

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
MINISTERE DE L'ENSEIEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA



Faculté des Science de la Nature et de la Vie  
Département de Biotechnologie

**MEMOIRE**

En vue l'obtention du Diplôme de Master en Science de la Nature et de la Vie  
Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes

**THEME**

Evaluation de l'activité antibactérienne et de l'activité antioxydante des huiles  
essentielles des feuilles de Romarin *Rosmarinus officinalis*

**Présenté par :**

Zemour manel

Henne aicha

**soutenu le :** 15 / 09 /2020

**Devant le jury composé de :**

Mr Bendali A	USDB	MAA	Président
Mme GHANAI R	USDB	MAA	Promotrice
Mme Arrar	USDB	MAA	Examinatrice

Année universitaire :2019/ 2020

# Sommaire

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

DEDICACE

REMERCIEMENT

Résumé

INTRODUCTION.....1

## **Partie 1 : étude bibliographique**

### **Chapitre 1 : le Romarin**

1.difinition .....4

2.description botanique.....4

3.Reprtition géographique.....5

4. Usages.....6

5.Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.....8

6.Toxicité et précaution d'emploi.....8

### **Chapitre 2 : les huiles essentielles**

1. Définition.....10

2.Activité biologique.....10

3. Composition chimique .....11

4. Rôle des huiles essentielles.....12

5. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....13

6. Méthodes d'extraction.....14

7. Domaine d'application des huiles essentielles .....17

8. Toxicité des huiles essentielles.....18

9. Conservation ..... 19

10. Activités biologiques des huiles essentielles.....	20
11. Activité antimicrobienne des huiles essentielles .....	20
12. Activité antioxydant des huiles essentielles.....	22

## **Partie2 : étude expérimentale**

### **Chapitre 1 : Matériels et méthodes**

1.Matériels.....	26
2.Méthodes.....	27
3.Screening phytochimique.....	27
4.Extraction des huiles essentielles.....	29
5.calcul de rendements.....	31
6.Propriétés physico-chimique .....	32
7.Etude de pouvoir antibactérien de l'HE .....	32
8.Etude de pouvoir antioxydant de l'HE .....	34

### **Chapitre 2 : Résultats et discussions**

1.Rendement des huiles essentielles.....	38
2.Détermination des indices physicochimiques .....	38
3.Screening phytochimique.....	39
4.L'activité antimicrobienne .....	40
5. Activité antioxydant .....	42
Conclusion .....	46

Références bibliographique

Annexe

## Liste de figure

<b>Figure 1</b> : <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	4
<b>Figure 2</b> : Fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	5
<b>Figure 3</b> : Fleurs et feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	6
<b>Figure 4</b> : montage d'hydrodistillation.....	15
<b>Figure 5</b> : feuille de romarin.....	26
<b>Figure 6</b> : <i>Rosmarinus officinalis</i> L à sécher. ....	29
<b>Figure 7</b> : Montage d'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile.....	30
<b>Figure 8</b> : Huile essentiel de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	30
<b>Figure 9</b> : Récupération des huiles essentielles.....	31
<b>Figure 10</b> : HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. Obtenue par hydrodistillation.....	38
<b>Figure 11</b> : pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'acide ascorbique .....	42
<b>Figure 12</b> : Activité antioxydant des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> par le test DPPH de la région Mostaganem.....	43
<b>Figure 13</b> : L'activité antioxydant des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. par le test DPPH de la région Relizane.....	43

## Liste de tableau

<b>Tableau 1</b> : Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur fonction chimique.....	10
<b>Tableau 2</b> : résultats des différentes réactions de screening phytochimique.....	39
<b>Tableau 3</b> : résultats de zone d'inhibition de deux régions.....	40
<b>Tableau 4</b> : IC50 et inhibition maximales des huiles essentielles et de l'acide ascorbique par la méthode de DPPH.....	44

## Liste des abréviations

**HE** : l'huile essentielle

**BHA** : antioxydant de l'hydroxyanisole butylé

**BHT** : l'hydroxytoluène butylé

**Rdt** : Rendement

**HIV** : Virus de l'Immunodéficience Humaine

**CPG** : chromatographie en phase gazeuse

**CPG-SM** : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

**RMN** : La résonance magnétique nucléaire

**VMHD** : Vacuum Microwave Hydrodistillation

**L'IE** : indice d'ester

**E. coli** : Escherichia coli

**C3GR** : céphalosporines de 3ème génération

**SARM** : staphylocoques dorés résistants à la méticilline

**BLSE** : betalactamases à spectre élargi

**DPPH**: Diphényl Picrylhydrazyle

**FRAP**: Ferric Reducing Antioxidant Power

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**DMSO** : di-méthylsulfoxyde.

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux être le plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour

Pour nous couvrir de leur amour, mes parents.

A mon père **ABD GHAFAR** pour son patient avec moi et son encouragement.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère **ALIFA**.

Que le bon ALLAH vous garde en bonne santé.

Je dédie aussi ce modeste travail :

A ma sœur : **IBTISSEM** et son marie **AYOUB** et ma nièce **ALAA**

A mes très chers frères : **WALID** et **ABD SAMED**.

A mes grand-pères et mes grand-mères A mes ancles et mes tantes Ainsi que pour toutes

mes amies surtout mon très chère **RADJA** et **IHCEN, FATIMA** qui

M'ont accompagné toutes ces circonstances amour terme et de

Dévotion leur aidée et encouragée pendant cette Période de thèse.

A mon binôme **ZEMOUR MANEL**

A toute Promotion Biotechnologie et Valorisation des Plantes.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

**HENNE AICHA**





## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à...

*A ma chère maman KHDIDJA qui m'a encouragé et de ma donner tout son amour durant*

*Toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu.*

*A mon père **LAKHDER** pour son patient avec moi et son encouragement*

**« Pour vos mains qui ont tant travaillées, Pour votre cœur qui m'a tant donné Pour votre  
sourire qui m'a tant réchauffé, Pour vos yeux qui furent parfois mouillés, Pour vous qui  
m'avez tant aimé »**

A mon marié **HAMZA** pour sa compréhension, ses encouragements pendant toutes mes  
années universitaires et ma source de bonheur ma petite fille que j'aime trop **CIRINE**

*A mes très chères sœurs **ASMA ET BOCHERA**, les deux qui m'ont arrosé la vie par son  
sourire, son humeur et son amour.*

*A mon frère **MOHAMED NADJIB**, vous êtes toujours mon point de fort et ma force.*

A la mémoire de mon très cher grand père **CHERIF SIDI YAKHLEF**

Je ne saurais exprimer mon grand chagrin en ton absence. J'aurais aimé que tu sois à mes  
côtés ce jour.

*A ma très chère grand-mère **DJAMILA**, qui m'a soutenu toujours avec ses prières.*

*A mes tantes et ancles.*

*vous étiez toujours là pour m'encourager dans mon cursus.*

A mon binôme **HENNE AICHA.**

*A toute ma grande famille, mes enseignants, mes amies et tous ceux que j'ai connu durant  
mon cycle d'étude.*

**ZEMOUR MANEL.**



## Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Il est difficile d'exprimer, en quelque ligne, no remerciement à l'égard de notre encadreur de mémoire, Mme Ghanai maitre assistance à l'université de Blida, pour l'orientation, la confiance, la patience qui ont constitué un rapport considérable sans le quel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, pour ces bonnes explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche et collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury Mr Bendali. Et Mme Arrar. De m'avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer ce travail.

Je remercie aussi les techniciennes de laboratoire de recherche de l'Université Saad Dahlab Blida

Mes sentiments de profonde gratitude vont à nos professeurs qui nous ont enseigné Durant tous nos études.

Mes remerciements s'adressant aussi à tous ceux qui m'ont accompagné tout au long de mes études.

A tout le personnel du département de Biotechnologie.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Résumé

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante largement utilisée en cosmétique, des produits de beauté et agroalimentaires. Cette étude a pour but d'évaluer l'activité antibactériennes et l'activité antioxydante des huiles essentielles du Romarin.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation de type cleverger. D'après les résultats obtenus on remarque que le rendement en HE est de l'ordre de 0.38% ce résultat est conforme aux normes.

Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. Présente un effet antimicrobien intéressante principalement contre *Escherichia coli* et *Staphilococcus aureus*.

Dans le but d'évaluer l'activité antioxydante, la méthode de réduction DPPH a été utilisée, Elle a démontré que les huiles essentielles étaient moins actives que l'acide ascorbique. Les valeurs IC50 étant de l'ordre 71.15mg/ml pour les huiles essentielles des plantes provenant de Mostaganem, 124.20mg /ml pour les huiles des plantes provenant de Relizane et 0.089mg/ml pour l'acide ascorbique. D'après les résultats obtenus, les huiles essentielles obtenues possèdent un pouvoir réducteur importants.

Mots clés : huile essentielle, activité antibactérienne, analyses physicochimiques, *Rosmarinus officinalis*.L.

## Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is a plant widely used in the manufacture of cosmetics, beauty products and some food products. This study aims to evaluate the antibacterial activity and the antioxidant activity of the essential oils of Rosemary.

The extraction was carried out by distillation Clevenger's type apparatus .After result obtain we find that the revenue of essential oil is 0.38 % this value acceptable to norm.

The essential oil of *Rosmarinus officinalis.L* has an effect against interest mainly *Echirechia coli* and *Staphylococcus aureus*.

And in order to enhance the antioxidant activity, DPPH reduction method has been used, it has shown that essential oils were less active than ascorbic acid. IC50 values that result were 71.15mg / ml for essential oils Mostaganem and 124.20mg / ml for oils Relizane and 0.089mg / ml ascorbic acid. From the results obtained, the extracts obtained have a reducing power compared with antioxidants.

Keywords : essential oil, antibacterial activities, physico-chemical analyzes, *Rosmarinus officinalis.L*.

## ملخص

الاكليل هو نبات يستخدم على نطاق واسع في صناعة مستحضرات التجميل ومنتجات التجميل وبعض المنتجات الغذائية الغرض من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والنشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية لإكليل الجبل

لاستخلاص الزيوت الأساسية استعملنا التقطير بوا سطة (Clevenger) النتائج المتحصل عليها تقدر 0.38% ويعتبر هذا الاخير جد.مقبول حسب المعايير المعمول به.

