavandula latifolia</i> .....	<b>32</b>
<b>Tableau 07 :</b> Teneur en phénols totaux d'extraits méthanolique.....	<b>34</b>
<b>Tableau 08:</b> Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des souches testées.....	<b>35</b>
<b>Tableau(09) :</b> la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	<b>39</b>
<b>Tableau 10 :</b> valeurs d'IC50 obtenus par l'extrait méthanolique et l'HE et de la vitamine C par le test du DPPH.....	<b>41</b>
<b>Tableau 11:</b> Les valeurs des capacités antioxydantes totales des extraits de <i>Lavandula latifolia</i> et de la vitamine C.....	<b>45</b>

---

**Liste des figures**

<b>Figure 01</b> :Les différentes classes des composés phénoliques.....	<b>07</b>
<b>Figure 02</b> : photo illustrant l'espèce <i>Lavandula latifolia</i> L.....	<b>17</b>
<b>Figure 03</b> : photo illustrant le processus de séchage de la plante <i>Lavandulalatifolia</i> L.....	<b>18</b>
<b>Figure 04</b> :photo illustrant le montage d'hydrodistillation de la plante <i>Lavandula latifolia</i> L....	<b>18</b>
<b>Figure 05</b> : photo illustrant la macération de la plante dans le méthanol.....	<b>20</b>
<b>Figure 06</b> :Organigramme de protocole de macération d'extrait de lavandula latifolia.....	<b>21</b>
<b>Figure 07</b> : préparation de dilutions d'HE et d'extrait.....	<b>25</b>
<b>Figure 08</b> :Mesure de la CMI.....	<b>26</b>
<b>Figure 09</b> :Interaction de la DPPH avec les antioxydants.....	<b>27</b>
<b>Figure 10</b> : Courbe d'étalonnages d'acide gallique.....	<b>34</b>
<b>Figure 11</b> :résultats d'HE de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1054 775....	<b>36</b>
<b>Figure 12</b> :résultats d'HE de l'antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ISOLAT.....	<b>37</b>
<b>Figure 13</b> :résultats de microplaque pour déterminer la CMI.....	<b>38</b>
<b>Figure 14</b> : ensemencement des dilutions suivantes (pure, 1/2) sur milieu gélose nutritif.....	<b>38</b>
<b>Figure 15</b> :courbe d'étalonnage représentant la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'acide ascorbique (vitamine C).....	<b>40</b>
<b>Figure 16</b> : Le pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations d'extraits méthanolique et l'HE.....	<b>41</b>
<b>Figure 17</b> :Comparaison de l'activité anti-radicalaire entre L'extrait méthanolique et l'huile essentielle et la vitamine C.....	<b>42</b>
<b>Figure 18</b> :Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.....	<b>45</b>

**Figure 19:**les deux courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations d'extraits méthanéoliqueet l'huile essentielle.....**45**

**Figure 20 :** Comparaison de la Capacité antioxydante totaleentre l'extrait méthanolique et l'huile essentielle .....**46**

**Figure21 :**acide galique.....**63**

**Figure 22 :** le radical libre DPPH.....**63**

**Figures 23 :** résultats de microplaque pour déterminer la CMI.....**64**

# **Introduction**

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'Antiquité pour soulager et traiter les maladies de l'Humanité. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à l'existence de certains, voire, des milliers de composés biologiquement actifs d'origine naturelle qui sont appelés : métabolites secondaires(**Boudjouref M,2011**).

Actuellement, les plantes aromatiques et médicinales possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles et leurs extraits dans la médecine et dans d'autres domaines d'intérêt économique (**Tongnuanchan et Benjakul, 2014**). Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants peuvent être utilisées pour résoudre différents problèmes de santé. Par conséquent, les huiles essentielles et les extraits organiques, en particulier les poly phénols, suscitent un intérêt croissant en tant que sources potentielles de molécules bioactives pouvant être utilisées comme substituts de certaines substances synthétiques (**Bouhaddouda, 2016**).

Ces dernières années, les scientifiques se sont concentrés sur le problème d'augmentation accrue d'infections humaines causées par des bactéries et des champignons pathogènes, car ces micro-organismes nuisent à la qualité de vie et à la sécurité. Les produits chimiques synthétiques sont largement utilisés contre ces micro-organismes. Malheureusement, ces microorganismes ont développé une résistance à de nombreux antibiotiques en raison de l'utilisation négligente d'antibiotiques commerciaux. De plus, ces antibiotiques peuvent parfois provoquer des réactions allergiques et une suppression de l'immunité (**Mazari et al, 2010**).

Actuellement, le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques et la toxicité des antioxydants synthétiques ont conduit les chercheurs dans le monde végétal, notamment les plantes médicinales et culinaires à la recherche de nouvelles molécules naturelles efficaces et sans effets nocifs. De nombreuses études ont montré que la présence de métabolites secondaires confère Poly phénols, alcaloïdes, terpènes et autres substances biologiquement actives (**Boudjouref M,2011 ;Joao et al .,1998**).

D'autre part, le stress oxydatif connu d'être impliqué dans de nombreux mécanismes pathologiques, en particulier le vieillissement cellulaire, l'athérosclérose, le cancer, les maladies auto-immunes et même la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer. En fait,

L'utilisation d'antioxydants synthétiques est suspectée d'effets tétra géniques, mutagènes et cancérigènes à long terme (**Toure ,2015**).

L'Algérie, de par sa situation géographique, offre une riche variété de végétation. Une sorte de nombreuses plantes médicinales et aromatique y poussent spontanément. L'intérêt pour ces plantes n'a pas cessé à croire ces dernières années. Pour cela, nous nous sommes intéressés à l'une des espèces de Lamiacées : « *Lavandula Latifolia* L "aspic ", celle-ci est utilisée comme source importante dans le monde des épices et ces extraits sont connus pour leur capacité antibactérienne et antioxydante (**BENYAGOUB E et al,2014**).

Dans ce contexte, notre travail consiste à étudier le pouvoir des huiles essentielles et des extraits aqueux de la plante (*Lavandula latifolia* L) de la région de Laghouat comme une source naturelle d'antioxydants, et d'estimer également son activité antibactérienne à l'encontre de certains germes pathogènes tels qu'*Escherichia coli* ,*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Ce travail s'organise en trois principales parties :

- **Une synthèse bibliographique** : qui nous résume des informations essentielles sur les plantes médicinales, les activités biologiques des métabolites secondaires, généralités et compositions biochimiques de la lavande, une présentation de l'espèce étudiée et en fin quelques méthodes d'études des chacune des activités antibactérienne et antioxydante.
- **Une partie pratique** : qui montre une présentation détaillée du matériel et méthodes expérimentales utilisés pour l'extraction et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antioxydante de nos extraits.
- Nous exposons par la suite les résultats obtenus ainsi que leurs interprétations et discussion.

Enfin, nous terminerons par une conclusion et perspectives de recherche.

# Synthèse Bibliographique

### I. Généralités sur les plantes médicinales et aromatiques

#### I.1. Une plante médicinale

Une plante dont au moins une de leurs parties (feuille, tige, racine, graine, écorce ou tout autre organe) peut être employée à des fins thérapeutiques dans le but de prévenir, soigner ou soulager divers maux. Les plantes médicinales peuvent être bénéfiques mais elles ont des effets secondaires nocifs comme les médicaments classiques (**Dutertre ,2016**).

#### I.2. Les plantes aromatiques

Sont des végétaux odorants utilisés en cuisine comme condiments (assaisonnements), aromates, épices ou médicaments. Elles sont parfois associées en mélanges ou employées en phytothérapie grâce à leurs huiles essentielles. Même si elles ont des propriétés intéressantes pour notre santé (dont certaines propriétés médicinales), elles ne constituent pas des traitements thérapeutiques à part entière ( **Yezza et al, 2014**).

Les grands types des plantes aromatiques et médicinales (PAM) utiles à l'homme peuvent être définis par leur principal usage. On peut citer: Plantes pour tisanes, boissons hygiéniques et d'agrément, Plantes à usages cosmétiques, Plantes à usages aromatiques et condimentaires, Plantes à usages alimentaires, Plantes à usages industriels, et Plantes médicinales (**Yezza et al,2014**).

#### I.3. Le Métabolisme végétale

Les métabolites sont des produits intermédiaires du métabolisme. Par définition, le terme métabolite est généralement limité aux petites molécules. Les métabolites ont de multiples fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, les stimulants et les inhibiteurs d'enzymes (**Chemar k,2016**).

*\*Chez les plantes, il existe deux grandes classes des métabolites :*

##### I.3.1. Métabolites primaires

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes

catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques(Macheix et al,2010).

### **I.3.2.Les métabolites secondaires**

Ces produits, à structure chimique souvent complexe sont très dispersés et très différents selon les espèces. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement (Urquiaga et Leighton, 2014).

On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux :

- a) Les alcaloïdes et composés azotés ;
- b) Les composés phénoliques ;
- c) Les composés terpéniques.

#### **a. Les alcaloïdes**

On peut définir de manière simple « un alcaloïde est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe ». Les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative. On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement, les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés (Badiaga, 2014).

On estime actuellement que plus de 8 000 composés naturels ont été identifiés comme alcaloïdes. Tous les ans, une centaine de nouvelles molécules seraient ajoutées par les scientifiques du monde entier (Badiaga,2014).

#### **b. Les composés phénoliques**

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, grains et bois)(Nabila et al.2012).

Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidins) forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes ; sont des molécules biologiquement actives (Nabila et al.2012).

Ils sont largement utilisée en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires, antimicrobiens (Nabila *et al.*2012).

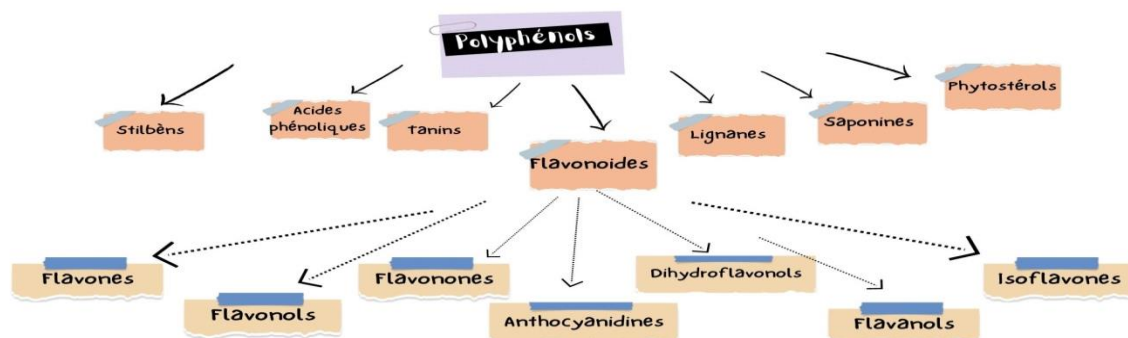


Figure 1 : Les différentes classes des composés phénoliques (Benaarous,2021).

### c. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles, d'odeur et de saveurs généralement fortes, extraites à partir des différentes parties de certaines plantes aromatiques, par les méthodes de distillation, par enfleurage, par expression, par solvant ou par d'autres méthodes (Avlessi, 2018).

Elles peuvent être stockées dans tous les organes des plantes aromatiques (les fleurs, les feuilles, fruits, tiges, rhizomes et racines, les graines, le bois et l'écorces) (Avlessi, 2018).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique utilisée, il s'agit de groupe des terpénoïdes d'une part et groupe des composés aromatiques dérivés de phényle propane, ce dernier est beaucoup moins fréquent (Avlessi, 2018).

#### c.1. Classification des huiles essentielles

Depuis que les essences sont étudiées d'une façon vraiment scientifique, la question qui se pose de la classification de ces produits. elle n'est pas résolue et, à notre avis, elle est bien loin de l'être. dans l'état actuelle des connaissances, la classification botanique est encore impossible ; outre que bon nombre d'huiles essentielles proviennent d'espèces botaniques inconnues(K.Husnu , 2020).

### I.3.2.2 Les activités biologiques des métabolites secondaires

Les produits du métabolisme secondaire qui sont émis en très faible quantité, sont d'une grande variété structurale (plus de 200000 structures définies). L'activité de ces substances dépend principalement de leur nature chimique et de leur concentration (Nsemi, 2010).

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grands groupes ; parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine (Nsemi, 2010).

**Tableau 1:** quelques activités biologiques des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires		Activités biologiques	Références
Composés Phénoliques	<b>Acides</b>	Antioxydants	(Suhaj, M., 2006)
	<b>Phénoliques</b>	Anti-carcinogène	(Masyita et al.2020)
		Antivirale	(Zhu et al .2012)
		<b>Stilbènes</b>	Antioxydant
	<b>Flavonoïdes</b>	Antivirale	(Karak.2018)
		Antioxydant	(Suhaj, M., 2006)
		Anticancéreuse	(Masyita et al.2020)
		Antimicrobienne	(Karak.2018)
		Antivirale	(Karak.2018)
	<b>Lignines</b>	Antioxydant	(Suhaj, M., 2006)
		Antifongique	(Zhu et al .2012)
		Antivirale	(Karak.2018)
	<b>Coumarines</b>	Anti-inflammatoire	(Zhu et al .2012)
		Antispasmodique	(Zhu et al .2012)
		Antibactériennes	(Karak.2018)
		Antioxydant	(Suhaj, M., 2006)
		Anticancéreuse	(Masyita et al.2020)
	Huiles		Antioxydants

essentielles	Antinoceptives	(Tian-yang et al .2017)
	Antiviral	(Tian-yang et al .2017)
	Anticancéreuses	Cahoure.1961)

## II. Méthodes de la détermination de l'activité antibactérienne

A l'heure actuelle, l'activité antibactérienne *in vitro* d'une substance peut être déterminée par un large éventail de techniques classiques, y compris en milieux solides ou liquides (Kalamoni, 2010).

### II. 1. Méthodes en milieu solide (méthodes de diffusion)

Les méthodes de diffusion comprennent deux types :

#### A. La méthode de diffusion par disque

Imprégnés et la méthode de diffusion par puits. Actuellement, la méthode de diffusion à partir de disques est la plus connue et la plus couramment utilisée, et consiste à ensemercer une suspension bactérienne sur un milieu gélosé, dans une boîte de Pétri, puis à imprégner la substance à tester sur le disque de Cellulose, elle-même placée sur une boîte de Pétri. Lors de l'incubation, la substance diffuse dans la gélose (en surface et/ou en masse), ce qui crée un gradient de concentration en fonction de la substance (Fontanayet al, 2015).

#### B. La méthode de diffusion en puits

Le principe de cette technique est similaire à celui de la diffusion sur disque. Elle consiste à creuser un trou de 6 à 8 mm de diamètre dans la gélose. Un volume fixe d'extrait végétal est ensuite introduit dans le puits d'agar perforé et incubé à une température et une durée optimales en fonction du microorganisme testé (Dasetal, 2010).

