

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Des sciences de la matière



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : chimie macromoléculaire
Domaine Sciences de la Matière
Filière : CHIMIE
Spécialité : chimie macromoléculaire
Thème :

**COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE
ESSENTIELLE DE *LAVANDULA DENTATA***

Présenté Par :

M^{elle} BENZEROUAL ZINEB
M^{elle} NEMIMECHE SOUMIA

Devant le jury composé de :

Dr. Ramdani Nassima	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Présidente
Dr. FEKIH Nadia	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Examinatrice
Dr. CHIKHI Ilyas	UAT.B.B (Ain Temouchent)	Encadreur

Année Universitaire 2020/2021

Remerciement

Louange à Dieu qui m'a permis d'accéder au savoir et m'a faciliter l'étude et la compréhension que m'ont inculqué mes professeur avec la ferme détermination de me conduire vers une réussite certaine.

Nous souhaiterions tout d'abord remercier le Université de - Belhadj Bouchaïb - Aïn Témouchent en général et à l'Institut des Sciences en particulier qui nous ont offert l'opportunité d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions.

Nous aimerions exprimer notre admiration sans limite pour notre Dr Chikhi Ilyas. Il nous a fait une grande confiance en nous proposant cette étude et en acceptant d'encadrer notre travail. Nous lui sommes extrêmement reconnaissants pour nous avoir consacré ce temps, surtout dans la correction de ce travail.

Nous adressons par ailleurs, nos respectueux remerciements à Mme. Ramdani Nassima Maître de conférence « B » à l'université d'Aïn Témouchent, pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury de cette mémoire.

Nous adressons également nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux à :

Mme Fekih Nadia, Maître de conférence « A » à l'université d'Ain Témouchent bien accepté de faire partie du ce jury.

Un merci spécial et sincère à le Dr. TAJEB AMARA Yousra, pour sa soutien, ses conseils et sa suivi de l'avancement de nos travaux avec sincérité, que ce soit de près ou de loin.

Nous n'oublions pas de remercier les ingénieurs de laboratoire de chimie à l'Université d'Ain Témouchent « Bekada Wahiba » et « Amraoui Bahria » pour leurs aides et encouragements.

Merci également à tous ceux qui, un jour ou l'autre, nous ont offert leur amitié et des moments inoubliables tout au long de notre cursus universitaire.

Enfin, je tiens à remercier chaleureusement, tous nos proches et tous ceux qui, de près ou de loin, nous ont apporté leurs sollicitudes pour accomplir ce travail.

Merci

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

Pour ma Mère *Benayed Yamna* qui représente la lumière de notre existence L'étoile brillante de notre réjouissance et ma vie, Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

Pour mon père *Abdelkader* qui il y a Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A Mes chères sœurs : Fatima Zohra, Sara et Kawtar.

A mon chère frère : Mohamed Idriss.

A mes beau frères : Kechaou Kamel et Bouhassoun Samir

Mes neveux : Yacine, Daoud, Souleyman, Sohaib, Boucif et ma princesse Asmaa

A toute ma famille qui m'a soutenu avec encouragements et les prières.

A mes chères copines : Nardjes, Soumia, Nour El Houda, Souheyla, Fadila, Habiba et Aya. Mercie pour le courage, les sourires, le bonheur, et tous les bons moments qu'on a passé ensemble.

A mes amis : Moussa, Smain et Chikho pour leurs encouragements et leurs soutiens.

ZINEB

Dédicace

Avant tout, je dois rendre grâce à dieu de m'avoir donné le courage

De terminer ce travail

Je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon père

A ma mère Pour ta soutien inlassable et ta merveilleuse patience t'affection constante et ta prière sincère, sa elle ma n'aurais rien accompli.

A mon chère frère : Mohamed

A ma chère sœur : Bouchra

A mon beau frère : Boumadien

Mes neveux : lyad et Amir

A ma binôme : Zineb Et sa famille

A mes cousines : Amel, Imane, Nadjeh

A mes chères amies : Ines, Naccera, Chahinez, Samira

Puisse dieu vous donne santé, bonheur, courage et

Surtout la réussite.

SOUMIA

Liste des figures

Fig. 1 : Appareillage utilisé pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur	4
Fig.2 : Appareillage utilisé pour l'extraction par hydrodistillation	5
Fig.3 : Appareillage utilisé pour l'extraction par l'expression à froid	6
Fig.4 : Appareillage utilisé pour l'extraction par distillation sèche	6
Fig.5: Une unité d'isoprène	10
Fig.6 : Des exemples de Monoterpènes	11
Fig.7 : β -caryophyllène	11
Fig.8 : Structure du chamazulène	12
Fig.9: Structure de la vitamine A	12
Fig.10: Schéma d'un appareil de chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme	17
Fig. 11 : Schéma général du principe d'un spectromètre de masse	17
Fig. 12 : Espèce de <i>Lavandula Dentata L</i>	21
Fig. 13: Photographies de <i>Lavandula Dentata</i> (A : feuille / B : fleur)	23
Fig. 14 : Lieu d'habitat de <i>Lavandula Dentata</i>	23
Fig.15 : Montage de l'hydrodistillation	30
Fig.16: Réaction entre le radical DPPH et l'antioxydant pour former le DPPH stable 2, 2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.....	32
Fig.17: Test DPPH	32
Fig.18: Représentation graphique de rendement d'huile essentielle <i>Lavandula Dentata</i>	33
Fig.19: Histogramme de composés majoritaires de l'huile de <i>Lavandula Dentata</i>	35
Fig.20: Histogramme de pourcentage de réduction du radical libre de DPPH	36

Liste des tableaux

Tableau 1 : Nomenclature des terpènes.....	10
Tableau 2: Caractérisation de <i>Lavandula Dentata</i>	24
Tableau 3 : Floraison	25
Tableau 4: Composition de l'huile essentielle de <i>Lavandula Dentata</i>	26
Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Lavandula dentata</i>	33
Tableau 6: Test de réduction du radical DPPH de l'huile essentielle de <i>Lavandula dentata</i>	35

Liste Abréviation

HE : Huile essentielle.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

SM : Spectrométrie de Masse.

RMN : Résonance Magnétique.

RMN ¹³ C : Résonance Magnétique Nucléaire Carbone 13.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazylhydrate.

° C : Degré Celsius.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

m : masse.

z : charge.

ICP : l'ionisation chimique positive.

ICN : l'ionisation chimique négative.

IE : impact électronique.

IC: ionisation chimique.

TIC: Total Ion Current.

NOE: Nuclear Overhauser Enhancement.

Ir : indices de rétention.

T2 : Le temps de relaxation.

Mg Ec.g-1 MS : mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche.

Mg.EAG.g-1Ms : mg d'équivalent acide gallique par gramme de matière sèche.

Sommaire

Liste des figures	I
Liste des tableaux	II
Liste des abréviations	III
Introduction générale	01

Première partie : Partie Bibliographique.

Chapitre1 : Etudes des huiles essentielles.

Introduction	03
I. Méthode d'extraction des huiles essentielles	03
I.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	03
I.2. L'hydrodistillation	04
I.3. L'expression à froid	05
I.4. La distillation sèche	06
I.5. L'enfleurage	07
I.7. Extraction par le CO ₂ supercritique	08
I.8. Extraction assistée par les micro-ondes.....	09
II. Composition chimique des huiles essentielles	10
II.1. Les terpènes.....	10
II.2. Les monoterpènes.....	11
II.3. Les sesquiterpènes.....	11
II.4. Les diterpènes.....	12
III. Méthode d'analyse	13
III.1. Le couplage chromatographie en phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)...	13
III.1.1. CPG/SM en mode « Impact Electronique » (CPG/SM-IE).....	14
III.1.2. CPG/SM en mode « Ionisation Chimique » (CPG/SM-IC).....	15
III.2. La Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN-13C)	17
III.2.1. Intérêt de la RMN du carbone-13.....	18

III.2.2. Identification des constituants en mélange	19
---	----

Chapitre 2 : Lavandula dentata.

I. Généralités sur le genre Lavandula	21
I.1. Le nom commun	22
II. Description de Lavandula dentata	23
III. Répartition géographique et habitat	23
IV. Caractéristique de Lavandula dentata	24
IV.1. Floraison.....	25
V. L'huile essentielle de Lavandula dentata	25
VI. Usage de la lavande dentée	27
VI.1. Usage cosmétique	27
VI.2. Usage thérapeutique	27
VI.3. Usage culinaire	27
VII. Etude chimique	27

Deuxième partie : Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

I. Provenance du matériel végétal et identification	29
II. L'extraction des huiles essentielles	29
II.1. La Méthode d'extraction.....	29
II.2. Caractérisation des huiles essentielles.....	30
II.2.1. L'analyse CPG, CPG/SM	30
II.2.2 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	30
II.2.3.Couplage CPG/spectrométrie de masse (CPG/SM).....	31
III. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles..31	

Chapitre 4 : Résultat et Discussion

I. Rendement d'extraction.....	33
Conclusion générale.....	37
Références	38

Introduction générale

Introduction générale

Les huiles essentielles, sont les principes actifs du métabolisme secondaire des plantes médicinales, elles sont utilisées depuis l'antiquité et sont largement utilisées aujourd'hui en raison de leurs propriétés biologiques (antimicrobienne, antioxydante, analgésique, anti-inflammatoire, anti-cancérogène, antiparasitaire, insecticide...) [1-3] elles sont utilisées également dans de nombreuses industries alimentaire, cosmétique, parfumerie, et pharmaceutique.

La communauté scientifique s'est récemment tournée vers les constituants des huiles essentielles, certains composés tels que les sesquiterpènes, ont montrés des activités pharmacologiques remarquables contre certaines maladies comme le cancer [4-6].

Près de 3 000 huiles essentielles différentes sont connues et 300 sont utilisées commercialement sur le marché des arômes et des parfums [3]. Les huiles essentielles de plusieurs espèces ont ainsi fait l'objet des nombreuses études qui ont révélé leur multifonctionnalité et l'ampleur de leurs perspectives d'application dans divers domaines en rapport avec la variabilité chimique de leurs constituants [7].

Les HEs sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré [8,9].

Les HEs existant dans les plantes aromatiques sont responsables des différentes senteurs qu'elles dégagent. Les HEs se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique : dans les feuilles (basilic), dans les fleurs (rose), dans le fruit (citron), dans les graines (coriandre), dans l'écorce (cannelle), et pour certaines plantes, c'est dans les racines (ail) [10].

Les HEs sont des complexes naturels des molécules volatiles et odorantes, synthétisées par les cellules sécrétrices des plantes aromatiques. Celles-ci les conservent dans des poches au niveau de certains organes [11-15]. Ces produits odorants sont extraits par entraînement à la vapeur d'eau ou par pression (cas des agrumes) [12].

Lavandula Dentata est largement utilisé en médecine traditionnelle algérienne. Dans le but d'étudier la composition chimique et les propriétés des huiles essentielles de *Lavandula Dentata*, on a entrepris une étude pour valoriser l'huile essentielle de *Lavandula dentatata*.

Introduction générale

Dans cette mémoire on va présenter quatre chapitres. Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la composition chimique des huiles essentielles, le deuxième chapitre aborde l'étude botanique et les activités biologiques de *Lavandula Dentata*, le troisième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisées et le dernier chapitre est consacré aux résultats d'analyses.

Première partie : Partie Bibliographique

CHAPITRE I : Les Huiles Essentielles

Introduction

La commission de la pharmacopée européenne définit les huiles essentielles comme: « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [16].

L'huile essentielle (HE), ou essence végétale, se définit comme étant un liquide hydrophobe des composés odoriférants volatils sécrétés par une plante. Ce mélange complexe de diverses molécules (alcools, terpènes, cétones, etc.) est obtenu par distillation à la vapeur d'eau, expression ou distillation sèche [8].

Les huiles essentielles sont fabriquées à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées dans les fleurs et les feuilles. Mais il est possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré [9].