تقدم الزيوت الأساسية ل *Rosmarinus officinalis* L

تأثيرًا مضادًا للميكروبات وهي ذات أهمية خاصة ضد *L'Escherichia coli et le Staphilococcus aureu*

من أجل تعزيز نشاط مضادات الأكسدة، تم استخدام طريقة دب ب حيث أثبتت أن الزيوت الأساسية كانت أقل نشاطًا هي 71.15 مجم / مل للزيوت الأساسية لمستغانم، 124.20 مجم / مل لزيوت IC50 من حمض الأسكوربيك. قيم ريليزان و0.089 مجم / مل لحمض الأسكوربيك. وفقًا للنتائج التي تم الحصول عليها، تتمتع المستخلصات التي تم الحصول عليها بقدرة كبيرة على الاختزال مقارنة بمضادات الأكسدة مثل حمض الأسكوربيك.

الكلمات الدالة: زيت اساسي، الانشطة المضادة للبكتيريا، التحاليل الفيزيائية والكيميائية، اكليل الجبل.

## INTRODUCTION

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'homme depuis l'antiquité. Leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum et de produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes sont la source principale de substances actives au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. **(Quezel, 1995)**.

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de composés, principalement terpéniques. Le terpène, molécule construite à partir d'entités isopréniques, constituent une famille très diversifiée, tant au niveau structural qu'au niveau fonctionnel. **(Paolini, 2005)**.

Selon certains auteurs les huiles essentielles possèdent des activités antibactériennes importantes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants.

Le romarin est une plante abondante en Algérie, elle existe à l'état spontanée comme peut être cultivée, elle est utilisée pour l'ornementation.

Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne **(Jones, 1998 ; Thoresen, 2003)**. Comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, cette plante contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes. L'utilisation de ces molécules à base de plantes peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels. C'est une des plantes médicinales les plus intéressantes dans la protection et la conservation de la santé.

Le romarin a fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Il possède des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques]. **(Gianmario, et al, 2007)**. Et une action sur le système nerveux. **(Gonzalez, 2007 ; Suzana, 2007)**

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle du romarin.

En vue de rendre compte de la démarche scientifique adoptée, ce manuscrit comportera trois parties.

Dans une première partie, une recherche bibliographique sera présentée sur l'espèce étudiée  
La deuxième partie du manuscrit présentera le matériel et les méthodes utilisés, Les résultats obtenus, suivis de la discussion puis la conclusion et les perspectives feront l'objet de la troisième partie, respectivement.



## **Partie bibliographique**

## I- Le Romarin

### 1-definition :

Le romarin (figure 1) connue sous son nom scientifique *Rosmarinus officinalis L.* est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage. Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien des contrées arides et rocailleuses. On le reconnaît aisément, toute l'année.

Le romarin possède d'excellentes propriétés anti-oxydante et antimicrobienne (**Jones, 1998 ; Thoresen, 2003**). Le romarin, comme toutes les plantes aromatiques et médicinales, contient des composés chimiques ayant des propriétés antibactériennes. L'utilisation de ces molécules à base de plantes peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels.

On utilise soit à l'état le plus souvent sous la forme desséchée, soit à l'état frais ; dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie.



Figure 1 : *Rosmarinus officinalis* (photo original) de la région de chiffa.

### 2- Description botanique :

**D'après Coste (1937)**, le romarin est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé. Les feuilles sont persistantes, coriaces, sessiles,

Linéaires, entières, enroulées par les bords, vertes et chagrinées en dessus, blanches-tomenteuses en Dessous.

Les fleurs (figure 2) sont subsessiles, rapprochées en petites grappes axillaires et terminales ; calice en cloche, bilabié, pulvérulent, nu à la gorge, à lèvre supérieure ovale entière, l'inférieure à 2 lobes lancéolés ; corolle bilabée, à tube saillant, à lèvre supérieure en casque, bifide, l'inférieure à 3 lobes, le moyen très large et concave ; 2 étamines, à filets saillants, insérés à la gorge de la corolle, munis vers la base d'une petite dent ; anthères linéaires, à 1 loge ; carpelles obovales, lisses.



Figure 2 : Fleurs de *Rosmarinus officinalis*.

On reconnaît facilement le romarin à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous.

La floraison commence dès le mois de février (parfois en janvier) et se poursuit jusqu'en avril mai, La couleur des fleurs, varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à Fleurs blanches chez (*R. officinalis albiflorus*). Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tétrakène (de couleur brune).

### **3- Répartition géographique :**

Le romarin (figure2) est originaire du bassin méditerranéen. On le trouve principalement dans les terrains arides et ensoleillés, comme les garrigues, les maquis et les rocailles. Il n'apprécie pas une sécheresse trop importante mais se contente de l'humidité du littoral, d'où il pourrait tenir son nom (« rosée de mer » en latin). Il est répandu entre le niveau de la mer et 650

mètres (**Jean-Claude Rameau et al.,2008**), parfois jusqu'à 1 500 mètres d'altitude (**Panda,2009**).

Le Romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe (aux altitudes faibles), en Provence et en Corse (**Larousse, 2013**). Il remonte le long de la vallée du Rhône, sur les contreforts sud du Massif central (**Garnier,1961**) et parfois sur les causses de la région Midi-Pyrénées. Il se retrouve dans les garrigues, maquis, pelouses sèches ; souvent sur sols calcaires.

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (**Quezel et Santa, 1963**), le *Rosmarinus officinalis* est originaire du bassin méditerranéen (**Iserin et al., 2001**). Commun dans les maquis, les garrigues et les forêts claires, il est sub-spontané en plusieurs Endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (**Schauenberg et Paris, 1977**).m



Figure 3 : Fleurs et feuilles de *Rosmarinus officinalis*

#### **4-Usages :**

##### **4-1 Usage médicinal :**

###### **4-1-1 Voie externe :**

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusés dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies,

les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et bains de bouche (aphtes), ou elle est ajoutée à des bains stimulants.

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (**Dias et al ; 2000**).

#### **4-1-2 Voie interne :**

Le romarin est un stimulant, antispasmodique, cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans la catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies) (**Chang et al , 1977 ; Aqel, 1991 ; Leung et Foster,1996 ; Haloui et al, 2000**), un anti-VIH (**Paris et al,1993**) et anti-carcinogénique (**Offord et al,1995**).

#### **4-2 Parfumerie :**

L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne. On connaît en particulier l'eau de la Reine de Hongrie, alcoolat fréquemment utilisé au XVIIème siècle et qui pourrait avoir été conçu dès le XIVème siècle, dont le romarin était un des principaux composants. Le nom vient de la reine Elisabeth de Hongrie, qui l'aurait utilisé en 1378 à l'âge de 72 ans ; l'eau lui aurait rendu sa fraîcheur à tel point que le roi de Pologne l'aurait demandée en mariage (**Le Florentin, 1914 ; Gildemeister et Hoffmann, 1912**).

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fugères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. (**Calabres et al ,2000**), étudièrent la faculté des extraits de romarin à protéger la peau des lésions cutanées induites par les radicaux libres. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau.

L'essence est obtenue par la distillation des branches, de préférence en n'utilisant que les sommités fleuries. Elle contient notamment du bornéol (**Smallfield, 2001**), du 1,8 cinéol (**Cowan, 1999**) (ou eucalyptol), du camphène et du pinène. Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques.

### **5- L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L :**

Il existe différents chémotypes ou chimiotypes en fonction de l'origine géographique du Romarin. Pour avoir des HE dont la composition chimique est fiable et stable, la provenance devrait toujours être la même pour un CT donné. Ces différences chémotypiques sont déterminées chromosomiquement (**Siani, 1999**).

Les huiles essentielles ne contiennent pas de corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs (huile de tournesol, de maïs, d'amande douce, etc.). Il s'agit de la sécrétion naturelle élaborée par le végétal et contenue dans les cellules de la plante, soit dans les fleurs (ylangylang, Bergamotier, rosier), soit dans les sommités fleuries (tagète, lavande), soit dans les feuilles (citronnelle, eucalyptus), ou dans l'écorce (cannelier), ou dans les racines (vétiver), ou dans les fruits (vanillier), ou dans les graines (muscade) ou encore autre part dans la plante. (**Anton et Lobstein, 2005**).

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante. (**Bruneton, 1993**).

### **6- Toxicité et précaution d'emploi :**

L'emploi culinaire de Romarin, sous forme de feuilles ou d'HE (maximum 20 gouttes par jour) ne présente à priori aucune toxicité aiguë ou chronique (**Anton, 2005**). Les feuilles ont une faible toxicité mais cependant non négligeable. Elles ont une action très tonique presque excitante, empêchant le sommeil. Il est préférable d'éviter l'usage du Romarin de la fin de la journée au coucher (**Escuder et Ulmer, 2007**). L'extrait alcoolique de Romarin et la poudre de la plante ne sont pas toxiques ; les jeunes pousses peuvent être administrées sous forme de lyophilisat à une dose maximale de 22 g/kg.

L'HE de Romarin contenant du camphre (et de l'eucalyptol) n'est pas toxique mais peut engendrer des crises d'épilepsie **(Rombi,2007 ; Bruneton,2009)**.

L'utilisation traditionnelle du Romarin montre des effets possibles sur le développement de l'embryon ainsi que des épisodes abortifs **(Gigon,2014)**. C'est pourquoi pendant la grossesse et l'allaitement, il est recommandé par l'Agence européenne du médicament d'éviter de prendre des produits à base de Romarin (hors usage alimentaire). Cette Agence recommande également que l'utilisation des feuilles séchées de Romarin soit réservée aux enfants de plus de 12 ans et celle de son HE aux personnes de plus de 18 ans**(Gagnon,2010)**.

L'emploi des feuilles et sommités fleuries de Romarin est à éviter chez les personnes ayant des antécédents d'allergie ou d'hypersensibilité aux composés de la famille des Lamiacées, souffrant d'anémie par carence martiale. Elles sont à utiliser avec précaution chez les patients traités par anticoagulants, antiplaquettaires, diurétiques, hypotenseurs ou lithium en raison du risque d'interaction médicamenteuse **(Gigon 2014)**.

## II- Les huiles essentielles

### 1- Définition :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils et odorante, qui sont sécrètent par la plante aromatique. **(Kalemba, 2003)**, Elles sont obtenues à Partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de Tiges ou de fruits **(Burt, 2004)**, mais également à partir de gommess qui s'écoulent du tronc des Arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation, expression à froid, comme les agrumes **(Burt, 2004)**. De nouvelles techniques permettant d'augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l'extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression **(Santoyo et al, 2005)** ou l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes **(Kimbaris et al, 2006)**.

### 2- Activité biologique :

Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums **(Smallfield,2001)**.