Pour ces deux techniques, L'activité antibactérienne peut être divisée en trois niveaux :

- faible activité (zone d'inhibition  $\leq$  12 mm) ;
- activité moyenne (12 mm zone d'inhibition=20 mm)
- forte activité (zone d'inhibition  $\geq$  20 mm) (A. Bouyahya et al,2017)

### II.2. Méthode en phase vapeur (ou Microatmosphère)

Dans cette technique, le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Après incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque (zone d'inhibition) dont le diamètre est mesuré par cm ou mm (Degryse *et al.*, 2008).

### II.3. Méthode macro-dilution en milieu liquide

La méthode de macro-dilution était parmi les premières à être développée et sert toujours de méthode de référence. Le principe de base de ce dosage est le même que le dosage de la micro-dilution au bouillon. Mais le test est effectué dans des tubes à essai contenant des concentrations différentes de l'agent antimicrobien avec le même volume. Les tubes sont inoculés avec des microorganismes d'essai à des concentrations standard. Tous les tubes de dosage doivent être incubés pendant 18-24 h dans un incubateur d'air ambiant à 35-37 °C. Après l'incubation, les tubes sont examinés pour détecter les changements de turbidité comme indicateur de croissance. La CMI de l'extrait de plante peut être déterminée par la concentration la plus faible de l'agent antimicrobien qui inhibera la croissance visible du microorganisme testé (Schwalbe *et al.*, 2007; Das *et al.*, 2010).

## II. 4. Méthode en milieu liquide (Méthode de dilution)

Les méthodes de dilution sont les plus appropriées pour la détermination des valeurs de concentration minimales inhibitrice (CMI) d'un extrait, d'une huile essentielle ou d'une substance pure (Rios *et al.* 1988). Car elles offrent la possibilité d'estimer la concentration de l'agent antimicrobien testé dans la gélose (dilution d'agar) ou dans le bouillon (la micro-dilution ou la macro-dilution). Ces méthodes peuvent être utilisées pour mesurer quantitativement l'activité antimicrobienne *in vitro* contre les bactéries et les champignons (Balouiri *et al.*, 2016).

La technique consiste à introduire l'inoculum dans une gamme de concentration décroissante en huile essentielle ou l'extrait. L'ensemble du tube inoculé est incubé à la température optimale de la croissance du germe pendant 24 à 48h. après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI de l'huile essentielle ou l'extrait qui est le premier tube dépourvu de croissance bactérienne (brahimi, 2019).

## II. 4.1. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), correspond à la plus faible concentration d'antimicrobiens qui inhibera la croissance visible des microorganismes après une incubation durant de 18-24 (Andrews, 2001). Cette valeur permet de classer une souche bactérienne dans les catégories: "Sensible" ; "résistante" ; "intermédiaire"(Genné et Siegrist Hans, 2003).

## II. 5. Méthode de diffusion en gradient (méthode E-test)

L'E- test de la société *bio Mérieux* est employé pour mesurer la sensibilité dans la plupart des conditions. Il est particulièrement pratique à utiliser avec des germes pathogènes anaérobies qui poussent mal en bouillon de culture mais bien sur gélose. Les bactéries anaérobies que l'on ne pourrait pas tester par la méthode de Kirby-Bauer (bouillon transféré sur pétri) peuvent être testées en appliquant directement les bandelettes de l'E-test sur la surface des boîtes de gélose ensemencées avec les pathogènes anaérobies. En générale, on dispose des languettes de l'E-test de manière radiale sur la surface. Chaque languette porte un gradient d'un antibiotique et présente une échelle des valeurs de CMI .les CMI sont déterminées au point d'intersection de la zone d'inhibition et de l'échelle des CMI de la languette (Lansing M , Joanne M et al ,2018).

## III. Méthodes de détermination de l'activité antioxydante

Un antioxydant peut être défini comme une substance capable, à faible concentration, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher leur oxydation. Des informations tirées de la bibliographie ont indiqué que les plantes possèdent des propriétés antioxydantes dues en grande partie à la quantité de polyphénols qu'elles contiennent(Maleki et al,2019).

### III. 1. Différents types d'antioxydants

Les antioxydants sont de deux types ; antioxydants non enzymatiques et des antioxydants de nature enzymatique.

#### III. 1.1. Les antioxydants endogènes (enzymatiques)

Un stress oxydatif (ou oxydant) peut résulter d'une déficience ou absence de production d'enzymes antioxydants. Pour lutter contre les radicaux libres, l'organisme peut faire appel à des enzymes comme la peroxydase, la catalase, le superoxyde dismutase, la glutathionne réductase

(enzyme utilisant NADH) et les enzymes produisant NADH. Elles vont limiter l'action des radicaux libres(Maud B,2015).

### III. 1.2. Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

Toutes ces défenses peuvent être renforcées par des apports exogènes en :

- ✓ *La vitamine C ou acide ascorbique*
- ✓ *La vitamine E ou tocophérol*
- ✓ *Le  $\beta$ -carotène*
- ✓ *Flavonoïdes*
- ✓ *Les tanins*
- ✓ *Les coumarines.*(Maud B,2015)

L'activité antioxydant des extraits peut mesurer par des différents tests in vitro. Selon le type de réaction chimique subies par les antioxydants, ces tests peuvent être divisés en deux catégories : ceux qui mesurent le transfert d'électrons et ceux qui mesurent les réactions de transfert de l'atome d'hydrogène (Munteanu et Apetrei,2021).

**Tableau 2 :** Description des deux tests antioxydants spectroscopiques utilisés dans notre étude.

Tests	DPPH	Phosphomolybdate
Mécanismes	Transfert d'électron majoritaire	Transfert d'électron
Principe de méthode	Réaction antioxydant avec un radical organique	réduction molybdate $\text{MoO}_4^{2-}$ au molybdène $\text{MoO}^{2+}$
Nature des molécules testées	Hydrophiles et lipophiles	Hydrophiles et lipophiles
Expression des résultats	$\text{IC}_{50}$ en mg et/ou en mol	$\text{IC}_{50}$ en mg et/ou en mol
Avantages	Très facile à mettre en œuvre Peu couteux	Très facile à mettre en œuvre Peu couteux Fournit une valeur quantitative
Inconvénients	Encombrement stérique de molécules à hauts poids moléculaires. Interférence possible à 515 nm. Forte dépendance au pH et solvant. Radical inexistant in vivo.	Nécessite un peu de configuration Interférence possible à 695 nm.
Référence	(Moharram et Youssef ,2014 ;Cheurfa et Allem, 2016 ;John A. Shields, Jr., Ph.D, 2013).	

# **Matériel et méthodes**

## II. 1. La plante étudiée

### II. 1.1. Description botanique de *Lavandula latifolia* L

*Lavandula latifolia* est un arbuste fortement aromatique atteignant de 35 à 80 cm de haut, tomenteux blanchâtres, à tiges ligneuses très courtes ; Ramifications en rameaux étalés avec 3 à 6 entre-nœuds intra-floraux très fins ; Les feuilles sont couvertes de poils blancs, la partie inférieure est étroitement liée, en forme de cuillère oblongue, se rétrécissant à partir du tiers supérieur, les branches stériles sont plus larges ; Fleurs violettes, difficiles à arracher, à forte odeur de camphre, inflorescences un peu lâches ou intermittentes ; Bractées linéaires verdâtres à petites bractéoles persistantes ; Carpelles rectangulaires (Maud B,2015).

L'épi de lavande est une espèce typique du bassin méditerranéen occidental, de la Ligurie à l'Espagne et l'Algérie. On la trouve le long de la côte tyrrhénienne et de la mer Ligure au nord. Dans d'autres reliefs européens liés aux Alpes, il est situé dans le Massif central et les Pyrénées et est présent entre l'Espagne et l'Algérie (Ben Abdelkader T , 2012).

Pratiquement toutes les parties des plantes peuvent être utilisées. Généralement, ce sont les parties renouvelables : tiges, feuilles, fleurs... qui sont utilisées, plus rarement les racines et écorces(Ben Abdelkader T , 2012).

### II. 1.2. Les caractéristiques systématiques de l'espèce étudiée

Selon la classification APG (AngiospermsPhylogeny Group) de 1998, modifiée en 2003 (APG II), le genre *Lavandula* appartient à l'ordre des Lamiales qui appartient aux Eudicots\* évolués gamopétales (Maud B ,2015).

**Tableau 3** : La classification scientifique d'espèce (*Lavandula latifolia* Medik) (Maud B, 2015).

<b>Règne</b>	Plantes
<b>Sous-règne</b>	Sub-Trinchebionta
<b>Embranchement</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Lavandula</i> L
<b>Espèce</b>	<i>Lavandula latifolia</i> L

## II. 1.3. Répartition géographique et habitat

L'épi de lavande est une espèce typique du bassin méditerranéen occidental. Ailleurs en Méditerranée on le trouve en France (départements des Alpes-de-Haute-Provence, des Hautes-Alpes, des Alpes-Maritimes et de la Drôme). Dans d'autres reliefs européens liés aux Alpes, il est situé dans le Massif central et les Pyrénées et est présent entre l'Espagne et l'Algérie (Maud B, 2015).

## II. 1.4. Utilisations

*Lavandula latifolia* L a des utilisations considérables en médecine, ainsi que dans l'alimentation. Selon la médecine populaire, cette plante possède les propriétés médicinales suivantes : antibactérienne (bloque la génération de bactéries) ; antiseptique (propriété de prévenir ou de ralentir le développement des microbes) ; antispasmodique (réduit les spasmes musculaires et détend également le système nerveux); carminatif (favorise l'évacuation des gaz intestinaux); emménagogue (régule le flux menstruel). La lavande piquante est une plante apicole et peut produire du miel; cependant, comme c'est une plante peu répandue, sauf dans

les vergers et les jardins, il est possible d'obtenir du miel avec des productions occasionnelles et peu monoflorales. Cette lavande est également utilisée pour l'extraction d'huiles essentielles, dans les emballages d'encens et comme insectifuge. Les fleurs sont utilisées pour le parfum du lin (Nabila et al.2012).



**Figure 2 : photo illustrant l'espèce *Lavandula latifolia L***

## **II. 2. La récolte de l'échantillon**

La plante étudiée est la plante de *Lavandula latifolia L* où elle a été récoltée venir à l'aide de monsieur Chouaib Mechraoui le 2 Décembre 2021 (phase végétative) de l'hôpital universitaire de laghouat (alaakidelotfi) .

## **II. 3. Séchage**

Le séchage est optimal après environ 3 semaines, et pendant cette période, les feuilles sont séchées à l'abri de la lumière dans un lieu sec & respirant. La plante a été suspendue dans un endroit sec et chaud non exposé à la lumière, Nous avons changé régulièrement les feuilles de papier journal, sous peine de voir moisir la plante tous les 2-3 jours. Ce processus permet la conservation des principes actifs de la plante et sa protection contre toute dépréciation ou pourriture



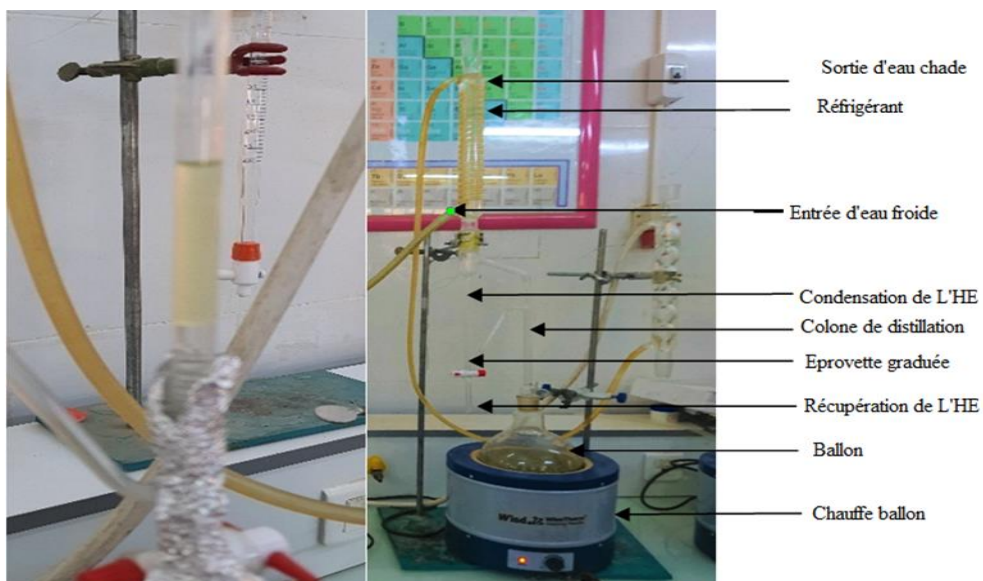
**Figure 3:** photo illustrant le processus de séchage de la plante *Lavandula latifolia L*

## II. 4. L'extraction

### II. 4.1. Les huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles (HE). Pour l'extraction des HE de la partie aérienne (fleurs et feuilles) de notre plante *Lavandula latifolia L*, nous avons utilisé la méthode d'hydrodistillation simple dans notre travail.

Le montage est constitué d'un ballon en verre de 2 L contenant 50 g de matériel végétal broyée grossièrement, 1,25 L d'eau additionnée, placé au-dessus d'un chauffe ballon. Ce dernier est surmonté de l'appareil Clevenger. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, en traversant un réfrigérant se condensent et se séparent en deux phases liquide : une phase aqueuse (eau aromatique) et une phase organique constitué d'huile essentielle. A la fin de l'hydrodistillation, l'huile essentielle est récupérée et conservée dans des tubes bien fermés dans un réfrigérateur à 4 °C.



**Figure 4:** photo illustrant le montage d'hydrodistillation de la plante *Lavandula latifolia L*

## II. 4.1.1. Calcul des teneurs en huile essentielle

La teneur en huile essentielle est définie comme étant le rapport entre le volume d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter. Elle est déterminée par la formule suivante (Goudjilet *al*, 2015).

$$T(\%) = (V/M_0) \times 100$$

T(%) : Teneur exprimé en %

V : Volume en millilitre de l'huile essentielle résultant

M<sub>0</sub> : Masse en gramme du matériel végétal à traiter

## II. 4.2. Les composés phénoliques

### II. 4.2.1. Préparation des échantillons

Après séchage et broyage de la plante avec une machine électrique, nous la tamisons pour obtenir une poudre que nous la conservons dans une boîte jusqu'à ce qu'elle soit utilisée au travail de laboratoire.

### II. 4.2.2. Préparation des extraits

Nous préparons une bouteille en verre dans laquelle nous mettons 10 g de poudre que nous avons préparée, après on ajoute 100 ml de solution de méthanol, le mélange a été agité et incubé pendant 24 heures dans la température du laboratoire.

Après les premières 24 heures, nous filtrons la solution dans un autre flacon, après la récupération de filtrat dans un flacon et on ajoute 100 ml méthanol dans les mêmes conditions d'incubation pendant 24 heures et puis on filtre la solution.