I. METHODE D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait selon la nature de la matière végétale à traiter, les caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, l'usage de l'extrait. Les principales méthodes d'extraction sont :

I.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation par entraînement à la vapeur d'eau est une technique très ancienne, tout comme l'hydrodistillation (fig.1). Il comprend la récupération des huiles essentielles contenues dans les cellules végétales grâce à la vapeur d'eau. Placer la matière première aromatique naturelle est mise dans un alambic dans lequel est injecté de la vapeur d'eau formée par une chaudière ou un générateur. La vapeur d'eau détruit la structure des cellules végétales pour libérer les molécules odorantes. La vapeur contenant les huiles essentielles est condensée par refroidissement dans le condenseur avant d'être récupérée dans le réservoir de gaz. Les hydrolats et huiles essentielles de densités différentes sont naturellement séparés [17].

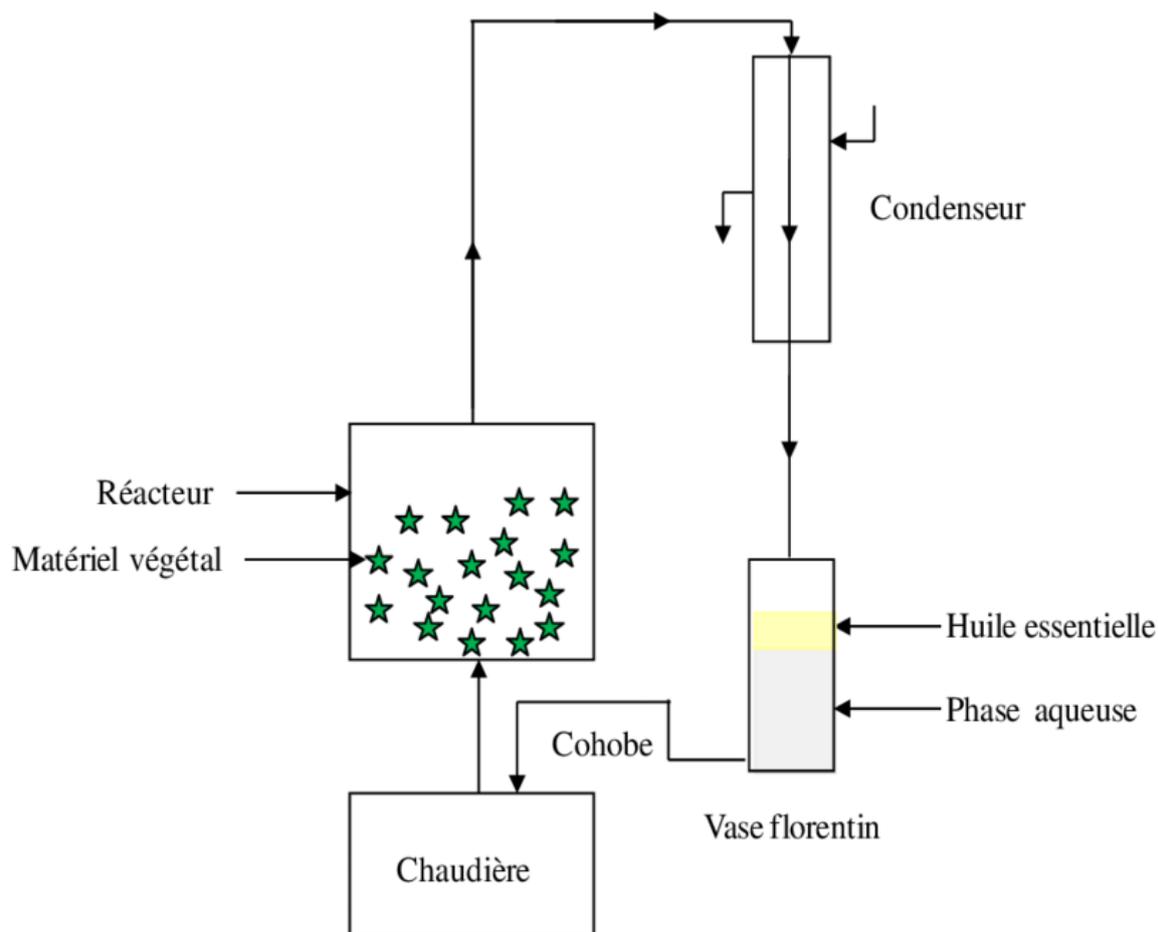


Fig. 1 : Extraction par entrainement à la vapeur.

I.2. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est un procédé très ancien. Les Perses l'auraient utilisé pour fabriquer l'eau de rose. Aujourd'hui, il est mis en œuvre dans différents secteurs. [18]

Lorsque l'on chauffe le ballon qui contient la solution aqueuse, l'eau s'évapore. Cette vapeur casse les cellules végétales et libère des molécules d'intérêt. Les substances les plus

volatiles seront emportées par la vapeur. Il est ensuite refroidi dans un condenseur. Lorsque la vapeur d'eau est apportée de l'extérieur, on parle non plus d'hydrodistillation mais d'entraînement par vapeur (fig.2).

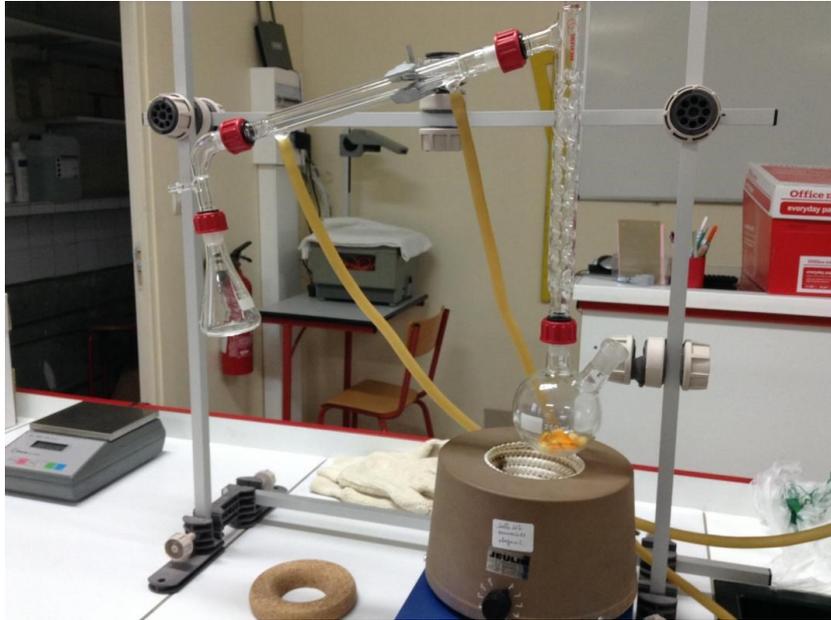


Fig.2: Montage d'extraction par hydrodistillation

I.3. L'expression à froid

L'expression à froid est une méthode d'extraction qui s'effectue sans chauffage (fig.3)[20]. Elle est apparue au cours du XIX^{ème} siècle, en Italie, puis s'est développée au Brésil, en Californie et en Floride[21]. Elle est utilisée généralement pour les agrumes, à cause de la localisation de leurs huiles essentielles, il suffit de procéder à une forte pression hydraulique de la substance végétale, l'huile essentielle contenue dans de petites glandes du zeste est alors séparée du jus de son fruit par un système mécanique.

Aujourd'hui, il existe plusieurs systèmes d'extraction qui consistent à gratter mécaniquement les peaux gorgées d'essence. L'essence entraînée par l'eau, subit ensuite une décantation pour en être séparée. Les huiles essentielles obtenues par ce procédé sont celles de citron, de pamplemousse, de bergamote ou encore de bigarade.

Ce procédé d'extraction est simple et ne modifie pas le produit obtenu, c'est pourquoi on appelle ce dernier « essence » et non huile essentielle, grâce à l'obtention d'un produit intact. Cette technique a aussi des points négatifs. La durée de vie d'un produit obtenu par expression

à froid est courte. En effet, elle ne dépasse les 6 mois dans la plupart des cas. De plus, seule la famille des agrumes peut être soumise à ce genre d'extraction et le matériel doit être remplacé régulièrement. Par ailleurs, une bonne maîtrise est nécessaire, la main d'œuvre est donc coûteuse. Ainsi, nous pouvons dire que la rentabilité de l'extraction par expression à froid est faible par rapport aux procédés actuels.



Fig.3 : Extraction par l'expression à froid

I.4. La distillation sèche

La distillation « sèche », également appelée distillation destructive, est utilisée pour séparer les produits chimiques liquides contenus dans les matières solides (fig.4). Par conséquent, la créosote (un mélange de phénols), le méthanol et de nombreux autres produits peuvent être obtenus à partir du bois par calcination [22].

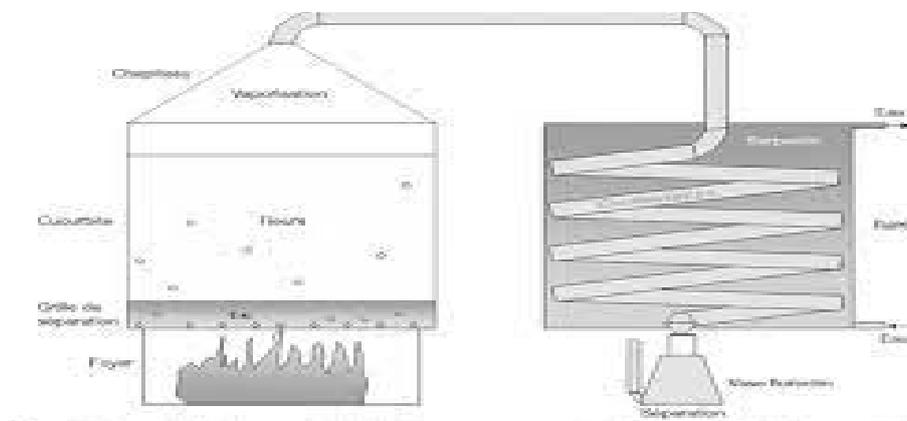


Fig.4 : l'extraction par distillation sèche

I.5. L'enfleurage

L'extraction par enfleurage est un procédé rarement utilisé, similaire à l'extraction par solvant. On considère deux types d'enfleurage, l'enfleurage à froid et l'enfleurage à chaud.

L'enfleurage à froid consiste à mettre en contact les fleurs avec de la graisse animale que l'on aura au préalable étalée sur un châssis en bois. Ensuite, la graisse va alors absorber l'huile essentielle de la fleur [23]. Cette technique est répétée pendant plusieurs jours jusqu'à ce que la graisse soit saturée en huile essentielle.

Ensuite, nous recyclons les graisses parfumées appelées «pommades » et les traitons avec de l'alcool pour en extraire les molécules odorantes. Puis, la graisse appauvrie en essence, récupérée par filtration. Après évaporation de l'alcool, il ne reste que l'huile essentielle. Dans cette technique l'huile essentielle est dite « absolue » et possède une très grande qualité olfactive. Cependant, ce procédé est réservé aux plantes extrêmement délicates comme le jasmin ou la violette.

L'enfleurage à chaud est quant à lui un moyen d'extraction utilisé pour des plantes moins fragiles comme la rose, la fleur d'oranger ou le mimosa. L'extraction à froid de ces plantes ne suffit pas à en extraire toute l'essence. On fait macérer les plantes dans de la graisse pure, à 60°, et on les laisse infuser pendant environ deux ou trois jours.

Le mélange est ensuite filtré pour séparer les fleurs et le gras, et obtenir une pommade.

Ensuite, on effectue les mêmes étapes que l'enfleurage à froid pour obtenir de l'absolu [24].

I.7. Extraction par le CO₂ supercritique

Les extraits CO₂ sont beaucoup plus riches et concentrés que les huiles essentielles issues de la distillation. Ils sont aussi particulièrement odorants et les parfumeurs les utilisent pour composer leurs meilleures fragrances. L'état supercritique permet au CO₂ de pénétrer au cœur des cellules végétales et de se charger des molécules aromatiques, dont il se sépare ensuite complètement en retournant à l'état gazeux. L'extraction au CO₂ supercritique s'effectue à basse température (environ 30 °C) évitant ainsi toute altération des principes extraits.

En faisant varier les conditions de pression et de température, il est possible :

-De cibler des composants particuliers recherchés pour leurs vertus en procédant à une extraction sélective de la partie volatile.

-Ou au contraire d'extraire l'intégralité des principes actifs regroupant le totum des composés lipophiles, y compris les molécules volatiles les plus lourdes et une fraction de lipides dans le cas de graines.

