

UNIVERSITE BLIDA 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Biotechnologies

MEMOIRE DE MAGISTER

Spécialité : Agro-ressources

EXTRACTION ET CARACTERISATION DES COMPOSES
SECONDAIRES DE DEUX PLANTES : ARMOISE BLANCHE
(*Artemisia herba-alba* Asso.) ET ROMARIN (*Rosmarinus officinalis* L.)
DE LA REGION DE M'SILA : EFFETS THERAPEUTIQUES
ET BIOPESTICIDES.

Par

Asma MELIANI

Devant le jury composé de :

S.A. SNOUSSI	Professeur, U. Blida 1	Président
A. TOUATI	Professeur, E.N.S., Kouba	Examineur
T. HADJ SADOK	Maître de conférences A, U. Blida 1	Examineur
F.Z. BENREBIHA	Professeur, U. Blida 1	Promotrice
C. CHAOUIA	Maître de conférences A, U. Blida 1	Co-Promotrice

Blida, Juin 2016

RESUME

L'extraction des huiles essentielles d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) et du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) de la région de M'sila, par hydrodistillation de type Clevenger, a donné un rendement de $0,70 \pm 0,20\%$ et $1,40 \pm 0,41\%$, respectivement. L'identification par CPG/MS a permis de déterminer les composants dominants de l'huile essentielle d'armoise blanche à savoir le camphre (34,5%), chrysanthénone (14,7%), 1,8-cinéole (9,2%), camphène (8,3%), α -thujone (7,3%) et le bornéol (4,7%). Cependant, l'huile essentielle du romarin a été caractérisée comme ayant un important contenu de camphre (44,16%) suivi par le 1,8-cinéole (16,15%), l' α -pinène (14,12%) et le camphène (6,83%). L'activité antimicrobienne a été étudiée vis-à-vis de six souches microbiennes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Candida albicans* qui se sont toutes révélées sensibles aux huiles essentielles étudiées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante. L'évaluation de l'activité biopesticide des échantillons testés vis-à-vis de deux champignons : *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* a été importante. Les résultats de l'activité antioxydante mesurée en utilisant le test de piégeage du radical diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) montrent que les huiles essentielles testées ont une activité antioxydante modérée, relativement faible comparées aux antioxydants de références. L'étude toxicologique sur des souris *Mus musculus* a montré que les huiles essentielles étudiées sont faiblement toxiques.

Mots clés : *Artemisia herba-alba* Asso., *Rosmarinus officinalis* L., hydrodistillation, huile essentielle, effet antimicrobien, effet biopesticide, effet antioxydant, toxicité.

ABSTRACT

The extraction of essential oils from wormwood (*Artemisia herba-alba* Asso.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from M'sila, by hydrodistillation using Clevenger type, gave a yield of $0,70 \pm 0,20\%$ and $1,40 \pm 0,41\%$, respectively. The identification by GC/MS was used to determine the dominant components of the wormwood essential oil such as camphor (34,5%), chrysanthenone (14,7%), 1,8-cineol (9,2%), camphene (8,3%), α -thujone (7,3%) and borneol (4,7%). However, the rosemary essential oil was characterized as having an important content of camphor (44,16%) followed by 1,8-cineol (16,15%), the α -pinene (14,12%) and camphene (6,83%). The antimicrobial effect was studied towards six microbial strains: *Escherichia coli*, *Klebsiella Pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Candida albicans*, they are all revealed sensitive to essential oils except for *Pseudomonas aeruginosa* has proved resistant. The evaluation of the pesticidal activity of the samples tested towards two fungi: *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum* was important. The results of antioxidant activity measured using the trapping test diphenylpicrylhydrazyl radical (DPPH) show that essential oils tested have moderate antioxidant activity, relatively low compared to the antioxidants references. The toxicological study of *Mus musculus* mice showed that essential oils studied have low toxicity.

Keywords : *Artemisia herba-alba* Asso., *Rosmarinus officinalis* L., hydrodistillation, essential oil, antimicrobial effect, biopesticide effect, antioxidant effect, toxicity.

الملخص

استخراج الزيوت الأساسية لنبتتي الشيح (*Artemisia herba-alba* Asso.) وإكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.) من منطقة المسيلة، بتقنية التقطير بالبخار، باستعمال جهاز Clevenger، أعطى مردودا قيمته $0,70 \pm 0,20\%$ و $1,40 \pm 0,41\%$ ، على التوالي. المعاينة بواسطة جهاز CG/MS سمحت باستخراج المكونات الرئيسية الغالبة في زيت نبتة الشيح camphre (34,5%)، chrysanthénone (14,7%)، 1,8-cinéole (9,2%)، camphène (8,3%)، α -thujone (7,3%) و bornéol (4,7%) . بينما زيت نبتة إكليل الجبل فهو يحتوي على كمية هامة من camphre (44,16%)، 1,8-cinéole (16,15%)، α -pinène (14,12%) و camphène (6,83%). تمت دراسة النشاط المضاد للميكروبات على ستة كائنات مجهرية وهي: *Pseudomonas aeruginos*، *Klebsiella pneumonie*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus*، *Bacillus subtilis* و *Candida albicans* حيث تبينت كلها حساسة للزيوت الأساسية باستثناء *Pseudomonas aeruginosa* التي اثبتت قدرتها على المقاومة. اظهرت الزيوت الاساسية المختبرة نشاطا جيدا كمضادات حيوية على الفطريات *Aspergillus niger* و *Fusarium oxysporum*. أظهرت نتائج تقييم النشاط المضاد للأكسدة عن طريق اختبار محاصرة الراديكال diphénylpicrylhydrazyl (DPPH) ان الزيوت الاساسية لها نشاط مضاد للأكسدة متوسط، نسبيا ضعيف مقارنة بمضادات الاكسدة المرجعية المعمول بها. اظهرت دراسة درجة السمية على فئران من نوع *Mus musculus* ان الزيوت الاساسية المدروسة ضعيفة السمية .

الكلمات المفتاحية : (*Artemisia herba-alba* Asso.)، إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis* L.)،

التقطير بالبخار، زيت اساسي، تأثير مضاد للميكروبات، تأثير المضادات الحيوية، تأثير مضاد الأكسدة، السمية.

REMERCIEMENTS

Avant tout je remercie Dieu « ALLAH » le tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Je tiens à faire part de ma reconnaissance particulière et de mon respect profond aux membres composant le jury :

Ma promotrice Madame BENREBIHA F.Z. professeur à l'U. Blida 1 pour les conseils prodigués et sa persévérance dans le suivi.

Ma Co-promotrice Madame CHAOUIA C. maître de conférences A à l'U. Blida 1 pour tout l'effort fourni, sa patience, ses orientations et ses conseils judicieux qui m'en éclairé.

Monsieur SNOUSSI S.A. professeur à l'U. Blida 1 qui m'a fait l'honneur d'assurer la présidence du jury.

Monsieur TOUATI A. professeur à l'E.N.S-Kouba d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Monsieur HADJ SADOK T. maître de conférences A à l'U. Blida-1 qui a bien voulu examiner ce modeste travail.

J'exprime mes vives gratitudees à la directrice de la filiale antibiotical SAIDAL de Médéa, à Madame BAKHTI et à Mr CHERIF T., ainsi qu'à tout le personnel du laboratoire de toxicologie et de physico-chimie.

Je tiens à remercier Monsieur AIT YAHIYA et Madame HAMZA du laboratoire de chimie de l'E.N.S-Kouba.

Mes vifs remerciements sont adressés à Messieurs : RAS DJBEL, SOBHI et BOUKOURCHI du laboratoire de microbiologie de l'hôpital spécialisé militaire de Bouchaoui.

Mes vives reconnaissances envers tout le personnel du laboratoire de la police scientifique à Ben-Aknoun en particulier Monsieur BEN AYADA Tahar.

Mes remerciements sont adressés, à tous nos enseignants, qui nous ont donné les bases de la science.

Ma gratitude est exprimée en particulier envers Monsieur MELIANI.

DEDICACE

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde :

*“ A mes très chers **Parents** ”*

qui ont toujours été là pour moi, m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance et qu'ils sont très fières de ce que je suis aujourd'hui.

Qu'ils trouvent ici ma plus profonde gratitude et mon amour pour leur soutien tout au long de mes études.

*A mon grand frère **Ilyes** et son épouse **Nesrine**.*

*A mon petit frère **Younes**.*

*A ma sœur **Roumaïssa**.*

*A toute la famille **MELIANI** et **CHIROUF**.*

*A mon homme qui m'a encouragé vraiment **OUMEDDOUR Mohamed Larbi**.*

*A mes collègues **MEKKATI Faiza**, **DOUDOU Hayet**, **SELLAT Sadjia**, **CHERFOUH Ratiba**, **OTSMANE Morad**, **HELLAL Nesrine** et **HAMCHOUCHE Djelloul**.*

*A mes adorables amies : **Samah** et **Nadjet Selma**.*

*A mes meilleur(e)s ami(e)s : **Lamia**, **Badr Eddinne**, **Nehla**, **Nassima**.*

A tous ceux qui me connaissent.

Asma.

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Aspect général de l'armoise blanche.

Figure 1.2 : Feuilles de l'armoise blanche.

Figure 1.3 : Fleur de l'armoise blanche.

Figure 1.4 : Aspect général du romarin.

Figure 1.5 : Feuilles du romarin.

Figure 1.6 : Fleurs du romarin.

Figure 1.7 : Dispositif expérimental de l'hydrodistillation type Clevenger.

Figure 1.8 : Structures chimiques de quelques composés des huiles essentielles.

Figure 2.1 : Localisation géographique de la zone d'étude (wilaya de M'Sila).

Figure 2.2 : Vue générale des touffes de M'sila.

Figure 2.3 : Zone de récolte de l'armoise blanche de M'sila.

Figure 2.4 : Zone de récolte du romarin de M'sila.

Figure 2.5 : Montage expérimental de l'hydrodistillation type Clevenger.

Figure 2.6 : Gavage de la souris par l'huile essentielle.

Figure 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées d'armoise blanche.

Figure 3.2 : Taux d'humidité des feuilles séchées du romarin.

Figure 3.3 : Rendements en huiles essentielles.

Figure 3.4 : Huile essentielle d'armoise blanche.

Figure 3.5 : Huile essentielle du romarin.

Figure 3.6 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Figure 3.7 : Chromatogramme de l'huile essentielle du romarin.

Figure 3.8 : Résultats de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du romarin.

Figure 3.9 : Résultats de l'effet antifongique de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Figure 3.10 : Variation de la couleur.

Figure 3.11 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par les standards.

Figure 3.12 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par les huiles essentielles testées.

Figure 3.13 : Détermination graphique d'EC₅₀.

Figure 3.14 : EC₅₀ des antioxydants standards.

Figure 3.15 : EC₅₀ des huiles essentielles étudiées.

Figure 3.16 : Cinétique de réduction du radical libre DPPH obtenue pour l'EC₅₀ des huiles essentielles testées.

Figure 3.17 : Valeurs de TEC₅₀.

Figure 3.18 : Taux de mortalité après administration des huiles essentielles à 8 g/kg.

Tableau 2.1 : Précipitations moyennes mensuelles durant la décennie (2002 à 2012).

Tableau 2.2 : Températures moyennes mensuelles durant la décennie (2002 à 2012).

Tableau 2.3 : Souches microbiennes testées.

Tableau 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées.

Tableau 3.2 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche.

Tableau 3.3 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du romarin.

Tableau 3.4 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Tableau 3.5 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin.

Tableau 3.6 : Identification des principaux composants chimiques de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Tableau 3.7 : Identification des principaux composants chimiques de l'huile essentielle du romarin.

Tableau 3.8 : Inhibition du développement des souches bactériennes testées.

Tableau 3.9 : Inhibition du développement des souches fongiques testées.

Tableau 3.10 : Paramètres de calcul de l'activité antioxydante.

Tableau 3.11 : Effet des doses d'huile essentielle d'armoise blanche sur le taux de mortalité des souris.

Tableau 3.12 : Effet des doses d'huile essentielle du romarin sur le taux de mortalité des souris.

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLES DES MATIERES

LISTES DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. ARMOISE BLANCHE (*Artemisia herba-alba* Asso.)

1.1.1. Origine et étymologie 13

1.1.2. Systématique 13

1.1.3. Synonymes botaniques 13

1.1.4. Noms vernaculaires 14

1.1.5. Description botanique 14

1.1.6. Distribution géographique et culture 15

1.1.7. Propriétés et utilisations 15

1.2. ROMARIN (*Rosmarinus officinalis* L.)

1.2.1. Origine et étymologie 17

1.2.2. Systématique 17

1.2.3. Synonymes botaniques 17

1.2.4. Noms vernaculaires 18

1.2.5. Description botanique 18

1.2.6. Distribution géographique et culture	19
1.2.7. Propriétés et utilisations	19
1.3. HUILES ESSENTIELLES	
1.3.1. Définition	21
1.3.2. Localisation	21
1.3.3. Rôle dans la plante	22
1.3.4. Extraction	22
1.3.5. Conservation	24
1.3.6. Biosynthèse et composition chimique	25
1.3.7. Notion de chémotype	27
1.3.8. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles	27
1.3.9. Effets thérapeutiques et utilisations	27
1.3.10. Toxicité	30
CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES	
2.1. ETUDE DE LA REGION	31
2.2. MATERIEL UTILISE	
2.2.1. Matériel biologique	33
2.2.2. Matériel non-biologique	35
2.3. METHODES D'ETUDE	
2.3.1. Taux d'humidité	35
2.3.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	35
2.3.3. Rendement en huiles essentielles	36

2.3.4. Contrôle physico-chimique	37
2.3.5. Identification des huiles essentielles par CPG/MS	39
2.3.6. Effet antimicrobien et biopesticide	40
2.3.7. Effet antioxydant	41
2.3.8. Effet toxicologique	44
2.3.9. Analyses statistiques	45
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	
3.1. Taux d'humidité	46
3.2. Rendement en huiles essentielles	48
3.3. Caractéristiques organoleptiques	51
3.4. Contrôle physico- chimique	53
3.5. Identification des huiles essentielles par CPG/MS	54
3.6. Effet antimicrobien et biopesticide	62
3.7. Effet antioxydant	76
3.8. Effet toxicologique	87
CONCLUSION	90
APPENDICE	
A. Liste des figures	
B. Matériel non biologique	
C. Etudes statistiques	
D. Liste des symboles et des abréviations	
E. Glossaire	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

INTRODUCTION

Depuis la nuit des temps les Hommes ont su développer les extraordinaires vertus médicinales que recèlent les plantes, dont la connaissance et l'utilisation thérapeutique sont basées sur l'observation, la description botanique et l'analyse physico-chimique [1].

Actuellement grâce aux progrès scientifiques considérables enregistrés depuis la fin du XIX^{ème} siècle, la thérapeutique a beaucoup évolué pour arriver à sa forme actuelle qui utilise certaines plantes comme matières premières, en particulier pour en extraire des principes actifs qui entrent dans la composition de nombreux médicaments [2].

De nos jours, les études effectuées montrent, que toutes plantes sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, elles accumulent des métabolites dites secondaires parmi lesquels, les huiles essentielles qui sont des substances biochimiques actives très utilisées par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [3].

Néanmoins, les huiles essentielles sont très actives et requièrent certaines précautions car elles peuvent présenter un risque de toxicité [4]. Elles sont d'un intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison de leurs activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques où elles contribuent de plus dans la mise au point de la phytothérapie [5, 6, 7].

Ainsi, l'intérêt actuel de préserver l'environnement pour une agriculture durable nécessite la recherche de procédés alternatifs. Les biopesticides à base de plantes constituent une voie de recherche intéressante vue les avantages écologiques qu'elle présente [8].

L'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi, les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source

potentielle de molécules naturelles bioactives [9]. Elles restent d'un grand intérêt pour la valorisation des ressources naturelles végétales [10].

La région méditerranéenne est relativement riche en plantes on compte entre 15.000 et 20.000 espèces [11]. L'Algérie, un pays d'Afrique du Nord avec une grande diversité de sols (littoral, steppe, montagnes et le désert) et de climats (humide, sub-humide, semi-aride et aride), possède une flore très riche comprenant plus de 3.000 espèces [12].

Dans ce contexte et afin de valoriser notre patrimoine national diversifié et riche, nous nous sommes intéressés à l'étude de deux espèces de la famille des Astereaceae (*Artemisia herba-alba* Asso.) et Lamiaceae (*Rosmarinus officinalis* L.).

Le choix de ces deux espèces végétales s'est basé sur leurs utilisations fréquentes dans nos traditions locales culinaires et médicinales et se trouvent à l'état spontané dans les lieux secs et arides en Algérie.

L'objectif de ce travail consiste à la valorisation de la flore algérienne de la région de M'sila (zone semi-aride), par la recherche des composés qui peuvent trouver une utilisation thérapeutique et à déterminer leurs propriétés biologiques.

Pour cela, nous avons orienté notre travail de recherche sur l'un de leurs métabolites secondaires à savoir les huiles essentielles contenues dans ces deux espèces.

Notre mémoire est scindé en trois chapitres :

Le premier chapitre est consacré à l'étude des deux plantes (*Artemisia herba-alba* Asso. et *Rosmarinus officinalis* L.) et les huiles essentielles.

Le deuxième chapitre concerne le volet expérimental de notre étude avec une description des techniques d'extraction, d'identification et de quantification des huiles essentielles ainsi que les protocoles utilisés au cours des tests biologiques concernant l'effet antimicrobien, biopesticide, le potentiel antioxydant et l'estimation du degré de toxicité.

Les résultats et la discussion de chaque expérimentation de notre travail sont exposés dans le chapitre 3.

Une conclusion générale sur l'ensemble de cette recherche ainsi que les perspectives ont été dégagée

CHAPITRE 1

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. Armoise blanche : *Artemisia herba-alba* Asso.

1.1.1. Origine et étymologie :

L'armoise blanche est originaire de l'Afrique du Nord, Péninsule arabique, du Sud-Ouest d'Europe et de l'Asie occidentale [13, 14].

Le nom latin *Artemisia* vient du nom de la déesse vierge grecque *Artemis* (Diane) en raison de son usage médicinal en gynécologie [15, 16] et *herba-alba* signifie herbe blanche, se réfère à la couleur blanchâtre des feuilles [17].

1.1.2. Systématique :

QUEZEL & SANTA [18], classent *Artemisia herba-alba* Asso. dans :

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Eudicots
Sous classe	Astéridées
Ordre	Asterales
Famille	Asteracées
Genre	<i>Artemisia</i>
Espèce	<i>herba-alba</i> Asso.
Nom botanique	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.

1.1.3. Synonymes botaniques [19] :

- *Artemisia inculta* Del.
- *Artemisia sieberi* Besser.
- *Seriphidium herba album* (Asso.) Soják.

1.1.4. Noms vernaculaires [19, 20] :

- Anglais : White wormwood.
- Français : Armoise blanche.
- Arabe : Chih.

1.1.5. Description botanique :

Artemisia herba-alba Asso. (Figure 1.1) est une plante herbacée vivace verdâtre mesurant environ 20 à 40 cm de hauteur [20, 21]. Les tiges sont rigides et dressées [20] avec des feuilles (Figure 1.2) divisées en languettes fines, laineuses, argentées, courtes et pubescentes [22, 23]. Les fleurs (Figure 1.3) groupées en grappes à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre, de couleur jaune à rougeâtre [22]. Le fruit est un akène [23].



Figure 1.1 : Aspect général de l'armoise blanche [24].



Figure 1.2 : Feuilles de l'armoise blanche [22].



Figure 1.3 : Fleur de l'armoise blanche [22].

1.1.6. Distribution géographique et culture :

L'armoise blanche est une plante steppique poussant dans les terres arides ou semi-arides de l'Afrique du Nord (Algérie, Tunisie et Maroc), au Moyen-Orient (la Jordanie, la Syrie, l'Irak et l'Iran) ainsi qu'en Europe du Sud-Ouest d'Espagne [20, 24].

Elle se développe fréquemment dans les steppes argileuses, les pâturages rocaillieux et terreux, les plateaux de basses montagnes, les régions sèches et généralement dans les zones à bioclimats aride et semi-aride [25].

Cette plante pousse de manière sauvage sur des substrats nitrophiles et riches en gypse [26].

En Algérie, elle couvre environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les zones plus ou moins humides. Elle constitue un moyen de lutte naturel contre l'érosion et la désertification [27].

La croissance végétative d'*Artemisia herba-alba* Asso. a lieu à l'automne avec des feuilles de grande taille. A la fin de l'hiver et au printemps les feuilles sont plus petites et riches en huiles essentielles [20, 21].

L'armoise blanche est généralement facile à cultiver nécessitant une position ensoleillée et un sol fertile. La propagation de la plante se fait par graines, boutures ou division [28].

1.1.7. Propriétés et utilisations :

En médecine populaire, l'armoise blanche était connue pour ses propriétés thérapeutiques et médicinales. Elle a été utilisée comme aromatisant dans le thé et pour le traitement des rhumes, toux et les troubles intestinaux et comme agent antidiabétique [21].

L'armoise blanche est une des plantes les plus largement utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne pour ses propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques [19, 29]. Elle est aussi utilisée pour la guérison des blessures externes, la rémission des symptômes diabétiques, l'activation de la fonction du foie

et la guérison des éruptions cutanées, les douleurs articulaires, les inflammations et la polyarthrite rhumatoïde [30].

La tisane de cette espèce a été utilisée comme analgésique, antibactérienne, antispasmodique et hémostatique [31].

L'armoise blanche est connue aussi pour son utilisation contre certaines maladies respiratoires et pour soulager les maladies chroniques telles que l'arthrite. Elle est également utilisée pour aromatiser certains plats [32].

Les feuilles fraîches ou séchées de cette espèce sont généralement consommées comme infusion ou décoction pour traiter ces maladies à raison de trois tasses de café par jour [32].

La partie aérienne de l'armoise blanche est largement utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter le diabète, la bronchite, la diarrhée et les névralgies [33].

En outre, cette espèce est utilisée en décoction contre la fièvre et dans le traitement des troubles menstruels et nerveux et les maladies de la peau [33].

L'huile essentielle de cette espèce a été connue par ses vertus thérapeutiques, désinfectantes, vermifuges et antispasmodiques. Elle présente également une activité antileishmaniose et antimutagène [34-36].

En fait, l'huile essentielle d'armoise blanche a des propriétés antibactérienne, antispasmodique, antifongique, antidiabétique et antioxydante [19, 37-39].

1.2. Romarin : *Rosmarinus officinalis* L.

1.2.1. Origine et étymologie :

Le romarin est une plante originaire des régions côtières arides de la région méditerranéenne [40].

Le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer [41-43]. Cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais le nom original est dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume [43, 44].

Le nom d'espèce *officinalis* indique que la plante a été utilisée à des fins médicinales (officinal) [15, 42].

1.2.2. Systématique :

QUEZEL & SANTA, [18], classent *Rosmarinus officinalis* L. dans :

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphyta
Sous embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i> L.
Espèce	<i>officinalis</i>
Nom botanique	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

1.2.3. Synonymes botaniques [45, 46] :

- *Rosmarinus latifolius* Miller.
- *Rosmarinus angustifolius* Miller.
- *Salvia rosmarinus* Schleiden.

1.2.4. Noms vernaculaires [47] :

- Anglais : Rosemary.
- Français : Romarin.
- Arabe : Iklil Al Jabal.

1.2.5. Description botanique :

Rosmarinus officinalis L. (Figure 1.4) se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée, très ramifié, densément touffu et mesurant environ de 0,8 à 2 m de hauteur [48-51]. Il présente des feuilles (Figure 1.5) opposées, linéaires, persistantes, aromatiques, étroites, longues, épaisses et pointues en forme d'aiguilles [52-54]. Les fleurs (Figure 1.6) sont petites d'un bleu pâle ou blanchâtre [49, 55]. Son fruit est un akène et de couleur brune [53].



Figure 1.4 : Aspect général du romarin [56].



Figure 1.5 : Feuilles du romarin [57].



Figure 1.6 : Fleurs du romarin [58].

1.2.6. Distribution géographique et culture :

Le romarin est cultivé dans le monde entier, en Algérie, Espagne, France, Portugal, Russie, Chine, Yougoslavie, Tunisie, Maroc, Italie et Les Etats-Unis et dans de nombreuses îles, en particulier la Sicile, la Sardaigne, la Corse, l'île d'Elbe et Baleari [49, 59]. Il est principalement cultivé en Grèce, Turquie, Egypte, l'Inde, l'Afrique du Nord, Afrique du Sud, l'Asie centrale, l'Asie du Sud et en Australie [60].

Le romarin est une plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie [18]. Il se présente à l'état sauvage dans les zones littorales pas trop loin de la mer, les lieux secs et même au Sahara [61].

Le romarin est spontané dans les régions méditerranéennes [47]. Il tolère la sécheresse et apprécie les climats chauds et secs [44].

Il pousse sur des sols calcaires, neutres à basiques, bien drainés, par exemple un sol sablonneux, de façon qu'il se libère de tout excès d'eau. Il lui faut une exposition ensoleillée et abrité des froids trop vifs. Il se développe même sur des sols pauvres, rocheux et secs [42, 58, 62].

Le romarin possède une longue saison de floraison début de printemps (d'Avril à Août) jusqu'au début de l'été [51, 58]. Il fleurit à peu près toute l'année et il s'épanouit en juin et en juillet [55].

La propagation du romarin se fait par graines et boutures [44, 63]. Les graines se sèment en été, mais la germination est lente. Il est aisé en revanche de le multiplier par bouturage à partir de rameaux de 7 ou 8 cm de long prélevés durant l'été sur des jeunes pousses de l'année. Les boutures doivent être repiquées au printemps suivant [58].

1.2.7. Propriétés et utilisations :

Le romarin est une plante médicinale précieuse bien connu, largement utilisé dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle comme un digestif, tonique, diurétique, sudorifique, antispasmodique et analgésique [44, 64, 65]. C'est un carminatif, stomachique et stimule l'appétit et la sécrétion de suc gastrique [66].

Il a été considéré comme l'une des plantes les plus efficaces pour le traitement des maux de tête, les maladies inflammatoires et la fatigue physique et mentale [65].

Rosmarinus officinalis L. est utilisé pour traiter la dépression, la migraine et améliorer les fonctions hépatiques et biliaires, en cas de troubles digestifs, l'asthme, la bronchite, le rhume, l'anémie, les palpitations, l'anxiété, l'hypertension, l'insomnie, la labyrinthite, le cholestérol élevé et le diabète [49, 67, 68].

Depuis l'antiquité, le romarin est employé pour améliorer et stimuler la mémoire et pour prévenir la maladie d'Alzheimer. En effet, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens [66].

Il est aussi largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments [69] et comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et salades ainsi que des soupes et chapelures. Il est également utilisé comme épice dans les croustilles, les chips et les frites [70, 71].

Cette espèce végétale a également de nombreuses autres activités bénéfiques tels que antivirale, anti-inflammatoire et anti-carcinogène [72, 73]. Elle est considérée comme l'une des sources les plus importantes des deux composés bioactifs volatiles et non-volatiles [74, 75].

Les feuilles de romarin sont couramment utilisées comme condiment pour aromatiser les aliments [65]. Les pommades à base de feuilles sont utiles contre les névralgies, les rhumatismes, l'eczéma et les plaies. Elles sont également utilisées comme produits de lotions pour les cheveux et bains de bouche [49].

L'huile essentielle du romarin a un certain nombre de propriétés bénéfiques comme conservateurs naturels dans les produits cosmétiques, les médicaments et les produits alimentaires [76-78]. Elle est également utilisée comme agent antibactérien, antifongique, antiviral, insecticide, antiparasitaires, antiproliférative, analgésique antispasmodique, anti-inflammatoire anti-tumorale, anticancéreuse et antioxydante [79, 80, 81]. L'huile essentielle du romarin confère à cette plante ses propriétés digestives, cholagogues et cholérétiques [62].

1.3. Huiles essentielles :

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite sous forme de glucides, NADPH et d'ATP contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles [82].

1.3.1. Définition :

Selon la pharmacopée européenne [83], une huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elle est plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [84].

Les huiles essentielles sont des substances plus ou moins fluides, résinoïdes, très odorantes et volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et dans la plupart des solvants organiques, sauf dans l'eau [85].

1.3.2. Localisation :

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs [52]. Les familles botaniques les plus courantes produisant les huiles essentielles sont les Abiétacées, Apiacées, Astéracées (*Artemisia herba-alba* Asoo.), Cupressacées, Lamiacées (*Rosmarinus officinalis* L.), Lauracées, Myrtacées, Poacées et les Rutacées [52, 85-87].

Elles sont obtenues à partir de divers organes végétaux : fleurs (lavande), bourgeons (cassis), graines (muscade), feuilles (menthe), écorces (cannelier), rhizomes (gingembre), bois (santal), fruits (anis) et racines (angélique) [52,86, 88].

Les huiles essentielles se trouvent dans des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage [86]. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des

cellules en poils (Lamiacées), des poches sécrétrices (Myrtacées, Rutacées) et des canaux sécréteurs (Apiacées, Astéracées) [9, 86].

1.3.3. Rôle dans la plante :

Les huiles essentielles ont certainement un rôle dans la plante, il s'agit d'une sécrétion qui induit une augmentation de la production de certains composants pour inhiber la germination en hiver, protéger la plante contre les parasites, les insectes et les herbivores et favoriser la fécondation en attirant certains insectes [89].

1.3.4. Extraction :

L'extraction des huiles essentielles est une opération capitale qui doit permettre d'obtenir des produits volatils, particulièrement fragiles, sans altérer la qualité [4].

Il existe plusieurs méthodes qui permettent d'extraire les huiles essentielles, les plus utilisées sont l'extraction par hydrodistillation, la distillation par entraînement à la vapeur, l'extraction par solvants, l'expression à froid et plus récemment extraction assistée par micro-ondes.

➤ Extraction par hydrodistillation :

L'hydrodistillation demeure la technique la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles et pouvoir les séparer à l'état pur et de fournir de meilleurs rendements [90].

C'est un procédé très ancien qui consiste à entraîner les matières odorantes volatiles par la vapeur d'eau à partir de fleurs, de feuilles et même de rhizomes broyés. L'ensemble est condensé dans un serpentin réfrigéré. On obtient de cette façon des huiles essentielles qui se séparent de l'eau (Figure 1.8). La plupart sont plus légères que l'eau et flottent à la surface et sont recueillies [52, 91, 92].

Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques [90].

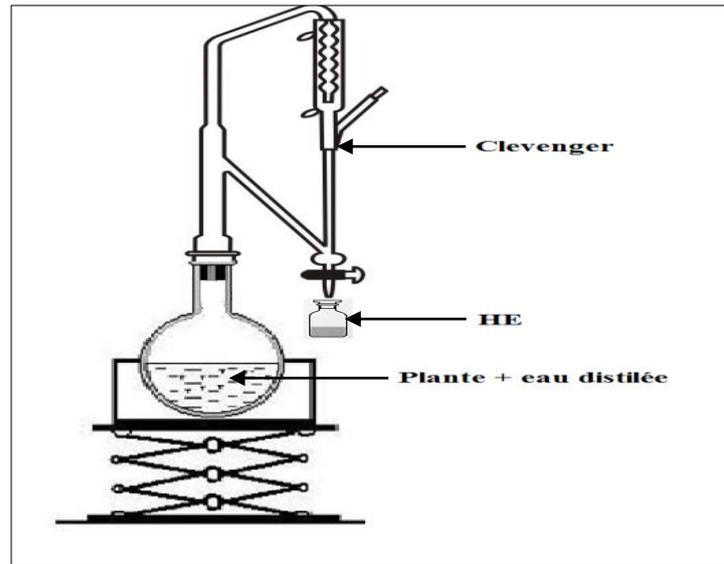


Figure 1.7 : Dispositif expérimental de l'hydrodistillation type Clevenger [52].