**figure5:** photo illustrant la macération de la plante dans le méthanol

## II. 4.2.3 L'estimation de la quantité d'extrait sec

L'extrait final est vaporisé sous pression réduite à une température de 45 °C pour éliminer le solvant et garder que l'extrait sec.

On ajoute un volume 20 ml de DMSO dilué avec l'eau distillée (20/80 v/v) dans le ballon de rotavapeur pour dissoudre la matière sèche, et on le conserve dans un tube bien fermé à 4°C (réfrigérateur)

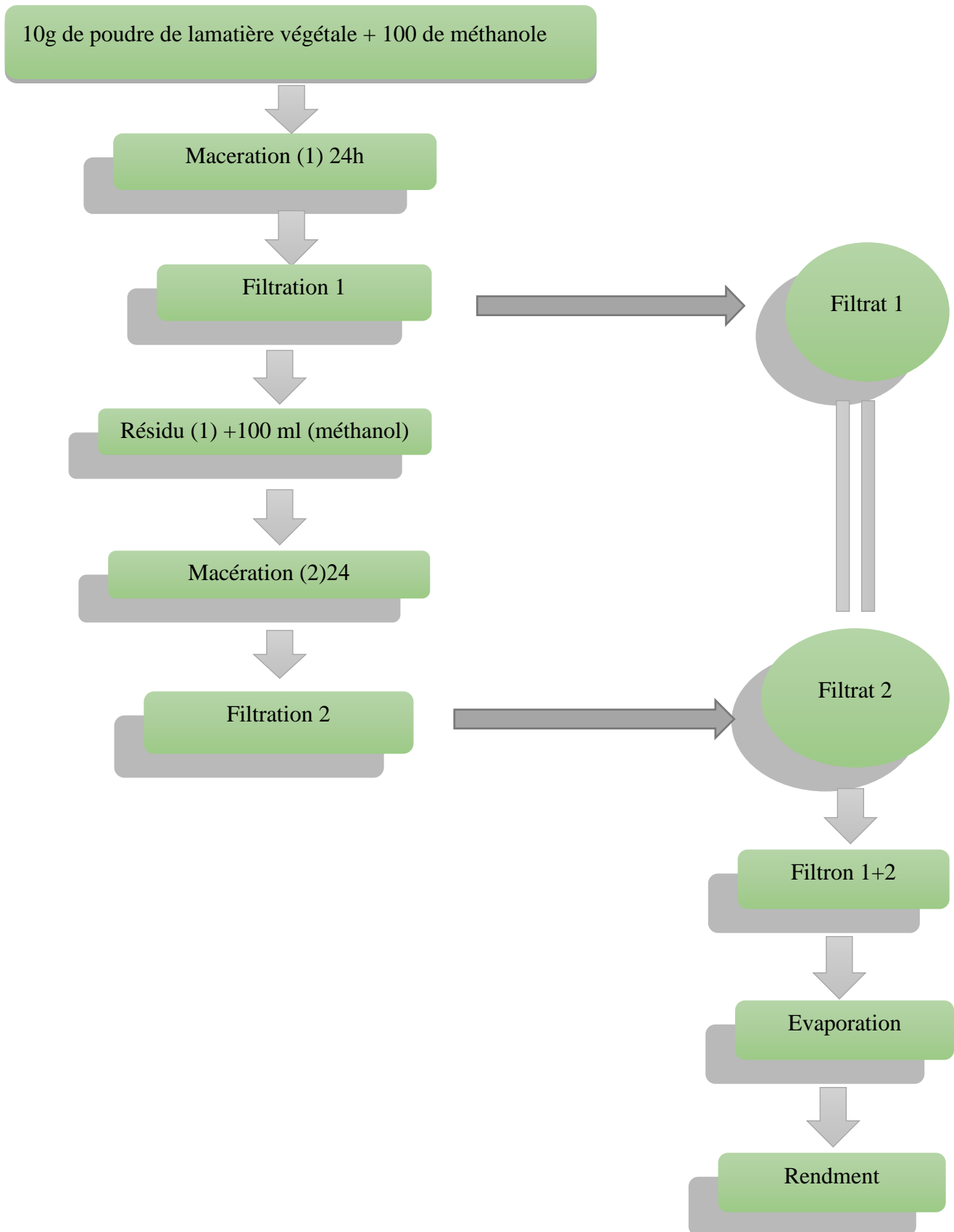
## II. 4.2.4. Le rendement

Correspond au pourcentage entre la masse de l'extrait après évaporation du solvant (Ms) en mg et la masse sèche de l'échantillon végétal (Mv) en mg ,le rendement est calculé par la relation suivante :

$$R(\%) = (Ms / Mv) \times 100$$

- R :Rendment
- Ms:Matière sèche
- Mv:Matière végétale

\*



**Figure6:** Organigramme du protocole de macération de l'extrait de *Lavandula latifolia*

## II. 4.3. Quantification des composés phénoliques

Il existe de nombreuses méthodes d'estimation de la quantité des phénols, la méthode la plus utilisée est celle, classique, de (Singeteton et Ross, 1965)

### II. 4.3.1. Dosage des phénols totaux

#### II. 4.3.1.1 Principe de la méthode

Le dosage des phénols est réalisé par selon la méthode décrite par Dewanto et al. Le principe de la méthode est fondé sur l'oxydation des composés phénoliques par le réactif "Folin-Ciocalteu", qui est un mélange de complexes d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, de couleur jaune. Cette oxydation entraîne la formation d'un nouveau complexe molybdène-tingène de couleur bleu qui absorbe à 750nm (Haddouchi et al,2016).

#### 4.3.2. Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

##### II. 4.3.2.1. Principe de travail

À partir de la solution mère d'acide gallique, on prépare une série de dilution avec des concentrations accrues, Nous prenons de chaque concentration un volume de 100 µl ajouter à 500 µl de de Folin-Ciocalteu [10%], après avoir attendu 2 minutes, nous ajoutons 2 ml de Carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) concentré [2%], le mélange a été agité et incubé pendant 30 minutes dans la température du laboratoire (Belguidoum M,2015).

#### 4.3.3. Dosage des phénols totaux dans l'extrait méthanolique

Le dosage des phénols totaux dans l'extrait méthanolique de *Lavandula latifolia L* a été effectué selon la même procédure citée ci-dessus.

## II. Evaluation de l'activité antibactérienne

Dans un premier temps, l'huile essentielle ainsi que l'extrait de plante ont été testés vis-à-vis de 3 souches bactériennes par deux méthodes : la méthode de microdilution (test microplaque) et la méthode de diffusion sur disque dans l'affirmation, la concentration minimale bactéricide (CMB) en milieu solide a été ainsi déterminée.

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne ont été réalisés au laboratoire d'analyse médicale de centre hospitalier Universitaire de Laghouat (laakidlotfi).

## III. 1 Provenance des germes utilisés

Les souches pathogènes utilisées sont parmi celles qui causent les maladies les plus courantes, ce sont des contaminants fréquents, provoquant ainsi des infections importantes. Nous avons utilisé dans cette étude des souches de références qui sont représentées dans le

tableau ci-dessous. Les bactéries sont des isolats de l'hôpital à partir des urines des patients hospitalisés isolés après l'identification par le personnel de laboratoire et conservés dans des milieux de conservations. Nous avons utilisé dans cette étude des souches de références qui sont représentées dans le tableau ci-dessous.

**.Tableau 4 :** les références des souches étudiées

	Espèces	Références
<b>Bactéries à Gram -</b>	- <i>Escherichia coli</i>	ISOLAT de centre hospitalier Universitaire de Laghouat (laakidlotfi).
	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ISOLAT de UCBE de centre hospitalier Universitaire de Laghouat (laakidlotfi) ATCC 1054 775
<b>Bactéries à Gram +</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	ISOLAT DE centre hospitalier Universitaire de Laghouat (laakidlotfi).

### III. 2. Le choix du témoin

Les antibiotiques se définissent comme des molécules capables d'inhiber la croissance ou même de tuer des bactéries, sans affecter l'hôte (cellules eucaryotes). Les sources principales d'antibiotiques sont les champignons, mais parfois aussi les bactéries (**Van Bambeke et Tumkens, 2008**).

Dans notre travail, l'antibiotique utilisé était la gentamicine (GM). C'est un aminoglycoside utilisé en clinique pour traiter les infections graves à Gram négatif et à Gram positif (nosocomiales). Il a été isolé du genre Gram positif *Micromonospora* en 1963 et est largement distribué dans l'eau et le sol. GM exerce un effet bactéricide dépendant de la concentration et est actif contre une variété de bactéries (**Chen et al, 2014**).

### III. 3. Méthode de diffusion sur disque (méthode qualitatif)

#### III. 3.1 Principe

Cette méthode est utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits. La méthode de diffusion sur gélose ou la méthode du disque est ainsi imposée et couramment utilisée. Elle donne des résultats qualitatifs, mais a également l'ambition de donner des résultats quantitatifs en mesurant précisément le diamètre de la zone d'inhibition et en utilisant le logarithme du diamètre de la ligne de coordination du C.M.I (A. Tahbaut et J .L . Durosoi, 1979).

#### III. 3.2. Protocole expérimentale

##### III. 3.2.1 Stérilisation du matériel

L'eau physiologique, les milieux de culture, les tubes à essai utilisés pour le préparation de la solution bactérienne et les disques e papier wattman (6mm de diamètre), ont été stérilisés par les U.V sous la hotte(BIOBASE) pendant 10 min.

##### III. 3.2.2. Réalisation d'une suspension

Les bactéries à tester ont été ensemencées sur des boites de pétri contenant le milieu Muller Hinton. Les souches ont été par la suite incubées à 37C° pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir des colonies jeune et bien isolées. Après incubation, quelques colonies bactériennes bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine. L'ensemble a été homogénéisé à l'aide d'un vortex dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile. La concentration des différentes suspensions a été ajustée à 10<sup>6</sup> cellule/ml correspondant à 0,5Mc Ferland ou à une D.O 0,08 à 0,10 par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625 nm (CLSI, 2011).

##### III. 3.2.3. Ensemencement

Dans des boites de pétri, le milieu de culture gélosé MH en surfusion est coulé aseptiquement afin d'obtenir une épaisseur de 4 mm. Après la solidification, un écouvillon stérile imbibé avec la suspension bactérienne fraîchement préparée est étalé à la surface de la gélose à trois reprises, en tournant la boite à environ 60° après chaque application sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose dans le but d'avoir une distribution égale de l'inoculum .On laisse sécher les boites pendant 15 à 20 min (CLSI , 2011).

##### III. 3.2.4. Application des disques

Des disques du papier-filtre de 6mm de diamètre (Wattman n°3), stérilisés au paravant. Qui sont bien immergés et imprégnés d'un volume de 10µL de cette dilution d'huile essentielle ou l'extrait méthanolique des feuilles et des fleurs de *Lavandula latifolia L* sont

déposés à la surface d'un milieu gélosé en boîte de pétri à l'aide d'une pince stérile. Le disque d'antibiotique (Gentamicine) à  $30\mu\text{g}/\text{disque}$  est déposé à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. L'antibiotique est utilisé comme contrôle positif. Les disques de papier-filtre stérilisés de 6 mm de diamètre (wattman n°3) sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile puis imprégnés de  $10\mu\text{l}$  de DMSO 10%, utilisé comme contrôle négative. Après incubation à  $37^\circ\text{C}$  pendant 24 heures. La lecture s'effectue en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de chaque disque à l'aide d'une règle graduée.

### III. 3.2.5 Lecture des résultats

Selon le diamètre d'inhibition, les souches ont été classées en se basant sur leur sensibilité à l'extrait et huile essentielle comme suit (Sfeir et al, 2013) :

- ✓ Résistante pour un diamètre inférieur à 8 mm.
- ✓ Moyennement sensible pour un diamètre compris entre 8-14 mm.
- ✓ Sensible pour un diamètre de 14 à 20 mm.
- ✓ Hautement sensible pour un diamètre supérieur à 20 mm.

### III. 4. Méthode de microplaque (méthode quantitative)

#### III. 4.1 Protocole

##### III. 4.1.1 Préparation des dilutions

Les préparations de dilutions sont réalisées selon le schéma présenté en Figure 7

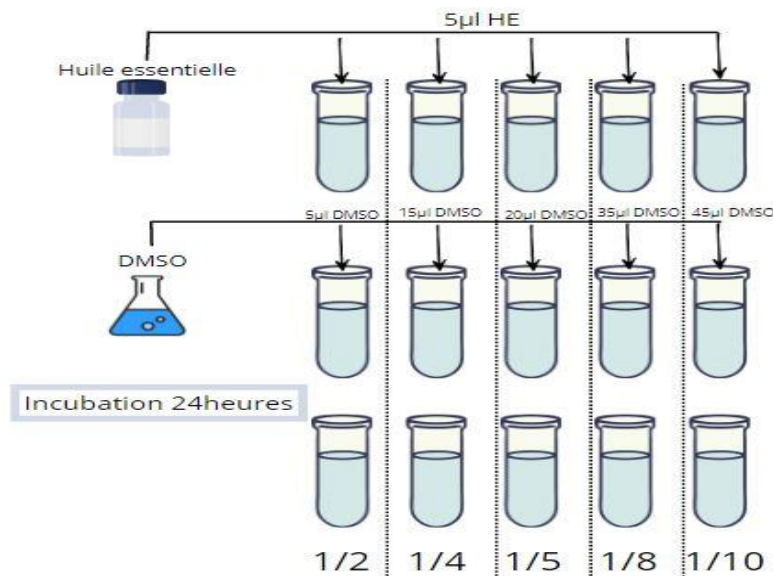


Figure 07 : préparation de dilutions d'HE et d'extrait.

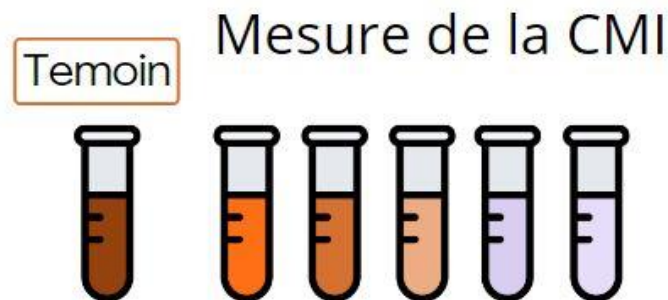
### III.1.2 Préparation de microplaque

- **La colonne 1** : correspond à du milieu de culture seul. Ce témoin permet de confirmer la Stérilité des opérations. 70µL MH+5µL inoculum
- **La colonne 2** : contient du milieu 70 µL MH et la substance à tester à sa plus forte concentration (pure)(250 µL HE ou Extrait) 5µL inoculum. Ce témoin permet de mettre en évidence une interaction éventuelle entre un ou des composants du MH et la substance testée. Si l'absorbance est modifiée dans ce témoin, il faudra en tenir compte dans la détermination de la CMI.
- **Le reste des colonnes** : contiennent les différentes dilutions de notre extrait tout en suivant les mêmes conditions de la colonne 2.