**Tableau 01** : Classement et activité biologique de molécules aromatiques selon leur Fonction chimique**(Pibiri,2006)**.

<b>Composés Aromatiques</b>	<b>Propriétés</b>
<b>Phénols C6H6O</b>	<b>Stimulantes, Toniques AntiseptiquesBactéricides Fongicides, Anti-virale, Antiparasitaires Irritantes</b>
<b>Alcools Terpéniques</b>	<b>Anti-inflammatoires, Antiseptiques,Bactéricides, Fongicides, Anti-virale, Neurotoniques Ils agissent en dénaturant les protéines, Comme agents dedéshydratation</b>



<b>Aldéhydes Terpéniques</b>	<b>Antifongiques, Sporocidas, Toxicité liée à la présence du groupe aldéhyde insecticide</b>
<b>Ether-oxides, Péroxyde</b>	<b>Antibactériens, Antifongiques, Insecticides L'ascaridole est fortement réactif et toxique (par la liaison –O-O-)</b>
<b>Cétones</b>	<b>Calmantes, Antivirales, Antifongiques Neurotoxiques Antiépileptique</b>
<b>Hydrocarbures aliphatiques, sesquiterpènes</b>	<b>Fongistatique, Bactériostatique, Insecticides, Nematicide, Herbicide</b>

### **2-1 Activité antimicrobienne et antiparasitaire :**

Les terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977 a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinés jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% inhibent les bactéries.

Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles (**Cowan ,1999**).

### **3- Composition chimique :**

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (**Salzer, 1977**). La résonance magnétique nucléaire peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al,1995**).

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes (Buchanan et al., 2000). La classe des terpénoïdes est la plus variée au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq

carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Ainsi, les monoterpénoïdes (C<sub>10</sub>) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C<sub>15</sub>) sont formés par l'association de trois isoprènes. Les mono et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles.

Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle.

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées. Une liste, visant à classer les constituants des huiles essentielles en fonction de l'intensité de leur activité, a d'ailleurs été établie (**Kalemba, 2003**).

Les composés carbonylés, appartenant aux familles chimiques des aldéhydes et des cétones sont également décrits comme très actifs. Le cinnamaldéhyde (Figure 3d), principal constituant de l'huile essentielle, et la caravone (Figure 3e), qui entre dans la composition de l'huile de menthe poivrée, font partie de ce groupe.

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. Les terpènes se rencontrent également chez les Métazoaires (phéromones et hormones sesquiterpéniques des Hexapodes, diterpènes-d'organismes aquatiques (Cnidaires, Eponges).

## **4- Rôle des huiles essentielles**

### **4-1 Rôle physiologique :**

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (**RaiM,2003**).

Il y a beaucoup de spéculation au sujet du " rôle " d'huiles essentielles des plantes.

Certainement plusieurs effets apparents " utiles " ont été décrits : réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux **(Porter ,2001)**.

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour repousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques. **(Maloine ,1979)**.

#### **4-2 Rôle thérapeutique :**

Les huiles essentielles, reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, agissant sur la personne dans sa globalité **(ORANGES, et al ;1973) (ABRASSART, J.L.1992)**

Les huiles essentielles possèdent des propriétés thérapeutiques variées :

- Remédient aux problèmes respiratoires. Diminuent la tension nerveuse **(LEMIRE,2000)**
- Améliorent la circulation sanguine.
- Aident le corps à traiter les impuretés.
- Soulagent la nervosité et les douleurs rhumatismales.

Il semble que les huiles essentielles extraites de certaines aromatiques ont un rôle important dans notre vie soit physiologique ou bien thérapeutique, sans oublier le rôle biologique de ces huiles (inhibiteurs des germinations et protecteurs les plantes des prédateurs insectes, champignons (PONOEL).

#### **5 - Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles :**

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène, Les principales caractéristiques sont **(BRUNETON ,1999) :**

- Liquides à température ambiante. N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes

- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse
- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité. (ZABEIROU et I,2005).

## **6 -Méthodes d'extraction :**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales.

En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les huiles essentielles, huiles lourdes...). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées ; Les principales méthodes d'extraction sont :

### **6-1 Hydrodistillation :**

Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur, Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (figure 4).

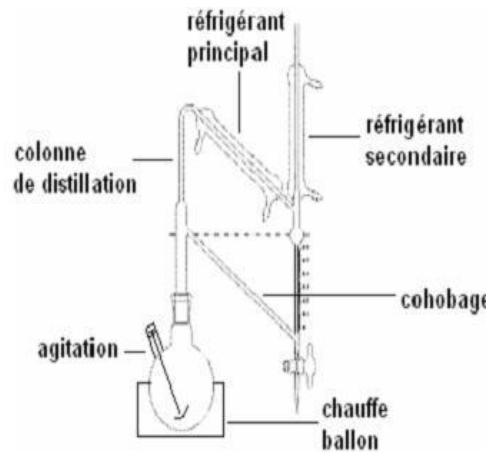


Figure 4 : montage d'hydrodistillation

Les eaux aromatiques ainsi prélevées sont ensuite recyclées dans l'hydrodistillateur afin de maintenir le rapport plante/eau à son niveau initial.

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait. **(BELKHIR,2015)**

#### **6-2 Entraînement à la vapeur d'eau :**

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. **(BELKHIR,2015).**

### **6-3 Hydrodiffusion :**

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Cette technique relativement récente et particulière. Elle exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. Elle consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale.

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils, et de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur. **(BELKHIR,2015)**

### **6-4 Extraction assistée par micro-onde :**

Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Vacuum Microwave Hydro distillation (VMHD). Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les microondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires.

L'ensemble est chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement.

L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'obtenir un bon rendement d'extrait. **(Wang et al,2006).**

### **6-5 L'expression à froid :**

Le procédé d'extraction par expression à froid est assurément le plus simple mais aussi le plus limité. Il est réservé à l'extraction des composés volatils dans les péricarpes des hespéridés ou encore d'agrumes qui ont une très grande importance pour l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes. Il s'agit d'un traitement mécanique qui consiste à déchirer les péricarpes riches en cellules sécrétrices. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau et reçoit tout le produit habituel de l'entraînement à la vapeur d'eau, d'où la dénomination d'huile essentielle **(Anton et al,2005).**

## **6-6 L'extraction par solvants volatils :**

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (**Kim et al ,2002**).

Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson.

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 bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances(**Hubert,1992**).

## **7- Domaine d'application des huiles essentielles**

### **7-1 En alimentation :**

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier).

A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane).

Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi (**Porter ,2001**).

### **7-2 En cosmétologie :**

Beaucoup d'huiles essentielles ont des propriétés intéressantes dans le domaine de la cosmétologie. C'est le cas par exemple :

- du basilic et du romarin à propriétés tonifiantes.
- du romarin et du thym qui ont des propriétés antipelluculaires.
- de la rose et de la lavande qui stimulent la régénération des cellules dermiques.

Actuellement, on préfère utiliser des produits naturels qui sont censés ne pas avoir d'effets secondaires graves par rapport aux produits de synthèse. En effet, il ne faut pas oublier que « naturel » ne signifie pas non toxique.

### **7- 3 En thérapeutique :**

Les huiles essentielles ont depuis longtemps été employées pour leurs effets thérapeutiques. Elles sont utilisées en particulier en raison de leurs vertus antibactériennes, telles l'action antiseptique des voies respiratoires des essences d'eucalyptus ou de niaouli.

Elles sont administrées par massages, inhalations, vaporisation ou dans le bain (**JEAN BOTTON,1999**).

### **8 -Toxicité des huiles essentielles :**

Alors que de nombreux ouvrages font référence à la toxicité de nombreux produits sur le marché, la toxicité des huiles essentielles est moins investiguée. La plupart du temps, sous le terme de toxicité sont décrites des données expérimentales accumulées en vue d'évaluer le risque que représente leur emploi. Les interactions de ces produits avec les médicaments sont aussi peu mentionnées (**Pibiri,2006**).

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

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

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



Certains auteurs (**Franchomme et al, 1990 ; Mailhebiau, 1994**) se basent sur la composition des huiles essentielles et les toxicités relatives des familles biochimiques auxquelles elles appartiennent (**Franchomme ,1990 ;Maihebiau,1994**).

Certaines huiles essentielles se révèlent cytotoxique selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact (la toxicité du thym est augmentée par contact en phase liquide et réduite en phase gazeuse, alors que c'est l'inverse pour la lavande (**Inouye,2003**).

## **9- Conservation des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons.

Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés (**RAYNAU,2006**).

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE. (**AFNORNF T 75-006**)

- le mode de culture et de récolte de la plante : sauvage ; semi-sauvage (plante transplantée et laissée à son développement dans son nouveau biotope) ; culture biologique (label AB, l'organisme certificateur doit être spécifié) ; culture non biologique.

- les analyses et contrôles réalisés en laboratoire : examen organoleptique ; analyses physiques ; analyses chimiques ; chromatographies en phase gazeuse et sur couche mince (**Faucon,2012**), La norme AFNOR (association française de normalisation) utilise la dénomination latine et spécifie les caractères physicochimiques. Elle constitue, avec les Pharmacopées, la référence appliquée par les organismes de contrôle (**Raynaud, Blanchet ,2006**).

## **10- Activités biologiques des huiles essentielles :**

Le rôle physiologique des huiles pour le rôle végétal est encore inconnu. Cependant, la diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et propriétés biologiques.

Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les huiles essentielles de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium* (**Siani et al, 1999**).

Certaines huiles essentielles présentent des activités anti-tumorales et sont utilisées dans le traitement préventif de certains types de cancers. L'huile essentielle isolée des graines de *Nigella arvensis* L., démontre une activité cytotoxique in vitro contre différentes lignées tumorales. In vivo, elle limite la prolifération des métastases hépatiques et retarde la mort des souris ayant développé une tumeur P815 (**Mbarek et al, 2007**). L'huile essentielle de *Melissa officinalis* s'est, quant à elle, révélée efficace contre des cellules de lignées cancéreuses humaines, incluant des cellules leucémiques HL-60 et K562 (**De Sousa et al, 2004**).

D'autres applications médicales ont fait l'objet d'études. Les travaux réalisés par **Oussou (2009)**, ont prouvé la capacité de l'huile essentielle de *Ocimum canum* à limiter la formation d'ulcères gastriques induits par l'éthanol. (**Monti et al, 2002**) ont montré que les huiles essentielles facilitent la pénétration transdermique de substances médicamenteuses lipophiles, comme l'oestradiol. Des travaux tentent également d'analyser les effets des huiles essentielles sur le comportement (**Umezu, 1999**) ou d'évaluer la possibilité de les utiliser dans la lutte contre l'addiction de certaines drogues, comme la nicotine (**Zaho et al, 2005**).