En fin de processus, le CO₂ est récupéré totalement, ce qui en fait une méthode d'extraction très écologique, avec un solvant complètement recyclé. Les extraits CO₂ sont « purs » et microbiologiquement stables : ils ne contiennent aucune trace du solvant CO₂, ou d'éventuels métaux [26].

I.8. Extraction assistée par les micro-ondes :

Par rapport aux techniques d'extraction traditionnelle, l'extraction assistée par micro-ondes présente de nombreux avantages, le temps d'extraction est plus court, une utilisation moindre de solvant, un taux d'extraction de composé plus élevé [27].

Dans l'extraction par micro-onde sans solvant, les matières végétales sont placées dans un réacteur à micro-onde sans ajouter d'eau ou de solvants organique. Chauffer l'eau des plantes détruira les glandes qui contiennent de l'HEs. Une fois libérée, l'huile essentielle est emportée par la vapeur d'eau produite par la matière végétale.

II. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

La composition chimique des HEs est très complexe, elle contient généralement de nombreux composants appartenant à deux grandes familles chimiques: les composés terpéniques et les composés aromatiques (dérivés du phénylpropane). Les composés terpéniques sont composés d'unités isoprènes (C5), dont des Monoterpènes (C10) et des Sesquiterpènes (C15), Diterpènes (C20) et Triterpènes(C30).

Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Généralement, l'HE est un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Parmi ces composés oxygénés, on peut noter la présence d'alcools, d'esters, d'aldéhydes, de cétones, d'oxydes d'éther et de carbures.

A l'intérieur d'une même espèce végétale, on observe des variations chimiques (qualitatives et quantitatives) importantes ayant conduit à admettre l'existence de races chimiques (exemple : Thymus à thymol, à géraniol, à carvacrol, à linalol). La composition chimique des HE varie encore de façon appréciable avec le milieu et la période de la

végétation. Elle peut également être modifiée lors de l'extraction ou durant la conservation [28].

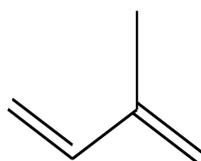
La composition chimique de HE est complexe, on y retrouve couramment plus d'une centaines de composés, parmi lesquels un nombre de familles chimiques sont représentées :

II.1. Les Terpènes

À ce jour, plus de 30 000 terpénoïdes naturels ont été identifiés[29]. Beaucoup d'entre eux existent dans les plantes et jouent un rôle important dans la chimie écologique. Les terpénoïdes s'accumulent à des niveaux élevés dans certaines espèces végétales et sont des composants importants des huiles essentielles qui ont trouvé des utilisations importantes dans l'industrie des arômes et des parfums. Beaucoup de ces terpénoïdes se sont avérés d'une grande importance pharmaceutique et, par conséquent, de nombreux travaux sont en cours pour identifier et caractériser de nouveaux terpènes et évaluer leurs activités biologiques [30].

Les terpènes ou terpénoïdes sont classés selon leur structure squelettique, les sesquiterpènes représentent une grande partie de ces terpènes naturels.

Les terpènes sont les principaux composants de HEs. Ce sont des hydrocarbures assemblés à partir de deux ou plusieurs unités d'isoprène. (Tableau 1)



2-methylbuta-1,3-diene

Fig.5: l'isoprène

Tableau 1 : Nomenclature des terpènes [32].

Nombre d'atome	Unité d'isoprène	Nomenclature
10	2	Monoterpènes (C ₁₀)
15	3	Sesquiterpènes (C ₁₅)
20	4	Diterpènes (C ₂₀)
25	5	Sesterpènes (C ₂₅)
30	6	Triterpènes (C ₃₀)
40	8	Tétraterpènes (C ₄₀)

II. 1.1. Les Monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90 %) [33]. Ils contiennent deux unités isoprènes (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. À ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonction chimique spéciale. Ils sont légèrement antiseptiques, stimulants, expectorants. Ils peuvent être irritants pour la peau et les muqueuses. Ci-dessous quelques exemples des monoterpènes (fig.6).

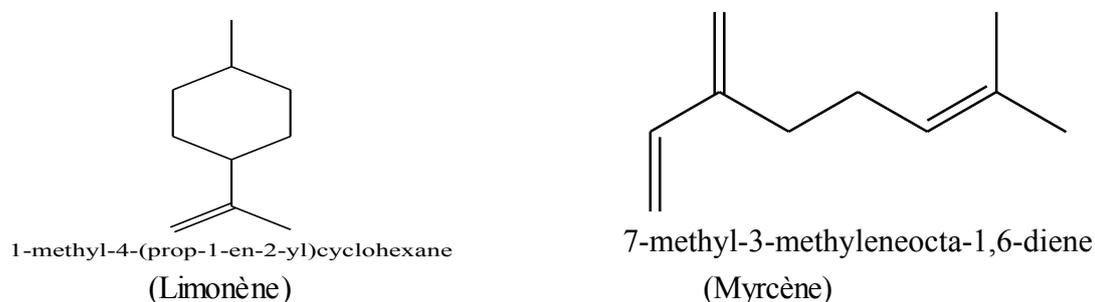


Fig.6 : Des exemples de monoterpènes

II.1.2. Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ [34], composés de trois unités d'isoprènes, ils sont présents dans de nombreuses HE [6]. Ils présentent des activités bactéricides, anti-inflammatoires, certains sont hypotenseurs, calmants ou anti-inflammatoires (chamazulène des camomilles (fig.7, fig.8). Exp: le β -caryophyllène (fig.7).

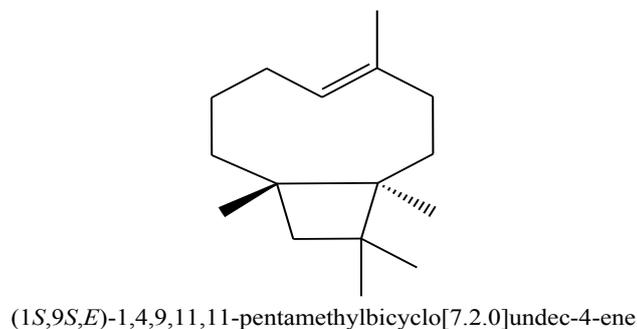
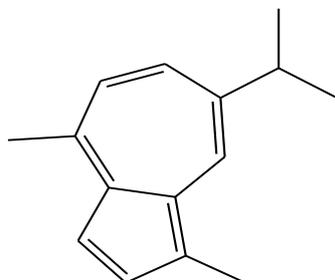


Fig.7 : β -caryophyllène

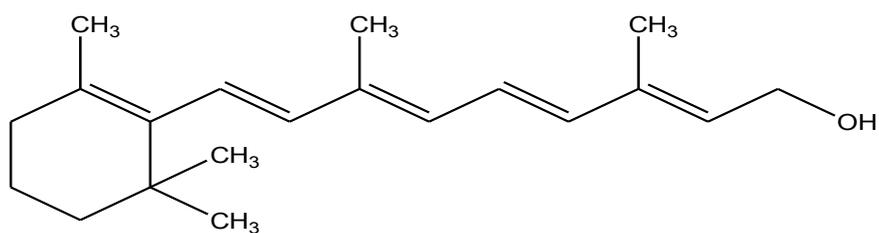


(3aZ,5Z,7Z)-7-isopropyl-1,4-dimethylazulene

Fig.8 : chamazulene

II.1.3. Les diterpènes

Ce sont des dérivés des hydrocarbures en $C_{20}H_{32}$. Quatre unités d'isoprènes forment ces diterpènes dont la masse moléculaire relativement importante. La vitamine A (fig.9), le phytol, les acides résiniques, les gibbérellines sont des exemples de diterpènes. La vitamine A est rencontrée de façon exceptionnelle chez les végétaux, le persil par exemple en est bien pourvu. Les animaux savent la synthétiser à partir du carotène [35].



(2E,4E,6E,8E)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)nona-2,4,6,8-tetraen-1-ol

Fig.9: Structure de la vitamine A

III. METHODE D'ANALYSE

III. 1. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Les produits naturels issus de la biomasse végétale (huiles essentielles, huiles végétales, ...etc.) se présentent généralement sous forme d'un mélange complexe constitué de plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés en proportions variables. Par exemple, les huiles essentielles, obtenues par entraînement à la vapeur d'eau par hydrodistillation de diverses parties des plantes ou par expression à froid de certains fruits (agrumes), renferment des monoterpènes, des sesquiterpènes et parfois diterpènes ainsi que des phénylpropanoïdes, de structures et de fonctions chimiques très variées. La valorisation et la commercialisation de ces produits naturels quelle que soit leur application, est en général précédée d'une étape de caractérisation (analyse chimique).

L'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements constants des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques[36]. La chromatographie en phase gazeuse (GPC) et le couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GPC/SM) n'ont été utilisées qu'en tant que méthodes de validation pour l'analyse quantitative des vernis expérimentaux.

le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence[38]. Il existe plusieurs analyseurs de masse mais les plus fréquents pour l'analyse des huiles essentielles sont le « quadripôle » et le piège à ions ou « ion trap ». Tous les deux utilisent la stabilité des trajectoires pour séparer les ions selon le rapport masse sur charge (m/z) [39, 40]. Les analyseurs quadripolaires sont constitués de quatre barres cylindriques. Un cation pénétrant entre les barres sera attiré vers une barre négative. Si le potentiel change de signe avant qu'il ne soit déchargé sur cette barre, il changera de direction. Dans les appareils à quadripôle, les potentiels sont réglés de manière telle que seuls les ions d'une fourchette de masses déterminées traversent les barres. Par la suite, le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse, doit être détecté et transformé en un signal utilisable. Les détecteurs les plus courants sont les châlons (multiplicateurs d'électrons) et les photomultiplicateurs ; ils convertissent les impacts ioniques en signaux. L'ordinateur enregistre les signaux visualisés sous forme de pics d'intensités variables, rangés sur une échelle de masses. Le multiplicateur de photons

permet la détection des ions positifs et dans certains cas des ions négatifs. Les premiers appareils de routine CPG/SM à colonnes capillaires datent de 1975 [41].

La chromatographie est une technique analytique utilisée pour sa capacité à séparer les différents composés gazeux ou liquides d'un matériau complexe ou d'un mélange [37].

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe.

Parfois, l'utilisation de technique « d'ionisation douce » telles que l'ionisation chimique positive (ICP) ou l'ionisation chimique négative (ICN) peut constituer une solution à certains problèmes d'identification rencontrés en mode impacte électronique (IE) [42].

L'ionisation douce produit des ions quasi moléculaires qui ne sont pas toujours visibles en mode impact électronique. L'observation de ces ions donne accès à la masse moléculaire des composés ce qui permet notamment de différencier des esters de thymyle, de bronyle et de lavandulyle dans l'huile essentielle d'Eupatpruim cannabium lorsque l'ammoniac ou le méthane sont employés comme gaz réactif [43].

III.1.1. CPG/SM en mode « Impact Electronique » (CPG/SM-IE)

Le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM-IE) est la technique la plus couramment utilisée dans le domaine des huiles essentielles. Dans la plupart des cas, il peut connaître la masse moléculaire du composé et obtenir des informations structurelles liées à la molécule à travers ses fragments [38, 44].

Dans la source d'ionisation (fig.3) les molécules sont bombardées de substances avec un faisceau d'électrons d'énergies de l'ordre de 70 eV, les amenant à s'ioniser et à se fragmenter. Les fragments d'ions positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés aux spectres de masse des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées commerciales [NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, König Joulain, Wiley Registry of Mass Spectral Data [45-48] contenant plusieurs milliers de spectres.

D'une manière générale, l'accord entre les spectres d'un même composé obtenu à partir d'huiles essentielles et présent dans la bibliothèque et les références dans la bibliothèque "laboratoire" est bien meilleure car ils sont enregistrés dans les mêmes conditions

expérimentales identiques. Les spectres de masse expérimentaux sont également comparés à des spectres contenus dans des bibliothèques non informatisées [49-51].

III.1.2. CPG/SM en mode « Ionisation Chimique » (CPG/SM-IC)

L'ionisation chimique est une réaction ion-molécule entre les molécules d'un échantillon en phase gazeuse et les ions d'un plasma obtenu à partir d'un gaz réactif.