Les microplaques sont par la suite incubées à 37 °C pendant 18 à 24 h.

### III. 4.1.2 Lecture et interprétation des résultats

Les résultats sont obtenus par lecture de la turbidité au spectrophotomètre à 625 nm. Après homogénéisation du contenu des puits grâce à un agitateur de microplaque.



**Figure 08:** Mesure de la CMI

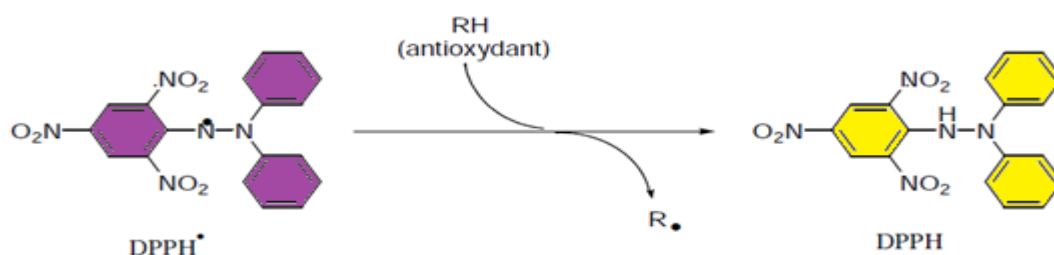
### IV. Étude de l'activité antioxydante

Pour étudier La capacité antioxydante de l'extrait méthanolique et des huiles essentielles de *Lavandula latifolia* on a utilisé le test DPPH (Garcia E. J, 2012), et le test de phosphomolybdate (Prieto et al, 1999). Les deux méthodes dépendent de la coloration et de la décoloration à une certaine longueur d'onde, et ces deux tests sont l'un des moyens les plus simples et les plus rapides pour étudier l'activité antioxydant (Garcia E. J, 2012).

#### IV. 1. Test DPPH

En présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit à la forme non radicalaire de couleur jaune, Ce passage de la première forme à la deuxième est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction de DPPH (Bliss M, 1958).

Cette interaction se fait selon l'équation suivante (Serigne O, 2015).



**Figure 09:** Interaction de la DPPH avec les antioxydants

#### IV. 1.1 radical libre DPPH

Le DPPH (2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl) le radical libre le plus stable en solution méthanolique qui acquiert un électron, ce qui fait que cette acquisition change sa couleur violette, qui est absorbée à la longueur d'une onde de 520nm (Philip, 2004).

#### IV. 1.2 Préparation du réactif DPPH

Pour l'extrait méthanolique :

- ✓ Nous préparons une solution avec une concentration [250 µM]

Pour l'huile essentielle :

- ✓ Nous préparons une solution avec une concentration [200 µM]

#### V. 1.3 Principe de travail pour le DPPH

Le control négatif correspond à l'absorbance de DPPH, pour l'huile essentielle il consiste à mettre dans un tube à essai 500 µl de DPPH et 500 µl de l'éthanol.

Le control négatif de l'extrait méthanolique de la plante consiste à mettre 500 µL et 500 µL de méthanol.

Après la dilution des extraits. 500 µl de la solution de DPPH est ajouté à 500 µL contenant l'extrait dilué à tester de chaque échantillon à différentes concentrations croissantes.

A des fins comparatives, un contrôle positif représenté par une solution d'un antioxydant standard : la vitamine C (l'acide ascorbique) a été utilisé. Son absorbance a

été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons. Toutes les opérations ont été réalisées en duplicata.

$$I\% = (A_0 - A_1) / A_0 \times 100$$

- ❖ A<sub>0</sub> : l'absorbance du témoin
- ❖ A<sub>1</sub> : l'absorbance de solution (DPPH+V.C) après 30 minutes.

Pour calibrer le spectrophotomètre, nous avons préparés un tube à essai qui contient ( 1ml Méthanol pour l'extrait méthanolique) ; (1ml Ethanol pour l'huile essentielle)

- ✓ Sur la base de la variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'extrait et les HE, nous avons tracé une courbe à partir de laquelle nous avons déterminé graphiquement l'IC<sub>50</sub>, qui est définie comme la réduction de la concentration efficace d'antioxydants (extrait ou HE) ou nécessaire pour une inhibition de 50 % du DPPH (**Belguidou M, 2015**).

#### IV. 2. La capacité antioxydant totale (TAC)

La capacité antioxydant totale des extraits a été aussi évaluée par la méthode de phosphomolybdate (**Prieto et al, 1999**).

#### IV. 2.1 Le phosphomolybdate

Le test PPM (PhosPhoMolybdate) est une variante du test DPPH. À ceci Dans le test, l'hydrogène et les électrons sont transférés à partir de composés réducteurs (Complexe oxydant) (**Xin-Hua Chen, 2010**).

#### IV. 2.1 .1 Principe

La capacité antioxydante totale a été déterminée par le test de phosphomolybdate, Il réduit les ions MO<sup>6+</sup> en ions MO<sup>5+</sup> sur la base des antioxydants contenus dans l'extrait. Par conséquent, des complexes phosphate vert-MO<sup>5+</sup> se forment dans des milieux acides dont la force est proportionnelle à la concentration en antioxydants (**Boulimane et Yahiaoui, 2013**)

#### IV. 2.2 Protocole

Pour le test de phosphomolybdate, 200 µl de chaque échantillon dilué est ajouté à 2 ml d'un réactif contenant (0,6 M) d'acide sulfurique, 28 mM phosphate de sodium et 4mM de molybdate d'ammonium. Le tube est coiffé et incubé dans un bain marie à 90°C pendant 90 min, après refroidissement de l'échantillon à la température ambiante, l'absorbance de la

solution aqueuse est mesurée à 695 nm contre blanc (200  $\mu$ l eau distillé +2ml réactif) dans un spectrophotomètre UV. Nous utilisons l'acide ascorbique comme un standard et on les a traités dans les mêmes conditions opératoires.

# **Résultats et discussion**

### III.1 Le Rendement d'extraction

#### III.1.1 Rendement d'huile essentielle

Les rendements moyens en HE de *L.latifolia* ont été exprimés en millilitre par rapport à 50 g de matière sèche de la partie aérienne de la plante. Les parties aériennes de *Lavandulalatifolia* ont fourni une huile essentielle de couleur jaune verdâtre limpide à odeur phénolique très forte avec un rendement moyen d'environ 1,06%.

Le résultat obtenu à partir d'espèce étudié *L. latifolia* est plus riche en huile essentielle. En effet, ce taux est inférieur à celui obtenu par **A. Laghchimi et al, (2014)** (2,4 %) de la plante *Lavandula multifida*.

Cependant, **Benyagoub et al, (2014)**. Ont eux aussi obtenu un rendement en HE de (4,12%) pour l'espèce *Lavandula angustifolia* Mill, ce rendement est supérieur que celui obtenu par notre échantillon (1,06%).

Les résultats obtenus à partir de la plante *Lavandula stoechas* dans les études effectuées par **Benabdelkader et al, (2012)** et de *lavandula officinale* par **Charik S et Kadri Y, (2020)** ainsi que, la *Lavandula maroccana* (Mill) dans des recherches faites par **Soulaimani B et Nafis et al, (2019)** sont égal à 0,34% ; 0,5 % et 0,03% respectivement. Alors ces rendements sont inférieurs par rapport au rendement obtenu dans notre étude. Cette différence, pourrait être expliquée par le génotype des espèces récoltées, la saison de la récolte ainsi que les conditions géographiques et climatiques.

#### III.1.2 Rendement de l'extrait méthanolique

La préparation de l'extrait à partir de la partie aérienne de la plante *Lavandula latifolia* a été effectuée par macération à froid dans le méthanol. Le rendement obtenu, sa couleur ainsi que son aspect sont consignés dans le tableau ci-dessous (tableau 05) :

**Tableau 05** : Le rendement, couleur et aspect de l'extrait méthanolique de la plante *Lavandula latifolia*.

Solvant	Aspect	Couleur	La masse de résidu sec (g)	Rendement%
méthanol	Visqueux	Vert foncé	1,91	19,1%

La masse de résidu obtenu à partir de la partie aérienne de notre plante *Lavandula latifolia* est de 1,91g, ce qui représente un rendement de 19,1%. Nous pouvons juger ce rendement comme important en comparaison avec des études antérieures sur des plantes du même genre. Ainsi, les rendements d'extrait MeOH du *Lavandula antineae* obtenus par **Krimat et al, (2014)** et **Amani et Roumila A, (2019)** sont égaux à 15,1% et 10,51% respectivement.

De plus, le rendement d'extrait méthanolique de *Lavandula latifolia* obtenu dans notre étude est considéré élevé par rapport à celui du même extrait de la plante *Lavandula stoechas* (9,78%) (**Balouiri, 2011**). **Bouhrab et al. (2014)**, ont travaillé sur les deux espèces *Lavandula stoechas* et *Lavandula multifida*, les rendements en extraits éthanoliques obtenus sont de 2,78% et 1,06% respectivement. Ce qui suggère que le solvant (méthanol) utilisé est le meilleur pour l'extraction.

Cette variation du rendement est probablement due à la polarité des solvants, la solubilité, ainsi qu'à d'autres paramètres telle que la concentration du solvant, le pH, la température et le temps ou la méthode d'extraction (**Safdar et al, 2017 ; Quy Diem et al, 2014**).

### III.1.3 Teneur en huile essentielle et caractéristiques organoleptique

La teneur en HE extraite par hydrodistillation de l'espèce *Lavandula latifolia* est égale à 3%. La caractéristique organoleptique et la durée d'extraction sont illustrées dans **tableau (06)** suivant :

**Tableau 06** : durée d'extraction, couleur, aspect et odeur d'huile essentielle de *Lavandula latifolia*.

caractère plante	Durée d'extraction	Couleur	Aspect	Odeur
<i>L. latifolia</i>	3h	Jaune verdâtre	Liquide Visqueux	Odeur caractéristique, très forte.

D'après le résultat obtenu dans le tableau ci-dessous, des caractéristiques similaires ont été trouvées par **Mohammedi Z et Atika F, (2011)** et **Sara K,(2020)** pour les huiles essentielles obtenues par l'hydrodistillation de la plante *Lavandula stoechas L.*

En revanche, les résultats obtenus par **Sidi Boulenouar et Ziane (2003)** et **Laib, (2011)** indiquent que la lavande « *Lavandula officinalis* » provenant de différentes régions de d'Ouchba, Zarifet et Kenitra (au Maroc) ont donné des teneurs en huile essentielle respectives de 0,94%, 0,70% et 0,2%. Alors qu'ils ont trouvé un taux inférieur à celui de notre étude pour la teneur d'HE de *lavandula latifolia*.

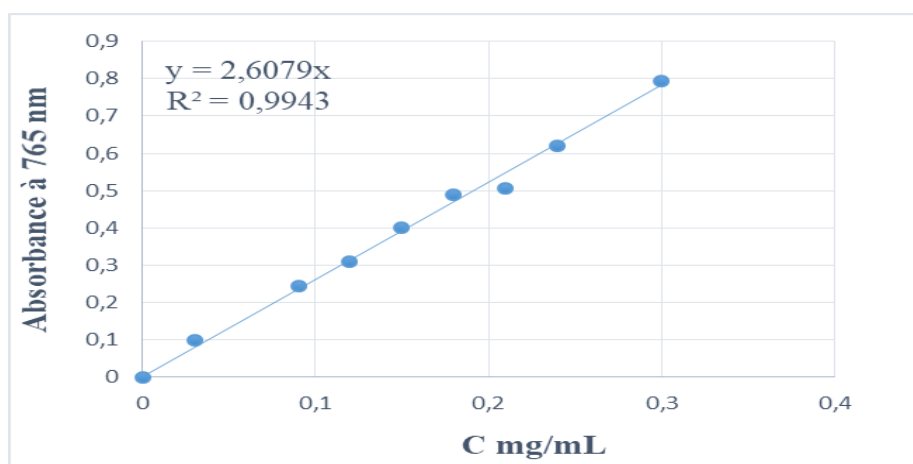
Ces différences de teneurs en HE peuvent être expliquées par les divers paramètres appartenant à deux catégories. Ceux intrinsèques qui correspondent aux espèces, aux organes et à la maturité des plantes, ainsi qu'aux méthodes culturales, à la récolte, les interactions temporelles et environnementales (climat, sol, etc...) et, ceux extrinsèques comprenant l'extraction, le stockage et le conditionnement (**Ben Miri, 2019**).

Selon **Li et al,(2014)**, l'odeur typique des huiles essentielles dépend des organes, des espèces et des origines des plantes, et la majorité des huiles essentielles sont des liquides incolores, lucides et mobiles à température ambiante. Cependant, tout le spectre de couleurs des HE va et fait du jaune au brun foncé avec toute l'échelle intermédiaire de couleurs.

### III.2. Estimation quantitative des phénols totaux

Les composés phénoliques totaux de notre extrait méthanolique ont été quantifiés par la méthode de **Djeridane et al. (2006)** utilisant le réactif de Folin Ciocalteu. L'acide gallique est le standard le plus souvent employé dans cette méthode. Les résultats obtenus sont représentés dans la courbe d'étalonnage (**Figure 09**).

Le taux de phénols totaux est déterminé à partir de l'équation de régression linéaire de la gamme d'étalonnage d'acide gallique. Les quantités de polyphénols correspondantes ont été rapportées en équivalent d'un milligramme d'acide gallique (mg EAG/g d'extrait sec).



**Figure10** : Courbe d'étalonnages de l'acide gallique.

La teneur totale en polyphénols exprimée en milligrammes équivalent d'acide gallique par gramme de l'extrait de *Lavandula latifolia*, est représentée dans le **Tableau 07**.

**Tableau07**: Teneur en phénols totaux d'extraits méthanolique

Extrait	Teneur en phénols totaux : mg EAG / g
Extrait méthanolique	37,5±0,272264

Les résultats du dosage révèlent que la teneur en phénols totaux d'extrait méthanolique égale à (37,5±0,272264mg EAG / g), et c'est beaucoup plus grand que les résultats des teneurs en phénols totaux obtenus par **Eleonora et al,(2022)** dans le domaine alimentaire et pharmaceutique sur la plante *Lavandula angustifolia* (19,22 ±4,16mg EAG / g) et *Lavandula intermedia* (17,06± 3,31mg EAG / g).

Autre travaux sur l'activité antioxydante des composés phénoliques de *lavandula stoechas*, où les valeurs des teneurs en phénols totaux ont été estimées à (67,58 ± 0,70 mg EAG /g), ce qui en fait une grande quantité par rapport à celle de notre extrait (**Bouazza,2016**). Alors que la recherche de **Ardalan A et al,(2016)** sur l'effet de l'activité antioxydante des composés phénoliques de *Lavandula stricta*, ce que nous avons constaté dans son travail que la quantité totale de phénols est estimée à (64,45± 1,25mg EAG /g) et c'est beaucoup plus grand que ce que nous obtenons.