## **11- Activité antibactérienne :**

Depuis l'antiquité, les extraits aromatiques de plantes ont été utilisés dans différentes formulations, comme les médicaments et la parfumerie (**Heath, 1981**). Les huiles essentielles ont été considérées comme agents antimicrobiens les plus efficaces dans ces plantes.

Les qualités microbiologiques des plantes aromatiques et médicinales sont connues. Toutefois, la première mise en évidence de l'action des huiles essentielles contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (**Boyle, 1995**). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (**Burt, 2004**).

Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques.

Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi, 2012**). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques (**Oussou et al, 2009**). Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al, 2006 ; Oussou, 2009**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Toutefois, les bactéries à Gram négatif paraissent moins sensibles à leur action et ceci est directement lié à la nature de leur paroi cellulaire (**Burt, 2004**). Il existe cependant quelques exceptions. Les bactéries Gram à Gram négatif comme *Aeromonas hydrophila* (**Wan et al, 1998**) et *Campylobacter jejuni* (**Wannissorn et al, 2005**) ont été décrites comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles.

La bactérie reconnue comme la moins sensible à leur effet reste néanmoins les bactéries à Gram négatif comme *Pseudomonas aeruginosa* (**Dorman, 2000**). En fait, 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 perméabilisant de la membrane externe, des substances inactives contre *Pseudomonas aeruginosa* deviennent actives (**Mann et al, 2000**). Il semble que cette souche se révèle résistante à un très grand nombre d'huiles essentielles (**Hammer et al, 1999 ; Deans et Ritchie, 1987**).

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles. **Oussou en 2009** a étudié les propriétés antibactériennes de quelques huiles essentielles issues de la pharmacopée traditionnelle ivoirienne, *Ocimum gratissimum*, *Ocimum canum*, *Xylopiya aethiopica*, *Citrus aurantifolia*, *Lippia multiflora*, et *Monanthon taxia capea*.

Les huiles essentielles de ces plantes se sont révélées efficaces contre les bactéries multi-résistantes notamment les *E. coli* résistants aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3GR), *E. coli* productrice de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) et staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM).

## **12- Activité antioxydante des huiles essentielles :**

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Walker et al, 1982**).

Les dommages cellulaires médiés par le stress oxydatif et par les espèces réactives de l'oxygène ont été impliqués dans le développement de diverses maladies chroniques humaines telles que la maladie de Crohn, les maladies cardiovasculaires, certains cancers et certaines maladies neurodégénératives. Au niveau cellulaire, les cellules soumises à un stress oxydatif peuvent entraîner un dysfonctionnement métabolique grave, notamment une peroxydation lipidique, une oxydation des protéines, une rupture des membranes et des lésions de l'ADN.

La famille des Lamiacées contient des quantités substantielles de composés phénoliques (y compris l'acide rosmarinique et l'acide caféique) qui peuvent protéger les tissus contre les dommages induits par O<sub>2</sub> et donc réduire le risque de maladies chroniques humaines (**Aherne,2007**) (**Erkan et al ,2008**).

### **12-1 Méthodes d'évaluation in vitro des propriétés antioxydants :**

L'examen des données bibliographiques fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante. Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons ceux couramment cités et qui ont été utilisés au cours de notre étude : la méthode au DPPH (Diphényl Picrylhydrazyle) et la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

#### **La méthode de DPPH :**

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque (**Cotelle et al, 1996 ; Trouillas et al, 2003**), le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant (donneurs de proton); le radical DPPH est réduit en formant une

liaison moléculaire stable. Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition.

#### **La méthode de FRAP :**

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de prooxydants. Parmi ces métaux, le cationferrique  $Fe^{3+}$  est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale. Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante. L'activité antioxydante, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo-réduction ; la méthode FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique.

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode **(Hinneburg adaptée par Lamien- Meda et al. En 2008)** Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique  $[(Fe(III)-TPTZ)]$  de couleur jaune en complexe ferreux  $[(Fe(II)-TPTZ)]$  de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron. La variation de la coloration est mesurée 700 nm.

## **Partie expérimentale**

## **Matériels et méthodes**

Notre travail consiste à l'étude de l'effet antibactérienne et antioxydant des huiles essentielles de la partie aérienne des échantillons de *Rosmarinus officinalis* L provenant de la région de Blida.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie de l'université Saad Dahleb de Blida.

## I. Matériels :

### I. 1. Matériel biologique

#### I.1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Rosmarinus officinalis* L(Figure5) Collectée au niveau de centre de Chiffa à Blida. La récolte a été réalisée le 12 /02/2020 la matinée.



Figure 5 : les feuilles de romarin



### **I.1.2 Présentation de la zone d'étude :**

La wilaya de Blida se situe au nord de l'Algérie. Elle comporte principalement une importante plaine : la Mitidja, zone agricole riche ; et d'une chaîne de montagnes au Sud : l'Atlas Blidien. Elle appartient à l'étage bioclimatique humide. Le site de prélèvement des échantillons se situe à Chiffra. **(MOUAS et al, (2017)**

Chiffra est une commune de la wilaya de Blida située à l'ouest de la wilaya de Blida, à environ 06 km à l'ouest de Blida, Elle appartient à l'étage bioclimatique humide.

### **I.1.3. Les souches bactériennes**

Pour l'évaluation de l'activité antibactérienne nous avons utilisé des souches qui font parties des microorganismes, Le support microbien est composé de :

- *Escherichia coli* (ATCC25922)
- *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC27853)
- *Staphylococcus aureus* (ATCC25923)

### **I.2. Matériel non biologique :**

L'ensemble des verreries, l'appareillage et les réactifs utilisés est mentionnés dans l'annexe.

## **II. Méthodes d'étude :**

### **II. 1. Test du screening phytochimique :**

Le but de ces tests est de connaître la composition en métabolite secondaires, ils ont effectué soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé **(Bouyer,1996)**.

#### **II. 1. 1.Préparation de l'infusé :**

A 5g de poudre végétale, sont ajoutés 50ml d'eau distillée bouillante, laissée infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps, après filtrer.

## II. 1. 2. Identification de quelques métabolites secondaires :

### ❖ Les anthocyanes :

A 5 ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque 1/2

L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

### ❖ Les tanins :

A 5ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 5%.

La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

### ❖ Les tanins catéchiques :

15ml d'infusé, sont additionnés à 7 ml de réactive de Stiasny (10 ml de formol a 40% et 5ml d'HCL concentré).

La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

### ❖ Les tanins galliques :

A 5ml d'infusé, sont ajoutés 2g d'acétate de sodium et quelques gouttes de FeCl<sub>3</sub>.

La réaction donne une coloration bleue foncé en la présence des tanins galliques.

### ❖ Les flavonoïdes :

A 5ml d'infusé, sont additionnés 5ml d'HCL. Un copeau de Mg et 1ml d'alcool iso amylique.

La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

### ❖ Les alcaloïdes :

Introduire 1g de poudre végétale dans un tube à essai. Ajouter 10ml d'acide sulfurique (10%)

Agiter énergiquement pendant 2 min et filtrer, ajouter 2 gouttes de réactif de Dragendorf .

Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

### ❖ Les glucosides :

A 2 ml de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique.

La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

❖ **Les mucilages :**

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneuse indique la présence des mucilages.

## **II.2. Extraction des huiles essentielles**

### **II.2.1 Préparation du matériel végétale :**

La partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L.* fraîchement récoltée a été étalée sur un papier journal, et placée sur une paille pour séchage à l'air libre, à l'ombre, à température ambiante pendant 25 jours. (Figure06)



Figure 06 : *Rosmarinus officinalis L* à sécher.

Après le séchage les échantillons sont coupés en petits morceaux et pesés à l'aide d'une balance précise. Les échantillons séchés vont servir pour l'extraction des huiles essentielles.

L'extraction a été réalisée par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'éthanol puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction. (TOURE Daouda ,2015)

## Principe

L'hydrodistillation, est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Elles passent par un réfrigérant à eau où elles sont condensées, puis sont récupérées dans un eppendorf. (Bruneton., 1999).

### II.2.2.2. Mode opératoire :

100g de plante séchée est introduite dans un ballon de 1L imprégné de l'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile ; en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles sont récupérées dans de petits flacons opaques et stockée à 4°C, jusqu'à son usage pour les tests chimiques et biologiques. (Figure 7)



Figure 7 : Montage de l'hydrodistillation employé pour l'extraction de l'huile.



Figure 8 : Huile essentiel de *Rosmarinus officinalis L.*



Figure 9 : Récupération des huiles essentielles

La distillation est répétée plusieurs fois et le volume global du distillat est estimé en (ml).

### II.2.3. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M$ ). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %

$M'$ : Masse d'huile essentielle en gramme.

$M$  : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme. **(AFNORNF)**

### **III. Propriétés de l'huile essentielle :**

L'observation à l'œil nu permet de définir les propriétés organoleptiques de notre HE telle que la : Couleur, l'odeur, l'aspect, et l'état.

### **IV. Etude de pouvoir antibactérien de l'HE :**

L'activité antibactérienne a été réalisée selon la méthode de l'aromatogramme. **(BELKHIR,2015).**

#### **Principe :**

Une suspension bactérienne de 18 à 24 heures de chaque souche antibactérienne est préparée avec de l'eau physiologique (NaCl). Des boîtes de Pétri contenant de la gélose de Mueller Hinton sont inoculées. A la surface de chaque boîte on dépose six disques de papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 10 µl de l'huile essentielle. L'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Cette méthode est dite l'aromatogramme. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole avec des disques standard de 10µg. Cette méthode est dite l'antibiogramme. Après 24 heures d'incubation, une zone ou un halo clair est présent autour du disque si l'huile essentielle inhibe le développement microbien. Dans la technique de diffusion il y a une compétition entre la croissance de la bactérie et la diffusion du produit à tester **(Guinoiseau, 2010).**

#### **Mode opératoire :**

##### **Ré-isolément des souches bactériennes**

On a fait un prélèvement des souches bactériennes qui sont testées par anse et ensemencées selon la méthode de stries sur une boîte de Pétri coulée par gélose nutritive puis incubé 18 à 24 heures à 37 °C, pour l'obtention des souches pures et jeunes.