➤ **Distillation par entraînement à la vapeur d'eau :**

Les plantes entières, ou broyées lorsqu'il s'agit d'organes durs (racine, écorce), sont disposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau. Sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur qui sous basse pression, traverse alors la cuve remplie de plantes aromatiques. La vapeur d'eau qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle, se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant. La distillation doit être complète pour que l'on récupère tous les constituants aromatiques de l'huile essentielle, ce qui implique souvent une durée relativement longue, variables selon les organes distillés [4].

➤ **Extraction par solvants :**

Ce procédé d'extraction ne permet pas d'obtenir des huiles essentielles, mais des concrètes. Il s'agit d'extraits de plantes obtenus au moyen de solvants non aqueux. Les solvants généralement utilisés sont des hydrocarbures aliphatiques : hexane, éther de pétrole, cyclohexane, propane et butane liquide [52].

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également des composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres [94]. Purifié par l'alcool absolu, le produit obtenu est appelé absolu et sa composition se rapproche de celle d'une huile essentielle [94].

BRUNETON [52] signale que l'inconvénient majeur de l'extraction par les solvants est leur manque de sélectivité. En effet de nombreuses substances lipophiles peuvent se retrouver dans les concrètes et impose une purification ultérieure. Un autre inconvénient réside dans la toxicité des solvants.

➤ **Expression à froid :**

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presse, les zestes frais pour écraser les poches afin d'en libérer l'essence. Cette technique uniquement mécanique limite l'oxydation car elle conserve les antioxydants naturels contenus dans la fraction non volatile de l'essence, le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence car il n'a subi aucune modification chimique. Cependant l'utilisation de grande quantité d'eau dans ce procédé peut altérer la qualité des huiles essentielles par dissolution des composés oxygénés, par hydrolyse et par transport de microorganismes [4, 90].

➤ **Extraction assistée par micro-ondes :**

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques à savoir condensation, refroidissement, et décantation. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant et l'obtention d'un rendement d'extraction élevé [95].

1.3.5. Conservation :

Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et sensibles à l'oxydation en raison de leurs structure moléculaires. Elles sont facilement oxydables par la lumière, la chaleur et l'air [96, 97].

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables pour éviter leur oxydation et leur dépolymérisation. Il est

recommandé d'utiliser des flacons de verre colorés ou opaques, bien bouchés, pour les préserver de l'air et de la lumière, principaux agents de la dégradation [85].

Bien stockées les huiles essentielles se conservent environ trois ans. Seules les essences d'agrumes, d'une conservation plus fragile, se renouvellent tous les ans [4].

1.3.6. Biosynthèse et composition chimique :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane [52, 98].

➤ Les terpénoïdes :

Les composés terpéniques représentent le groupe le plus diversifié des métabolites secondaires des végétaux, plus de 15.000 composés différents sont décrits dans la littérature. Ils dérivent d'une structure de base à cinq carbones de formule générale $(C_5H_8)_n$. La molécule de base est appelée isoprène [99]. Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpénoïdes sont classés en : monoterpénoïdes (C_{10}), sesquiterpénoïdes (C_{15}) et diterpénoïdes (C_{20}) [100, 101].

La biosynthèse des végétaux fait intervenir l'eau et le dioxyde de carbone pour la formation de glycéraldéhyde et de l'acide pyruvique, qui à leur tour donneront, après réaction avec l'acétylcoenzyme A, le méthyl-2-érythriol et l'acide mévalonique qui est le véritable précurseur universel de tous les terpènes. Le produit final de cette série est l'isoprène [86].

L'isoprène sous sa forme réactive est l'isoprénolpyrophosphate (IPP) qui se transforme partiellement en diméthylallylpyrophosphate (DMAPP). Les composés IPP et DMAPP réagissent ensemble pour former le géranylpyrophosphate (GPP), précurseur des monoterpènes en C_{10} . Une deuxième molécule d'IPP réagissant sur le GPP fournit le farnésylpyrophosphate (FPP), précurseur des sesquiterpènes en C_{15} , puis une troisième molécule de l'IPP réagissant sur le FPP fournit le géranylgéranylpyrophosphate (GGPP), précurseur des diterpènes en C_{20} [86].

➤ **Les phénylpropanoïdes :**

Les dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes. Ce sont très souvent des allylphénols et propénylphénols, ou des éthers de phénols et parfois des aldéhydes [52, 86, 89]. Ils sont constitués d'une chaîne de trois carbones liée à un noyau aromatique à six carbones [89, 99].

La synthèse de ces composés phénoliques est initiée par la phénylalanine amonia-lyase (PAL), qui convertit l'acide aminé phénylalanine en acide cinnamique, par un processus de déamination. Cette étape permet de diriger le flux de carbone du métabolisme primaire (voie de biosynthèse de shikimate) vers le métabolisme secondaire (voie de biosynthèse des phénylpropanoïdes) [102].

Dans la composition de la plupart des huiles essentielles les monoterpénoïdes et les sesquiterpénoïdes forment la majeure partie [100, 101].

Généralement, l'huile essentielle d'armoise blanche a été en grande partie rapportée être composée de monoterpénoïdes, principalement oxygénés, tels que le 1,8-cinéole, chrysanthenone, chrysanthenol, α/β -thujones et de camphre en tant que composants majoritaires [20]. En effet, l'huile essentielle de romarin se compose principalement de monoterpènes tels que le camphre et 1,8-cinéole, suivi par le bornéol, verbénone, α -pinène et le camphène [103, 104].

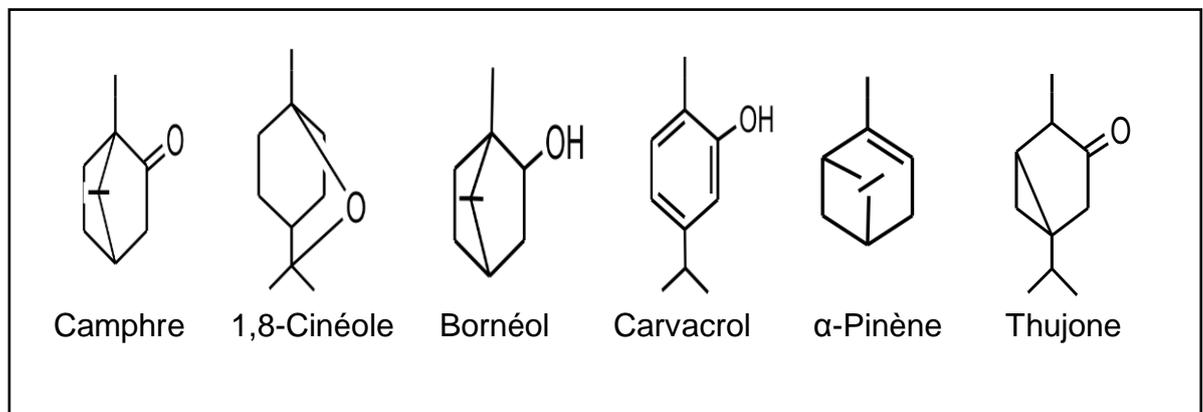


Figure 1.8 : Structures chimiques de quelques composés des huiles essentielles [105].

1.3.7. Notion de chémotype :

Le chémotype indique les composants biochimiques majoritaires présents dans une huile essentielle. Ce qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais de composition biochimique différente [106].

La diversité dans la composition de l'huile essentielle à partir des plantes cultivées dans différents pays et même ceux de différentes localités dans le même pays ont conduit à de nombreux chémotypes dépendant de l'huile essentielle attribuée à la plante à savoir *Artemisia herba-alba* Asso. [20] et *Rosmarinus officinalis* L. [107].

1.3.8. Caractéristiques physico-chimiques [52] :

Les caractéristiques physiques des huiles essentielles se résument en leurs indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation.

Les huiles essentielles sont généralement incolores ou jaune pâle, liquides à température ambiante, liposolubles ainsi elles sont peu solubles dans l'eau mais le sont dans les solvants organiques apolaires, les huiles grasses et les alcools. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau à l'exception des huiles essentielles de saffran, de girofle et de cannelle. Elles ont aussi un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.

1.3.9. Effets thérapeutiques et utilisations :

Les huiles essentielles sont utilisées en thérapeutique depuis longtemps. Leurs applications dans ce domaine sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain [108]. L'usage des huiles essentielles en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables [109].

Les huiles essentielles sont utilisées, d'une part, en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique ou encore sous forme de principes actifs comme matière première pour l'obtention des médicaments [110, 111]. D'autre part, elles sont utilisées dans les produits sanitaires, en dentisterie, en agriculture et en tant que remèdes naturels [76].

Une grande partie des huiles essentielles est utilisée dans l'industrie alimentaire comme agents aromatisants et produits pharmaceutiques en raison de leurs propriétés fonctionnelles, ainsi que, bio-conservateurs pour prolonger la durée de conservation des aliments, en réduisant ou en éliminant les bactéries pathogènes et en augmentant la qualité globale des produits alimentaires et aussi dans la fabrication des mastics des condiments et des insecticides [112-114].

L'effet antimicrobien des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques a été largement décrit in vitro, ainsi que l'effet antioxydant [50, 115].

➤ **Effet antibactérien :**

L'utilisation des huiles essentielles est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues [116, 117]. Elles sont connues pour leur activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances qui pourraient être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants [118, 119]. En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne et fongique. Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre [120].

En plus de la saveur contribué aux aliments, beaucoup de plantes aromatiques et leurs huiles essentielles montrent une activité antimicrobienne et pourraient empêcher la croissance des microorganismes pathogènes, en améliorant de ce fait la sécurité alimentaire [121-123].

En effet, MIGHRI & al. [124] ont prouvé que quatre type des huiles essentielles d'armoise blanche ont une activité antibactérienne contre *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Salmonella ser.*

Bien que, IMELOUANE & *al.* [125] ont trouvé que l'huile essentielle d'armoise blanche a une activité antibactérienne vis à vis les souches *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

De même, l'huile essentielle du romarin est d'une immense valeur médicinale pour ses propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes et antifongiques [126-128]. L'huile essentielle de citron, de géranium, de romarin, d'orange et de clou de girofle ont montré une importante activité inhibitrice sur quatre bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) et vis-à-vis deux bactéries Gram positif (*Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*) [114].

➤ **Effet antifongique et biopesticide :**

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phyto-pathogènes et les micro-organismes envahissant les denrées alimentaires [129].

Malgré les nombreuses molécules synthétiques susceptibles d'être utilisées, la protection des végétaux peut également se faire avec certaines essences naturelles. En effet, les pesticides sont très diversifiés et se classent selon leur activité en insecticides, molluscides, nématocides et germicides. Certaines huiles sont reconnues pour leur efficacité sur les champignons phytopathogènes [130].

ZOUARI & *al.* [131] ont montré que l'huile essentielle d'armoise blanche exerce une forte activité sur l'inhibition de la croissance de nombreux champignons à savoir *Fusarium solani*, *Fusarium sp*, *Aspergillus oxysporum* et *Candida albicans*.

Il a été signalé que l'huile essentielle de cumin, thym et romarin inhibe la croissance de *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus* [132].

➤ **Effet antioxydant :**

De nombreuses plantes médicinales contiennent de grandes quantités de composés antioxydants, qui ont pu être isolés et utilisés ensuite en tant qu'antioxydants pour la prévention et le traitement des troubles liés à des radicaux libres [20]. Quelques travaux ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus

efficaces que les antioxydants synthétiques [133]. Les effets antioxydants des huiles essentielles et des extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique [134].

L'armoise blanche était considérée comme de bonnes sources d'antioxydants naturels utilisées à des fins médicinales et commerciales [135]. De même, le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments [69].

1.3.10. Toxicité :

En dépit de leurs effets bénéfiques, les huiles essentielles sont loin d'être non-toxiques. La majorité des huiles essentielles, à de très fortes doses, causent des effets toxiques [87]. Elles sont présentées, généralement comme sans danger, mais ces substances naturelles sont aussi des composés puissants [136].

La toxicité des huiles essentielles est très variable en fonction de leur composition, il est donc très important de la connaître [4] :

- Les huiles essentielles à cétones sont neurotoxiques.
- Les huiles essentielles à terpènes sont irritantes.
- Les huiles essentielles à phénols ont une action caustique sur la peau et sont hépatotoxiques, elles doivent toujours être utilisées diluées.

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : la majorité de celles qui sont couramment utilisées ont une DL₅₀ comprise entre 2 et 5 g/kg (eucalyptus et girofle) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle et lavande). D'autres, une quinzaine, ont une DL₅₀ comprise entre 1 et 2 g/kg (basilic et origan). Les plus toxiques sont les huiles essentielles de boldo et de moutarde. Toutefois, la proportion importante de camphre dans l'huile essentielle doit être prise en considération, ce monoterpène cétonique étant connu pour être à l'origine de convulsions épileptiformes. Il présente une certaine toxicité aux doses élevées [52, 85].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Etude de la région :

2.1.1. Localisation géographique :

La région d'étude fait partie des régions arides et semi-arides qui présentent la plus grande biodiversité de l'Algérie. Du point de vue géographique, la région de M'Sila (Figure 2.1) se trouve en latitude 35°40'N et en longitude 04°30'E, sur une altitude d'environ 500 m. La wilaya de M'Sila se situe au Sud-Est d'Alger à 248 km, elle s'étend sur une superficie de 18.175 km². Elle est limitée au Nord par la wilaya de Bouira, Bordj Bou-Argeridj et Sétif, à l'Est par Batna et Biskra, à l'Ouest par Médéa et au Sud par Djelfa et Biskra [137]. Elle est limitée au Nord par les monts du Hodna, à l'Est par les monts du Belezma, à l'Ouest par les monts d'Ouled Naïel et au Sud par les monts du Zibane [138].

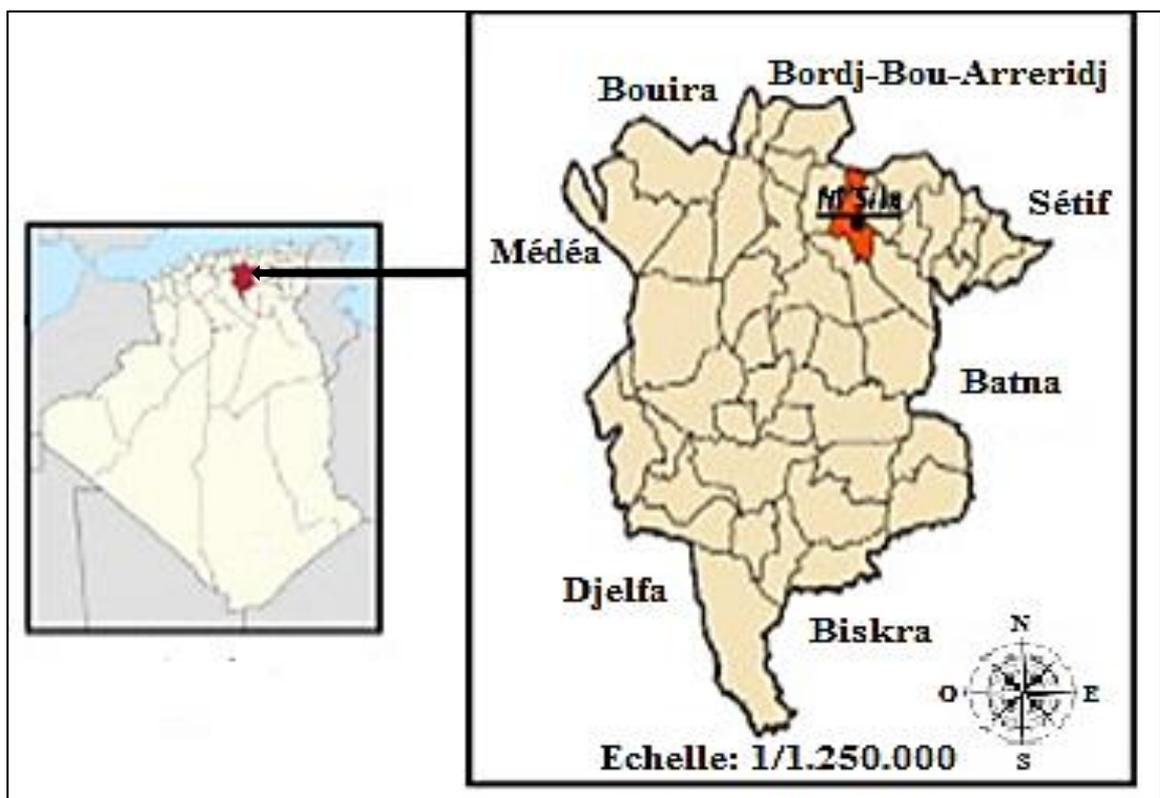


Figure 2.1 : Localisation géographique de la zone d'étude
(wilaya de M'Sila) [139].

2.1.2. Sol :

Le territoire de la wilaya constitue une zone charnière entre deux grandes chaînes de montagnes qui sont l'Atlas Saharien et l'Atlas Tellien ce qui lui donne une configuration géographique caractérisée par une zone de montagne de part et d'autre du chott El-Hodna [138].

2.1.3. Climat :

Le climat de la région de M'sila est continental et semi-aride [140]. Il est caractérisé par un été sec très chaud et un hiver très froid avec une pluviométrie faible et irrégulière [141].

➤ **Précipitations :**

Une précipitation moyenne annuelle de 260 mm contribue à la détermination du caractère aride de la région, qui est accentuée par l'extrême irrégularité de la répartition des pluies au cours de l'année. La nature orageuse des pluies constitue un facteur explicatif de la sévérité du régime pluviométrique [142].

Tableau 2.1 : Précipitations moyennes mensuelles durant la décennie 2002 à 2012 [143].

Mois	Jan.	Fév.	Mar.	Aav.	Mai.	Jui.	Juit.	Aoû.	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
Précipitation (mm)	16,2	12,3	15,5	20,1	24,8	6,6	3,1	5,6	20,1	21,0	20,8	21,6

➤ **Températures :**

La température représente un facteur limitant de première importance car elle conditionne de ce fait la répartition de la totalité des espèces végétales [142]. La température moyenne est de 35°C en été et de 07°C en hiver [140].

Tableau 2.2 : Températures moyennes mensuelles durant la décennie 2002 à 2012 [143].

Mois	Jan.	Fév.	Mar.	Avr.	Mai.	Jui.	Juit.	Aoû.	Sep.	Oct.	Nov.	Déc.
Moy. max.	14,1	16,2	18,1	23,1	28,0	34,7	38,8	38,2	32,2	25,7	18,9	14,4
Moy. min.	3,6	4,3	5,6	10,5	16,0	20,9	24,5	24,2	19,3	14,4	8,4	4,6
Moy. totale	8,9	10,3	11,9	16,8	22,0	27,8	31,7	31,4	25,8	20,1	13,7	9,6

2.2. Matériel utilisé :

2.2.1. Matériel biologique :

➤ **Matériel végétal :**

Notre étude a été réalisée sur des feuilles d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) et du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) (Figure 2.2).

La récolte s'est effectuée au mois de Mars 2012 dans la région de M'sila (Figures 2.3 et 2.4 dans l'Appendice A).

Les échantillons ont été séchés dans un endroit sec, à température ambiante pendant une semaine pour éviter le développement des micro-organismes et à l'abri de la lumière afin de garder l'aspect biochimique des molécules.

Après la détermination du taux d'humidité, les feuilles de chaque plante ont été broyées, à l'aide d'un broyeur de type Medicalex. Une poudre verdâtre est obtenue et conservée soigneusement dans des bocaux bruns et hermétiquement fermés. Les échantillons sont placés dans un endroit sec jusqu'à analyses.

En se référant à QUEZEL & SANTA [18] l'identification des plantes s'est faite par l'équipe botanique de l'Institut National d'Agronomie El-Harach, Alger.

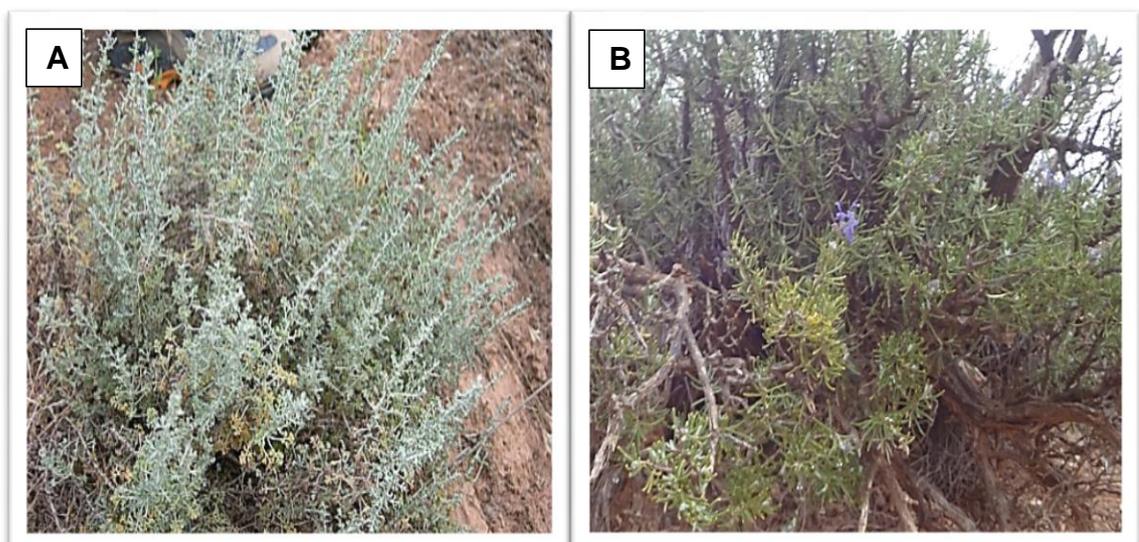


Figure 2.2 : Vue générale des touffes de M'sila.

A : *Artemisia herba-alba* Asso.

B : *Rosmarinus officinalis* L.

➤ **Micro- organismes :**

L'activité antimicrobienne et biopesticide des huiles essentielles étudiées a été réalisée, au niveau de l'hôpital spécialisé militaire à Bouchaoui, sur huit microorganismes référenciés par la norme internationale pharmacopée européenne [144].

Tableau 2.3 : Souches microbiennes testées.

Souches bactériennes		
Bactéries Gram négatif		
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 10536	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 27888	
Bactéries Gram positif		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P	
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 66333	
Levure		
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10235	
Champignons		
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 10619	
<i>Fusarium oxysporum</i>	ATCC 10328	

➤ **Matériel animal**

L'activité toxicologique des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin a été testée, au niveau de la Filiale ANTIBIOTICAL de l'entreprise de fabrication des produits pharmaceutiques du groupe SAIDAL à Médéa, sur des souris :

Genre : *Mus*.

Espèce : *Mus musculus*.

Race : albinos.

Ligné: Swiss.

Souche: NMRI (Naval Medical Research Institute).

2.2.2. Matériel non biologique :

La verrerie, l'appareillage et les réactifs utilisés sont mentionnés dans l'Appendice B.

2.3. Méthodes d'étude :

2.3.1. Taux d'humidité :

Le taux d'humidité consiste à une perte de poids par dessiccation [145]. Il est déterminé selon la méthode d'AOAC [146] et DJABALI & BARKAT [147].

Pour cela, 5 g de feuilles séchées des échantillons étudiés est pesée dans des capsules puis placée à l'étuve de type Binder à $105 \pm 5^\circ\text{C}$ pendant 24 heures. A la sortie de l'étuve, les capsules sont refroidies dans un dessiccateur et pesées chaque 3 heures. L'opération est répétée plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La différence de poids observée représente le taux d'humidité. Il est calculé par la formule suivante :

$$H = \frac{(P_i - P)}{P_i} \times 100$$

H : Taux d'humidité en %.

P_i : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

2.3.2. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation :

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée au niveau du laboratoire de recherche sur les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger.

L'hydrodistillation (Figure 2.5), selon la méthode d'extraction de la pharmacopée européenne [148] est réalisée dans un appareil type Clevenger [149].

Une quantité de 100 g de matériel végétal sec est introduite dans un ballon de 2 litres rempli avec 500 ml d'eau distillée. L'ensemble est ensuite mis à ébullition durant trois heures environ, la vapeur se charge de substances volatiles et se condense grâce au réfrigérant. Après l'arrêt du chauffage puis refroidissement, on récupère l'huile essentielle obtenue, et elle est séchée avec du sulfate de magnésium anhydre (Mg SO₄).

Le volume de l'huile essentielle obtenue est mesuré. Ensuite, l'huile essentielle est conservée à une température de 4°C, à l'abri de la lumière, dans des flacons en verre teintés pour éviter sa dégradation.



Figure 2.5 : Montage de l'hydrodistillation type Clevenger.

2.3.3. Rendement en huiles essentielles :

Le rendement est exprimé par le volume de l'huile essentielle obtenue en millilitre (ml) par rapport à 100 g de la matière sèche. Il est calculé par l'équation suivante [150] :

$$Rdt(\%) = \frac{V_{HE}}{m_s} \times 100$$

Rdt (%) : Rendement en huile essentielle.

V_{HE} : Volume d'huile essentielle obtenue (ml).

m_s : Masse de la matière végétale sèche (g).

2.3.4. Contrôle physico-chimique :

Selon les pharmacopées européenne et française et la norme ISO, le contrôle physico-chimique des huiles essentielles est nécessaire pour évaluer leur qualité à savoir : L'indice de réfraction, l'indice d'acide, la densité et le pouvoir rotatoire.

➤ **Mesure de l'indice de réfraction :**

L'indice de réfraction d'un milieu est le rapport de la vitesse de la lumière dans le vide et de la vitesse de la lumière dans ce milieu. Il détermine les propriétés optiques d'une substance et se mesure à l'aide d'un réfractomètre [151].

Selon la norme de la pharmacopée européenne [144], l'indice de réfraction consiste à étalonner le réfractomètre avec de l'eau distillée et ensuite mettre quelques gouttes d'huile essentielle dans l'appareil. Le réfractomètre est réglé jusqu'à ce qu'il se stabilise et donne des lectures exactes au minimum à la troisième décimale près.

➤ **Mesure de l'indice d'acide :**

L'indice d'acide (I_A) est la masse en mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans un gramme de substance [86].

Selon la norme de la pharmacopée européenne [144], dans un bécher mettre 1 g d'huile essentielle auquel 5 ml d'un mélange à volume égal d'éthanol et d'éther est ajouté avec quelques gouttes de phénolphaléine. Le mélange est neutralisé par l'hydroxyde de potassium 0,1 M contenu dans la burette.

La neutralisation est terminée lorsque la couleur rose persiste pendant 15 secondes au moins. L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$$I_A = 5,61 \times n/m$$

I_A : Indice d'acide.

n : Volume de KOH 0,1 M consommé au cour de titrage.

m : Masse en gramme de l'huile essentielle.

➤ **Mesure de la densité relative :**

La densité relative d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance à $20 \pm 1^\circ\text{C}$ et la masse d'un volume égal d'eau à la même température [86].

Selon la norme de la pharmacopée européenne [144], le pycnomètre est rempli avec de l'eau distillée, puis sa masse est mesurée à l'aide d'une balance hydrostatique. Une pesée du même volume d'huile essentielle est effectuée. La densité relative est calculée selon la formule suivante :

$$d_{HE} = m_1/m_2$$

d_{HE} : Densité de l'huile essentielle.

m_1 : Masse en gramme d'un volume d'huile essentielle.

m_2 : Masse en gramme du même volume d'eau distillée.

➤ **Mesure du pouvoir rotatoire :**

Lorsqu'une solution aqueuse est traversée par un faisceau de lumière polarisé, le plan de polarisation de la lumière s'oriente vers un angle. La valeur de cet angle, ajustée à la concentration de la solution et à l'épaisseur de la couche liquide traversée, définit le pouvoir rotatoire spécifique ou l'activité optique de la substance. Cette dernière, est positive lorsque le plan de polarisation de la lumière tourne vers la droite (dextrogyre), et négative (lévogyre) lorsqu'il tourne vers la gauche [86].

Selon la norme de la pharmacopée européenne [144], on détermine le zéro du polarimètre avec le tube fermé vide et on remplit ensuite le tube avec l'huile essentielle. Le calcul du pouvoir rotatoire s'effectue selon la formule suivante :

$$[\alpha]^{D_{20}} = \alpha/l \times P_{20}$$

$[\alpha]^{D_{20}}$: Pouvoir rotatoire de l'huile essentielle.

α : Angle de rotation en degré lu à $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

l : Longueur en décimètre du tube polarimétrique.

P_{20} : Densité relative de l'huile essentielle.

2.3.5. Identification des huiles essentielles par CPG/MS :

La CPG/MS permet de fournir un chromatogramme accompagné d'un ensemble de spectres de masse (MS) correspondants à chaque pic chromatographique, ce qui permet l'identification précise de la majorité des constituants séparés par la chromatographie en phase gazeuse (CPG) [152].

- **Conditions opératoires :**

La chromatographie phase gazeuse est un appareil de type Perkin Elmer GCMS modèle Clarus 500, équipé d'une colonne capillaire PE, Elite série 5% phenyl dimethyl polysiloxane, de longueur : 30 m et de diamètre interne de 0,25 mm ; l'épaisseur du film de la phase stationnaire : 0,25 µm. couplé à un spectromètre de masse (MS) avec un détecteur Scan à impact d'électron. Les conditions analytiques sont les suivantes :

Le gaz vecteur qui constitue la phase mobile est l'hélium réglé à un débit de 1 ml/mn. Programmation de la température : La température de l'injecteur est de 250°C, et l'injection se fait en mode Split avec un volume de 1 µl des huiles essentielles diluées dans du méthanol (1% v/v). La température initiale de la colonne est maintenue à 80°C en isotherme pendant 3 mn, puis la température augmente graduellement à raison de 4°C/mn jusqu'à 150°C pendant 3 mn. Pour le spectromètre de masse la température de détection est de 250°C.

La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 ev, en mode : Balayage 80-600 µma. Analyseur : quadripôle. L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectre de masse. Le temps d'analyse est de 40 mn.

La combinaison de ces deux techniques d'analyse CPG/MS permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant en comparant leurs temps de rétentions relatifs et leurs spectres de masse avec les bases de données standards NIST [153] et ADAMS [154].

2.3.6. Effet antimicrobien et biopesticide :

L'effet antimicrobien et biopesticide a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital spécialisé militaire de Bouchaoui.

