



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine Des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biotechnologie et protection des végétaux

Thème

Contribution à l'étude de l'impact de procédé d'extraction des huiles essentielles sur l'activité antifongique, antibactérienne et antioxydante de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* L.

Présenté par : BEN DJEDDOU Boubakeur
MAAZOUZ Saif Eddine

Devant le jury :

Président	: Widad FATMI	MCB	<i>UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ</i>
Encadrant	: Sabah BOUMERFEG	MCA	<i>UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ</i>
Examineur	: Saliha MHAMDI	MAA	<i>UNIVERSITE DE BORDJ BOUARRERIDJ</i>

Année universitaire : 2015/2016

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents pour leur aide, leur compréhension, leurs encouragements et surtout leur confiance. Je vous remercie beaucoup.

A mes frères « Antar, Ishak, Jihad, Amira et Ahlam »

A mes amis « Boubakeur, Mohamed Amin, Yousef, Fateh, Younes, Salim, Chaoiki, Zin eddine, Mahdi, et Ismail... »

Sans oublier tous les étudiants de ma promotions

Saif Eddine.

Dédicaces

Avec l'aide d'ALLAH le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie :

*À toute ma famille : A l'âme de ma chère mère **NABILA** et mon cher frère, **TAREK**.*

J'espère que vous habitez l'upper du paradis.

*A mon père **ABDELHAMID***

Je n'oublie pas ses sacrifices, l'amour qui m'a donné,

*Pour leur encouragement, je le souhaite la joie et de
bonne santé.*

Ce travail n'est que le fruit de son soutien, et de son encouragement répété, de leurs prières, de son amour profond. Je souhaite que ce mémoire l'apporte la joie.

A mes frères, et mes sœurs et aussi leurs enfants.

*Je le dédie aussi à tous mes oncles et tantes, cousins et cousines,
particulièrement Ali, ma grand-mère Fatma, Abdelghani et Aicha.*

Je ne saurais terminer sans citer mes amis,

Saif, Younesse, Chaouki, Salim, Mahdi, Zino, Issam, Hamza, Yakoub, Bilal.

Enfin, je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux qui me connaissent et particulièrement mon promo SNV 2016 et à tous les étudiants de l'Université de BBA et à tous les autres qui sont hors d'Université.

Boubakeur.

REMERCIEMENT

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

*Par ailleurs, nous tenons à remercier notre encadrant **Dr. SABAH BOUMERFEG** Maitre de conférences au Département des Sciences Biologiques, Faculté d'SNV Université de Bordj-Bou-Argeridj pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ses conseils et la confiance qui nous a accordée afin de réaliser ce travail.*

*Nous remercions **les membres de jury**, chacun à son nom, d'accepter de juger notre travail.*

Un remerciement spécial à

M^{me} Najet RIGHI

Pour son aide, encouragement ainsi que son soutien moral qui ont été d'une grande importance pour l'élaboration de ce travail

Nous avons le plaisir d'adresser mes vifs remerciements à :

Tous nos enseignements

*Equipe des laboratoires particulièrement : Khadija, Sabrina, Afaf et Khalil
Nous tenons à remercier respectivement tous ceux qui nous aident, soutenues, et encouragées pour la réalisation de ce modeste travail.*

Résumé

Notre travail porte sur l'étude des activités biologiques des huiles essentielles (HES) du romarin (*Rosmarinus officinalis*) de la région de Bordj Bou Arreridj.

Rosmarinus officinalis L. est une plante aromatique spontanée largement répandue en Algérie, appartenant à la famille des labiées (Lamiaceae) appelée communément par la population locale «Eklil». Elle est encore utilisée dans la médecine traditionnelle comme antispasmodique, ingrédients en produits de beauté aussi bien dans la conservation des produits alimentaires.

L'extraction des HES de *Rosmarinus officinalis* L. a été effectuée par hydrodistillation. L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. L'activité antioxydante est évaluée par le teste de DPPH et le teste de blanchissement de β -carotène.

Les résultats montrent que les HES du *Rosmarinus officinalis* L. possèdent une forte activité antimicrobienne contre les souches testés soit bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *E coli* et *Bacillus cereus*) ou fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*). D'autre part les HES ont montré un pouvoir remarquable de piégeage du radical libre DPPH ($IC_{50} = 7,84 \pm 0,37 \mu\text{g/ml}$), qui est significativement similaire à celui du antioxydant de référence BHT ($IC_{50} = 10,96 \pm 0,66 \mu\text{g/ml}$) et un pourcentage d'inhibition de l'oxydation du β -carotène égale à 48.46% pas loin de celui du BHT (84,17%).

Ces résultats peuvent être considérés comme point de départ pour des applications de cette plante en santé ou dans le secteur agroalimentaire.

Mots clés: *Rosmarinus officinalis*, Huiles essentielles, Activité antioxydante, activité antifongique, Activité antibactérienne.

المخلص

يهدف هذا العمل إلى دراسة النشاطية البيولوجية الخاصة بالزيوت الأساسية لنبات إكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* من منطقة برج بو عريريج، إكليل الجبل نبات عطري ينتمي إلى عائلة الشفويات يدعى محليا بالإكليل. ينمو بصفة تلقائية وهو منتشر بكثرة في الجزائر ومازالت تستخدم إلى حد الآن في الطب التقليدي كمضاد للتشنج و في تركيب المواد التجميلية و كذلك في حفظ المواد الغذائية.

تم إستخلاص الزيوت الأساسية لنبته الإكليل بواسطة تقنية التقطير hydrodistillation، وقدرت النشاطية المضاد للميكروبات بالاعتماد على تقنية الانتشار في وسط هلامي. أما القدرة المضادة للأكسدة فقد تم تقييمها باستخدام اختباري DPPH وتبييض β -carotène

بينت النتائج المحصل عليها أن للزيوت الأساسية لنبات إكليل الجبل نشاط مضاد للمكروبات قوي سواء ضد البكتيريا (*Staphylococcus aureus, E coli et Bacillus cereus*) أو الفطريات (*Fusarium oxysporum, Aspergillus niger*). من جهة أخرى أظهرت هذه الزيوت نشاطية عالية مضادة للأكسدة تجاه جذر DPPH حيث أعطت IC_{50} مساوية ($IC_{50} = 7,84 \pm 0,37 \mu g/ml$) مماثلة إحصائيا لتلك المحصل عليها مع مضاد الأكسدة المرجعي BHT ($IC_{50} = 10,96 \pm 0,66 \mu g/ml$) مع نسبة تثبيط لأكسدة β -carotène تساوي % 48.46 والتي ليست بعيدة عن نسبة التثبيط لمضاد الأكسدة BHT (84,17%).

يمكن اعتبار هذه النتائج كنقطة انطلاق لاستعمال هذا النبات في مجال الصحة أو في القطاع الزراعي الغذائي.

الكلمات المفتاحية : *Rosmarinus officinalis*، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة، النشاطية المضادة للبكتيريا، النشاطية المضادة للفطريات.

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....	01
-------------------	----

Etude Bibliographique

Chapitre I : Les plantes aromatiques et huiles essentielles.....	03
I.1. Les plantes médicinales aromatiques.....	03
I.1.1. Composition chimique des plantes aromatiques.....	03
I.2. Les huiles essentielles.....	03
I.2.1. Définition.....	03
I.2.2. L'origine et localisation des huiles essentielles (HES).....	04
I.2.3. Les propriétés chimiques des huiles essentielles.....	04
I.2.3.1. Les terpènes	04
I.2.3.2. Les composés aromatiques.....	05
I.2.4. Rôles des huiles essentielles chez les végétaux.....	05
I.3. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....	05
I.3.1. L'entraînement à la vapeur d'eau.....	06
I.3.2. L'hydrodiffusion.....	06
I.3.3. L'hydro distillation.....	07
I.3.4. L'enfleurage.....	08
I.3.5. L'extraction supercritique.....	08
Chapitre II : Les propriétés biologique du Romarin	09
II.1. Rosmarinus officinalis L.....	09
II.1.1. Etymologie.....	09
II.1.2. Position systématique.....	09
II.1.3. Description botanique.....	09
II.4. composition des huiles essentielles du romarin.....	10
II.4.1. L'huile essentielle chémotypée et non chémotypée.....	10
II.2. L'usage traditionnelles du Romarin.....	12
II.3. Les activités biologique du romarin.....	12
II.3.1. L'activité antibactérienne.....	12

II.3.2. L'activité antifongique	12
II.3.3. L'activité antivirale	12
II.3.4. L'activité ovicide	13
II.3.5. L'activité antioxydant	13
II.3.5.1. Le stress oxydant et radicaux libre	14
II.3.5.2. Les antioxydants.....	14
II.3.5.3. activité antioxydant du romarin.....	14
<i>Etude Expérimentale</i>	
Chapitre I : Matériels et Méthodes.....	15
I.1. Matériels.....	15
I.1.1. Matériel végétal.....	15
I.1.2. Produit chimique et appareillage.....	15
I.1.3. Souches fongiques et souches bactériennes.....	15
I.2. Méthodes.....	15
I.2.1. L'extraction des huiles essentielles.....	15
I.2.2. L'activité antimicrobiennes des huiles essentielles.....	16
I.2.2.1. L'activité antibactérienne	16
I.2.2.2. L'activité antifongique	18
I.2.3. L'activité antioxydante	19
I.2.3.1. Test du DPPH•.....	19
I.2.3.2. Test du blanchissement de β -carotène.....	20
Chapitre II : Résultats et Discussion.....	21
II.1. Détermination du rendement d'extraction.....	21
II.2. Le pouvoir antibactérien.....	22
II.3. L'activité antifongique.....	25
II.3.1. L'évaluation de la croissance mycélienne.....	25
II.3.2. la vitesse de croissance mycélienne (VC).....	26
II.3.3. L'indice antifongiques (IA).....	27
II.4. L'activité antioxydante	30
II.4.1. Test de DPPH•.....	30
II.4.2. Test du blanchissement du β -carotène	32
Conclusion	34
Références bibliographiques.....	36
Annexes.....	43

Liste des figures

Figure 1 :	Structure de l'isoprène (C ₅ H ₈).....	04
Figure 2 :	Montages pour l'entraînement à la vapeur d'eau	06
Figure 3 :	Montages pour l'hydrodiffusion.....	07
Figure 4 :	Montage pour l'hydro distillation.....	08
Figure 5 :	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	10
Figure 6 :	Procédé d'extraction des huiles essentielles.....	15
Figure 7 :	Structure de DPPH• et mécanisme de sa réduction par un antioxydant....	18
Figure 8 :	Les zones d'inhibition de la croissance d' <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> et <i>S. aureus</i> sous l'action des HES <i>Rosmarinus officinalis</i>	22
Figure 9 :	les zones d'inhibition (mm) de la croissance d' <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> et <i>S. aureus</i> après l'application des différentes dilutions des HES de <i>Rosmarinus officinalis</i> , DMSO et l'antibiotique (ATB : Amoxisiline).....	22
Figure 10 :	l'effet des HES de <i>R. officinalis</i> sur la croissance mycélienne de la <i>F.oxysporum</i> en fonction des concentrations et du temps (Jours).....	25
Figure 11 :	l'effet des HES de <i>R. officinalis</i> sur la croissance mycélienne de la <i>A. niger</i> en fonction des concentrations et du temps.....	25
Figure 12 :	l'effet des HES de <i>R. officinalis</i> sur les vitesses de croissance mycélienne du <i>Fusarium oxysporum</i> et <i>Aspergillus niger</i>	26
Figure 13 :	Activité antiradicalaire des huiles essentielles de <i>R. officinalis</i> et du BHT vis à vis le radical DPPH.....	30
Figure 14 :	les concentrations inhibitrices des huiles essentielles de <i>R. officinalis</i> et de BHT pour réduire 50 % du radical DPPH.....	30
Figure 15 :	Cinétique de blanchissement du β-carotène à 490nm en absence et en présence des HES de <i>R. officinalis</i> et du BHT.....	32
Figure 16 :	Activité antioxydante relative (AA) des HES <i>R. officinalis</i> et du BHT dans le système β-carotène/acide linoléique.....	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de romarin.....	20
Tableau 2 : La sensibilité des souches ; <i>E. coli</i> , <i>B. cereus</i> et <i>S. aureus</i> et les diamètres des zones d'inhibition en mm de leur croissance après l'application de chaque dilution des HES de <i>Rosmarinus officinalis</i> , DMSO et l'antibiotique (ATB : Amoxisiline).....	21
Tableau 3 : L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis le <i>F. oxysporum</i>	22
Tableau 4 : L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis l' <i>A. niger</i>	22

Liste des abréviations

- A. niger** : Aspergillus niger
- AA(%)** : pouvoir antioxydant
- ADN** : acide désoxyribonucléique
- ATB** : antibiotiques
- BHA** : Butylhydroxyanisole.
- BHT** : Butylhydroxytoluène.
- CAT** : catalases
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice.
- DMSO** : DiméthylSulfOxyde.
- DPPH** : 2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl.
- GPx** : glutathions peroxydases
- GSH** : glutathion réduit
- HES**: Huiles essentielles.
- HIV** : virus de l'immunodéficience humaine
- IA** : l'indice antifongique
- IC₅₀** : Concentration à 50% de DPPH perdu.
- PCL** : photo chimio luminescence
- PDA** : Potato Dextrose Agar
- PI%** : pourcentage d'inhibition.
- ppm** : particules par million
- R_{HE}** : Rendement en huile essentielle.
- ROS** : reactive oxygen species
- Rosmarinus officinalis L** : Rosmarinus officinalis Linné.
- S. aureus** : Staphylococcus aureus
- SOD** : superoxydes dismutases
- TW** : Tween
- VC** : vitesse de la croissance mycélienne

Introduction

Introduction

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant l'efficacité et la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie agroalimentaire. En effet, le développement de la résistance des micro-organismes aux divers antibiotiques préoccupe les spécialistes. D'un autre côté, l'utilisation des additifs tels que les antioxydants est suspectée d'avoir des effets négatifs sur la santé du consommateur.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne et de l'oxydation des aliments. Dans le but de, l'investigation des plantes représente un potentiel inestimable pour la découverte de nouvelles substances à pouvoir antimicrobien et antioxydant. Ainsi les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives (**Teuscher et al., 2005**). Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour le traitement des maladies infectieuses (**Baser et al., 2001**) et pour la protection des aliments contre l'oxydation (**Miguel et al., 2003**), elle sont des matières premières importantes pour la parfumerie, le cosmétique, l'industrie des arômes. Ces substances sont également utilisées dans l'industrie pharmaceutique aussi bien comme sources de substances actives que pour l'aromatisation de divers produits (**Moretti et al., 2002**).