En outre, nous avons comparé nos résultats à ceux de **Chaimae et al,(2022)** sur l'activité antioxydante des composés phénoliques de la plante *Lavandula angustifolia*, où

lateneur en phénols totaux obtenue est égale à  $67,967 \pm 0,139$ mg EAG /g, celle-ci présente deux fois la teneur de notre plante.

D'après nos études, et après l'estimation quantitative des phénols totaux, nous avons constaté que le teneur en phénols totaux dépend principalement de la méthode d'extraction, le solvant utilisé, sans oublier la température et la durée de l'extraction (Amita, 2014).

### III.3. Evaluation de l'activité antibactérienne

#### III.3.1 Méthode de diffusion sur disque (méthode qualitatif)

L'activité antibactérienne des extraits de notre plante a été évaluée sur des souches bactériennes à Gram positives et à Gram négatives à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le tableau 08, résume l'ensemble des résultats obtenus.

**Tableau 08:** Diamètres des zones d'inhibition en (mm) des souches testées

Souches	Zones d'inhibition(mm)			
	Contrôle (+) Gentamicine	Contrôle (-) DMSO10%	Huile essentielle	Extrait
<i>P. aeruginosa</i> ISOLAT	25mm	R	16mm	R
<i>P. aeruginosa</i> ATCC1054 775	23mm	R	20mm	R
<i>E.coli</i> ISOLAT	R	R	R	R
<i>S.aureus</i> ISOLAT	R	R	R	R

R : résistant

La mesure de diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits aqueux, a révélé que :

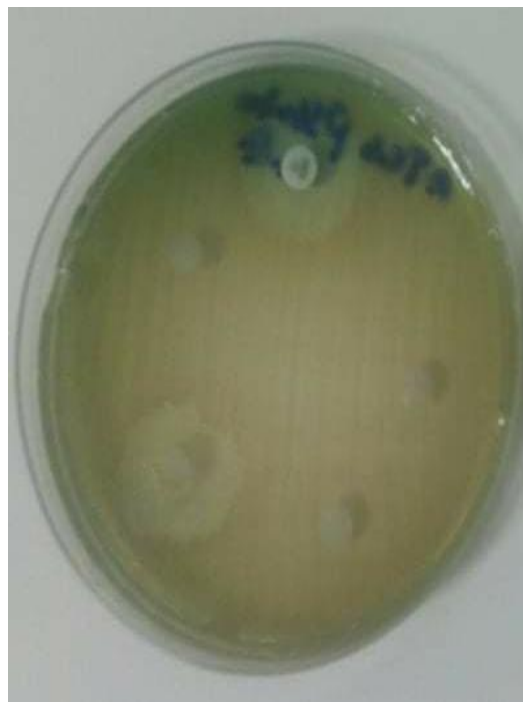
Les zones d'inhibition résultantes avaient un diamètre compris entre 16 mm et 25 mm. La souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC) et (ISOLAT) étaient très sensibles à la gentamicine, avec des zones d'inhibition de 23 mm et 25 mm, respectivement. Les disques de contrôle négatif n'étaient pas actifs, ce qui indiquait que le DMSO n'avait aucun effet sur les souches testées. Concernant les deux souches, *E. coli* (ISOLAT) et *S. aureus* (ISOLAT) (hospitalier), les résultats ont montré qu'elles étaient résistantes à l'extrait méthanolique et à

l'huile essentielle. La souche *P.aeruginosa* (ATCC 1054 775) est sensible à l'huile essentielle, avec une zone d'inhibition de 20mm.

Les résultats expérimentaux du tableau (08) montrent que l'extrait d'huile essentielle de lavande n'est actif que contre *Pseudomonas aeruginosa*

D'après **Bachiri et al (2016)**. Les huiles essentielles extraites à partir de la partie aérienne des espèces *Lavandula stoechas* L et *Lavandula angustifolia* L exercent une activité inhibitrice modérée vis-à-vis de la bactérie à Gram (-) *E. coli* (ISOLAT) car le diamètre de zone d'inhibition est inférieur à 15mm.

Selon **Konan et al. (2014)**, la sensibilité des bactéries vis-à-vis de trois extraits aqueux de l'espèce *Lavandula dendata* peut être déterminée en fonction du diamètre de la zone d'inhibition obtenu. Selon les valeurs critiquent figurant dans le tableau (08), On peut constater que la sensibilité des souches testées est de type limitée (16-20 mm).



**Figure 11:** Résultats du test de diffusion des HE de *Lavandula latifolia* sur *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1054 775



**Figure 12:** Résultats du test de diffusion des HE de *Lavandula latifolia* sur *Pseudomonas aeruginosa* ISOLAT

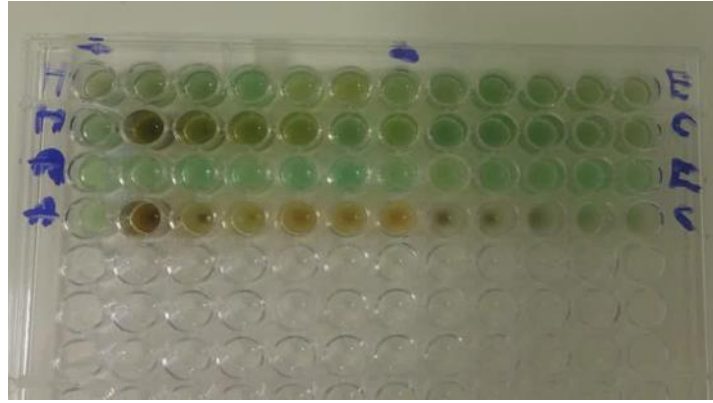
Selon **Chebaibi et al (2016)**, la méthode de diffusion sur disques en milieu gélosé est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des (H.E/extrait). Elle a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien des huiles essentielles/extrait de *L. latifolia* vis-à-vis de trois souches bactériennes (*E. coli* ISOLAT, *S. aureus* ISOLAT, et *P.aeruginosa*).

**Abdini et al (2016)** ont constatés que les micro-organismes à Gram positif sont plus sensibles à la plupart des extraits végétaux des *Lamiaceae*. En revanche, La souche *Pseudomonas aeruginosa* (gram négatif) s'est révélée sensible à notre huile essentielle de *Lavandula latifolia*.

La souche *S. aureus* (ATCC) a montré une sensibilité remarquable à *L. stoechas* et cette activité augmente avec le volume de l'huile essentielle déposée sur le disque **Bachiri et al (2016)**. Contrairement à notre résultats où les deux germes *S. aureus* et *E.coli* (ISOLAT) obtenus à partir du milieu hospitalier se sont révélés résistants à nos extraits.

### III.3.2 Méthode de microdilution (méthode quantitative)

Les CMI ont été déterminées après incubation de 24 h à 37°C en tant que la plus faible concentration de l'huile essentielle pouvant inhiber toute croissance microbienne. La lecture de la CMI, se fait par inspection visuelle selon la troublesse.



**Figure 13** : résultats de microplaque pour déterminer la CMI

Pour déterminer la CMB, on prélève des puits contenant la CMI, des concentrations des dilutions suivantes (pure, 1/2) respectivement, qu'on ensemence sur de un milieu gélose nutritif, en testant la souche sélectionnée avec les différentes concentrations de l'huile essentielle(**Figure13**). Après incubation à 37 °C pendant 18 à 24 heures, si les bactéries ne se développent pas, alors il s'agit de la CMB.

Nos résultats montrent que l'huile essentielle de la lavande présente une couleur jaune claire à orange. La souche *P.aeruginosa* à présente une valeur de CMI= 4,8 mg/ml en présence de l'huile essentielle de la lavande (**Tableau 10**).

La confrontation entre les souches testées et les huiles essentielles a donné un résultat prononcé avec la souche *P. aeruginosa* ATCC1054 775. Il en résulte que les essais de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice d'huile seront limités à la souche de *P.aeruginosa*.



**Figure 14** : ensemencement des dilutions suivantes (pure, 1/2) sur milieu gélose nutritif

**Tableau(09) :** la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Souche bactérienne	CMI	CMB	Pouvoir antibactérien
<i>P.aeruginosa</i>	4,810 mg/ml	9,62mg/ml	Inhibitrice

D’après **Boulahiaet al. (2020)**. Les résultats relatives aux concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des huiles essentielles des deux espèces de lavande (*L. stoechas* et *L. dendata*) montrent qu’ils nécessitent des concentrations élevées pour avoir une activité antibactérienne importante (12.5 ;6.25 mg/mL).

**Bouazama et al. (2017)**, ont étudié l’activité antibactérienne d’HE de la lavandecollectée dans le sud du Maroc. La concentration minimale inhibitrice (CMI) d’huile essentielle a permis d’évaluer l’activité antibactérienne contre différentes souches, à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*), et à Gram positif (*Staphylococcus aureus*). Les résultats ont montré que l’huile essentielle de la Lavande a exercé une activité antibactérienne significative contre les trois souches de bactéries. L’activité inhibitrice des huiles essentielles sur les bactéries à Gram-positives était significativement plus élevée que sur les bactéries à Gram-négatives.

Le pouvoir antimicrobien de l’huile essentielle des parties aérienne de *Lavandula dentata* récoltée de la région du Maroc a été testé sur différentes souches bactériennes (*E. Coli*, *Listeria*, *S. Aureus*, *B. Ceraus*, *P. Aeruginosa* et *Salmonella Enteritidis*) en utilisant la méthode de diffusion sur disque. L’huile essentielle a inhibé la croissance de toutes les bactéries testées, à l’exception de *P. Aeruginosa*, et la concentration minimale inhibitrice a été déterminée. Les résultats de cette étude ont montré que l’huile essentielle de *Lavandula dentata* présente une activité antimicrobienne intéressante **El hassouni et al,(2017)**.

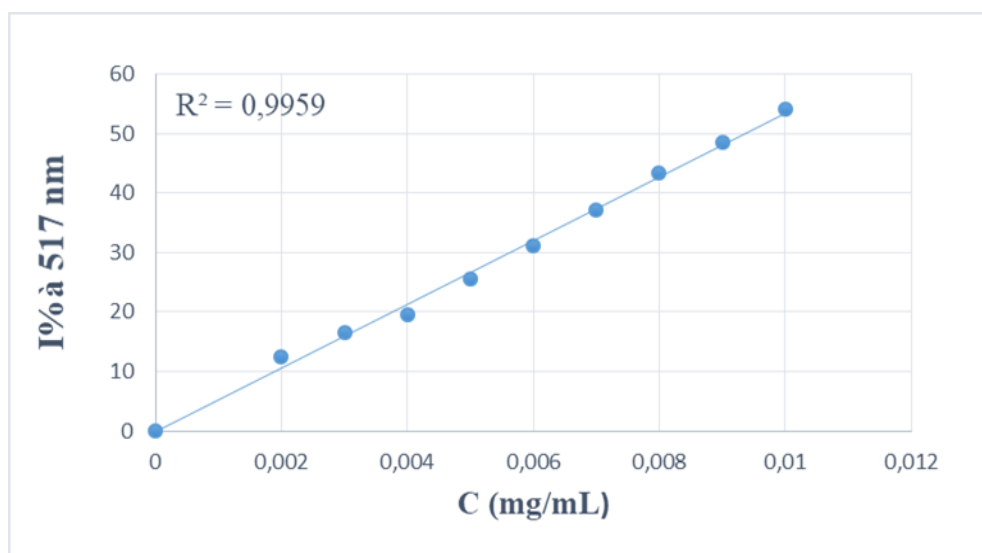
Selon **El hassouni et al,(2017)**, ils ont travaillé sur la lavande sauvage. Ainsi le temps et la région de récolte pouvant affecter la qualité et la composition de l’huile, une résistance peut être due à la composition chimique d’huiles essentielle.

### III.4. Evaluation De l’activité antioxydante

#### III.4.1.Evaluation de l’activité antioxydante par le radical libre DPPH

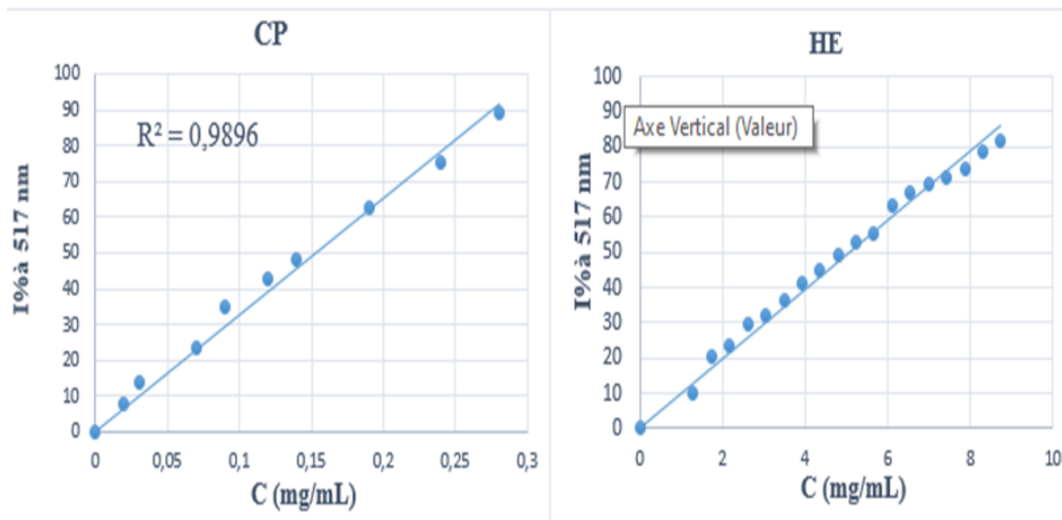
La détermination de la quantité d’antioxydants nécessaire pour réduire (ou inhiber) 50% du radical DPPH\* a été exprimé en IC<sub>50</sub>. Ce paramètre est déterminé graphiquement sur

les tracés de pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations d'acide ascorbique (standard) ou de nos extraits. La (**Figure 15**) représente la variation du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique(vitamine C).



**Figure15** : courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'acide ascorbique(vitamine C).

À partir des valeurs d'absorbance obtenues, nous avons calculé les pourcentages d'inhibition, en appliquant la relation donnée auparavant, nous avons donc obtenu des valeurs qui nous ont permis de dessiner la courbe de la (figure 16), qui représentent la variation du pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations d'extrait méthanolique et d'huile essentielle de notre plante « *Lavandula latifolia.L* ».Enfin le paramètre ( $IC_{50}$ ) a été déterminé graphiquement, les valeurs obtenues sont résumées dans le **tableau 11**. Plus la valeur d' $IC_{50}$  est petite plus la capacité antioxydante de nos extraits est importante.