La méthode de diffusion sur gélose a été utilisée pour l'étude de l'effet antimicrobien et biopesticide des huiles essentielles étudiées. Cette méthode consiste en la réalisation d'un aromatochrome qui est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode des disques [155]. Elle permet également de déterminer la sensibilité des différentes espèces microbiennes vis-à-vis des huiles essentielles et autres agents antimicrobiens [156]. Son principe repose sur la compétition entre la croissance d'une souche microbienne et la diffusion d'une huile essentielle dans un milieu gélosé à partir d'un support en papier pré-imprégné [157]. Elle consiste en la détermination des diamètres des zones d'inhibition [158].

La méthode utilisée dans cette étude pour évaluer l'effet antimicrobien des huiles essentielles, est celle décrite par IMELOUANE & *al.* [125]. Une suspension microbienne de densité équivalente au standard 0,5 de Mac Farland (10^6 UFC/ml) est préparée dans une solution saline (0,9% NaCl). Les boîtes de Pétri contenant le milieu de culture gélosé (Mueller Hinton pour les bactéries, Sabouraud pour la levure et PDA pour les champignons) sontensemencées en strie avec 100 μ l de l'inoculum. A la surface de chaque boîte, un disque de papier filtre (Wattman n°4) stérile de 6 mm de diamètre imbibé avec 15 μ l des huiles essentielles diluées (de 10 à 100%) est déposé, un disque imbibé de 15 μ l de diméthylsulfoxyde (DMSO) est utilisé comme témoin négatif. Les boîtes sont laissées une heure à température ambiante pour permettre la diffusion de l'huile essentielle, puis elles sont incubées à $37 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 heures pour les bactéries, 48 h pour la levure et 5 jours pour les champignons à $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres, disque inclus, à l'aide d'un pied à coulisse.

Le DMSO est utilisé pour préparer des dilutions des huiles essentielles. Il a été démontré qu'il ne possède pas d'activité antibactérienne et sélectionné comme un bon agent pour la dilution des huiles essentielles [118, 159].

2.3.7. Effet antioxydant :

L'effet antioxydant a été réalisé au niveau du laboratoire de recherche sur les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse à l'école normale supérieure de Kouba (Alger).

La méthode de piégeage du radical DPPH a été utilisée afin d'évaluer l'effet antioxydant des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin.

Le radical DPPH \cdot est l'un des substrats les plus utilisés généralement pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse [160].

Cette méthode est basée sur la réduction du radical DPPH qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et le DPPH reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire [161]. Cette délocalisation donne également lieu à la couleur violette foncée caractérisée par une absorbance dans une solution d'éthanol centrée à environ 517 nm [162-164].

Quand une solution de DPPH (DPPH \cdot) est mélangée avec une substance antioxydante qui peut céder un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite DPPH-H (DPPH) avec perte de cette couleur violette en une adoption d'une couleur jaune pâle [162].

Le virage vers cette coloration et l'intensité de cette coloration dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance anti-radicalaire [165].

Comme il n'existe pas de mesure absolue de la capacité antioxydante d'un composé, les résultats sont souvent portés par rapport à un antioxydant de référence comme l'acide ascorbique (Vitamine C) et les antioxydants synthétiques BHT (butyl-hydroxy-toluène) ou le BHA (butyl-hydroxy- anisole) [161, 166].

La méthode utilisée pour l'évaluation de l'effet antioxydant des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin est celle proposée par SHARMA & *al.* [167] avec quelques modifications.

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 4 mg de la poudre dans 100 ml de l'éthanol absolu (EtOH). Les échantillons des huiles essentielles ont été préparés par dissolution dans l'éthanol (EtOH) à raison de 80 mg/ml. Ces solutions mères ont subi ensuite des dilutions pour arriver à des concentrations allant de 0,04 à 32 mg/ml. Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH (0,04%) avec 1 ml de l'huile à tester à différentes concentrations. Les antioxydants de référence ou le contrôle positif (BHT, BHA et Vit C) ont été aussi préparé selon la même méthode à raison de 0,2 mg/ml. Le contrôle négatif est constitué de 1 ml de la solution DPPH et 1 ml de l'éthanol absolu (EtOH). Après une période d'incubation de 30 minutes, à une température du laboratoire ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) et à l'abri de la lumière et de l'O₂ atmosphérique, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 517 nm [168].

Les valeurs obtenues sont transformées ensuite en pourcentages d'inhibition en utilisant la formule proposée par MARINOVA & BATCHVAROV [169] :

$$I\% = 100 \times \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{blanc}}}$$

I% : Activité antioxydante.

A_{blanc} : Absorbance du contrôle négatif.

A_{échantillon} : Absorbance du composé à tester.

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'EC₅₀ exprimée en mg de substrat/ml de DPPH. C'est la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initial de 50% [161, 170]. Il peut être défini aussi comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH [171, 172].

L'activité antioxydante de l'huile essentielle est déduite graphiquement par la régression linéaire [173, 174]. Cette valeur est comparée à celle trouvée par les antioxydants standards (BHT, BHA, Vit C).

En effet, pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, des paramètres cinétiques sont mesurés tels que le TEC₅₀, la constante de vitesse de la réaction ou le coefficient directeur de la courbe cinétique [175, 176].

- **Détermination du temps d'équilibre :**

La cinétique des réactions des huiles essentielles testées avec le DPPH• a été examinée à l'EC₅₀. Le paramètre TEC₅₀ est défini comme le temps atteint à l'équilibre avec une concentration d'antioxydant égale à l'EC₅₀. Ce temps est calculé graphiquement [161, 170].

L'estimation de TEC₅₀ donnée par POPOVICI & *al.* [161] et BRAND & *al.* [177] permet d'introduire la classification suivante :

- TEC₅₀ < 5 min (réaction rapide).
- TEC₅₀ entre 5-30 min (réaction intermédiaire).
- TEC₅₀ > 30 min (réaction lente).

- **Détermination de l'efficacité antiradicalaire EAR :**

L'indice de l'efficacité antiradicalaire relie la concentration du DPPH• et le temps TEC₅₀ dans l'essai avec la concentration effective EC₅₀ de l'échantillon qui résulte dans un paramètre constant pour chaque solution. Il est déterminé par la formule suivante [169, 173] :

$$EAR = \frac{1}{EC_{50} \times TEC_{50}}$$

EAR : Efficacité antiradicalaire.

EC₅₀ : Concentration effective médiane.

TEC₅₀ : Temps atteint à l'équilibre.

L'activité antiradicalaire des solutions testées a été estimée en se basant sur la classification proposée par POPOVICI & *al.* [161] et SANCHEZ-MORENO & *al.* [178] :

- Faible pour EAR < 1.10⁻³.
- Intermédiaire entre 1.10⁻³ - 5.10⁻³.
- Elevée entre 5.10⁻³-10.10⁻³.
- Très élevée pour EAR > 10.10⁻³.

2.3.8. Effet toxicologique :

L'étude de l'effet toxique consiste à déterminer la dose létale médiane (DL_{50}), qui est par définition la dose d'un toxique provoquant 50% de la mortalité dans une population d'une espèce déterminée après un temps d'application donné [179, 180]. Elle est exprimée en poids de substance à tester par unité de poids d'animal d'expérience (mg/kg) [86, 181, 182].

➤ Choix des doses :

TISSERAND & YOUNG [183] signalent que l'huile essentielle d'armoise blanche aurait une DL_{50} par voie orale égale à 370 mg/kg de poids corporel chez les souris. En effet, selon DUKE [19], l'huile essentielle du romarin aurait une DL_{50} par voie orale supérieure à 2 g/kg de poids corporel chez les souris. Cela nous a servi de point de repère à partir duquel nous avons choisi des doses de 2 à 10g/kg.

L'étude de la toxicité a été faite suite à une administration unique de l'huile essentielle par voie orale sur des souris. On a préparé 12 lots de 6 souris (les souris de chaque lot sont du même sexe et leurs poids sont de 20 ± 1 g). Ensuite, les huiles essentielles sont diluées dans l'huile de tournesol afin d'obtenir les différentes doses. Après, les échantillons à tester sont administrés par voie orale à l'aide d'une seringue et d'une canule de gavage appropriées, une seule dose pour chaque lot à raison de 0,5 ml/souris (Figure 2.6). Ensuite on suit l'évolution du taux de mortalité des souris pendant de 15 jours [181].

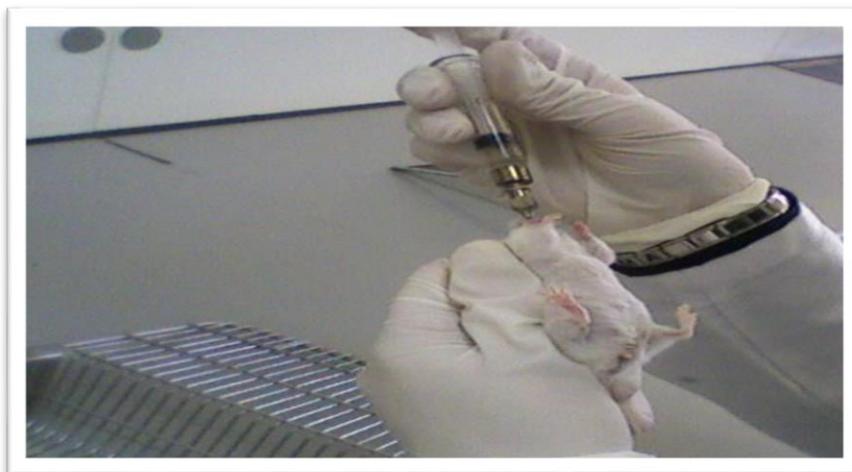


Figure 2.6 : Gavage de la souris par l'huile essentielle.
(Administration par voie orale).

La DL_{50} est calculée selon la formule donnée par BEHRENS & KARBEN [184] :

$$DL_{50} = DL_{100} - \sum a \cdot b/n$$

a : Différence entre deux doses successives.

b : Moyenne de la mortalité de deux doses successives.

n : Nombre moyen d'animaux par lot.

L'estimation du degré de toxicité donné par l'OCDE [185], a été adoptée pour les huiles essentielles :

- $DL_{50} < 5$ mg/kg : Produit hautement toxique.
- $DL_{50} > 5000$ mg/kg : Produit faiblement toxique.

2.3.9. Analyses statistiques :

Pour chaque test effectué, trois répétitions ont été faites. Les résultats des tests sont exprimés en moyenne \pm SD (l'écart type) en utilisant le logiciel Excel 2013. La détermination de l' EC_{50} de l'activité antioxydante des différents standards et les huiles essentielles a été effectuée par le logiciel (Origin 8) (Appendice C).

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Taux d'humidité :

La détermination du taux d'humidité des feuilles séchées à l'ombre, pendant une semaine, d'armoise blanche et du romarin a révélé un taux égal respectivement de $5,78 \pm 0,05\%$ et $6,98 \pm 0,15\%$ (Tableau 3.1). Ce qui signifie que $94,22 \pm 00\%$ et $93,02 \pm 00\%$, respectivement représentent le taux des matières sèches de nos échantillons ayant servi réellement à l'extraction des huiles essentielles (Figure 3.1 et 3.2).

Tableau 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées.

Espèces	Armoise blanche	Romarin
Poids de la matière végétale avant séchage P_i (g).	$5,01 \pm 00$	$5,01 \pm 00$
Poids de la matière végétale après 3h de séchage P (g).	$4,72 \pm 0,05$	$4,66 \pm 0,15$
Le taux d'humidité de la matière végétale sèche H (%).	$5,78 \pm 0,05$	$6,98 \pm 0,15$

Selon la norme ISO [186], les résultats obtenus des échantillons séchés sont nettement inférieurs à 12%, cela montre que notre matière végétale a été séchée et conservée dans de bonnes conditions, ce qui rend, par conséquent, les résultats de nos analyses phytochimiques fiables.

A titre de comparaison, MIGHRI & *al.* [187] ont constaté que la teneur en huile essentielle d'armoise blanche diminue le long de la période de séchage de 2,5% à 1,8%. En effet, SOUZA & *al.* [188] ont trouvé que les feuilles séchées de romarin présentent une teneur en humidité égale à $10,4 \pm 0,2\%$.

TAMBUNAN & *al.* [189], KHORSHIDI & *al.* [190] et SINGH [191] ont prouvé que le séchage réduit l'humidité à un niveau qui empêche la détérioration des huiles essentielles, permettant ainsi un stockage dans un état stable pour une utilisation ultérieure. Or, une plante si elle n'est pas séchée dans de bonnes conditions risque de se dégrader et perdre la totalité de ses huiles essentielles [192].

Plusieurs recherches bibliographiques ont montré qu'un bon séchage des plantes aromatiques est fondamental pour l'extraction des huiles essentielles en raison de son influence significative sur le rendement et la composition des huiles essentielles [190, 193-196].

En effet, la diminution de poids observée après séchage est exprimée par la diminution de l'humidité [197].

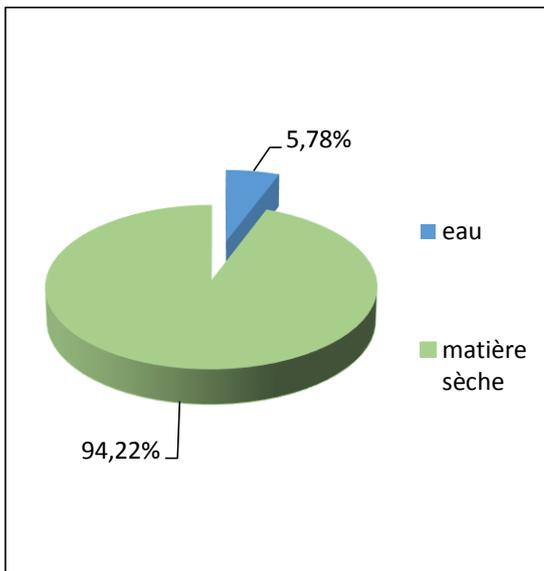


Figure 3.1 : Taux d'humidité des feuilles séchées d'armoise blanche.

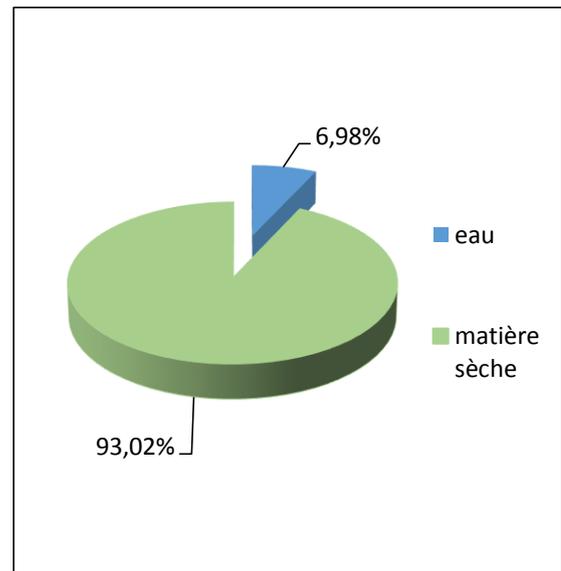


Figure 3.2 : Taux d'humidité des feuilles séchées de romarin.

D'après les travaux de DABIRE & *al.* [198, 199], le temps de séchage influence énormément le rendement en huile essentielle. Le maximum est atteint après 7 jours de séchage naturel à l'ombre. Au-delà du 14^{ème} jour le rendement en huile essentielle est très faible et devient insignifiant.

Selon DABIRE & *al.* [199] et SZUMNY & *al.* [200], le rendement en huile essentielle est optimum au bout de 7 jours. A cet effet, le séchage à l'ombre est la méthode préférée pour le séchage de matériel végétal [201].

Dans ce sens, BENJILALI & ZRIRA [202] ont trouvé que la teneur en huiles essentielles des feuilles de romarin séchées à l'ombre pendant une semaine est quatre fois plus importante que celui d'une plante fraîche.

Toutefois, l'augmentation de la teneur en huiles essentielles avec le séchage s'expliquerait par une activité physiologique (réactions enzymatiques) importante. La biosynthèse des huiles essentielles continue et s'accélère après la récolte du matériel végétal en réponse au stress hydrique [150].

Cependant, le faible rendement obtenu signifie que toute l'huile essentielle contenue dans la plante se volatilise au bout d'un long temps de séchage [198].

Les variations du rendement en huile essentielle en raison du mode de séchage a également été signalé dans d'autres plantes aromatiques [203]. Toutefois, il a également eu un effet significatif sur la proportion des différents composants des huiles essentielles [190].

D'après, KALOUSTIAN & HADJI-MINAGLOU [86] une plante fraîche et gorgée d'eau conduit à un rendement en huile essentielle inférieur à celui correspondant à la plante séchée.

3.2. Rendement en huiles essentielles :

Les rendements moyens en huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin, exprimés en ml par rapport à 100 g de matière végétale sèche, sont représentés par la figure 3.3.

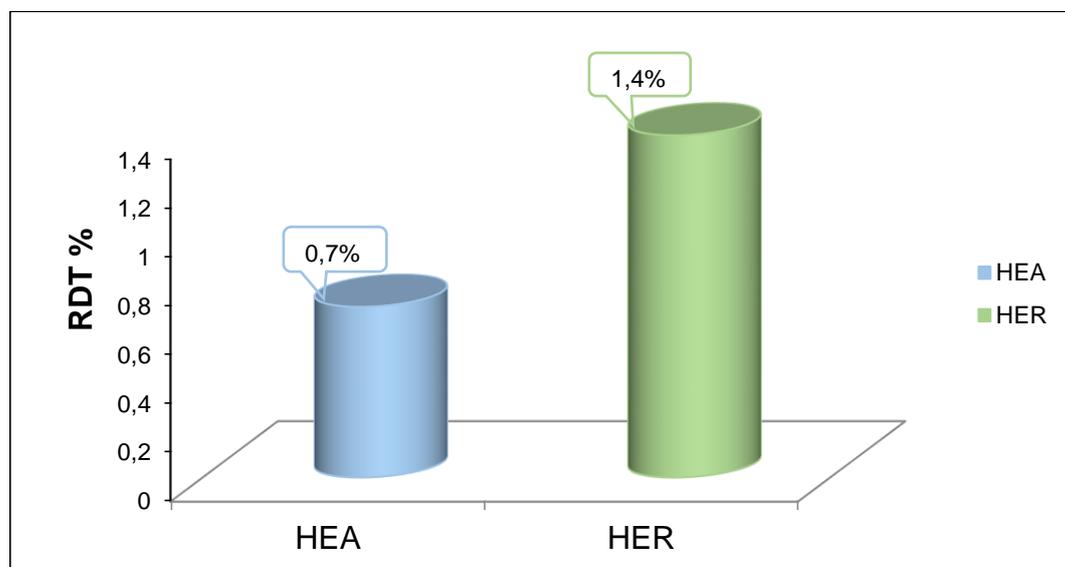


Figure 3.3 : Rendements en huiles essentielles.

Dans cette étude, le rendement moyen obtenu en huile essentielle d'armoise blanche par hydrodistillation type Clevenger est de l'ordre de $0,7 \pm 0,2\%$ (v/p). Ce taux est relativement inférieur à celui trouvé par BELHATTAB & *al.* [14] qui ont signalé un rendement allant de 0,2% (Boutaleb) à 0,9% (v/p) (Bougaa), respectivement obtenu à partir des populations d'armoise blanche provenant de la région de M'sila.

En effet, BEZZA & *al.* [22] ont mentionné une valeur de 0,95% (v/p) d'huile essentielle de matière sèche des sommités fleuries d'armoise blanche de Biskra extraite par entraînement à la vapeur.

En Jordanie, le rendement obtenu par hydrodistillation des parties aériennes d'armoise blanche était de 1,3% (v/p) [204].

En Tunisie, l'hydrodistillation de l'huile essentielle de cette même espèce provenant de la région de Matmata a donné un rendement de 0,41% (v/p) [205]. Alors que, ZOUARI & *al.* [131] ont signalé un rendement de 1,45% (v/p) dans la région de Gafsa située dans les montagnes d'Ayaycha. Ainsi, MIGHRI & *al.* [206] ont trouvé que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. récoltée dans le sud tunisien a donné un rendement variant de 1,6 à 2,2% (v/p).

De même, des populations d'*Artemisia herba-alba* Asso. provenant de deux étages climatiques (semi-aride et aride) en Tunisie ont donné un rendement en huiles essentielles qui varient entre 1,2% et 4,9% (v/p) [207].

Selon HAOUARI & FERCHICHI [208], une variation intra-spécifique du rendement d'armoise blanche a été notée en Tunisie pour 18 provenances le rendement varie de 0,68% à 1,93%.

Au Maroc, ZAIM & *al.* [209] ont trouvé un rendement en huile essentielle des feuilles séchées d'armoise blanche de l'ordre de 1,2% (v/p).

GHANMI & *al.* [210] signalent que le rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* varie en fonction de la période de récolte : avec 0,56% au mois de septembre, 0,86% en mois de mars et 1,23% au mois de juin dans la région de Guerçif au Maroc.

MIGHRI & *al.* [211] ont affirmé que l'armoise blanche fourni le rendement le plus élevé en huile essentielle au stade de la floraison.

MOUMNI & *al.* [212] ont attribué la différence en rendement à un déterminisme génétique au niveau de la plante. En effet, des armoises blanches domestiquées dans les mêmes conditions climatiques, édaphiques et hydriques, leurs rendements en huiles essentielles varient d'une manière notable d'une accession à une autre.

Cependant, le rendement moyen obtenu en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. est de l'ordre de $1,4 \pm 0,41\%$. Il est relativement supérieur à celui trouvé par VERMA & *al.* [60] avec un rendement en huile essentielle du romarin récolté en Inde varie de 1,12% à 1,1% (v/p).

Au Maroc, l'hydrodistillation des feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* L. a donné une teneur de 0,85% (v/p) d'huile essentielle [213]. De même, DERWICH & *al.* [214] ont signalé un rendement de 0,54% (v/p) dans la région montagneuse du Maroc.

A Uganda, CUÉLLAR & *al.* [215] ont signalé un taux de 1,005% (v/p) d'huile essentielle du romarin extraite par hydrodistillation type Clevenger.

En outre, ce taux est relativement faible par rapport aux rendements enregistrés en Iran 1,5% (v/p) [216] et en Turquie 1,9% (v/p) [217].

ANGIONI & *al.* [218] ont obtenu un taux variant entre 1,75 et 0,8% (v/p) de la région de Sardinia.

DOUIRI & *al.* [219] ont constaté que dans la région montagneuse Jbel Mesrouh (2700 m) situé dans le Sud-Est de la région de Meknès-Tafilalet, la teneur en huile essentielle est de $2,68 \pm 0,39\%$ (v/p). De même, ils ont signalé que dans les zones chaudes de la Méditerranée, les rendements en huiles essentielles de romarin varient respectivement de 2,44% à 2,58% (v/p).

En effet, six populations de *Rosmarinus officinalis* L. (var. *typicus* et var. *troglodytorum*) provenant de trois étages climatiques (subhumide, semi-aride et

aride) ont donné un rendement en huiles essentielles variant entre 1,17% et 2,7% (v/p) [220].

A Belgrade, ALEKSANDAR & *al.* [221] ont relevé un rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de 1,03% (v/p).

La teneur en huile essentielle des feuilles séchées du romarin déterminée par la méthode d'hydrodistillation est égale à 3% (v/p) [222].

Les différentes observations des rendements obtenus en huiles essentielles donné par l'espèce de romarin sont dues aux stades phénologiques de la plante. SINGH & GULERIA [223] ont constaté que la phase de maturation produit plus de rendement en huiles essentielles du romarin. Tandis que, ZAOUALI & *al.* [224] ont affirmé que le romarin fourni le rendement le plus élevé en huiles essentielles au stade de la floraison.

Des travaux antérieurs menés par ZAOUALI & *al.* [224] ont montré que les rendements en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. *var.* *typicus* varient principalement en fonction des organes.

De même, JORDAN & *al.* [225] ont décrit l'effet de la zone bioclimatique sur le rendement en huiles essentielles du romarin. En effet de faibles indices de thermicité dans une zone de croissance accordée favorisent la production de l'huile essentielle.

Selon JAMSHIDI & AFZALI [226], BOUKHATEM & *al.* [227] et ABDALLAH & EZZAT [228], la variabilité des rendements en huiles essentielles est attribuée aux conditions pédoclimatiques et édaphiques de la zone de croissance, le stade phénologique de la plante, la méthode d'extraction utilisée et la durée de séchage.

3.3. Caractéristiques organoleptiques :

A l'issue des distillations, les différentes caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin sont regroupées respectivement dans les tableaux 3.2 et 3.3 et les figures 3.4 et 3.5.

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle d'armoise blanche obtenue sont en accord avec ceux donnés par les travaux de IMELOUANE & *al.* [125]. Quant à l'huile essentielle du romarin obtenue sont en accord avec ceux répertoriés dans la norme AFNOR [229].

Tableau 3.2 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche.

Caractéristiques	Huile essentielle analysée	IMELOUANE & <i>al.</i> [125]
Aspect	Liquide fluide.	Liquide.
Couleur	Jaune foncé.	Jaune.
Odeur	Caractéristique, fraîche, pénétrante et camphrée.	Pénétrante, agréable herbacée caractéristique de la plante.

Tableau 3.3 : Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle du romarin.

Caractéristiques	Huile essentielle analysée	AFNOR [229]
Aspect	Liquide limpide.	Liquide mobile.
Couleur	Jaune pâle.	Incolore à jaune pâle.
Odeur	Caractéristique fraîche, pénétrante et Camphrée.	Caractéristique, fraîche, +/- camphrée selon l'origine.



Figure 3.4 : Huile essentielle d'armoise blanche.

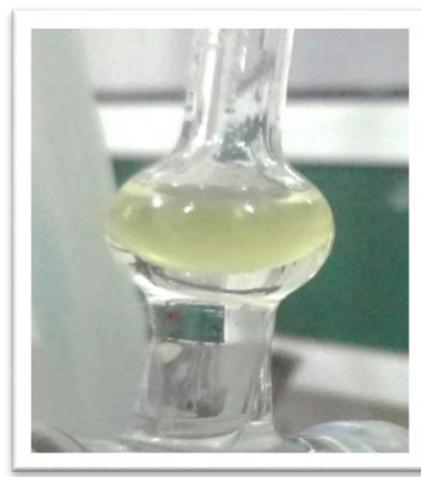


Figure 3.5 : Huile essentielle du romarin.

3.4. Contrôle physico-chimique :

Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin sont présentées dans les tableaux 3.4 et 3.5.

Les résultats du contrôle physico-chimique des huiles essentielles sont en accord avec ceux mentionnés par les travaux de SHAKHNOZA & *al.* [230] et la norme AFNOR [229].

Tableau 3.4 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Caractéristiques	Huile essentielle analysée	SHAKHNOZA & <i>al.</i> [230]
Pouvoir rotatoire	+3°	-12,2° à + 3,88°
Indice de réfraction	1,4655	1,4653 - 1,4676
Densité relative	0,9272	0,9257 - 0,9288
Indice d'acide	0,9	2,72

Tableau 3.5 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin.

Caractéristiques	Huile essentielle analysée	AFNOR [229]
Pouvoir rotatoire	+5°	- 2° à +5°
Indice de réfraction	1,471	1,464 - 1,470
Densité relative	0,915	0,907 - 0,920
Indice d'acide	0,9	0,5 - 2

Pour les constantes chimiques, l'indice d'acide renseigne sur le taux d'acides libres. En effet, un indice d'acide élevé (supérieure à deux) trouve une explication dans la dégradation de l'huile essentielle (hydrolyse des esters) durant la conservation. Inversement, un indice d'acide inférieur à deux est une preuve de bonne conservation de l'essence (faible quantité d'acides libres) [227, 231].

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [227, 231]. Le faible indice de réfraction de l'huile essentielle indique sa faible réfraction de la lumière ce qui pourrait favoriser son utilisation dans les produits cosmétiques [232].

Les différentes variations observées sont attribuées à la complexité de la notion de chémotype [227].

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser l'huile essentielle. Il sera donc primordial de déterminer le profil chromatographique de l'essence aromatique.

3.5. Identification des huiles essentielles par CPG/MS :

Les résultats de l'analyse par CPG/MS de la composition chimique des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse et leurs temps de rétention avec ceux de la base de données élaborée à partir de substances authentiques par le laboratoire de recherche de la police scientifique à Ben-Aknoun où les analyses ont été réalisées.

➤ **L'huile essentielle d'armoise blanche :**

L'identification des principaux composants de l'huile essentielle d'armoise blanche est mentionnée dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6 : Identification des principaux composants chimiques de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Numéro de structure	IK	TR	Composant	Pourcentage%
1	911	12.22	santolina triène	0,4
2	926	12.50	tricyclène	0,2
3	934	13.12	α -pinène	0,5
4	950	13.61	camphène	8,3
5	974	13.73	sabinène	0,1
6	972	14.69	β -pinène	0,1
7	1005	15.88	α -phéllandrène	0,2
8	1017	15.9	α -terpipène	0,3
9	1025	16.4	para-cymène	0,7
10	1033	16.95	1,8-cinéole	9,2
11	1058	18.12	γ -terpinène	0,2
12	1074	18.27	filifolone	2,1
13	1074	18.36	α -thujone	7,3
14	1081	18.68	β -thujone	1,1
15	1081	19.8	chrysanthénone	14,7
16	1095	21.7	camphre	34,5
17	1106	21.84	trans-pinocarvéol	0,9
18	1110	22.53	cis-verbénol	0,7
19	1114	22.55	trans-verbénol	1,1
20	1121	22.59	pinocarvone	0,7
21	1134	22.62	bornéol	4,9
22	1184	22.89	terpinène-4-ol	0,5
23	1202	23.05	cis-carvéol	0,1
24	1211	24.11	pipéritone	0,3
25	1241	25.30	cis-chrysanthényl	0,4
26	1265	26.97	bornyl acétate	0,3
27	1286	27.18	carvacrol	0,5
28	1469	29.23	γ -muurolène	1,4
29	1487	31.78	bicyclogermacrène	0,4
30	1505	35.52	γ -cadinène	0,1
31	1551	38.22	spathuléol	0,1
Total %				92,3%

L'analyse chimique a fait ressortir 31 composés pour l'huile essentielle d'armoise blanche (Tableau 3.6), ce qui correspond à un pourcentage de 92,3% par rapport à l'ensemble des constituants isolés. Les monoterpènes oxygénés (79,3%) sont les composants prédominants dont le camphre (34,5%), caryophyllène (14,7%), 1,8-cinéol (9,2%), α -thujone (7,3%) et le bornéol (4,7%) sont les principaux composés, suivis par les monoterpènes hydrocarbures (11%) et les sesquiterpènes hydrocarbures (2%).

Ces résultats sont en accord avec ceux de ZOUARI & *al.* [131] qui ont trouvé que l'huile essentielle d'armoise blanche contient principalement des monoterpènes. Cette huile est composée de monoterpènes oxygénés (50,53%), les monoterpènes hydrocarbures (5,27%) et les sesquiterpènes hydrocarbures (3,06%).

Les analyses chimiques des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* Asso. récoltée dans différentes régions d'Algérie effectuées par BELHATTAB & *al.* [14] de Benifouda, DOB & *al.* [233] de M'sila et DAHMANI & BAALIOUAMER [234] au nord du Sahara Algérien révèlent la présence du camphre à des taux variant de 33,1%, 19,4% et 49,3% comme composant principal dans cette huile étudiée.