Les plantes aromatiques sources des huiles essentielles sont largement répandues dans la nature. L'Algérie abrite un ensemble d'espèces importantes et variées et témoigne de ce fait d'une richesse floristique incontestable. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés à étudier le romarin ; la plante qui pousse à l'état spontané dans les monts de la région de Bordj Bou Arreridj. Le romarin (*Rosmarinus Officinalis* L.) fait l'objet des récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciées pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales, largement utilisées en médecine traditionnelle (**Atik bekkara et al., 2007**).

Ce travail a pour objet de l'extraction et l'évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus officinalis*.

- La première partie propose une recherche bibliographique sur le sujet qui est consacré à l'étude des plantes médicinales, la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles ainsi que leurs procédés d'extraction.
- La seconde partie met en évidence les matériels et les méthodes utilisés lors de la réalisation de cette étude, tels que la méthode d'extraction des huiles essentielles l'évaluation de l'effet antifongique, l'effet antibactérien et l'effet antioxydant *in-vitro*

Introduction

en utilisant les tests DPPH et le β -carotène. Par la suite une analyse statistique qui a été réalisée permettant de regrouper et de résumer un ensemble de données ayant des objectifs comparables.

- La troisième partie présente et discute les résultats obtenus suivie par une conclusion qui fait une synthèse claire des principaux apports du mémoire en termes de méthodologies proposées et des résultats obtenus. ainsi de nombreuses perspectives importantes qui font suite à ce travail.

Etude
Bibliographique

Chapitre I

**Les Plantes aromatiques et les huiles
essentielles**

I.1. Les plantes médicinales aromatiques

Une plante médicinale est une plante qui contient un ou plusieurs principes actifs, capable de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Celles inscrites à la pharmacopée sont considérées comme des médicaments. Leur vente est exclusivement réservée aux pharmaciens et aux herboristes, et qui correspondent souvent aux plantes aromatiques utilisées dans les préparations culinaires. Entre 20 000 et 25 000 plantes sont utilisées dans la pharmacopée humaine. 75% des médicaments ont une origine végétale et 25% d'entre eux contiennent au moins une plante ou une molécule active d'origine végétale. **(Belouad A, 2001)**.

I.1.1. Composition chimique des plantes aromatiques

La composition chimique des plantes aromatiques est complexe et est constituée de deux fractions. La première fraction dite volatile est présente dans différents organes de la plante selon la famille ; cette fraction est composée de métabolites secondaires qui constituent l'huile essentielle. La 2^{ème} fraction dite non volatile de la plante, composés organiques non volatils, est composée essentiellement de coumarines, flavonoïdes **(Kubeczka et al., 1982)**, composés acétyléniques ainsi que de lactones sesquiterpéniques, phénols ou polyphénols jouant un rôle fondamental dans l'activité biologique de la plante. **(Essawi, 2000)**.

I.2. Les huiles essentielles

I.2.1. Définition

Les principes actifs des plantes aromatiques sont souvent liés aux produits du métabolisme secondaire en faibles quantités (essences végétales, essences aromatique, huiles volatiles ou parfums) **(Haddouchi et al., 2008 ; Belkou et al., 2005)**.

Selon l'Association Française de Normalisation **(AFNOR, 2000)** les HES sont des produits obtenus soit à partir de matières premières naturelles par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits de Citrus par des procédés mécaniques et qui sont séparés de la phase aqueuse par des procédés physiques. Les HES sont des mélanges volatiles de nombreux composés et des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les oxydes, les esters, les cétones... **(Isman, 2002)**, Elles sont produites par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages **(Csesk et Kaufman, 1999)**.

I.2.2. L'origine et localisation des huiles essentielles (HES)

Les huiles volatiles peuvent être considérées comme des résidus du métabolisme végétal. Suite à la photosynthèse au niveau des chloroplastes, l'énergie produite (sous forme de glucides, NADPH et d'ATP) contribue au développement de la plante et indirectement à la biosynthèse de multiples composés secondaires parmi elles les huiles essentielles (Narishetty et Panchagnula, 2004).

Les espèces aromatiques qui produites les HES caractérisées par la présence d'organes spécifiques responsables de la synthèse et de stockage de ces composés volatile, soit les poches (Myrtacées, Rutacées), les canaux sécréteurs, les poils sécréteurs (Lamiaceae) et les cellules sécrétrices (Zingiberaceae, Lauraceae) (Bruneton., 1993).

I.2.3. Les propriétés chimiques des huiles essentielles

Les HES peuvent contenir une centaine de composées différentes, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques : les terpènes et les dérivés du phénylpropane biosynthétisé essentiellement à partir de l'acide shikimique (Bruneton, 1993).

I.2.3.1. Les terpènes

Les composés terpéniques à poids moléculaire faible constituent généralement la majorité des composés volatils des huiles essentielles. Ces constituants proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène (Figure 1) (Baser et Buchbauer, 2010).

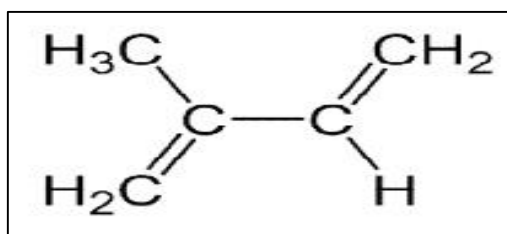


Figure 1 : Structure de l'isoprène (Lakhdar L, 2015)

I.2.3.2. Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Kurkin et al., 2003**). Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'Apiaceae (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, de la vanille, de la cannelle, du basilic, de l'estragon, etc. (**Bruneton, 1999**).

I.2.4. Rôles des huiles essentielles chez les végétaux

Les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés chimiques issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront le plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les prédateurs. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés de phagodétendants ou d'inappétants, sont moins consommées (**Houël, 2011**).

De façon générale, les terpénoïdes jouent un rôle fondamental dans les interactions entre les organismes vivants, permettant par exemple à une plante d'attirer les pollinisateurs, ou les prédateurs ou les parasitoïdes des herbivores venant l'attaquer (**Gershenzon et Dudarova, 2007 ; Unsicker et Kunert, 2009**). C'est en particulier ce dernier rôle qui donne toute son importance à une stratégie bioinspirée de recherche de composés antifongiques, antibactériens ou bio-insecticides parmi les métabolites secondaires, et en particulier les huiles essentielles (**De Figueiredo et al., 2008**).

I.3. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Il existe différentes techniques d'exploitation des plantes aromatiques, les plus connus sont la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid, l'extraction par les solvants et par les graisses (**Robert, 2000 ; Proust, 2006**). Le choix du procédé d'extraction influe directement sur la qualité des produits et sur le rendement de l'extraction. Il est orienté par la localisation histologique et la composition chimique de ces essences. À l'échelle industrielle, le procédé le plus employé reste la distillation à la vapeur d'eau. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro diffusion et l'hydro distillation. (**Nait Achour K, 2012**).

I.3.1. L'entraînement à la vapeur d'eau

Le matériel végétal dans la distillation ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques : le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (Franchomme et al., 1990).

Cette méthode est industriellement la plus utilisée pour l'extraction d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* dans le but d'obtenir un bon rendement de l'essence et de réduire le temps d'extraction (Marzouk et al., 2006).

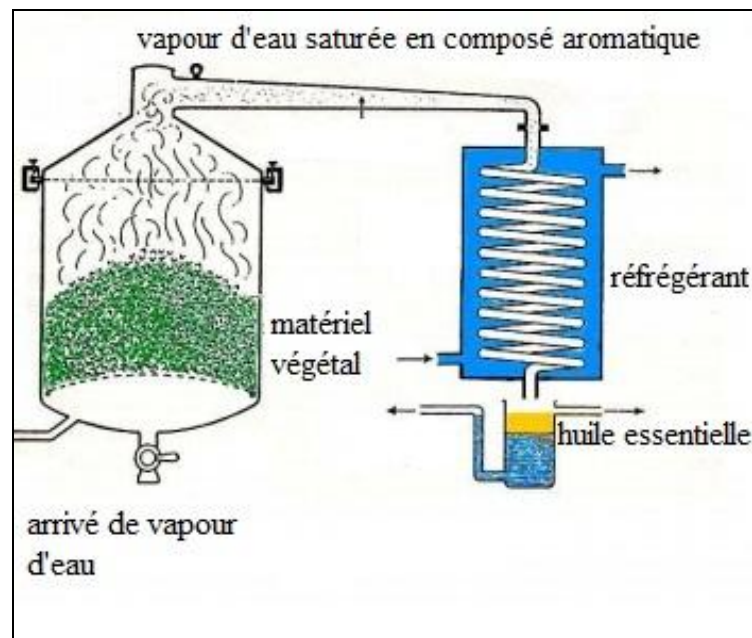


Figure 2 : Montages pour l'entraînement à la vapeur d'eau. (Lakhdar L, 2015)

I.3.2. L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur d'eau. Dans le cas de l'hydrodiffusion, le flux de vapeur n'est pas ascendant mais descendant. Cette technique exploite ainsi l'action osmotique de la vapeur d'eau. 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 (Figure 3) (Meyer-Warnod et al., 1984).

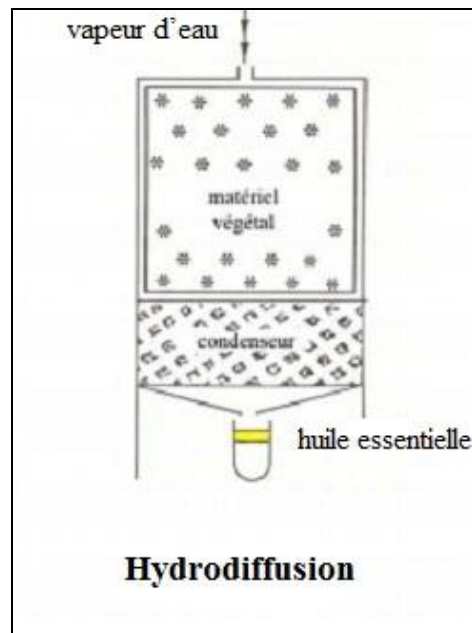


Figure 3 : Montages pour l'hydrodiffusion. (Lakhdar L, 2015)

I.3.3. L'hydrodistillation

Historiquement, l'hydro distillation a été la première méthode employée pour la préparation d'une huile essentielle et c'est encore aujourd'hui la méthode de référence (Meyer-Warnod *et al.*, 1984). L'hydro distillation est une distillation hétérogène. L'eau recouvrant le matériel végétal est portée à ébullition sous pression atmosphérique. Une fois libérés, sous forme d'un mélange azéotropique, les composés volatils contenus dans des glandes sécrétrices, sont entraînés mécaniquement par la vapeur d'eau. Dans le « système Clevenger » préconisé par la pharmacopée européenne (Pharmacopée Européenne, 1996). L'eau distillée est recyclée dans le bouilleur par cohobage (Clevenger, 1928). Après refroidissement, le mélange eau-HES se sépare par décantation. Le système Clevenger permet ainsi la conservation d'une quantité d'eau identique durant toute la durée de l'extraction (Figure 4) (Kapetanovic *et al.*, 1984).

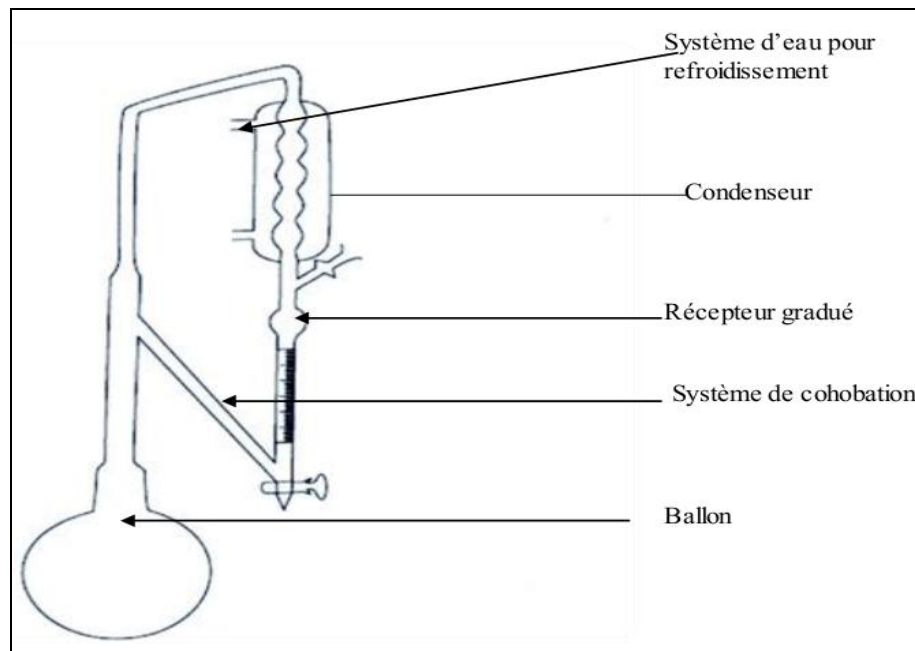


Figure 4 : Montage pour l'hydro distillation type Clevenger. (Lakhdar L, 2015)

I.3.4. L'enfleurage

Procédé réservé aux huiles essentielles délicates qui ne supportent pas la chaleur. Les pétales fraîchement cueillis, sont étalés sur de la graisse sur des châssis en verre et remplacés toutes les 24 heures. Les huiles essentielles satureront progressivement la graisse. Le composé obtenu appelé pommade, est lavé avec de l'alcool qui, après évaporation produit l'huile parfumée (Lahrech Kh, 2010).

I.3.5. L'extraction supercritique

Cette technique d'extraction permet d'extraire les principes actifs de la plante sans chauffage, le principe de ce procédé repose sur l'état supercritique du gaz carbonique, qui dans certaines conditions de pression et de température, se comporte comme un fluide qui a une densité d'un liquide et une viscosité d'un gaz. Il diffuse à travers les cellules de la plante, et extrait les principes actifs (Bocevskaja et Sovova, 2007 ; Gaspar et al, 2000).

Chapitre II

Les propriétés biologique du Romarin

II.1. *Rosmarinus officinalis* L.

II.1.1. Etymologie

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer. On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "rhops" arbuste et "myron" baume (**Heinrich et al., 2006**)

Appellations régionales en Algérie :

- Région de l'Est : Eklil
- Région de l'Ouest : Helhal
- Région du Centre : Yazir (**Med-Chclist, 1986**)

II.1.2. Position systématique selon (**Cronquist, 1981**)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèces	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

II.1.3. Description botanique

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 (**Botineau, 2010**). Le genre *Rosmarinus* de cette famille ne regroupe que trois espèces (**Bärtels, 1997**) :

- *Rosmarinus officinalis* Linné, de loin l'espèce la plus aromatique et importante.
- *Rosmarinus eriocalix* Jord. &Fourr.
- *Rosmarinus tomentosus* Huber-Morath et Maire, morphologiquement très proche de *R. eriocalyx*.

Le romarin est un arbrisseau de la famille des labiées (Lamiaceae), peut atteindre jusqu'à 1,5 mètre 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. La floraison commence dès le mois de février (ou janvier parfois) et se poursuit jusqu'au avril-mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet. Comme pour la plupart des Lamiacées, le fruit est un tetrakène de couleur brune (**Figure 5**) (**Botineau., 2010**).).



