

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Biotechnologies et agro écologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme en master académique

Filière : sciences agronomiques

Spécialité : Système de Production Agro écologie

THEME :

**VALORISATION D'UNE ESPECE MEDICINALE *Rosmarinus Officinalis L.*
POUSSANT A L'ETAT SPONTANE EN ALGERIE.**

Présenté Par :

BOUABDALLEH MERIEM

BOUYAHIA HALIMA

MELHOUT MERIEM

Devant le jury :

Mme. CHAOUIA C.	Professeur	U. Blida1	Président
Mme. MOUAS Y.	MCA	U. Blida1	Promotrice
Mme. OUKARA F Z.	Maitre de recherche	INRF(MEDEA)	Co-promoteur
HAMIDI Y.	MCB	U. Blida1	Examineur
CHIKHI H.	Ingénieur Agronome	U. Blida1	Membre invité

Année universitaire : 2022/2023

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu qui nous a donné la force et la patience pour continuer et atteindre notre objectif, et je remercie tous les professeurs, y compris l'encadreur Mme MOUAS, qui a grandement contribué à notre succès et n'a pas lésiné sur nous avec des informations et nous a donné tout ce qu'elle avait.

Nous tenons à remercier :

Mme CHAOUIA C. d'avoir accepté de présider le jury ; et évaluer notre travail.

Mr HAMIDI Y. d'avoir accepté de d'examiner notre travail.

Nous remercions l'équipe du laboratoire d'hygiène de Blida.

Nos sentiments profonds à nos professeurs qui nous ont enseigné durant tous nos études. A tous le personnel de département de biotechnologie et Agro-Écologie.

Meriem

Halima

Meriem

Dédicaces :

Je dédie ce travail en particulier à ce qu'il y a de plus précieux, mes parents, et je les remercie pour leur soutien et leurs conseils tout au long de mon parcours universitaire et leur foi en ma réussite. Ils m'ont soutenu et réconforté, à ma mère qui J'aime et qui a été le soutien et la force et qui m'a beaucoup soutenu par sa présence et à mon cher père Celui que j'aime et dont je n'oublierai jamais les sacrifices, et à mes sœurs : *Hafsa, Rekia, Hadjer*, et mon frère *Bilel* l'être le plus précieuse J'ai, les mots ne suffiront pas pour exprimer mon amour pour toi, et surtout à tous mes amis : *Malika*, ma meilleure amie, car elle était mon soutien, ainsi que mon amie *Maha, Laila, Roumaisa Yousra*, et enfin, moi remercier du fond du cœur tous ceux qui me connaissent de près ou de loin, et tous ceux qui ont une place dans leur cœur, avec le plus grand respect et amour pour eux.

B. HALIMA

Dédicaces :

La locomotive de recherche a traversé de nombreux obstacles, et pourtant j'ai essayé de la surmonter avec constance, grâce à et de la part de Dieu.

À mes parents, frères et amis, car ils ont été comme un soutien et un soutien afin de compléter la recherche.

Et je ne dois pas oublier les encadreurs qui ont eu le plus grand rôle en me soutenant et en me fournissant des informations précieuses...

Je vous dédie ma thèse...

Prier Dieu Tout-Puissant de prolonger votre vie et de vous bénir avec de bonnes choses

M. Meriem

Dédicaces :

Louanges à Dieu et grâces à Lui comme il se doit pour la majesté de Son visage et la grandeur de Son autorité, et prières et paix soient sur le meilleur de la création, notre Prophète *Mohammed*, et sur sa famille et ses compagnons, et paix soyez sur lui abondamment.

A celle qui la préfère à moi, et pourquoi pas, elle s'est sacrifiée pour moi et n'a ménagé aucun effort pour me rendre toujours heureuse (ma chère mère, mon amour).

Nous marchons sur les chemins de la vie, et il reste maître de nos esprits dans chaque chemin que nous empruntons, alors il ne m'a pas épargné tout au long de sa vie (cher père)

À mon soutien dans la vie, un compagnon de route et un ami des bons et des mauvais jours, mon mari bien-aimé (*Hadjeres Hamid*)

Je n'oublie pas mes sincères remerciements et mon appréciation à mon amie pour cette note (*Meriem, Halima*)

A mes frères : *Ayoub, Daoud, Youssef, Sadiq, Jaber, Mohammed.*

Ma sœur unique bien-aimée et ma chère tante

A mes chers amis : *Remziya, Karima, Houda, Hassiba, Siham*

Enfin, je tiens à remercier tous mes professeurs.

B. Meriem

Résumé :

Le romarin est une espèce très répandue en Algérie, mais reste peu exploitée.

Dans le but de valoriser cette espèce médicinale connue pour ses vertus thérapeutiques, nous avons évalué l'activité antimicrobienne de ses huiles essentielles vis-à-vis 5 souches bactériennes et 2 souches fongiques.

Le matériel végétal a été récolté durant le mois de mars, dans la région de Nador (Tipaza).

L'extraction des HE a été faite par hydrodistillation avec un appareil Alambic.

L'activité antimicrobienne est évaluée par deux techniques : aromagramme et micro-atmosphère.

Le rendement en HE, de l'ordre de 0,5 % satisfaisant est comparable à la norme d'AFNOR de 0.5 à 2%.

L'étude de l'activité antimicrobienne a permis, de mettre en évidence le pouvoir antimicrobien des HE testées sur les bactéries la plus sensible est *Bacillus subtilis* envers les HE de *R. officinalis* à la concentration

La bactérie la plus résistante est *Pseudomonas aeruginosa* avec un diamètre d'inhibition de 11 mm ; à l'antifongique Témoin positif.

Mot clé : *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, hydro distillation, micro atmosphère, aromagramme, pouvoir antimicrobien.

Abstract :

Rosemary is a very popular species in Algeria, but remains little exploit In order to enhance this medicinal species known for these therapeutic virtues, we have evaluated the antimicrobial activity of its essential oils against 5 bacterial strains and 2 fungal strains.

The plant material was collected during the month of March, in the region of Nador (Tipaza).

The extraction of essential oils was done by hydrodistillation with a still devic

The antimicrobial activity is evaluated by two techniques : Aromatogram and Micro-atmosphere The E.O yield, around 0.5%, is comparable to the AFNOR standard

The study of the antimicrobial activity has made it possible to highlight the antimicrobial power of the essential oils tested. The most sensitive bacterium is *Bacillus subtilis* towards the essential oils of *R. officinalis* at the concentration

The most resistant bacterium is *Pseudomonas aeuginosa* with an inhibition diameter of 11 mm ; to the antifungal T+.

Key Word : *Rosmarinus officinalis*, essential oil, water distillation, micro atmosphère, aromatogram, antimicrobial power.

المخلص:

يعتبر إكليل الجبل من الأنواع المشهورة جدًا في الجزائر، لكنه لا يزال قليل الاستغلال. من أجل تعزيز هذه الأنواع الطبية المعروفة بهذه المزايا العلاجية، قمنا بتقييم نشاط مضادات الميكروبات لزيوتها الأساسية ضد 5 سلالات بكتيرية و 2 سلالات فطرية. جُمعت المادة النباتية خلال شهر مارس في منطقة الناظور (تبيازة). تم استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي بجهاز ثابت. يتم تقييم النشاط المضاد للميكروبات من خلال تقنيتين: *aromatogramme* et *micro-atmosphère* عائد الزيت الأساسي، حوالي 0.5 %، يمكن مقارنته بمعيار AFNOR. أتاحت دراسة النشاط المضاد للميكروبات تسليط الضوء على القوة المضادة للميكروبات للزيوت الأساسية المختبرة. أكثر أنواع البكتيريا حساسية هي بسلوس تجاه الزيوت الأساسية لإكليل الجبل عند التركيز. والبكتيريا الأكثر مقاومة هي بسودوموناس بقطر تثبيط يبلغ 11 ملم. إلى المضاد للفطريات T +.

كلمات مفتاحية: إكليل الجبل، الزيت الأساسي، عملية تقطير المائي، الزيت الأساسي، غلاف الجوي، مخطط العطري، النشاط المضاد للميكروبات.

Liste des tableaux :

Tableau n °1 : Classification botanique de Rosmarinus officinalis L.....	03
Tableau n ° 2 : Variation de la composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L dans la région différente d'Algérie.....	06
Tableau n °3 : caractéristique et pouvoirs pathogènes des souches fongiques et les souches Bactériennes expérimentées.....	13
Tableau n ° 4: Rendement de l'huile essentielle.....	21
Tableau n ° 5 : Comparaison du rendement en huiles essentielles dans d'autres région.....	21
Tableaun °6: Caractéristiques organoleptiques d'HE de R.O.....	22

Liste des figures :

Figure n°1 : <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	03
Figure n°2 : Principe schématisé des différentes étapes d'hydro-diffusion.....	07
Figure n°3 : Illustration présent l'hydro distillation par la technique Alambic.....	08
Figure n° 4 : Carte de L'Algerie.....	11
Figure n°5 : Localisation du site de prélèvement.....	11
Figure n°6 : Arbuste de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	12
Figure n°7 : Appareil d'hydro distillation.....	14
Figure n°8 : Technique de préparation de <i>R. officinalis</i> L pour l'hydro distillation.....	15
Figure n°9 : préparation de milieu culture.....	17
Figure n°10 : préparation des dilutions de l'HE de Romarin.....	17
Figure n°11 : l'ensemencement.....	18
Figure n°12 : dépôt des disques.....	18
Figure n°13 : micro atmosphère ou méthode en phase vapeur.....	19
Figure n°14 : Expression de résultats.....	20
Figure 15 : Rendement des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i>	21
Figure 16 : huiles essentielles du <i>R. officinalis</i>	22
Figure 17 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>E. Coli</i>	23
Figure 18 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>Rosmarinus officinalis</i> vis-à-vis <i>E. coli</i>	23
Figure 19 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Pseudo aeruginosa</i>	24
Figure 20 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>Rosmarinus officinalis</i> Sur la souche bactérien (<i>Pseudo aeruginosa</i>)	24
Figure 21 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Figure 22 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>Rosmarinus officinalis</i> vis-à-vis (<i>Staphylococcus aureus</i>)	25
Figure 23 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Salmonella abony</i>	26
Figure 24 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>Rosmarinus officinalis</i> vis-à-vis (<i>Salmonella abony</i>)	26

Figure 25 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i>	27
Figure 26 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i>)	27
Figure 27 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	28
Figure 28 : diamètre d'inhibition d'HE du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Candida albicans</i>)	28
Figure 29 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Aspergillus Niger</i>	29
Figure 30 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>rosmarinus officinalis</i> vis-à-vis (<i>Aspergillus Niger</i>).....	29
Figure 31 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>E. coli</i>	30
Figure 32 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>E. coli</i>)	30
Figure 33 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>pseudomonas aeruginosa</i>	31
Figure 34 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	31
Figure 35 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Figure 36 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Staphylococcus aureus</i>)	32
Figure 37 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Salmonella abony</i>	33
Figure 38 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Salmonella abony</i>)	33
Figure 39 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Bacillus subtilis</i>	34
Figure 40 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Bacillus subtilis</i> ...)	34
Figure 41 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Candida albicans</i>	35
Figure 42 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Candida albicans</i>)	35
Figure 43 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du <i>R. officinalis</i> vis-à-vis <i>Aspergillus Niger</i>	36.
Figure 44 : diamètre d'inhibition d'HE de <i>R. officinalis</i> vis-à-vis (<i>Aspergillus Niger</i>)..	36

Liste des abréviation

OMS : Organisation mondiale de la santé.

VIH : Virus immunodéficience humain.

HE : Huiles essentielles.

CT : Chimio types.

E. COLI : *Escherichia coli*.

HD : Hydro distillation.

RHE : Rendement des huiles essentiels en %.

Pb : Poids de l'huile extrait en g.

Pa : Poids de la matière premier en g.

ATCC : American type culture collection.

DMSO : Diméthyle sulfoxyde.

ATB : Antibiotiques.

AFNOR : Association française de normalisation.

Table de matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Introduction

Partie bibliographie

Chapitre 1 : Le romarin : *Rosmarinus officinalis* L.