Au Maroc, dans la région de Taforalt et Machraa IMELOUANE & *al.* [125] et PAOLINI & *al.* [235] ont trouvé le camphre à 43,07% et 31,90%, respectivement comme composé majoritaire de l'huile essentielle d'armoise blanche. De même, HOUBAIRI & *al.* [236] ont trouvé un taux de camphre de 28,96%.

D'après, ABAAS & *al.* [237] le composé majoritaire de l'huile essentielle d'armoise blanche d'Iraq est le camphre à 37,3%.

Toutefois, certains éléments chimiques secondaires dans la présente étude ont été décrits par d'autres chercheurs comme composés majoritaires des huiles essentielles d'armoise blanche. Les études de KADRI & *al.* [21], HUDAIBA & ABURJAI [204], BOUKRICH & *al.* [207], HAOUARI & FERCHICHI [208] et PAOLINI & *al.* [235] sur la composition chimique de l'huile essentielle d'armoise blanche du Maroc, Jordanie et Tunisie (Bir Elhfay) ont prouvé la présence du constituant majoritaire qui est l' α -thujone.

Mais, selon BEZZA & *al.* [22] et ZOUARI & *al.* [131] le constituant le plus abondant obtenu à partir de l'huile essentielle de la partie aérienne d'armoise blanche d'Algérie (Biskra) et de Tunisie est le cis-chrysanthényle acétate.

Cependant, MIGHRI & *al.* [124, 187] et BENABDELLAH & *al.* [238] ont indiqué la présence de β -thujone dans l'huile essentielle d'armoise blanche.

D'après AKROUT & *al.* [239], l'huile essentielle d'armoise blanche provenant de la région de Beni-Khedache (Sud de Tunisie) est caractérisée par la dominance de β -thujone.

De même, des études faites par BOUCHIKHI & *al.* [240], BOUTKHIL & *al.* [241] et AGHAEI & *al.* [242] montrent que le β -thujone caractérise l'huile essentielle d'armoise blanche qui se trouve spontanément à Méchria (l'Ouest d'Algérie), Oujda et Errachidia (Maroc) et l'Ouest d'Azerbaïdjan.

SALIDO & *al.* [26, 243] ont identifié le davanone comme constituant majeur dans l'huile essentielle d'armoise blanche de l'Espagne. De même, DAHMANI & BAALIOUAMER [244] ont identifié le davanone dans l'huile essentielle d'armoise blanche de Djelfa.

TILAOUI & *al.* [245] ont montré que l'huile d'armoise blanche du Maroc contient le verbénol comme composé majoritaire.

D'autre part, ZAIM & *al.* [209], BOUTEMAK & *al.* [246], OUACHIKH & *al.* [247], AZIZ & *al.* [248] et JANACKOVIC & *al.* [249] ont montré que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. du Maroc, Algérie et Libye contient de chrysanthénone comme composé majoritaire.

Des observations similaires ont été faites par PAOLINI & *al.* [235] avec 16 échantillons provenant de l'Est Marocain, dont le chrysanthénone, le camphre, l' α -thujone et le β -thujone sont des composés majoritaires de l'huile essentielle d'armoise blanche.

Les pourcentages les plus élevés en 1,8-cinéole ont été observés uniquement pour l'espèce *Artemisia herba-alba* Asso. récoltée en Egypte [22].

Au cours des dernières décennies, l'huile d'*Artemisia herba-alba* Asso. a été beaucoup étudiée, et une grande diversité dans la composition de l'huile extraite des plantes poussant dans des pays différents, et même dans des localités différentes du même pays a été mise en évidence [26, 235].

Les différentes compositions observées ont été caractérisées soit par la dominance d'un seul composé majeur présent à des teneurs élevées (α -thujone, β -thujone, 1,8-cinéole, camphre, chrysanthénone, pinocarvone, α -copaène, limonène ou acétate de trans-sabinyle), soit par une codominance de deux ou plus de ces composés présents à des teneurs assez importantes [36, 37, 124, 205, 207, 131].

TISSERAND & YOUNG [183] ont identifié sept chémotype de l'huile essentielle d'armoise blanche (α -thujone, β -thujone, camphre, chrysanthényl acétate, davanone, α -thujone-camphre et α -thujone- β -thujone).

D'après les travaux de TISSERAND & YOUNG [183], l'huile essentielle étudiée d'armoise blanche de la région de M'sila est de chémotype camphre.

➤ **L'huile essentielle de romarin :**

Les résultats de l'identification des principaux composants de l'huile essentielle du romarin sont donnés par le tableau 3.7.

Tableau 3.7 : Identification des principaux composants chimiques de l'huile essentielle du romarin.

Numéros de structures	IK	TR	Composant	Pourcentage%
1	926	12,64	tricyclène	0,7
2	931	13,1	α -pinène	11,2
3	947	13,73	camphène	15,1
4	972	14,88	β -pinène	1,3
5	992	15,1	myrcène	0,3
6	1005	15,9	α -phéllandrène	0,3
7	1018	16,1	α -terpinène	0,3
8	1026	16,7	para-cymène	1,6
9	1031	16,9	limonène	2,1
10	1030	17,12	1,8 cinéol	9,8
11	1057	18,17	γ -terpinène	0,2
12	1088	18,95	terpinolène	0,1
13	1102	20,1	chrysanthénone	0,6
14	1144	21,84	camphre	41,3
15	1166	22,65	borneéol	3,9
16	1184	23,05	terpinène-4-ol	1,4
17	1196	23,54	α -terpinéol	0,1
18	1287	27,18	bornyl acétate	0,1
19	1423	32,24	β -caryophyllène	0,8
20	1581	36.15	Caryophyllène oxyde	0.1
21	1668	38,29	α -bisabolol	0,4
Total %				91,7%

Différents constituants ont été identifiés, ils sont au nombre de 21 composés (tableau 3.7). Ils représentent 91,7% de la teneur totale en huile essentielle de romarin. Les monoterpènes oxygénés (57,2%) sont les composants prédominants suivie par les monoterpènes hydrocarbures (32,9%), les sesquiterpènes hydrocarbures (1,2%) et les sesquiterpènes oxygénés (0,1%).

DIAZ-MAROTO & *al.* [103] et ANGIONI & *al.* [218] ont rapporté que l'huile essentielle du romarin contient principalement des monoterpènes. De même, ALEKSANDAR & *al.* [221] ont trouvé que l'huile essentielle du romarin est composée principalement de monoterpènes oxygénés (63,88%), les monoterpènes hydrocarbures (31,22%) et les sesquiterpènes hydrocarbures (4,77%).

L'huile essentielle étudiée a été caractérisée comme ayant un important contenu de camphre (44,16%) suivi par le 1,8 cinéol (16,15%), l' α -pinène (14,12%) et le camphène (6,83%). En effet, l'étude de JALALI-HERAVI & al. [250] a montré que les principaux composés volatils de l'huile essentielle du romarin sont le camphre et le 1,8-cinéole, suivis par le bornéol, le verbénone, l' α -pinène et le camphène.

De même, PORTE & al. [251] ont trouvé que l'huile essentielle des feuilles fraîches de romarin provenant du Brésil contient le camphre à 26% comme constituant principal.

BENHABILES & al. [252] ont montré que l'huile essentielle des fleurs de romarin contient le camphre comme composé majoritaire.

WAGNER & al. [253] signalent que l'analyse de l'huile de romarin a révélé la présence de camphre à 18,9% comme composé majoritaire.

En Egypte, les résultats de HAMZAA & al. [254] ont révélé que les principaux composants de l'huile essentielle du romarin étaient le camphre (20,85%), caryophyllène (18,37%), 1, 8-cinéol (14,49%), γ -cadinène (9.59 %) et α -pinène (8,46%). De même, ABU-GHARBIA & al. [255] ont trouvé le camphre (18.48%), α -pinene (14.09%), α -terpineol (13.73%) and 1,8-cineole (12.90%).

ANGIONI & al. [218] ont reporté que les principaux composants étaient l' α -pinène, bornéol, camphène, camphre, verbénone et le bornyl-acétate présent dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de Sardinian.

SANTOYO & al. [256] ont obtenu l' α -pinène, camphre, 1,8-cinéole, verbénone et le bornéol à environ 80% de la teneur en huile essentielle du romarin. D'autre part, SACCHETTI & al. [159] ont reporté que les composants majeurs de l'huile de *Rosmarinus officinalis* L. étaient le verbénone avec 21,76%, le camphre avec 4.6% et le bornyl-acétate représente 12,3%.

En analysant la composition chimique de l'huile essentielle de romarin d'Iran GACHKAR & al. [118] ont constaté qu'elle est dominée par le pipéritone (23,7%), α -pinène (14,9%), linalol (14,9%) et le 1,8-cinéol (7,43%).

En effet, BOZIN & *al.* [257] ont signalé que les composants de l'huile de *Rosmarinus officinalis* L. étaient le limonène (21,7%), camphre (21,6%) et l' α -pinène (13,5%).

Plus récemment, VIUDA-MARTOS & *al.* [258] ont rapporté que les constituants majeurs de l'huile du romarin étaient l'1,8-cinéole (23.59%), camphre (20.7%) et l' α -pinène (18.21%). De même, ZAOUALI & *al.* [224] ont déterminé les composés majoritaires de l'huile de *Rosmarinus officinalis* var. *typicus* et var. *trogodytorum*, ils ont identifié le 1,8-cinéole variant de 47,2 à 27,5% et le camphre composé entre 12,9 à 27,9%.

KABOUCHE & *al.* [259] ont montré que le 1,8-cinéole domine l'huile essentielle du romarin provenant de Constantine. TOUAFEK & *al.* [260] ont également identifié le 1,8-cinéole comme composant principal avec un taux de 29,5% suivi de 2-éthyl-4,5-diméthylphénol (12,0%), du camphre (11,5%) et le bornéol (9,4%), lors d'une étude sur l'huile essentielle du romarin issu de la région d'Oued Souf.

Au Maroc, DOUIRI & *al.* [219] ont identifié le 1,8-cinéole (50,42%), le camphre (17,73%), 3-carène (12,05%) et le bornéol (5,99%) les constituants majeurs de l'huile essentielle du romarin récolté de Jbel Mesrouh situé dans le sud-est de la région de Meknès. De même, CARMEN & *al.* [261] ont trouvé que l'huile essentielle du romarin de la région de Roumanie est caractérisée par le 1,8-cinéole comme composé majoritaire.

D'après les résultats obtenus par ATIK-BEKKARA & *al.* [48], l'huile essentielle du romarin spontané de la région de Honaine à Tlemcen est caractérisée par la présence de α -pinène (23,1%) suivi de camphre (15,3%).

Les composants chimiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. à savoir l' α -pinène, camphène, le 1,8-cinéole et le camphre sont les principaux produits trouvés dans différents pays et même différentes régions du même pays [60, 214, 225, 250, 262-264].

Sur la plupart des composants de l'huile essentielle du romarin les auteurs ont identifié trois chémotypes (α -pinène - 1,8-cinéole - camphre) [225, 262, 263, 265].

En effet, JORDAN & al. [225] ont identifiés cinq variantes de chémotypes basés sur l' α -pinène - 1,8-cinéole - camphre. En outre, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de la région Est d'Algérie contient 3 chémotypes : Le premier chémotype est le 1,8-cinéole qui caractérise la région de Kherrata et Biban; le deuxième chémotype est le camphre qui caractérise la région de Boussâada, Agmeroual et N'gaous et le troisième chémotype est l' α -pinène qui caractérise la région de Boutaleb [264].

Selon MARTINETTI [40], il existe trois chémotype du romarin : camphre, cinéole et verbénone.

NAPOLI & al. [266] ont classé l'huile essentielle du romarin en trois chémotypes du point de vue chimique :

- cineoliferum (teneur élevée en 1,8- cinéole).
- camphoriferum (camphre > 20%).
- verbenoniferum (verbénone > 15%).

Selon la classification de NAPOLI & al. [266], l'huile essentielle du romarin étudiée de la région de M'sila est de chémotype camphoriferum.

La composition chimique des huiles essentielles varient selon des facteurs abiotiques comme l'environnement, l'origine géographique, le lieu et la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la température et la durée de séchage, ainsi les facteurs biotiques comme la partie de la plante étudiée et l'âge de la plante [48, 267-270].

3.6. Effet antimicrobien et biopesticide :

L'étude de l'effet antimicrobien et biopesticide in vitro des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin sur les micro-organismes testés a été évaluée par la méthode de l'aromatogramme. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques.

3.6.1. Effet antibactérien :

Les résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles testées sont regroupés dans le tableau 3.8 et la figure 3.8 (Appendice A).

Tableau 3.8 : Inhibition du développement des souches bactériennes testées.

concentrations de l'HE (%)	Diamètres des ZI (mm)									
	Armoise blanche					Romarin				
	Gram (-)			Gram (+)		Gram (-)			Gram (+)	
	<i>K.p</i>	<i>P.a</i>	<i>E. c</i>	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>	<i>K. p</i>	<i>P. a</i>	<i>E. c</i>	<i>B. s</i>	<i>S. a</i>
100	15	-	16	22	25	15	-	15	21	23
90	13	-	13	19	22	11	-	13	19	21
80	10	-	11	18	19	10	-	10	17	19
70	-	-	-	15	18	-	-	-	14	17
60	-	-	-	13	15	-	-	-	12	15
50	-	-	-	11	14	-	-	-	10	13
40	-	-	-	10	12	-	-	-	-	12
30	-	-	-	-	11	-	-	-	-	10
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Le diamètre des zones d'inhibitions nous permet d'estimer la résistance ou la sensibilité des différentes souches testées aux huiles essentielles en adoptant la méthode de MOREIRA & *al.* [271] et DJEDDI & *al.* [272] :

- Souche extrêmement sensible : Diamètre plus de 20 mm.
- Souche très sensible : Diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- Souche sensible : Diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Souche non sensible : Diamètre moins de 8 mm.

L'examen des résultats révèle que les échantillons étudiés ont montré une activité antibactérienne contre la plupart des bactéries testées à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée résistante.

Selon MOREIRA & al. [271] et DJEDDI & al. [272], les germes bactériens sont considérés comme sensibles à partir d'un diamètre de zone d'inhibition de 9 mm, ce qui correspond à une concentration de 80% pour *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, 40% et 50% pour *Bacillus subtilis* et 30% pour *Staphylococcus aureus* pour les deux échantillons testés.

En effet, *Staphylococcus aureus* est extrêmement sensible à partir d'une concentration de 90% avec une zone d'inhibition de (22,00 ± 3,9 mm), suivie par *Bacillus subtilis* (22,00 ± 4,03 mm) avec une concentration de 100%. En ce qui concerne les souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* se sont montrées sensibles (11,00 ± 0,6 mm et 10,00 ± 0,31 mm) avec une concentration de 80% pour l'huile essentielle d'armoise blanche.

De même, *Staphylococcus aureus* s'est avérée extrêmement sensible à partir d'une concentration de 90% avec une zone d'inhibition de (21,00 ± 1 mm), suivie par *Bacillus subtilis* (21,00 ± 2,54 mm) avec une concentration de 100%. La souche *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* se sont montrées sensibles (10,00 ± 0,96 mm et 10,00 ± 0,12 mm) avec une concentration de 80% pour l'huile essentielle du romarin.

Nous remarquons que les souches bactériennes Gram (+) paraissent plus sensibles aux huiles essentielles testées que les bactéries Gram (-). En effet, le développement des bactéries Gram (+) est inhibé par des concentrations en huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin moins importantes (allant de 30% à 50%) que celle inhibant le développement des bactéries Gram (-) qui ne deviennent sensible qu'à partir d'une concentration de 80% pour les deux plantes testées.

On note également que l'activité antibactérienne est proportionnelle à la concentration. Plus l'huile essentielle est concentrée, plus la zone d'inhibition est étendue ce qui indique la diminution de la croissance bactérienne.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de IMELOUANE & al. [125] qui ont trouvé que les souches *Klebsiella pneumoniae* (1) (ZI= 16,0 ± 0,1 mm), *Klebsiella pneumoniae* (2) (ZI= 40,0 ± 0 mm), *Escherichia coli* ATCC 125922 (ZI= 17,23 ± 0,25 mm), *Escherichia coli* (ZI= 2,0 ± 0 mm) et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (ZI= 28,17 ± 0,28 mm) sont sensibles à l'huile essentielle d'armoise blanche.

AL-SHUNEIGAT & al. [273] signalent que l'huile d'armoise blanche a un effet vis-à-vis des souches *Escherichia coli* (ZI=18,0 ± 1,0 mm) et *Klebsiella pneumoniae* (ZI= 11,0 ± 0,3 mm).

L'étude de ZOUARI & al. [131], montre que l'huile testée sur les souches *Escherichia coli* (ZI= 11,3 ± 0,6 mm), *Klebsiella pneumoniae* (ZI= 8,7 ± 0,6 mm), *Bacillus cereus* (ZI= 23,0 ± 1,0 mm) a une activité antibactérienne.

SBAYOU & al., [274] ont trouvé que *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI= 16 ± 0 mm), *Escherichia coli* clinique (ZI= 17 ± 0 mm), *Staphylococcus aureus* clinique (ZI= 11 ± 0 mm) et *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (ZI= 13 ± 0 mm) sont sensibles à l'huile d'armoise blanche.

Il a été noté que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. a un grand potentiel antibactérien contre les souches de *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhimirium*, *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* [37].

MOUCHEM & al. [23] ont montré l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'armoise blanche vis-à-vis *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*.

Cependant, nos résultats sur l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin concordent avec ceux obtenus par LOGRADA & al. [264]. Dans cette étude, les auteurs ont testé l'huile aromatique du romarin provenant de plusieurs régions de l'Est Algérien : Kherrata (Bedjaia), Boutaleb (Sétif), Bibans (Bourdj Bou-Arriridj), Agmeroual et N'gaous (Batna), et Boussaâda (M'sila). Les diamètres des zones d'inhibition obtenus n'ont pas dépassé les 20 mm, ils se rapprochent de nos résultats et reflètent le potentiel antibactérien modeste de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de l'Est Algérien.

Par contre, DJEDDI & al. [272] ont signalé la forte activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin issu du Park national d'El Hamma (Alger).

En utilisant la méthode de l'aromatogramme, HUSSAIN & al. [133] ont signalé l'effet antimicrobien de l'huile de romarin sur *Staphylococcus aureus* (ZI= 22,0 ± 1,0 mm), *Bacillus subtilis* (ZI= 23,0 ± 0,9 mm) et *Escherichia coli* (ZI= 14,3 ± 0,7 mm).

De même, OUIBRAHIM & al. [275] ont constaté que l'huile du romarin exerce un effet antimicrobien modeste contre les souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (ZI= 14 mm), *Klebsiella pneumoniae* (ZI= 11,6 mm) et *Escherichia coli* ATCC 25922 (ZI= 13,5 mm).

Les travaux de TAHRI & al. [276] montrent que l'huile essentielle du romarin a un effet sur les souches : *Escherichia coli* (ZI= 9 mm), *Staphylococcus aureus* (ZI= 10 mm) et *Klebsiella sp* (ZI= 9 mm).

CHAHBOUN & al. [277] ont signalé l'effet inhibiteur de l'huile étudiée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* (ZI= 18 mm), *klebsiella pneumonia* (ZI= 12 mm) et *Escherichia coli* (ZI= 12 mm).

KAZEMI & al. [278] ont signalé que l'huile essentielle du romarin présente une activité antibactérienne contre les souches Gram (+) *Staphylococcus aureus* (ZI= 30 mm) et Gram (-) *Klebsiella pneumoniae* (ZI= 15 mm) et *Escherichia coli* (ZI= 20 mm).

De même, CELIKTAS & al. [126] ont montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. présente une activité antibactérienne contre les souches Gram (+) à savoir : *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* et Gram (-) : *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*.

Des études ont montré que les plantes de la famille des Lamiacées, notamment le romarin, l'origan, la sauge, le thym et le basilic ont une activité contre de nombreux agents pathogènes d'origine alimentaire : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Kleibsella pneumonia* [118, 256, 257, 279, 280].

D'après PRABUSEENIVASAN & al. [114], SIENKIEWICZ & al. [262], LOPEZ & al. [281] et FABIO & al. [282], l'huile essentielle du romarin a montré une activité antibactérienne moyenne sur toutes les bactéries testées à savoir : *Enterobacter colacae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens* et *Shigella sp.*

DERWICH & al. [214] ont montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. possède une activité antibactérienne contre *Proteus mirabilis*, *Micrococcus luteus*, *Kellebsiella pneumonae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis* et *Salmonella typhi*.

D'après plusieurs auteurs, GACHKAR & al. [118], ERDOGRUL [283] et KHOSRAVI & al. [284], l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. a montré un large spectre d'action. D'autres travaux ont cependant signalé une activité modérée comme ceux ANGIONI & al. [218] et LOPEZ & al. [281] qui ont travaillé respectivement sur l'espèce provenant de Turquie et de Sardaigne.

Les études de MIRESMAILLI & al. [285] ont révélé que l'huile essentielle du romarin est un agent antibactérien efficace qui permet de contrôler de nombreux micro-organismes alimentaires tels que *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

ZAND & al. [286] ont signalé l'effet antibactérien de l'huile essentielle du romarin contre les bactéries : *Streptococcus agalactiae* ATCC 12386, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 33591 et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

BOZIN & al. [257] ont testé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et de la sauge (*Salvia officinatis* L.). Leur activité antimicrobienne a été testée contre 13 souches bactériennes et les champignons, y compris 6 *Candia* et 5 dermatocytes. La plus forte activité antibactérienne des deux huiles essentielles a été exprimée sur *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus enreritidis* et *Shigetia sonei*.

FU & *al.* [287] ont rapporté que les huiles essentielles de clou de girofle et romarin seul et en combinaison exercé un important effet antimicrobien contre *Escherichia coli*.

En effet, les résultats obtenus sur l'huile essentielle d'armoise blanche sont en accord avec ceux trouvés par IMELOUANE & *al.* [125], ZOUARI & *al.* [131] et MATASYOH [288] par rapport à la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* contre cette huile. Tandis que, AL-SHUNEIGAT & *al.* [273] ont trouvé que l'huile testée a un effet sur cette souche avec une zone d'inhibition égale à 09 ± 2 mm.

De même, nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par d'autres auteurs SANTOYO & *al.* [256], OUIBRAHIM & *al.* [275], CHAHBOUN & *al.* [277], KAZEMI & *al.* [278] et GACHKAR & *al.* [118] par rapport à la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* contre l'huile essentielle du romarin. Par ailleurs, ces résultats sont très loin à ceux indiqués par CELIKTAS & *al.* [126] et HUSSAIN & *al.* [133] qui ont montré que l'huile essentielle du romarin exerce une activité sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* (ZI= $17,0 \pm 1,0$ mm).

Cette résistance de *Pseudomonas aeruginosa* contre les deux huiles essentielles testées est due à l'imperméabilité de la paroi de cette bactérie [272, 289]. En effet, cette bactérie possède une résistance intrinsèque aux agents biocides, en relation avec la nature de sa membrane externe. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides qui forment une barrière imperméable aux composés hydrophobes. En présence d'agents perméabilisants de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives [290].

Certaines études montrent que les bactéries Gram (-) sont plus résistants aux huiles essentielles que les bactéries Gram (+) [281].

Les bactéries Gram (+) protègent leur membrane avec une paroi épaisse, le composant majeur de la paroi est un polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé le peptidoglycane. C'est un composant essentiel qui donne à la bactérie sa forme et sa rigidité que ce soit chez les bactéries Gram (+) ou chez la bactérie Gram (-) [293].

Les bactéries Gram (-) adoptent une forme différente pour protéger leur membrane cytoplasmique, elles fabriquent une structure particulière, la membrane externe, située à l'extérieur du peptidoglycane et qui se distingue des autres membranes biologiques, ce qui lui confère la capacité de résister aux agents chimiques nocifs. C'est une structure à deux feuillettes mais le feuillet externe contient un composant unique en plus des phospholipides ; il s'agit du lipopolysaccharide bactérien, molécule complexe rencontrée uniquement chez les bactéries Gram (-) [293].

La grande sensibilité des bactéries à Gram (+) à l'action des huiles essentielles, par rapport aux bactéries à Gram (-) peut être expliquée par les différences structurales de leurs membranes externes [99, 294, 281, 257]. En effet, la pénétration des composés actifs présents dans les huiles essentielles est donc différente [295].

Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une deuxième couche renforçant la membrane externe, qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides [296]. Cette membrane constitue une barrière de perméabilité efficace dont les charges négatives de surface empêchent la diffusion des molécules hydrophobes [297]. Toutefois, quelques composés phénoliques de faible poids moléculaire, en dessous de 600Da, peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires à l'aide de leurs groupes fonctionnels et se faufiler jusqu'à la membrane intérieure plus vulnérable [289, 296]. Les molécules à faible poids moléculaire comme le carvacrol peuvent traverser cette barrière [289, 298]. Autrement dit, les composés hydrophobes sont capables de perturber la membrane plasmique et la membrane externe des bactéries Gram (-) en induisant sa perméabilité et la mort cellulaire [299].

La résistance des bactéries envers un agent antibactérien peut être expliquée aussi par deux événements génétiques, soit par mutation où le génome se modifie lors des réplifications au cours de la multiplication bactérienne ou soit par acquisition de matériel génétique supplémentaire. Ces modifications génétiques peuvent conférer des propriétés nouvelles aux bactéries (mécanismes de résistance aux agents antibactériens). La diversité des moyens protecteurs mis en place est

remarquable : production d'enzymes qui détruisent les molécules antibactériennes, modification de la structure de la paroi, modification du site cible de l'agent antibactérien [300].

La plupart des études sur le mécanisme d'action des huiles essentielles sur les bactéries se sont accentuées sur leurs effets sur les membranes cellulaires. En fait, les composés actifs attaquent la paroi et la membrane cellulaire, affectant de ce fait la perméabilité et le dégagement des constituants intracellulaires, en interférant également avec la fonction de la membrane [105, 301-304].

Les travaux de BURT [305] ont montré qu'une huile essentielle active exercera son pouvoir antibactérien par son interférence avec la bicouche lipidique de la cellule cible grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne une perturbation de la perméabilité et perte des constituants de la cellule. En plus, cette réaction varie en fonction de la nature de la bicouche lipidique, ce qui explique la résistance des bactéries Gram (-) [99, 306]. Les huiles essentielles peuvent aussi perturber le gradient ionique de part et d'autre de la membrane cytoplasmique ce qui diminue la stabilité membranaire et perturbent aussi le transport membranaire. Mais certaines bactéries sont capables de contourner cet effet par l'utilisation de la pompe ionique, dans ce cas la croissance ralentit grâce à l'épuisement de l'énergie de la pompe [307]. Un mécanisme d'action proposé implique le groupement hydroxyle des phénols, comme le carvacrol, qui agirait comme un transporteur transmembranaire des cations et des protons monovalents, cet effet perturbe le gradient ionique et le fonctionnement membranaire des cellules microbiennes [298]. De même, certaines huiles essentielles inhibent la croissance bactérienne par l'inactivation des acides nucléiques [99].

MAHMOUD & *al.* [306] ont suggéré que l'effet antibactérien qu'exercent les huiles essentielles pourrait être expliqué par la destruction de certains systèmes enzymatiques incluant ceux qui participent dans la production d'énergie cellulaire et la production des composés structuraux.

De nombreux auteurs, ont constaté que le changement dans la composition chimique des huiles essentielles affecte directement leurs propriétés biologiques [126]. Ce qui mène à attribuer l'activité antibactérienne aux composants chimiques des huiles essentielles.

Les monoterpènes oxygénés des huiles essentielles semblent présenter un degré variable de cytotoxicité. Comme substances lipophiles classiques, ils passent à travers la paroi cellulaire et la membrane cytoplasmique et perturbent leur structure. Chez les bactéries, les dommages de la membrane sont liés à la perte d'ions et la réduction du potentiel de la membrane, l'effondrement de la pompe à protons et l'épuisement de l'ATP [308].

Selon NOWAK & *al.* [309], l'action antimicrobienne des composants d'huile essentielle est la suivante :

Phénols > Aldéhydes > Cétones > Ethers > Alcools > Hydrocarbures.

3.6.2. Effet antifongique et biopesticide :

Les résultats de mesure des diamètres des zones d'inhibition de *Candida albican*, *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* en fonction des huiles essentielle sont reportés dans le tableau 3.9 et la figure 3.9 (Appendice A).

Tableau 3.9 : Inhibition du développement des souches fongiques testées.

Concentrations de l'HE (%)	Diamètres des ZI (mm)					
	<i>Candida Albicans</i>		<i>Aspergillus niger</i>		<i>Fusarium oxysporum</i>	
	Armoise blanche	Romarin	Armoise blanche	Romarin	Armoise blanche	Romarin
100	39	33	31	29	29	27
90	38	31	30	28	26	25
80	35	29	28	26	26	23
70	34	27	28	25	25	23
60	31	26	25	23	24	23
50	31	23	23	21	24	22
40	30	22	23	21	22	22
30	27	21	22	21	22	21
20	24	21	21	20	22	21
10	23	20	21	20	21	20

En se basant sur l'estimation donnée par MOREIRA & al. [271] et DJEDDI & al. [272], les huiles essentielles d'*Artemisia herba -alba* Asso. et de *Rosmarinus officinalis* L. se sont avérées très actives contre toutes les espèces fongiques testées à savoir : la levure *Candida albicans*, ainsi que les deux champignons de plante *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum*, avec des zones d'inhibition comprises entre $20,00 \pm 1,73$ mm et $39,00 \pm 1$ mm.

L'estimation donnée par MOREIRA & al. [271] et DJEDDI & al. [272], nous a permis de considérer *Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* comme des souches extrêmement sensibles aux huiles essentielles étudiées.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par [131] qui ont montré que l'huile essentielle d'armoise blanche exerce une forte activité sur l'inhibition de la croissance de nombreux champignons à savoir *Fusarium solani* ($27,7 \pm 2,5$), *Fusarium sp* (ZI= $27,01 \pm 1,6$ mm) et *Aspergillus oxysporum* (ZI= $51,0 \pm 5,0$ mm).

MIGHRI & al. [37] ont constaté que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. a un fort effet inhibiteur sur la croissance de certaines souches de levure de *Candida* (*Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* et *Candida saké*).

Les huiles essentielles extraites de 10 plantes provenant de plusieurs sites d'Algérie ; y compris l'armoise blanche, ont été analysées pour leur activité potentielle contre *Candida albicans*. Une efficacité modérée a été obtenue avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* qui a montré un effet antifongique [310].

Les études de KOLAI & al. [311] ont trouvé que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. s'est avérée un agent antifongique efficace contre le *Fusarium Oxysporum*.

En outre, une plus forte activité antifongique des huiles essentielles d'*Artemisia judaica* et *Artemisia herba-alba* a été démontré sur l'inhibition de la croissance d'*Aspergillus niger* [312].

PITAROKILI & al. [313] notent que l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* agit de façon active sur *Fusarium oxysporum* et *Rhizopus stolonifer*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par CELIKTAS & al. [126] et SANTOYO & al. [256]. De même, YANG & al. [314] et MUGNAINI & al., [315] ont

montré que l'huile essentielle de romarin présente une activité antifongique importante.