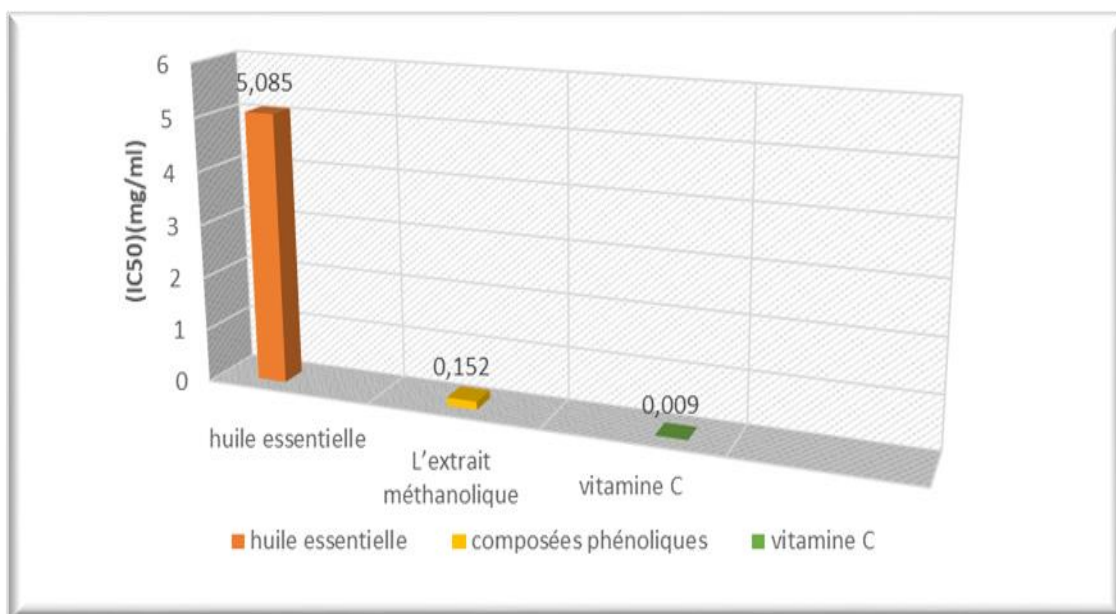


**Figure 16 :** Le pourcentage d’inhibition de DPPH en fonction des concentrations d’extraits méthanolique et l’HE.

**Tableau 10 :** valeurs d’IC<sub>50</sub> obtenues par l’extract méthanolique et l’HE et de la vitamine C par le test du DPPH.

Extrait	DPPH (IC <sub>50</sub> ) (mg/ml)
L’extract méthanolique	0,152±0,001
Huile Essentielle	5,085±0,005
Vitamine c	0,009±0,001

À travers les résultats du (tableau10)on constate que l’efficacité de l’activité antioxydante de l’extract méthanolique est plus forte que celle de l’huile essentielleet les deux ont un pouvoir antioxydant important, leur IC<sub>50</sub> sont égales à (0,152±0,001mg/ml) et (5,085±0,005mg/ml), mais restent faible par rapport à l’IC<sub>50</sub> de vitamine C (IC<sub>50</sub>= 0,009±0,001 mg/ml). On démontre que la différence dans l’activité antioxydante(**figure 16**) « l’extract méthanolique, l’HE et la vitamine C » est due à la capacité à jouer des rôles comme donneur d’hydrogène, agents réducteurs et piègeurs de radicaux (**Messaoud et al, 2011**).



**Figure 17:** Comparaison de l'activité anti-radicalaire entre L'extrait méthanolique et l'huile essentielle et la vitamine C

#### III.4.1.1.L'extrait méthanolique

D'après les résultats obtenues de (**Iman et al, 2016**), l'activité antioxydante dépend de la quantité des polyphénols présente dans l'extrait méthanolique, Ce qui confirme que la capacité antioxydante de la lavande est basée sur la composition et la teneur des différents polyphénols présents.

Comparativement à d'autres études ,Nos résultats montrent que l'extrait méthanolique présente une activité antioxydante supérieure, par rapport aux résultats de **Anouar H et al ,(2022)** ;(IC<sub>50</sub>= 2,12mg/mL) sur ces travaux de l'activité antioxydante des composées phénoliques d'extrait méthanolique de *Lavandula Organ* .Et aussi supérieur que les travaux d'**Ardalan et al,(2016)**,sur l'extrait méthanolique de *Lavandula stricta* qui possède une activité antioxydante extrêmement importante avec un IC<sub>50</sub> égal à 0,334 mg/mL.

Des études sur l'extrait méthanolique de *Lavandula augustifolia* la famille *Lamiaceae* a une activité antioxydante avec un IC<sub>50</sub> égal à 0,333 mg/mL qui est supérieure que notre résultat (**Alexandra G et al,2022**).

D'après nos résultats on a trouvé que l'extrait méthanolique de notre plante possède une activité antioxydante plus élevée que l'activité antioxydante de la plante *Lavandula dentata* qui a donné un effet antioxydant par l'IC<sub>50</sub> égal à 2,15 mg/mL (**Dif et al,2016**).

Par contre, nos résultats révèlent que l'activité antioxydante de notre extrait méthanolique est inférieure que à celle obtenue par **Messaoud et al, (2012)** ; Quand il étudiait l'activité antioxydante d'extraits méthanoliques pour trois espèces de la lavande (*L. coronopifolia*, *L. multifida*, *L. stoechas*) avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> (15,8 ; 19,3 ; 34,2 µg/mL respectivement).

Autre travaux fait **Biljana et al, 2010** ont montré que l'extrait méthanolique des fleurs de la plante *Lavandula angustifolia* a une activité antioxydante exprimé par l'IC<sub>50</sub> (34,2 µg/mL), qui est supérieure par rapport à notre extrait.

D'après nos études on a trouvé que l'activité antioxydante dépend généralement de la teneur totale et la composition des différents polyphénols présents. Il convient de prendre en considération que la capacité antioxydante pourrait être attribuée à la structure chimique des polyphénols présents, ainsi qu'à l'effet synergique ou antagoniste des composés présents dans l'extrait brut (**Messaoud et al, 2012 ; Iman et al, 2016**).

### III.4.1.2. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont l'extrait responsable de l'activité antioxydante. Cela est confirmé par les travaux appliqués aux espèces végétales de lavande. Cette activité dépend du mouvement de l'atome d'hydrogène du groupe hydroxyle des composés phénoliques présents dans l'huile essentielle. En présence de DPPH radicalaire, l'atome H est transporté pour convertir la molécule de DPPH à une molécule stable (**Fatima et al, 2022**).

Comparativement à d'autres études (**Mysoon et al, 2021**) sur les huiles essentielles de la même plante sur laquelle nous avons travaillé *Lavandula latifolia* L qui présente une activité antioxydante estimée à la valeur d'IC<sub>50</sub> égale à (0,5 mg/mL), ce qui est inférieur à nos résultats. En outre, des concentrations inhibitrices nettement inférieure à celle obtenue par notre plante ont été révélées par **Messaoud et al, (2012)** Quand il étudiait l'activité antioxydante des huiles essentielles de trois espèces de lavande (162,2±3,1) ; (201,6±2,1) ; (2321,7±15,7) µg/mL pour les trois espèces (*L. coronopifolia*, *L. multifida*, *L. stoechas*).

Des études sur l'espèce de *Lavandula angustifolia* effectuées par **Chaimae S et al, (2022)** sur l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites de la plante *Lavandula angustifolia*, l'IC<sub>50</sub> de cette plante égal à (1,6 mg/mL) et qui a une activité antioxydante supérieure par rapport à notre plante. Toutefois, une étude sur l'activité antioxydante des huiles essentielles de la plante *Lavandula visnaga* qui avait la même puissance et la même

capacité avec l'huile essentielle pour notre plante où l'IC<sub>50</sub> a été estimée de 4,8 mg/mL (**Radiet al, 2022**).

D'un autre côté, dans les travaux de **Radi et al, (2022)** sur *Lavandula angustifolia*, l'IC<sub>50</sub> est estimé à 20 mg / mL, une valeur qui rend l'efficacité de l'activité antioxydante des huiles essentielles de cette plante inférieure à celle de notre plante. Aussi Les résultats de **Biljana B et al, (2018)** ont montré que l'huile essentielle de la plante de lavande a une puissance antioxydante beaucoup plus faible que celle qu'on a obtenu dans notre plante car la valeur de l'IC<sub>50</sub> est estimée à 21,6 mg/mL.

Le niveau de l'activité antioxydante (piéger le radical DPPH) des huiles essentielles peut être principalement attribué à la concentration de leurs composants phénoliques tels que le carvacrol, l'éther méthylique de thymol et éther méthylique de carvacrol, aussi l'activité antioxydante des huiles peut être liés à leur richesse en monoterpènes hydrocarbonés tels que le camphre, 1,8 cineole, linalool et à l'effet synergique de ces composés (**Messaoud C et al, 2012**)

### III .4. 2.Capacité antioxydante totale (CAT)

Le test de la CAT et contrairement aux autres tests d'évaluation de l'activité antioxydante, est une méthode quantitative qui permet d'évaluer la capacité antioxydante totale d'un extrait par le phosphomolybdate (**Cherfia et al, 2020**). Les résultats de ce test sont confirmés par le changement de la couleur vert plus ou moins foncé.

La capacité antioxydante totale des extraits étudiés est exprimée en nombre d'équivalents d'acide ascorbique à partir d'une courbe d'étalonnage (**figure18**). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide ascorbique par g de l'extrait sec (mg EAA/1g EXS)

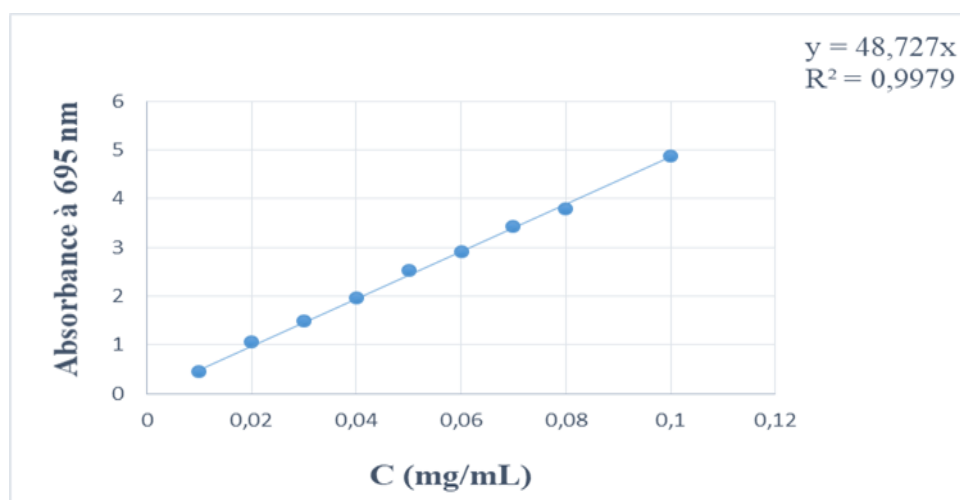


Figure18 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

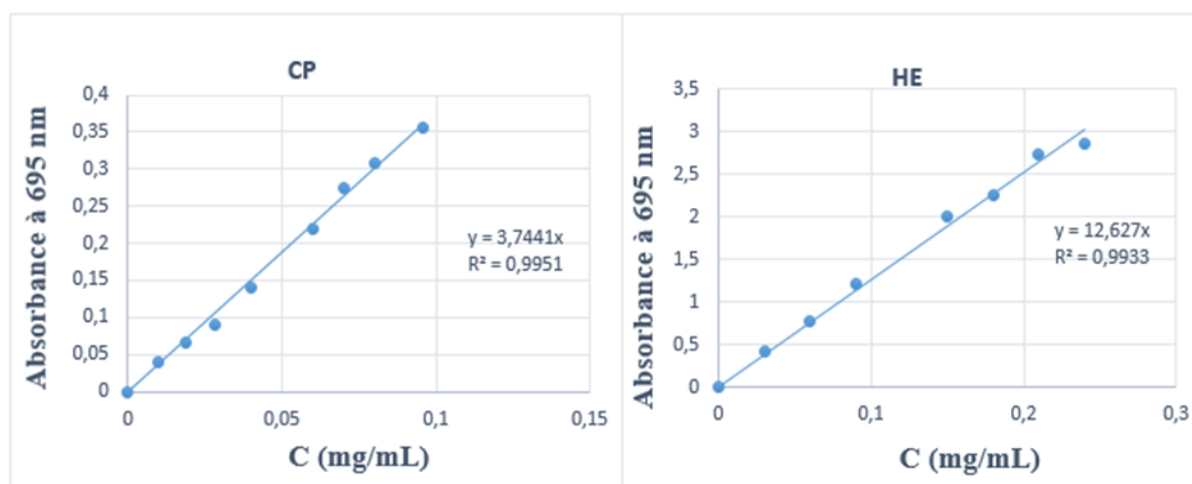
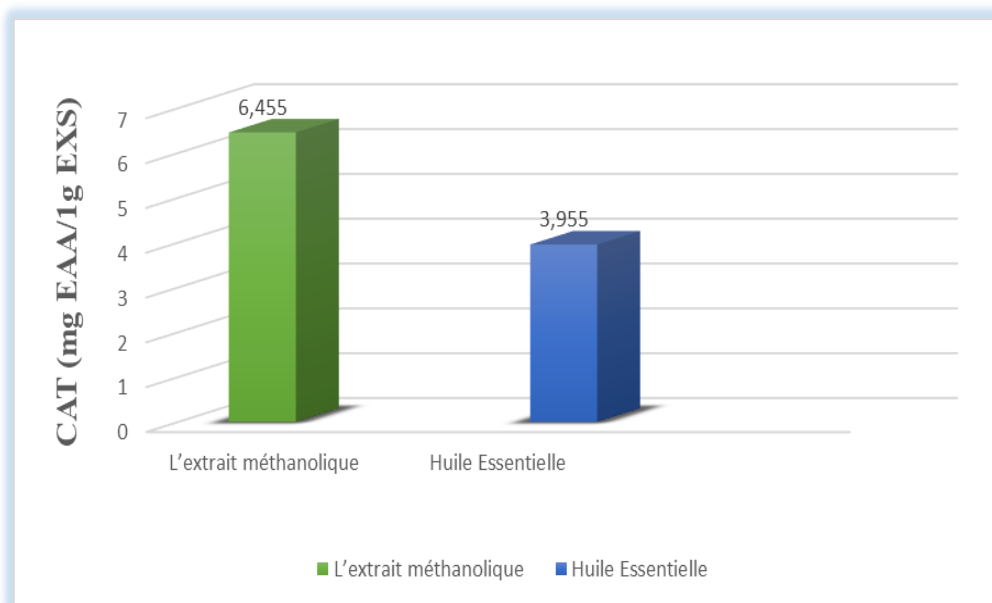


Figure19: les deux courbes représentent la variation de l'absorbance en fonction des concentrations d'extraits méthanolique et l'huile essentielle.