Cette technique, technologie peut être facilement réalisée par des équipements équipés d'une source d'ionisation chimique (configuration standard des équipements les plus récents), et a obtenu de nombreuses applications chimiques et biochimiques dans les domaines environnementaux et médicaux. La littérature sur la spectrométrie de masse à ionisation chimique est très abondante. En effet, plus de 1 100 articles utilisant le mot-clé « ionisation chimique » ont été publiés.

L'ionisation chimique est le résultat des travaux de Field et Munson sur le comportement du méthane et de l'isobutane en spectrométrie de masse sous une pression voisine de 1 Torr dans la source [52]. Le spectre de masse enregistré dans ces conditions était invariablement contaminé par des pics correspondant à des masses élevées dus aux impuretés présentes dans le gaz. Ils portèrent leur attention non plus sur le gaz méthane ou isobutane, mais sur ces impuretés, ils en déduisent les principes d'une nouvelle méthode générale d'analyse en spectrométrie de masse. Bien qu'il permette l'étude de certains minéraux, il a le plus d'application en chimie organique.

Après un démarrage timide, le développement ultérieur fut spectaculaire : et on ne compte pas moins d'une dizaine de revues complètes importantes, et on compte des milliers de publications sur l'IC [53, 54].

III.2. La Résonance Magnétique Nucléaire du carbone-13 (RMN-13C)

Une alternative aux méthodes d'analyse décrites précédemment est la RMN du carbone¹³ des mélanges, sans séparation préalable des constituants. Dans le domaine des huiles essentielles, les premiers travaux précurseurs sont ceux de Formáček et Kubezka [56, 57], en général, la RMN C¹³ a été utilisée pour confirmer l'identification des constituants préalablement identifiés par une autre technique analytique.

A la suite des travaux précurseurs de Formáček et Kubeczka[59], une méthode d'identification des constituants des mélanges naturels, basée sur l'analyse du spectre de RMN du mélange a été mise au point et développée par l'équipe « Chimie et Biomasse » de l'Université de Corse[60]. En fait, jusqu'au début des années 90, la RMN permettait de contrôler la présence d'un composé préalablement identifié ou suspecté par une autre technique (CPG/SM par exemple).

L'informatisation de la recherche des structures à partir de bibliothèques de spectres a permis d'en faire une véritable méthode d'analyse appliquée à différentes familles de composés naturels : terpènes dans les huiles essentielles[61], acides diterpéniques dans les résines[62], triterpènes dans les extraits de liège[63], phénols et sucres anhydres dans les liquides de pyrolyse de la biomasse ect [64].

III.2.1. Intérêt de la RMN du carbone-13

Malgré sa faible abondance isotopique naturelle (1,1 %) et son moment magnétique rend sa sensibilité environ 5 700 fois moins sensible que le proton[65], le carbone-13 est préféré aux autres noyaux, car :

Le carbone constitue le squelette de toutes les molécules organiques et les différents atomes présents sont, à quelques exceptions près, magnétiquement non équivalents. Donc, on observe en général dans un spectre de RMN du carbone-13 autant de raies de résonance qu'il y a de carbones dans la molécule.

Les spectres de RMN du carbone-13 peuvent être simplifiés par irradiation totale des hydrogènes, ce qui permet de n'observer dans le spectre qu'une seule raie de résonance par carbone. Cette irradiation permet d'augmenter l'intensité des signaux par l'effet NOE (Nuclear Overhauser Enhancement).

Le temps de relaxation T2 (temps de relaxation spin-spin) est plus important dans le cas du carbone que dans celui du proton. La largeur du signal de résonance à mi-hauteur étant inversement proportionnelle à T2, il en résulte un gain dans la finesse des pics et donc en résolution. Le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage beaucoup plus vaste que celle des protons (250 ppm par rapport à 12 ppm) ce qui permet une plus grande dispersion spectrale (résolution effective) [65].

Les spectres sont réalisés à température ambiante ce qui évite une éventuelle dégradation ou transformation des molécules thermosensibles. La RMN étant une technique non destructive, l'échantillon peut être récupéré pour être éventuellement soumis à d'autres analyses.

Enfin, l'étude de produits « lourds » ne pose pas de problèmes particuliers, et leur faible volatilité les rend généralement difficiles à analyser par CPG (des réactions préalables de dérivatisation sont nécessaires, afin d'obtenir des produits moins polaires et généralement plus volatils).

III.2.2. Identification des constituants en mélange

L'identification des constituants d'un mélange par RMN ^{13}C est réalisée par comparaison des déplacements chimiques des carbones du mélange avec ceux des composés de référence contenus dans une ou plusieurs bibliothèques de spectres.

Ainsi, pour identifier un composé dans un mélange, il faut pouvoir observer les signaux qui lui appartiennent et les individualiser, puis attribuer le déplacement chimique à une molécule donnée.

Pour cette raison, les conditions expérimentales d'enregistrement des spectres doivent être optimisées et standardisées afin que les résultats obtenus aient une bonne reproductibilité.

➤ Principe

L'identification d'un composé par RMN du carbone-13 est basée comme dans toutes les autres méthodes comparatives, sur l'attribution directe, dans le spectre du mélange, des différentes raies de résonance d'un composé donné en les comparant avec celles des spectres de produits purs contenus dans une bibliothèque de spectres. Par rapport aux techniques de couplage précédentes, dans le cas de la RMN, chaque composé n'est pas affecté par l'individualisation, différents aspects sont à considérer, à savoir l'observation et l'individualisation des différentes raies de résonance dans le spectre du mélange et que chacune de ces raies de résonance appartient à un produit donné qui permet son identification. L'individualisation de tous les signaux dans le spectre du mélange dépend de plusieurs paramètres :

- La complexité du mélange mais également le nombre de carbones constitutifs de chacun des constituants.

- Les différences entre les concentrations relatives des divers constituants.
- La similitude observée au niveau de tout ou partie du squelette carboné de la molécule conduit à une augmentation du nombre de superpositions des carbones possédant des environnements magnétiques moyens identiques.

La certitude de l'identification des composés du mélange est rendue possible par la prise en compte des paramètres suivants :

- Le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus pour chaque molécule.
- Le nombre de superpositions des signaux pouvant se produire quand les différents effets stériques et électroniques font que deux carbones appartenant à deux molécules différentes ont le même déplacement chimique, ou quand des constituants du mélange ont une partie de leur squelette très proche.
- Les variations des déplacements chimiques des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de référence ($\Delta\delta$).
- L'intensité des raies de résonance observées qui permet éventuellement de contrôler l'appartenance du signal d'un carbone à un composé donné.

L'apport de la RMN du carbone-13 à l'analyse de mélange complexe est intéressante car, lorsque leur teneur est supérieure à 0,5 % et qu'ils sont présents dans la bibliothèque de référence, elle permet une identification rapide et sans ambiguïté, certains composés dont l'analyse par les techniques conventionnelles est problématique. D'une manière générale :

- Tous les carbones sont observés à l'exception des carbones quaternaires de ceux des composés minoritaires.
- Les variations des déplacements chimiques sont inférieures ou égales à 0,05 ppm pour la grande majorité des carbones ;
- Le nombre de superpositions est limité et n'empêche aucunement l'identification d'un composé par l'observation d'au moins 50 % des carbones qui lui appartiennent en propre.

CHAPITRE II : Lavandula Dentata

I. Généralités sur le genre *Lavandula*

La Lavande Dentée (*Lavandula Dentata*) est un arbuste de la famille de Lamiacées (labiées, qui signifie "labié" en référence à la forme des lèvres des fleurs). Elle pousse dans les canaries et les régions montagneuses de la Méditerranée. Son climat est doux et son sol est stérile et rocailleux. En raison de ses fleurs aromatiques, il est largement planté dans diverses régions de France et d'Italie, d'Angleterre, même à l'extrémité Nord de Norvège [66].

Il est l'origine de certaines Iles de l'océan Atlantique, de la Méditerranée à l'Afrique du Nord tropicale, au Moyen-Orient, en Arabie et en Inde [66].

Le genre *Lavandula* (Lamiaceae) couvre une 30 d'espèces produisant d'huile essentielle, et certaines espèces poussent à l'état sauvage en Algérie : *Lavandula stoechas* L, *L.multifida*, *L. stricta* Poir, *L.pubescens* Dec, et *L.dentata*, *Lavandula Dentata* c'est un pseudo-arbuste qui forme des souches avec des tiges de bois carrées, les tiges restent en bas et il y a de longues bandes sous les épines. Les feuilles sont étroites, avec des bords incurvés, dentelés. Les fleurs bleues claires forment des épines courtes et denses avec les mêmes morceaux de couleur [67].



Fig. 12 : *Lavandula Dentata* L

I.1. Nom commun

Nom populaire : lavande dentée, lavande anglaise, lavande des 4 saisons, lavande des alpes.

Nom latin : *Lavandula Dentata* L

Nom arabe: khzama [68].

II. Description botanique du *Lavandula Dentata*

Lavandula Dentata est une lavande qui se développe de 0.60 à 1m en tous sens. Elle se présente sous forme d'un buisson bas lignifié et très ramifié [69].

Les feuilles (A) sont allongées de 2 à 4 cm, opposées et de couleur vert argenté. Elles sont caractérisées par des petits lobes arrondis sur leurs marges, ce qui la rend très facile à différencier des autres espèces de lavande[70]. Le feuillage dégage une odeur très délicate, intermédiaire entre la lavande ordinaire et le romarin [70].

Les fleurs (B) commencent à apparaître au milieu de l'été, et la période de floraison des violettes peut durer tout l'hiver. Elles sont très petites, regroupées en épis denses sur de longs pédicelles. Les épis sont couronnés de quelques bractées en forme de pétale plus développées. Chaque fleur peut produire deux petites particules noires [70].

Lavandula Dentata est une plante mellifère qui attire et nourrit de nombreux insectes. Elle contient de l'huile essentielle. Son huile essentielle a un effet antispasmodique [71]. L'huile essentielle de lavande est anxiolytique et réduit les troubles du sommeil [72].

La composition de l'huile de *Lactobacilles dentates* a fait l'objet de quelques recherches, à partir desquelles on peut conclure que la plante présente une variabilité chimique [73].



(A)



(B)

Fig. 13: Photographiés de *Lavandula Dentata* (A : feuille / B : fleur)

III. Répartition géographique et habitat

Lavandula Dentata, c'est une espèce méditerranéenne que l'on trouve couramment dans l'Atlas occidental de Tellien, originaire du Sud-ouest de la méditerranée (Portugal, Espagne, Maroc). Il a été trouvé près de la côte et dans les basses montagnes. La Lavande Dentée habite les garrigues, les endroits secs et silicicoles (silicicole, calcifuge), contrairement à la lavande vraie qui ne pousse que dans les sols calcaires [74].



Fig. 14 : Lieu d'habitat de *Lavandula Dentata*

IV. Caractéristique de Lavandula Dentata

on résume les caractéristiques de la plante de *Lavandula dentata* dans le tableau 2 :

Tableau 2: Caractérisation de *Lavandula Dentata*

Genre	Lavandula
Espèce	Dentata
Famille	Lamiacées
Rusticité	Résistant jusqu'à -6° C
Taille (Haut. X Large.)	60cm x 80cm
Densité de plantation par m²	6
Comestible	Fleurs comestibles
Parfum	Fleurs et feuilles très aromatique
Règne	Plante
Phylum	Magnoliophyta
Classe	Magnolipsida
Ordre	Lamiales

IV.1. Floraison

Tableau 3 : Floraison.

Résistance à la sécheresse	Besoin en eau moyen
Hauteur en fleur	50 à 70 cm
Exposition	Soleil
Couleur	Blanche/ Bleu/ Violet
Nature du feuillage	Persistant
Période de floraison	Automne/ Hiver/ Printemps

Plante parfumée	Feuillage aromatique Floraison parfumée
pH du sol	Acide/ Neutre (6,5<ph<7,5) Basique (calcaire ph>7,5)
Nature du sol	Drainant (caillouteux ou filtrant) sec et pauvre
Zone de rusticité	Z9 : -6°C à -1°C
Type de plantes	Arbrisseau
Usage de la plante	En massif jardin sur gravier pot et conteneur
Genre botanique	Lavandula

V. L'huile essentielle de Lavandula Dentata

La composition de l'huile essentielle de *Lavandula Dentata* change de mois en mois en fonction de l'environnement d'une région à l'autre. L'huile essentielle séparée est un mélange complexe d'hydrocarbures monoterpéniques, d'alcools, d'aldéhydes, de cétones, d'époxydes, de phénols et d'esters, et se caractérise par des hydrocarbures monoterpéniques principalement.[75]

La composition de l'huile essentielle des différents organes de la *Lavande Dentée* représentée dans le tableau 4

Tableau 4: Composition de l'huile essentielle de *Lavandula Dentata* [76].