KAZEMI & *al.* [278] ont signalé l'effet antifongique de l'huile essentielle du romarin sur la levure *Candida albicans* (ZI= 16 mm), *Fusarium oxysporum* (ZI= 16 mm) et *Aspergillus niger* (ZI= 15 mm).

LIMA & *al.* [316] ont rapporté l'activité antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* Linn. contre *Candida albicans* ATCC 76615 qui s'est montrée sensible.

Il a été signalé que l'huile essentielle de cumin, le thym et le romarin inhibe la croissance du mycélium de *Fusarium oxysporum* [132].

SANTOYO & *al.* [256], montrent que l'huile essentielle de romarin exerce un effet contre les levures (*Candida albicans*) et les moisissures (*Aspergillus niger*). L'huile essentielle de romarin présentait une activité antifongique intermédiaire contre *Candida albicans* [317].

SACCHETTI & *al.* [159] ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du romarin, les résultats ont montré que la plupart de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée contre les cinq levures examinées : *Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Yarrowia lypolitica*.

DAFERERA & *al.* [318] ont constaté que les huiles de lavande et de romarin ont inhibé la croissance mycélienne de champignons *Botrytis cinerea* et *Fusarium sp.*

Il existe plusieurs études pour révéler le potentiel des huiles essentielles comme agents antifongiques [257, 319, 320].

Les huiles essentielles sont connues pour leur large spectre d'activité antimicrobienne contre les agents pathogènes des plantes. De nombreux extraits et huiles essentielles de plantes ont été signalés à être efficaces contre les champignons [320, 321].

SUPPAKUL & *al.* [322] ont suggéré que l'activité antifongique des huiles essentielles, peut se faire selon deux mécanismes différents : certaines constituants provoquent la fuite des électrolytes et l'épuisement des acides aminés et des sucres, d'autres peuvent être insérés dans les lipides membranaires, par conséquent il y a perte des fonctions membranaires.

En outre, l'activité antifongique des huiles essentielles pourrait également être liée à l'interférence des composants de l'huile essentielle dans des réactions enzymatiques de la synthèse de la paroi cellulaire, qui affecte la croissance fongique [302].

L'action antifongique des huiles essentielles vis-à-vis *Candida albicans* est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie d'une rupture de celle-ci entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [323].

En général, les résultats obtenus avec les différentes concentrations des échantillons étudiés révèlent que l'activité inhibitrice croît au fur et à mesure que la concentration augmente [324].

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les huiles essentielles exercent leur activité antimicrobienne. La composition complexe des huiles essentielles tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés [305].

Plusieurs composants des huiles essentielles semblent contribuer à l'activité antimicrobienne et il n'y a pas de composant majeur seul responsable de cette propriété [325]. Cela peut être dû en partie au fait que les huiles essentielles contenaient des composés oxygénés et plus de ces classes de composés ont été prouvés pour posséder de fortes activités antimicrobiennes [326].

L'activité antimicrobienne de l'armoise blanche est attribuée à la présence de camphre, 1,8-cinéole et thujone. En outre, d'autres composants mineurs tels que le bornéol a été également démontré qu'il avait un potentiel antimicrobien [23, 324].

SANTOYO & *al.* [256] ont attribué la propriété antimicrobienne de l'huile essentielle de romarin à la présence d' α -pinène, le 1,8-cinéole, le camphre et le bornéol. WEERAKKODY & *al.* [327] ont indiqué que le clou de girofle, la cannelle, l'origan, le romarin et l'aneth ont une forte activité antimicrobienne. Ils ont ajouté que leurs huiles essentielles qui contiennent des composés chimiques tels que le carvacrol, cinnamaldhyde, l'eugénol et le camphre qui sont identifiés comme les principaux composants chimiques responsables pour exercer une activité antimicrobienne.

Plusieurs auteurs TROMBETTA & *al.* [328] et SATRANI & *al.* [329] ont montré que les huiles essentielles riches en dérivés phénoliques comme le carvacrol possèdent une forte activité antifongique et antibactérienne.

Sous l'action des monoterpènes testés par PINA-VAZ & *al.* [330], les cellules ont montré une perte rapide de potassium, une lyse des sphéroblastes des levures avec une altération sévère de la membrane cellulaire et une solubilisation de la membrane observée par le microscope électronique. Un tel effet est en accord avec la nature biochimique des terpènes testés qui, probablement, agissent comme des solvants de la membrane cellulaire.

Les travaux de TEPE & *al.* [331] montrent que la présence de l' α -pinène, le β -pinène et le limonène inhibent l'activité respiratoire chez la mitochondrie de la levure.

En effet, les résultats obtenus par différents travaux des auteurs peuvent être attribués à la nature même de la composition chimique de l'huile [126, 332, 333].

Selon OUSSALAH & *al.* [334], l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, aldéhydes) et les effets synergiques entre les composants. Ainsi les composés chimiques les plus efficaces et qui possèdent un large spectre d'action antimicrobienne sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, menthol, géraniol, linalol), les aldéhydes (géraniol, citral et néral), les cétones (carvone, pulégone et camphre). La charge du disque influe aussi l'activité antimicrobienne [119, 289, 332-334].

De même, OKOH, & *al.* [335], HOSNI & *al.* [336] ont constaté que la méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne influe aussi sur les résultats obtenus.

Du fait de la variabilité quantitative et qualitative des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire [256, 303, 337].

3.7. Effet antioxydant :

L'effet antioxydant exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Le DPPH présente une coloration violette sombre mais lorsqu'il est piégé par des substances antioxydantes sa couleur vire vers le jaune pâle (Figure 3.8 dans l'Appendice A), le virage vers cette coloration et l'intensité de la coloration de la couleur de la forme libre en solution dépend de la nature, la concentration et la puissance de la substance antiradicalaire [165].

- **Pourcentage d'inhibition :**

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes ayant une allure exponentielle avec présence d'une phase stationnaire qui signifie la réduction presque totale du DPPH \cdot en sa forme non radicalaire.

La détermination des pourcentages d'inhibition en fonction des concentrations utilisées (Figures 3.9 et 3.10) ainsi la valeur d'EC₅₀ de chaque échantillon sont obtenues à partir de ces courbes.

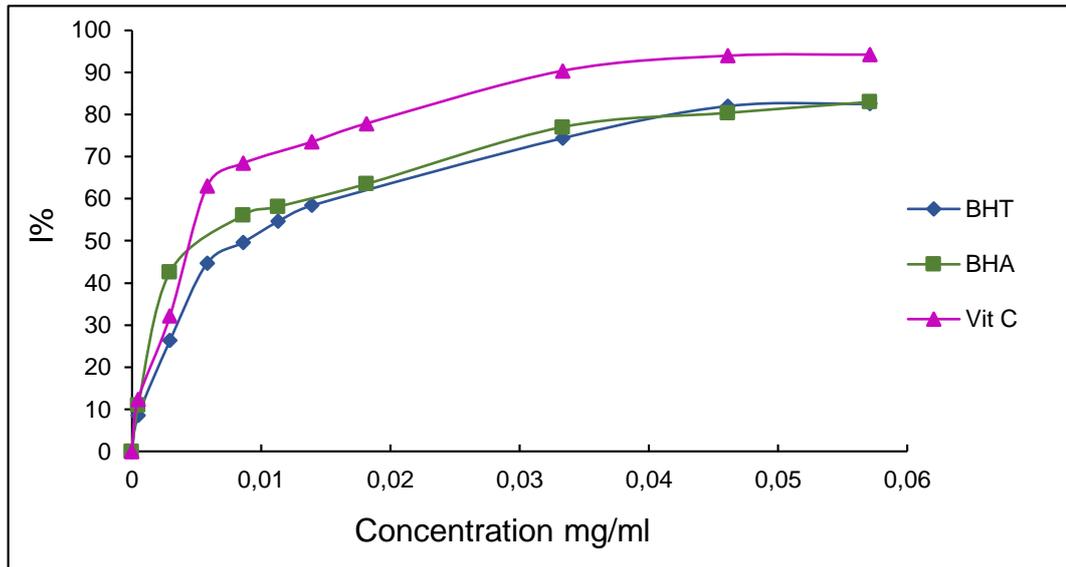


Figure 3.9 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par les standards.

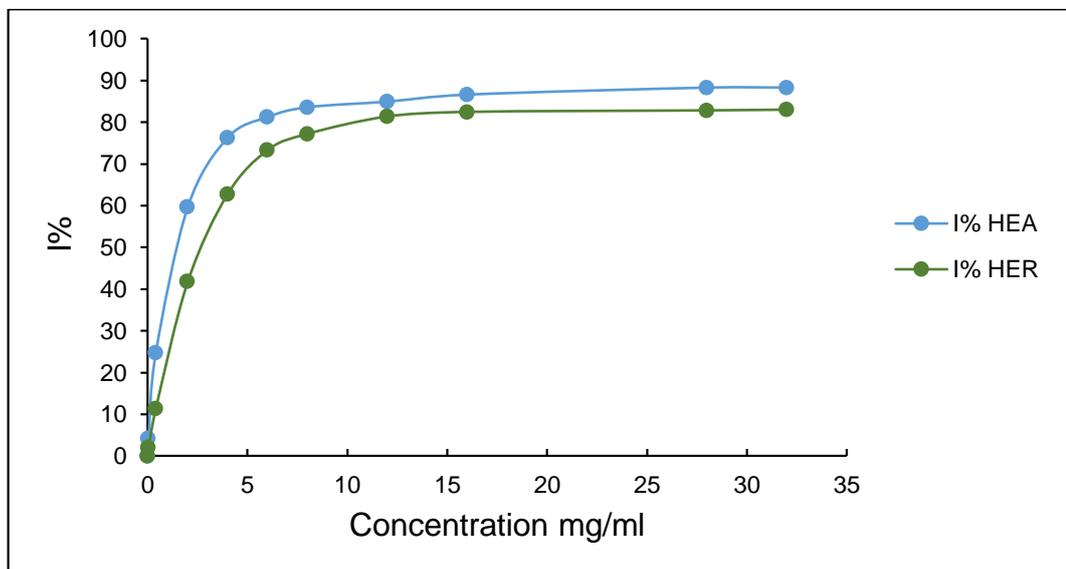


Figure 3.10 : Pourcentage d'inhibition de DPPH par les huiles essentielles testées.

D'après les résultats obtenus, l'évolution de l'activité antiradicalaire est dose-dépendante, car elle augmente avec l'augmentation des concentrations des huiles essentielles dans le milieu réactionnel.

Le pourcentage d'inhibition augmente graduellement ou progressivement avec la concentration jusqu'à arriver à un plateau qui correspond à l'enrayement presque total du DPPH• présent dans le milieu.

L'huile essentielle d'armoise blanche semble avoir une activité antioxydante meilleure que celle du romarin. Pour une concentration de 32 mg/ml, l'huile essentielle d'armoise blanche a révélé un pourcentage d'inhibition de $88,25 \pm 0,06\%$ tandis que celle de romarin est inhibée avec $82,97 \pm 0,05\%$ de DPPH.

Dans la présente étude, l'huile essentielle d'armoise blanche a montré une activité antiradicalaire supérieure à celle du romarin et inférieure à celle de la Vit C.

Selon CONFORTI *et al.* [338], l'effet antiradicalaire de l'huile essentielle d'armoise blanche sur le DPPH• est dû à sa capacité donatrice d'un atome d'hydrogène par rapport au romarin.

- **Détermination de la valeur EC₅₀ :**

L'EC₅₀ est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Les valeurs d'EC₅₀ sont déterminées graphiquement, un exemple de calcul est schématisé dans la figure 3.11.

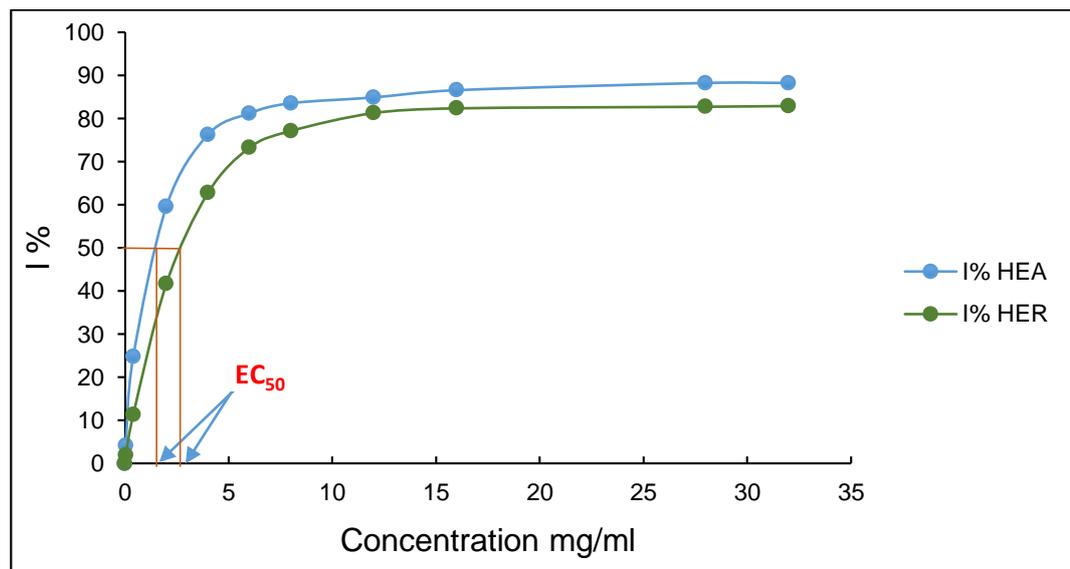


Figure 3.11 : Détermination graphique d'EC₅₀.

Les valeurs des EC₅₀ trouvées pour tous les échantillons testés sont représentées dans les figures 3.12 et 3.13.

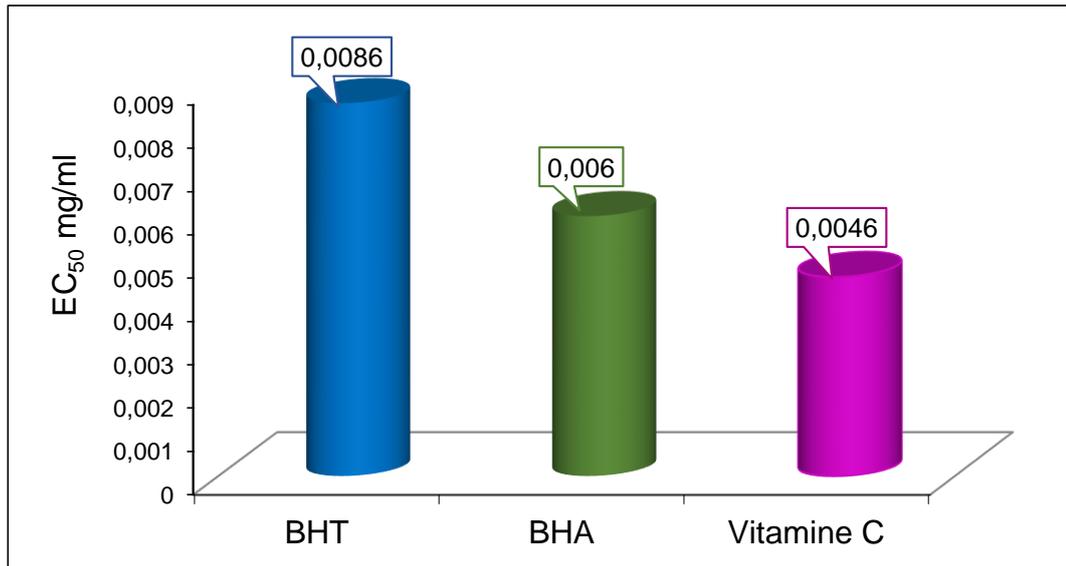


Figure 3.12 : EC₅₀ des antioxydants standards.

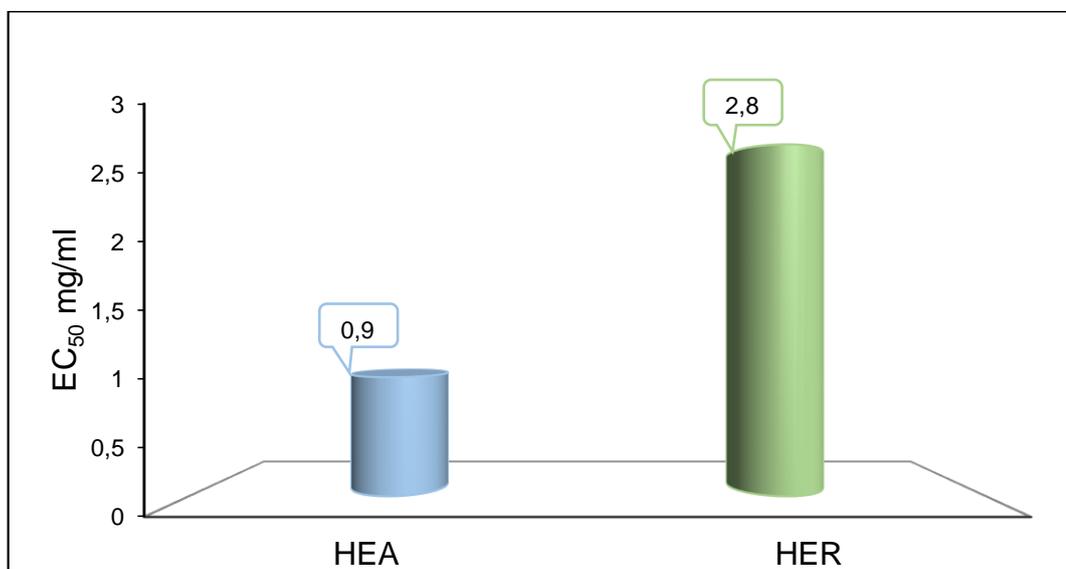


Figure 3.13 : EC₅₀ des huiles essentielles étudiées.

D'après les résultats, le potentiel antiradicalaire des huiles essentielles testées est inférieur à celui des antioxydants standards utilisés (BHT, BHA et Vit C).

Un fort pouvoir antiradicalaire est noté pour la Vit C avec une EC₅₀ assez basse égale à $0,0046 \pm 0,0007$ mg/ml. En comparaison avec la Vit C, l'huile essentielle d'armoise blanche est plus active avec une EC₅₀ égale à $0,97 \pm 0,02$ mg/ml par rapport à l'huile essentielle du romarin qui est moins active avec une EC₅₀ de $2,84 \pm 0,05$ mg/ml.

Plus la valeur de l'EC₅₀ est faible, plus l'activité antioxydante d'un composé est appréciable.

Les tests au DPPH• fournis dans la littérature sont basés sur le même principe que celui décrit par BRAND & *al.* [177], mais les protocoles analytiques diffèrent dans plusieurs paramètres [169, 161]. Toutefois il est important de noter que l'utilisation de différents protocoles de mesure et de différents indices d'évaluation de l'activité antioxydante réduit la fiabilité d'une comparaison des valeurs [161].

SHARIFIFAR & *al.* [173] et AKROUT & *al.* [239] ont attribué cette différence dans les valeurs de l'EC₅₀ à plusieurs facteurs:

- La composition chimique de l'huile essentielle.
- Le protocole expérimental utilisé comprenait :
 - * Le rapport entre la quantité de l'huile essentielle et la quantité de la solution DPPH utilisée dans le mélange,
 - * La concentration de la solution DPPH,
 - * Le temps d'incubation,
 - * La façon d'exprimer l'unité de EC₅₀,

Ces facteurs rendent la comparaison directe des valeurs d'EC₅₀ rapportés dans divers travaux n'est pas fiable. En effet, même pour les antioxydants de synthèse utilisés, tels que le BHT et la Vit C, les valeurs de l'EC₅₀ rapportées sont différents selon le protocole expérimental utilisé.

- **Cinétique de la réaction :**

La cinétique de réduction du radical libre DPPH obtenue pour la EC₅₀ des huiles essentielles testées est indiquée dans la figure 3.14.

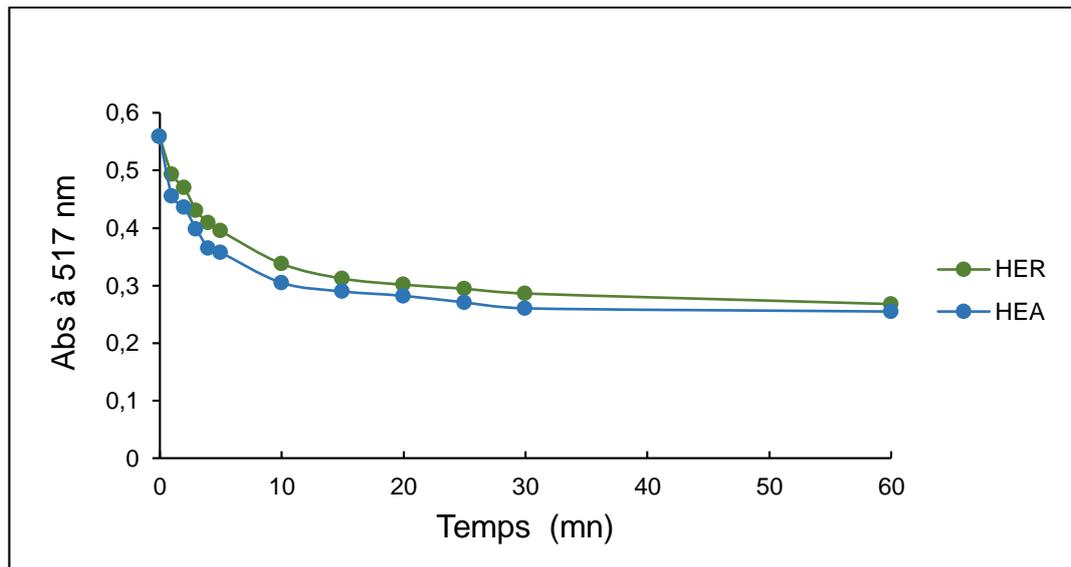


Figure 3.14 : Cinétique de réduction du radical libre DPPH obtenue pour l'EC₅₀ des huiles essentielles testées.

Pour les deux échantillons examinés, la réaction est biphasée, avec une baisse rapide dans l'absorbance dans les premières minutes, suivies d'une étape plus lente, jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. On distingue deux zones :

- Zone à forte cinétique de piégeage du radical observée au bout des dix premières minutes pour l'huile essentielle d'armoise blanche et au bout de 15 min pour l'huile essentielle du romarin.
- Zone à faible cinétique de piégeage du radical DPPH ou zone de tendance vers l'équilibre constatée.

Lorsque la réaction entre le DPPH et la Vit C donneuse d'hydrogène s'effectue, on constate que la réaction atteint un équilibre au bout d'un temps court (2 min) par rapport aux huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* Asso. et *Rosmarinus officinalis* L. qui nécessite un temps prolongé de 10 min à 15 min.

L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH[•], l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène.

D'après, POPOVICI & *al.* [161] le piégeage des radicaux libres par des antioxydants est tributaire de deux types de mécanismes :

- La libération de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle (cinétique rapide).
- La libération d'un électron (cinétique lente).

BARKAT & LAIB [170] et VILLANO & *al.* [176] ont expliqué la réaction de piégeage des radicaux libres, par la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle de carvacrol présent dans l'huile essentielle de l'armoise blanche. En présence d'un radical libre DPPH·, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène.

- **Détermination de TEC_{50} :**

Nous avons choisi l'état d'équilibre comme période de mesure où il s'avère que la réaction ne progresse pas plus loin. Le temps à l'état d'équilibre dépend de la réactivité des antioxydants (Figure 3.15).

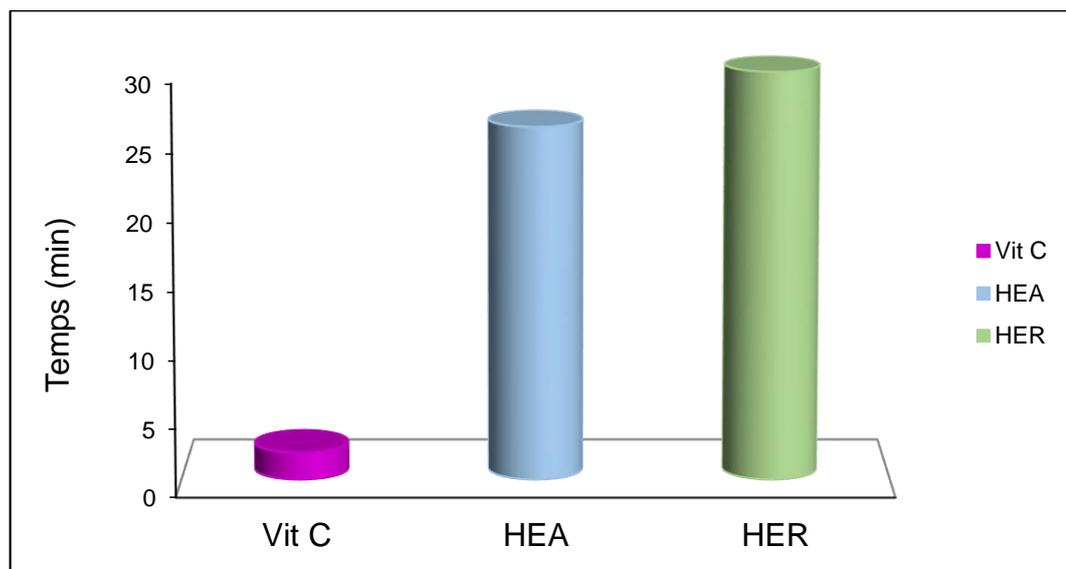


Figure 3.15 : Valeurs de TEC_{50} .

Les résultats obtenus et l'estimation de la TEC_{50} donnée par SCHERER & GODOY [175] et POPOVICI & *al.* [161], montrent que les antioxydants synthétiques (BHT, BHA et Vit C) réagissent d'une façon plus rapide avec le DPPH•. Ils ont besoin seulement de 3 ± 1 min, 3 ± 1 min et 2 ± 1 min pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Alors que les huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin réagissent d'une façon intermédiaire à lente avec un TEC_{50} de 26 ± 1 min et 30 ± 1 min respectivement.

Pour caractériser l'efficacité de ces antioxydants, on calcule l'EA (paramètre d'efficacité antiradicalaire).

- **Paramètre d'efficacité antiradicalaire :**

Un nouveau paramètre a été défini, l'efficacité antioxydante, qui combine les deux paramètres (EC_{50} et TEC_{50}) afin de caractériser facilement le comportement d'une substance en tant qu'antioxydant.

Les paramètres de calcul de l'activité antioxydante sont mentionnés dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10 : Paramètres de calcul de l'activité antioxydante.

Echantillons	EC_{50} (mg/ml)	TEC_{50} (min)	AE (ml/mg*min)
BHT	$0,0086 \pm 0,0009$	3 ± 1	$348,83 \pm 0,1$
BHA	$0,006 \pm 0,001$	3 ± 1	$500,00 \pm 1$
Vit C	$0,0046 \pm 0,007$	2 ± 1	$108,69 \pm 0,08$
HEA	$0,97 \pm 0,02$	26 ± 1	$0,0396 \pm 0,0061$
HER	$2,84 \pm 0,05$	30 ± 1	$0,0117 \pm 0,0001$

Selon la classification proposée par POPOVICI & *al.* [161], l'activité antiradicalaire est élevée pour l'huile essentielle du romarin et très élevée pour l'huile essentielle d'armoise blanche et les antioxydants synthétiques testées.

En comparant les résultats obtenus, l'activité antioxydante est classée suivant l'ordre :

Vitamine C > BHA > BHT > HEA > HER.

Nos résultats rejoignent ceux de GACHKAR & *al.* [118] qui attestent que l'huile essentielle du romarin est moins performante par rapport aux antioxydants standards. WANG & *al.* [341] ont constaté quant à eux l'efficacité antiradicalaire de celle-ci avec un taux d'inhibition de $62,45 \pm 3,42\%$, (cette valeur reste tout de même inférieure à celle de la Vit C qui est de $86,93 \pm 3,21\%$). Ces derniers résultats, rejoignent ceux de KADRI & *al.* [342] qui ont trouvé une EC_{50} égal à $110,20 \mu\text{g/ml}$, ce qui est trois fois supérieur à celui du BHT, l'antioxydant synthétique dont l' EC_{50} est de $40,5 \mu\text{g/ml}$.

Les travaux de MARTINS & *al.* [343] rapportent l'importance des huiles essentielles comme des antioxydants naturels.

De nombreuses recherches ont montré une corrélation positive entre les activités antiradicalaires et les composés phénoliques [344, 345].

De même, La faible activité antioxydante de l'huile essentielle du romarin comparativement à d'autres huiles connus par leur activité antioxydante importante tels que les huiles essentielles d'argan, le thym et le girofle, est due à l'absence des composés phénoliques tels que le thymol, le carvacrol et l'eugénol [239, 339, 346].

Selon KADRI & *al.* [21], OKOH & *al.* [347], ERDOGAN-ORHAN & *al.* [348] et GHEDADBA & *al.* [349] les monoterpènes oxygénés et le mélange de monoterpènes et des sesquiterpènes hydrocarbures sont principalement responsables du potentiel antioxydant des huiles essentielles par leur capacité d'agir comme donateurs d'atomes d'hydrogènes ou d'électrons, d'où la transformation réductive de DPPH• en DPPH-H, et par conséquent la formation de la coloration jaune.

La capacité de balayage de radical libre DPPH par l'huile essentielle d'armoise blanche et du romarin peut être attribuée à la présence de certains composants qui ont une activité anti-oxydante, par exemple, 1,8-cinéole, α -pinène, β -pinène, camphre, α -thujone et β -thujone [257, 342, 350]

Dans une étude antérieure, GACHKAR & *al.* [118] ont démontré que les huiles avec une prédominance monoterpénique ont montré une activité antioxydante assez modeste.

En revanche, les travaux de TEPE & *al.* [351] ont montré une grande activité antioxydante des huiles essentielles contenant des monoterpènes et/ou des sesquiterpènes oxygénés. Ainsi une corrélation existe entre l'activité antioxydante des essences et la teneur des monoterpènes oxygénés [352].

KADRI & *al.* [21] et BOZIN & *al.* [257] ont signalé que la forte activité de l'huile essentielle de l'armoise blanche est essentiellement accordée à la présence en grande teneurs de monoterpènes oxygénés et des mélanges de monoterpènes et/ou des sesquiterpènes hydrocarbonés.

Les monoterpènes oxygénés, probablement les monoterpènes cétones (camphre) peuvent avoir la plus grande contribution à la capacité antioxydante des huiles essentielles de romarin [353].

L'activité antioxydante peut être due à différents mécanismes, dont parmi la prévention de l'initiation de l'altération des chaînes, la décomposition des peroxydes, l'abstraction continue d'hydrogène et la capacité réductrice [346].

Les composés phénoliques et terpéniques contenus dans les huiles essentielles sont associés avec leur activité antioxydante, principalement en raison de leurs propriétés redox exercées par différents mécanismes : piégeage du radical libre, des donneurs d'hydrogène ou d'électrons, chélation des métaux de transition [354].

L'activité antioxydante de l'huile essentielle est censée être principalement en raison de leurs propriétés redox, qui jouent un rôle important dans l'adsorption et la neutralisation des radicaux libres ou en décomposition des peroxydes [354].