Figure 5 : *Rosmarinus officinalis* L. (**Fadi Z, 2011**)

II.1.4. composition des huiles essentielles du romarin

Les huiles essentielles du romarin sont caractérisées par la présence d'un ensemble des molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules diffèrent selon la nature de la plante, le sol (**Angioni et al., 2004**), le temps de récolte (**Celiktas et al., 2007**), la partie de la plante (**Flamini et al., 2002**), la préparation de l'échantillon (**McCormick et al., 2006**), ainsi que la méthode d'extraction (**Boutekedjiret et al., 2004**).

II.4.1. L'huile essentielle chémotypée et non chémotypée

Lorsqu'une molécule est présente en fort pourcentage dans une huile essentielle, on l'appelle le "type chimique" ou "chémotype". (**Sacchetti et al., 2005 ; Angioni et al., 2004**). Selon (**Tuberoso et al., 1998**) les monoterpènes constituaient 50 % de l'HES de romarin, spécialement l' α -pinène (>30%), camphène et limonène ; alcools \approx 7% et cétones \approx 10 %.

II.2. L'usage traditionnelles du Romarin

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (**Gonzalez-Trujano, 2011**). L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Arnold, 1997**).

II.3. Les activités biologique du Romarin**II.3.1. L'activité antibactérienne**

Les huiles essentielles de romarin possèdent une action cytotoxique sur les bactéries (**Davidson, 1997**). Grâce à leurs variabilité des constituants suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-organismes. Étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action (**Guinoiseau, 2010**).

II.3.2. L'activité antifongique

Dans le domaine phytosanitaire et agroalimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (**Lis-Balchin, 2002**). L'activité fongistatique des composés aromatiques semble être liée à la présence de certaines fonctions chimiques (**Voukou et al., 1988**).

II.3.3. L'activité antivirale

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du romarin, a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) aux concentrations très basses, qui ont étaient également cytotoxiques. Cependant, le carnosol a montré une activité anti-HIV à une concentration de 8 μM qui n'était pas cytotoxique (**Aruoma et al., 1996**).

II.3.4. L'activité ovicide

L'huile essentielle du romarin s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*) (**Prajapati et al., 2005**). De même **Gillij et al., (2007)** ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre le moustique *Aedes aegypti*. Dans le cadre de la protection des produits stockés **Papachristos et Stamopoulos (2002), (2004)** ont trouvé que les œufs, les larves et les pupes d'*Acanthoscelides obtectus* sont sensibles aux vapeurs des huiles essentielles du romarin.

II.3.5. L'activité antioxydante

II.3.5.1. Le stress oxydant et radicaux libre

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydant est la conséquence d'un déséquilibre entre la production des radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses antioxydantes. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié) (**Angelos et al., 2005 ; Wolin et al., 2005**). Le stress oxydatif dû aux radicaux libres entraîne des dégâts tissulaires essentiellement par l'oxydation des protéines par l'introduction d'un groupement carbonyle (C=O), fragmentation, perte de la fonction catalytique ou structurale ; l'oxydation des sucres qui, en présence de traces métalliques, entraîne la libération d' H_2O_2 et d' OH^\bullet (**Rahman et al., 1999**). L'oxydation de l'ADN, à travers les coupures et mort cellulaire, cassures et mutations carcinogènes, erreurs de transcription, erreurs de synthèse (mutation ponctuelle) et erreurs de réplication, conduit à l'apoptose (**Myara, 2002**). L'oxydation des lipides conduit à la formation d'hydro peroxydes (ROOH) instables, responsables de la diminution de la fluidité membranaire (acides gras polyinsaturés de lipoprotéines ou de la membrane cellulaire) (**Schlienger et Luca, 2007**).

II.3.5.2. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques. Les antioxydants s'utilisent pour réduire l'oxydation du produit auquel ils sont mélangés. L'effet des antioxydants provient de deux mécanismes :

- Ils neutralisent les radicaux libres et empêchent les réactions en chaîne initialisées par ces derniers.

- Les antioxydants détruisent les hydroperoxydes (composés intermédiaires formant des radicaux libres en interrompant la liaison O-O), diminuant ainsi la vitesse de formation de radicaux libres (**Ribeiro et al., 2001**).

Il existe trois types d'antioxydants :

a- Les antioxydants enzymatique : est principalement composé des superoxydes dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathions peroxydases (GPx) et des thiorédoxines (**Higashi et al., 2009**). Parmi ces enzymes, les SOD représentent la première ligne de défense pour contrer les ROS, et ce sont les enzymes antioxydantes les plus importantes au niveau vasculaire (**Higashi et al., 2009**).

b- antioxydants non-enzymatiques qui ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation tels que les oligoéléments (le cuivre, le fer, le manganèse, le sélénium et le zinc), la glutathion réduit (GSH), l'acide ascorbique (vitamine C), l'alpha tocophérol (vitamin E) et les caroténoïdes (**Vertuani et al., 2004**).

c- Les antioxydants synthétiques sont utilisés depuis de nombreuses années. Mais, récemment, beaucoup d'études ont porté sur la toxicité élevée des antioxydants synthétiques utilisés dans l'industrie alimentaire, comme, par exemple, le butylhydroxytoluène (BHT), l'hydroxyanisol butyle (BHA), etc. (**Marongiu et al., 2004**).

La nécessité de réduire l'utilisation des antioxydants synthétiques impose d'orienter le marché vers des antioxydants d'origine naturelle et stimule la recherche dans ce domaine (**Herodez et al., 2003**). Les plantes représentent une source très riche et renouvelable d'antioxydants naturels [(**Ribeiro et al., 2001** ; **Marongiu et al., 2004**). L'acide rosmarinique, représente un exemple d'antioxydant pouvant être une bonne alternative aux antioxydants de synthèse car il est présent dans plusieurs plantes telle que le romarin.

III.2.5.3. L'activité antioxydant du romarin

L'activité antioxydant du romarin est connue depuis environ 30 années (**Nassu et al., 2003**). le romarin est largement accepté en tant qu'une des épices qui a l'activité antioxydante la plus élevée (**Wang et al., 2008**). **Wang et ses collaborateurs (2008)** faire une comparaison *in vitro* de l'activité antioxydante d'HES du romarin avec celles de ses principaux composants (1,8-cinéole, α -pinène et β -pinène) au moyen de l'essai au DPPH et l'essai de blanchissement du β -carotène, a montré que l'HES était plus active que ses composants dans les deux modèles d'essai.

L'étude Expérimentale

Chapitre I

Matériel et méthodes

I. Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Matériel végétal

La plante *Rosmarinus officinalis* a été récoltée à le mois de Mars 2016 de la région El k'sour, Wilaya de Bordj Bou-Argeridj, Algérie. La plante a été séchée pendant deux semaines à l'abri de la lumière. Une fois séchée le matériel végétal a été broyé, puis conservés à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur jusqu'à son utilisation.

I.1.2. Matériel biologique

Les souches bactériennes testées sont provenus du laboratoire de microbiologie de département des SNV de l'université de Sétif. Le support microbien est composé de : *Staphylococcus aureus* (Gram+), *Escherichia coli* (Gram-), *Bacillus cereus* (Gram+).

Les moisissures testées sont provenus du laboratoire de phytopathologie de département des SNV de Bordj Bou Argeridj. Il s'agit de : *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*.

I.2. Méthodes

I.2.1. L'extraction des huiles essentielles

Le matériel végétal séché est soumis à une hydrodistillation dans un Clevenger (**Figure 6**). L'opération consiste à introduire 100 g de masse végétale séchée dans un grand ballon en verre, on y ajoute une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile et enfin conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°). L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition (**Bajpai et al., 2008**)

Le rendement est calculé à partir du poids de l'huile essentielle par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée dans l'hydrodistillation, soit :

$$\text{Rdt} = \text{Mhe}/\text{Mvg} \times 100$$

- Où : Rdt : rendement en HES (%)
- Mhe : masse de l'huile essentielle
- Mvg : masse végétale sec

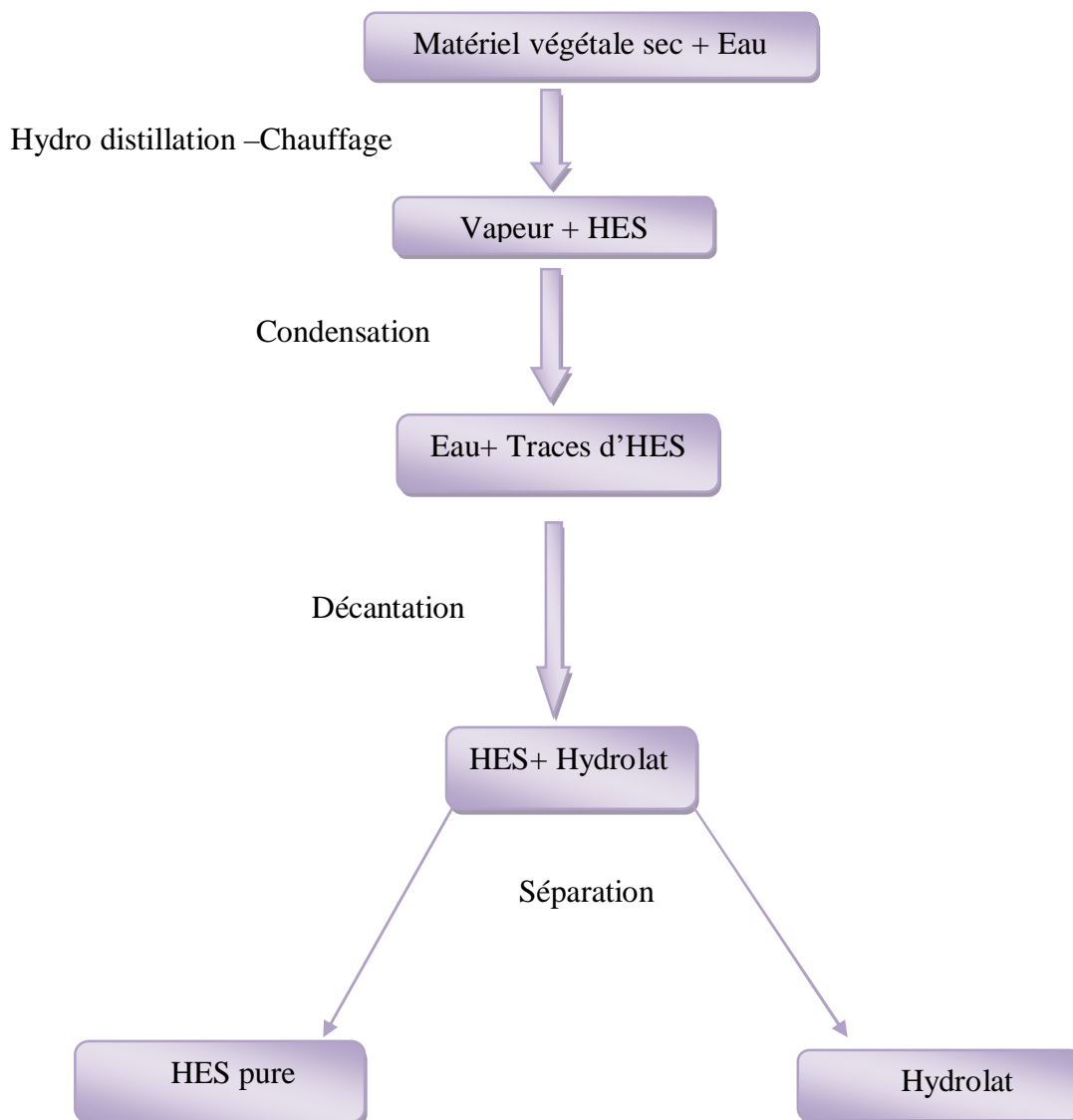


Figure 6: Procédé d'extraction des huiles essentielles

I.2.2. Activité antimicrobiennes des huiles essentielles

I.2.2.1. L'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'étude est réalisée par la méthode de diffusion, qui est initialement conçue pour les antibiotiques (antibiogramme), mais en substituant les disques d'antibiotiques par d'autres imprégnés par HES (aromatogramme) sur la surface des géloses nutritiveensemencées par le germe à tester .

- préparation de l'inoculum

Une suspension bactérienne de 0.5 Mc Farland est préparée à partir d'une culture pure et jeune de 18 heures. Cette opacité, équivalente à une densité optique de 0.08 – 0.1 à 625 nm, peut être diminuée (ou augmentée) en ajoutant plus de culture afin d'ajuster la densité optique. Il est à signaler d'une part que la suspension ajustée devra contenir 10^8 UFC /ml (units forming colony /ml) et d'autre part que l'inoculum ainsi préparé ne doit pas être utilisé au-delà de 15 minutes (l'opacité risque d'augmenter à cause de la croissance bactérienne).

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, à partir de l'inoculum fraîchement préparé. Il consiste à tremper un écouvillon de coton stérile dans la suspension puis le frotter, après l'avoir essoré à l'intérieur du tube, à trois reprises sur la totalité de la surface gélosée (gélose nutritive) de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum (2 boîtes pour chaque dilution plus 2 boîtes pour les témoins positif et négatif). **(Guinoiseau E, 2010).**

Des disques de papiers chromatographiques de 6 mm de diamètre , préalablement stérilisés sont déposés à la surface de gélose nutritiveensemencée après avoir été chargé de 15 µl d'huile essentielle diluée dans du DMSO (dimethylsulfoxyde) à 1/2, 1/4 et 1/8 (v/v). D'autres disques, chargés de 15 µl de DMSO sont utilisés comme témoins. Des antibiogrammes sont effectués en parallèle avec les aromatogrammes. Après 24 heures d'incubation à 37°C, le diamètre d'inhibition est mesuré.

I.2.2.2. L'activité antifongique des huiles essentielles

- **Technique de dilution en milieu solide**

Cette technique a été appliquée dans des boîtes de Pétri de 9mm pour déterminer les taux de croissance et les taux d'inhibition. 1000 ml de PDA ont été préparés, stérilisés et conservés. Le PDA solide stérilisé a été placé dans l'eau bouillante puis introduit au bain-marie pour ramener sa température à 45° C. Tous les flacons contenant 50 ml de PDA, 1.5ml de tween 20 et différentes volume de l'huile essentielle sont ajouté afin de préparées des dilutions de 1, 0,5, 0,25, 0,05, et 0,01%. Chaque flacon est homogénéisé instantanément par agitation puis son contenu est versé dans des boîtes de Pétri. Le mélange ainsi versé et laissé au repos jusqu'à refroidissement et solidification.

À l'aide d'une anse platine stérile des disques de mycéliens de diamètre de 6mm prélevé de la culture jeune (un jour) du mycète a été inoculé. Ces derniers ont été déposés dans les milieux préparés préalablement avec des dilutions des huiles essentielles. Les boîtes de Pétri (témoins et essais) sont mises à incuber respectivement à 28° ± 2° pour 7 jours.