##### **Préparation de l'inoculum :**

A partir des boîtes contenant les germes pathogènes on prélève quelques colonies isolées et incorporer dans 5 ml d'eau physiologique. Agiter et homogénéiser la suspension à l'aide de l'agitateur Vortex afin d'obtenir une suspension bactérienne

### **Préparation du milieu de culture :**

- Liquéfier les milieux de cultures Muller Hinton dans un bain Marie à 95 C° et garder en surfusion dans une étuve à 45°C.
- Coulée les milieux de culture gélosés sur les boites de Pétri à raison de 15 ml par boite.
- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition

### **L'ensemencement :**

Imbiber un écouvillon dans la suspension bactérienne. Puis on flotte l'écouvillon sur la totalité de la surface de MH, en haut et bas, en strie serrées, un étalement uniforme en nappe.

### **Dépôt des disques :**

- Prélever aseptiquement un disque stérile de 6 mm de diamètre avec une pince stérile.

Mettre en contact le bout du disque avec l'HE, qui va être absorbée par le disque par capillarité

- Déposer le disque ainsi imbibé d'HE à la surface de la gélose, au centre de la boite de Pétri.
- Laisser diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes.
- Incuber les boites à 37°C durant 24H.

### **Lecture de l'aromatogramme :**

L'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition d'un halo d'inhibitions de la croissance microbienne autour des disques contenant l'extrait à tester.

Le résultat de cette activité est exprimé par le diamètre de la zone d'inhibitions et peut être symbolisés par des croix. La souche ayant un diamètre :

- $D < 0.8\text{cm}$  : Souches résistante (-).
- $0.99\text{cm} \leq D \leq 1.4\text{cm}$  : Souches sensible (+).
- $1.5\text{cm} \leq D \leq 1.9\text{cm}$  : Souches très sensible (++)
- $D > 0.2\text{ cm}$  : Souches extrêmes sensibles (+++) (**Ponce ; Fritz et al, 2003**)

Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante.

**(Ponce ; Fritz et al, 2003)**

## **V. Etude de pouvoir antioxydant de l'HE :**

L'activité antioxydant a été évaluée par la méthode : DPPH

### **Principe :**

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par **(Burits et Bucar)**, où 50µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

### **Mode opératoire :**

#### **Préparation des dilutions de huiles essentielles**

Pour l'huile essentielle, une série de dilution de concentrations allant de 300mg /ml (solution A) a été préparée comme suit :

- On prend 300 µl d'huile essentielle par un micro pipette.
- On introduit cette quantité dans un tube à essai contenant 700 µl de méthanol.
- On prend 83 µl de la solution (A) dans un tube contenant 417 µl de méthanol

Des volumes de 166,259, et 332µl sont prélevés de la solution(A) et sont introduits respectivement dans des tubes contenant 334, 241, et 168 µl méthanol. Les concentrations finales sont de 50, 100, 150 et 200 mg /ml **(Bouguerra, 2012)**.

#### **Préparation des dilutions de la vitamine C :**

Les dilutions de l'acide ascorbique (M. 176.13 ; 99,7%) ont été préparées selon **Nikhat et al. (2009)** comme suit :



- On a pesé 0,013g de la vitamine C par une balance analytique.
- On a introduit cette quantité dans un tube à essai contenant 13 ml méthanol (solution A) (1mg /ml) ☒ On a introduit 50 µl de la solution(A) dans un tube contenant 450µl méthanol.
- On a introduit ensuite 100µl de la solution (A) dans un tube contenant 400µl méthanol.
- On a introduit 150µl de la solution (A) dans un tube contenant 350µl méthanol.
- On a introduit 200 µl de la solution (A) dans un tube contenant 300µl méthanol.

La concentration finale 0,0.1 ,0.2 ,0.3 ,0.4mg /ml

### **Mesure de l'activité anti radicalaire des huiles essentielles**

L'activité antiradicalaire des deux échantillons d'huile essentielle a été mesurée par la méthode décrite par **Archana et al.(2005) et Dung et al .(2008)** .Pour ce faire,100µl de chaque dilution d'huile essentielle préparée est introduit dans un tube à essai contenant 2,9ml d'une solution méthanol de DPPH de 0.004%(p /v) .Après 30 min d'incubation à l'obscurité et à une température ambiante, l'absorbance est mesurée à 517nm .Nous procédons de la même manière pour l'acide ascorbique .

Un contrôle négatif composé de 100 µl méthanol et de 2.9ml de la solution de DPPH est préparé.

### **Expression des résultats**

L'activité anti radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution méthanol de DPPH• (**Rashid et al., 2010**). D'après **Dung et al. (2008)** et **Eyob et al. (2008)**, le pouvoir de réduction est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PR = (AC - AE) / AC.100$$

PR : pouvoir de la réduction en % ;

AE : absorbance de la solution de DPPH en présence de l'huile essentielle ou de la vitamine C.

AC : absorbance de la solution de DPPH en absence de l'huile essentielle et de la vitamine C.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique, permet de calculer le paramètre CE50. Qui présente la « concentration Efficace » cette dernière est définie comme étant la concentration de l'huile essentielle (ou de la vitamine C) nécessaire pour réduire 50% de l'activité de DPPH (**Molyneux, 2004**).

Les valeurs CE50 moyennes ont été calculées graphiquement à partir de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des échantillons et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (**Portes, 2008**).

## **Résultats et discussions**

## 1-Rendement d'huile essentielle :

Le rendement des huiles essentielles des échantillons récoltés à Blida ( $0.386\% \pm 0.135$ )

Selon Les résultats Obtenus par MIMOUNI, (2016) Le rendement des huiles essentielles des échantillons récoltés à Relizan (0.57%)

Le rendement d'huiles essentielles de plante de la région de Relizane Est supérieur avec une valeur de l'ordre de (0.57%). Par rapport à l'huile essentielle de la région de Blida (0.38%).

Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, comme la nature du sol, la durée de séchage, le mode d'extraction. (ZABEIROU ; HACHIMOU 2005).

Nous avons aussi d'autres facteurs tel que la composition chimique et la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement, la saison (Marzouk et al., 2008 ; Medini et al.,2009).

## 2-Détermination des indices physicochimiques des huiles essentielles :

### 2-1- Propriétés organoleptiques :

L'HE de *Rosmarinus officinalis* L. est liquide, mobile, jaune clair avec une odeur caractéristique fraîche. (Figure 10)



Figure 10 : HE de *Rosmarinus officinalis* L. Obtenue par hydrodistillation

### 3. Le screening phytochimique :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la partie étudiée de la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composé.

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux et la poudre de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L* sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Résultats des différentes réactions du screening phytochimique.

Métabolites secondaires	Résultats
Glucosides	+
Anthocyanes	+
Flavonoïdes	+
Tanins	+
Tanins catechiques	-
Tanins galliques	+
Mucilage	+
<b>+ présence / - absence</b>	

- Les résultats de tableau 1 montrent la présence des Glucosides, Anthocyanes Flavonoïdes, tanins, Tanins galliques et Mucilage avec l'absence des Tanins catechiques.

- Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur l'extrait aqueux et la poudre de la partie aérienne de romarin de wilaya de Constantine montrent la présence des Glucosides, Flavonoïdes, tanins, Tanins galliques et Tanins catechiques. Avec l'absence des alcaloïdes.

**(Boumadjen,2018)**

#### 4- L'activité antibactérienne :

Nous comparons les résultats obtenus par (MOUAS et al,2017) de wilaya de Blida et Djelfa.

Tableau 3 : les résultats de zone d'inhibition de deux régions.

La région	Les souches	Diamètre de zone d'inhibition
Blida	<i>Echirichiacoli</i>	9.25 mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>	23.75 mm
	<i>pseudomonas aenuginosa</i>	-
Djelfa	<i>Echirichiacoli</i>	9.5 mm
	<i>Staphylococcus aureus</i>	16.75 mm
	<i>pseudomonas aenuginosa</i>	-

A partir les résultats des diamètres de zones d'inhibition, nous remarquons que HE de Romarin possède une activité antibactérienne contre les trois souches *E.coli* , *staphylococcus aureus* et *pseudomonas aenuginosa*, notamment sur la souche *E.coli* .

On remarque aussi le diamètre de zone d'inhibition des antibiotiques utilisées est plus grand que celui des zones d'inhibitions des dilutions d'HE.

Donc la souche *E.coli* et le *staphylococcus aureus* sont des souches sensibles à l'huile essentielle . *Pseudomonas aeruginosa* est résistante.

Les huiles essentielles des deux écotypes Blida et Djelfa ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* avec 23,75 mm et 16,75 mm respectivement.

Les résultats indiquent que l'huile essentielle de l'écotype Blida présente une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli* presque égale à celle de Djelfa, avec diamètre d'inhibition de 9,25 mm et 9,5 mm respectivement.

D'après les résultats aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée concernant la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats indiquent que l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L. des deux régions Blida et Djelfa possède une bonne activité contre les bactéries testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa*. Les données indiquent que les souches les plus sensibles aux huiles essentielles des deux écotypes Blida et Djelfa sont *Staphylococcus aureus* avec respectivement un diamètre de 23,75 mm pour Blida et 16,75 mm pour Djelfa. Par contre, on a trouvé les mêmes diamètres pour *Escherichia coli* qui sont respectivement 9,5 mm. **(MOUAS et al,2017)**

A partir de ces comparaisons on peut dire que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de Blida présente une activité antimicrobienne plus élevée que celle de Djelfa. Ainsi, on peut constater que l'activité antimicrobienne dépend de la qualité d'huile essentielle (écotype) d'une part et de la souche bactérienne elle-même d'autre part.

La sensibilité d'un microorganisme à l'huile essentielle dépend des propriétés de l'huile et le microorganisme. **(Kalemba ; et Kunicka , 2003).**

Lorsqu'on compare les degrés de sensibilité des souches *Staphylococcus aureus*, à Gram+ avec les autres à Gram- : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*, on trouve que ces résultats sont comparables à ceux confirmant que les bactéries à Gram+ sont plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries à Gram –. **(Poole, 2001).**

L'huile essentielle de romarin (Blida et Djelfa) ont montré une activité importante sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif, ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes. **(Burt, 2004).**

La grande résistance des bactéries Gram – à l'huile essentielle est liée à la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui contiennent une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram +.

Les résultats ont montré que les souches bactériennes testées sont plus ou moins sensibles vis-à-vis l'huile essentielle du romarin. Donc, on peut déduire que notre HE actifs sur les souches bactériennes testées, sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui est une bactérie résistante.