Les résultats obtenus concernant l'activité antioxydante des huiles essentielles des deux plantes étudiées évaluée *in vitro* par de DPPH, il ressort que les deux huiles essentielles testées possédaient des propriétés de piégeage de radicaux libres, avec l'huile essentielle de l'armoise étant plus efficace que celle de romarin, ce qui est confirmé par AOUADI & *al.* [355].

Cela peut être expliqué par la présence de carvacrol même à faible concentration dans l'huile essentielle de l'armoise blanche, Il semble qu'il y avait une très forte corrélation positive entre l'activité antioxydante des huiles et leur contenu du carvacrol, Ces résultats sont cohérents avec l'étroite relation entre la teneur en carvacrol et le potentiel antioxydant élevé rapporté par de nombreux auteurs [331, 339, 356, 357].

Dans cette étude, l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso. et de *Rosmarinus officinalis* L. ont montré une activité antioxydante modérée dans le test de piégeage de radical libre DPPH.

Les différences trouvées dans les études de l'activité antioxydante peuvent être en rapport avec la méthode utilisée pour extraire les composés antioxydants, la méthode d'évaluation et la nature hydrosoluble ou liposoluble de l'antioxydant [118, 339, 349].

L'activité antioxydante peut varier aussi, selon la composition chimique des huiles essentielles [214, 354].

JORDAN & al. [225] ont étudié l'effet de stades phénologiques sur la composition chimique et l'activité antioxydante de l'huile essentielle du romarin.

Selon WANG & al. [358], il est très difficile d'attribuer les activités biologiques (activité antioxydante) d'une huile essentielle totale à un ou quelques composés actifs, car une huile essentielle contient toujours un mélange de différents composés chimiques. En Outre, les composés majeurs, également les composés mineurs peuvent apporter une contribution significative à l'activité de l'huile [299].

De même, POPOVICI & al. [161], BARKAT & LAIB [170] ont montré que ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des huiles essentielles qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis à-vis des radicaux libres.

La comparaison in vitro de l'activité antioxydante d'huile essentielle du romarin avec celles de ses principaux composants (1,8-cinéole, α -pinène et β -pinène) au moyen de l'essai au DPPH et l'essai de blanchissement du β -carotène, a montré

que l'huile essentielle était plus active que ses composants dans les deux modèles d'essai [358].

D'après MOLYNEUX [166], Bouzid & al. [359] plusieurs facteurs influencent le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, notamment les conditions de la réaction (temps, rapport antioxydant/DPPH*, type de solvant et le pH) et le profil phénolique en particulier.

3.8. Effet toxicologique :

Les résultats du taux de mortalité des souris en fonction des différentes doses des huiles essentielles d'armoise blanche et de romarin sont donnés dans le tableau 3.11 et 3.12.

Tableau 3.11 : Effet des doses d'huile essentielle d'armoise blanche sur le taux de mortalité des souris.

Dose (g /Kg)	<i>Artemisia herba-alba</i> Asso.					
	2	3	4	6	8	9
Nombre d'animaux par lot	6	6	6	6	6	6
Nombre de mortalité	1	1	3	3	5	6
% de mortalité	16,6	33,3	50	50	83,3	100

Tableau 3.12 : Effet des doses d'huile essentielle de romarin sur le taux de mortalité des souris.

Dose (g /Kg)	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.					
	3	4	6	8	9	10
Nombre d'animaux par lot	6	6	6	6	6	6
Nombre de mortalité	1	2	3	5	5	6
% de mortalité	16,6	33,3	50	83,3	83,3	100

Après administration unique de différentes doses des huiles essentielles d'armoise blanche et de romarin à des souris par voie orale, des cas de mortalité sont observés à partir d'une dose de 2 g/kg pour l'huile essentielle d'armoise blanche et 3 g/kg pour l'huile essentielle du romarin.

La dose des huiles essentielles causant une mortalité expérimentale de 50 ± 00 % de la population (Figure 3.16) correspond à 4 g/kg et 6 g/kg d'huile essentielle d'armoise blanche et à 6 g/kg d'huile essentielle du romarin.



Figure 3.16 : Taux de mortalité après administration des huiles essentielles à la dose 8 g/kg.

La dose létale médiane (DL_{50}) calculée en utilisant la méthode de BEHRENS et KARBEN [184] est de 5,5 g/kg d'huile essentielle d'armoise blanche et de 6 g/kg d'huile essentielle du romarin. Ces résultats de l'étude de toxicité orale aiguë ont indiqué que la DL_{50} est supérieure à 5000 mg/kg. Selon l'OCDE 425 [185] :

Les substances avec des valeurs de la DL_{50} supérieure à 5000 mg/kg de poids corporel sont considérés présenter une faible toxicité. Dans nos conditions expérimentales, ces valeurs sont supérieures à celles trouvées par RACHAD & *al.* [360] qui est de l'ordre de 897,85 mg/kg de poids corporel chez les souris confirmant une faible toxicité de l'huile essentielle du romarin à cinéole. De même, LUCIMARA & *al.* [361] ont déterminé la dose létale médiane d'huile du romarin à cinéole supérieure à la dose de 2,0 g/kg.

Cependant, la DL_{50} de l'huile essentielle d'armoise blanche est supérieure à celle trouvée par TISSERAND & YOUNG [183] où la DL_{50} d'huile d'armoise blanche à thujone est de 370 mg/kg de poids corporel chez les souris

La toxicité des cétones terpéniques était connue depuis le début du siècle : elle se manifeste par effet cumulatif. Des études ont montré que les cétones monoterpéniques telles que : thujone et le camphre sont des toxiques de système nerveux central et induisent des crises épileptiques, des troubles psychiques et de décès chez le jeune enfant. D'autres monoterpène et composés aromatiques sont également toxiques à forte dose notamment le menthol et le 1,8-cinéole [52, 362, 363].

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires qui ont une toxicité par voie orale faible ou très faible. La majorité de celles qui sont couramment utilisées ont une DL_{50} comprise entre 2 et 5 g/kg (anis, l'eucalyptus et girofle) ou, ce qui est le plus fréquent, supérieures à 5 g/kg (camomille lavande) [52].

Les mêmes observations peuvent être faites pour les constituants des huiles essentielles. En effet, rares ceux sont qui ont une $DL_{50} < 2$ g/kg (camphre : 1,47 g/kg et thujone : 0,2 g/kg). Ces données, testées chez l'animal, ne fournissent que des indications relatives. Les observations cliniques chez l'homme montrent que des intoxications aiguës sont possibles, même lorsque la DL_{50} est élevée [52].

La DL_{50} est soumise à de multiples facteurs de variation : certains sont liés à l'espèce, l'âge, le sexe, le poids, la pathologie spontanée et l'alimentation de l'animal, d'autres sont liés aux conditions expérimentales comme la voie d'administration, la concentration de la substance, la vitesse d'injection, la température ambiante, les conditions d'hébergement des animaux, l'éclairage, le stress et l'heure de l'administration. Il est donc difficile de pouvoir déterminer une DL_{50} exacte sans respecter les conditions précises expérimentales [364].

CONCLUSION

La flore Algérienne est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes utilisées en médecine traditionnelle. Parmi elles, deux plantes ont fait l'objet de notre étude phytochimique et des effets biologiques.

Au terme de ce travail, les huiles essentielles extraites des feuilles séchées d'armoise blanche (*Artemisia herba-alba* Asso.) et du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) de la région de M'sila ont des rendements acceptables et peuvent être rentables à l'échelle industrielle. Ils sont de l'ordre de $0,7 \pm 0,20\%$ et $1,4 \pm 0,41\%$, respectivement pour l'armoise blanche et le romarin.

L'identification par CPG/MS a permis de déterminer les composants majoritaires de ces huiles essentielles. Les composants prédominants de l'huile essentielle d'armoise blanche sont le camphre (34,5%), caryophyllène (14,7%), 1,8-cinéole (9,2%), camphène (8,3%), α -thujone (7,3%) et le bornéol (4,7%). Cependant, l'huile essentielle du romarin a été caractérisée comme ayant un important contenu de camphre (44,16%) suivi par le 1,8-cinéole (16,15%), l' α -pinène (14,12%) et le camphène (6,83%).

Le contrôle physico-chimique des différents paramètres à savoir : l'indice de réfraction, l'indice d'acide, la densité relative et le pouvoir rotatoire a montré que les huiles essentielles répondent aux normes internationales.

L'activité antimicrobienne a été étudiée vis-à-vis de six souches microbiennes: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, et *Candida albicans* qui se sont révélées sensibles aux huiles essentielles à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est montrée plus résistante.

Les huiles essentielles testées sur des champignons de plantes à savoir : *Aspergillus niger* et *Fusarium oxysporum* montrent une bonne activité biopesticide.

L'activité antioxydante a été évaluée par le test de piégeage du radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). Les résultats montrent que les huiles essentielles testées ont une faible activité antioxydante comparées aux antioxydants standards : butylhydroxytoluène (BHT), butylhydroxyanisole (BHA) et vitamine C.

L'étude toxicologique sur des souris *Mus musculus* a montré que les huiles essentielles étudiées sont faiblement toxiques.

Les composés majoritaires identifiés des huiles essentielles présentent plusieurs activités biologiques intéressantes. Cependant, il faut signaler que les activités biologiques d'une huile essentielle ne sont pas seulement dues aux composés majoritaires mais à l'ensemble des composés contenus dans cette huile.

Ce travail mérite d'être approfondi afin de révéler d'éventuelles propriétés thérapeutiques des huiles essentielles d'armoise blanche et du romarin de la région de M'sila.

Perspectives :

- Il ressort du présent travail que l'*Artemisia herba-alba* Asso. et *Rosmarinus officinalis* L. de la région de M'sila sont des plantes très intéressantes et riches en composés secondaires.
- Connaissant la toxicité de ces huiles essentielles par voie orale, des essais complémentaires par des tests de toxicité cutanée et des tests d'allergénicité doivent être entrepris.
- Les résultats obtenus ouvrent des perspectives d'horizon qui nous permettront d'identifier séparément les molécules impliquées dans l'effet antimicrobien, biopesticide et antioxydant.
- Etudier les mécanismes moléculaires intervenant dans les effets pharmacologiques observés.

- Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires des activités biologiques des plantes (composés polyphénoliques et flavonoïdes) en général.
- Ouvrir des pistes dans la compréhension de la relation structure-activité en particulier, afin de déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques et de montrer aussi leur importance et la possibilité de leur exploitation dans certains domaines : pharmaceutique, cosmétique, insecticide et alimentaire.

APPENDICE A

LISTE DES FIGURES



Figure 2.3 : Zone de récolte de l'armoise blanche de M'sila.



Figure 2.4 : Zone de récolte du romarin de M'sila.

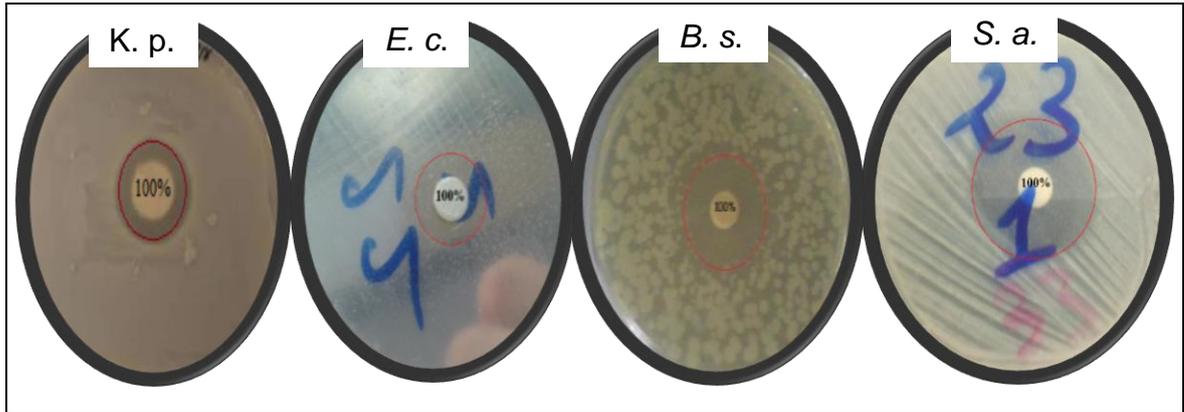


Figure 3.8 : Résultats de l'effet antibactérien de l'huile essentielle du romarin.

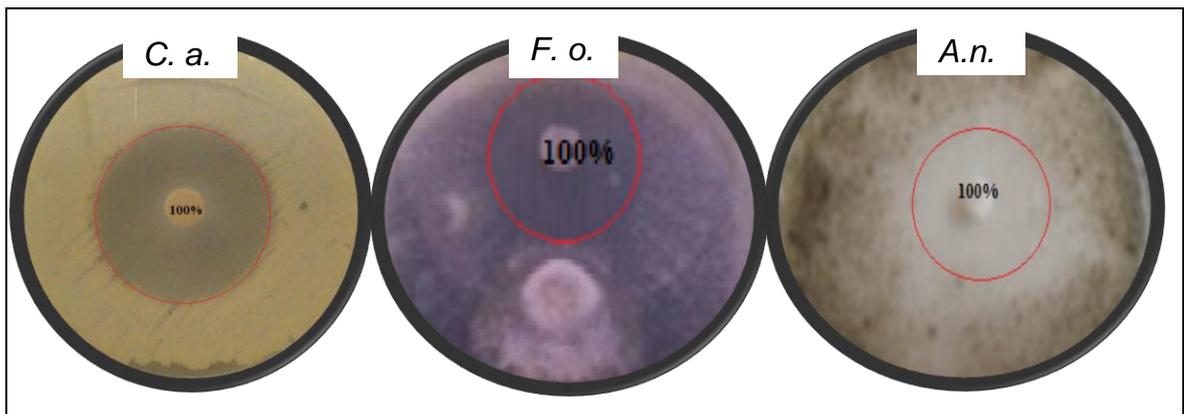


Figure 3.9 : Résultats de l'effet antifongique de l'huile essentielle d'armoise.



Figure 3.10 : Virage de la couleur en présence de DPPH.

APPENDICE B

MATERIEL NON BIOLOGIQUE

VERRERIES	APPAREILS	REACTIFS
Bocaux.	Broyeur.	Mg So ₄ .
Capsules.	Balance analytique.	NaCl.
Ballon.	Etuve.	NaOH (0,1 M).
Flacons.	Dessiccateur.	Ethanol.
Entonnoir.	Clevenger.	Ether.
Flacons teintés.	Chauffe ballon.	Phénolphtaléine.
Béchers.	Réfractomètre.	H ₂ O ₂ .
Burette.	Pycnomètre.	DMSO.
Tubes à essai.	Balance hydrostatique.	DPPH.
Boites de pétri.	Polarimètre.	BHA.
Seringue.	CPG/MS.	BHT.
	Spectrophotomètre (UV-visible).	Vitamine C.

APPENDICE C
ETUDES STATISTIQUES

Calcul de la moyenne :

$$\bar{X} = 1/n \sum_1^n x_i$$

n : Nombre de répétitions.

x_i : Valeurs observées.

Calcul de l'écart type :

$$S = \sqrt{1/n - 1 \sum_i^n (x_i - \bar{X})^2}$$

APPENDICE D

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

A. f. : *Aspergillus flavus*.

AAR : Activité antioxydante relative.

Abs : Absorbance.

AER : Activité antiradicalaire.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

APR : Pouvoir antiradicalaire.

ATCC : American Type Culture Collection.

ATP : adénosine-5'-triphosphate.

B. s. : *Bacillus subtilis*.

BHA : Butylhydroxyanisole.

BHT : Butylhydroxytoluène.

C. a. : *Candida albicans*.

CFU : Unité Formant des Colonies.

CPG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse.

DL₅₀ : Dose létale médiane.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

E. c. : *Escherichia coli*.

EC₅₀ : Concentration requise pour diminuer la concentration du DPPH de 50%.

ev : électro volt.

F. o. : Fusarium oxysporum.

g : gramme.

h : heure.

HE : Huile essentielle.

HEA : Huile essentielle d'armoise blanche.

HER : Huile essentielle du romarin.

IK : Indice de Kovats.

ISO : Organisation Internationale de Normalisation.

K. p. : Klebsiella pneumonia.

m : mètre.

M : Molaire.

Moy. max : Moyenne des températures maximales.

Moy. min : Moyenne des températures minimales.

mg : milligramme.

min : minute.

ml : millilitre.

mm : millimètre.

nm : nano mètre.

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economiques.

P. a. : Pseudomonas aeruginosa.

p/v : poids par volume.

PDA: Potato Dextrose Agar.

RDT : Rendement.

S. a. : Staphylococcus aureus.

t : temps.

t_0 : temps initial.

TEC₅₀ : Temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à EC₅₀.

TR : Temps de rétention.

v/v : volume par volume.

Vit C : Vitamine C.

ZI : Zone d'Inhibition.

α : Alpha.

β : Béta.

γ : Gama.

% : pourcentage.

- : Négatif.

+ : Positif.

\pm : Plus au moins.

< : Inferieur.

> : Supérieur.

°C : degré Celsius.

μ l : microlitre.

μ m : micromètre.

APPENDICE E

GLOSSAIRE

Akène : Un fruit sec indéhiscent, à graine unique.

Analgésique : Supprime la douleur.

Antibactérien : Inhibe et détruit les bactéries.

Antidiabétique : Protège contre le diabète.

Antifongique : Actif contre les champignons et les levures.

Anti-inflammatoire : Qui combat les inflammations.

Antimicrobien : Inhibe et détruit les microbes.

Antimutagène : S'oppose aux substances susceptibles d'introduire des mutations.

Antioxydant : Permet aux aliments de résister à l'oxydation et à une détérioration graduelle.

Antiparasitaire : Qui détruit les parasites.

Antiproliférative : Empêche la prolifération d'un phénomène.

Antiseptique : Détruit les microbes et empêche leur développement.

Antispasmodique : Fait baisser la tension et soulage les spasmes musculaires.

Anti-tumorigène : S'oppose aux cellules susceptibles de dégénérer en tumeurs

Antivirale : Qui perturbe le cycle de réplication d'un ou de plusieurs virus, permettant ainsi de ralentir mais rarement d'arrêter une infection virale.

Arthrite : Désigne l'inflammation **d'une articulation**.

Biopesticide : Pesticides biologiques qui lutte contre les organismes considérés comme nuisibles.

Capitule : Il s'agit de fleurs sans pédoncules regroupées sur un réceptacle, entourées de bractées.

Carminatif : Facilite l'évacuation des gaz intestinaux.

Caustique : Il signifie qui est brûlant, corrosif en parlant des substances qui ont la propriété de brûler ou de désorganiser, par leur action chimique, les matières animales.

Cholagogue : Une substance qui facilite l'évacuation de la bile vers l'intestin

Cholérétique : Une substance qui favorise la cholérèse, c'est-à-dire la production de bile par le foie.

Cytotoxique : Qui a la propriété d'altérer des cellules, éventuellement jusqu'à les détruire.

Digestif : Remède concourant à la digestion.

Diurétique : Stimule la production d'urines.

Hémostatique : Qui a la propriété d'arrêter les hémorragies.

Hépatoprotecteur : Qui protège le foie.

Hépatotoxique : Nocif pour le foie.

Hypertension : Une pathologie cardiovasculaire définie par une pression artérielle trop élevée.

Insecticide : Qui a la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs.

Labyrinthite : (Otite interne) est une affection d'équilibre suite à une infection ou inflammation de l'oreille interne

Neurotoxique : Qui agit habituellement en perturbant ou en paralysant l'influx nerveux.

Névralgie : Définit la présence de douleurs sur le trajet d'un nerf.

polyarthrite rhumatoïde : Une maladie dégénérative inflammatoire chronique, caractérisée par une atteinte articulaire souvent bilatérale et symétrique.

Pubescente : Se dit des plantes garnies de poils très fins et courts.

Stomachique : Soulage des maux d'estomac ou facilite la digestion.

Sudorifique : Qui provoque la sueur (provoque la transpiration).

Tonique : Purifie, rafraîchit et « tonifie » la peau.

Vermifuge : Se dit d'un remède qui a la propriété d'expulser les vers intestinaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dellile L., "Les plantes médicinales d'Algérie", BERTI, (2007), 5.
2. Catier O. & Roux D., "Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Cahier du préparateur en pharmacie", Wolters Kluwe, 3^{ème} Edition, (2007), 13.
3. Haddouchi F. & Benmansour A., "Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques", Les technologies de laboratoire, V. 3, n°8, (2008), 20-27.
4. Roux D., Chaumont J. P., Cieur C., Millet J., Morel J. M. & Tallec D., "Conseil en aromathérapie", Pro-Officina, 2^{ème} Edition, (2008), 13-31.
5. Dung N. T., Kim J. M. & Kang S. C., "Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds", Food and Chemical Toxicology, V. 46, (2008), 3632-3639.
6. ZU Y., Yu H., Liang L., Fu Y., Efferth T., Liu X. & Wu N., "Activities of Ten Essential Oils towards *Propioni bacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 Cancer Cells Molecules", Molécules, V. 15, n°5, (2010), 3200-3210.
7. Sylvestre M., Pichette A., Longtin A., Nagau F. & Legault J., "Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe", J. Ethnopharmacol., V. 103, (2006), 99-102.
8. Sellami S., Mezrket A. & Dahmane T., "Activité nématocide de quelques huiles essentielles contre *Meloidogyne incognita*", V. 38, (2010), 195-201.
9. Teuscher E., Anton R. & Lobstein A., "Plantes aromatiques épicées, aromates, condiments et huiles essentielles", Lavoisier, Edition TEC and DOC, V. 6, (2005), 266-272.
10. Kelen M. & Tepe B., "Chemical composition, antioxydant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora", Bioresource Technology, V. 99, (2008), 4096-4104.
11. Bhattacharjee I., Chatterjee S. K., Ghosh A. & Chandra G., "Antibacterial activities of some plants extracts used in Indian traditional folk medicine", Asian Pac. J. Trop. Biomed., V. 1, n°2, (2011), 165-169.

12. Veesenmeyer J. L., Hauser A. R., Lisboa T. & Rello J., "*Pseudomonas aeruginosa* virulence and therapy: evolving translational strategies", *Crit. Care Med.*, V. 37, (2009), 1826-1827.
13. Chauhan R. S., Kitchlu S., Ram G., Kaul M. K. & Tava A., "Chemical composition of capillene chemotype of *Artemisia dracunculus* L. from North-West Himalaya, India", *Industrial Crops and Products*, V. 31, n°3, (2010), 546-549.
14. Belhattab R., Amor L., Barroso J. G., Pedro L. G. & Figueiredo A. C., "Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso. grown wild in Algeria : Variability assessment and comparison with an updated literature survey", *Arabian Journal of Chemistry*, V. 7, n°2, (2014), 243-251.
15. Paquereau J., "Au jardin des plantes de la Bible : botanique, symboles et usages", *Forêt privée française*, (2013), 416.
16. Couplan F., "Aimez vos plantes invasives : Mangez-les !", *Edition Quae*, (2015), 144.
17. Singh R. J., "Genetic Resources, Chromosome Engineering, and Crop Improvement: Medicinal Plants", *CRC Press*, V. 6, (2011), 1098.
18. Quezel P. & Santana S., "Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertique Méridionales", *Editions Centre National de la Recherche Scientifique*, Paris, Tome II, (1963), 977.
19. Duke J. A., "Duke's Handbook of Medicinal Plants of the Bible", *CRC Press*, (2007), 552.
20. Abou El-Hamd M., El-Sayed M. A., Hegazy M. E., Helaly S. E., Esmail A. M. & Mohamed N. S., "Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*", *Rec. Nat. Prod.*, V. 4, n°1, (2010), 1-25.
21. Kadri A., Ben Chobba I., Zarai Z., Békir A., Gharsallah N., Damak M. & Gdoura R., "Chemical constituents and antioxidant activity of the essential oil from aerial parts of *Artemisia herba-alba* grown in Tunisian semi-arid region", *Afr. J. Biotechnol.*, V. 10, n°15, (2011), 2923-2929.
22. Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F. & Kaloustian J., "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* issued from the district of Biskra (Algeria)", *Phytothérapie*, V. 8, n°5, (2010), 277-281.

23. Mouchem F. Z., Hellal B., Ayad N. & Ayache A., "The antibacterial effect of the sagebrush essential oil (*Artemisia herba-alba* Asso.) of Western Algeria", Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, V. 7, n°5, (2015), 1305-1309.
24. Nedjimi B. & Brahim B., "Assessment of some chemical elements in wild Shih (*Artemisia herba-alba* Asso) using INAA technique", Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, V. 2, n°4, (2015), 203-205.
25. Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M. R., Houtia H., El-Manfalouti H., Benchakroun K. H., Abarchane M., Harki L., Boukir A., Chaouch A. & Charrouf Z., "Effet de la date récolte sur le rendement et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental)", Phytothérapie, V. 8, n°5, (2010), 295-301.
26. Salido S., Valenzuela L. R., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. & Cano E., "Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain", *Biochem. Syst. Ecol.*, V. 32, n°3, (2004), 265-277.
27. Ayad N., Hellal B. & Maatoug M., "Dynamique des peuplements d'*Artemisia herba-alba* Asso. dans la steppe du Sud oranais (Algérie occidentale)", Science et changements planétaires, Sécheresse, V. 18, n°3, (2007), 193-198.
28. Cullen J., Sabina G., Knees H. & Suzanne C., "The European Garden Flora Flowering Plants: A Manual for the Identification of Plants Cultivated in Europe, Both Out-of-Doors and Under Glass", European Garden Flora, V. 5, n°2, (2011), 660.
29. Khenouf S., Iratni N., Baghiani A., Harzallah D. & Arrar L., "Antioxidant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* Asso. leaves and some phenolic compounds", Journal of Medicinal Plants Research, V. 4, n°13, (2010), 1273-1280.
30. Abdul Latief A. G., Juma'a K. A. & Al-Rawashdeh I. M., "Genetic and chemical variations among wild populations of a medicinal plant (*Artemisia herba-alba* Asso.) collected from different regions in Jordan", Journal of Food, Agriculture and Environmen, V. 10, n°3 & 4, (2012), 26-31.
31. Laid M., Hegazy M. E. F., Ahmed A. A., Kalla A., Djaballah B. & Shinji O., "Sesquiterpene lactones from Algerian *Artemisia herba alba*", Phytochemistry Let., V. 1, n°2, (2008), 85-88.

32. Akrouit A., Mighri H., Krid M., Thabet F., Turki H., El-Jani H. & Neffati M., "Chemical composition and antioxidant activity of aqueous extracts of some wild medicinal plants in southern Tunisia", *Int. J. Life Sci. Med. Sci.*, V. 2, n°1, (2012), 1-4.
33. Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z. H. & Lyoussi B., "Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province)", *J. Ethnopharmacol.*, V. 110, n°1, (2007), 105-117.
34. Houmani M., Houmani Z. & Skoula M., "Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso. dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes", *Acta Botanica Gallica* V. 151, n°2, (2004), 165-172.
35. Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. & Idrissi N. G., "*In vitro* evaluation of antileishmania activity of *Artemisia herba-alba* Asso", *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, V. 94, n°1, (2001), 29-31.
36. Neffati A., Skandrani I., Ben Sghaier M., Bouhlel I., Kilani S., Ghedira K., Neffati M., Chraief I., Hammami M. & Chekir-Ghedira L. "Chemical Composition, Mutagenic and Antimutagenic Activities of Essential Oils from (Tunisian) *Artemisia campestris* and *Artemisia herba-alba*", *J. Essenl. Oil Res.*, V. 20, n°5, (2008), 471-477.
37. Mighri H., Hajlaoui H., Akrouit A., Najjaa H. & Neffati M., "Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone", *Comptes Rendus Chimie*, V. 13, n°3, (2010), 380-386.
38. Iriadam M., Musa D., Hatice G. & Baba F., "Effects of two Turkish medicinal plants *Artemisia herba-alba* and *Teucrium polium* on blood glucose levels and other biochemical parameters in rabbits", *J. Cell. and Mol. Biol.*, V. 5, n°3, (2006), 19-24.
39. Yin Y., Gong F. Y., Wu X. X., Sun Y., Li Y. H., Chen T. & Xu Q., "Antiinflammatory and immunosuppressive effect of flavones isolated from *Artemisia vestita*", *J. Ethnopharmacol.*, V. 120, n°1, (2008), 1-6.
40. Martinetti P., "Mon guide des Huiles essentielles", Fernand Lanore, (2013), 256.
41. Umberto Q., "CRC World Dictionary of Medicinal and Poisons Plants: Common Names, scientific Names, Eponyms, Synonyms and Etymology", CRC Press, V. 5, (2012), 3960.

42. William C. W., Greg G. & Cynthia W. M., "Heirloom Gardening in the South: Yesterday's Plants for Today's Gardens", Texas A. & M. University Press, (2011), 537.
43. Begum A., Sandhya S., Shaffath A. S., Vinod K. R., Reddy S. & Banji D., "An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae)", Acta. Sci. Pol. Technol. Aliment., V. 12, n°1, (2013), 61-73.
44. Heinrich M., Kufer J., Leonti M. & Pardo-de-Santayana M., "Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences", J. Ethnopharmacol., V. 107, n°2, (2006), 157-160.
45. Hean C. O., "Rempah-ratus: khasiat makanan & ubatan; Siri terapi alami ;Terapi alami", Utusan Publications, (2008), 255.
46. Rudolf H., Konstantin K., Horst R. & Georg S., "Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis: Drogen P-Z", Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis Series, Springer-Verlag, Band 2, 5th Edition, (2013), 1195.
47. Goetz P. & Kamel G., "Phytothérapie anti-infectieuse. Collection Phytothérapie pratique", Springer Science & Business Media, (2012), 394.
48. Atik-Bekkara F., Bousmaha L., Taleb B. S. A., Botl J. B. & Casanov J., "Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen", Biologie et santé, V. 7, n°1, (2007), 6-11.
49. Denys J. C., "Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources", Springer Science & Business Media, (2012), 612 .
50. Hans W. K., "1000 plantes aromatiques et médicinales", Terres Edition, (2007), 336.
51. Socaci A. S., Maria T., Carmen S., Varban D. & Sevastita M., "Comparative Study of Different Rosemary Essential Oil", Bulletin USAMV-CN, V. 63, (2007), 591-595.
52. Bruneton J., "Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales", Lavoisier, 4^{ème} Edition, (2009), 1292.
53. Moghtader M., Salari H. & Farahmand A., "Evaluation of the antifungal effects of rosemary oil and comparison with synthetic borneol and fungicide on the growth of *Aspergillus flavus*", Journal of Ecology and the Natural Environment, V. 3, n°6, (2011), 210-214

54. Bousbia N., Vian M. A., Ferhat M. A., Petitcolas E., Meklati B. Y. & Chemat F., "Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity", *Food Chemistry*, V. 114, n°1, (2009), 355-362.
55. Lacoste S., "Ma bible de la phytothérapie : Le guide de référence pour se soigner avec les plantes", Leduc Edition, (2014), 648.
56. Sandeep S. & Souravh B., "Rosemary, (*Rosmarinus Officinalis*) Linn", *Afro. Asian J. Sci. Tech.*, V. 1, n°1, (2014), 69-77.
57. Shama I. Y. A., Abdullah A. Y. A., Adam K. M. O., Aldai M. A. B., Omer A. M. A. & Abdelgadir W. S., "In vitro Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* leave extracts", *Journal of Agri-Food and Applied Sciences*, V. 2, n°1, (2014), 15-21.
58. René A. & Didier M., "Cultivez les plantes sauvages & comestibles. Plantes faciles", Editions Artemis, (2008), 95.
59. Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Goncalves M. J., Costa-de-Oliveira S., Cavaleiro C., Pinto G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. & Casanova J., "Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and corsical", *J. Flavor Fragrance*, V. 17, (2002), 15-19.
60. Verma R. S., Laiqur R., Sunita M., Rajesh K., Amit C. & Anand S., "Changes in essential oil content and composition of leaf and leaf powder of *Rosmarinus officinalis* cv. CIM-Hariyali during storage", *Maejo Int. J. Sci. Technol*, V. 5, n°2, (2011), 181-190.
61. Helal Y., "Etude de la biomasse du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) dans le massif des beni-imploul-Aurès-Algérie", *Forest Science*, V. 3, (2010), 25-42.
62. Botineau M., "Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs", Lavoisier, (2010), 1403.
63. Farooqi A. A. & Sreeramu B. S., "Cultivation Of Medicinal And Aromatic Crops", Universities Press, (2010), 656.
64. Mahomoud A. A., Al-Shihry S. S. & Son B. W., "Diterpenoid quinines from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)". *J. Phytochem.*, V. 66, (2005), 1685-1690.