Quotidiennement, la croissance de filaments sur chaque boîte est relevée et il est procédé, à la fin du temps approprié d'incubation, à une mesure des diamètres de différentes colonies de champignons filamenteux pour calculer le taux d'inhibition (I%) (**Kordali et al., 2003**).

$$I'(\%) = 100 \times (dC - dE) / dC$$

I'(%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage

dC = Diamètre de colonies dans les boîtes « témoins positifs »

dE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante

I.2.3. L'activité antioxydante des huiles essentielles

Le pouvoir antioxydant des HES a été évalué *in vitro* en utilisant deux tests, le test du DPPH•, le test du blanchissement de β-carotène.

I.2.3.1. Test du DPPH•

Le DPPH (2,2 diphenyl-1-picryl hydrazyl) est un radical stable qui possède un électron célibataire sur l'atome d'azote, caractérisé par une couleur violette et un pic d'absorption spectral maximal à 517nm. En présence d'antioxydant l'électron célibataire devient apparié, ce qui conduit à la décoloration de DPPH du violet (forme radicalaire DPPH•) au jaune (forme réduite DPPH-H) (**Figure 7**).

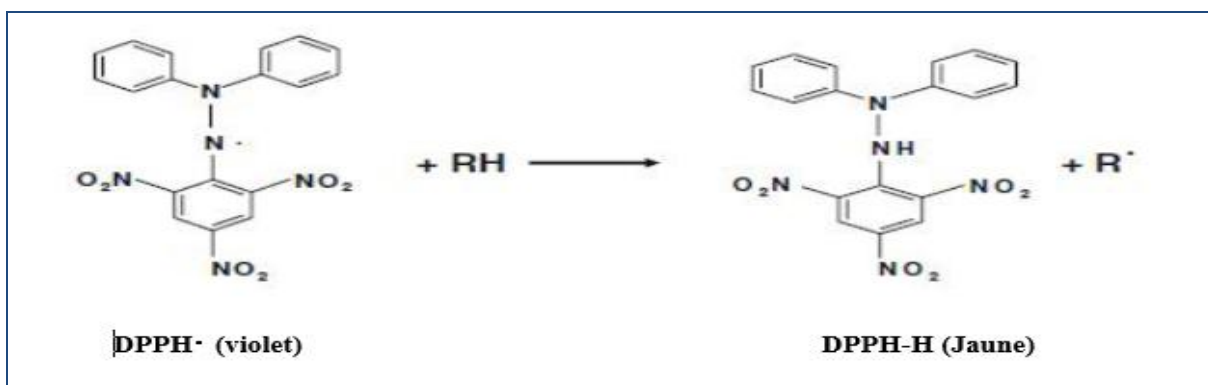


Figure 7 : Structure de DPPH• et mécanisme de sa réduction par un antioxydant (molynex, 2004).

Le radical DPPH est un radical libre organique stable, avec une bande maximum d'absorption entre 515-528 nm. L'activité antiradicalaire des huiles essentielles du romarin a été évaluée en utilisant le test de DPPH•. Cette technique est simple mais fortement sensible, en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires (Moon & Shibamoto., 2009, Ho et al., 2010).

Le test de DPPH a été effectué selon le protocole décrit par (Bruit et Bucar, 2000). 500µl des différentes concentrations d'échantillon préparées dans le DMSO, 500 µl d'une solution méthanoliques de DPPH préparée sont mélangés, Après incubation pendant 30min dans à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance du milieu réactionnel est mesurée à 517nm. Le contrôle négatif est réalisé en remplaçant l'échantillon par le DMSO et les

résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH[•], ce pourcentage est calculé selon la formule suivante :

$$\text{PI (\%)} = (A_0 - A / A_0) \times 100$$

A₀ : Absorbance de la solution du DPPH[•] sans l'échantillon (contrôle négatif).

A : Absorbance de la solution du DPPH[•] en présence de l'échantillon

I.3.2. Test du blanchissement de β-carotène

Dans ce test, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes, suite à l'abstraction des atomes d'hydrogènes à partir de groupements méthylènes diallyliques de l'acide linoléique. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β-carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge. Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et donc prévenir l'oxydation et le blanchiment du β-carotène (**Kulisic et al., 2004 ; Conforti et al., 2006 ; Meziti., 2009**).

Dans un premier temps, au préalable, une émulsion de β-carotène/ acide linoléique a été préparée en mélangeant 25μl d'acide linoléique, 200mg de tween 40 et 2 mg de β-carotène solubilisé dans 1ml de chloroforme, et après l'évaporation du solvant sous faible pression et à température de 40C°, 100ml de l'eau saturé en oxygène est ajouté à 250μl d'échantillon testé préparé à une concentration de 2g/l, 1,75 ml d'une émulsion de β-carotène / acide linoléique sont additionnés. L'absorbance de la solution du β-carotène est mesurée à 490 nm toutes les 15 minutes durant 2 heures d'incubation dans un bain marri à 50 C° et contre un blanc constitué de l'émulsion sans β-carotène. Le pouvoir antioxydant est exprimé en pourcentage d'inhibition de l'oxydation de β-carotène selon la formule suivante.

$$\text{AA\%} = 1 - [(A_0 - A_t) / (A_0^\circ - A_t^\circ)] * 100$$

Où :

AA% : activité antioxydante relative.

A₀ : absorbance au temps 0 min test.

A_t : absorbance au temps 120 min test.

A₀[°] : Absorbance au temps 0 min du contrôle négatif.

A_t[°] : Absorbance au temps 120 min du contrôle négatif.

Chapitre II

Résultats et Discussion

III. Résultats et Discussion

III.1. Détermination du rendement d'extraction


La première quantification à faire est celle du rendement en huile essentielle obtenue par la technique d'hydro distillation normé pour l'extraction des huiles essentielles (**Marie Elisabeth., 2005**). Ce rendement est calculé à partir du poids des huiles essentielles par rapport au poids sec de la masse végétale utilisée dans l'hydro distillation, soit :

$$R_{HE} (\%) = M'/M \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en (%).
M' : Masse d'huile essentielle en gramme.
M : Masse de la matière végétale sèche en gramme.

Le rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* est de l'ordre de 0,41% (w/w), les résultats obtenus de nos HES sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR. (**AFNOR., 1999**) (**Tableau1**)

Tableau1 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de romarin.

	Aspect	Couleur	Odeur	
L'AFNOR	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine	
Huile essentielle	Liquide mobile	Jaune clair	Camphrée	

Le rendement obtenu (0.41%) est supérieur à celui trouvé à Annaba par (**Ouibrahim, 2014**) qui a été estimé à 0,36% et très proche de celui obtenu en Maroc (0.54%) (**Derwich et al., 2011**) et inférieur à ceux des (**Atik Bekkara et al., 2007**) et (**Djeddi et al., 2007**), qui sont de l'ordre de 0,6% et 0,82%, respectivement. En fait, la variation de rendement en huile essentielle est dépende notamment de l'origine géographique (**Elamrani et al., 2000 ; Pintore et al., 2002 ; Serrano et al., 2002 ; Angioni et al., 2004**), stade phénologique et facteurs environnementaux (**Jordán et al., 2013 ; Bruneton, 1993 ; Bennadja et al., 2013**) du stade

de développement des plantes (**Ruberto et Baratta, 2000**) et de la méthode d'extraction des HES (**Hosni et al., 2013**). Aussi en peut dire que dans la famille des Lamiaceae, la durée de la journée et la luminosité augmentent la teneur en HES et la qualité des matières actives (**Moghaddam et al., 2011**).

III.2. Le pouvoir antibactérien

L'activité antibactériennes des HES est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les échantillon à tester vis-à-vis trois germes pathogènes (*Escherichia coli* (Gram-), *Staphylococcus aureus* (Gram+), *B. cereus* (Gram+)) après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37 C°. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre (**Tableau 2, Figure 7, 8**).

Tableau 2: La sensibilité des souches ; *E. coli*, *B. cereus* et *S. aureus* et les diamètres des zones d'inhibition (en mm) de leur croissance après l'application de chaque dilution des HES de *Rosmarinus officinalis*, DMSO et l'antibiotique (ATB : Amoxicilline).

	ATB (mm)	DMSO	HES 100%	1/2 50%	1/4 25%	1/8 12.5%	1/16 6.25%
<i>B. cereus</i>	23.33 ± 0,889 +++	-	32.0 ± 1.732 +++	13.33 ± 1.154 +	12.5 ± 0.5 +	10.5 ± 0.5 +	7.66 ± 0.577 -
<i>E. coli</i>	24.33 ± 0,444 +++	-	24.66 ± 0.577 +++	11.66 ± 0.577 +	9.5 ± 0.5 +	8.25 ± 0.433 -	7.5 ± 0.5 -
<i>S. aureus</i>	35.65 ± 0.444 +++	-	27.16 ± 1.607 +++	12.33 ± 0.577 +	10.75 ± 0.25 +	9.16 ± 0.288 +	7.58 ± 0.520 -

(+++): Extrêmement sensible. (+): sensible. (-): résistante.

(--): pas d'inhibition, **ATB**: antibiotique (amoxicilline), **HES**: huiles essentielles. Chaque valeur dans le Tableau est la moyenne +/- SD, l'essai en triplicata, unité de calcul en mm.

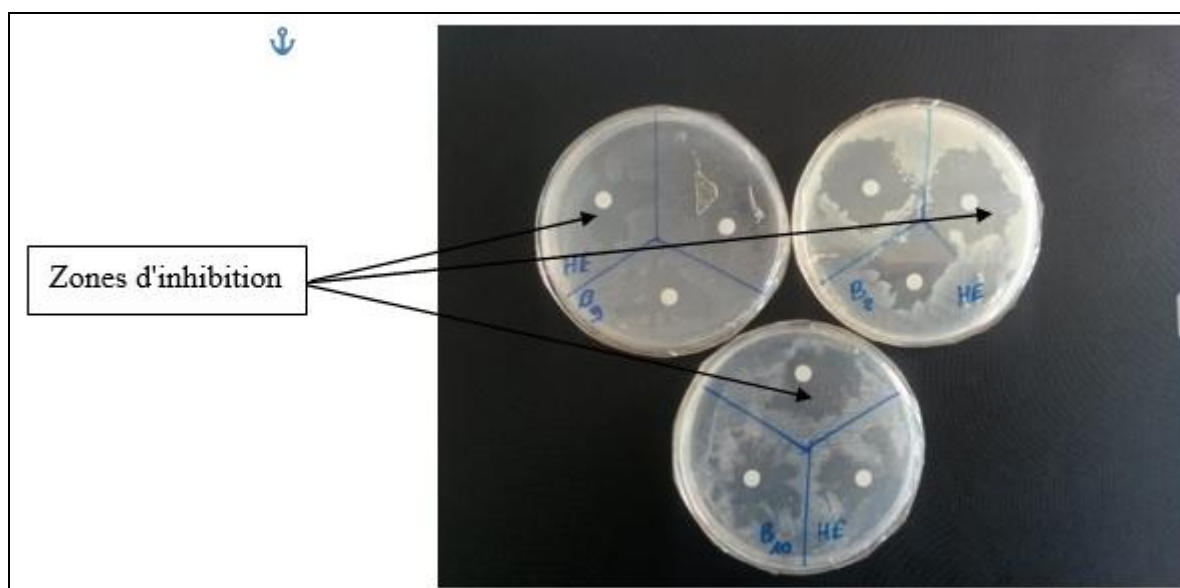


Figure 8: Les zones d'inhibition de la croissance d'*E. coli* (B₉), *B. cereus* (B₂) et *S. aureus* (B₁₀). Sous l'action des HES du *Rosmarinus officinalis* L.

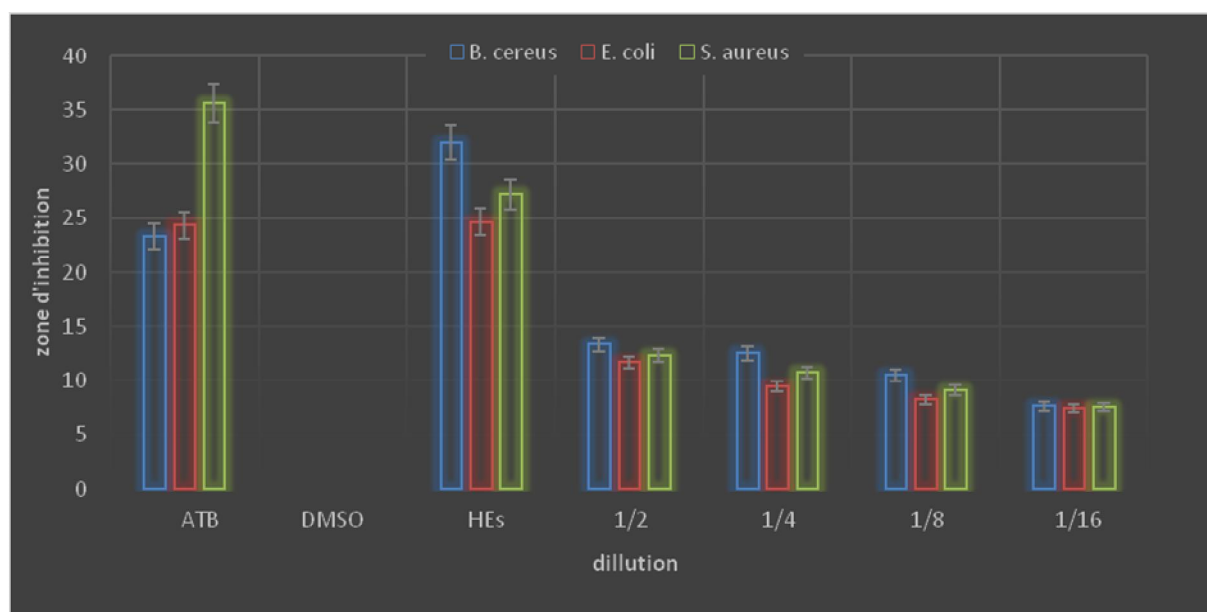


Figure 9 : les zones d'inhibition (en mm) de la croissance d'*E. coli*, *B. cereus* et *S. aureus* après l'application des différentes dilution des HES de *Rosmarinus officinalis*, DMSO et l'antibiotique (ATB : Amoxicilline).

Les souches bactériennes étudiées sont tous sensibles à l'amoxicilline avec des zones d'inhibition de $24.33 \pm 0,44$ mm et $23,33 \pm 0,88$ pour *E. coli* et *Bacillus cereus* respectivement, *Staphylococcus aureus* est révéls hautement sensibles à cet antibiotique avec une zone d'inhibition de $35,65 \pm 0,44$ mm.