L'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. a permet de visualiser une action inhibitrice intéressante de l'huile essentielle. **(MOUAS et al,2017)**

## 5. Activité antioxydant :

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres par nos huiles essentielles, par utilisation de la méthode au DPPH. Ce radical libre présente une coloration violette, lorsqu'il est piégé par des substances antioxydante, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pale (Igwe, 2004).

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) (Alyafi,2007).

Nous montrons les résultats obtenus sur l'huile essentielle de romarin récolté à wilaya de Mostaganem et wilaya de Relizen. Obtenus par MIMOUNI, (2016)

Une courbe d'étalonnage a été tracée à partir des différentes concentration d'acide ascorbique (Figure11). (MIMOUNI,2016)

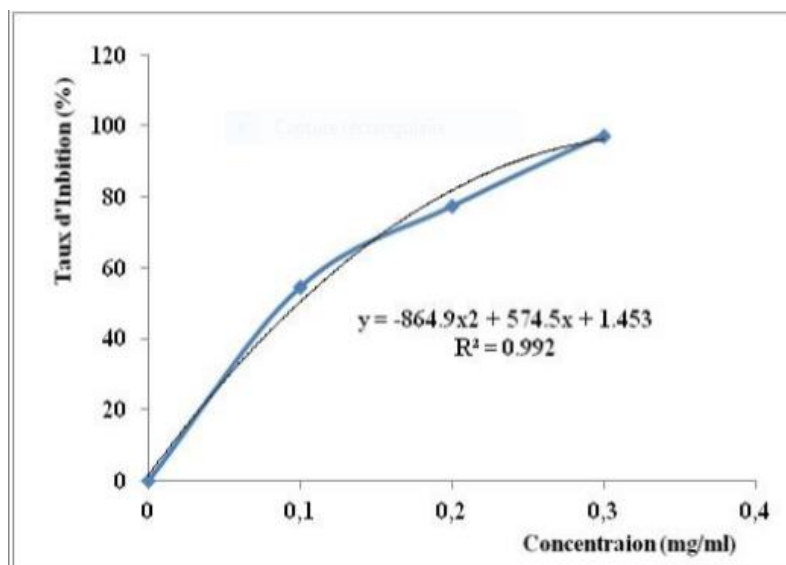


Figure 11 : pourcentage de piégeage des radicaux libre par l'acide ascorbique

La figure 11 montre que le pourcentage d'inhibition ou le piégeage des radicaux libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration de l'acide ascorbique.



Les courbes (11,12 ; 13) montrent que le pourcentage d'inhibition du radical DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des huiles essentielles des régions ; Mostaganem et Relizane de la plante étudiée jusqu'à un niveau maximal (**Motalleb et al., 2005**).

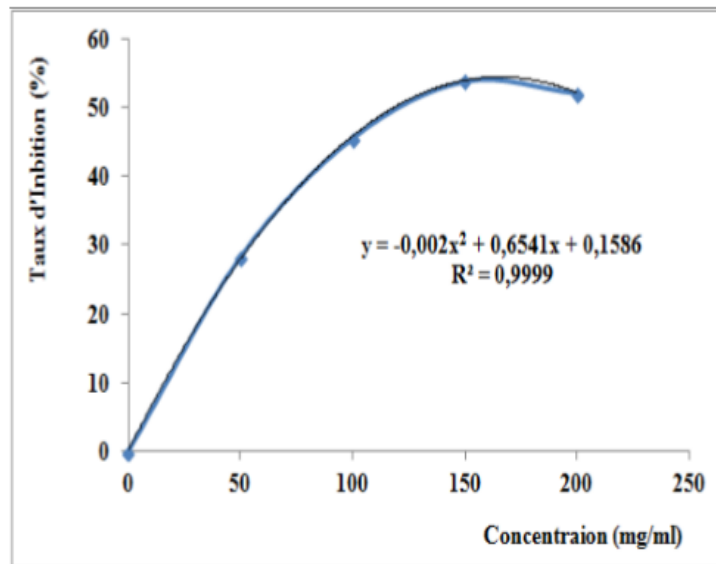


Figure 12 : L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* par le test DPPH de la région Mostaganem. (**MIMOUNI,2016**)

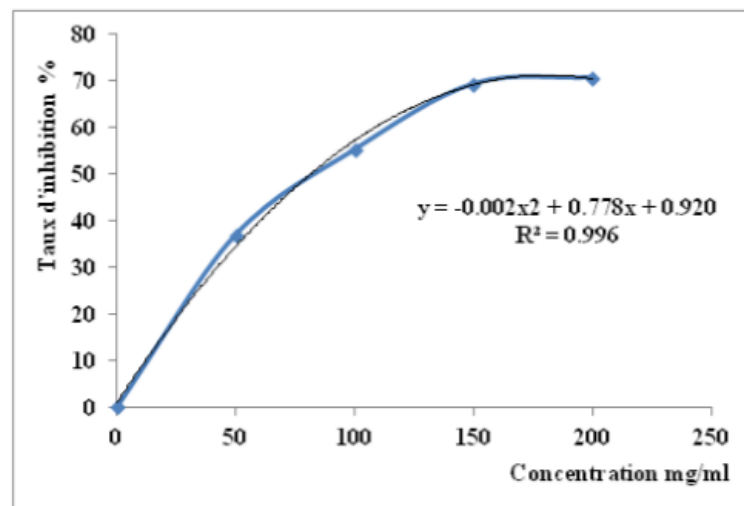


Figure 13 : L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. par le test DPPH de la région Relizane. (**MIMOUNI,2016**)

Selon **laib(2011)**, la IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande. Ceci nous permet de constater que pour les huiles essentielles de la plus faible valeur d'IC50 est celle de la région de Mostaganem avec une valeur de l'ordre 71.15±6.15 mg /ml, ce qui signifie que leur pouvoir antioxydant est plus grand que celui de la région Rélizane, leur valeur enregistrée est 124.20±16.63mg/ml. Toutefois, cette valeur reste élevée par rapport à celle de l'acide ascorbique qui est de (0.089± 0.013mg/ml). Il semble donc que ce dernier soit l'antioxydant le plus efficace (tableau2).

**Tableau 2** : IC50 et inhibition maximales des huiles essentielles et de l'acide ascorbique par la méthode de DPPH. (**MIMOUNI,2016**)

Echantillons	IC50(mg /ml)	I.max (mg /ml)
Les huiles essentielles de Mostaganem	71.15±6.15	70.68± 4.636 (à 200mg /ml)
Huile essentielle de Relizane	124.20±16.63	53.37±4.83 (à 150mg /ml)
Acide ascorbique	0.089±0.013	97.42 ± 0.11 (à 0.3mg /ml)

Chaque résultat constitue la moyenne des trois valeurs obtenues (n=3).

Pour le test DPPH, la concentration utilisée qui était de 200mg /ml a donné un pourcentage d'inhibition des huiles essentielles de Mostaganem de 70.68 % ± 4.636, par contre le pourcentage des huiles essentielles de Relizane est seulement 53.37%±4.83. Ceci est causé par plusieurs facteurs (climat, la composition chimique...etc.)

L'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* est principalement liée à la présence de poly phénols (**Ennajar et al., 2009 ;Nasri et al.,2011**).

Nous montrons aussi les résultats de romarin de wilaya de Msila obtenus par **(BELBEY,2014)**

L'HE de Romarin a montré une activité anti radicalaire très puissante avec IC50 de l'ordre de 0.121mg/ml ; supérieur aux antioxydants standards testés (BHA IC50 = 0.128mg/ml ; Ac Asc IC50 = 0, 22)

**Hussain et al. (2010)** montrent que l'IC50 d'HE du romarin est de 20.9µg/ml (0.02mg/ml)

La capacité antioxydant des HEs de plante est largement dépendante des composants antioxydants tels que l'acide carnosique, l'un des constituants phénoliques principaux du romarin, qui possède une activité antioxydant environ trois fois plus haute que le carnosol et sept fois supérieure que l'antioxydant synthétique (BHA) **(Nieto et al. ,2011)**.

D'après les trois résultats que on a montrés on remarque que L'HE de la région de Mostaganem avec une valeur de l'ordre 71.15±6.15 mg /ml, ce qui signifie que leur pouvoir antioxydant est plus grand que celui de la région Rélizane, leur valeur enregistrée est 124.20±16.63mg/ml et même pour la région de Msila 0.02mg/ml.

Cette différence peut être due à un facteur géographique et climatique

L'effet antioxydant des HE étudiés dépend, non seulement de la concentration, mais aussi du procédé d'extraction et du solvant **(Hernandez et al., 2009)**.

## Conclusion

Notre travail rentre dans le cadre de valorisation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie.

*Rosmarinus officinalis L.* est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen, qui pousse à l'état sauvage, elle est rependue dans les régions d'Algérie.

L'extraction des huiles essentielles par hydro-distillation, à partir des feuilles de romarin récoltés a Chiffra a donné un rendement légèrement plus élevé ( $0.386\% \pm 0.135$ )

Le screening phytochimique effectué sur l'extrait aqueux et la poudre des feuilles de *Rosmarinus officinalis L.*, a montré la présence des Glucosides, et Mucilage, Anthocyanes, Tanins galliques et Flavonoïdes, et l'absence des tanins catechiques.

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation est limpide, mobile, de couleur jaune clair avec une odeur caractéristique fraîche.

Les résultats obtenus par certains auteurs montrent que l'huile essentielle du Romarin possède un pouvoir antibactérien très important.

L'évaluation de l'activité antioxydante a permis de constater que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* Provenant des deux sites d'échantillonnage ..., possèdent des activités anti radicalaires plus au moins importantes.

Ce travail doit être complété par :

- Etude d'autre activité biologique de romarin.
- Identification de composé de l'huile essentielle par CG-MS.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

### A

**ABRASSART, J.L. (1992).** Guide pratique d'aromathérapie : usages et biens faits des huiles essentielles des plantes .95-98. Ed. Masson.

**AFNORNF T 75-006,** huile essentielle. Association française de normalisation. Paris. pp559-563.

**Avlessi F., Alitonou G.A., Djenontin T S., Tchobo F., Yèhouéno B., Menut C. & Sohounhloué D., (2012.)-** Chemical composition and Biological activities of the Essential oil extracted from the Fresh leaves of *Chromolaena odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3): 7-13.