Constituent	temps de rétention identifié (RT)	%
(+)-Fenchol	22.55	1.74
Camphor	27.55	60.39
DI-Limonène	14.94	0.41
Fenchone	22.34	28.05
Linalool	21.72	1.80
Linalool oxide	19.23	0.47

Myrtenal	31.16	1.04
Myrtenol	29.30	0.62
NI (non identifié)	25.48	1.19
NI (non identifié)	28.10	0.74
Para-Cymene-8-ol	30.30	0.27
Trans-linalool oxide	20.88	0.49
Verbenone	32.78	0.30
α-Terpinene	47.03	0.37
β-Pinene	11.8	0.89
β-Selinene	45.64	0.36

VI. Usage de la Lavande Dentée

VI.1. Usage cosmétique

L'huile essentielle de la lavande est largement employée dans l'industrie du parfum (eaux de Cologne, savons, vernis, lotions pour la peau, démaquillants...) [77]. En parfumerie, la Lavande fixe et stabilise toutes les essences de fleurs entre elles pour éviter que le parfum ne vire de plus [77].

VI. 2 Usage thérapeutique

En Aromathérapie, c'est une panacée à elle toute seule, tant elle traite les maux les plus courants et les plus variés, même les plus incommodes [78]. Il est utilisé pour traiter diverses maladies telles que les maladies gastro-intestinales, les infections microbiennes, la toux et l'asthme. De plus, c'est une espèce bien connue et largement utilisée en médecine populaire dans tout le bassin méditerranéen pour traiter diverses maladies [79].

Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus" [80].

VI. 3 Usage culinaire

La lavande aromatique n'est pas uniquement utilisée et cultivée à grande échelle pour la fabrication de parfums et de cosmétique, elle peut aussi servir à aromatiser des sauces, des soupes, des poissons, de la viande hachée et des ragoûts, on lui prête en outre des propriétés antiseptiques, sédatives, antidépressives et antispasmodiques [81].

VII. Etude chimique

Plusieurs travaux ont été effectués sur l'analyse chimique des extraits et de l'huile essentielle de la lavande dentée (*Lavandula Dentata*). On a étudié la quantification des composés phénoliques. Par rapport aux extraits d'autres organes, la teneur totale en poly phénols de la racine de la lavande est très riche (42,57 mg EAG. G-1MS). D'autre part, la teneur en poly phénols de l'extrait de feuille est d'environ (39,58 mg EAG. g-1MS). Quant aux tiges, elles comportent la plus faible teneur en ces molécules (16,17 mg EAG. G-1MS) [75].

Concernant la teneur en flavonoïdes totaux de la lavande dentée, les différents extraits des organes analysés suivent le même ordre de tri que l'ordre de tri entre organes décrit par les poly phénols totaux, mais le taux est inférieur à ce dernier. La teneur en ces molécules est la plus élevée dans les racines (30,06 mg EC. G-1 MS), suivie par la feuille (17.36 mg EC. g-1 MS) puis celle de la tige (10.74 mg EC. g-1 MS) [75].

Par ailleurs, l'activité antioxydante de la lavande dentée est très élevée et repose sur des composés phénoliques abondants. En effet, l'activité antioxydante totale de divers extraits de l'organe de *Lavandula Dentata* varie entre 66,87 et 190,52 mg. EAG.g-1 MS.

De plus, l'ordre de dominance des différents organes décrits pour cette activité suit strictement le même que la teneur en poly phénols et en flavonoïdes totaux. Par rapport aux autres organes, la racine se classe au premier rang avec l'activité antioxydante totale statistiquement la plus élevée (190,52 mg EAG.g MS). Les feuilles se classaient deuxième (66,87 mg EAG.g-1 MS), suivies des tiges (47,26 mg EAG.g-1 MS). D'une manière générale, l'activité antioxydante totale de cette espèce est très intéressante, car l'activité minimale exprimée est d'environ 47,26 mg EAG.g-1 MS, et varie selon l'organe jusqu'à atteindre 190,52 mg EAG.g-1 MS [75].

Deuxième partie: partie expérimentale

CHAPITRE III: Matériels et Méthodes

I. Provenance du matériel végétal et identification

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude a été collectée en Mars 2021 de la région de Rechgoune à Béni-Saf, Wilaya d'Ain Temouchent

II. L'extraction des huiles essentielles

La recherche bibliographique révèle peu de travaux publiés sur la chimie et les activités biologiques de l'huile essentielle de *Lavandula Dentata*. L'étude proposée a traité principalement l'étude des huiles essentielles par hydrodistillation (fig.15).

II.1. La Méthode d'extraction

L'extraction a été réalisée au niveau de laboratoire de chimie à l'université d'Ain Temouchent, la plante a été coupée en petits morceaux et soumise à une distillation aqueuse pendant 3 heures à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

La méthode d'extraction est décrite ci-dessous :

On place la matière végétale sèche : 400 g dans 4 litres d'eau distillée en utilisant un appareil de type Clevenger. Puis on chauffe l'ensemble pendant 2 heures, la vapeur doit traverser le réfrigérant, ce qui permet à la vapeur d'eau chargée dans les gouttelettes huile essentielle de se condenser. Il est récupéré dans un récipient de collecte qui produit une phase huileuse, riche en huile essentielle de *Lavandula dentata* et une phase aqueuse formée à partir de l'eau issue de l'hydrodistillation.

Enfin, l'huile essentielle est récupérée et conservée au réfrigérateur à 4°C. Le montage de l'hydrodistillation est représenté ci-dessous (Fig.15).

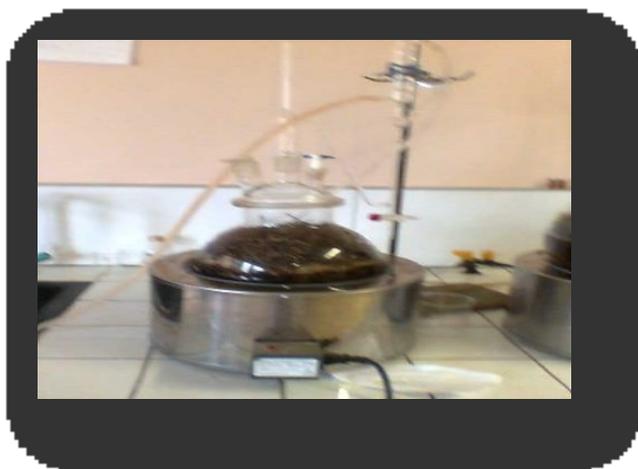


Fig. 15 : Montage d'hydrodistillation.

II.2. Caractérisation des huiles essentielles

II.2.1. L'analyse CPG, CPG/SM

L'analyse de l'huile obtenue permet d'identifier et de quantifier les produits qui la composent. L'analyse de la partie volatile est réalisée par deux techniques chromatographiques (CPG & CPG/SM).

Les composants sont identifiés en utilisant des indices de rétention (Ir) sur des colonnes chromatographiques polaires et apolaires. L'identification des composants individuels est basée sur les indices de rétention (Ir) calculés, sur les colonnes chromatographiques polaires et apolaires, l'indice de rétention de composés authentiques ou des données de la littérature[82], et des bibliothèques commerciales[83] et l'analyse de chaque spectre de masse des composés constitutifs.

II.2.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Les analyses sont réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Clarus 600, équipé de deux détecteurs à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur et de deux colonnes :

- Une colonne polaire (Rtx-Wax, polyéthylène glycol 60 m x 0,25 mm de diamètre interne, épaisseur du film : 0,25 μ m).
- Une colonne apolaire (Rtx-1, polydiméthylsiloxane).
- Le gaz vecteur est l'hélium (1 mL.mn-1) avec une pression en tête de colonne de 25 psi.
- La température de l'injecteur est de 250 °C et celle du détecteur de 280 °C.
- La programmation de la température consiste en une élévation de 60 à 230 °C, à 2 °C.mn-1, puis en un palier de 45 mn à 230 °C.
- L'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/50.
- La quantité d'huile essentielle injectée est de 0,1 à 0,2 μ l selon qu'elle soit pure ou diluée dans un solvant.
- Pour chacun des composés, les indices de rétention (Ir) polaires et apolaires sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme d'étalon d'alcane allant de C5 à C30 en programmation de température.

II.2.3. Couplage CPG/spectrométrie de masse (CPG/SM)

Les analyses sont réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer Autosystem XL, doté d'un injecteur automatique et de deux colonnes :

- Une colonne polaire (Rtx-Wax 60 m x 0,25 mm de diamètre interne, épaisseur du film : 0,25 μm).
- Une colonne apolaire (Rtx-1).

Ces deux colonnes sont couplées à un détecteur de masse quadripolaire Perkin Elmer Turbo Mass opérant dans les conditions chromatographiques décrites en II.1.1

L'acquisition des données chromatographiques est réalisée en mode SCAN : gamme de masse 35-350 uma avec un pas de 1 s entre les scans. Les spectres de masse sont enregistrés sous impact électronique (IE) à 70 eV.

III. Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles

❖ Test de réduction du radical stable, le DPPH•

Utilisé en tant que réactif, DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazylhydrate) (fig.16) offre évidemment une méthode pratique et précise pour titrer les groupes oxydables d'origine naturelle ou synthétique antioxydants. 1 mL de 0,004% solution de DPPH dans l'éthanol est mélangé avec un volume égal d'extraits d'essai à différentes concentrations et maintenu dans l'obscurité pendant 30 min. L'absorbance est lue à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (U.V/VIS Spectrophotomètre, Optizen POP).

- ✓ Le contrôle négatif est composé de 1mL de la solution éthanolique au DDPH et de 1 ml d'éthanol.
- ✓ Le contrôle positif est représenté par une solution d'acide ascorbique dont l'absorbance est mesurée dans les mêmes conditions que l'échantillon testé [84].

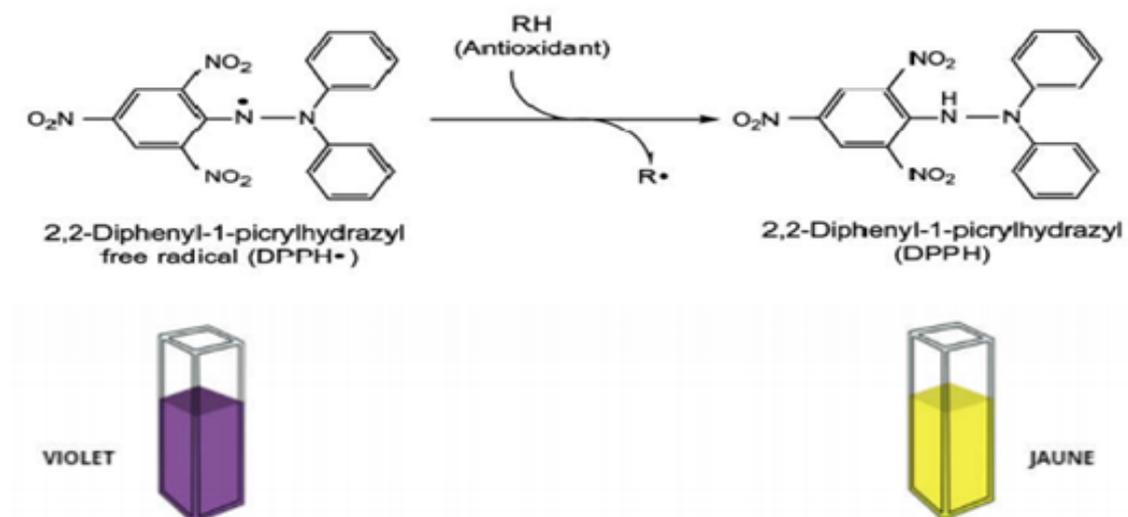


Fig.16: Réaction entre le radical DPPH et l'antioxydant pour former le DPPH.