Les résultats montrent que toutes les souches apparaissent sensibles aux différentes dilutions des HES dont les diamètres des zones d'inhibition de la croissance varie entre 7 mm et 12 mm pour *Staphylococcus aureus* et atteint 13 mm pour *Bacillus cereus*, tandis que le diamètre d'inhibition d'*E coli* varie entre 7,5 et 11mm. Les HES non diluer reste le plus efficace dans l'inhibition de développement bactérienne avec des zones d'inhibition proche ou supérieures à celle de l'antibiotique. Tandis que le DMSO n'a aucune activité antibactérienne dont les zones d'inhibition sont totalement absentes. L'activité antibactérienne enregistrée des HES du romarin est supérieure à celle obtenus par **Lograda et ses collaborateurs (2014)**, dans cette étude, les auteurs ont testé l'huile du romarin provenant de plusieurs régions de l'Est Algérien (Kherrata (Bedjaia), Boutaleb (Sétif), Bibans (Bourdj Bou-Arridj), Agmeroual et N'gaous (Batna), et Boussaâda (M'sila). Les diamètres des zones d'inhibition obtenus n'ont pas dépassé les 20 mm. Par contre, **Djeddi et ses collègues (2007)** ont signalé une forte activité antibactérienne des l'HES du *R. officinalis* issu du Park national d'El Hamma (Alger). D'autre part d'après **Caillet et Lacroix (2007)** *S. aureus* et *E. coli* ont été moyennement sensibles à l'extrait volatil du romarin.

Les résultats obtenus de cette étude montrent que l'activité antibactérienne est due essentiellement à la présence des molécules antibactérienne, les HES sont riches en monoterpènes hydrocarbures, terpinènes qui sont dotés d'une grande activité antibactérienne contre les bactéries Gram- et + (**Oyedeji et al., 2005**). Ces composants chimiques exercent leur activité antimicrobienne sur les micro-organismes par la perturbation de l'intégrité membranaire. (**Knobloch et al., 1989**), et selon **Wang et ses collaborateurs (2012)**, la présence de bornéol, l-Verbenone, β -linalol, camphor et d'autres composés phénoliques dans les huiles essentielles de romarin responsable a cette activité. D'autres travaux, attribuent l'activité antibactérienne du romarin au 1,8 cinéole (**Miladi et al., 2013**) qui est l'un des composants minoritaires de nos huiles essentielles, Plusieurs recherches ont mis en évidence son effet sur les souche : *E coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus typhi*, *S. aureus*, *Staphylococcus intermedius*, et *Bacillus subtilis* (**Sivropoulou et al., 1997**).

Il est rapporté que *R. officinalis* a montré un large spectre d'action (**Erdogrul, 2002 ; Gachkar et al., 2007 ; Jiang et al., 2011; Khosravi et al., 2013**). D'autres travaux ont cependant signalé une activité modérée comme ceux de **Celiktas et al (2007) ; Angioni et al., 2004 ; Lopez et al (2005)**. Les HES de *R. officinalis* de notre région El'ksour (Bourdj Bou-Arreridj) ont un effet sur la totalité des souches testées avec une forte intensité.

L'action antimicrobienne des HES se déroule en trois phases :

- 1- La destruction de la paroi bactérienne par les HES, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaire.
- 2- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire. et la synthèse des composants de structure.
- 3- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

Plusieurs recherche ont montré que les bactéries Gram- sont censées être plus résistantes que les Gram+, ceci est dû aux différences structurales de leurs membranes externes (**Inouye et al., 2001 ; Lopez et al., 2005 ; Bozin et al., 2006**), la pénétration des composés actifs présents dans les HES est donc différente (**Kheyer et al., 2014**). Chez les bactéries Gram- , la membrane externe constitue une barrière de perméabilité efficace, riche en lipopolysaccharide dont les charges négatives de surface empêchent la diffusion des molécules hydrophobes (**Nikaido et al., 2003**), toutefois, quelques composés phénoliques de faible poids moléculaire peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires à l'aide de leurs groupes fonctionnels et se faufiler jusqu'à la membrane intérieure plus vulnérable (**Dorman et al., 2000**). Autrement dit, les composés hydrophobes sont capables de perturber la membrane plasmique et la membrane externe des bactéries Gram- en induisant sa perméabilité et la mort cellulaire (**Wang et al., 2012**).

III.3. Activité antifongique

III.3.1. Evaluation de la croissance mycélienne

Face aux problèmes d'altération des légumes par les moisissures, beaucoup de travaux ont été menés sur le pouvoir antifongique des produits naturels extraits des plantes. Lors de cette étude, l'activité antifongique des HES de la plante *R. Officinalis* (L.) vis-à-vis les souches fongiques *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* par la méthode de contact direct a été recherchée *in vitro*. Trois répétitions ont été effectuées à des temps différents. En absence des HES les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne de *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* sont varient entre 0 et 6,58 cm et 0 et 4.45 cm, respectivement. Par contre en présence des HES leur effet sur la croissance mycélienne des deux souches est dose dépendante.

À des différentes concentrations de 0.01% à 1% des HES la croissance mycélienne des deux souches étudiées a été inhibée et le maximum d'inhibition (100%) a été obtenu avec les concentrations 0.5 % et 1 % sauf après 120 pour la souche *A. niger* une légère croissance a été remarquée (0,4 à 0.63 cm) pour la concentration 0.5 % (**Figure 9 et 10**)

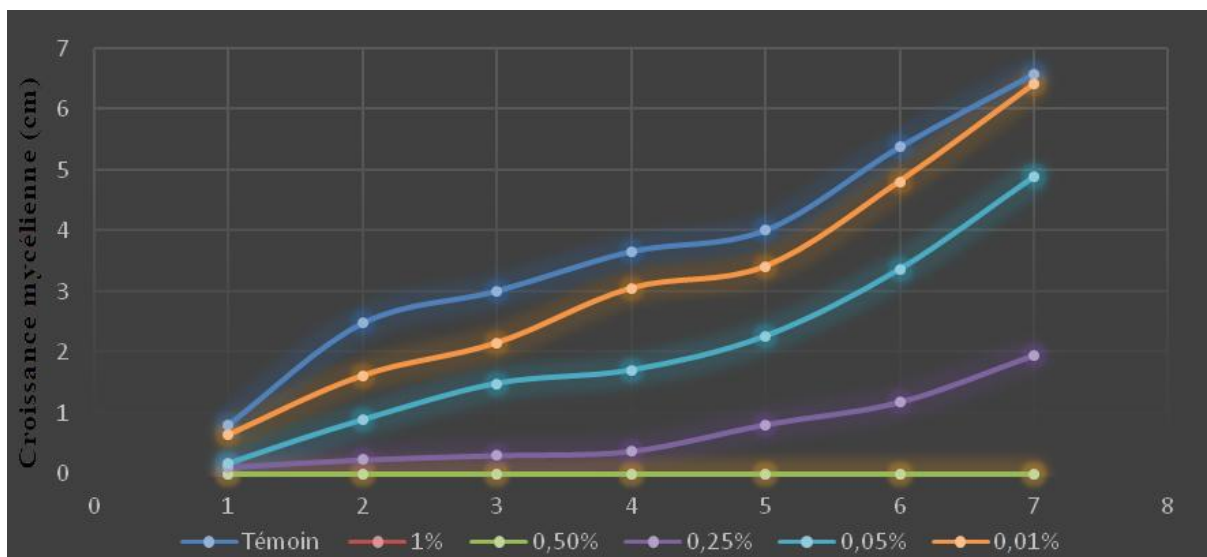


Figure 10: l'effet des HES de *R. officinalis* sur la croissance mycélienne de la *F. oxysporum* en fonction des concentrations et du temps (Jours). Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

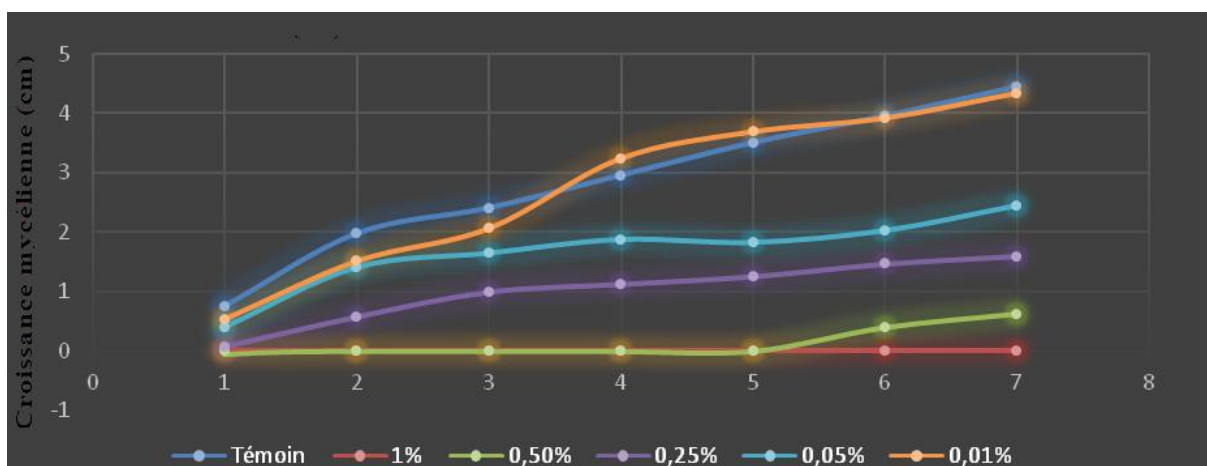


Figure 11 : l'effet des HES de *R. officinalis* sur la croissance mycélienne de la *A. niger* en fonction des concentrations et du temps. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

III.3.2. la vitesse de croissance mycélienne (VC)

Les résultats montrent que la vitesse de la croissance mycélienne est décroître par l'augmentation des concentrations des huiles essentielles.

En absence des HES la plus haute vitesse de croissance mycélienne est enregistrée pour *F. oxysporum* (0.102 cm/h) suivie par celle du *A. niger* (0.079 cm/h), en présence des HES et avec l'augmentation des concentrations de ces dernières les vitesses de croissance décroîtront jusqu'à l'inhibition totale (0 cm/h) aux concentrations de 0.5% et 1% pour *F. oxysporum* et *A. niger*, respectivement (**Figure 11**).

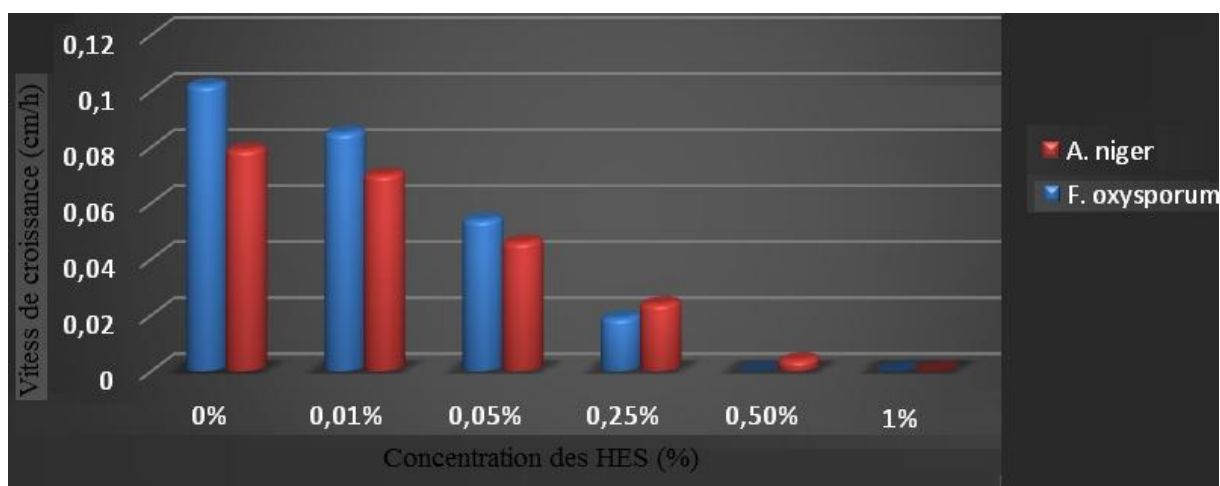


Figure 12: l'effet des HES de *R. officinalis* sur les vitesses de croissance mycélienne du *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

III.3.3. Indice antifongiques (IA)

L'indice antifongique est la concentration qui inhibe 50% de la croissance mycélienne, en remarquant que toutes les concentrations des huiles essentielles de *R. Officinalis* appliquées ont empêché, partiellement (0.25 %, 0.05 %, 0.01 %) ou complètement (1 %, 0.5%), la croissance des souches fongiques testées (**Tableaux 4 et 5**)

L'huile essentielle est dite :

- très active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 75 et 100 % ; la souche fongique est dite très sensible ;
- active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 50 et 75 % ; la souche fongique est dite sensible ;
- moyennement active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 25 et 50% ; les souches est dite limitée ;
- Peu ou pas active lorsqu'elle possède une inhibition comprise entre 0 et 25% ; la souche est dite peu sensible ou résistante.

Tableau 3 : L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis le *F. oxysporum*

IA %	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
1 %	100	100	100	100	100	100	100
0.5 %	100	100	100	100	100	100	100
0.25 %	86.41	90.72	90.03	89.89	79.80	78.06	70.36
0.05 %	77.77	64.51	50.83	53.55	43.64	37.54	25.83
0.01 %	20.98	35.08	28.57	16.66	14.96	10.59	2.58

L'indice antifongique est directement proportionnel avec l'augmentation de la concentration des HES, elle est stable aux deux concentrations (1% et 0.5%) avec un pourcentage d'inhibition de 100% et entre 86.41% et 70.36% pour la concentration 0,25 %. La diminution de l'IA est remarquable à la concentrations 0,01 avec un pourcentage d'inhibition de 20.98% jusqu'à 2.58% après 168h. la concentration minimale inhibitrice (CMI) est de 0.05%. avec une bonne efficacité antifongique manifestée par les huiles essentielles du *R. Officinalis*.

Tableau 4 : L'indice antifongique des différentes concentrations des HES vis-à-vis l'*A. niger*

IA %	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
1 %	100	100	100	100	100	100	100
0.5 %	100	100	100	100	100	89.89	85.84
0.25 %	90	70.70	58.50	61.82	64.10	62.87	64.04
0.05 %	46.66	28.78	31.53	36.48	47.86	48.73	44.94
0.01 %	29.33	23.23	14.10	-9.79	-5.41	0.75	2.24

L'indice antifongique d'*A. niger* à la concentration (1%) est stable pendant les 168 heures avec un maximum d'inhibition (100%), pour la concentration (0.5%) elle est aussi stable pendant 120 heures suivie par une diminution jusqu'à 85.84% dans les heures restantes. L'indice antifongique de la concentration (0.25%) est diminué en vitesse plus vite de 90% à 64.04%. et pour les deux dernières concentrations (0.05% et 0.01%) l'indice antifongique est inférieur à 50%. La concentration minimale inhibitrice est de l'ordre de quelques pourcent

avec une bonne efficacité antifongique manifestée par l'huile essentielle du *R. Officinalis*. En effet, pour cette dernière la CMI est de 0,25%.