**Aherne S.A., Kerry J.P,(2007).** and O'Brien N.M. Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 97 ; 321-8

**Anton R. & Lobstein A., (2005).** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris,522p

**Arslan D. and Musa Ozcan M. (2007).** Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosmarin leaves. *Energy Conversion and Management*.

**Atik bekkara, F., Bousmaha, L.,Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. ,(2007).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11

### B

**Botineau ,(2010),M.** Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris : Ed. Tec&Doc,1335p.

**Burt, S.A. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods: A review. *International Journal of Food Microbiology*. 94: 223-253

**Burt S., (2004).**Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.

**BRUNETON J. (1999)** Pharmacognosie : Phytochimie ; Plantes médicinales, 3ème éd. Lavoisier Paris : Technique et Documentation et Editions médicales internationales, 1120 p( 1993) .

**Boyle W., (1955).** - Spices and essential oils as perspectives. American Perfumer Essential Oil Review.66: 25-28.

**BELKHIRI FATIMA ZOHRA, (2015)** Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.*

**Bruneton J., 1999.-** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris

**BELKHIRI FATIMA ZOHRA,(2015)** Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* . (Méthode de l'hydrodistillation)

**Bruneton J.( 1993).** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. p: 915.

**Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. International Journal of Food Microbiology 94:223-253.

**(BELBEY Leila, 2014)**Activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis L.*, et son in vitro effet sur *Penicillium digitatum*.

## C

**CHANG S.S., OSTRIC-MANJASEVIC B., HSIEH O.L. et HUANG C.L., (1977 ):** Natural antioxidants from Rosemary and sage. J. Food Sci. Vol. 42, pp : 1102 – 1106.

**Cowan M. M,(1999).** Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical biology Reviews. 12 (4), 564–582.

## D

**DIAS P.C., FOGLIO M.A., POSSENTI A. et DE CARVALHO J.E., (2000)** : Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L., J. Ethnopharmacol. Vol. 69, pp : 57 – 62.

**DORMAN H.J. et DEANS S.G., (2000)** : Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. J. Appl. Microbiol., Vol. 88, pp : 308-316.

**De Sousa A.C, Alviano D.S, Blank AF, Alves P.B, Aliano C.S, Gattass C.R., (2004).**- Melissa officinalis L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 56: 677-681.

**Duke J.A, (1990).**- Promosing phytochemicals. In: advances in new crops. Janick J. and Simon. Timber press, Portland.491-498. Davidson P.M.,(1997).- Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In: M. P.

**Doyle, L. R. Beuchat and T. J. Montville** (eds.) ASM, Washington.Food Microbiology. 520-556 p.

## E

**Escuder O.2007**, Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 255p.

**Erkan N., Ayranci G., Ayranci E.(2008)**, Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. Food Chemistry, 110 ; 76-82

**EnnajarM.,BouajilaJ.,Lebrihi A.,Mathieu F.,Abderraba M.,Raies.,Romdhane M,(2009).**Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of essential oils and various extracts of *Juniperus phoenicea* L.(Cupressacees).J.Food.Sci,74(7),364-371P.

## F

**Franchomme P., Pénoel D. & Reverdy M.E,(1990).** Clefs pour l'aromathérapie. La molécule aromatique : matière, énergie, information.L'aromathérapie exactement. R.J. Editeur. Limoges.2,p :73-227 .



**Favier A., (2003).**- Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique. 108-115.

**Faucon M.(2012),** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale : fondements & aide à la prescription : monographies : huiles essentielles, huiles végétales, hydrolats aromatiques. Paris : Sang de la Terre et Médical, 879p.

## G

**Garnier G., Bezanger-Beauquesne L., Debraux G. (1961),**Ressources médicinales de la flore française. Tome II. Paris : Vigot Frères,1512p.

**Georgetti S.R., Casagrande R., Di Mambro V.M., Azzolini Ana ECS. and Fonseca Maria J.V., (2003).**- Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. American Association of Pharmaceutical Scientists. 2: 5p.

**Gonny M., Bradesi P. & Casanova J., (2004).**- Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy. Flavour and Fragrance Journal. 19: 424-433.

**Guinoiseau E.** Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option : Biochimie- Biologie moléculaire, France. 50p (2010) .

## H

**Heath H.B.,(1981).** Source Book of Flavours. Westport: Avi, pp.890.

**Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., (1999).**- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, Journal of Applied Microbiology. 86: 985–990.

**Hussain,A I; Anwar , F ; Ali Shahid ,S; Mahboob,S;et Nigam ,P,S. (2010)** Rosmarinus Officinalis essential oil: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. brazilian journal of microbiology ,41,1070-1078.

**Hernandez ,E ; Ponce-Alquicira ,E ; Flores,j ; et Legarreta, G(2009)** Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano(*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and colour of model raw pork batters *Meat Science* ,81,410–417.

## I

**I. Suzana, R. Katarina, G. Dusan, R. Mirjana. (2007).** A study of the synergistic antilisterial effects of a sub-lethal dose of lactic acid and essential oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L.. *Journal of Food Chemistry* 104, 774-782.

**Inouye S ,(2003).**Laboratory evaluation of gaseous essential oils (part 1). *International journal of Aromatherapy*. 45.p :22-35 .

**Igwe, D.,(2004).**Phytochemical Analysis of *Tetrapleura tetraptera*(Aidan tree),a Master's Degree project Submitted to the Departement of biochemistry/Biotechnology, Ebonyi State University, Abakaliki, Unpublished.

## J

**Jones C. (1998).** Rosemary's Whole-Plant Properties Counter Cancer. *Nutrition Sciences News* , 1- 4.

**J.Paolini** université de corse. (Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de corse .Discipline .Chimie organique et analytique.12-12-2005).

**J. Bruneton.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p915

**JEAN BOTTON (1999):** Pharmacognosie «Photochimie plante «médicinales 3eme éd TEC.DOC Paris. P484-p540 .

**Jean-Claude Rameau. (2008),** Flore forestière française : Région méditerranéenne.

## K

**Kalembe D. & Kunicka A., (2003).**- Antibacterial and antifungal properties of essential oils.

Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.

**Kimbaris A.C., Siatis N.G., Daferera D.J., Tarantilis P.A., Pappas C.S., Polissiou M.G., (2006)-**

Comparison of distillation and ultrasound-assisted extraction methods for the isolation of sensitive aroma compounds from garlic (*Allium sativum*). *Ultrason Sonochem.* 13: 54-60.

**Knobloch K., Pauli A., Iberl B., Weigand H. & Weis N., (1989).**- Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research* 1: 119-128.

**Kalembe D. et Kunicka A. (2003).**Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry* 10: 813-829.

## L

**L.S. Padua, N. Bunyapraphatsara, R.H.M.J. Lemmens,(1999).** Plant Resources of South-East Asia,p12 .

**Landis G.N. & Tower J., (2005).**- Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development.* 126: 365–379.

**LEMIRE, N. (2000).**Gazette thérapeutes, 26-30, Ed. Atlas . Larousse des plantes médicinales. Paris : **(Larousse, 2013)**, 335p.

**Loetscher Y., Kreuzer M. and Messikommer R.E.(2013),** Oxidative stability of the meat of broilers supplemented with rosemary leaves, rosehip fruits, chokeberry pomace, and entire nettle, and effects on performance and meat quality. *Poultry Science Association Inc* ; 92 ; 2938-48

**Laib I,(2011).**Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire de magister, Université de Constantine, 122P

## M

**M. E. Gonzalez, E. I. Pena, A. L. Martinez, J. Moreno, P. Guevara-Fefer, M. Deciga-Camps, F. L. Lopez-Munoz. (2007).** Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 111: 476-482.

**McVicar J.(2009),** La passion des herbes : aromatiques, culinaires, médicinales, cosmétiques et comment les cultiver. 3e ed. revue et augmentée. Laval (Québec) : Guy Saint Jean ed., 304p.

[28] **Monzie M. (2008),**Fiche technique Filière plantes aromatiques & à parfum - Romarin. Languedoc Roussillon, [en ligne]. Disponible sur : <[http://www.gard.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA30/Internet\\_CA30/Documents\\_Internet\\_CA30/Diversification\\_Fiches/Fiche\\_Romarin.pdf](http://www.gard.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA30/Internet_CA30/Documents_Internet_CA30/Diversification_Fiches/Fiche_Romarin.pdf)> (consulté le 22/03/2016) . Bruxelles : Ed. Amyris, 2012, 383p.

**MOIÑO M. I., MARTINEZ C., SOTOMAYOR J. A., LAFUENTE A., et JORDAN M. J.,**

**(2008)** : Polyphenolic transmission to segureño lamb meat from ewes dietary supplemented with the distillate from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) leaves. *J. Agri. Food Chem.*, Vol. 56, pp : 3363–336.

**MÖLLER K., (2008)** : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.

**MARIE ELISABETH LUCCHESI .(2005).** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23, 52.

**Maihebiau P ,(1994).** La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs. Lausanne. P : 635.

**MED-CHCLIST.Edition W.Greuter.H.M.Burdet(1986).-volume : 3;P2316. [43]**  
:<http://nature.jardin.free.fr/>

**Mbarek L.A., Mouse H.A., Elabbadi N., Bensalah M., Gamouh A., Aboufatima R0.,**

**Benharref A., Chait A., Kamal M., Dalal A., Zyad A.,( 2007).**- Anti-tumor properties of

**blackseed** (*Nigella sativa* L.) extracts. *Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research.* 40: 839-847.

**Monti D., Chetoni P., Burgalassi S., Najarro M0, Saetton M.F. & Boldrini E.,( 2002).**- Effect of different terpene-containing essential oils on permeation of estradiol through hairless mouse skin. International Journal of Pharmaceutics, 237: 209-214.

**Mann C.M., Cox S.D. & Markham J.L., (2000).**-The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (Tea tree oil). Letters in Applied Microbiology, 30: 294-297.

**MOUAS Y, BENREBIHA F, CHAOUIA CH, (2017)** ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIBACTERIENNE DE L'HUILE ESSENTIELLE ET DE L'EXTRAIT MÉTHANOLIQUE DU ROMARIN *ROSMARINUS OFFICINALIS* L. Revue Agrobiologia (2017) 7(1) : 363-370

**M. TOURE Daouda (2015)** ETUDES CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE QUATRE PLANTES AROMATIQUES MEDICINALES DE CÔTE D'IVOIRE

**Maataoui B.S.Hmyene A., Hilali S, (2006).** Activités anti-radicalaire d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*).Lebanese Science Journal, 7(1), 38P.

**Marzouk B.,Ben Hadj Fredj M.,Mastouri M.,Boukef k.,Mazouk Z,(2008).**Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. Journal of Food, Agriculture &Environment,6,78-82P.