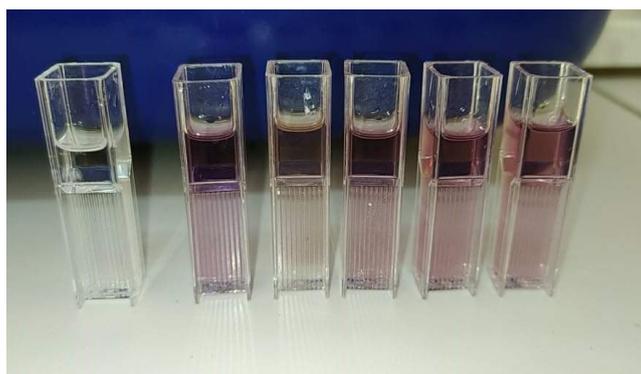


Fig.17: Test DPPH

Résultat et Discussion

I. Rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (RHE) correspond au rapport entre la masse de l'HE (m_{HE}) obtenue et la masse de matière végétale (m_{MV}) utilisée pour l'extraction. Il est exprimé en pourcentage. Il est estimé par la formule suivante :

$$RHE = \frac{m_{HE}}{m_{MV}} * 100$$

Dans 4 L d'eau distillée on a fait une extraction de 400 g de notre matériel végétal sèche et a été donnée 0.2426 g d'huile essentielle. Le rendement de l'extraction est de **0.8 %**

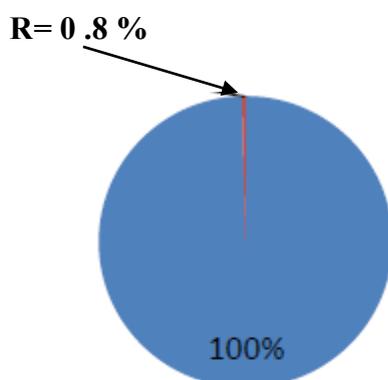


Fig.18: Représentation graphique de rendement d'huile essentielle *Lavandula Dentata*

L'huile essentielle collectée des parties aériennes de *Lavandula dentata* de la zone Rechgoune (Béni Saf) est analysée par CPG et CPG/SM. Les analyses ont permis d'identifier de 40 composés (tableau 5). La figure 19 illustre les différentes classes des composés caractéristiques de l'huile de la partie aérienne de *Lavandula dentata*. Les analyses chromatographiques (CPG-Ir et CPG/SM-IE) révèlent que :

Les principaux composants de l'huile essentielle de la *Lavandula Dentata* sont :

1,8-Cinéole (32%), Camphor(13%), (Z)-Verbénol (5%), Thymol (3.9) %, Germacrène D (3.8%). α -Pinène (2.1%), Sabinène (2.5%), β -Pinène (3),

Tableau 5 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Lavandula dentata*.

N°	Composés ^a	RI _a ^b	RI _a ^c	RI _p ^d	H.E ^e	Identification ^f
1	Hexanal	781	775	1076	0,1	RI, MS
2	Octane	802	800	800	tr	RI, MS
3	(E)-2-Hexenal	832	832	1213	0,1	RI, MS
4	α -Thujène	932	926	1023	0,1	RI, MS
5	α-Pinène	936	930	1024	2,1	RI, MS
6	(E)-2-Heptanal	931	932	1340	tr	RI, MS
7	α -Fenchène	941	941	1047	tr	RI, MS
8	Camphène	950	942	1068	0,1	RI, MS
9	Sabinène	973	962	1121	2,5	RI, MS
10	β-Pinène	978	969	1113	3	RI, MS
11	Limonène	1025	1019	1203	4,5	RI, MS
12	β -Phéllandrène	1023	1021	1211	1,1	RI, MS
13	1,8-Cinéole	1026	1022	1199	32	RI, MS
14	(Z)- β -Ocimène	1029	1027	1231	0,2	RI, MS
15	(E)-2-Octenal	1034	1032	1421	0,2	RI, MS
16	(E)- β -Ocimène	1041	1034	1248	0,1	RI, MS
17	Camphor	1125	1120	1496	13	RI, MS
18	(E)-Pinocarvéol	1126	1126	1646	tr	RI, MS
19	(Z)-Verbénol	1130	1130	1618	5	RI, MS
20	(E)-2-Nonenal	1139	1136	1527	tr	RI, MS
21	Pinocarvone	1137	1140	1551	0,3	RI, MS
22	Umbellulone	1151	1152	1612	0,1	RI, MS
23	Cryptone	1160	1154	1667	0,2	RI, MS
24	Terpinène-4-ol	1164	1158	1595	1	RI, MS
25	<i>p</i> -Cymène-8-ol	1169	1162	1834	tr	RI, MS
26	Nérol	1210	1212	1790	0,3	RI, MS
27	Méthyl thymyloxyde	1215	1213	1581	0,1	RI, MS
28	Cuminaldéhyde	1215	1214	1765	0,1	RI, MS
29	(Z)-3-Hexenyl-2-méthyl butyrate	1220	1215	1460	tr	RI, MS
30	Géraniol	1235	1234	1838	0,4	RI, MS
31	Géranial	1244	1240	1727	tr	RI, MS
32	E-2-decénal	1240	1236	1647	0,1	RI, MS
33	Thymol	1267	1269	2167	3,9	RI, MS
34	β -Bourbonène	1386	1380	1516	0,1	RI, MS
35	(E)- β -caryophyllène	1421	1418	1595	2,6	RI, MS
36	Tridecan-2-one	1477	1479	1809	0,2	RI, MS
37	Germacrène D	1479	1473	1707	3,8	RI, MS

38	γ -Cadinène	1507	1505	1749	0,1	RI, MS
39	Cubebol	1514	1509	1929	0,6	RI, MS
40	τ --Cadinène	1520	1514	1752	0,5	RI, MS
% d'identification					75,7	

^aOrdre d'éluion est donné sur colonne apolaire (Rtx-1).^b RI_{Lit} : indices de rétention de la littérature sur colonne apolaire reportés à partir de König et Coll., 2001 et NIST, 2005.^c RI_a : indices de rétention sur colonne apolaire Rtx-1.

RI : indices de rétention ; MS : spectre de masse en mode impact électronique ; tr : trace (<0.05%) ; ^d % : pourcentages des composés.

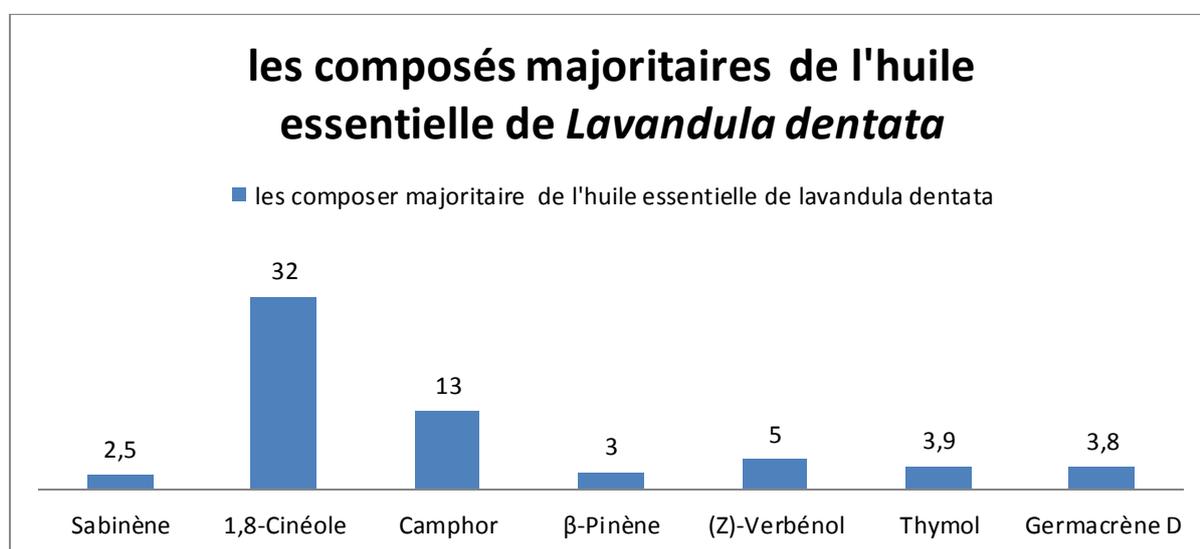


Fig.19: Histogramme de composés majoritaires de l'huile de *Lavandula Dentata*

L'activité antioxydante de d'huile essentielle de *Lavandula Dentata* a été évaluée par la méthode de réduction de DPPH• en utilisant ar l'acide ascorbique comme antioxydant de référence..

Dans la présente étude, l'huile essentielle de *Lavandula Dentata* et la vitamine C ont pu réduire le radical libre DPPH•. Cette huile a montré une moyenne capacité antioxydante comparant à la vitamine C. Le valeur de IC₅₀ estde (0.19 mg/mL). La valeur de IC₅₀ de la vitamine C est de (0.048 mg/mL). L'activité antioxydante de l'huile essentielle extraie est due à leur composé majeur qui est le 1,8-Cinéole, mais aussi à la présence des autres composés

en faibles quantités ou en synergie entre eux (α -Pinène 2.1%), Sabinène (2.5%), β -Pinène (3%), (Z)-Verbénol (5), Thymol (3.9%), Germacrène D (3.8%).

Par rapport aux d'autres études la IC_{50} de cette HE est relativement bas que celui trouvé pour l'huile extrait de *Lavandula Dentata* cultivée au Inde qui était (0.19 mg/ml).

Tableau 6: Test de réduction du radical DPPH° de l'huile essentielle de *Lavandula dentata*.

Échantillons (mg/mL)	Pourcentage de réduction de DPPH (%)	IC_{50}^a (mg/mL)
Huile essentielle de <i>Lavandula. dentata</i>		
0,04	4,57	0,19
0,06	6,62	
0,08	28,71	
0,12	39,41	
0.24	51,18	
Concentration-Acide ascorbique (mg/mL)		
0,04	39,40	0,048
0,05	51,03	
0,06	68,57	
0,08	97,84	
0,2	98,36	

^a IC_{50} : Concentration qui fournit 50% d'inhibition du DPPH°

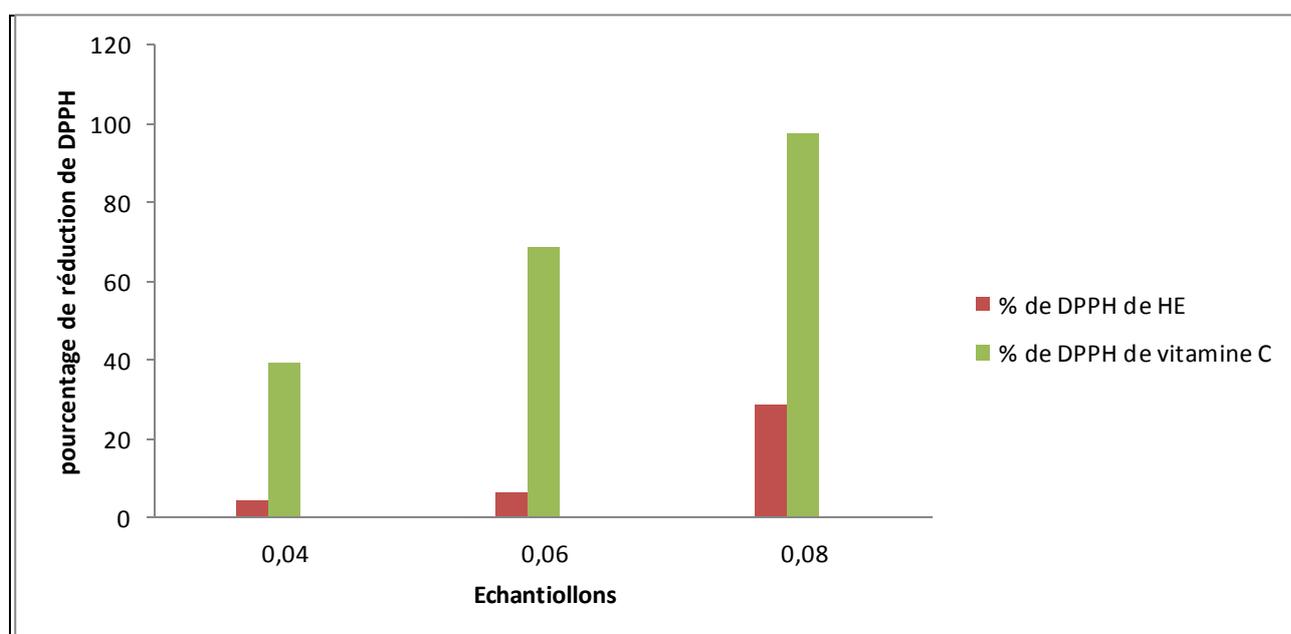


Fig.20: Histogramme de pourcentage de réduction du radical libre de DPPH

Conclusion générale

Conclusion générale

L'Algérie possède une riche biodiversité dans les zones côtières, les montagnes, les plateaux, les prairies et les oasis sahariennes, et possède donc un important patrimoine végétal. Les plantes médicinales sont une source inépuisable de substances et de composés naturels à double activité.