Les huiles essentielles du romarin a exercé une importante activité inhibitrice vis-à-vis les deux moisissures *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger*, les diamètres, la vitesse et l'indice antifongique de la croissance de mycélium dépende de la concentration d'huile essentielle avec des CMI de 0.05% et 0,25% pour le *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* respectivement.

Les huiles essentielles peuvent être utiles en tant qu'agents antifongiques parce qu'elles affectent plusieurs cibles simultanément et il n'y a aucun rapport de résistance ou d'adaptation des microorganismes à cause de la diversité des composés chimiques (**Bakkali et al., 2008**). L'activité antifongique est due probablement au type et à la structure moléculaire des composants actifs présents dans les HES, tels que les terpènes qui affectent non seulement la perméabilité mais aussi d'autres fonctions dans les membranes cellulaires (**Omidbeygi et al., 2007 ; Cristani et al., 2007**). Le pouvoir antifongique des huiles essentielles du romarin pourrait être attribué à la présence de composants antifongique classé dans la liste des constituants à activité antifongique de **Duke (2009)** tels que : le myristicine, le curcumène, le caryophyllène, l'élémicine, le pinène, le terpinène et le terpinolène à différentes proportions. De même **Chu et Kemper (2001)** signalent que le pouvoir antifongique des huile essentielle du *Lavandula stoechas* est lié aux: β -pinène, p-cimène, 1,8 cinéole et α -pinène. Les composés majoritaires ou mineurs peuvent augmenter l'activité antifongique.

L'activité antifongique des huiles essentielles, peut être expliquée par l'effet synergique entre leurs différents composés. En effet, les composés majoritaires sont souvent responsables de l'activité antifongique de cette huile essentielle (**Giordani et al., 2008**).

Les concentrations des huiles essentielles du romarin appliquées dans notre étude ont empêché, partiellement (0.25 %, 0.05 %, 0.01 %) ou complètement (1 %, 0.5%), la croissance des souches fongiques testées. ces résultats sont comparable à celle de **Uribe et al., (1985)** qui ont annoncé que les faibles concentrations en huile essentielle de certains Citrus ont un effet inhibiteur partiel du fait que la respiration est inhibée et la perméabilité des cellules altérée tandis que des fortes concentrations en huile essentielle provoquent des dommages membranaires sévères et une perte d'homéostasie d'où la mort cellulaire ou l'inhibition totale.

III.4. L'activité antioxydante

III.4.1. Test de DPPH•

Les huiles essentielles de romarin a montré un pouvoir de piégeage du radical DPPH très puissant ceci est démontré par l'allure du graphe qui trace une courbe exponentielle avec la présence d'une phase stationnaire qui définit la réduction presque totale du DPPH• en sa forme non radicalaire à partir d'une concentration de 20 µg/ml qui présente un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 93% (**Figures 13 A et B**).

La capacité antioxydante des huiles essentielles a été déterminée à partir des IC₅₀ ; la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radical DPPH•. Plus la valeur d'IC₅₀ est petite, plus l'activité de l'extrait testé est grande. Les HES du romarin a montré une activité antiradicalaire (IC₅₀ =10,96 µg/ml) similaire, à celle de l'antioxydant de référence BHT (7,84 µg/ml) (p<0,05) (**Figures 14**). L'effet antiradicalaire des huiles essentielles sur le DPPH• est dû à leur capacité donatrice d'un atome d'hydrogène (**Conforti et al., 2006**). L'effet des huiles essentielles est fort probablement attribué à leur richesse en phénols et en terpènes. Dans une autre étude les propriétés anti-oxydantes et anti-radicalaires de 11 huiles essentielles, ont été examinées par le test de DPPH et l'analyse photo chimioluminescence (PCL), les résultats ont montré que l'huile essentielle du romarin était parmi les huiles qui ont une activité importante (**Sacchetti et al., 2005**).

Les résultats obtenus semblent bonnes par rapport a l'étude de **Gachkar et ses collaborateurs (2007)** qui attestent la mauvaise performance de l'huile essentielle du romarin. Ainsi que **Wang et ses collaborateurs** ne sont constaté que l'efficacité anti-radicalaire de l'HES de romarin avec un taux d'inhibition de 62,45% ± 3,42%. **kadri et al, (2011)** ont trouvé un IC₅₀ égal à 110,20 µg/ml, ce qui est trois fois supérieur à celui du BHT, l'antioxydant synthétique dont l'IC₅₀ est de 40,5µg/ml.

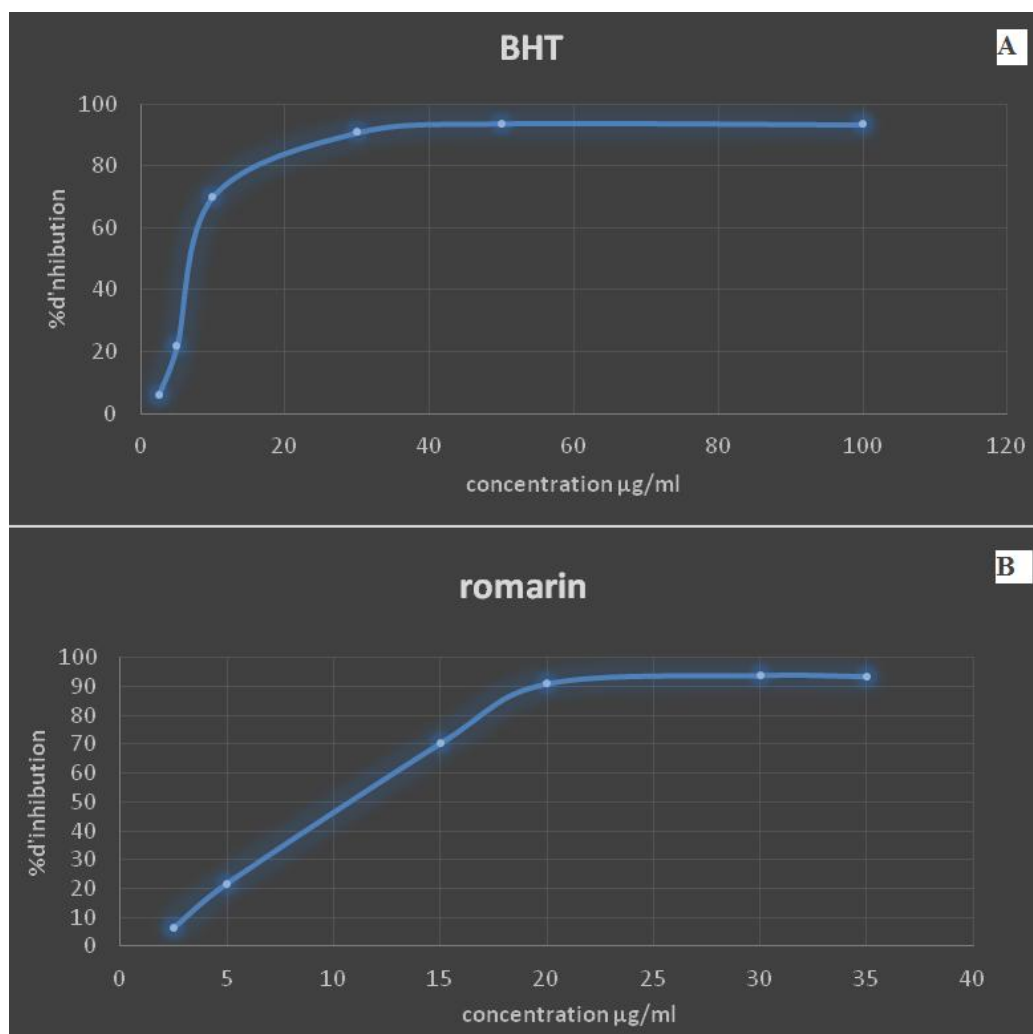


Figure 13 A et B : Activité antiradicalaire des huiles essentielles de *R. officinalis* et du BHT vis à vis le radical DPPH. Chaque valeur représente la moyenne de 3 essais \pm SD



Figure 14 : les concentrations inhibitrices des huiles essentielles de *R. officinalis* et de BHT pour réduire 50 % du radical DPPH. Chaque valeur représente la moyenne \pm SD (n = 3).

I.4.2. Test du blanchissement du β -carotène

La **figure 15** représente les cinétiques de blanchissement du β -carotène en présence et en absence des huiles essentielles de *romarin* ainsi que du BHT. Les résultats, montrent que les huiles essentielles testés inhibent d'une manière significative l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du β - carotène par rapport au contrôle négatif qui représente presque 100% de la peroxydation et de blanchissement ($p < 0.05$). Les huiles essentielles de romarin montrent une activité inhibitrice AA très importante estimée à 48.46%, par rapport à celle de l'antioxydant de référence (BHT) qui représente 84,17 % d'activité inhibitrice.

Ces résultats rejoignent ceux rapportés par la bibliographie le romarin est une plante qui appartient à la famille des *Lamiaceae*, qui inclut un grand nombre de plantes qui sont bien connues pour leurs propriétés antioxydantes et que la plupart de leurs composants antioxydants ont été identifiés (**Kivilompolo et al., 2007**). Le romarin fait partie des antioxydants naturels acceptés en tant qu'une des épices avec l'activité antioxydante la plus élevée (Peng *et al.*, 2005), cette dernière est due principalement aux composés phénoliques, appartenant à trois groupes : les diterpènes phénoliques, les acides phénoliques et les flavonoïdes (**Almela et al., 2006**). Pendant les 10 dernières années, le romarin et ses constituants (le carnosol, l'acide carnosique, l'acide ursolique, l'acide rosmarinique, l'acide caféique) sont intensivement étudiés (**Slamenova et al., 2002**). L'acide carnosique et le carnosol, sont responsables de 90% de l'activité antioxydante du romarin et représentent ensemble environ 5% du poids sec de ses feuilles (Wei et Ho, 2006) (**Visanji et al., 2006**)

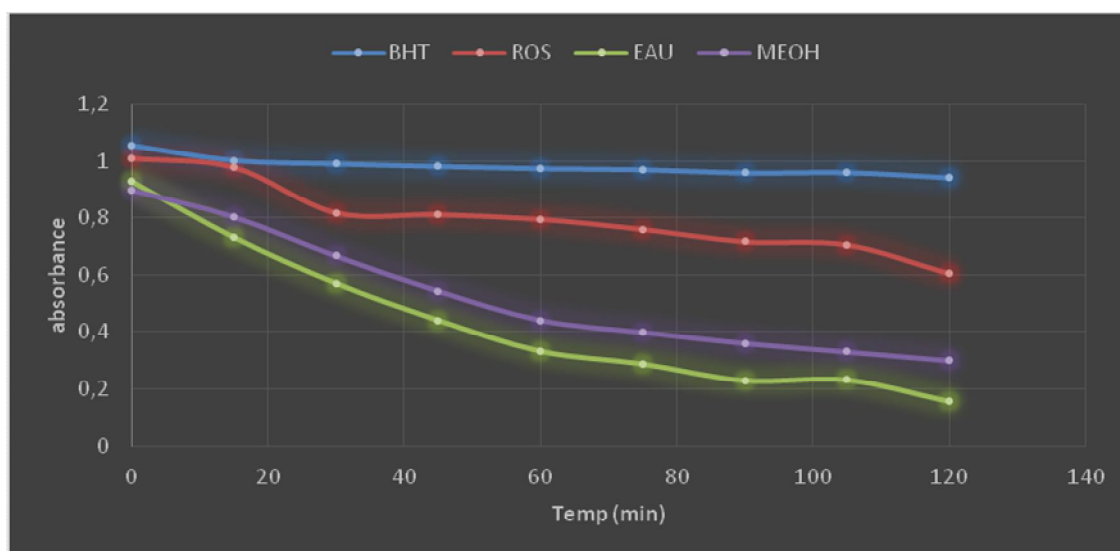


Figure 15 : Cinétique de blanchissement du β -carotène à 490nm en absence et en présence des HES de *R. officinalis* et du BHT (chaque valeur représente la moyenne de trois essais).

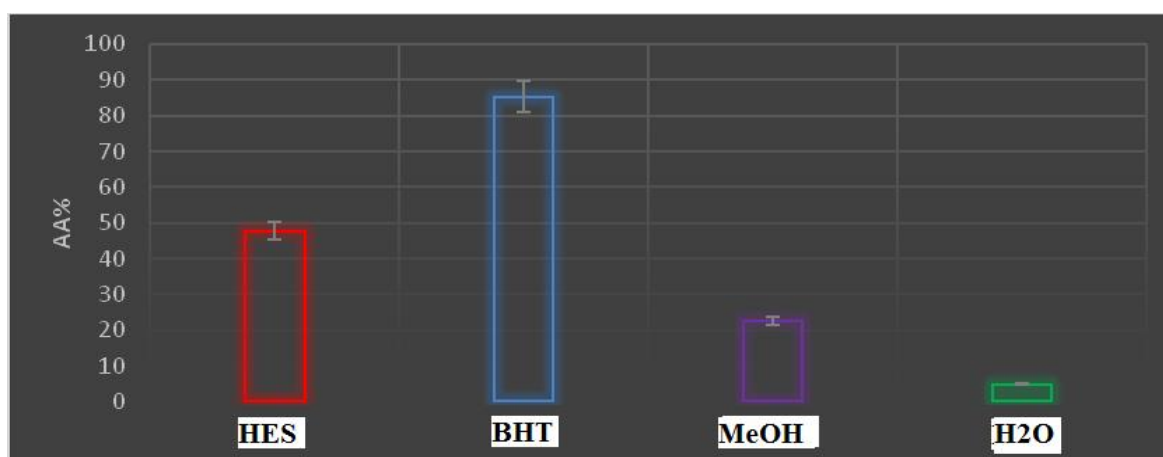


Figure 16 : Activité antioxydante relative (AA) des HES *R.officinalis* et du BHT dans le système β -carotène/acide linoléique. (Les valeurs sont la moyenne de trois essais \pm SD), les barres avec des lettres différentes indiquent des activités significativement différentes ($p \leq 0.05$)

Un extrait qui retarde ou inhibe le blanchissement du β -carotène peut être décrit comme un piègeur de radicaux libres et comme un antioxydant primaire (Liyana-Pathirana et Shahidi., 2006). Les résultats de Celiktas et ses collaborateurs (2007) confirment que l'activité antioxydante de divers extraits du romarin de différentes périodes de récolte change également sensiblement. D'autre part Dorman et al., (2003) montre que la capacité antioxydante des extraits des plantes examinés (origan, romarin, sauge et le thym) n'est pas nécessairement liée à un contenu élevé de composés phénoliques, mais vraisemblablement dépend fortement de l'acide rosmarinique, le composant principal actuel dans les extraits de *Lamiaceae*.