1.Généralites.....	02
1.1 Description botanique.....	02
1.2 Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	03
2.Utilisation de Romarin.....	03
2.1. Utilisation en phytothérapie.....	03
2.2. Utilisation alimentaire.....	04
2.3. Utilisation cosmétique.....	04
Chapitre2 : Vertus thérapeutique du romarin	
1.Généralites.....	05
2.Huiles essentielles.....	05
3.Composition chimique.....	05
4.Méthode d'extraction des huiles essentielles.....	06
4.1. Hydro-diffusion.....	07
4.2. Extraction par expression à froid.....	07
4.3. Hydro- distillation.....	07
5.Domaine d'application des huiles essentielles.....	08
6.Activités biologiques des huiles essentielles.....	09
6.1. Activité antimicrobienne.....	09
6.1.1. Activité antibactérienne.....	10
6.1.2. Activité antifongique.....	10

Matériels et méthodes

1.L'objectif de l'expérience.....	11
-----------------------------------	----

2.Présentation de la zone d'étude.....	11
3.Matériau biologique.....	12
3.1 Matériel végétale.....	12
3.2 Matériel microbiologique.....	13
4.L'extraction des HE de <i>R. officinalis</i>	13
4.1 Mode opératoire.....	14
5.Paramètre étudié.....	15
5.1Déterminant Rendement en HE.....	15
5.2 Activité antimicrobienne.....	16
5.2.1.a. Méthode D'aromatogramme (technique en milieu solide)	16
5.2.2.b. Méthode en phase vapeur : Micro atmosphère	19
5.2.3. Expression des Résultats.....	20

Résultats et discussion

1. Rendement en d'huile essentielle du <i>R. officinalis</i>	21
2. Caractéristiques organoleptiques d'HE de <i>R. officinalis</i>	22
3. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	22
3.1. Par Aromatogramme.....	22
3.2. Par micro atmosphère	30
4. Résultats et discussion.....	37
Conclusion.....	38
Perspectives.....	39
Références.....	
Annexe.....	

Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (LHUILIER, 2007).

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. (MOSTAFA,2010).

La flore Algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15 % endémiques, reste très peu explorée sur le plan photochimique comme sur le plan pharmacologique.

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique algérienne et aura un impact économique certain (TOUAFEK, 2010).

Les plantes médicinales sont considérées comme une source première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules, nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (Maurice; 1997).

Selon certain 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-oxydant 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. (Jones, 1998 ; Thoresen,2003).

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).

Le but de ce travail consiste à évaluer l'activité antimicrobienne de cette espèce médicinale récoltée dans la région de Tipaza durant la période printanière 2023.

L'étude porte sur L'extraction des huiles essentielles de la plante par hydrodistillation par l'alambic.

Le rendement en huiles essentielles est calculé, et comparé à d'autre huiles essentielles de l'espèce récoltée dans autres régions d'Algérie.

Cette même huile essentielle à différentes concentration est testée vis-à-vis des souches microbiennes pour évaluer son pouvoir antimicrobien.

Chapitre1 : Le romarin : *Rosmarinus officinalis* L.

1. Généralité :

La famille des lamiacées connue également sous le nom des labiées, comporte environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites ; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le Romarin elle est divisée en deux principales sous-familles : les Stachyoideae et les Ocimoideae. Les lamiacées sont des herbacées ayant la consistance et la couleur de l'herbe, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en l'huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Entre autres, un grand nombre de genres de la famille des Lamiaceae sont des sources de terpénoides, flavonoïdes et iridiodes glycosylés (OUIBRAHIM, 2015).

Le *Rosmarinus officinalis* (romarin) est un arbuste aromatique appartient à la famille des lamiacées (labiées) qui est connus depuis l'oligocène. C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (BRUNETON, 1993). Le nom latin *Rosmarinus* est interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe loin de la mer (Heinrich et al., 2006). Tétrakène (de couleur brune) (ZERMANE, 2010).

Cette plante est connue par les noms : Iklil Al Jabal, Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir, Aziir, Ouzbir, Aklel, Touzala. Habituellement, *Rosmarinus officinalis* est considérée comme monotypique et présente sur le littoral dans tout le bassin méditerranéen, surtout en région calcaire. Elle y fleurit toute l'année, ses fleurs sont mellifères. Elle peut être sous forme d'arbuste, sous-arbrisseau ou plante herbacée. Les fleurs sont des pentamères, en général hermaphrodites. (MASSAILI.b. 1995).

Le Romarin pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (HEINRICH et al. 2006).

Il est originaire d'Afrique du nord et de l'Europe méridionale (SANTICH et Bryant, 2013).

Cette plante croit dans les maquis, les garrigues, les lieux arides et les rocailles (DE Bonneval, 2006). Elle apprécie les climats tempérés et bien ensoleillés (CHAÏB, 2015).

1.1 Description botanique :

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*), plante peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur. Il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Leur odeur, très camphrée. La floraison commence dès le mois de février et se poursuit jusqu'en avril- mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet. Comme pour la plupart des lamiacées, le fruit est un tétrakène (de couleur brune) (ZERMANE, 2010).

Figure n°1 : *Rosmarinus officinalis* (Hamraoui,1994)

1.2 Classification botanique :

La classification hiérarchique de *Rosmarinus officinalis* L selon (GOEZ et GHEDRA, 2012) est la suivant :

Tableau 1 : **classification botanique de *Rosmarinus officinalis* (GOEZ et GHEDRA, 2012)**

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteriadae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L

2. Utilisation du Romarin :

2.1. Utilisation en Phytothérapie :

L'extrait agit sur les ulcères, et les dermatoses parasitaires. L'huile essentielle du romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine. Ainsi, elle soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire, combat les effets du stress et de la fatigue, et traite l'inflammation des voies respiratoires. Le romarin est un stimulant,

antispasmodique, cholagogue. En cas de dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états des fièvres, de la grippe. Il est aussi un emménagogue, un diurétique, un anti-VIH, et anti-cancer (BOUSBIA, 2011).

2.2. Utilisation alimentaire :

Le romarin est un aromate apprécié, aux utilisations culinaires diverses, dans les soupes, les marinades, sur les grillades sous forme de feuilles séchées. Aussi pour parfumer les flans et les confitures (AKROUM, 2006). Les extraits du romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments (ZOUBEIDI, 2004).

2.3. Utilisation cosmétique :

L'extrait des feuilles est largement utilisé dans les cosmétiques, il entre dans la composition de plusieurs produits tels que les savons, les détergents et les parfums. Le niveau d'utilisation maximal signalé est de 1% (KHAN et ABOURASHED, 2010).

Chapitre 2 : Vertus thérapeutique du romarin

1. Généralités :

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémisynthèse" (NEFFATI et SGHAIER, 2014). La notion de plantes aromatiques indique des plantes ayant un arôme parfumé ou sucré, on parle aussi de plantes à huiles essentielles. Ces huiles s'accumulent dans certains organes spécifiques ou parties de plantes (BHOWMIK, 2012). Ces plantes autrement définies, sont les végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, écorces, racines (NEFFATI et SGHAIER, 2014).

2. Huiles essentielles :

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 gommés 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).

Les huiles essentielles de romarin, est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement camphrée ; pénétrant de saveur très aromatique. Les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25 ml /kg. Le type de plante algérien renferme plus que

- 0.74% dans la plante sèche.

-0.1% dans les feuilles.

-1.4% dans les fleurs et rameaux (ZOUBEIDI, 2004).

3. Composition chimique :

Il existe différents chémotypes ou chimio types (CT) en fonction de l'origine géographique du Romarin.

Tableau 2 : **variation de la composition chimique (composé majorité) de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L dans différentes régions d'Algérie**

Composé	α -pinène	Camphène	Liomonene	1,8-Cineole	Camphre	Bornéol	Bornylacétate	Sabinène	Référence
INA Alger	29,33	8,39	6,19	0,05	15,07	2,14	0,64	/	Meziane et al, 2012
Tablat	43,42	8,60	6,22	0,78	15,23	0,08	1,15	/	
Bejaia	25,07	21,90	5,05	4,70	32,69	/	0,02	/	
Touggourt	28,02	24,99	4,17	6,10	35,56	/	0,04	/	
Hassi Messaoud	23,62	31,39	2,69	4,45	36,44	0,20	0,03	/	
Oran	29,95	3,92	0,23	24,02	15,45	/	1,43	/	
Médéa	20,13	3,57	7,84	9,62	14,69	8,27	1,29	0,30	
Constantine	59,45	2,78	2,41	11,00	7,27	0,44	/	/	
Relizane	24,87	4,98	12,82	7,70	16,33	0,12	5,24	/	
Bouira	25,56	6,28	4,57	18,66	21,17	0,20	2,01	/	
Tessala Elmerdja	51,02	2,67	4,34	17,42	12,01	/	1,08	/	
Sétif	35,14	2,83	1,14	29,28	15,01	/	1,29	/	
Bejaia	72,58	2,20	2,12	7,74	6,64	0,86	0,06	/	
ElKala	53,98	1,76	2,78	13,67	11,55	3,58	1,19	/	
Bousmail	26,87	5,84	9,35	14,52	19,05	0,16	0,84	/	
Jijel	41,90	3,06	10,02	17,65	14,43	0,81	0,40	/	
Tébessa	3,39	14,40	/	32,59	4,46	9,68	0,30	15,93	Boutabia Et al, 2016

4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction d'essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépend de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles,), de la nature des composés à extraire, du rendement en huile et de la fragilité de certains constituants (BRUNETON, 1999).

La méthode choisie pour l'extraction des huiles essentielles doit être la plus efficace et qui donnerait une huile essentielle de très bonne qualité, un rendement élevé avec un coût économique faible. L'huile essentielle obtenue doit être limpide, concentrée, d'odeur fine caractéristique de la partie de la plante utilisée et ne doit contenir aucune trace de solvant (HERNANDEZ, 2005). Parmi les méthodes d'extraction nous citons :

4.1. Hydro-diffusion :

C'est une méthode qui consiste à poser de la vapeur d'eau à très faible pression (0,02-0,15 bar) à travers la masse végétale, de haut vers le bas (BRUNETON, 1999). Selon FRRANCHOMME et PENOEL (1990), le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau-huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (fig. 2).

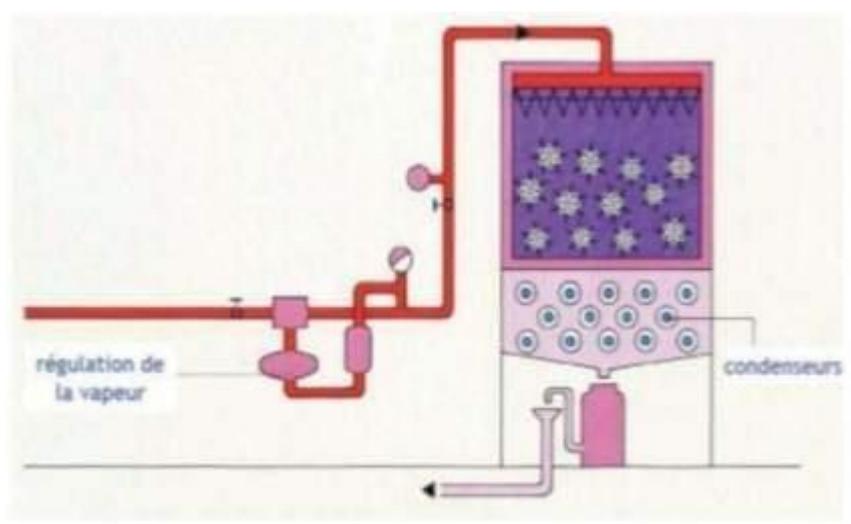


Figure n°2 : principe schématisé des différentes étapes d'hydro-diffusion (HERNANDEZ)

4.2. Extraction par expression à froid :

Cette méthode est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes qui ne supportent pas les préparations à chaud. Ce procédé consiste soit à presser les péricarpes sous un courant d'eau, soit à écraser les agrumes entiers entre des cylindres mécaniques, puis séparer l'huile de l'eau en utilisant un décanteur ou une centrifugeuse (KHALFI et HABBES, 2007).

4.3. Hydrodistillation :

L'HD est l'une des procédés les plus simples et le plus anciens (BENETEAUD, 2011). Dans ce procédé la matière première à traiter est entièrement immergée dans l'eau dans un ballon (clevenger) lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel qui est ensuite portée à ébullition.

La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'essence recherchée, les deux vapeurs se concentrent au niveau du col de cygne de l'alambic puis s'acheminent par un serpentín refroidi dans un circuit d'eau et se condensent afin d'être recueillies dans un essencier. La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle.

Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées (BOUHADDOUDA, 2015)

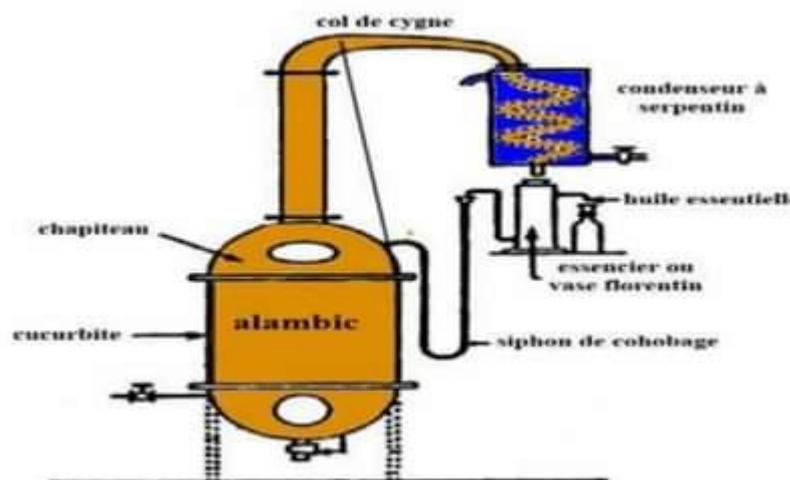


Figure n°3 : illustration présente l'hydro distillation par la technique Alambic (FADI,2011)

5. Domaine d'application des huiles essentielles :

5.1. 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).

5.2. 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.

5.3. En thérapie :

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).

6. Activités biologiques des huiles essentielles :

6.1. Activité antimicrobienne :

L'huile essentielle et l'extrait des parties aériennes de romarin exercent une activité antibactérienne et antifongique inhibant la prolifération des bactéries, la croissance mycélienne et la germination des spores. Cette activité est due aux principaux constituants de l'extrait brut : acide carnosique, carnosol et 12-methoxy-transacide carnosique et aux principaux constituants de l'huile essentielle : le 1,8-cineole, le camphre, le bornéol, l' α – pinène et autres constituants (PAUL et GHEDIRA, 2012).

6.1.1. Activité antibactérienne :

Les Huiles essentielles les plus étudiées pour leurs propriétés antibactériennes appartiennent aux Labiatae : thym, sauge, romarin, clou de girofle sont d'autant de plantes aromatiques à Huiles essentielles en composés phénoliques comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces composés ont un effet antimicrobien contre un large spectre de bactéries : E. Coli, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus, Listeria monocytogenes, Clostridium sp, Helicobacterpylori (PAULI, 2001).

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 hydrophile (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- 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 composé de. Cette dernière est composée de lipopolysaccharides (sucre+ lopopoly) 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).

6.1.2. Activité antifongique :

Le pouvoir antifongique des Huiles essentielles des plantes aromatiques, contre les moisissures allergisantes, a été mis en évidence par de nombreux travaux (BILLER Becket al. 2002 ; KOKA et al. 2004 ; OUSSOU et al. 2004 ; OURAINI et al. 2005). TEIXEIRADUARTE, 2005 a rapporté un effet antifongique contre les d'érémophytes et les

champignons pathogènes et opportunistes tels que *Candida albicans*(levure), *Cryptococcus* néoformés et *aspergillus fumigatus*.

Des travaux similaires ont été réalisés par MOMAMMEDI, (2006) sur l'huile essentielle de *Cistus ladaniferus* contre sept moisissures : *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*.

OMIDBEYGI et al. (2007) ont démontré que les Huiles essentielles de thym, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique « invitro » contre *Aspergillus flavus*.

Matériels et Méthodes

1.Objectif de notre expérimentale :

Notre travail consiste à étudier l'effet antimicrobien des huiles essentielles de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L. ; récolté dans la région de Nador, wilaya Tipaza, durant la période printanière 2023.

2. Présentation de la zone d'étude :

La wilaya de Tipaza se situe au nord du tell central, elle couvre une superficie de 1707 km² qui se répartit en :

- montagnes : 336 km².
- collines et piémonts : 577 km².
- plaines : 611 km².
- autres : 183 km².



Figure n° 4 : Carte de L'Algérie.



Figure n°5 : localisation de la région d'étude.

- Le climat de la zone d'étude est de type méditerranéen entre sub-humide et humide, avec deux tendances bioclimatiques avec une pluviométrie moyenne 675 mm par an et une température minimale 9.3° C liées à la topographie, à la mer et à la végétation.

- L'aire de l'étude est une zone côtière, la température mensuelle moyenne est variée entre 13,07°C et 27,13°C. Les mois les plus chauds correspondant à Juillet et Août, Les températures moyennes variée de 33°C à 35°C, les mois les plus froid sont enregistrés de décembre à février, la moyenne inférieure à 15°C.

La pluie annuelle moyenne dans la région est comprise entre 400 et 800 mm, nous prenons en considération la valeur de P moy = 675 mm (KHOUALDI, 2012).

- Le mois le plus pluvieux est celui de Mars avec une précipitation moyenne de 45,7mm.

-le mois le plus sec est celui de Juillet avec une précipitation moyenne de 4,7 mm

Nous remarquons deux périodes distinctes, une saison sèche et une autre relativement humide. Ainsi que la période pluviale s'étale du mois de Septembre jusqu'au mois de Mai avec une précipitation moyenne mensuelle de 37,3 mm

3. Matériel biologique :

3.1. Matériel végétale :

Le matériel végétal, objet d'étude, est composé de la partie aérienne (feuille + fleur) de *R. officinalis* L., récolté dans la région de Nador (Tipaza) durant le mois de mars 2023.



Figure n°6 : *Arbuste de Rosmarinus officinalis* L (original 2023)

3.2. Matériel microbiologique :

Les souches bactériennes et fongiques testées, ont été fournies par le laboratoire d'hygiène de Blida (Tableau 3)

Tableau n°3 : caractéristiques et pouvoirs pathogènes des souches microbiennes testées.

Espèce microbienne	Caractéristiques	Maladies provoqué	Référence
<i>Escherichia coli</i>	Gram- Bacille, mobile, pathogène	Diarrhée, infection, urinaire, méningite, Septicémit.	ATCC 8739
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+ Cocci, immobile, disposé en amas ou en grappe de raisin.	Infection cutanées suppurées, toxi-infection alimer.	ATCC 6538
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram- Bacille, fins, non capsulés, mobiles.	Responsable de broncho-pneumopathies et les affection respiratoire infection cutanées dans les ulcères.	ATCC 9027
<i>Bacillus subtilis</i>	Gram+	Gastro-entérites	ATCC 6633
<i>Salmonella abony</i>	Gram-	Gastro-entérites. Fever	NCTC 6017
<i>Candida albicans</i>	Espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre candida	Provoque des infections au niveau des muqueuses digestive et gynécologique.	ATCC 10231
<i>Aspergillus Niger</i>	Moisissure de couleur noire.	Responsable de mycoses pulmonaires chez l'homme.	ATCC 16404

4. L'extraction des HE de *R. officinalis* :

Les HE, ont été extraites par hydro distillation. C'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).

Le matériel végétal récolte, a été transporté directement au laboratoire pour hydro-distillation (absence de séchage). (Figure7)

4.1 Mode opératoire :

15 Kg, du romarin coupé en petits morceaux ont été mis dans un alambic d'une capacité de 20 Litres ; et ajouter de 2 L d'eau.

Le mélange est mis en distillation pendant 3 heures (figure 8).



Figure n° 7 : Appareil D'hydro distillation(alambic)



Figure n°8 : Préparation du matériel végétale.

5. paramètres étudiés :

5.1. Détermination du rendement en HE :

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'HE et le poids de la plante utilisée pour l'extraction, le rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt} = \text{Pb}/\text{Pa} \times 100$$

Rdt = Rendement de l'huile en %.

Pb = Poids de l'huile extraite en g.

Pa = Poids de la matière végétale en g.

5.2. Activité antimicrobienne :

L'activité antibactérienne a été évaluée par deux techniques :

Aromatogramme et Micro Atmosphère.

5.2.1.a. Méthode d'aromatogramme (Technique en milieu solide)

a/Principe :

Une suspension bactérienne de 18 à 24 heures de chaque souche bactérienne est préparée avec de l'eau physiologique (Na Cl). 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 (Wattman 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.

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).

B /Mode opératoire :

➤ Préparation de l'inoculum :

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de l'huile essentielle, nous avons utilisé 5 souches bactériennes de référence (American type culture collection) de référence les souches bactériennes et aromatiques sont préservées en les inoculant dans de l'eau physiologique à l'aide de pipette pasteur et ne vivent pas plus de 15 jours.

➤ **Préparation de milieu de culture :**

Nous mettons Muller Hinton comme milieu pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons, puis le laissons congeler pendant 15 minutes.

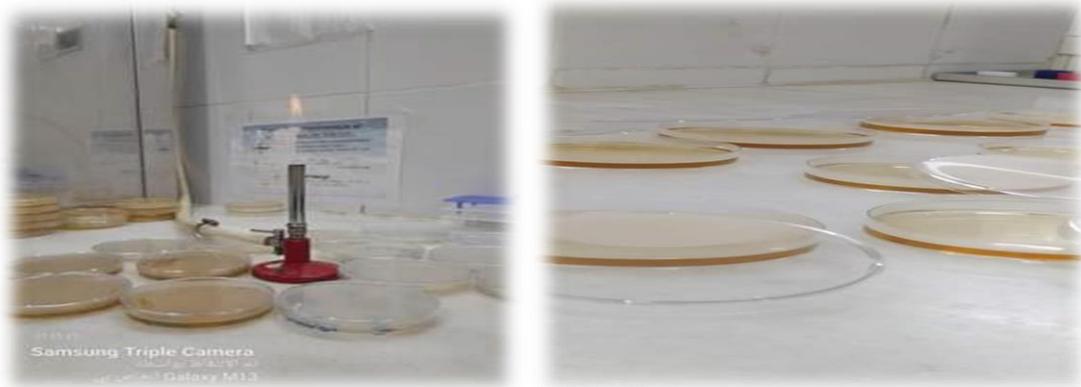


Figure n°9 : préparation de milieu culture

➤ **Préparation des dilutions de l'HE :**

4 concentrations ont été préparé : 100%, 50%, 25%, 12.5%.

- Nous prenons 1000 ul d'huile essentielle à l'aide d'une micro pipette et la mettons dans un tube à essai stérile.

-Ensuite, nous prenons 500 ul du premier tube d'huile par micro pipette avec l'ajout de 500 ul de DMSO, puis les mélangeons - Ensuite, nous prélevons 500 ul du deuxième tube du mélange avec une augmentation de 500 ul du DMSO.

- Ensuite, nous répétons la même opération avec l'augmentation du DMSO. (Figure10)



Figure n°10 : préparation des dilutions de l'HE de Romarin.

➤ **L'ensemencement :**

Dans un milieu solide contenant du Mueller Hinton, on l'enduit 3 fois d'écouvillon en faisant tourner la boîte de Pétri, puis on laisse sécher 15 min.



Figure n°11 : l'ensemencement

➤ **Dépôt des disques :**

- nous utilisons des disques filtrants d'un diamètre de 6 mm, imprégnés d'une certaine quantité pour chaque disque, et les posons à la surface du milieu Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons, et mettons les bactéries dans Enture bactériologique à une température de 37 °C pendant une durée de 24 heures, tandis que les champignons sont à une température de 25° à 30° pendant une durée de 48 heures à 72 heures.

- Chaque type de disque se propage à la gélose et détermine le gradient de concentration, où les bactéries et les champignons se développent sur toute la surface de la gélose sauf à l'endroit où le disque contient une certaine concentration d'huile qui les empêche de se développer.

Afin de mener une étude comparative du pouvoir antibactérien ; nous avons utilisé des comprimés antibiotiques (ATB) de gentamycine comme témoins positifs.



Figure n°12 : dépôt des disques

➤ **Lecture de résultats :**

A la sortie du l'étuve, on remarque un halo transparent autour du disque. On l'explique par l'absence de croissance bactérienne. On mesure le diamètre de cette zone. Plus le lissé est sensible à l'huile, on le classe en sensible, moyen. Ou résistant aux huiles essentielles.

La lecture des résultats se fait en mesurant les diamètres des zones d'inhibition en mm Ses derniers doivent être uniformément circulaire (Richard et coll., 2007).