Notre travail porte sur l'étude de la composition chimique et l'activité antioxydante de *Lavandula Dentata* de la famille des Lamiacées. Cette famille est célèbre pour être riche en une variété de métabolites secondaires (tels que les polyphénols) ayant une importance biologique importante.

L'extraction d'huile essentielle de *Lavandula Dentata* a été réalisée par hydrodistillation de type cleverger, le rendement moyen d'extraction est de 0.8 %.

L'activité antioxydante d'extrait de *Lavandula Dentata* été évaluée par la méthode de piégeage de radical libre DPPH, le résultat a montré que l'extrait possède une activité antioxydante modéré

Par ailleurs, les principaux composants de l'huile essentielle de *Lavandula Dentata* sont : α -Pinène (2.1%), Sabinène (2.5 %), β -Pinène (3%), 1,8-Cinéole (32%), Camphor(13%), (Z)-Verbénol (5%), Thymol (3.9%), Germacrène D (3.8%).

Résumé

Notre travail concerne l'étude de composition chimique et l'activité antioxydant de l'huile essentielle la lavande (*Lavandula dentata*) de la région Rechgoune (Béni-Saf wilaya d'Ain Temouchent d'Algérie). L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. La composition de l'huile essentielle a été analysée par CPG/SM. L'analyse a permis d'identifier 40 composés terpéniques dont les principaux sont : α -Pinène (2.1%), Sabinène (2.5 %), β -Pinène (3%), 1,8-Cinéole (32%), Camphor(13%), (Z)-Verbénol (5%), Thymol (3.9%), Germacrène D (3.8%).

L'étude du pouvoir antioxydant de cette huile a été réalisée par la méthode de DPPH. Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une antioxydante modéré de l'huile essentielle de la *Lavandula Dentata*.

Mots clé : Huile essentielle, *Lavandula Dentata*, Activité antioxydante, CPG/SM.

Abstract

Our work concerns the study of the chemical composition and the antioxidant activity of the essential oil of lavender (*Lavandula dentata*) from Rechgoune region (Béni-Saf wilaya of Ain Temouchent of Algeria). The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation. The composition of the essential oil was analyzed by CPG / SM. The analysis identified 40 terpene compounds, the main compounds are: α -Pinene (2.1%), Sabinene (2.5%), β -Pinene (3%), 1,8-Cineole (32%), Camphor (13%), (Z) -Verbenol (5%), Thymol (3.9%), Germacrene D (3.8%).

The study of the antioxidant power of this oil was carried out by the method of DPPH. The results obtained showed the existence of a moderate antioxidant of essential oil from *Lavandula Dentata*.

Key words: essential oil, *Lavandula Dentata*, Antioxidant activity, CG/SM.

الملخص

يتعلق عملنا بدراسة التركيب الكيميائي وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري للخزامى النباتي (*Lavandula dentata*) من رجعون بني صاف بولاية عين تموشنت بالجزائر *Lavandula dentata*. هو نبتة عطرية عفوية منتشرة في الجزائر ، تنتمي إلى عائلة Lamiaceae ، المعروفة باسم "الخزامى أو الحلال". تم استخراج الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي. تم تحليل تركيبة الزيت العطري بواسطة CPG/SM. حددت 40 مركب تربين ، أهمها: α -Pinene (2.1) ، Sabinene (2.5) ، β -Pinene (3) ، 1,8-Cinéole (32.1) ، كافور (13) ، (Z) -فيربينول (5) ، ثيمول (3.9) ، جيرماكرين د (3.8).

تم إجراء دراسة القوة المضادة للأكسدة لهذه الزيوت بواسطة طريقة DPPH. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود نشاط مضاد للأكسدة للزيت العطري لنبات *Lavandula Dentata* أقل فعالية مقارنة بفيتامين سي .

CPG ، النشاط المضاد للأكسدة ، الاستخراج ، *Lavandula Dentata* الكلمات المفتاحية: الزيت العطري ،

Références

Références

- [1] J.-P. Lafon, C. Tharaud-Prayer and G. Lévy, (1988).
- [2] M. Chenni, Mémoire de doctorat, université d'Oran, 1 (2016).
- [3] J. Gómez-Estaca, A.L. De Lacey, M. López-Caballero, M. Gómez-Guillén and P. Montero, Food microbiology, 27 (2010) 889.
- [4] A. Pauli, International Journal of Aromatherapy, 11 (2001) 126.
- [5] F. Couic-Marinier and A. Lobstein, Actualités pharmaceutiques, 52 (2013) 26.
- [6] A. Modzelewska, S. Sur, S.K. Kumar and S.R. Khan, Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents, 5 (2005) 477.
- [7] S. Burt, International journal of food microbiology, 94 (2004) 223.
- [8] F. Chemat, M. Abert-Vian and X. Fernandez, Microwave-assisted extraction for bioactive compounds, Springer, 2012, p. 53.
- [9] J.-M. Lardry and V. Haberkorn, Kinésithérapie, la revue, 7 (2007) 14.
- [10] G. Jacques and S. Paltz, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz, (1997).
- [11] P. Duquenois, Parf. Cosm. Sov, 11 (1968) 414.
- [12] L. PEYRON and N. YR, (1977).
- [13] M. Paris, M. Hurabielle and R.-R. Paris, Abrégé de matière médicale: Monographies (2. Partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumoraux d'origine végétale, Masson, 1981.
- [14] B. Abdechafie, P.H.J. Eddine and P.B. Abdelouahed.
- [15] T. Kato, H. Iijima, K. Ishihara, T. Kaneko, K. Hirai, Y. Naito and K. Okuda, The Bulletin of Tokyo Dental College, 31 (1990) 301.
- [16] L. Lakhdar, Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro, 2015.
- [17] F. Chemat, M. Abert-Vian and X. Fernandez, Microwave-assisted extraction for bioactive compounds, Springer, 2012, p. 53.
- [18] J.-M. Lardry and V. Haberkorn, Kinésithérapie, la revue, 7 (2007) 14.
- [19] P. Masango, Journal of Cleaner Production, 13 (2005) 833.
- [20] A. Zaim, L. El Ghadraoui and A. Farah, Bulletin de l'institut scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, 34 (2012) 127.
- [21] T. Dao, T. Tran, N. Nhan, N. Quyen, L. Tien, T. Anh, P. Quan, N. Nguyen, L. Anh and H. Linh, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering 2020.
- [22] M.B. Wafà.
- [23] G. Igolen, Fruits, 1 (1945) 10.
- [24] T. Kenne Kemene and M.-L. Fauconnier, (2019).
- [25] A. OUGUELMANE and R. HOUICHITI, Etude des activités biologiques d'une plante aromatique médicinale locale" *Citrus aurantium*, 2020, جامعة غرداية.
- [26] L. Peyron and H. Richard, Épices et aromates, Paris: Tec et Doc-Lavoisier, APRIA, (1992).

- [27] M.N. BOUKHATEM, A. FERHAT and A. KAMELI, *Une*, 3 (2019) 4.
- [28] L. Atrous and A. Allaoua, (2020).
- [29] A. Farhat, *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application*, Université d'Avignon, 2010.
- [30] K. Rhayour, (2002).
- [31] C.S. Sell, *The chemistry of fragrances: from perfumer to consumer*, Royal Society of Chemistry, 2006.
- [32] E. Breitmaier, *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*, John Wiley & Sons, 2006.
- [33] R. Vila, M. Mundina, F. Tomi, R. Furlán, S. Zacchino, J. Casanova and S. Cañigual, *Planta medica*, 68 (2002) 164.
- [34] M. Chenni, *Mémoire de doctorat, université d'Oran*, 1 (2016).
- [35] P.J. Marriott, R. Shellie and C. Cornwell, *Journal of Chromatography A*, 936 (2001) 1.
- [36] L.S. De Padua, N. Bunyaphatsara and R.H.M.J. Lemmens, *Plant resources of South-East Asia 12:(1) medicinal and poisonous plants 1*, Backhuys Publishers, 1999.
- [37] A. El Haib, *Toulouse: Université de Toulouse III-Paul Sabatier*, (2011).
- [38] A. Modzelewska, S. Sur, S.K. Kumar and S.R. Khan, *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5 (2005) 477.
- [39] D. Meddah and H. Deloum, *LES TERPENES*, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2007.
- [40] D. Joulain, *Perfumer & Flavorist*, 19 (1994) 5.
- [41] C. Daher, *Analyse par spectroscopies Raman et infrarouge de matériaux naturels organiques issus d'objets du patrimoine: méthodologies et applications*, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2012.
- [42] P. Longevialle and F.W. McLafferty, *Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques*, Masson, 1981.
- [43] E. De Hoffmann, J. Charette and V. Stroobant, *Dunod*, Paris, (1999).
- [44] F.W. McLafferty, F. Tureček and F. Turecek, *Interpretation of mass spectra*, University science books, 1993.
- [45] Y.L. BEREKSI REGUIG, *Interactions entre l'huile essentielle de Thymus capitatus, Mentha piperita et Carthamus caeruleus, et de leur composants majoritaires: Effet du synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante*, 04/01/2017, 2017.
- [46] J. De Graeve, F. Berthou, M. Prost and P. Arpino, *Méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse: technologie et applications dans les domaines de l'environnement, la pharmacologie et la biochimie*, Masson, 1986.
- [47] F. Tazerouti, A. Badjah-Hadj-Ahmed, B. Meklati and M. BOBENRIETH, *Plantes médicinales et phytothérapie*, 26 (1993) 161.
- [48] M. IBRAHIM, P. Kainulainen, A. Aflatuni and K. TIILIKKALA, *CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DURANTE A PÓS-COLHEITA DE GOIABAS "PALUMA" SIMULANDO ARMAZENAMENTO E A COMERCIALIZAÇÃO.*, (2012) 42.
- [49] R.E. Doolittle, J. Tumlinson and A. Proveaux, *Analytical chemistry*, 57 (1985) 1625.
- [50] M. Zupanc, M. Prošek and M. Dušan, *Journal of High Resolution Chromatography*, 15 (1992) 510.