65. Yu M. H., Choi J. H., Chae I. G., Im H. G., Yang S. A., More K., Lee I. S. & Lee J., "Suppression of LPS induced inflammatory activities by *Rosmarinus officinalis* L.", *Food Chem.*, V. 136, (2013), 1047-1054.
66. Kesatebrhan H. A. & Tesfahun K. T., "chemical and antimicrobial investigations on essential oil of *rosmarinus officinalis* leaves grown in ethiopia and comparison with other countries", *J. App. Pharm.*, V. 6, n°2, (2014), 132-142.
67. Ugulu I., Baslar S., Yorek N. & Dogan Y. "The investigation and quantitative ethnobotanical evaluation of medicinal plants used around Izmir province", *Turkey J. Med. Plants Res.*, V. 3, n°5, (2009), 345-367.
68. Bieski I. C. G., Rios S. F., De Oliveira R. M., Espinosa M. M., Macedo M., Albuquerque U. P. & De Oliveira T. M. D., "Ethnopharmacology of medicinal plants of the pantanal region (mato grosso, Brazil)", *Evid. Based. Complement. and Alternat. Med.*, (2012), 1-36.
69. Ponce A. G., Roura S. I., Del Valle C. E. & Moreira M. R., "Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies", *Postharv. Bio. Techno.*, V. 49, (2008), 294-300.
70. Moino M. I., Martinez C., Sotomayor J. A., Lafuente A. & Jordan M. J., "Polyphenolic transmission to segureo lamb meat from ewes dietary supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves", *J. Agri. Food Chem.*, V. 56, (2008), 3363-3367.
71. Janz J. A. M., Morel P. C. H., Wilkinson B. H. P. & Purchas R. H., "Preliminary investigation of the effects of low-level dietary inclusion of fragrant essential oils and oleoresins on pig performance and pork quality", *Meat Sci.*, V. 75, (2007), 360-365.
72. Barni M. V., Carlini M. J., Cafferata E. G., Puricelli L. & Moreno S., "Carnosic acid inhibits the proliferation and migration capacity of human colorectal cancer cells", *Oncol. Rep.*, V. 27, (2012), 1041-1048.
73. Mengoni E. S., Vichera G., Rigano L. A., Rodriguez-Puebla M. L., Galliano S. R., Cafferata E. E., Pivetta O. H., Moreno S. & Vojnov A. A., "Suppression of COX-2, IL-1 β and TNF- α expression and leukocyte infiltration in inflamed skin by bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* L", *Fitoterapia*, V. 82, n°3, (2011), 14-421.

74. Bradley P. H., "British herbal compendium. A handbook of scientific information on widely used plant drugs", Bournemouth: British Herbal Medicine Association, (2006).
75. Moreno S., Scheyer T., Romano C. S. & Vojnov A. A., "Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition", *Free Radical Research*, V. 40, n° 2,(2006), 223-231.
76. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M. M., "Biological effects of essential oils", *Food Chem. Toxicol*, V. 46, (2008), 446-475.
77. Reichling J., Schnitzler P., Suschke U. & Saller R., "Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral and cytotoxic properties-An overview", *Forsch Komplementmed*, V. 16, (2009), 79-90.
78. Sienkiewicz M., Kowalczyk E. & Wasiela M., "Recent patents regarding essential oils and the significance of their constituents in human health and treatment, Recent Pat", *Anti Infect. Drug Discov.*, V. 7, (2012), 133-140.
79. Toroglu S., "In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils", *Journal of Environmental Biology*, V. 32, n°1, (2011), 23-29.
80. Bai N., He K., Roller M., Lai C. S., Shao X., Pan M. H. & Ho C. T., "Flavonoids and Phenolic Compounds from *Rosmarinus officinalis*", *J. Agric. Food Chem.*, V. 58, (2010), 5363-5367.
81. Özcan M. M. & Arslan D., "Antioxidant effect of essential oils of rosemary, clove and cinnamon on hazelnut and poppy oils", *Food Chemistry* V. 129, n°1, (2011), 171-174.
82. Narishetty S. T. K. & Panchagnula R., "Transdermal Delivery of Zidovudine: Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action", *Journal of Controlled Release*, V. 95, (2004), 367-379.
83. Pharmacopée Européenne, "Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé. European directorate for the quality of medicine and health care", 7^{ème} Edition, (2011).
84. Brenes A. & Roura E., "Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action", *Anim. Feed Sci. Technol*, V. 158, (2010), 1-14.
85. Bardeau F., "Les huiles essentielles. Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale", Edition LANORE, (2009), 33-34.

86. Kaloustian J. & Hadji-Minaglou F., "La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie: Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée", *Collection Phytothérapie pratique*, Springer Science & Business Media, (2013), 11-26.
87. Thormar H., "*Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*", Ed. John Wiley & Sons Ltd., United Kingdom, (2011), 204-295.
88. Hill L. E., Gomes C. & Taylor T. M., "Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans -cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications", *LWT., Food Science and Technology*, V. 51, (2013), 8693.
89. Milpied H., "Progrès en dermato-allergologie", Edition John Libbey EUROTEXT, (2009), 128.
90. Ferhat M. A., Meklati B. Y. & Chemat F., "*Citrus d'Algérie : les huiles essentielles et leurs procédés d'extractions*", Ed. Office des publications universitaires, Alger, (2010), 157.
91. Peyrefitte G. & Martini M.C., "Esthétique Cosmétique CAP", Edition MASSON, (2008), 241.
92. Baser K. H. C. & Buchbauer G., "Handbook of essential oils", Science, Technology, and Applications. Ed. *Taylor and Francis Group, LLC*, United States of America, (2010), 994.
93. Robert G., "Les Sens du Parfum", Osman Eroylls Multimedia Paris, (2000), 224.
94. Proust B., "Petite Géométrie des Parfums", Éditions du Seuil Paris, (2006), 126.
95. Hemwimon S., Pavasant P. & Shotiprux A., "Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*", *Separation and Purification Technology*, V. 54, (2007), 44-50.
96. Skold M., Karlberg A. T., Matura M. & Borje A., "The fragrance chemical β -caryophyllene air oxidation and skin sensitization", *Food and Chemical Toxicology*, V. 44, (2006), 538-545.
97. Skold M., Hagvall L. & Karlberg A. T., "Autoxidation of linalyl acetate, the main compound of lavender oil, creates potent contact allergens", *Contact Dermatitis*, V. 58, (2008), 9-14.

98. Andrade E. H. A., Alves C. N., Guimarães E. F., Carreira L. M. M. & Maia J. G. S., "Variability in essential oil composition of *Piper dilatatum* L.C. Rich. Biochem", *Syst. Ecol.*, V. 39, (2011), 669-675.
99. Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P. W., Castillejos L. & Ferret A., "Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation", *Journal of Dairy Science*, V. 90, (2007), 2580-2595.
100. Combrinck S., Du Plooy G. W., Mccrindle R. I. & Botha B. M., "Morphology and histochemistry of the glandular trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae)", *Annals of Botany*, V. 99, (2007), 1111-1119.
101. Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A. & Marzouk B., "Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*", *Industrial Crops and Products*. V. 30, (2009), 338-343.
102. Vogt T., "Phenylpropanoid biosynthesis", *Molecular plant*, V. 3, (2010), 2-20
103. Diaz-Maroto M. C., Perez-Coello M. S., Sanchez-Palomo E. & Gonzalez-Vinas M. A., "Impact of drying and storage time on sensory characteristics of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)", *Journal of Sensory Studies*, V. 22, (2007), 34-48.
104. Calin-Sanchez A., Antoni S., Figiel A., Klaudiusz J., Maciej A. & Angel A. C. B., "Effects of vacuum level and microwave power on rosemary volatile composition during vacuum-microwave drying", *Journal of Food Engineering*, V. 103, (2011), 219-227.
105. Koul O., Suresh W. & Dhaliwal G. S., "Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints", *Biopestic. Int.* V. 4, n°1, (2008), 63-84.
106. Silvant C., "L'aromathérapie : La nature au service de l'humanité", (2015), 208.
107. Rhind J. P. & Pirie D., "Essential Oils: A Handbook for Aromatherapy Practice", V. 318, (2012), 116.
108. Soto-Mendivil E. A., Moreno-Rodriguez J. F., Estarron-Espinosa M., Garcia-Fajardo J. A. & Obledo-Vazquez E. N., "Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternaria citri*-E-Gnosis", V. 4, n°16, (2006).
109. Ouraini D., Agoumi A., Alaoui M. I., Alaoui K., Cherrah Y., Alaoui M. A. & Belabbas M. A., "Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles

- essentielles de *Thymus saturejoides* L. et de *Mentha pulegium* L., comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques- Phytothérapie”, V. 1, (2007), 6-14.
110. Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M. S. & Ghorbani A., “Labiatae Family in folk Medicine in Iran”, from Ethnobotany to Pharmacology-Iranian journal of pharmaceutical research, V. 2, (2005), 63-79.
111. Babulka P., “Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie modern”, Phytothérapie, V. 5, (2007), 137-145.
112. Ponce A., Roura S. I. & Moreira M. D. R., “Essential oils as biopreservatives: different methods for the technological application in lettuce leaves”, J. Food Sci., V. 76, (2011), M34-M40.
113. Rota M. C., Herrera A., Martínez R. M., Sotomayor J. A. & Jordán M. J., “Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils”, Food Control, V. 19, (2008), 681-687.
114. Prabuseenivasan S., Jayakumar M. & Ignacimuthu S., “*In vitro* antibacterial activity of some plant essential oils”, BMC Complement Altern. Med., V. 6, n°39, (2006), 1-8.
115. Juhas S., Bukovska A., Cikos S., Sona C., Dusan F. & Juraj K., “Anti-inflammatory effects of *Rosmarinus officinalis* essential oil in Mice”, Acta. Vet. BRNO, V. 78, (2009), 121-127.
116. Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abou L. & Vergnes M. F., “Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne”, Phytothérapie, V. 6, (2008), 160-164.
117. Amarti F., “Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth du Maroc”, Biotechnol. Agron. Soc. Environ., V. 14, n°1, (2009), 141-148
118. Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M. B., Taghizadeh M., Astaneh S. A. & Rasooli I., “Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils”, Food Chem., V. 102, (2007), 898-904.

119. Rasooli I., Fakoor M. H., Yadegarinia D., Gachkar L., Allameh A. & Rezaei M. B., "Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils", *Int. J. Food Microbiol.* V.122, (2008), 135-139.
120. De Billerbeck G., "Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Springer", *hytothérapie*, V. 5, (2007), 249-253.
121. Souza E. L., Barros C. J., Conceição M. L., Neto N. J. G. & Costa A. C. V., "Combined application of *Origanum vulgare* L. essential oil and acetic acid for controlling the growth of *Staphylococcus aureus* in foods", *Brazilian Journal of Microbiology*, V. 40, (2009), 387-393.
122. Foda M. I., El-Sayed M. A., Hassan A. A., Rasmy N. M. & El-Moghazy M. M., "Effect of spearmint essential oil on chemical composition and sensory properties of white cheese", *Journal of American Science*, V. 6, n°5, (2010), 272-280.
123. Ghasemi P. A., Rahimi E. & Moosavi S. A., "Antimicrobial activity of essential oils of three herbs against *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters", *Acta. agriculturae Slovenica*, V. 95, n°3, (2010), 219-223.
124. Mighri H., Akrouf A., El-jeni H., Zaidi S., Tomi F., Casanova J. & Neffati M., "Composition and intraspecific chemical variability of the essential oil from *Artemisia herba-alba* growing wild in a Tunisian arid zone", *Chem. & Biodiv.* V. 7, n°11, (2010), 2709-2717.
125. Imelouane B., El Bachiri A., Ankit M., Khedid K., Wathelet J. P. & Amhamdi H., "Essential oil composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* asso grown in morocco", *Banat's Journal of Biotechnology*, V. 1, n°2, (2010), 48-55.
126. Celiktas O. Y., Kocabas E. E. H., Bedir E., Sukan F. V., Ozek T. & Baser K. H. C., "Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations", *Food Chem.*, V. 100,(2007), 553-559.
127. Oluwatuyi M., Kaatz G. W. & Gibbons S., "Antibacterial and resistance modifying activity of *Rosmarinus officinalis*", *Phytochemistry*, V. 65, (2004), 3249-3254.

128. Rezzoug S. A., Boutekedjiret C. & Allaf K., "Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by fast controlled pressure drop process using response surface methodology", *Journal of Food Engineering*, V. 71, (2004), 9-17.
129. Lis-Balchin M., "Lavender, the genus *Lavandula*", Taylor and Francis, London, (2002), 37-40.
130. Cheng S. S., Liu J. Y., Tsai K. H., Chen W. J. & Chang S. T., "Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 52, (2004), 4395-4400.
131. Zouari S., Zouari N., Fakhfakh N., Bougatef A., Ayadi M. A. & Neffati M., "Chemical composition and biological activities of a new essential oil chemotype of Tunisian *Artemisia herba alba* Asso", *Journal of Medicinal Plants Research*, V. 4, n°10, (2010), 871-880.
132. Pawar V. V. & Thaker V. S., "Evaluation of the anti- *Fusariumoxysporum* f. sp *cicer* and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils", *World J. Microb. Biot.*, V. 23, (2007), 1099-1106.
133. Hussain A. I., Farooq A., Shahzad A. S. C., Abdul J., Shahid M. & Poonam S. N., "*Rosmarinus officinalis* essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities", *Brazilian Journal of Microbiology*, V. 41, (2010), 1070-1078.
134. Hussain A., "Characterization and biological activities of essential oils of some species of Lamiaceae", Thèse de Doctorat. Pakistan, (2009), 257.
135. Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N., "Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds", *Food Chemistry*, V. 97, (2006), 654-660.
136. Degryse A. C., Delpla I. & Voinier M. A., "Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles", *Atelier santé environnement -IGS- EHESP*, (2008), 87.
137. Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière (A.N.I.R.F.), "Rubrique Monographie Wilaya, Wilaya de M'SIL", (2011), 1-5.
138. Agence Nationale pour l'Aménagement du Territoire (A.N.A.T.), "Plan d'aménagement de la wilaya de M'Sila, Rapport de commencement", Tome I, (2002), 4-9.

139. Boudjelal A., Henchirib C., Saria M., Sarria D., Hendela N., Benkhaleda A. & Rubertoc G., "Herbalists and wild medicinal plants in M'Sila (North Algeria): An ethnopharmacology survey", *Journal of Ethnopharmacology*, V. 148, n° 2, (July 2013), 395-402.
140. Moreau S., Benziene A. S., Boudjadja A., Gaouar A., Kaabeche M., Moali A. & Sellami D., "Plan of management of site of Mergueb, Wilaya of M'sila (Algeria)", (2005).
141. Inspection de l'Environnement, "Rapport sur l'état de l'environnement de la wilaya de M'sila", (2013).
142. Rammade F., "Eléments d'écologie (écologie fondamentale)", 3^{ème} Edition, Paris, (2003), 99.
143. Station météorologique de M'sila, (2013).
144. Pharmacopée Européenne, 6^{ème} Edition, Tome 1 et 2, (2005).
145. Lazouni H. A., Benmansour A., Taleb-bendiab S. A. & Chabane S. D., "Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill", *Journal of Sciences & Technologie*, V. 25, (2007), 7-12.
146. Official Methods of Analysis (A.O.A.C.), 17^{ème} Edition, Maryland, U.S.A, (2000), 360.
147. Djabali S. & Barkat M., "Effet des extraits polyphénoliques sur la résistance à l'infestation fongique dans le grain d'haricot sec", *V. Microbiol. Ind. San. et Environn.*, V. 6, n°2, (2012), 174-191.
148. Pharmacopée Européenne, "Huiles essentielles", *Aetherolea*, Tome 1, (2008), 2098.
149. Clevenger J. F., "Apparatus for the determination of volatile oil". *J. Am. Pharm. Assoc.*, V. 17, (1928), 341-346.
150. Bourkhiss M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M., Chaouch A. & Satrani B., "Effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters", *AGROSOLUTIONS*, V. 20, n°1, (2009), 45.
151. Séguin M., Descheneau M. & Tardif B., "Physique XXI, Tome C, Ondes et Physique Moderne", De boek, Bruxelles, (2010), 572.

152. Zellner B. A., Dugo P., Dugo G. & Mondello L., "Analysis of essential oils. *Handbook of essential oil*", *Science, Technology and Applications*. Edition Taylor and Francis Group, New York, (2010), 151-183.
153. National Institute of Standard Technology, (N.I.S.T.), "Mass Spectral Database, Standard Reference Database N° 1A, version 1.6", Gaithersburg, M.D., (1998).
154. Adams R. P., "Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography and Mass Spectrometry", Allured Publ. Corp., Carol. Stream., 4^{ème} Edition, (2007), 803.
155. Abdesselam Z., "Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré", *Nutra. News.*, (2006), 6-16.
156. Wilkinson J. M., "Methods for testing the antimicrobial activity of extracts", Chapter VIII, (2006), 157-165.
157. Denis F., Ploy M. C., Martin C., Bingen E. & Quentin R., "Bactériologie médicale. Techniques usuelles", Edition MASSON, (2007), 546.
158. Gupta S., Rajauria G. & Abu-Ghannam N., "Study of the microbial diversity and antimicrobial properties of Irish edible brown seaweeds", *International Journal of Food Science and Technology*, V. 45, (2010), 482-489.
159. Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M. & Bruni R., "Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods", *Food Chem.*, V. 91, (2005), 621-632.
160. Bozin B., Mimica-Duric N., Samojlik I., Goran A. & Igic R., "Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L. Alliaceae)", *Food Chemistry*, V. 111, (2008), 925-929.
161. Popovici C., Ilonka S. & Bartek T., "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH", *Revue de génie industriel*, V. 4, (2009), 25-39 .
162. Szabo M. R., Iditoiu C., Chambre D. & Lupea A. X., "Improved DPPH determination of antioxidant activity spectrophotometric assay", *Chem. Pap.*, V. 61, n°3, (2007), 214-216.
163. Othman A., Ismail A., Ghani N. A. & Adenan I., "Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans", *Food Chemistry*, V.100, (2007), 1523-1530.

164. Wang K. J. & Ning L., "Antioxidant Phenolic Compounds from Rhizomes of *Curculigo crassifolia*", *Arch. Pharm. Res.*, V. 30, n°1, (2007), 8-12.
165. Rolland Y., "Antioxydants naturels végétaux", *OCL.*, V. 11, n°6, (2004), 419-424.
166. Molyneux P., "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakarin", *J. Sci. Technol.*, V. 26, n°2, (2004), 211-219.
167. Sharma R. K., Sharma N., Samant S. S., Nandi S. K., & Palni L. M. S., "Antioxidant Activities in Methanolic Extracts of *Olea Ferruginea* Royle Fruits", *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, V. 3, n°2, (2013), 154.
168. Sharma O. P. & Bhat T. K., "DPPH antioxidant assay revisited", *Food Chem.*, V. 113, (2009), 1202-1205.
169. Marinova G. & Batchvarov V., "evaluation of the methods for determination of the free radical scavenging activity by DPPH", *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, V. 17, n°1, (2011), 11-24.
170. Barkat M. & Laib I., "Antioxidant activity of the essential oil from the flowers of *Lavandula stoechas*", *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, V. 4, n°7, (2012), 96-101.
171. Asghar Z. & Masood Z., "Evaluation of antioxidant properties of silymarin and its potential to inhibit peroxy radicals in vitro", *Pak. J. Pharm. Sci.*, V. 3, (2008), 249-254.
172. Amit J., Paras S. & Kaushik S., "Evaluation of phenolic & flavonoid profile and screening of antioxidant activity of plant *Croton sparsiflorus* by bio-autographic method", *Journal of Pharmacy Research*, V. 3, n°5, (2010), 1146-1148.
173. Sharififar F., Moshafi M. H., Mansouri S. H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M., "In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora*", *Boiss. Food Control*, V. 18, (2007), 800-805.
174. Bougandoura N. & Bendimerad N., "Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L.) Briq", *Revue Nature et Technologie, B-Sciences Agronomiques et Biologiques*, n°09, (2013), 14-19.

175. Scherer R. & Godoy H. T., "Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method", *Food Chemistry*, V. 112, (2009), 654-658.
176. Villano D., Fernandez-Pachon M. S., Moya M. L., Troncoso A. M. & GarciaParilla M. C., "Radical scavenging ability of phenolic compounds towards DPPH free radical", *Talanta*, V. 71, (2007), 230-235.
177. Brand W. W., Cuvelier M. E. & Berset C., "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity", *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, V. 28, (1995), 25-30.
178. Sanchez-Moreno C., Larrauri J. A. & Saura-Calixto F. A., "Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 76, n°2, (1998), 270-276.
179. Suelen Q., "Traité de toxicologie professionnelle", 1^{ère} Edition, Suelen Queiroz, (2010), 753.
180. Moundosso A., "Message de la sécurité-santé au travail", Editions Publibook, (2013), 380.
181. Denis S., "Pharmacologie et thérapeutique", Editions Lamarre, Initiatives Santé, 2^{ème} Edition, (2013), 240.
182. Falgayrac P., "Le grand guide de lutte raisonnée contre les nuisibles ou bioagresseurs urbains: dératisation - désinsectisation - désinfection - lutte contre les oiseaux - dégraissage des hottes d'aspiration - traitement des odeurs - Préparation des certifications Certiphyto et Biocides", Elaboration du. BoD., Books on Demand, (2014), 632.
183. Tisserand R. & Young R., "Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals", 2^{ème} Edition, (2013), 784.
184. Behrens B. & Karber C., "Wie sind Reihenversuche für biologische Auswertungen am Zweckmäßigsten Anzuordnen?", *Arch. Exp. Path. Pharm.*, V. 177, (1935), 379-388.
185. Lignes directrices de l'O.C.D.E. pour les essais de produits chimiques toxicité orale aiguë, "méthode de l'ajustement des doses", 17^{ème} Edition, (2008), 1-29.
186. Organisation Internationale de Normalisation (ISO 662), "Corps gras d'origines animale et végétale, Détermination de la teneur en eau et en matières volatiles", (1998), 7.

187. Mighri H., Ahmed A , Casanova J. & Felix T., "Influence of Drying Time and Process on Artemisia herba-alba Asso Essential Oil Yield and Composition", Journal of essential oil-bearing plants JEOP, V. 12, n°3, (2009), 358-364.
188. Souza C. R. F., Schiavetto I. A., Thomazini F. C. F. & Oliveira W. P., "Processing of *Rosmarinus officinalis* linne extract on spray and spotted bed dryers", Brazilian journal of chemical engineering, V. 25, n°1, (2008), 59-69.
189. Tambunan A.H., Yudistira K., & Hernani, "Freeze drying characteristics of medicinal herbs", drying Tech., V. 19, (2001), 325-331.
190. Khorshidi J., Mohammadi R., Fakhr T. M. & Nourbakhsh H., "Influence of Drying Methods, Extraction Time, and Organ Type on Essential Oil Content of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)", Nature and Science, V. 7, n°11, (2009), 42-44.
191. Singh B. P., "Germplasm introduction, exchange, collection and conservation of medicinal and aromatic plants-Their export potential", 2nd Edition, Aavishkar Publishers, Rajasthan, (2009), 1-26.
192. Aghfir M., Kouhila M., Jamali A. & Ait Mohamed L., "Séchage solaire convectif pour la conservation des feuilles de romarin (*Rosmarinus officinalis*)", J.I.T.H., Albi, France. ENSTIMAC, (2007), 5.
193. Asekun O. T., Grierson D. S. & Afolayan A. J., "Characterization of essential oils from *Helichrysum odoratissium* using different drying methods", J. Applied. Sci., V. 7, (2007), 1005-1008.
194. Diana L., Ronicely R., Evandro M., Evan V. & Antonio P., "Influence of drying air temperature on the essential oil content from *Melaleuca alternifolia* Cheel", International Conference of Agricultural Engineering, (2008), 1-4.
195. Al-jaber H. I., Al-Qudah M. A., Barhoumi L. M., Abaza I. F. & Afifi F. U., "Essential oil composition of the aerial parts of fresh and air-dried *salvia palaestina* Benth. (Lamiaceae) growing wild in Jordan", Natural Product research, V. 26, n°13, (2012), 1179-1187.
196. Figiel A., Szumny A., Gutiérrez-Ortiz A. & Carbonell-Barrachina A. A., "Composition of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L.) as affected by drying method", Journal of Food Engineering, V. 98, n°2, (2010), 240-247.
197. Müller J. & Heindl A., "Drying of medicinal plants", Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg (Germany), (2006), 237-252.

198. Dabire C. M., Eloi P., Roger H. C. N., Abdoul D .S., Jeanne M. R. & Mouhoussine N., "L'huile essentielle de *Grangea maderaspatana* (L.) poir. du Burkina Faso : rendement d'extraction et composition chimique", J. Soc. Ouest-Afr. Chim., V. 28, (2009), 81-86
199. Dabire C., Roger H. C. N., André B., Mouhousine N. & Faustin S. S., "Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L.", Int. J. Biol. Chem. Sci., V. 5, n°3, (2011), 1082-1095.
200. Szumny A., Figiel A., Gutiérrez-Ortíz A. & Carbonell-Barrachina A. A., "Composition of rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis*) as affected by drying method", Journal of Food Engineering, V. 97, n°2, (2010), 253-260.
201. Birdi T. J., Brijesh S. & Daswani P. G., "Approaches towards the preclinical testing and standardization of medicinal plants", The Foundation for Medical Research, Mumbai, (2006).
202. Benjilali B. & Zrira S., "Plantes Aromatiques & médicinales. Atouts du secteur et exigences pour une valorisation durable ", Actes Edition, Rabat, (2005), 346.
203. Ashafa A. O. T., Grierson D. S. & Afolayan A. J., "Effects of Drying Methods on the Chemical Composition of Essential Oil from *Felicia muricata* Leaves", *Asian Journal of Plant Sciences*, V. 7, n°6, (2008), 603-606.
204. Hudaiba M. & Aburjai T., "Composition of the essential oil from *Artemisia herba-alba* grown in Jordan", J. Essential Oil Res., V. 18, n°3, (2006), 301-304.
205. Akrouit A., "Essential oil study of some pastoral plants from Matmata (south Tunisia)", Cah. Options. Med, V. 62, (2004), 289-292.
206. Mighri H., Akrouit A., Neffati M., Tomi F. & Casanova J. "The essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso cultivated in Arid Land (South Tunisia)", J. Essent. Oil Res., V. 21, (2009), 453-456.
207. Boukrich F., Zouari S., Neffati M., Abdelly C., Liu K., Casanova J. & Tomi F., "Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso growing wild in Semi-arid and Arid Land (Tunisia)", J. Essent. Oil Res., V. 22, (2010), 331-335.
208. Haouari M. & Ferchichi A., "Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba* from Southern Tunisia", *Molecules*, V. 14, n°4, (2010), 1585-1594.

209. ZAIM A., Lahsen E. & Abdellah F., "Effets des huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus* (Lucas, 1849)", Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat, section Sciences de la Vie, V. 34, n°2, (2012), 127-133.
210. Ghanmi M., Satrani B., Aafi A., Ismaili M. R., Houtia H., Manfalouti H., Benchakroun K., Abarchane M., Harki L., Boukir A, Chaouch A. & Charrouf Z., "Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guercif (Maroc oriental)", Phytothérapie, V. 8, n°5, (2010), 295-301.
211. Mighri H., Akrouf A., Casanova J., Tomi F. & Neffati M., "Impact of season and harvest frequency on biomass and essential oil yields of *Artemisia herba-alba* cultivated in southern Tunisian", Exp. Agric., V. 4 & 5, (2009), 499-508.
212. Moumni M., Elwatic L., Kassimi A. & Homrani B.A., "Insecticidal activity of the essential oil from seven accessions of *Artemisia herba-alba* assodomesticated in Errachidia (south-east of Morocco) against *Tribolium castaneum*", Int. Journal of Engineering Research and Applications, V. 4, n°6, (2014), 33-36.
213. Mounchid K., Bourjilat F., Dersi N., Bellik A, Aboussaouira T., Rachidai A., Tantaoui-Elaraki A. & Ismaili-Alaoul M., "Toxicity of south Morocco *Rosmarinus officinalis* essential oil antibacterial and histopathological effects", Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc), V. 24, n° 3 & 4, (2004), 139-145.
214. Derwich E., Benziane Z., Chabir R. & Taouil R., "In vitro antibacterial activity and gc/ms analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown IN Morocco", Int. J. Pharm. Pharm. Sci., V. 3, n°3, (2011), 8995.
215. Cuéllar C. A. & Hussein Y. R., "Evaluation of the yield and the antimicrobial activity of the essential oils from: *Eucalyptus globulus*, *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* in Mbarara district (Uganda)", Rev. Colombiana cienc. Anim., V. 1, n°2, (2009), 240-247.
216. Gholamreza K., Hassanzadeh M. & Soghra M., "Protective Effect of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil against Free Radical-Induced Erythrocyte Lysis", Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences Autumn, V. 1, n°4, (2005), 231-236.

217. Ozcan M. M. & Chalchat J., "Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) oil from Turkey", International Journal of Food Sciences and Nutrition, V. 59, n°7 & 8, (2008), 691-698.
218. Angioni A., Barra A., Cereti E., Barile D., Coisson D. J. & Arlorio M., "Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L", Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 52, n°11,(2004), 3530-3535.
219. Douiri L. F., Boughdad A., Moulay H. A. & Moumni M., "Biological Activity of *Rosmarinus Officinalis* Essential Oils against *Callosobruchus Maculatus*, (Coleoptera, Bruchinae)", Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, V. 4, n°2, (2014), 5-14.
220. Zouali Y., Bouzaine T. & Boussaid M., "Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities", Food and Chemical Toxicology, V. 48, (2010), 3144-3152
221. Aleksandar R., Isidora M., Nebojša P., Tatjana Ć., Saša V. & Momir M., "Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective Potential", BMC Complementary and Alternative Medicine, V. 14, (2014), 1-9.
222. Itmad A. E. & Mohammed O. N., "New Chemotype *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) *R. officinalis* ct. bornyl acetate", American Journal of Research Communication, V. 2, n°4, (2014), 232-240.
223. Singh M. & Guleria N., "Influence of harvesting stage and inorganic and organic fertilizers on yield and oil composition of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in a semi-arid tropical climate", Industrial Crops and Products, V. 42,(2013), 37-40.
224. Zaouali Y., Hnia C., Rim T. & Mohamed B., "Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. *typicus* Batt. Organs during growth and incidence on the antioxidant activity", Industrial Crops and Products, V. 43, (2013), 412-419.
225. Jordan M. J., Vanesa L., María C. R., Susana L. & José A. S., "Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L", Food Control, V. 30, (2013), 463-468.