Selon Moreira et ses collaborateurs en 2005 les seuils de sensibilités exprimés en zone d'inhibition sont les suivantes :

- *Diamètre inférieur à 8 mm : résistante (-).
- * Diamètre entre 9 et 14 mm : sensible (+).
- * Diamètre entre 15 et 19 mm : très sensible (++)
- * Diamètre supérieure à 20 mm : extrêmement sensible (+++).

Le Classement des bactéries se fait dans l'une des catégories : sensible ou résistante. (Ponce ; al, 2003).

5.2.2.b. méthode en phase vapeur : Micro atmosphère

Nous avons utilisé cette méthode pour définir les propriétés de la phase volatile de l'IC et l'inférence est rarement faite avec elle La différence entre la méthode Aromatogramme et la méthode micro Atmosphère réside dans la position du disque imprégné, où cette technique met en évidence la propagation des composants volatils à l'intérieur de la boîte de pétri, où le papier filtre est placé au centre du couvercle de la boîte de pétri, et il est inversé pendant toute la période pour qu'il ne soit plus en contact avec le milieu MH, et nous fermons la boîte de pétri et la retournons pour que le couvercle devienne le fond et placé dansEnture bactériologique à une température de 37 degrés pendant 24 heures pour les bactéries et à 25 degrés pour les champignons pendant 48 heures candida et 72 heures aspergillus .

Il en résulte une évaporation de l'HE qui, au contact de microorganismes cultivés à la surface de la Gélose, inhibera sa croissance.

À la sortie Enture bactériologique, l'absence de croissance bactérienne et fongique se traduit par une zone transparente à la surface de la Gélose dans une direction circulaire.

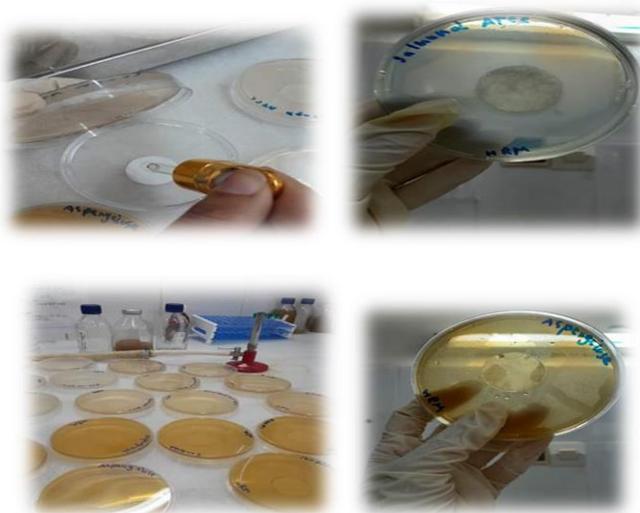


Figure n°13 : Micro atmosphère ou méthode en phase vapeur

5.2.3. Expression des résultats :

Dans la littérature relative aux HE, les résultats des aromagrammes et des micro atmosphères sont exprimés à partir de la mesure du diamètre des halos d'inhibitions en mm. Cette mesure est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité.



Figure n°14 : Expression de résultats

Résultats et discussion

1. Rendement en d'huile essentielle du *R. officinalis* :

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage, dans le tableau 5.

Tableau n° 4 : Rendement de l'huile essentielle.

	Masse de la matière végétale	HE
En gramme (g)	15000	70
Rendement (%)	/	0.5

Le rendement obtenu, a été comparé avec celui trouvé par (ZAMOUR, HENNE, 2019) est présenté dans le tableau

Tableau n° 5 : Comparaison du rendement en huiles essentielles dans d'autres région.

Wilaya	Tipaza	Blida
Période (moins)	Mars	Mars – juin
Méthode utilisé	Dispositif d'hydrodistillation Alambic	Dispositif d'hydro distillation clevenger
Rendement	0.5	0.4
Norme AFNOR	0.5 à 2	

D'après le tableau 6, nos échantillons d'HE sont conformes et comparables aux normes d'AFNOR.

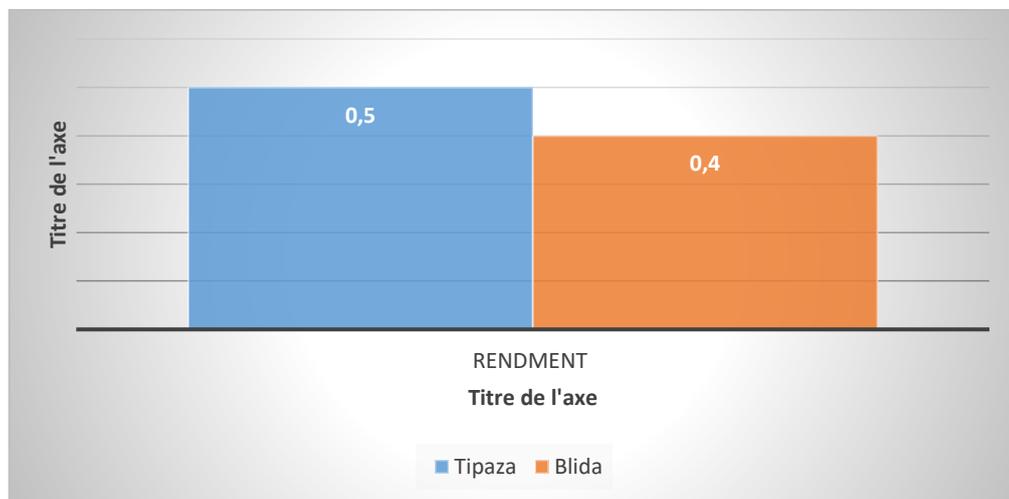


Figure 15 : Rendement des huiles essentielles du *R. officinalis*.

D'après les résultats obtenus, le rendement de notre huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, récoltée dans la région de Nador wilaya de Tipaza est légèrement supérieur à celui récoltée à Blida avec respectivement :0,5% et 0,4%.

Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, comme la nature du sol, 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. Caractéristique organoleptiques d'HE de *R. officinalis* :

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau n°7 : caractéristiques organoleptiques de notre l'huile essentielle de *R. officinalis*.

Origine	Aspect	Couleur	Odeur et saveur
HE du <i>R. officinalis</i>	Liquide mobile	Presque incolore	Fraîche camphrée
AFNOR	Liquide mobile limpide	Presque incolore à jaune pale	Fraîche plus ou moins camphrée selon l'origine



Figure 16 :Huile essentielle du *R.officinallis* (extraite).

3. Evaluation de l'activité antimicrobienne :

3.1. Par Aromatogramme :

a) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *E. coli* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis *E. coli* sont présentés dans la figure (17).

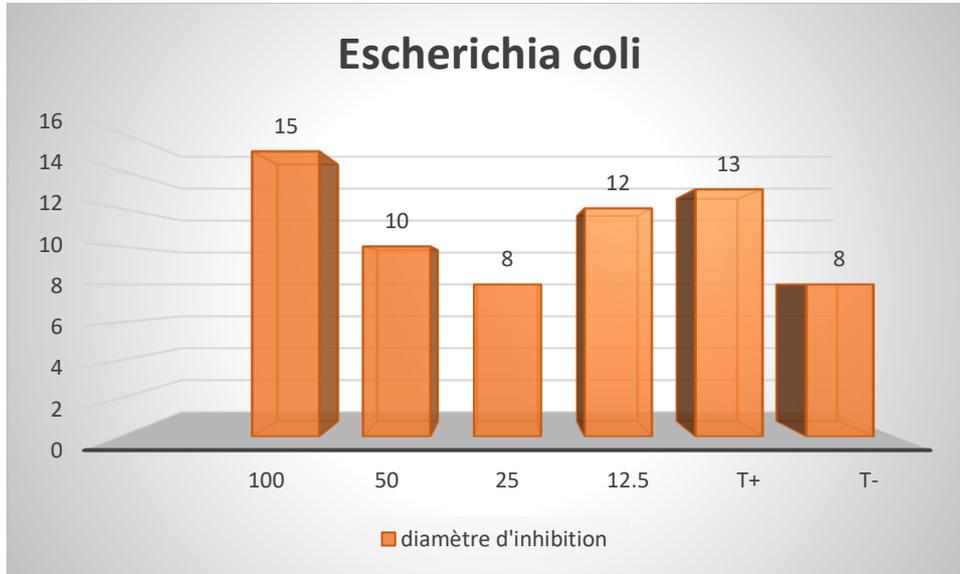


Figure 17 : pouvoir antimicrobien des HE du *R. officinalis* vis-à-vis *E. Coli*.

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 100% avec une valeur de 15mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 25% avec une valeur de 8mm.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec antibiotique T+ avec une valeur de 13mm. Est inférieur à celui enregistré à la concentration 100%.

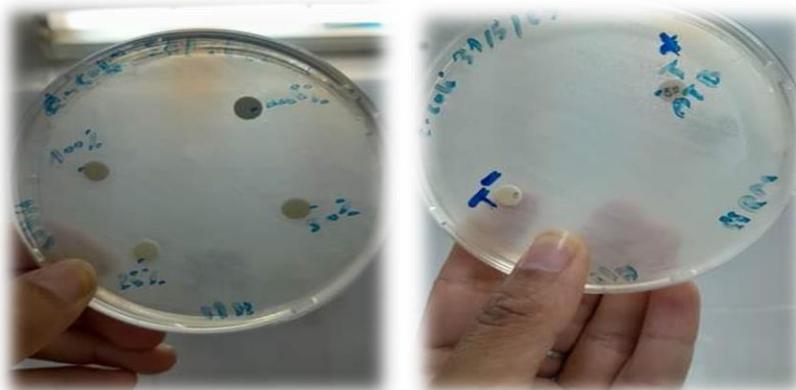


Figure 18 : Diamètre d'inhibition d'HE du *R. officinalis* vis-à-vis *E. coli*.

b) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* sont présentés dans la figure 19.

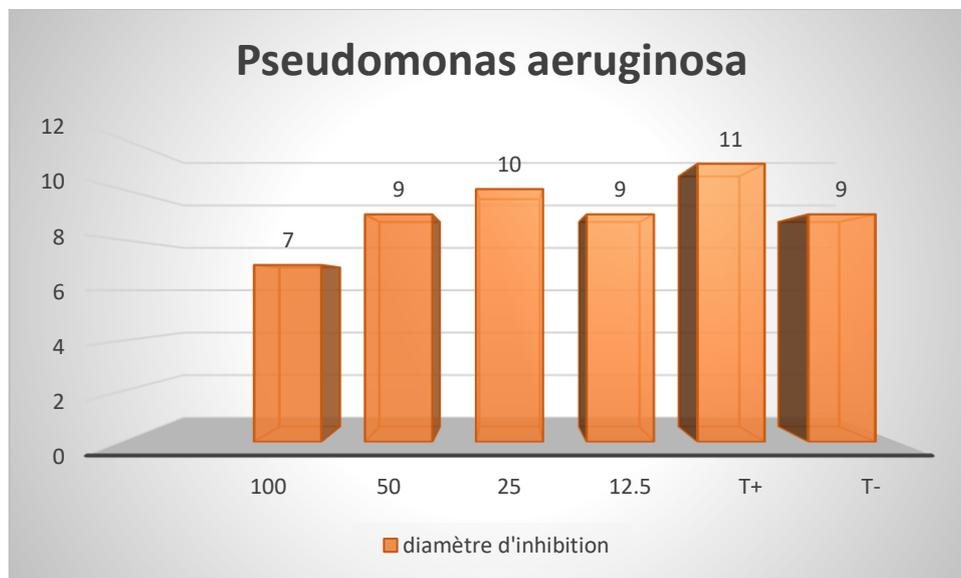


Figure 19 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 25% avec une valeur de 10mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 100% avec une valeur de 7mm.

Le diamètre d'inhibition enregistré avec l'antibiotique T+ avec une valeur 11mm. dépasse tous les diamètres enregistrés avec les différentes concentrations.