- [51] D.J. Rabehaja, G. Raelison, H. Ihandriharison, P.A. Ramanoelina, J. Casanova and F. Tomi, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13 (2010) 522.
- [52] R.P. Adams, *Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy*, Academic press, 2012.
- [53] N.I.o. Standards and Technology, (1999).
- [54] A. Cambon, *Science, Technique, Technologie*, 11 (1989) 4.
- [55] R. Yost and C. Enke, *Analytical chemistry*, 51 (1979) 1251.
- [56] M.S. Munson and F.-H. Field, *Journal of the American Chemical Society*, 88 (1966) 2621.
- [57] E.J. Radauscher, A.D. Keil, M. Wells, J.J. Amsden, J.R. Piascik, C.B. Parker, B.R. Stoner and J.T. Glass, *Journal of The American Society for Mass Spectrometry*, 26 (2015) 1903.
- [58] R.C. Dougherty, *Analytical Chemistry*, 53 (1981) 625.
- [59] A.G. Harrison, *Chemical ionization mass spectrometry*, Routledge, 2018.
- [60] F. Tomi, P. Bradesi, A. Bighelli and J. Casanova, *J. Magn. Reson. Anal*, 1 (1995) 25.
- [61] K.-H. Kubeczka and V. Formáček, *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy*, John Wiley & Sons Ltd, 2002.
- [62] F. Grundschober, *ZEITSCHRIFT FUR LEBENSMITTEL-UNTERSUCHUNG UND-FORSCHUNG*, 192 (1991) 530.
- [63] K.-H. Kubeczka and V. Formáček, *Analysis of volatiles*, de Gruyter, 2011, p. 219.
- [64] A. Bighelli, P. Bradesi, F. Tomi and J. Casanova, *Can. J. Applied Spectro.*, 41 (1996) 41.
- [65] M. Corticchiato and J. Casanova, *Analusis (Imprimé)*, 20 (1992) M51.
- [66] S. Rezzi, A. Bighelli, V. Castola and J. Casanova, *Applied Spectroscopy*, 56 (2002) 312.
- [67] V. Castola, A. Bighelli and J. Casanova, *Applied Spectroscopy*, 53 (1999) 344.
- [68] V. Castola, A. Bighelli, L. Conti, G. Scano, S. Mascia and J. Casanova, *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 45 (2000) 102.
- [69] H. Gunther, *La Spectroscopie de RMN: principes de base, concepts et applications de la Spectroscopie de Resonance Magnétique Nucléaire du Proton et du Carbone 13 en Chimie*, Elsevier Masson, Paris, 1996.
- [1] J.-P. Lafon, C. Tharaud-Prayer and G. Lévy, (1988).
- [2] M. Chenni, *Mémoire de doctorat, université d'Oran*, 1 (2016).
- [3] J. Gómez-Estaca, A.L. De Lacey, M. López-Caballero, M. Gómez-Guillén and P. Montero, *Food microbiology*, 27 (2010) 889.
- [4] A. Pauli, *International Journal of Aromatherapy*, 11 (2001) 126.
- [5] F. Couic-Marinier and A. Lobstein, *Actualités pharmaceutiques*, 52 (2013) 26.
- [6] A. Modzelewska, S. Sur, S.K. Kumar and S.R. Khan, *Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents*, 5 (2005) 477.
- [7] S. Burt, *International journal of food microbiology*, 94 (2004) 223.
- [8] F. Chemat, M. Abert-Vian and X. Fernandez, *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds*, Springer, 2012, p. 53.
- [9] J.-M. Lardry and V. Haberkorn, *Kinésithérapie, la revue*, 7 (2007) 14.

- [10] G. Jacques and S. Paltz, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz, (1997).
- [11] P. Duquenois, *Parf. Cosm. Sov*, 11 (1968) 414.
- [12] L. PEYRON and N. YR, (1977).
- [13] M. Paris, M. Hurabielle and R.-R. Paris, *Abrégé de matière médicale: Monographies (2. Partie): plantes actives sur le système nerveux, sur l'appareil digestif, plantes cardiotoniques, plantes antiparasitaires, plantes insecticides, antibiotiques et antitumorales d'origine végétale*, Masson, 1981.
- [14] B. Abdechafie, P.H.J. Eddine and P.B. Abdelouahed.
- [15] T. Kato, H. Iijima, K. Ishihara, T. Kaneko, K. Hirai, Y. Naito and K. Okuda, *The Bulletin of Tokyo Dental College*, 31 (1990) 301.
- [16] L. Lakhdar, Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: Etude in vitro, 2015.
- [17] P. Masango, *Journal of Cleaner Production*, 13 (2005) 833.
- [18] A. Zaim, L. El Ghadraoui and A. Farah, *Bulletin de l'institut scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie*, 34 (2012) 127.
- [19] T. Dao, T. Tran, N. Nhan, N. Quyen, L. Tien, T. Anh, P. Quan, N. Nguyen, L. Anh and H. Linh, *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 2020.
- [20] M.B. Wafa.
- [21] G. Igolen, *Fruits*, 1 (1945) 10.
- [22] T. Kenne Kemene and M.-L. Fauconnier, (2019).
- [23] A. OUGUELMANE and R. HOUICHITI, Etude des activités biologiques d'une plante aromatique médicinale locale " *Citrus aurantium*, 2020, جامعة غرداية.
- [24] L. Peyron and H. Richard, *Épices et aromates*, Paris: Tec et Doc-Lavoisier, APRIA, (1992).
- [25] M.N. BOUKHATEM, A. FERHAT and A. KAMELI, *Une*, 3 (2019) 4.
- [26] L. Atrous and A. Allaoua, (2020).
- [27] A. Farhat, *Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application*, Université d'Avignon, 2010.
- [28] K. Rhayour, (2002).
- [29] C.S. Sell, *The chemistry of fragrances: from perfumer to consumer*, Royal Society of Chemistry, 2006.
- [30] E. Breitmaier, *Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones*, John Wiley & Sons, 2006.
- [31] R. Vila, M. Mundina, F. Tomi, R. Furlán, S. Zacchino, J. Casanova and S. Cañigüeral, *Planta medica*, 68 (2002) 164.
- [32] P.J. Marriott, R. Shellie and C. Cornwell, *Journal of Chromatography A*, 936 (2001) 1.
- [33] L.S. De Padua, N. Bunyapraphatsara and R.H.M.J. Lemmens, *Plant resources of South-East Asia 12:(1) medicinal and poisonous plants 1*, Backhuys Publishers, 1999.
- [34] A. El Haib, *Toulouse: Université de Toulouse III-Paul Sabatier*, (2011).
- [35] D. Meddah and H. Deloum, *LES TERPENES*, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila, 2007.
- [36] D. Joulain, *Perfumer & Flavorist*, 19 (1994) 5.
- [37] C. Daher, *Analyse par spectroscopies Raman et infrarouge de matériaux naturels organiques issus d'objets du patrimoine: méthodologies et applications*, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI, 2012.
- [38] P. Longevialle and F.W. McLafferty, *Principes de la spectrométrie de masse des substances organiques*, Masson, 1981.
- [39] E. De Hoffmann, J. Charette and V. Stroobant, *Dunod*, Paris, (1999).
- [40] F.W. McLafferty, F. Tureček and F. Turecek, *Interpretation of mass spectra*, University science books, 1993.
- [41] Y.L. BEREKSI REGUIG, *Interactions entre l'huile essentielle de Thymus capitatus, Mentha piperita et Carthamus caeruleus, et de leur composants majoritaires: Effet du synergisme ou d'antagonisme sur l'activité antioxydante*, 04/01/2017, 2017.

- [42] J. De Graeve, F. Berthou, M. Prost and P. Arpino, Méthodes chromatographiques couplées à la spectrométrie de masse: technologie et applications dans les domaines de l'environnement, la pharmacologie et la biochimie, Masson, 1986.
- [43] F. Tazerouti, A. Badjah-Hadj-Ahmed, B. Meklati and M. BOBENRIETH, Plantes médicinales et phytothérapie, 26 (1993) 161.
- [44] M. IBRAHIM, P. Kainulainen, A. Aflatuni and K. TIILIKKALA, CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DURANTE A PÓS-COLHEITA DE GOIABAS "PALUMA" SIMULANDO ARMAZENAMENTO E A COMERCIALIZAÇÃO., (2012) 42.
- [45] R.E. Doolittle, J. Tumlinson and A. Proveaux, Analytical chemistry, 57 (1985) 1625.
- [46] M. Zupanc, M. Prošek and M. Dušan, Journal of High Resolution Chromatography, 15 (1992) 510.
- [47] D.J. Rabehaja, G. Raoelison, H. Ihandriharison, P.A. Ramanoelina, J. Casanova and F. Tomi, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13 (2010) 522.
- [48] R.P. Adams, Identification of essential oils by ion trap mass spectroscopy, Academic press, 2012.
- [49] N.I.o. Standards and Technology, (1999).
- [50] A. Cambon, Science, Technique, Technologie, 11 (1989) 4.
- [51] R. Yost and C. Enke, Analytical chemistry, 51 (1979) 1251.
- [52] M.S. Munson and F.-H. Field, Journal of the American Chemical Society, 88 (1966) 2621.
- [53] E.J. Radauscher, A.D. Keil, M. Wells, J.J. Amsden, J.R. Piascik, C.B. Parker, B.R. Stoner and J.T. Glass, Journal of The American Society for Mass Spectrometry, 26 (2015) 1903.
- [54] R.C. Dougherty, Analytical Chemistry, 53 (1981) 625.
- [55] A.G. Harrison, Chemical ionization mass spectrometry, Routledge, 2018.
- [56] F. Tomi, P. Bradesi, A. Bighelli and J. Casanova, J. Magn. Reson. Anal, 1 (1995) 25.
- [57] K.-H. Kubeczka and V. Formáček, Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, John Wiley & Sons Ltd, 2002.
- [58] F. Grundschober, ZEITSCHRIFT FUR LEBENSMITTEL-UNTERSUCHUNG UND-FORSCHUNG, 192 (1991) 530.
- [59] K.-H. Kubeczka and V. Formáček, Analysis of volatiles, de Gruyter, 2011, p. 219.
- [60] A. Bighelli, P. Bradesi, F. Tomi and J. Casanova, Can. J. Applied Spectro., 41 (1996) 41.
- [61] M. Corticchiato and J. Casanova, Analisis (Imprimé), 20 (1992) M51.
- [62] S. Rezzi, A. Bighelli, V. Castola and J. Casanova, Applied Spectroscopy, 56 (2002) 312.
- [63] V. Castola, A. Bighelli and J. Casanova, Applied Spectroscopy, 53 (1999) 344.
- [64] V. Castola, A. Bighelli, L. Conti, G. Scano, S. Mascia and J. Casanova, Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy, 45 (2000) 102.
- [65] H. Gunther, La Spectroscopie de RMN: principes de base, concepts et applications de la Spectroscopie de Résonance Magnétique Nucléaire du Proton et du Carbone 13 en Chimie, Elsevier Masson, Paris, 1996.
- [66] K. Msaada, N. Salem, S. Tammar, M. Hammami, M. Jamal Saharkhiz, N. Debiche, F. Limam and B. Marzouk, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15 (2012) 1030.
- [67] A. Beloued, Libraires Modernes: Rouïba, Algérie, (1999).
- [68] S. Benkherara, O. Bordjiba and A.B. Djahra, Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie, 23 (2011) 72.
- [69] M.S. Hanamanthagouda, S.B. Kakkalameeli, P.M. Naik, P. Nagella, H.R. Seetharamareddy and H.N. Murthy, Food Chemistry, 118 (2010) 836.
- [70] W.B. DJABALLAH and R. BELLAKA.
- [71] A.M. Abdella, A.M. Abdelmoniem, I.A. Abdelhamid and A.H. Elwahy, Journal of Heterocyclic Chemistry, 57 (2020) 1476.
- [72] S. Kasper, M. Gastpar, W.E. Müller, H.-P. Volz, H.-J. Möller, A. Dienel and S. Schläfke, International clinical psychopharmacology, 25 (2010) 277.
- [73] L. Bousmaha, J.B. Boti, F.A. Bekkara, V. Castola and J. Casanova, Flavour and fragrance Journal, 21 (2006) 368.

- [74] C. MOURRE, Sa culture, son industrie, son analyse, (1923).
- [75] I. Bettaieb Rebey, S. Bourgou, M. Saidani Tounsi, M.-L. Fauconnier and R. Ksouri, Journal of New Sciences, 39 (2017) 2096.
- [76] A.S. Al-Sarar, Bothalia, 44 (2014) 170.
- [77] P. Schauenbergue and F. Paris, Detachaux et Niesilté, (2010).
- [78] C. Dupin and D. Festy, La lavande, c'est malin: Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur pour la beauté, la santé, la maison..., Leduc. s Éditions, 2012.
- [79] H. Boubaker, H. Karim, F. Msanda, E.H. Boudyach and A. Ait Ben Ao, Journal of Applied Sciences, 19 (2019) 544.
- [80] L. Hornok, (1992).
- [81] H.W. Kothe, 1000 plantes aromatiques et médicinales, Terres éd., 2007.
- [82] A. Ziegler, I.R. König and J.R. Thompson, Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences, 50 (2008) 8.
- [83] I. CHIKHI, COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITES BIOLOGIQUES DES EXTRAITS DE CINQ PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES DE L'OUEST D'ALGERIE, 2014.
- [84] P. Molyneux, Songklanakarin J. sci. technol, 26 (2004) 211.
- [85] M. Gamez, J. Jimenez, C. Navarro and A. Zarzuelo, Pharmazie, 45 (1990) 69.
- [86] L. Bachiri, G. Echchegadda, J. Ibijbijen and L. Nassiri, European Scientific Journal, 12 (2016) 313.