Le tableau (11) résume les résultats obtenus des valeurs des capacités antioxydantes totales des extraits étudiés.

Tableau 11: Les valeurs des capacités antioxydantes totales des extraits de *Lavandula latifolia* et de la vitamine C

Extrait	CAT(mg EAA/1g EXS)
L'extrait méthanolique	6,455± 3,9982
Huile Essentielle	3,955±0,055



**Figure 20** : Comparaison de la Capacité antioxydante totale entre l'extrait méthanolique et l'huile essentielle .

À travers les résultats du **tableau 11 et la figure 19**, nous constatons que l'efficacité de la Capacité antioxydante totale d'extrait méthanolique est plus forte que l'huile essentielle, ( $3,955 \pm 0,055$  mg EAA/1g EXS) pour l'HE et ( $6,455 \pm 3,998$  mg EAA/1g EXS) pour l'extrait méthanolique respectivement. On démontre que la différence dans la Capacité antioxydante totale de l'extrait méthanolique et l'HE causé par leur capacité réductrice (Messaoud et al, 2011).

#### III.4.2.1 L'extrait méthanolique

Par rapport à d'autres expériences, nous trouvons que la Capacité antioxydante totale de notre extrait méthanolique très faible par rapport aux résultats de **sanda et al,(2014)** quand il travaillait sur la Capacité antioxydante des composées phénoliques de *Lavandula angustifolia* Mill Ce qui était ( $577,95 \pm 13,76$  mgEAA/1g EXS). Aussi des travaux sur l'évaluation de la Capacité antioxydante des composées phénoliques sur les fleurs de *Lavandula angustifolia* Mill avec une valeur égale à ( $261,50 \pm 7,07$  mg EAA/1g EXS) les résultats ont été nettement meilleurs que les nôtres (**Biljana B et al,2010**).

En outre, **Iuliana S et al,(2012)** a montré que la Capacité antioxydante des composées phénoliques de *Lavandula angustifolia* égale à ( $95 \pm 3,98$  mg EAA/1g EXS) est supérieure que notre extrait méthanolique, c'est grâce à ses études sur la capacité antioxydante et les phénols totaux contenu dans la plante *Lavandula angustifolia*. En fin de compte, nous avons

constaté que les résultats du travail de **Armatu et al,(2010)** sur *Lavandula angustifolia* estimés à environ (10,02±2,98 mg EAA/1g EXS), étaient presque aussi proches des résultats que nous avons obtenus.

### III.4.2.2 Les huiles essentielles

Comparativement à d'autres études, Les résultats obtenus par **Chaimae et al,(2022)** sur la capacité antioxydante totale des huiles essentielles de la plante *Lavandula angustifolia L* a été supérieur pour nos résultats et qui a été estimé à (819.6 ± 0.09 mg EAA/1g EXS). Alors que la recherche de **Youness El Abdali et al,(2022)** sur l'analyse phytochimique et antioxydante des huiles essentielles de *Lavandula dentata L* a trouvé une capacité antioxydante totale plus forte que ce que nous avons obtenu dans nos expériences, qui a été estimé à (81.280 ± 2.278 mg EAA/1g EXS).

Au contraire, la capacité antioxydante totale de notre huile essentielle était plus faible que celle obtenue par **Doha H et al, (2021)** Dans ses études sur l'activité antivirale et antioxydante des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia L.* et *Salvia officinalis L.* Où la capacité antioxydante totale obtenue est égale à (150 ± 5 mg EAA/1g EXS).

D'après nos études, la capacité antioxydante totale des huiles essentielles est due principalement à les composants phénoliques tels que le carvacrol, l'éther méthylique de thymol, et éther méthylique de carvacrol, et aussi à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Hussain, 2009**).

# Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, pour cela la phytothérapie constitue une alternative intéressante pour explorer de nouvelles molécules qui pourraient représenter une base de nouvelles voix de recherche. Ces plantes peuvent être sélectionnées comme ressources naturelles afin d'isoler de nouveaux composés antibactériens ou antioxydants à la base de production de nouveaux médicaments originaux efficaces et moins toxiques pour le corps humain.

Ce travail entre dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales, nous nous sommes intéressés à l'étude de la lavande de la région de Laghouat (*L.latifolia*), le rendement en huiles essentielles et en extraits méthanoliques bruts, et aussi l'activité antibactérienne vis-à-vis de certaines souches bactériennes pathogènes.

Cette étude a porté dans un premier temps sur l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger. Il ressort que la partie aérienne de notre plante a une teneur importante en huile essentielle qui est égale à 3% (v/m).

L'extraction par macération de la partie aérienne de la plante a permis d'obtenir des rendements importants en fonction du solvant utilisé (méthanol) égal à 19,1%.

L'estimation quantitative des phénols totaux a été réalisé selon la méthode de Singleton et Ross en 1965, on en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu dans un milieu basique, les résultats ont montré que notre extrait méthanolique est riche en composés phénoliques estimé à  $(37,5 \pm 0,272264 \text{ mg EAG / g})$ .

Par ailleurs, les résultats du test de l'activité antibactérienne d'extrait méthanolique et d'huile essentielle de notre plante du genre *Lavandula* par la méthodes classique de diffusion sur gélose vis-à-vis de trois souches : *Escherichia coli*, *pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, en comparant à celle d'antibiotique standard (gentamicine). La bactérie à Gram (-) *E coli* et la bactérie à Gram(+) *S aureus* ne montrent pas de zone d'inhibition. Cela indique que les deux souches ont manifesté une résistante (non sensible). Par contre, l'HE de notre plante a montré un effet antibactérien important contre la bactérie Gram (-) *P aeruginosa* (sensibilité de souche).

*In vitro*, on a testé l'activité antioxydante d'extrait méthanolique et de l'huile essentielle avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrasyl (DPPH), le résultat d'IC<sub>50</sub> pour l'extrait méthanolique égal à  $(0,152 \pm 0,001 \text{ mg/ml})$  et pour l'huile

essentielle égal à  $(5,085 \pm 0,005 \text{ mg/ml})$ , les résultats montrent que l'extrait méthanolique a un pouvoir anti-radical plus fort que l'huile essentielle. D'un autre côté nous avons ainsi réalisé le test de phosphomolybdate où la valeur de la capacité antioxydante totale (CAT) a été estimée à  $(3,955 \pm 0,055 \text{ mg EAA/1g EXS})$  pour l'huile essentielle et  $(6,455 \pm 3,9982 \text{ mg EAA/1g EXS})$  pour l'extrait méthanolique, d'après les résultats obtenus, on trouve que la capacité antioxydante totale de l'extrait méthanolique est plus forte que celle de l'huile essentielle.

L'ensemble des résultats obtenus constitue une justification scientifique de l'usage traditionnelle de la plante étudiée et confirme encore une fois la pertinence des remèdes traditionnels dans le traitement de nombreux maux. Mais ces résultats ne constituent qu'une ébauche dans les domaines de recherche des antioxydants et des antimicrobiennes naturels, il serait intéressant d'étayer ce travail par :

- La réalisation des analyses phytochimiques et pharmaco-toxicologiques, plus approfondies afin de déterminer les composés actifs responsables de ces activités, et évaluer leur efficacité, leur innocuité et leur synergie potentielle.

- Une étude de la composition chimique des huiles est aussi nécessaire et ce afin d'identifier et de préciser les différents principes actifs et pour mieux comprendre leur mode d'action.

- Faire des tests complémentaires pour confirmer l'activité antioxydante et des tests antimicrobiens sur d'autres souches bactériennes.

- Une étude *in vivo* des molécules bioactives isolées serait souhaitable pour rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire.

- Étudier d'autres propriétés biologiques d'extrait et d'huile essentielle, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antifongiques, antivirales et autres.

- L'activité antimicrobienne et antioxydante de cette espèce a été démontrée, cependant cette recherche d'activité reste à investiguer sur d'autres espèces de *Lavandula* en utilisant d'autres techniques ou d'élargir le spectre d'étude en étudiant la même espèce dans d'autres régions à des fins comparatives.

# **Références**

# **Bibliographique**

1. **Abou Baker, D. H., Amarowicz, R., Kandeil, A., Ali, M. A., & Ibrahim, E. A.,** 2021- Antiviral activity of *Lavandula angustifolia* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. *Journal of Agriculture and Food Research*, 4, p3.
2. **Alizadeh, A., & Aghaee, Z.,** 2016- Essential oil constituents, phenolic content and antioxidant activity of *Lavandula stricta* Delile growing wild in southern Iran. *Natural product research*, 30(19),p7.
3. **Avlessi,F., Alitonou ,G.A., Djenontin ,T S., Tchobo F, Yèhouénou ,B, Menut C., Sohounhloué D.,**2018- Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3): p 7-13.
4. **Badiaga, M.,** 2011- Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II).
5. **Bajalan, I., Mohammadi, M., Alaei M., Pirbalouti, A. G.,** 2016- Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of extracts from different populations of lavandin. *Industrial Crops and Products*, 87, 255-260.
6. **Balouiri ,M.,** 2011-Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne de trois extraits de plantes médicinales et aromatiques cultivées dans le jardin de l'institut national des plantes médicinales et aromatiques- Taounate. Mémoire Science et technique, université sidi Mohammed Ben Abdellah, 101p.
7. **Balouiri ,M., Sadiki ,M., Ibsouda, SK.,** 2016- Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79.
8. **Belguidoum, M., Dendougui, H., Kendour, Z., Belfar, A., Bensaci, C., Hadjadj, M.** 2015- Antioxidant activities, phenolic, flavonoid and tannin contents of endemic *Zygophyllum Cornutum* Coss. From Algerian Sahara. *Der Pharma Chemica*, 7(11), 312-317.
9. **Belmont, M.,** 2013- *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E.: études botaniques, chimiques et thérapeutiques (pp. 1-154). France: Thèse d'état en Pharmacie, Faculté de Pharmacie de Grenoble, Université Joseph Fourier.p14-15.
10. **Ben Miri Y.,** 2019- Etude du potentiel antifongique, antiaflatoxinogène et antioxydant de certaines huiles essentielles et leur efficacité dans le système alimentaire Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERI. P192.

11. **Ben soultan ,A., Sami ,k ., Yekhlef ,k.,** 2020-Effet antibactérien des huiles essentielles de *Mentha pulegium* sur quelques espèces bactériennes.
12. **Benabdelkader, T.,** 2012-Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandula stoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique (Doctoral dissertation, Université Jean Monnet-Saint-Etienne; Ecole normale supérieure de Kouba (Alger) , p57,66.
13. **Benyagoub, E., Nabbou, N., Sirat , M., Dahlis, Z.,** 2014-Propriétés Antibactériennes et Constituants Phytochimiques des Extraits de la Lavande de la Région de Tlemcen et Leur Effet sur Quelques Espèces Bactériennes Responsables d'Infection Alimentaire= Antibacterial and Phytochemical Constituents of Lavender Extracts from the Region of Tlemcen and Their Effect on Some Bacterial Species Responsible for Food Poisoning. *Revue des Bioressources*, 257(3242), 1-11.
14. **Biljana ,B, Weifeng ,Y., Yi Wangb, Chun ,L., Marija ,K., Stjepan ,P., Sanda Vladimir-Kneževića.,**2018- Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils of *Lavandula x intermedia* 'Budrovka' and *L. angustifolia* cultivated in Croatia, *Industrial Crops & Products journal*, volume (123) ,p180.
15. **Biljana ,B., Sanda ,V ., Adelheid ,B .,Maja, Bs.,** 2010-Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Marulićev trg 20, 10000 Zagreb. Croatia, *molecules journal*, p5979.
16. **Blažeković,B., Vladimir-Knežević, S., Brantner, A., Štefan, M. B.,** 2010- Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel.'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules*, 15(9), p5979.
17. **Blois ,MS.,** 1958- Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181: 1199–1200.
18. **Bouazza ,S.,**2016- Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders Teneur en composés phénoliques, *Global Journal of Medicinal Plant Research*,P4.
19. **Boudjouref , M.,** 2011- Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'. *Artemisia campestris*, 31-75.
20. **Bougandoura ,N., Bendimerad, N.,** 2013- Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq. *Nature & Technology*, (9), p 14.

21. **Bouhaddouda , N., Aouadi , S., Labiod, R.**, 2016- Evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *glandulosum* (DESF.) Ietswaart from Algeria. *Int J Pharmacogn Phytochem Res*, 8, 104-12.
22. **Bouhrab ,J. Appl. Biosci.**, 2014-Sélection de quelques plantes médicinales du Zerhoun pour l'activitéantibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Biosciences* 78 :6685-6693.
23. **Boulegroun ,A., Ardjoun ,R.**, 2019-Evaluation de l'effet antioxydant de deux plantes endémiques en Algérie: *Thymus algeriensis* de Ain-Defla et *Lavandula antineae* de Biskra.
24. **Bouslimane, Z., Yahiaoui, H.,2013-** Etude de l'activité antioxydante de fromages fondus. Mémoire de l'obtention du diplôme master Biotechnologies, Université Abderrahmane Mira.Algérie, p45.
25. **Bouyahya ,A., Abrini , J., Bakri ,Y., Dakka, N.**, 2017- Screening phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits d'*Origanum compactum*. *Phytothérapie*, 15(6), 379-383.
26. **Charik S., KADRI Y.**, 2020- Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
27. **Chemar ,K.**, 2016 – Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales spontanées de quelques plantes médicinales spontanées de la région EL outaya.Abdelhamid ibn Badis-Mostaganem.60(8-11).
28. **Cherfia, R., Zaiter, A., Akkal, S., Chaimbault, P., Abdelwahab, A. B., Kirsch, G., Chaouche, N. K.**, 2020- New approach in the characterization of bioactive compounds isolated from *Calycotome spinosa* (L.) Link leaves by the use of negative electrospray ionization LITMSn, LC-ESI-MS/MS, as well as NMR analysis. *Bioorganic Chemistry*, 96, p 6.
29. **Das ,K., Tiwari , R.K.S.,Schrivastava D.K.**, 2010-techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent:Current methods and future trends.*journal of medicinal plant Research*, Vol.4(2):104-111.
30. **Das ,K., Tiwari, R., Shrivastava ,D.**, 2010- Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents : current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4 : 104-111.