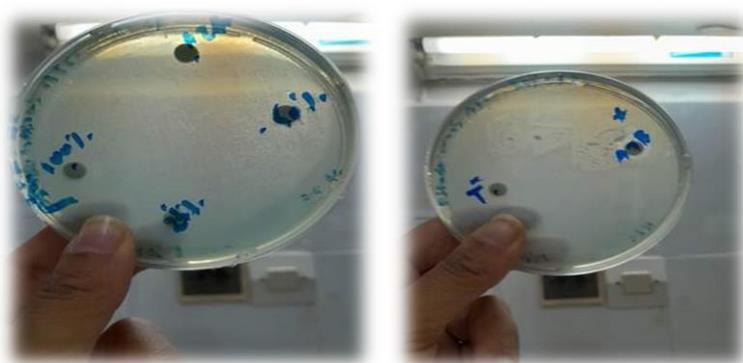


Figure 20 : **Diamètre d'inhibition d'HE du *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis bactérien *Pseudomonas aeruginosa*.**

c) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Staphylococcus aureus* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinus officinallis* L. vis-à-vis *Staphylococcus aureus* sont présentés dans la figure (21).

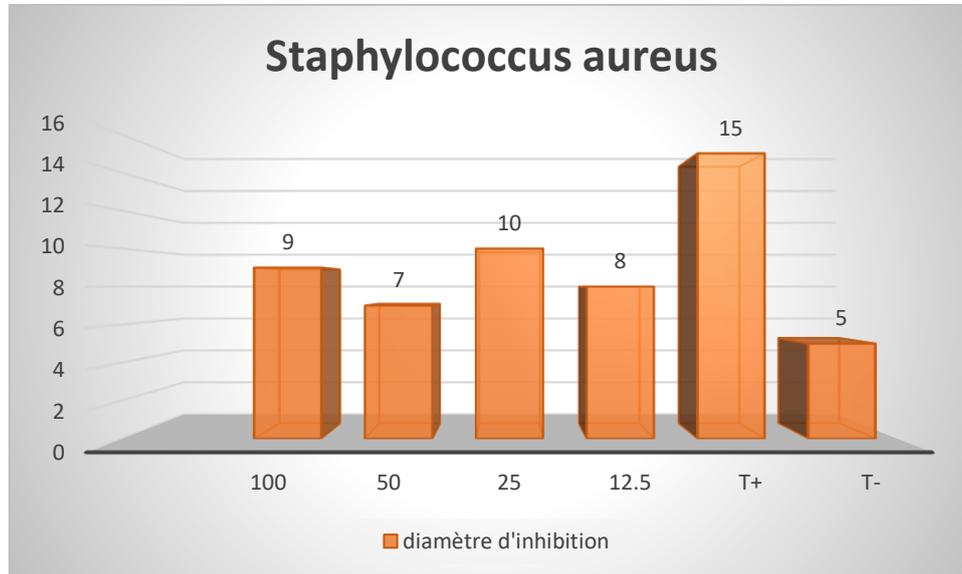


Figure 21 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinallis* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 25% avec une valeur de 10mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 50% avec une valeur de 7mm.

Le diamètre d'inhibition enregistré avec l'antibiotique T+ avec une valeur 15mm, est plus important que les autres diamètres enregistrés avec les différentes concentrations testées.



Figure 22 : **Diamètre d'inhibition d'HE du *Rosmarinus officinallis* vis-à-vis (*Staphylococcus aureus*).**

d) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Salmonella abony* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinus officinallis* L. vis-à-vis *Salmonella abony* sont présentés dans la figure (23)

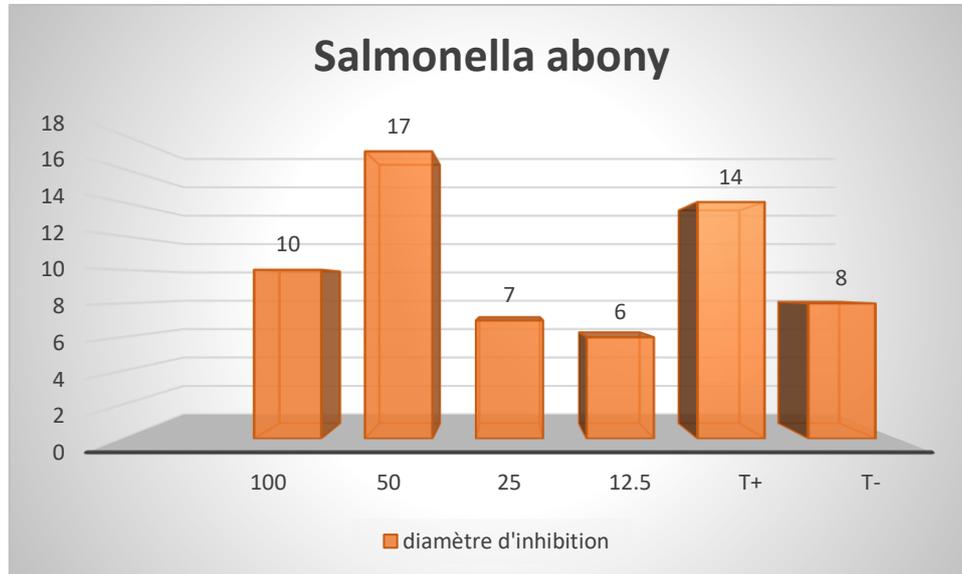


Figure 23 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinallis* vis-à-vis *Salmonella abony*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 50% avec une valeur de 17mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 12.5% avec une valeur de 6mm.

Le diamètre d'inhibition enregistré avec l'antibiotique T+ avec une valeur 14mm est inférieur à celui enregistré par l'HE à la concentration 50%.

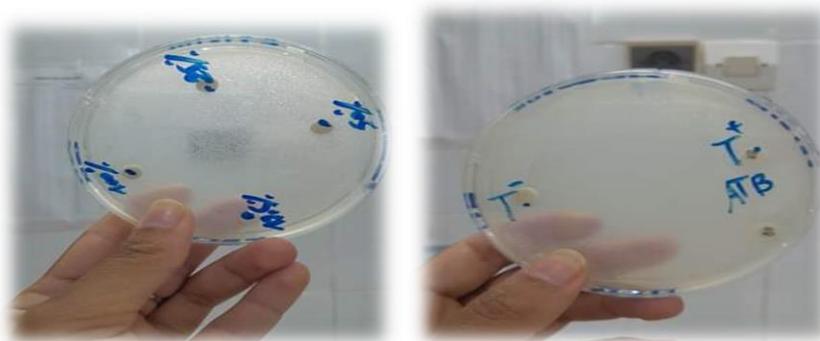


Figure 24 : **Diamètre d'inhibition d'HE du *Rosmarinus officinallis* vis-à-vis *Salmonella abony*.**

e) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Bacillus subtilis* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis *Bacillus subtilis* sont présentés dans la figure (25)

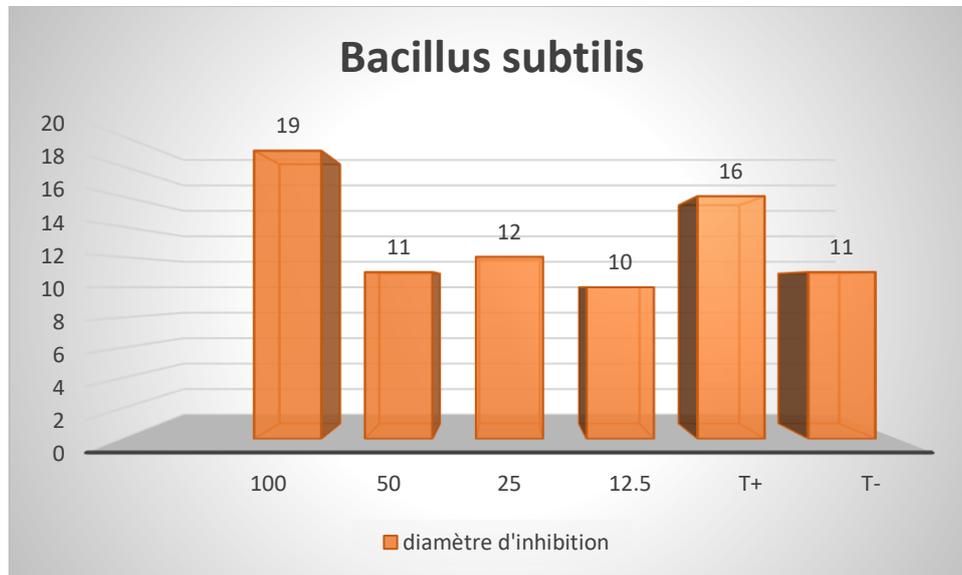


Figure 25 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec la concentration 100% avec une valeur de 19mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 12.5% avec une valeur de 10mm.

Le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec l'antibiotique T+ avec une valeur de 16mm. (Figure 25)

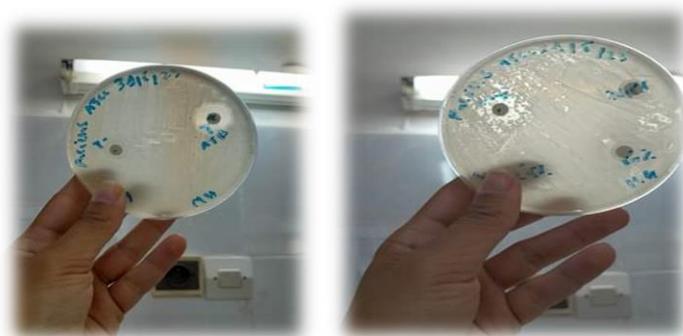


Figure 26 : Diamètre d'inhibition d'HE du *R. officinalis* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

f) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Candida albicans* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Candida albicans* sont présentés dans la figure (27)

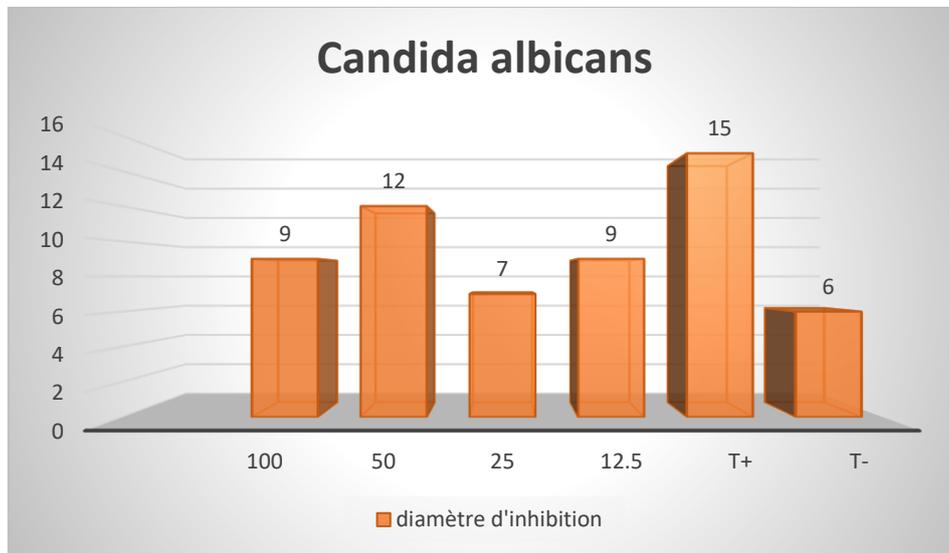


Figure 27 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Candida albicans*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 50% avec une valeur de 12mm. Le plus faible diamètre d'inhibition à la concentration 25% avec une valeur de 7mm.

Le diamètre d'inhibition enregistré avec l'antifongique T+ avec une valeur 15mm. Est supérieur à tous les diamètres enregistrés.



Figure 28 : **Diamètre d'inhibition d'HE du *R. officinalis* vis-à-vis *Candida albicans*.**

g) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Aspergillus Niger* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Aspergillus Niger* sont présentés dans la figure (29)

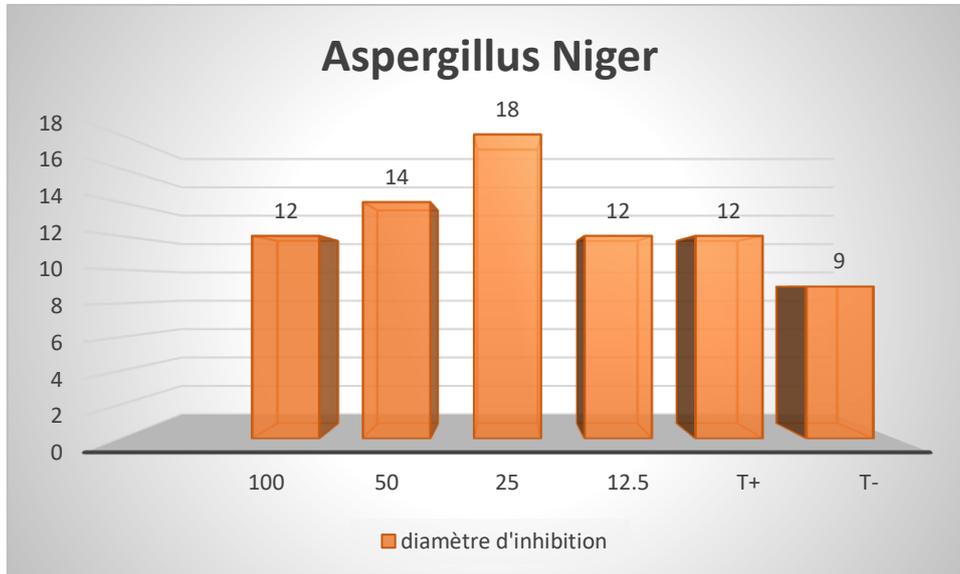


Figure 29 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Aspergillus Niger*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré à la concentration 25% avec une valeur de 18mm. Le plus faible diamètre est obtenu à la concentration 100% et 12.5% avec une valeur de 12mm.