**Motalleb G.,Hanachi P.,Kua S.H.,Fauziah O.,et Asmah R.(2005)** .Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in *Berberis vulgaris* fruit extract.JBiol Sci(5):648-663

**MIMOUNI MANSOURIA, (2016).** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane.

**Molyneux. P.(2004).** Use of DPPH to estimate antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol.Vol. 26 № 2. 212p.

## N

**Nieto ,G ;Huvaere ,K et Skibsted ,L, H(2011)** Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system.Eur .Food Res Technol ,233,11–18.

**Nikhat F., Satynarayana D. and Subhramanyam E.V.S., (2009).** Isolation, characterization and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygium cumini* (L) Skeel. Asian J. Research Chem. 2(2): pp. 218-221

## O

**Oussou K.R., (2009).** –Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

**ORANGES, R, PASSET, G. TEULADE. (1973).** Les plantes médicinales à essences et chimiotaxonomie, 17<sup>ème</sup> journée de l'aromate lourd, 12 mai 1973

**Ortuño J., Serrano R., Jordán M.J. et al. (2014),** Shelf life of meat from lambs given essential oil-free rosemary extract containing carnosic acid plus carnosol at 200 or 400 mg kg<sup>-1</sup>. Meat Science ; 96 ; 1452-9

## P

**Pincemail J. & Defraigne J.O. (2004).** – Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004.

**Pincemail J., Defraigne J.O. & Limet R. (2001).** – Vitamines, acides gras et prévention des maladies cardiovasculaires. Medi Sphère. 130 p.

**PONCE A. G., ROURA S. I., DEL VALLE C. E. ET MOREIRA M. R., (2008) :** Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: In vitro and in vivo studies. Postharv. Bio. Techno., Vol. 49, pp : 294–300.

**Porter N., (2001).** Essential oils and their production. Crop & Food Research. Number 39.

**PONOEL, D.** Urgences et soins intensifs en médecine aromatique intégrée. 255

**Pibiri M.C (2006).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. thèse de Doctorat, Lausanne, Canada, p:177.

**Pibiri P., (2005).** – Assainissement microbiologique de l'air et de systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat : Faculté Environnement Naturel, Architectural et Construit, EPFL (Suisse). 161p.

**Ponce A.G., Fritz R., del Valle C.E., Roura S.I.** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 36: 679–684,(2003).

**Poole K. (2001).** Multidrug resistance in Gram-negative bacteria. *Current Opinion in Microbiology* 4: 500-508.

**Panda, (2009)** Aromatic Plants Cultivation, Processing and Uses. Association Tela Botanica. Botanique : se former, identifier des plantes sauvages [en ligne]. Disponible sur : < <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-87128-synthese>> (consulté le 07/10/2015)

## Q

**Quezel P. et Medail F. (1995).** La région circumméditerranéenne, Centre mondial majeur de biodiversité végétale. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la Paléoécologie, France, 152-55.

## R

**Rai M.K., Acharya D. et Wadegaonkar P. (2003)** Plant derived-antimicrobials: Potential of Asteraceous plants, In: *Plant-derived antimicrobials:Current Trends and Future prospects*, Haworth press, N-York, London, Oxford. 165-185

**R. Anton. A. Lobstein. (2005),** Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522.

**R. Hubert, (1992),** Epices et aromates, Tec et Doc – Lavoisier, APRIA., Paris.

**RAYNAUD, J.(2006),** Prescription et conseil en aromathérapie Editions Lavoisier. 16. PAOLA, S

**Rahman A.U, Nasim S., Baig I., Jalil S., Orhan I., Sener B., Choudhary M.I. (2003).-**

Antiinflammatory isoflavonoids from rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86, 2-3 : 177-180.

**Raynaud J., Blanchet J-M.(2006),** Prescription et conseil en aromathérapie. Paris : Tec & Doc, 247p.

## S

**Smallfield( 2001)**, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. Crop & Food Research. Number 45, 4p.

**Svoboda K.P. & Hampson J. B., (1999)**.- Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>.

**Santoyo S., Caverro S., Jaime L., Ibanez E., Senorans F.J. & Reglero G., (2005)**.- Chemical composition activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. Journal of Food Protection. 68: 790-795.

**Salzer U.J., 1977**.- The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- acritical review. C.R.C Critical Reviews in Food Sciences and Nutrition. 9: 345-37.

**Siani A.C., Ramos M.F, Menezes-de-Lima O.J.R., Ribeiro-dos-Santos R., Fernandez-Ferreira E., Soares R.O., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimarae A.C., Zoghbi M.G. &**

**Henriques M.G.C., (1999)**.- Evaluation of anti-inflammatory-related activity of essential oils from leaves and resin of Protium. Journal of Ethnopharmacology. 66: 57-69

**Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A. (2006)**.- Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. Journal of Essential Oil Research. 18: 698-703.

**Surk K.I. & Nielsen P.V., (2003)**. - Antifungal activity of essential oils evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi. Journal Applied Microbiology; 99: 665-674.

**Sikkema J., De Bont J.A.M. & Poolman B., (1995)**.- Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. Microbiological Reviews 59: 201-222.

**Sevanian A., Nordenbrand K., Kim E., Ernester L., Hochstein P. (1990)**.- Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450.



Free Radical Biology and Medicine. 8: 145-152.

**Staub H., Bayer L. (1997)**, Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues. Paris : Grancher, 2013, 685p. (Collection: Le Corps et l'esprit (Paris.)

## T

**Tamer F.M.D., (2003).** – Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. Internal Medicine Articles.

**Thoresen M.A., Hildebrand K.S. (2003).** Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts. Aspects of accurate quantification. Journal of Chromatography A., 119-125.

**TYLER V.E., BRADY L.R. et ROBBERS J.E., (1976)** : Pharmacognosy. Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 171 p.

**Tomi F & Casanova J., (2006).**- <sup>13</sup>C NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae - a review. Acta Hort. 723: 185-192.

## U

**Ultee A., Bennik M.H & Moezelaar R. (2002).**- The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology. 68: 1561-1568.

**Umezu T.,( 1999).**- Anticonflict effects of plant-derived essential oils. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 64: 35-40.

**VVirot S., (2004).**- Les petites protéines de stress et leur rôle dans la mort cellulaire. Etude de leur fonction chaperon à travers l'exemple de la mutation R1 $\beta$ OG de l' $\alpha$ -cristalline. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1.

**Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D & Mazur M. (2007).**- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The International Journal of Biochemistry and Cell Biology. 39: 44-48.

## W

**Wendakoon C.N. & Sakaguchi M., (1995).**- Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal of Food Protection* 58: 280-283.

**Walker J.E.M, Saraste M.J, Runswick and N.J.Gay., (1982).**- Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The Embo Journal*, 1(8): 945-51.

**Wang B.S., Li B.S. & Zeng Q.X., (2008).**- Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater. *Food chemistry*. 107 : 1198-1204.

**WANG W., WENG X. et CHENG D., (2000)** : Antioxidant activities of natural phenolic components from *Dalbergia odorifera* T. Chen. *Food Chem.*, Vol. 71, pp : 45 –49.

**Wang W., Wu N., Zu Y.G. et al.(2008)**, Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food Chemistry*, 108 ; 1019-22

**Wannissorn B., Jarikasem S., Siriwangachai T., Thubthimthed S.,(2005).**- Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*. 76: 233-236.

## Y

**Yanishlieva N.V., Marinova E. and Pokorný J.(2006)**, Natural antioxidants from herbs and spices. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2006 ; 108 ; 776-93

## Z

**ZABEIROU ; HACHIMOU(2005)** .Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata* L) et de la Poivree (*Mentha Piperita* L) dans la région d’Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah \_Ouargla .p16.

**Z.Wang, L. Li. T. Ding, X. Zhou, L. Wang, H. Zhang, L. Liu, Y. Li, Z. Liu, H.**

**Wang, H. Zeng, H. He, J. Chrom. A, 1102 (2006).**

**Zhao R.J., Koo B.S., Kim G.W., Jang E.Y., Lee J.R., Kim M.R., Kim S.C., Kwon Y.K., Kim**

**K.J., Huh T.L., Kim D.H., Shim I., Yang C.H., 2005.-** The essential oil from *Angelica gigas* NAKAI suppresses nicotine sensitization. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 28: 2323-2326

**Zani F., Massimo G., Benvenuti S., Bianchi A., Albasini A., Melegari M., Vampa G., Bellotti**

**A. & Mazza P., (1991).-** Studies on the Genotoxic Properties of Essential Oils with *Bacillus subtilis* rec-Assay and Salmonella/Microsome Reversion Assay. *Planta Medica* 57: 237-241.

**ZHENG W. et WANG S.Y.,( 2001) :** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 49, pp : 5165 – 5170.

**ZABEIROU ; HACHIMOU .**Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata* L) et de la Poivree (*Mentha Piperita* L) dans la région d’Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah \_Ouargla .p16(2005).

## **Annexe**

## Annexe

### 1. Matériel non biologique :

#### 1. Matériel au laboratoire :

Les matériels utilisés sont les suivants :

- bec bunsen
- les tube à essai et les boite de pétrie
- les flacons
- Papier whatman(  $\varnothing=6\text{mm}$ )
- Ecouvillon
- Passoire
- Erlenmeyer
- Fioles
- Béchers
- Pipettes

#### Les appareils :

Les appareils de laboratoire utilisés

Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger : Extraction des HEs

Agitateur plaque chauffante : Préparation du milieu de culture

Réfrigérateur : Conservation des échantillons

Autoclave : Stériliser les matériels et les milieux de culture

Etuve réglée à 37C° : incubation les souches bactériennes

Micropipette(500 $\mu\text{l}$ ) : Préparation de micro volumes

**Réactifs :**

- Méthanol(CH<sub>3</sub>-OH).
- Ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-OH).
- acétate de sodium.
- Chlorure du fer (FeCl<sub>3</sub>).
- Acide sulfurique(H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).
- Hydroxyde d'ammonium(NH<sub>4</sub>OH)
- Chlorure d'hydrogène(HCl)
- Chlorure de sodium (NaCl)
- DPPH.
- vitamine C.
- alcool iso amylique.
- formol à 40%
- magnésium.
- ammoniaque.

**Milieu utilisés :**

On utilise deux milieux de culture :

- Gélose nutritive : utilise pour l'obtention du souches jeunes
- Milieu Mueller Hinton : utilisé à l'étude antibactérienne de l'HE















































































