Conclusion

Conclusion

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux substances chimiques, qui présentent des risques pour la santé humaine et l'environnement. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in-vitro* l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante des HES extraites de la plante *Rosmarinus officinalis* L. utilisée en médecine traditionnelle en Algérie

L'extraction des HES a été réalisée par hydrodistillation dans un appareillage de type Clevenger avec un rendement voisin de 0.41%.

La méthode de l'aromatogramme a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne, un grand pouvoir antibactérien des HES du romarin vis-à-vis trois souches bactériennes ; *Staphylococcus aureus*, *E coli* et *Bacillus cereus* ; exprimé par des zones d'inhibition supérieure à 20 mm.

L'activité antifongique des HES vis-à-vis deux souches fongiques ; *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus niger* ; a été réalisé en appliquant la méthode de contact direct. Les résultats obtenus montrent que les HES ont une capacité inhibitrice de la croissance mycélienne des souches testées exprimé par un indice antifongique remarquable.

L'activité antioxydante des HES a été évaluée par deux techniques: la technique de réduction du radical libre DPPH, et de blanchissement du β -carotène. Le premier test démontre que les HES possèdent une excellente capacité de neutralisation du radical libre DPPH avec une IC₅₀ de $10,96 \pm 0,09$ $\mu\text{g/ml}$ pas loin de celle du antioxydant de référence BHT (7.40 ± 0.37 $\mu\text{g/ml}$). D'autre part le test de blanchissement du β -carotène montre que les HES inhibent efficacement l'oxydation de β -carotène avec un pourcentage d'inhibition de 48.46 % ce qui démontre que cette plante est dotée d'une excellente activité biologique.

A la lumière de ces résultats, il ressort que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* peuvent être utilisées pour la prévention des lésions induites par le stress oxydant, et comme antioxydants naturels dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques.

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent des études complémentaires approfondies à différents niveaux de l'approche à travers une caractérisation fine et poussée de ces huiles essentielles par d'autres techniques telles que la CPG/SM ou l'HPLC/SM afin d'établir une relation structure-activité. Les activités antimicrobienne et antioxydante doivent être évaluées dans d'autres systèmes *in vitro* (cellulaires et enzymatiques) comme *in vivo* afin de mieux cerner les interactions moléculaires de ces huiles vis-à-vis de leurs cibles.

Notre travail est une étape préliminaire pour des études plus larges, plus approfondies et plus accomplies impliquant :

- Développer des produits à base de cette plante qui être un alternatif à l'utilisation des produits de synthèse pour lutter contre les agents pathogènes et les mettre à la disposition des agriculteurs à travers les organismes de développement et de vulgarisation.
- Développer des médicaments anti radicalaires à partir de cette plante doués d'une activité antioxydant ;
- Utilisation des extraits de la plante étudiée comme additive alimentaire pour la protection des denrées alimentaire contre tout genre d'oxydation.

*Références
Bibliographiques*

Références bibliographiques

AFNOR., 1999 : Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », *AFNOR*. Paris. 57 p.

AFNOR., 2000 : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1. Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2. Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2. Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.

Almela L., Sanchez-Munoz B., Fernandez-Lopez J.A., Roca M.J, Rabe V., 2006 : Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *J Chromatography A*. **1120**, 221-229.

Angelos M. G., Kutala V. K., Torres C. A., He G., Stoner J. D., Mohammed M., Oerannan K., 2005 : Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. Vol 290: 341-347.

Angioni A., Barra A., Cereti E., Barile D., Coisson DJ., Arlorio M., 2004 : Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52** (11) : 3530 - 3535.

Arnold N., Valentini G., Bellomaria B., Laouer H. 1997 : Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. officinalis* L. from other countries. *J. essent.Oil Res.***9**: 167-175.

Aruoma O. I., Spencer J. P. E., Rossi R., Aeschbach R., Khan A., Mahmood N., Munoz A., Murcia A., Butler J., Halliwell B., 1996 : An Evaluation of the Antioxidant and Antiviral Action of Extracts of Rosemary and Provençal Herbs. *Food and Chemical Toxicology*. **34** : 449-456.

Atik Bekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab SA., Boti JB., 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.

Baser K. H., Tümen G., Tabanca N. and Demirci F., 2001 : Composition and antibacterial activity of the essential oils from *Satureja wiedemanniana* (Lallem.). *Velen. Z. Naturforsch*, 56c : 731-738.

Bajpai V.K., Shukla S., and Kang S.C., 2008 : Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. *Bioresource Technology* **99** : pp.8903-8908.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M., 2008 : Biological effects of essential oils. review. *Food Chem Toxicol* **46** : pp. 446-475.

Bärtels A., 1997 : Guide des Plantes du Bassin méditerranéen. Editions Ulmer.

Baser K. H. C., et Buchbauer G., 2010 : Handbook of Essential oils : Science, *Technology and Applications*. CRC Press. UK.

Belkou., Beyoud E., Talebbah Medz., 2005 : approche de la composition biochimique de la menthe vert (*mentha spicata* Z) dans la région de Ouargla. *Univ, Ouargla*. pp7-8.

Belouad A., 2001 : Plantes médicinales d'Algérie. *Office des Publications Universitaires*, Alger, 5-10

Bennadja S., Tlili Ait Kaki Y., Djahoudi A., Hadeff Y., Chefrour A., 2013 : Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains. *Journal of Life Sciences*. 7(8) : 814 - 819.

Bocevska M., Sovova H., 2007 : Supercritical CO₂ extraction of essential oil from yarrow ; *J. of Supercritical Fluids*. 40, 360-367.

Botineau M., 2010 : Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. *Ed TEC&DOC, Lavoisier*, Paris. 1021-1043p.

Boutekedjiret C., Belabbes R., Bentahar F., Bessière J.M., Rezzoug S.A., 2004 : Isolation of rosemary oils by different processes. *J. Essent. Oil Res.*, Vol. **16**, pp : 195-199.

- Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G., 2006 :** Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J. Agric. Food Chem.* **54** : 1822-1828.
- Bruneton J., 1999 :** Pharmacognosie - Phytochimie - *Plantes médicinales*. Éd. Tec et Doc et EMI.
- Bruneton J., 1993 :** pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. édition. technique et documentaire, 3eme édition. 484, 489, 548, 555, 634 p.
- Burit M., & Bucar F., 2000 :** Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. *Phytotherapy Research*, **14**, p : 323-328.
- Caillet S et Lacroix M., 2007 :** Les huiles essentielles, leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier, université de Laval (Québec).
- Celiktas OY., Kocabas EEH., Bedir E., Sukan F., Ozek T., Baser KHC., 2007 :** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of Rosmarinus officinalis, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry.* **100** : 553-559.
- Chu J., Kemper K. J., 2001 :** Lavender (Lavan du lassung). Long wood Herbal task. Force, p32.
- Clevenger J.F., 1928 :** Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type, *American Perfumer & Essen Oil Rev.* 467-503.
- Conforti F., Statti G., Uzunov D., Menichini F., 2006 :** Comparative chemical composition and antioxidant activities of wild and cultivated Laurus nobilis L. leaves and Foeniculum vulgare subsp. piperitum (Ucria) Coutinho Seeds. *Biol. Pharm. Bull.* **29** (10) pp. 2056-2064.
- Cristani M., D'arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M.G. & Micieli D., 2007 :** Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with modal membranes, Implications for their antibacterial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55** : 6300-6308.
- Cronquist A., 1981 :** An integrated system of classification of flowering plants. *Columbia Univ. Press. New York.* 1262 P.
- Csesk J., Kaufman P. B., 1999 :** How and why these compounds are synthesized by plants. Natural products from plants. *CRC Press, Boca Raton FL.* Pp : 37-90.
- Davidson P.M., 1997 :** Methods for testing the efficacy of food antimicrobial. *Food Technology.* **43**, p:148-155.
- De Figueiredo A. C., Barroso J. G., Pedro L. G., Scheffer J. C., 2008 :** Factors affecting secondary metabolites production in plants : volatile components and essential oils. *Flavour Fragrance Journal* Vol.**23** : 213-226.
- Derwich EH., Benziane Z., Chabir R., Taouil R., 2011 :** In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of Rosmarinus Officinalis grown in Morocco. *Int J Pharm Pharm Sci.* **3**(3) : 89-95.
- Djeddi S., Bouchenah N., Settar I., Skaltsa HD., 2007 :** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosmarinus officinalis from Algeria. *Chem. Natural Comp.* **43**(4) : 487- 490.
- Dorman HJD. and Deans SG., 2000 :** Antimicrobial agents from plants : antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology.* **88**(3) : 308-316.
- Dorman, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., Tikkanen, M.J., 2003:** Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chem.* **83**: 255-262.
- Duke A.J., 2009 :** Phytochemical and ethnobotanical database. Usdaars-Ngri, Beltsville Agricultural research center.
- Elamrani A., Zrira S., Benjlali B., Berrada M., 2000 :** A study of Moroccan rosemary oils. *Journal of essential oil research.* **12**(4) : 487- 495.

- Erdogrul OT., 2002 :** Antibacterial activities of some plant extracts used in Folk medicine. *Pharm. Biol.* **40** : 269-273.
- Essawi T., Srour M., 2000 :** Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal Of Ethnopharmacol.*, **70**, 343-349
- Fadi Z, 2011:** Le romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal. THESE DE Doctorat en Pharmacie. p 129
- Flamini G., Cioni P. L., Morelli I., Macchia M., Ceccarini L., 2002 :** Main Agronomic Productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L. and chemical composition of their essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. **50**, pp : 3512-3517.
- Franchomme P., Pénoël D., 1990 :** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. *Limoges*. 445 p.
- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei MB., Taghizadeh M., Astaneh SA., Rasooli I., 2007 :** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*. **102** : 898-904.
- Gershenson J., et Dudarveva N., 2007 :** The function of terpen natural products in the natural world. *Natural chemistry and Biology*. Vol.3 (7) : 407- 414.
- Gillij Y. G., Gleiser R. M., Zygodlo J. A., 2007 :** Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants growing in Argentina. *Bioresource Technology*. (in press).
- Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J., 2008 :** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* ,**79** : pp199-203.
- Guinoiseau E., 2010 :** 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.
- Haddouchi F., Benmansour A., 2008 :** Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques Application à deux plantes aromatique. Université Tlemcen. les technologies de laboraoire-No 8 janvier-forier 88.
- 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.
- Herodez S. S., Hadolinb M., Skergeta M., Zeljko Knez., 2003 :** Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves, *Food Chemistry*, 275-282.
- Higashi Y., Noma K., Yoshizumi M. & Kihara Y., 2009 :** Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J* **73**, 411- 418.
- Ho C.L., Wang E.I.C., Yu H.T., Yu H.M., Su Y.C., 2010 :** Compositions and antioxidant activities of essential oils of different tissues from *Cryptomeria japonica* D. Don. *林業研究季刊***32** (1) : pp.63-76.
- Hosni K., Hassen I., Chaâbane H., Jemli M., Dallali S., Sebei H., 2013 :** Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) : impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity. *Ind. Crop Prod.* **47**: 291–299.
- Houël E., 2011 :** Etude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) et *Psidium acutangulum* D.C. (Myrtaceae) utilisées en Guyane Française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolique d'huiles essentielles à activité antifongique. *Thèse de doctorat en chimie des substances*. Université des Antilles et de la Guyane. 220P.
- Inouye S., Takazawa T. and Yamaguchi H., 2001 :** Antimicrobial activity of the essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antibacterial Chemotherapy*. **47** : 565-573.
- Isman M. B., 2002 :** Problèmes et perspectives des commercialisations des insecticides d'origine végétale. Pp 300-311.

- Jiang Y., Wua N., Fua YJ., Wang W., Luo M., Zhao CJ., 2011** : Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of Rosemary. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **32** : 63-68.
- Jordán MJ., Lax V., Rota MC., Lorán S., Sotomayor JÁ., 2013** : Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control.* **30**: 463-468.
- Kadri A., Zarai Z., Chobba B., Bekir A., Gharsallah N., Damak M., Gadoura R., 2011** : Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from south-western of Tunisia. *J. Med. Plants Res.* **5(29)** : 6502-6508.
- Kapetanovic S., Djugumovic S., Ramic R., 1984** : Isolement de l'huile essentielle de rose par distillation sèche, Parfums, Cosmétiques et Arômes., **56**, 77-78
- Kheyer N., Meridja D., Belhamel K., 2014** : Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Inula viscosa*, *Salvia officinalis* et *Laurus nobilis* de la région de Bejaia. *Algerian Journal of Natural Products.* **2(1)** : 18-26.
- Khosravi AR., Shokri H., Farahnejat Z., Chalangari R., Katalin M., 2013** : Antimycotic efficacy of Iranian medicinal plants towards dermatophytes obtained from patients with dermatophytosis. *Chin. J. Nat. Med.* **11** : 43-48.
- Kivilompolo M., Hyotylainen T., 2007**: Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *J Chromatography A* **1145**, 155-164.
- Knobloch K.A., Pauli B., Iberl H., Weigand N., Weis., 1989** : Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *J. of Ess. Oil Res.* **1** : 119-123.
- Kordali S., Cakir A., Zengin H & Duru M. E., 2003** : Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia.* **74** p : 164 - 167.
- Kubeczka K. H., Bartsch A., Ullmann I., 1982** : Recent studies on essential oils of Apiaceae. In *Aetherische Oele*, George Thieme Verlag, Stuttgart, K. H. Kubeczka (Ed.), 158-187.
- Kulisic T., Radonic A., katalinic V., Milos M., 2004** : Use of different methods for the testing activity of oregano essential oil. *Food Chemistry.* **85** : pp.633-640.
- Kurkin V. A., 2003** : *Chem. Nat. Compd*, **39**,123.
- Lahrech Kh., 2010** : Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. et de *Saccocalyx satureioides*. Tests d'activités antibactériennes et antifongiques", Thèse de Magister, Département de chimie, Université d'Oran Es-Sénia.
- Lis-Balchin M., 2002** : Lavender, the genus *Lavandula*. Taylor and Francis, London. p: 37, 40, 50, 155-200.
- Liyana-Pathirana C.M. et Shahidi F., 2006** : Antioxydant properties of commercial soft and hard winter wheats (*Triticum aestivum* L.) and their milling fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **86**, 477-485.
- Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G., 2014** : Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine.* **2** : 794-807.
- Lakhdar L., 2015**: Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*. These de doctorat. P :163
- Lopez P., Sanchez C., Batlle R., Nerin C., 2005** : Solid and vapor phase antimicrobial activities of six essential oils : Susceptibility of selected food borne bacterial and fungal strains. *J. Agric. Food Chem.* **53** : 6939-6946.
- Marie Elisabeth., 2005** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23, 52