Le diamètre d'inhibition enregistré avec l'antifongique T+ est similaire aux deux diamètres enregistrés à la concentration 100 % et 12,5 % ; et reste inférieur à celui obtenu à la concentration 25 % avec une valeur de 18 mm

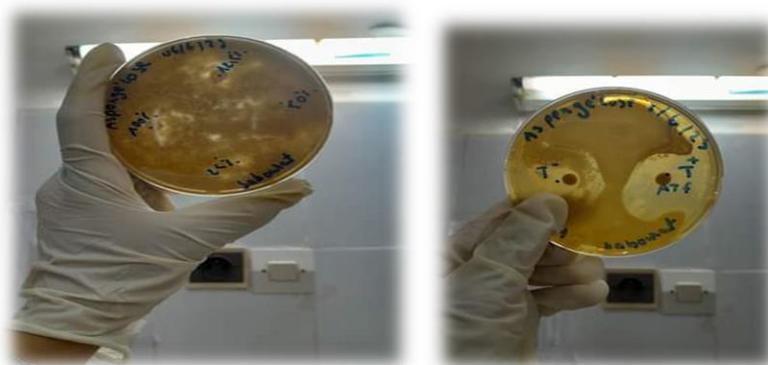


Figure 30 : **Diamètre d'inhibition d'HE de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis (*Aspergillus Niger*).**

3.2. Par micro atmosphère :

a) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *E. coli* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. Officinallis* L. vis-à-vis *E. coli* sont présentés dans la figure (31).

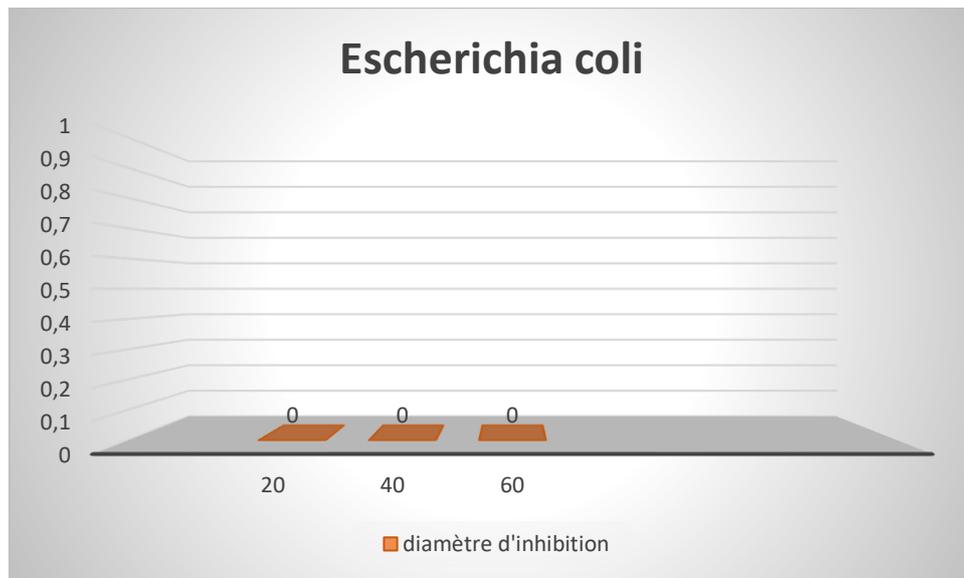


Figure 31 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *E. coli*. (Micro atmosphère).

On remarque qu'aucune zone d'inhibition n'a apparu, quel que soit la concentration.

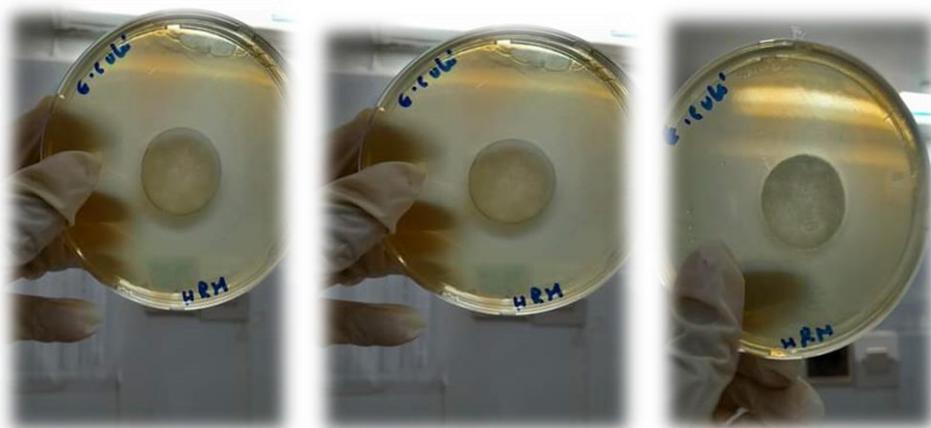


Figure 32 : Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *E. coli*.

b) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* sont présentés dans la figure (33)



Figure 33 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume 60 UL avec une valeur de 20mm. (Figure33)

Une zone d'inhibition nulle avec 20 et 40 UL.

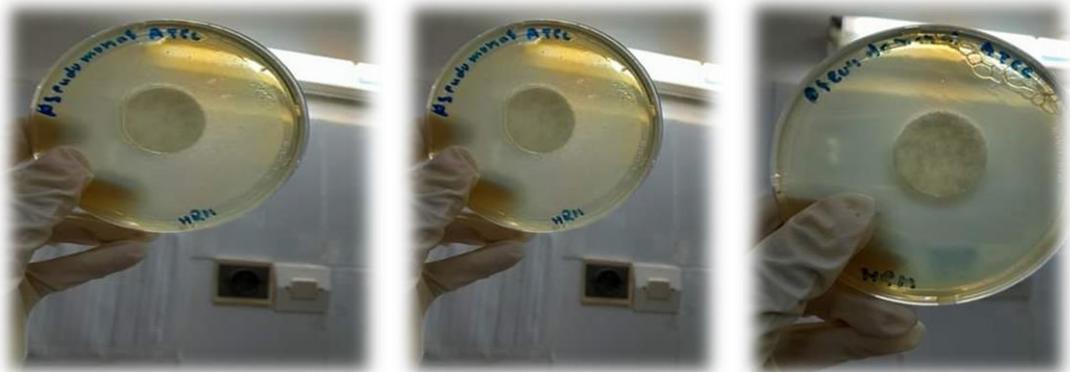


Figure 34 : **Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.**

c) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Staphylococcus aureus* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Staphylococcus aureus* sont présentés dans la figure (35)

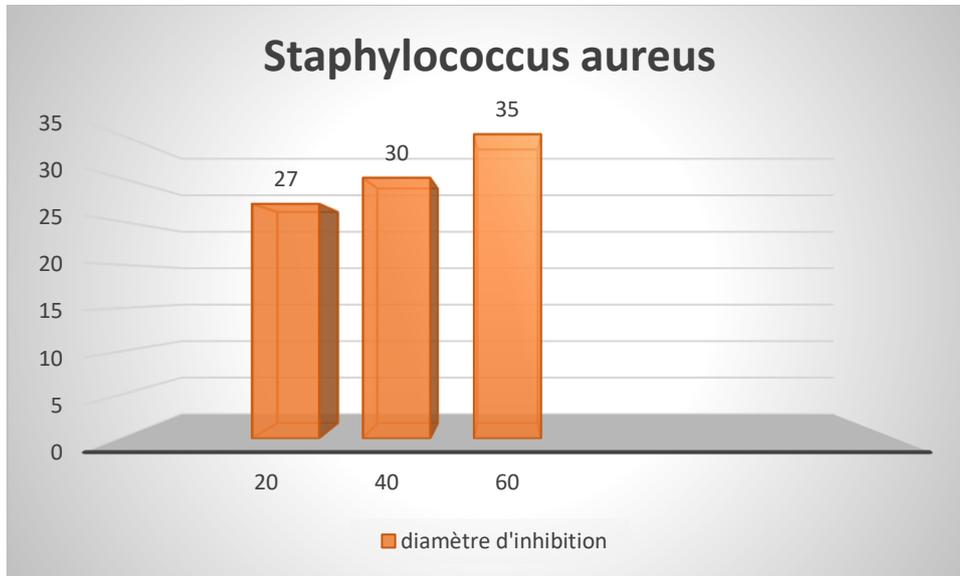


Figure 35 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume 60 UI avec une valeur de 35 mm, suivi par le volume de 40 UI et le volume 20 UI avec respectivement : 30 mm et 27 mm.

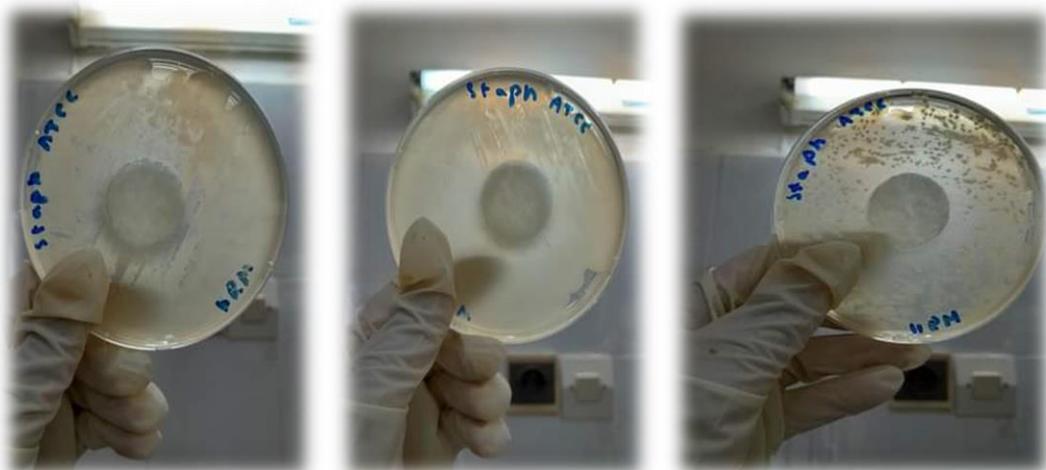


Figure 36 : Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Staphylococcus aureus*.

d) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Salmonella abony* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Salmonella abony* sont présentés dans la figure (37)

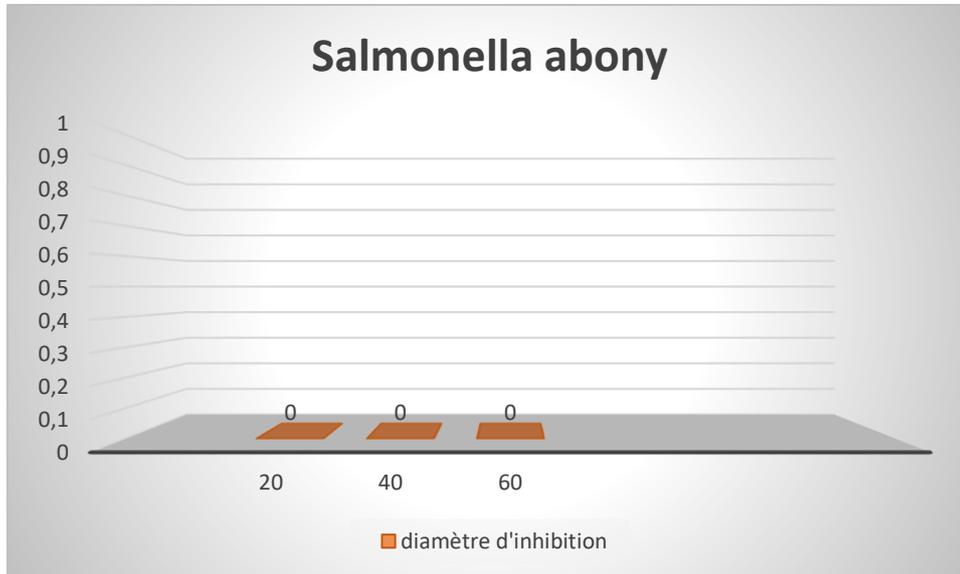


Figure 37 : pouvoir antimicrobien des volumes des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Salmonella abony*.