31. **Degryse ,A., Delplala, I et Voinier ,M.**, 2008- Risques et bénéfices possible des huiles essentielles. Ecole des Hautes Etudes En Santé Publique. pages 94p .
32. **Dif ,M ., Benyahia, M., Toumi Benali ,F., Rahmani,M ., Bouazza,S.**,2016- Phenolic content and antioxidant activity of three algerian species of lavenders, Faculté des science de la nature et de la vie Sidi Bel Abbes,Algirie,p370.
33. **Djeridane ,A., Yousfi ,M., Nadjemi ,B., Boutassouna ,D., Stocker, P., & Vidal, N.** 2006- Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. Food chemistry, 97(4), 654-660.
34. **Do, Q. D., Angkawijaya A. E., Tran-Nguyen ,P. L., Huynh, L H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., Ju, Y. H.**, 2014- Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatica*. Journal of food and drug analysis, 22(3), 296-302.
35. **El Abdali ,Y ., Agour ,A ., Allali, A ., El Moussaoui, M., Eloutassi ,N , Alzahrani ,A. M.S .A ., Ouahmane,L ., Aboul-Soud,M.A ., John ,P. Giesy and Abdelhak Bouia.**,2022- *Lavandula dentata* L.: Phytochemical Analysis, Antioxidant, Antifungal and Insecticidal Activities of Its Essential Oil,MDPI jornal,volume11 (3),p5.
36. **El Kalamouni ,C.**, 2010- Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées (Doctoral dissertation).263p.
37. **Fontanay, S., Mougenot ,M E., Duval R E.**, 2015-Evaluation des actibacteriennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires.Hegel,Vol.5N°.2 :109-118.
38. **Garcia ,E. J., Oldoni ,T. L. C., Alencar, S. M. D., Reis ,., Loguercio A. D., & Grande ,R. H. M.**, 2012- Antioxidant activity by DPPH assay of potential solutions to be applied on bleached teeth. Brazilian dental journal, p 23.
39. **Gaspar-Pintiliescu, A., Mihai, E., Ciucan, T., Popescu, A. F., Luntraru, C., Tomescu, J., & Craciunescu, O.**, 2022- Antioxidant and acetylcholinesterase inhibition capacity of hyrosols from lamiaceae plants for biopesticide use: role of phenolics. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 996-1008.
40. **Genné, D., Siegrist Hans ,H.**, 2003-De l'antibiogramme à la prescription d'un antibiotique. Forum Med Suisse, 20 ; 464-468.
41. **Hmamou ,A., Eloutassi, N., Alshawwa ,S. Z., Al Kamaly, O., Kara, M., Bendaoud, A.,Lahkimi, A.**, 2022- Total Phenolic Content and Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Papaver rhoeas* L. Organ Extracts Growing in Taounate Region, Morocco. *Molecules*, 27(3), p3.

42. **HUSSAIN, A.I.**, 2009- Caractérisation and biological activities of essential oil of some species of Lamiaceae. Thèse de doctorat. Pakistan. p 257.
43. **Joa OM., Vasconcelos., Artur M.S.S and Jose A.S.C.**,1998-Chromones and flavones from *Artemisia campestris*SubspMaritima. *Phytochemistry*. 49 (5): 1421-1424.
44. **Kamal ,F. Z., Stanciu, G. D., Lefter ,R., Cotea ,V. V., Niculaua, M., Ababei, D. C., Ech-Chahad A.**, 2022- Chemical Composition and Antioxidant Activity of *Ammi visnaga* L. *Essential Oil. Antioxidants*, 11(2), p7.
45. **Karak, P.** (2019). Biological activities of flavonoids: an overview. *Int. J. Pharm. Sci. Res*, 10(4), 1567-1574.
46. **Krimat ,S., Dob, T., Toumi, M., Metidji, H., Kesouri A., Chelghoum C.**, 2014- Evaluation of phytochemicals, antioxidant and cytotoxic activities of *Lavandula Antineae* Maire endemic medicinal plant from Algeria. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Health Care*, 6(3).la région EL Outaya. Mémoire de Mester, Univ. Med Khider, Biskra, 8-11.
47. **Laghchimi ,A., Znini,M ., Majidi, L., Renucci F., El Harrak, A., Costa J.**, 2014- Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *J. Mater. Environ. Sci*, 5(6), 1770-1780.
48. **Laib, I., Barkat, M.**, 2011- Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*.
49. **Laib, I.**,2012- Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs., *Nature & Technologie* 44-52.
50. **Lansing ,M Prescott., Joanne, M Willey., Linda ,M Sherwood., Christopher, J.**, 2018- *Woolverton De Boeck Superieur, Microbiologie de Prescott.*, 5ème édition., 1120 pages.
51. **Li ,Y., Fabiano-Tixier ,A. S., Chemat ,F.**,2014-Essential oils: From conventional to green extraction. *Essential oils as reagents in Green Chemistry*, 9-20.
52. **Macheix ,J. J., Fleuriet ,A., & Jay-Allemand ,C.**, 2005-Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. *PPUR presses polytechniques*.p23-24-25.121p.

53. **Mahmoudi, S., Khali , M., Mahmoudi ,N.** 2013- Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technology*, (9), p36.
54. **Maleki, S. J., Crespo, J. F., Cabanillas, B.,** 2019- Anti-inflammatory effects of flavonoids. *Food Chemistry*, 299, 125124.p1-11.
55. **Masyita, A., Sari, R. M., Astuti, A. D., Yasir, B., Rumata, N. R., Emran, T. B., Simal-Gandara, J.** (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food Chemistry: X*, 100217.
56. **Mazari ,K., Bendimerad ,N., Bekhechi ,C et Fernandez, X.,** 2010-chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *juniperus phoenicea L.* and *Cupressus sempervirens L.* *Journal of Medicinal plant Research*,vol.4(10:959-964).
57. **Mohammedi, Z., Atik ,F.,** 2011- Impact of Solvent Extraction Type on Total Polyphenols Content and Biological Activity from *Tamarix aphylla (L.) Karst .* *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 609-615.
58. **Morelle, J., Et Israel ,L .,** 2003. L'oxydation des aliment et la santé. Edition Impression Librairie F-X. De Guilbert. P 257.
59. **Mysoon ,M., Al-Ansari ., Ahmed M.I. Andeejani ., Eman Alnahmi ., Reem . AlMalki , Afshan Masood Ponnuswamy Vijayaraghavan ., Anas Abdel Rahman ., Ki Choon Choi.,**2021- Insecticidal, antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Lavandula latifolia L.* and its deterrent effects on *Euphoria leucographa*, Department of Botany and Microbiology, College of Science, King Saud University, Riyadh, 11451, Saudi Arabia,p5.
60. **Pandey,A., Tripathi ,S.** 2014- Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5).P 116-117.
61. **Pezzuto, J. M.,** 2002- *Natural Compounds in Cancer Therapy.* John Boik, Oregon Medical Press, Princeton, MN, 2001, (ISBN 0-9648280-1-4). *Pharmaceutical Biology*, 40(1), 79-79.
62. **Philip ,M.,** 2004-The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity , *Songklanakarin J. Sci. Technol*, vol.25, p.212.
63. **Prieto, P., Pineda M., Aguilar, M.,** 1999- Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex:

- specific application to the determination of vitamin E. *Analytical biochemistry*, 269(2), 337-341.
64. **Radi ,F. Z., Zekri, N., Drioiche, A., Zerkani ,H., Boutakiout, A., Bouzoubaa , A., Zair, T. 2022-** Volatile and Non-Volatile Chemical Compounds and Biological Power of the genus *Lavandula*: Case of two Moroccan Lavenders *Lavandula angustifolia* Mill.(Cultivated Lavander) and *Lavandula pedunculata* (Mill.) Cav.(Spontaneous Lavander). *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(3), p284.
  65. **Rios,J., Recio ,M., Villar A.** 1988-Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23 : 127-149.
  66. **Safaei-Ghomi ,J., Ebrahimabadi ,A. H., Djafari-Bidgoli ,Z., Batooli, H.,** 2009-GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chemistry*, 115(4), 1524-1528.
  67. **Safdar ,M. N., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., Ahad, K., Saddozai, A. A.,** 2017-Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulate* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of food and drug analysis*, 25(3), 488-500.
  68. **Sara ,K ., Nour EL Imene B., Fatiha N.,** 2020- Extraction et activité psychotrope de l'huile essentielle de la lavande papillon (*Lavandula stoechas* L.) Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieur en biologie. Option: Physiologie Cellulaire et Physiopathologie.Faculté des Sciences BiologiquesUniversité Djilali Bounaama. Khemis Miliana.
  69. **Sarr, S. O., Fall, A. D., Gueye, R., Diop, A., Diatta, K., Diop, N., & Diop, Y. M.** 2015. Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de *Vitex doniana* (Verbenacea). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(3), p.1267.
  70. **Sidi Boulouar ,K., Ziane, A.,** 2003-Etude phytochimique des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* L. de la région de Tlemcen. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études supérieur en biologie. Option: Biochimie. Faculté des Sciences. Université. ABB. Tlemcen.
  71. **Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.

72. **Slimani ,C., Sqalli H., Chaimae, R. A. I. S., Farah A., Lazraq A, El Ghadraoui L, Echchgadda, G.,** 2022- Chemical composition and evaluation of biological effects of essential oil and aqueous extract of *Lavandula angustifolia* L. *Notulae Scientia Biologicae*, 14(1), p5-7-8.
73. **Soulaimani ,B., Nafis, A., Kasrati ,A., Rochdi ,A., Mezrioui , N. E., Abbad, A., Hassani, L.,** 2019- Chemical composition, antimicrobial activity and synergistic potential of essential oil from endemic *Lavandula maroccana* (Mill.). *South African Journal of Botany*, 125, 202-206.
74. **Spiridon ,I., Colceru S., Anghel N., Teaca C. A., Bodirlau R., Armatu A.,** 2011- Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania. *Natural product research*, 25(17), 1657-1661.
75. **Suhaj ,M.,** 2006- Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *Journal of food composition and analysis*, 19(6-7), 531-537.
76. **Thabaut ,A ., Durosoi ,L .,** 1979-L'Antibiogramme : Méthodes classiques et Méthodes automatisées, *Médecine et Maladies Infectieuses* -- N° 9 -- 490-49.col.
77. **Tiwari,S. C., Husain, N. I. S. R. E. E. N.,** 2017- Biological activities and role of flavonoids in human health–A. *Indian J Sci Res*, 12(2), 193-6.
78. **Tongnuanchan ,P., Benjakul ,S.,** 2014-Essential oils: extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.
79. **Toure, D.,** 2015-Etude chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire. Thèse De Doctorat, Université Felix Houphoet Biogny, côte d'Ivoire.153p.
80. **Truzzi ,E., Chaouch, M. A., Rossi G., Tagliazucchi ,L., Bertelli, D., Benvenuti, S.,** 2022- Characterization and Valorization of the Agricultural Waste Obtained from *Lavandula* Steam Distillation for Its Reuse in the Food and Pharmaceutical Fields. *Molecules*, 27(5), P3.
81. **Urquiaga ,I. N. E. S., Leighton ,F.,**2000- Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biological research*, 33(2), p 55-64.
82. **Vladimir-Knežević ,S., Blažeković ,B., Kindl ,M., Vladić ,J., Lower-Nedza, A. D., Brantner ,A. H.,** 2014- Acetylcholinesterase inhibitory, antioxidant and phytochemical properties of selected medicinal plants of the Lamiaceae family. *Molecules*, 19(1), p773.

83. **Wang ,T. Y., Li Q., Bi K. S.,** 2018- Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. Asian journal of pharmaceutical sciences, 13(1), 12-23.
84. **Xin-Hua,C.,le-Xian,X.,Hong,B., and Guan Zhou Qiu.,**2010- Chemical composition and antioxidant activities of *Russula griseocarnosa* sp .nov, agricultural and food chemistry 58,6966-6971.
85. **Yeza ,S., Bouchama ,S.,** 2014- index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.p47.
86. **Zhu, W., Jia, Q., Wang, Y., Zhang, Y., & Xia, M.,** 2012., The anthocyanin cyanidin-3-O- $\beta$ -glucoside, a flavonoid, increases hepatic glutathione synthesis and protects hepatocytes against reactive oxygen species during hyperglycemia: Involvement of a cAMP–PKA-dependent signaling pathway. Free Radical Biology and Medicine, 52(2), 314-327.

**Liste des sites Web :**

<https://www.caymanchem.com/product/14805/dpph> visité le 30/04/2022 à 01 :54.

<https://www.fishersci.fr/shop/products/gallic-acid-mp-biomedicals-2/11488090> visité le 28/04/2022 à 18 :48 .

# **Annexe**

## Annexe

### Annexe 1

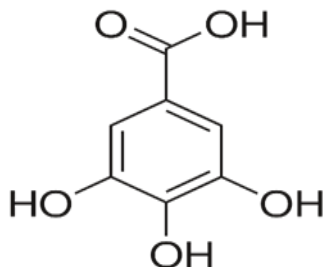


Figure21 :acide galique (<https://www.fishersci.fr>)

### Annexe 2

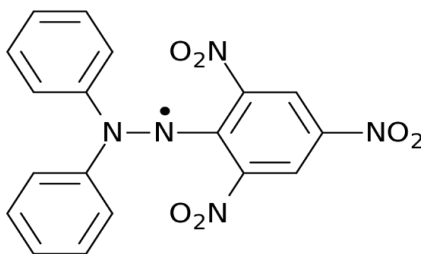


Figure 22 : le radical libre DPPH(<https://www.caymanchem.com>)

### Annexe 3

#### Préparation du réactif phosphomolybdate d'ammonium

l'activité antioxydante est déterminée selon la méthode décrite par Abdelhameed. une solution constituée de 8ml d'acide sulfurique, 2.66g de phosphate de sodium ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$ ) et 1.235g de molybdate d'ammonium ( $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ ). le mélange dissout avec l'eau distillée dans une fiole jaugée de 250ml, agiter pendant 45min

#### Préparation du réactif DPPH

-Pour l'extrait :

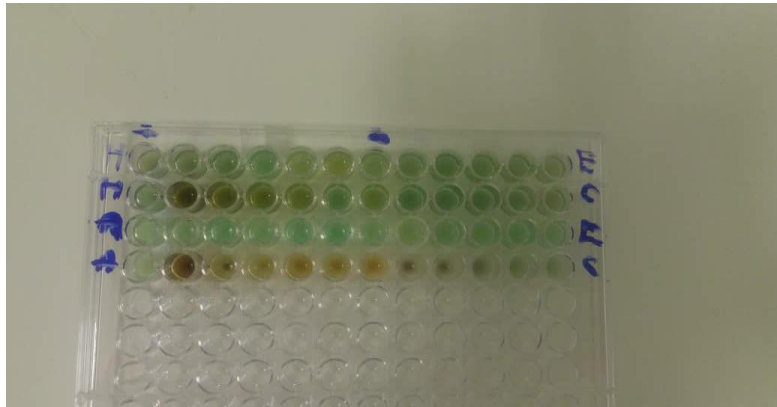
- peser 0.0049g de DPPH dans une fiole jaugée de 50ml .
- solubiliser par 50ml méthanol .

- agiter pendant 30 min

-Pour HE :

- peser 0.0078g de DPPH dans une fiole jaugée de 50ml .
- solubiliser par 50ml éthanol.
- agiter pendant 30 min

#### Annexe 4



**Figures 23** : résultats de microplaque pour déterminer la CMI