226. Jamshidi Z. & Afzali D., "Chemical Composition of Hydrodistillation Essential Oil of Rosemary in Different Origins in Iran and Comparison with Other Countries", *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, V. 5, n°1, (2009), 78-81.
227. Boukhatem M. N., Hamaidi M. S., Saidi F. & Hakim Y., "Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)", *Revue Nature et Technologie*, V. 03, (2010), 37-45.
228. Abdallah H. M. & Ezzat S. M., "Effect of the method of preparation on the composition and cytotoxic activity of the essential oil of *Pituranthos tortuosus*", *Z. Naturforsch C.*, V. 66, n°3 & 4, (2011), 143-148.
229. Association Française de Normalisation, AFNOR, "Recueil de normes : les huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse", Paris, Tome 1, (1999), 440.
230. Shakhnoza S. A., Anna I. G. & Valentina I. V., "Lipids, Lipophilic Components and Essential Oils from Plant Sources", Springer Science & Business Media, (2011), 992.
231. Kanko C., Sawaliho B. E., Kone S., Koukoua G. & N'guessan Y. T., "Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippia multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*", *Comptes rendus Chimie*, V. 7, (2004), 1039-1042.
232. Hamdani F. Z. & Allem R., "Antifungal properties of leaf essential oils of Citrus against *Alternaria alternata* And *Penicillium* spin vitro Phytothérapie", (2015), 1-47.
233. Dob T. & Ben Abdelkader T., "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* asso grown in Algeria", *J. Essen. Oil Res.*, V.18, (2006), 685-690.
234. Dahmani-Hamzaoui N. & Baaliouamer A., "Chemical composition of Algerian *Artemisia herba-alba* essential oils isolated by microwave and hydrodistillation", *J. Essential Oil Res.*, V. 22, n°6, (2010), 514-517.
235. Paolini J., El Ouariachi E. M., Bouyanzer A., Hammouti B., Desjobert J. M., Costa J. & Muselli A., "Chemical variability of *Artemisia herba-alba* Asso essential oils from East Morocco", *Chemical Papers*, V. 64, n°5, (2010), 550-556.

236. Houbairi S., Elmiziani I., Lamiri A. & Essahli M., "Comparison of the Antioxidant Activity of Aromatic Medicinal Plants of Moroccan Origin", *European Journal of Medicinal Plants*, V. 10, (2015), 1-10.
237. Abaas I. S., Hamzah J. M. & Ali H. M., "Analysis with evaluation of drying temperature on essential oil content of *Achillea frarantissima* L. and *Artemisia herba-alba* L.", *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, V. 5, n°3, (2013), 913-914.
238. Benabdellah M., Benkaddour M., Hammouti B., Bendahhou M. & Aouniti A., "Inhibition of steel corrosion in 2 M H₃PO₄ by artemisia oil", *Appl. Surf. Sci.*, V. 252, (2006), 6212-6217.
239. Akrouit A., AL Jani H., Amouri S. & Neffati M. "Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba-alba* Asso, & *Thymus capitatus* Hoff. Et Link. Growing wild in the southern of Tunisia", *Recent Research in Science and Technology*, V. 2, n°1, (2010), 29-39.
240. Bouchikhi T., Z., Bendahhou M. & Khelil M. A. "Lutte contre la bruche *acanthoscelides obtectus* et la mite *tineola bisselliella* par les huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques d'Algerie", *Lebanese Sci. J.*, V. 11, n°1, (2010), 55-68.
241. Boutkhil S., El Idrissi M., Amechrouq A., Lakhlifi T. & Chakir S. "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba Alba* (Asso) populations", *Phys. & Chem. News*, V. 47, (2009), 133-137.
242. Aghaei M., Alizadeh M. & Sharifian I. "Chemical composition of essential oil of *Artemisia herba-alba* from West Azerbaijan, Iran", *E.J. Env. Agric. & Food Chem.*, V. 10, n°6, (2011), 2413-2416.
243. Salido S., Altarejos J., Noguerras M. & Sánchez A. "Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso ssp. *valentina* (Lam.) Marcl", *J. Essential Oil Res.*, V. 13, n° 4, (2001), 221-224.
244. Dahmani-Hamzani N. & Baaliouamer A., "Chemical composition of the Algerian essential oil of *Artemisia herba-alba* native to Dejelfa", *Riv. Ital. EPPOS.*, V. 40, (2005).
245. Tilaoui M., Ait Mouse H., Jaafari A., Aboufatima R., Chait A. & Zyad A., "Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb *Artemisia herba-alba*", *Rev. Bras. Farmacogn.*, V. 21, n°4, (2011), 781-785.

246. Boutemak K., Bezzina M., Périno-Issartier S. & Chemat F., "Extraction by steam distillation of *Artemisia herba-alba* essential oil from Algeria: kinetic study and optimization of the operating conditions", *J. Essent. Oil Bearing Plants*, V. 12, (2009), 640-650.
247. Ouachikh O., Bouyanzer A., Bouklah M., Desjobert J. M., Costa J., Hammouti B. & Majidi L., "Application of essential oil of *Artemisia herba alba* as green corrosion inhibitor for steel in 0.5M H₂SO₄, Surf", *Rev. Lett.*, V. 16, (2009), 49-54.
248. Aziz M., Karim A., El Ouariachi E. M., Bouyanzer A., Amrani S., Mekhfi H., Ziyat A., Melhaoui A., Bnouham M. & Legssyer A., "Relaxant effect of essential oil of *Artemisia herbaalba* Asso. on rodent jejunum contractions", *Sci. Pharm.*, V. 80, n°2, (2012), 457-467
249. Janackovic P., Novaković J., Soković M., Ljubodrag V., Abdulhmid A., Giweli Z. D. S. & Petar D. M., "Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia judaica*, *herba-alba* and *a. arborescens* from libya", *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, V. 67, n°2,(2015), 455-466.
250. Jalali-Heravi M., Moazeni R. S. & Sereshti H., "Analysis of Iranian rosemary essential oil: Application of gas chromatography–mass spectrometry combined with chemometrics", *Journal of Chromatography A.*, V. 76, (2011), 2569.
251. Porte A., Godoy R. L. O., Lopes D., Koketsu M., Gonçalves S. L. & Torquillo H. S., "Essential oil of *Rosmarinus officinalis*L. (rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil", *Journal of Essential Oil Research*, V. 12, (2000), 577-580.
252. Benhabiles N. E. H., Ait-Amar H., Boutekdjiret C. & Belabbes R., "*Perfum. Flavor*", V. 26, n° 5, (2001), 40-48.
253. Wagner A. B., Rodrigo L., Marcos G., Luzio G. B. F., Maria G. M. S., Isabel C. C. T., Marcio L. A. S., Carlos H. G. M., Ademar A. d. S. F. & Wilson R. C., "Antibacterial Activity of the Essential Oil from *Rosmarinus officinalis* and its Major Components against Oral Pathogens", *Verlag der Zeitschrift fur Naturforschung*, Tübingen, V. 65, (2010), 588-593.
254. Hamzaa R. G., El Shahat A. N. & Mekawey H. M. S., "Modulating Efficiency of γ -Irradiated Rosemary in Improving the Hepatic Antioxidant Status of Ethanol Administrated Rats", *Biochem. Anal. Biochem.*, V. 1, n°8, (2012), 1-6.

255. Abu-Gharbia M. A., Michael N. A., El-Mewafy A., El-Ghadban & Rasha Z. A., "Antibacterial activity of *Cymbopogon citratus* and *Rosmarinus officinalis* essential oil against carbapenems resistant *Klebsiella pneumonia* strains (as nosocomial pathogen) isolated from intensive care units of two hospitals", *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Science*, V. 4, n°1, (2015), 047-050.
256. Santoyo S., Caveros S., Jaime L., Ibanez E., Senoran F. J. & Reglero G., "Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction", *J. Food Prot.*, V. 68, n°4, (2005), 790-795.
257. Bozin B., Mimica-Dukic N., Samojlik I. & Jovin E., "Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 55, (2007), 7879-7885.
258. Viuda-Martos M., El Gendy A. E. N. G. S., Sendra E., Fernandez-Lopez J., Abd El Razik K. A., Omer E. A. & Jose A. P., "Chemical composition and antioxidant and anti-Listeria activities of essential oils obtained from some Egyptian plants", *Journal Agriculture Food Chemistry*, V. 58, n°16, (2010), 9063-9070.
259. Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Aitkaki Z. & Benlabed K., "Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria", *The international J. of Aromatherapy*, V. 15, (2005), 129-133.
260. Touafek O., Nacer A., Kabouche A., Kabouche Z., & Bruneau C., "Chemical composition of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* cultivated in the Algerian Sahara", *Chemistry of Natural Compounds*, V. 40, n°1, (2004), 28-29.
261. Carmen C., Valentina G., Alexandru M. G., Crina S., Veronica L. & Ecaterina A., "Hybrid magnetite nanoparticles/*Rosmarinus officinalis* essential oil nanobiosystem with antibiofilm activity", *Nanoscale Research Letters*, V. 7, (2012), 209.
262. Sienkiewicz M., Lysakowska M., Pastuszka M., Bienias W. & Kowalczyk E., "The Potential of Use Basil and Rosemary Essential Oils as Effective Antibacterial Agents", *Molecules*, V. 18, (2013), 9334-9351.

263. Matsuzaki Y., Toshiyuki T., Tatsuji N., Mari N. & Yasuaki K., "Antifungal activity of chemotype essential oils from rosemary against *Candida albicans*", *Open Journal of Stomatology*, V. 3, (2013), 176-182.
264. Lograda T., Ramdani M., Chalard P. & Figueredo G., "Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria", *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine*, V. 2, (2014), 794-807.
265. Salido S., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A. & Lague P., "Chemical composition and seasonal variations of rosemary oil from southern Spain", *J. Essen Oil Res.*, V. 15, (2003), 10-14.
266. Napoli E. M., Curcuruto G. & Ruberto G., "Screening of the essential oil composition of wild *Sicilian rosemary* G.", *Biochemical Systematics and Ecology*, V. 38, (2010), 659-670.
267. Adams R. P., Nguyen S. & Achak N., "Geographic variation in *Juniperus phoenicea* from the Canary Islands, Morocco and Spain", based on RAPDS analysis, *Phytologia*, V. 88, n°3, (2006), 270.
268. Hussain A. I., Anwar F., Sherazi S. T. H. & Przybylski R., "Chemical composition, Antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations", *Food Chemistry*, V. 108, (2008), 986-995.
269. Anwar F., Ali M., Hussain I. & Shahid M., "Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan", *Flavour and Fragrance Journal*, V. 24, (2009), 170-176.
270. Merghache S., Hamza M. & Tabti B., "Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie", *Afrique science*, V. 5, n°1, (2009), 67-81.
271. Moreira M. R., Ponce A. G., Del Valle C. E. & Roura S. I., "Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen", *LWT*, V. 38, (2005), 565-570.
272. Djeddi S., Bouchenah N., Settar I. & Skaltsa H. D., "Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria", *Chem. Natural Comp*, V. 43, n°4, (2007), 487-490.

273. Al-Shuneigat J., Al- Sarayreh S., Al-Qudah M., Al-Tarawneh I., Al-Sarairah Y. & Al-Qtaitat A., "GC-MS Analysis and Antibacterial Activity of the Essential Oil Isolated from Wild *Artemisia herba-alba* Grown in South Jordan", *Article no. BJMMR*, V. 5, n°3, (2015), 297-302.
274. Sbayou H., Ababou B., Boukachabine K., Angeles M., Zerouali K. & Amghar S., "Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia herba-alba* and *Mentha pulegium* Essential Oils", *Journal of Life Sciences*, V. 8, n°1, (2014), 35-41.
275. Ouibrahim A., Tlili-Ait-kaki Y., Bennadja S., Amrouni S., Djahoudi A. G., & Djebar M. R., " Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria", *African Journal of Microbiology*, V. 7, n°42, (2013), 4968-4973.
276. Tahri M., Bouchra I., Hassan A., Marie-Laure F., Elbachiri A., "The Chemical compositions and the Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of *Rosemary* Leaves from Eastern Morocco", *J. Mater. Environ. Sci.*, V. 6, n°3, (2015), 666-672.
277. Chahboun N., Esmail A., Rhaiem N., Abed H., Amiyare R., Barrahi M., Berrabeh M., Oudda H. & Ouhssine M., "Extraction and study of the essential oil *Rosmarinus Officinalis* Cuellie in the Region of Taza", Morocco, Scholars Research Library, Der. Pharma. Chemical., V. 6, n°3, (2014), 367-372.
278. KAZEMI M., Rostami H., & Ameri A., "The study of compositions and Antimicrobial Properties of Essential oil of *Origanum vulgare* and *Rosmarinus officinalis* on Human Pathogens". *C.R.B.*, V. 5, n°1, (2012), 1-12.
279. ZAGO J. A. A., Ushimaru P. I., Barbosa L. N. & Fernandes J. A., "Synergism between essential oils and antimicrobial drugs against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains from human infections", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, V. 19, n°4, (2009), 828-33.
280. Luqman S., Gaurav R. D., Mahendra R. D., Alok K., Sunian P. & Khanuja S., "Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections", *alternative therapies Med.*, V. 13, n°5, (2007), 54-59
281. Lopez P., Sanchez C., Battle R. & Nerin C., "Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils: Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains", *J. Agric. Food Chem.*, V. 53, (2005), 6939-6946.

282. Fabio A., Cermelli C., Fabio G., Nicoletti P. & Quaglio P., "Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on microorganisms responsible for respiratory infections", *Phytother. Res.*, V. 21, (2007), 374-377.
283. Erdogrul O. T., "Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine", *Pharm. Biol.*, V. 40, (2002), 269-273.
284. Khosravi A. R., Shokri H., Farahnejat Z., Chalangari R. & Katalin M., "Antimycotic efficacy of Iranian medicinal plants towards dermatophytes obtained from patients with dermatophytosis", *Chin. J. Nat. Med.*, V. 11, (2013), 43-48.
285. Miresmailli S., Bradbury R., & Isman M., "Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants", *Pest. Manag. Sci.*, V. 62, (2006), 366-371.
286. Zand M., Bajalan I., & Shahram R., "Antibacterial Activity of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Essential Oil Belong to the Zagros Region", *Journal of Applied Science and Agriculture*, V. 10, n°4 (2015), 9-11.
287. Fu Y.J., Zu Y.G., Chen L.Y., Shil, X.G., Wangl, Z., Sunl S. & Efferth T., "Antimicrobial Activity of Clove and Rosemary Essential Oils Alone and in Combination", *Phytotherapy Research*, V. 21, n°10, (2007), 989-994.
288. Matasyoh J. C., Kiplimo J. J., Karubiu N. M., & Hailstorks T. P., "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Tarhomonanthus camphorates*", *Food Chemistry*, V. 101, (2007), 1183-1187.
289. Dorman H. J. D. & Deans S. G., "Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils", *J. of Applied Microbiology*, V. 88, (2000), 308-316.
290. Mann C. M., Cox S. D. & Markham J. L., "The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)", *Lett. Appl. Microbiol.*, V. 30, (2000), 294-297.
291. Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M. & Abdelly C., "Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities", *C. R. Biologies*, V. 331, (2008), 372-379.

292. Hayouni E. A., Abedrabba M., Bouix M. & Hamdi M., "The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities *in vitro* of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts", Food Chem., V. 105, n°3, (2007), 1126-1134.
293. Escott H. K., "Microbiologie", 2^{ème} Edition française, De Boek, (2006), 2.
294. Inouye S., Takazawa T., & Yamaguchi H., "Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact". Journal of Antibacterial Chemotherapy, V. 47, (2001), 565-573.
295. Kheyer N., Meridja D. & Belhamel K., "Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia", Algerian Journal of Natural Products, V. 2, n°1, (2014), 18-26.
296. Georgantelis D., Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G., & Georgakis S. A., "Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C", Meat Science, V. 76, (2007), 172-181.
297. Nikaido H., "Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited", Microb. and Molec. Biology Rev., V. 67, n°4, (2003), 593-656.
298. Ultee A., Bennik M. H. J. & Moezelaar R., "The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*", Applied and Environmental Microbiology, V. 68, (2002), 1561-1568.
299. Wang W., Li N., Luo M., Zu Y., & Efferth T., "Antibacterial Activity and Anticancer Activity of *Rosus officinalis* L. Essential Oil Compared to That of Its Main Components", Molecules, V. 17, (2012), 2704-2713.
300. Tenover F. C., "Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria", The American Journal of Medicine, V. 119, (2006), S3-S10.
301. Rasooli I., & Owlia P., "Chemoprevention by thyme oils of *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin production", Phytochemistry, V. 66, (2005), 2851-2856.
302. Carmo E. S., Lima E. D. O., & De Souza E. L., "The potential of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *Aspergillus* species", Brazilian Journal of Microbiology, V. 39, (2008), 362-367.

303. Bajpai V. K., & Kang S. C., "Antifungal activity of leaf essential oil and extracts of *Metasequoia glyptostroboides* Miki ex Hu", *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, V. 87, (2010), 327-336.
304. Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A. V., Fraser G. R., Colombatto D. & Mc Allister T. A., "Plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production", *Animal Feed Science and Technology*, V. 145, (2008), 209-228.
305. Burt S., "Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods", *International Journal of Food Microbiology*, V. 94, (2004), 223-253.
306. Mahmoud B. S. M., Yamazaki K., Miyashita K., Il-Shik S., Dong-Suk C. & Suzuki T., "Bacterial microflora of carp (*Cyprinus carpio*) and its shelf-life extension by essential oil compounds", *Food Microbiology*, V. 21, (2004), 657-666.
307. Cox S. D., Mann C. M. & Markam J. L., "Interaction between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*", *Journal of Applied Microbiology*, V. 91, (2001), 492-497.
308. Moon T., Wilkinson J. M. & Cavanagh H. M., "Antiparasitic activity of two *Lavandula* essential oils against *Giardia duodenalis*, *Trichomonas vaginalis* and *Hexamita inflata*", *Parasitol. Res.*, V. 99, (2006), 722-728.
309. Nowak A., Kalembe D., Krala L., Piotrowska M. & Czyzowska A., "The effects of thyme (*Thymus vulgaris*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils on *Brochothrix thermosphacta* and on the shelf life of beef packaged in high-oxygen modified atmosphere", *Food Microbiology*, V. 32, (2012), 212-216.
310. Roger G., Youcef H., & Jacques K., "Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants", *Fitoterapia*, V. 79, n°3, (2008), 199-203.
311. Kolai N., Saiah F. & Boudia A., "Effet inhibiteur *in vitro* de l'huile essentielle D'*Artemisia herba alba* sur deux souches de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*", *Algerian journal of arid environment*, V. 2, n°1, (2012), 71-76.
312. Peda J., Jelica N., Marina S., Ljubodrag V., Abdulhmid A., Giweli Z.D.S. & Petar D.M., "Composition and antimicrobial activity of essential oils of *Artemisia judaica*, *A. herba-alba* and *A. arborescens* from Libya", *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, V. 67, n°2, (2015), 455-466.

313. Pitarokili D., Tzakou O., Loukis A. & Harvala C., "Métabolites volatils à partir de *Salvia frucicosa* comme agents antifongiques dans soilborne agents pathogènes", J. de l'agriculture et de chimie des aliments, V. 51, n°11, (2003), 3294-3301.
314. Yang J., Nan U., Yu-Jie F., Wei W., Meng L., Chun-Jian Z., Yuan-Gang Z. & Xiao-Lei L., "Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary", Environmental Toxicology and Pharmacology, V. 32, (2011), 63-68.
315. Mugnaini L., Nardoni S., Pinto L., Pistelli L., Leonardi M., Pisseri F. & Mancianti F., "In vitro and in vivo antifungal activity of some essential oils against feline isolates of *Microsporum canis*", Journal de Mycologie Médicale, V. 22, (2012), 179-184.
316. Lima I. O., Oliveira R. A. G., Lima E. O., Farias N. M. P. & Souza E. L., "Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre espécies de *Candida*", Rev. Bras. Farmacogn., V. 16, n°2, (2006), 197-201.
317. Dalleau S., Cateau E., Berges T., Berjeaud J. & Imbert C., "In vitro activity of essential oils and their major components against *Candida albicans* yeasts growing planktonically and as biofilms", International Journal of Antimicrobial Agents, V. 29, (2007), 147.
318. Daferera J. D., Ziogas B. N. & Polissiou M. G., "The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*", Crop. Prot., V. 22, (2003), 39-44.
319. Barrera-Necha L. L., Garduno-Pizana C. & Garcia-Barrera L. J., "In vitro Antifungal Activity of Essential Oils and Their Compounds on Mycelial Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* (Massey) Snyder and Hansen", Plant Pathology Journal, V. 8, (2009), 17-21.
320. Hashem M., Moharam A. M., Zaied A. A. & Saleh F. E. M., "Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp", Crop. Prot., V. 29, n°29, (2010), 1111-1117.
321. Arici Ş. E., Özgönen H., Şanlı A., Polat M. & Yasan G., "Antimicrobial activity of essential oils against agricultural plant pathogenic fungi and bacteria", AFPP – Fourth International Conference on Non Chemical Crop Protection Methods, Lille, France, (2011), 249-253.

322. Suppakul P., Miltz J., Sonneveld K. & Bigger S. W., "Antimicrobial properties of Basil and its possible application in food packaging", *J. Agric. Food Chem.*, V. 51, (2003), 3197-3207.
323. Cox S. D., Mann C. M., Markham J. L., Bell H. C., Gustafson J. E., Warmington J. R., & Wyllie S. G., "The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil)", *J. Appl. Micro.*, V. 88, (2000), 170-175.
324. Mahmoud S. A., Belal M. H. & El-Baroty G., "Fungicidal activity of *Artemisia herba alba* Asso (Asteraceae)", V. 41, n°3, (2006), 237-244.
325. Faleiro M. L., Miguel M. G., Ladeiro F., Vanancio F., Tavares R., Brito J. C., Figueiredo A. C., Barrosa J. G. & Pedro L. G., "Antimicrobial activity of essential oils isolated from *Portuguese endemic* species of *Thymus*", *Lett. Appl. Microbiol.*, V. 36, (2003), 35-40.
326. Deba F., Dang Xuan T., Yasuda M. & Tawata S., "Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn var. *Radiata*", *Food Control*, V. 19, (2008), 346-352.
327. Weerakkody N. S., Caffin N., Turner M. S. & Dykes G. A., "In vitro antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria", *Food Control*, V. 21, (2010), 1408-1414.
328. Trombetta D., Saija A., Bisignano G., Arena S., Caruso S., Mazzanti G., Uccella N. & Castelli F., "Study on the mechanisms of the antibacterial action of some plant, β -unsaturated aldehydes", *Lett. Appl. Microbiol.*, V. 35, (2002), 285-290.
329. Satrani B., Ghanmi M., Farah A., Aafi A., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D. & Talbi M., "Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthus mixtus*", *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, V. 146, (2008), 85-96.
330. Pina-Vaz C., Gonsalves R. A., Pinto A., Costa-de-Oliveira S., Tavares C., Salgueiro L., Cavaleiro C., Gonsalves M. J. & Martinez-de-Oliveira J., "Antifungal activity of *Thymus pils* and their major compounds", *J. Eur. Acad. Dermatol.*, V. 18, (2004), 73-78.

331. Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A., Daferera D., Polissiou M. & Sokmen A., "Antioxidative activity of the essential oils of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* and *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *rosulans*", *Journal of Food Engineering*, V. 66, (2005), 447-454.
332. Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z. & Naghdibadi H., "Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste", *Food Control*, V. 18, (2007), 1518-1523.
333. Vimal V. & Aarathi J. S. B., "Superdisintegrants in Fast Disintegrating Drug Delivery Systems", *International Journal of Pharmacy*, V. 3, n°2, (2013), 380-385.
334. Oussalah M., Caillet S., Saicier L. & Lacroix M. A., "Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a pseudomonas putida strain isolated from meat", *Eat. Science*, V. 73, (2006), 236-244.
335. Okoh O. O. A. P. & Sadimenko A. J. A. "Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods", *Food Chem.*, V. 120, (2010), 308-312.
336. Hosni K., Hassen I., Chaâbane H., Jemli M., Dallali S. & Sebei H., "Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity", *Ind. Crop Prod.*, V. 47, (2013), 291-299.
337. Ivanovic J., Misic D., Zizovic I. & Ristic M., "In vitro control of multiplication of some food-associated bacteria by thyme, rosemary and sage isolates", *Food Control*, V. 25, n°1, (2012), 110-116.
338. Conforti F., Statti G., Uzunov D. & Menichini F., "Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated *Laurus nobilis* L. leaves and *Foeniculum vulgare* subsp. *Piperitum* (Ucria) coutinho seeds", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, V.29 ,n°10, (2006), 2056-2064.
339. Kulisic T., Radonic A., Katalinic V. & Milos M., "Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil", *Food Chem.*, V. 85, (2004), 633-640.
340. Koleva I. I., Van B. T. A., Linssen J. P. H., De Groot A. & Evstatieva L. N., "Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods", *Phytochemical Analysis*, V. 13, (2002), 8-17.

341. Wang R., Zhang J., Chen S., Lu M., Luo X., Yao S., Liu S., Qin Y. & Chen H., "Tumor-associated macrophages provide a suitable microenvironment for non-small lung cancer invasion and progression", *Lung Cancer*, V. 74, (2011), 188-196.
342. Kadri A., Zarai Z., Chobba B., Bekir A., Gharsallah N., Damak M. & Gadoura R., "Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from south-western of Tunisia", *J. Med. Plants Res.*, V. 5, n°29, (2011), 6502-6508.
343. MARTINS M. R., Tinoco M. T., Almeida A. S. & CRUZ-MORAIS J., "chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of three essential oils from portuguese flora", *Journal of Pharmacognosy*, V. 3, n°1, (2012), 39-44.
344. Santos-Sanchez N. F., Flores-Parra A., Valadez-Blanco R., Fernandez-Rojas B., Martinez-Vasquez J. B. & Salas-Coronado R., "Polyphenolic content, free radical scavenging activity and isolation of Tiliroside from *Heliocarpus terebinthinaceus* (*Tiliaceae*) Seeds", *Journal of Biological Sciences*, V. 14, n°5, (2014), 376-380.
345. Ladoh Y. C. F., Dibong S. D., Nyegue M. A., Djembissi T. R. P., Lenta N. B., Mpondo M. E., Yinyang J. & Wansi J. D., "Activité antioxydante des extraits méthanoliques de *Phragmanthera capitata* (*Loranthaceae*) récoltée sur *Citrus sinensis*", *Journal of Applied Biosciences*, V. 84, (2014), 7636-7643.
346. Bounatirou S., Smiti S., Miguel M. G., Faleiro L., Rejeb M. N. & Neffati M., "Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff. et link", *Food Chemistry*, V. 105, (2007), 146-155.
347. Okoh O. O., Sadimenko A. P., & Afolayan A. J., "Antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained by hydro-distillation and solvent free microwave extraction", *African J. Biotech.*, V. 10, n°20, (2011), 4207-4211,
348. Erdogan-Orhan I., Baki E., Senol S. & Yilmaz G., "Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities", *J. Serb. Chem. Soc.*, V. 75, (2010), 1491-1501.
349. Ghedadba N., Bousselsela H., Hambaba L., Benbia S. & Mouloud Y., "Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des feuilles et des sommités fleuries de *Marrubium vulgare* L", *Phytothérapie*, V.12, (2014), 15-24.

350. Houghton P. J., "Activity and constituents of Sage relevant to the potential treatment of symptoms of Alzheimer's disease", *Herbal Gram.*, V. 61, (2004), 38-54.
351. Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissiodou M. & Sokmen A., "Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl)", *Food Chem.*, V. 84, n°4, (2004), 519-525.
352. Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A. & Ammar E., "Chemical composition and cytotoxic and antioxidant activities of *Satureja montana* L. essential oil and its antibacterial potential against *Salmonella spp.* Strains", *Journal of Chemistry*, (2013), 9.
353. Raskovic A., Milanovic I., Pavlovic N., Cebovic T., Vukmirovic S., Mikov M., "Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential", *BMC Com. Alt. Med.*, V. 14, (2014), 225.
354. Moghaddam A. M. D., Shayegh J., Mikaili P. & Sharaf J. D., "Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria", *J. Med. Plants Res.*, V. 5, n°15, (2011), 3453-3456.
355. Aouadi D., Giuseppe L., Valentina V., Nasri S., Daniela M. R. B., Abidi S., Priolo A. & Ben Salem H., "The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils", *Meat Science*, V. 97, (2014), 237-243.
356. Alaoui C. J., El Bouzidi L., Bekkouche K., Hassani L., Markouk M., Wohlmuth H., Leach D. & Abbad A., "Chemical Composition and Antioxidant and Anticandidal Activities of Essential Oils from Different Wild Moroccan *Thymus* Species", *Chem. & Biodiv.*, V. 9, n°6, (2012), 1188-1197.
357. Kasrati A., Alaoui J. C., Fadli M., Bekkouche K., Hassani L., Wohlmuth H., Leach D. & Abbada A., "Antioxidative activity and synergistic effect of *Thymus saturejoides* Coss. essential oils with cefixime against selected food-borne bacteria", *Industrial Crops and Products*, V. 61, (2014), 338-344.
358. Wang W., Wu N., Zu Y. & Fu Y., "Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components", *Food Chemistry*, V. 108, (2008), 1019-1022.

359. Bouzid W., Yahia M., Abdeddaim M., Aberkane M. C. & Ayachi A., "Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de *l'aubepine monogyne*", *Lebanese Science Journal*, V. 12, n°1, (2011), 59-69.
360. Rachad A., Katim A., Elhoucine B., Abdelaziz B. & Yahia C., "Psychostimulant activity of *Rosmarinus officinalis* essential oils", *Journal of Natural Products*, V. 5, (2012), 83-92.
361. Lucimara R. D. F., Clarissa S. L., Fabio F. P. & José C. T. C., "Anti-inflammatory and antinociceptive activities of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)", *International J. Pharma. Sci. Rev. and Res.*, V. 7, n°2, (2011), 1-8.
362. Gazengel J. M. & Orecchioni A. M., "Le préparateur en pharmacie-Guide théorique et pratique", 2^{ème} Edition, (2013), 1761.
363. Vigan M., "Les huiles essentielles « leur retour et leur toxicité", John Libbey Eurotext, (2009), 391.
364. Vaubourdolle M., "Toxicologie science mathématiques, physiques et chimies ; Pharmacie biologie : concours de l'internat, formation continue", Wolters Kluwer, Tome I, 3^{ème} Edition, (2007), 6-7.