Aucune zone d'inhibition n'est enregistrée avec les volumes testés.



Figure 38 : diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Salmonella abony*.

e) Pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Bacillus subtilis* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Bacillus subtilis* sont présentés dans la figure (39)

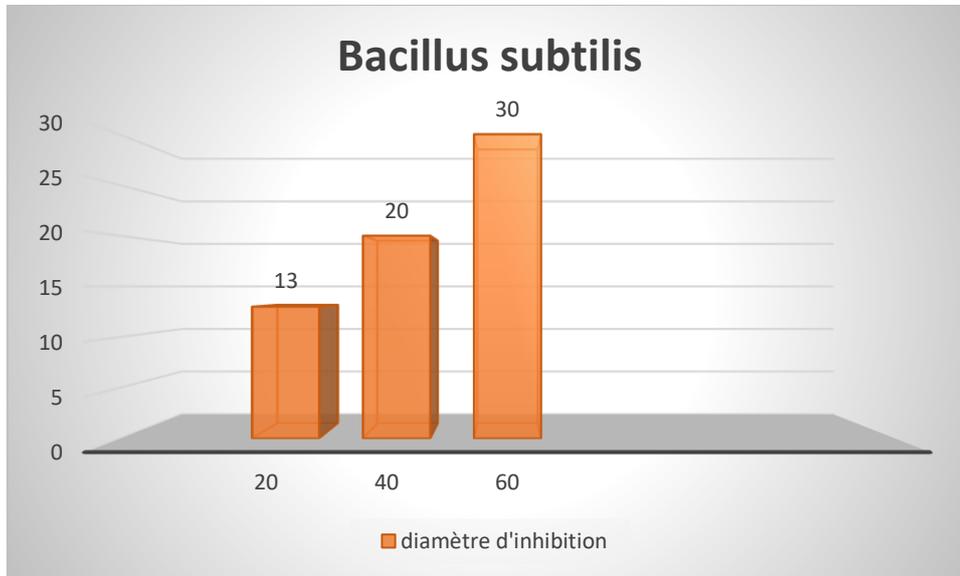


Figure 39 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume 60 UI avec la valeur de 30 mm, suivi par le volume de 40 UI avec une valeur de 20 mm, et le volume 20 UI avec une valeur de 13 mm. (Figure 39)



Figure 40 : Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Bacillus subtilis*.

f) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Candida albicans* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Candida albicans* sont présentés dans la figure (41)

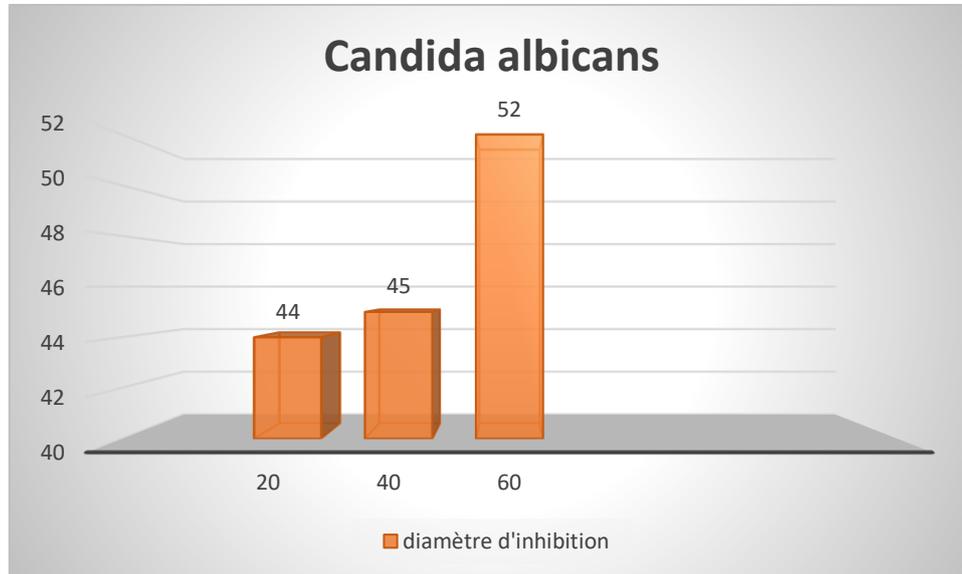


Figure 41 : pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Candida albicans*.

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume 60 UI avec une valeur de 52 mm, suivi par le volume de 40 UI avec une valeur de 45 mm, le volume 20 UI avec une valeur de 44 mm. (Figure 41)

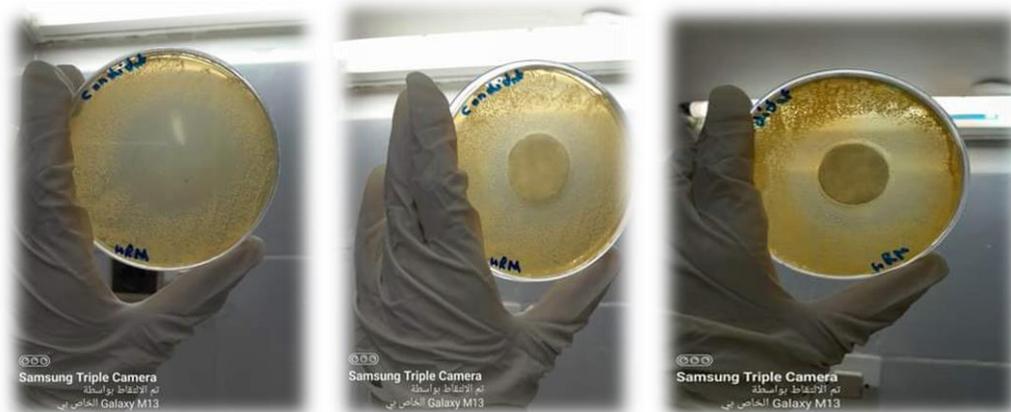


Figure 42 : Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Candida albicans*.

g) Le pouvoir antimicrobien vis-à-vis *Aspergillus Niger* :

Les résultats de l'activité antimicrobienne de l'HE de *R. officinalis* L. vis-à-vis *Aspergillus Niger* sont présentés dans la figure (43)

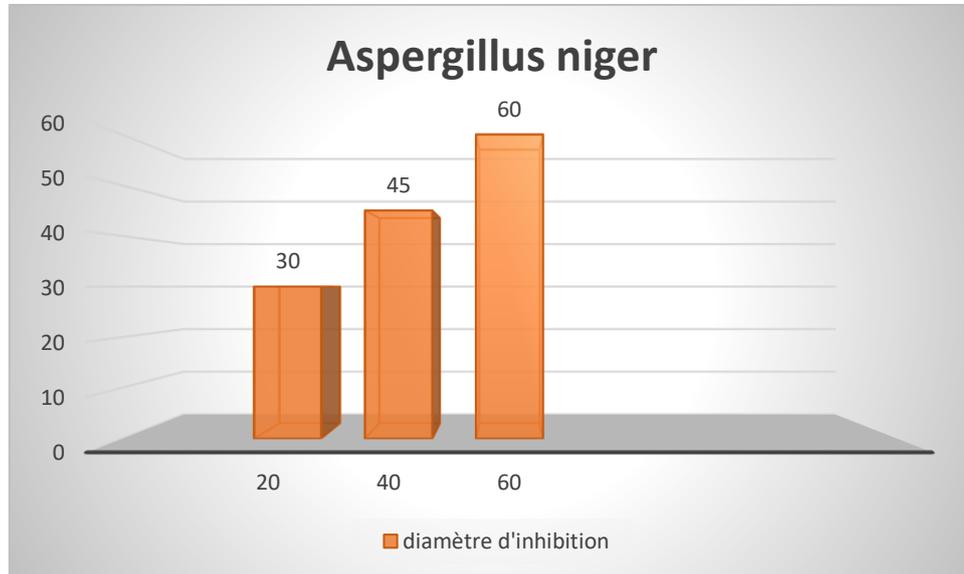


Figure 43 : **pouvoir antimicrobien des huiles essentielles du *R. officinalis* vis-à-vis *Aspergillus Niger*.**

On remarque que le diamètre d'inhibition le plus élevé a été enregistré avec le volume 60 UI avec une valeur de 60mm, suivi par le volume de 40 UI avec une valeur de 45 mm, et le volume 20 UI avec de valeur de 30mm. (Figure43)

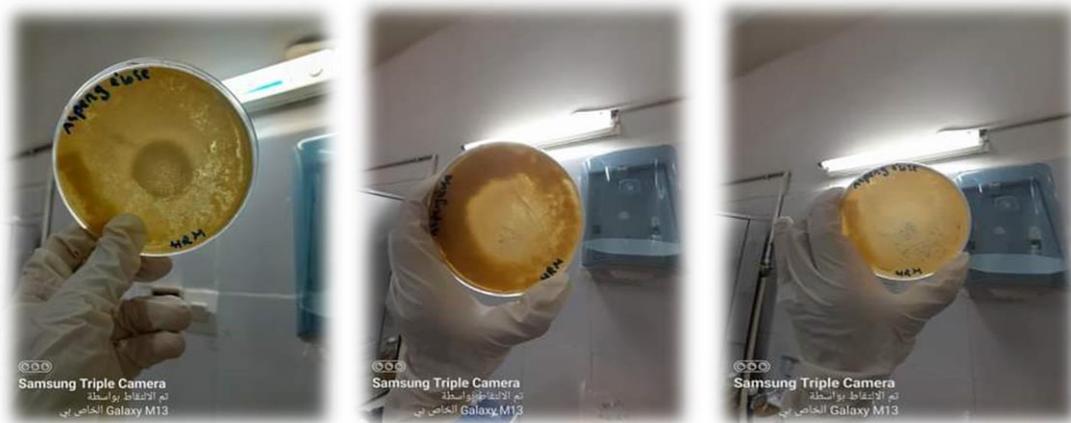


Figure 44 : **Diamètre d'inhibition d'HE de *R. officinalis* vis-à-vis *Aspergillus Niger*.**

4. Discussion :

Les bactéries sont les organismes les plus abondants de notre planète en nombre. Il existe principalement deux grands types de bactéries : les bactéries à Gram positif (paroi épaisse de peptidoglycane mais sans membrane externe) et celles à Gram négatif (à paroi cellulaire mince mais avec membrane externe).

L'activité antibactérienne de l'HE de *R officinalis* a été évalué par rapport à plusieurs souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif par 2 méthodes : la diffusion sur disque et micro atmosphère.

À la concentration 100% est les dilution, nous constatons que la bactérie *Bacillus subtilis* a présenté le diamètre le plus élevé : de 19 mm, suivie par *E. coli* avec un diamètre de 15 mm (très sensible).

À la concentration 50%, *Salmonella abony* est la bactérie la plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 17mm.

À la concentration 25%, *Pseudomonas. Aeuginos*, et *staphylococcus aureus* ont montré la zone d'inhibition la plus élevée avec 10 mm, suivi par *E. coli* avec a diamètre de 8mm.

À la concentration 12,5%, les bactéries testées ont enregistré des diamètres entre 11mm ,9 mm ,7mm et 5mm.

De tout ce qui précède on peut déduire que *Bacillus Subtilis* est la bactérie la plus sensible à l'huile essentielles de *Rosemarinus Officinalis* avec un diamètre d'inhibition de 19 mm, à la concentration 100%, suivie par *Salmonella abony* (17 mm), *E. coli* (15 mm), *Pseudomonas aeuginosa* et *Staphylococcus aureus* (10 mm).