- Marongiu B., Porcedda S., Piras A., Rosa A., Deiana M., Dessi A., 2004 :** Antioxidant Activity of Supercritical Extract of *Melissa officinalis* Subsp. *Officinalis* and *Melissa officinalis* Subsp. *Inodora*, *Phyoter. Res.*, 789-792.
- Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chraief I., Khemiss F., Chekir Ghedira L., Boukef K., 2006 :** Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* L. oil from Kasrine- *Journal of Food Agriculture & Environment*; Vol.4; N°3-4; pp 61-65.
- Moretti M.D.L., Sanna-Passino G., Demontis S. Bazzoni E., 2002 :** Essential Oil Formulations Useful as a New Tool for Insect Pest. *Pharm. Sci. Control Tech.* 3: 13-2.
- Mccormick K. A., Olivares J. S., Fisher R. A., Nahir T.M., Phelps C. L., 2006 :** Effect of sample preparation on the amounts of α -pinene and verbenone extracted from rosemary. *J. Essent. Oil Res.*, Vol. 18, pp : 478 - 480.
- Med-Chclist., 1986 :** Edition W. Greuter. H. M. Burdet-volume : 3; P 2316
- Meyer-Warnod B., Perfumer & Flavorist., 1984 :** Natural essential oils, extraction processes and applications to some major oils. 9, 93-103.
- Meziti A., 2009 :** Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L. Étude in vitro et in vivo. *Mémoire de magister*. Université El-Haj Lakhdar Batna, Algérie, 105p.
- Miladi H., Ben Slama R., Mili D., Zouari S., Bakhrouf A., Ammar E., 2013 :** Essential oil of *Thymus vulgaris* L. and *Rosmarinus officinalis* L., Gas chromatographymass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Natural Science.* 5(6) : 729-739.
- Moghaddam AMD., Shayegh J., Mikaili P. and Sharaf JD., 2011 :** Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5(15): 3453-3456.
- Moon J-K., Shibamoto T., 2009 :** Antioxidant Assays for Plant and Food Components. *J. Agric. Food Chem.* 57 (5), pp.1655-1666.
- Myara J., 2002 :** Vieillesse et stress oxydant. Laboratoire de Biochimie. Hôpital Charles Foix (Ivry) ; *Nahclim Métab*, vol.16(1): 292-300p.
- Nait Achour K, 2012 :** Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de tizi ouzou. mémoire de magister. p : 112
- Narishetty S. T. K., Panchagnula R., 2004 :** Transdermal Delivery of Zidovudine, Effects of Terpenes and Their Mechanism of Action. *Journal of Controlled Release.* 95 : 367-379.
- Nassu R. T., Guaraldo Goncalves L. A., Azevedo Pereira da Silva M. A., Beserra F. J., 2003 :** Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science.* 63 : 43-49.
- Nikaido H., 2003 :** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* 67(4): 593-656
- Omidbeygi M., Barzegar M., Hamidi Z. & Nalhdibadi, H., 2007 :** Antifungal activity of thyme, summer savory and clove essential oils against *Aspergillus flavus* in liquid medium and tomato paste. *Food Control*, 18 : 1518-1523.
- Ouibrahim A., 2014 :** Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis* L., *Ocimum basilicum* L. et *Rosmarinus officinalis* L.) de l'Est Algérien. *Thèse*, Université Badji Mokhtar - Annaba, 32p.
- Oyediji OA., Adeniyi BA., Ajayi O. and Konig WA., 2005 :** Essential oil composition of *Piper guineense* and its antimicrobial activity. Another chemotype from Nigeria. *Phytotherapy Research.* 19 : 326-364.
- Papachristos D. P., Stamopoulos D. C., 2002 :** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). *J Stored Products Research.* 38 : 365-373.

- Papachristos D. P., Stamopoulos D. C., 2004 :** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). *J Stored Products Research*. **40** : 517-525.
- Pharmacopée Européenne., 1996 :** Conseil de l'Europe, Maisonneuve S.A. Editions, Sainte Ruffine.
- Pintore G., Usai M., Bradesi P., Juliano C., Boatto G., Tomi F., Chessa M., Cerri R. and Casanova J., 2002 :** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. **17**: 15-19.
- Prajapati V., Tripathi A. K., Aggarwal K. K., Khanuja S. P. S., 2005 :** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*. **96** : 1749-1757.
- Proust B., 2006 :** Petite Géométrie des Parfums. Éditions du Seuil. *Paris.1* vol, **126**
- Rahman A., Nourooz J., Moller W., 1999 :** Increased oxidative damage to all DNA base in patients with type II diabetes mellitus. *FEBS LET* : 120-122p (448p).
- Ribeiro M. A., Bernardo-Gil M. G., Esqu M. M., 2001 :** Melissa officinalis, L. study of antioxidant activity in supercritical residues, *Journal of Supercritical Fluids*, vol **1**. 51 – 60.
- Robert G., 2000 :** Les sens du parfum, un demi-siècle de parfumerie ou l'ode aux nez légendaires et à leurs accords sublimes. Paris, *Osman Eyrolles Santé et Société*, 224 p.
- Ruberto G., Baratta MT., 2000 :** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chem*. **69** : 167-174.
- Sacchetti G., Maietti S., Muzzoli M., Scaglianti M., Manfredini S., Radice M., Bruni R., 2005 :** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food Chem*. **91**: 621-632.
- Schlienger J. L. et Luca F., 2007 :** Médecine des maladies Métaboliques, vol.1 n°3. Service de médecine interne et nutrition, Hôpital de Haute pierre, Strasbourg: 33-36p.
- Serrano E., Palma J., Tinoco T., Venancio F., Martins A., 2002 :** Evaluation of the essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) from different zones of "Alentejo" (Portugal). *Journal of Essential Oil Research*. **14**(2) : 87- 92.
- Sivropoulou A., Nikolaou C., Papanikolaou E., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1997 :** Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *J. Agric. Food Chem*. **45** : 3197-3201.
- Tepe B., Sokmen M., Akpulat H.A., Sokmen A., 2006 :** Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. *Food Chem*. **95** : 200 - 204.
- Tuberoso C. I. G., Satta M., Cabras P., Garau V. L., 1998 :** Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* of Sardinia. *J. Ess. Oil Res*, Vol. **10**, pp : 660 - 664.
- Teuscher E. et Lohstein A. & Anton R., 2005 :** Plantes aromatiques condiments et leurs huiles essentielles. Ed. Tec et Doc. 522 p.
- Unsicker S. B. G., et Kunert G., 2009 :** Protective perfumers, the role of végétative volatiles in plant défense against herbivores. *Current Opinion in Plant Biology*. Vol **12**(4) : 479-485.
- Uribe., Ramirez T., Pena A., 1985 :** Effects of B. pinene on yeast membrane functions. *Journal of Bacteriology*, pp1195-1200.
- Vertuani S., Angusti A. & Manfredini S., 2004 :** The antioxidants and pro-antioxidants network, *an over view*. *Curr. Pharm. Des* **10**, 1677-1694.
- Visanji J.M., Thompson D.G., Padfield P.J., 2006 :** Induction of G2/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Letters*. **237**, 130-136

Voukou D., Kokkini S. & Bressiere J. M., 1988 : Origanum onites (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition. *Economy botanic.* **42**, p : 407-412.

Wang W., Li N., Luo M., Zu Y., Efferth T., 2012 : Antibacterial activity and anticancer activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil Compared to that of its main component. *Molecules.* **17** : 2704-271.

Wang W., Wu N., Zu Y. G., Fu Y. J., 2008 : Antioxidant activity of Rosmarinus officinalis L oil compared to its main compounds. *Food chemistry.* **108** (3): 1019-1022.

Wolin M. S., 1996 : Reactive oxygen species and vacular signal transduction mechanisms. *Microcirculation.* Vol **3** : 1-17.

Wolin M. S., Ahmed M., Gupte S. A., 2005 : Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms : basic concepts, current conteroversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* Vol **289** : 159-173.

Annexes

❖ Produit chimique et appareillage

Tous les réactifs chimiques utilisés dans cette étude proviennent de Sigma (Allemagne) de Fluka (France), Merck, (Germany) et Becton Dickinson (USA).

Parmi l'appareillage utilisé ; Rota-vapeur (Germany, BÜCHI461), hydrodistillateur de type Clevenger Agitateur magnétique (GP SELECTAS ACE), Bain marie (Memmert), Etuve (Memmert), Autoclave, Spectrophotomètre visible. Bec benzène, Balance à précision (Kern), la hote (EQUIPLABO), Vortex (Top Mix).

Tableau 1: Croissance mycélienne (cm) de *Fusarium oxysporum* en fonction du temps d'incubation et de la concentration en huile essentielle du *R. Officinalis* L.

	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Témoin	0.81 ± 0.05	2.48 ± 0.10	3.01 ± 0.10	3.66 ± 0.07	4.01 ± 0.17	5.38 ± 0.57	6.58 ± 0.82
1 %	0	0	0	0	0	0	0
0.5 %	0	0	0	0	0	0	0
0.25 %	0.11 ± 0.10	0.23 ± 0.07	0.3 ± 0.15	0.37 ± 0.18	0.81 ± 0.42	1.18 ± 0.41	1.95 ± 0.85
0.05 %	0.18 ± 0.10	0.88 ± 0.12	1.48 ± 0.32	1.7 ± 0.31	2.26 ± 0.16	3.36 ± 0.61	4.88 ± 0.32
0.01 %	0.64 ± 0.21	1.61 ± 0.38	2.15 ± 0.55	3.05 ± 0.4	3.41 ± 0.62	4.81 ± 0.20	6.41 ± 0.27

NB : chaque valeur est la moyenne de trois essais.

Tableau2 : la vitesse de la croissance mycélienne (cm/h) en fonction de la concentration d'HEs de romarin

	0% (témoin)	0.001 %	0.05 %	0.25 %	0.50 %	1 %
F. oxysporum	0.102	0.085	0.054	0.019	0	0
A. niger	0.079	0.07	0.046	0.024	0.004	0

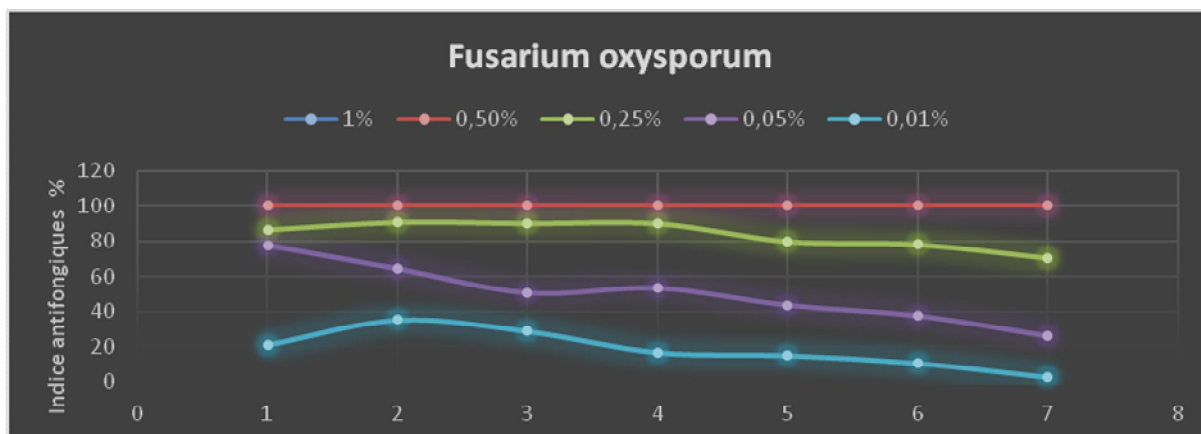


Figure1 : une courbe représentée L'indice antifongique% des différentes concentrations d'HEs pour F. oxysporum

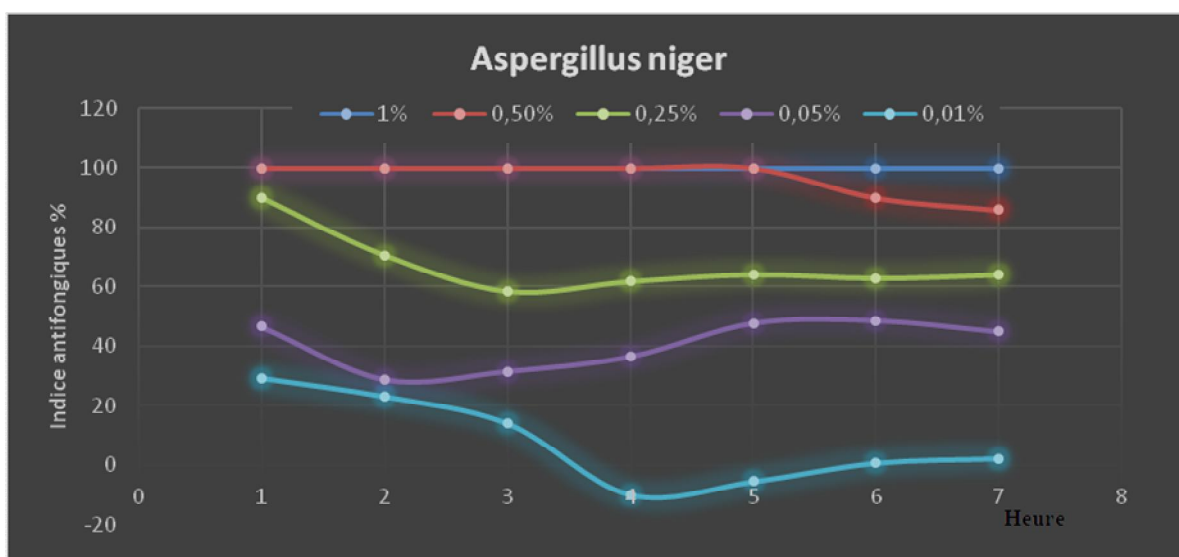


Figure 2 : L'indice antifongique% des différentes concentrations d'HEs pour *Aspergillus niger*

Tableau3 : Croissance mycélienne (cm) d'*Aspergillus niger* en fonction du temps d'incubation et de la concentration des huiles essentielles du *R. Officinalis* L.

	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Témoin	0.75 ± 0.09	1.98 ± 0.12	2.41 ± 0.20	2.96 ± 0.32	3.51 ± 0.31	3.96 ± 0.45	4.45 ± 0.48
1 %	0	0	0	0	0	0	0
0.5 %	0	0	0	0	0	0.4 ± 0.3	0.63 ± 0.5
0.25 %	0.075 ± 0.075	0.58 ± 0.12	1.00 ± 0.17	1.13 ± 0.15	1.26 ± 0.12	1.47 ± 0.16	1.6 ± 0.2
0.05 %	0.4 ± 0.2	1.41 ± 0.15	1.65 ± 0.08	1.88 ± 0.18	1.83 ± 0.07	2.03 ± 0.18	2.45 ± 0.40
0.01 %	0.53 ± 0.05	1.52 ± 0.19	2.07 ± 0.34	3.25 ± 0.14	3.7 ± 0.05	3.93 ± 0.20	4.35 ± 0.3

NB : chaque valeur est la moyenne de trois essais.