Les bactéries *Bacillus subtilis*, *Aspergillus Niger*, *Salmonella abony*, *Escherichia coli* sont très sensible vis-à-vis HE de *Rosemarinus Officinalis*. Et les champignons *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeuginosa* sont sensibles vis-à-vis HE de *Rosemarinus Officinalis*.

Aussi, il ressort manifestement que l'huile essentielle étudiée de *Rosemarinus Officinalis* a un effet antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram + que négatifs (Gram-).

Concernant l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosemarinus Officinalis*, nous avons constaté que le pouvoir antifongique du champignon *Aspergillus Niger* avec un diamètre d'inhibition de 18 mm, à la concentration de 25%, est largement supérieur à celui de *candida albicans* avec un diamètre de 12 mm, à concentration 50%.

À la concentration 100%, *Aspergillus Niger* a enregistré un diamètre d'inhibition le plus élevé par rapport à celui enregistré par *candida albicans* avec 11 et 9 mm respectivement.

Pour la concentration 12,5%, il a été aussi constaté que *Aspergillus Niger* a montré un diamètre plus élevé à celui de *candida albicans* avec 12 et 9 mm respectivement.

Enfin, le classement de la sensibilité des souches vis à vis de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est présenté selon l'ordre suivant :

B. subtilis>*A. Niger*>*s. abony*>*E. coli*>*C. Albicans*>*S. aureus* > *P. aeuginosa*.

(Gram-) (Gram-) (Gram+) (Gram-) (Gram+)

Conclusion

D'après notre étude, l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, plante médicinale aromatique locale du matériel biologique de la région de Nador wilaya de Tipaza, récolté au mois de mars 2023, cette étude a été réalisée sur cinq souches bactériennes : *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella abony*, *Pseudomonas aeruginosa*, et sur deux champignons : *Candida albicans* et *Aspergillus Niger*. L'extraction des huiles essentielles par l'hydro distillation du dispositif d'alambic.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que nos huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne important à différentes concentration (100% ,50%,25%et 12,5%).

Les huiles essentielles étudiées de *Rosemarinus Officinalis* ont montré un effet antibactérien aussi bien sur les bactéries Gram+ que négatifs (Gram-).

A l'issue de cette étude, il a été constaté que *Bacillus subtilis* (Gram+) est la bactérie la plus sensible à l'huile essentielle de *Rosemarinus Officinalis*, suivie par *salmonella abony* (Gram-), *Escherichia coli* (Gram-), *Staphylococcus aureus* (Gram+) et *Pseudomonas aeuginosa* (Gram-) en dernier.

Perspectives

- ✓ Tester les extraits de *Rosmarinus officinalis* L.
- ✓ Tester les huiles essentielles de R. officinalis d'autres provenance
- ✓ Tester d'autres souches microbiennes
- ✓ Tester d'autres concentrations
- ✓ Etudies autres activités biologique : Antifongique, Insecticide, Antioxydant, Antivirus, Antivirales, Antiseptiques, Antidiabétiques.
- ✓ Tester les composés, identifiés individuellement, en faisant appel à des tests pharmacologiques in vivo et de vérifier la toxicité de ces composés.

Référence bibliographique

- Amrani M. & BELLABAS M.A., 2005. Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du Développement des d'érémophytes. *Phytothérapie*, 4, Pp.147-157.
- Bakkali, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. (2008). Biological effects of essential oil—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
- BELOUED A. 1998. *Plantes médicinales d'Algérie*. 2ème Edition. Office des publications universitaires (Ed). Alger, 274p.
- Beneteaud E, 2011. *Les techniques d'extraction*. Comité Français du Parfum. p 2-7.
- Berkane A., 2015- Détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis L.* Mémoire Master. Université Djilali BOUNAAMA - KHEMIS Miliana, 38p.
- BHOWMIK P-C, Schnitzler P, BERNATH J, SAVO V et SINAGB I, 2012. *Medicinal & Aromatic Plants. The International Open Access Medicinal & Aromatic Plants*. Vol 1, n°2. P 2.
- Biochimie- *Biologie moléculaire*, France. 50p (2010).
- BOUKHATEM M- N, Ferhat A et KAMELI A, 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Revue Agrobiologia*. p 1654-1656.
- BOULLARD B. (2001) ; *Plantes médicinales du monde réalités et croyances*. STEM (Ed) Paris. 660p.
- BOUSBIA N. 2011. *Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires*. Thèse de doctorat, université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 127p.
- BRUNETON J. 1993. *Pharma gnosie, phytochimie, plantes médicales*. Lavoisier TEC et DOC 1ème édition, Paris.
- BRUNETON J., 1999.- *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.
- BRUNETON, J. (1999). *Pharmacognosie Phytochimie des Plantes médicinales*. Techniques et documentations Lavoisier, Paris, (3).

- Burt S. (2004). Essential oil : their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 :223-253.
- CHAÏB A. (2015). Guide de phytothérapie : plantes et huiles médicinales. Thala Editions, El Biar, Alger.
- DAVIS, P.H., 1982, Flora of Turkey and the East Aegan Islands, 7, EDINBURGH : Ed Edinburgh University Press, 75-76.
- De Bonneval, P. (2006). L'herboristerie. Manuel pratique de la santé par les plantes. Éditions DésIris, pp 445.
- DEBUIGNE G., COUPLAN F. 2009. Petit Larousse des plantes médicinales .1 ère édition. Larousse, p 383.
- DORMAN H.J. et DEANS S.G., (2000) : Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oil. *J. Appl. Microbiol.*, Vol. 88, pp : 308-316.
- ESSAWI, T., SROUR, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 343-349.
- Fadi Z, 2011. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ Mohammed V Maroc. P 51-57.
- FSE.SNV.UNIV.BISKRA.DZ
- fse.snv.univ.biskra.dz.
- Garnier G., BEZANGER-Beauquesne L., DEBRAUX G. (1961), Ressources médicinales de la flore française. Tome II. Paris : Vigot Frères,1512p.
- Goetz P et GHEDIRA K, 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Ed Springer Verlag France, Paris. P 342-345.
- Goetz P et GHEDIRA K, 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Ed Springer Verlag France, Paris. p 342-345.
- GUINOISEAU E. Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat de l'Université de Corse, option :
- 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.
- HAMMICHE.V., 1988- Systèmes et morphologie botanique, O.P.U.

-Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayana M. 2006. Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol.* 107 : 157-160.

-HENRICH, et al (2006) : Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.

-Hoefer C, 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat en pharmacognosie. Univ de METZ. P 9-18.

<https://fse.snv.univ.biskra.dz/>

-Iserin P., Masson M., Restellini J-P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deelesalle -Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.

-J.P. 2004. Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. Vis- ; vis des germes pathogènes d'animaux de compagnie. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 14 : Pp 202-206.

-JASET-DONGMO P.M., TATSADJIEU N.L., TCHINDASONWA E., KUATE J., AMVAMZOLLO P.H. & Menut C. (2008). Antiradical potentiel and antifungal activities of essential oils of the leaves of *Eucalyptus saligna* and *E.*

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

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

-KALEMBA D. & KUNICKA A., (2003). - Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*. 10: 813-829.

-KHAN I. A., ABOURASHED E. A. 2010. Leung's encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. John Wiley & Sons, Inc P. 536- 537.

-KHIA A, GHANMI M, SATRANI B et al, 2014. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, vol 12, n°6. p 341-346.

-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.

KOBA K., SANDA K., Raynaud C., NENONENE Y.A., Millet J. &CHAUMON-LABIATEA. Thèse de magistère, université d'Ouargla, 45 p.

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

-Lemoine, E. (2001). Les plantes aromatiques et médicinales. Molière, Paris.

-Lhuillier A. 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.

Livre « Les huiles essentielles » de Fabrice Bardeau page 244.

-MAKHLOUFI A 2009- Etude des activités antimicrobienne et antioxydante dz deux plante médicinales poussants à l etat spontané dans la région de becher(*Matricaria pubescens*(Desf .)et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et de beurre cru Mémoire doctorat université Aboubaker Belkaid Bechar 13.

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

-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.

-Maurice N. 1997. L'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIe siècle. Ed. Lavoisier, Paris. p. 12-14.

-MERTOLA, 2018. Bonnes pratiques de domestication de plantes aromatiques et médicinales : romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine de Mértola. P 12-13, 37-38.

-MESSAILI.b., 1995- Systématique spermaphytes. Botanique. O.P.U. Alger. 63p.

-MOHAMMEDI z.,2006. Etude du pouvoirantimicrobienetantioxydant de quelquesplantes de la région de Tlemcen. Thèse de magister. Option : Produits naturels, activité biologique et synthèse. Faculté des Sciences. Université ABB. Tlemcen. Algérie.

- NEFFATI M et Sghaier M, 2014. Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). p 11-15.
- OMIDBEYGI M., Barzegar M., Hamidi Z. & Naghdibadi H., 2007. Antifungal activity of tyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus xavusin* liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18, Pp.1518-1523.
- OUIBRAHIM A., 2010 - Evaluation de l'effet ant-microbien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar Annaba, 95p.
- OURAINI D., Agoumil A., Ismaili-Alaoui M., Alaoui K, Cherrah Y
- OUSSOU K.R., Coffi K., Nathalie G., Seriyolou, Gerard K., Mireille D., Yao T.N., Gilles F. & Jean-Claude C.H., 2004. Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire. *Comptes Rendus de Chimie*, 7, Pp.1081-1086.
- PANDA, (2009) *Aromatic Plants Cultivation, Processing and Uses*. Association Tela Botanica. Botanique : se former, identifier des plantes sauvages.
- PAULI A., 2001. Antimicrobial properties of essential oil constituents. *International Journal of Aromatherapy*, 11, Pp. 126-133.
- 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).
- Porter N, (2001). *Essential oils and their production*. Crop & Food Research. Number 39.
- SANTICH, B., Bryant, G. (2013). *500 plantes comestibles Histoire Botanique Alimentation*. Delachaux et Niestlé, Paris.
- SANTOYO S., CAVERO 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.
- SCHAUENBERG O., PARIS F., (1977). *Guide to Medicinal Plants*. Keats, New Canaan, CT.

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

-TUTIN, T.G., HEYWOOD, V.H., BURGESS, N.A., MOORE, D.M., VALENTINE' D.H" WALTERS, S.M., WEBB, D.A., 1972, Flora Europaea, Diapensiaceae to Myoporaceae, vol.3, CAMBRIDGE : Ed University press, p-187.

ULLMANN.h.f., 2005 botanica.

-WANNISSORN B., JARIKASEM S., SIRIWANGACHAI T., THUBTHIMTHED S, (2005). - Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. Fitoterapia. 76 : 233-236.

-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.

-ZERMANE A. 2010.Etude de l'extraction supercritique Application aux systèmes agroalimentaires. Thèse de doctorat, université de MENTOURI., Constantine, 120 p.

-ZOUBEIDI C., 2004- Etude Antioxydants dans le *Rosmarinus Officinalis*.Labiataea. Mémoire Magister. Université Ouargla, 47p.

Annex :

Tableau : technique d'Aromatogramme

ion	Plante	Répétition	E. coli ATCC	Pseudomonas ATCC	Staphylococcus ATCC	Salmonella ATCC		Bacillus ATCC	Aspergillus ATCC	C A
	Romarin	1	0	0	27mm	0		13mm	30mm	4
za		2	0	0	30mm	0		20mm	45mm	4
		3	0	20mm	35mm	0		30mm	60mm	5

Tableau : technique micro Atmosphère

Région	Plante	Concentrat	E. Coli ATCC	Pseudomonas ATCC	Staphylococcus ATCC	Salmonella ATCC	Bacillus ATCC	Aspergillus ATCC	Candida ATCC
Tipaza	Romarin	100%	15mm	7mm	9mm	10mm	19mm	12mm	9mm
		50%	10mm	9mm	7mm	17mm	11mm	14mm	12mm
		25%	8mm	10mm	10mm	7mm	12mm	18mm	7mm
		12,5%	12mm	9mm	8mm	6mm	10mm	12mm	9mm
		T+	13mm	11mm	15mm	14mm	16mm	12mm	15mm
		T-	8mm	9mm	5mm	19mm	11mm	9mm	6mm

Matériel utilisé :



Figure 16 : Eau physiologie



Figure 15 : Sabouraud



Figure : Gélose nutritive



Figure : DMSO



Figure : Boite pétré



Figure : Ecouillon



Figure : les souches



Figure : la balance



Figure : l'étuve à 37°



Figure : l'étuve à 30°



Figure : personale