

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليجي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم البيولوجيا  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



## Mémoire

*En vue de l'obtention du diplôme de Master*  
**Domaine** : Sciences de la Nature et de la Vie  
**Filière** : biochimie appliquée  
**Option** : biologie

### THEME

---

Etude de l'activité antioxydante d'extrait naturel de  
*Rosmarinus Officinalis*

---

**Présenté par :**

Djokhdem Nour el houda  
Khatoui Wahiba

**Devant le jury :**

Mr. ZEROUK Salim MCA Président

Univ. Amar Télidji-Laghouat

Mme.NEBEG Halima MCB Examinatrice

Univ. Amar Télidji-Laghouat

Mme.BOUSSOUSSA Hadjer MCA Encadreur

Univ. Amar Télidji-Laghouat

Mme.KHACHBA Ihcen MCA Co-encadreur

Univ. Amar Télidji-Laghouat

**Soutenu publiquement le : Juillet 2021**

## REMERCIEMENT

*Louange à Dieu, dont les bonnes œuvres s'accomplissent par sa grâce, et je ne réussirai qu'avec Dieu .Je suis arrivé pour ce jour grâce à lui, et après cela, grâce à nos parents, que Dieu leur perpétue une couronne au-dessus de nos têtes ;*

*Merci à notre promotrice Dr. BOUSSOUSSA HADJER et notre co-promotrice Madame KHACHEBA IHCEN pour le suivi et l'encadrement de ce travail*

Nous exprimons toute notre reconnaissance envers les membres du jury **Dr ZEROUK Salim** et **Dr NEBEG Halima** pour avoir consacré une partie de leur temps précieux à l'examen de ce mémoire.

*Merci à tous les professeurs qui nous ont ouvert le chemin de la connaissance, même avec une lettre, à tout le personnel informateur, à nos frères qui sont notre moitié ;*

*À nos collègues et à ma meilleure amie Nesrine ;*

*Merci à tous ceux qui ont marché avec nous vers ce succès*

## Dédicace

*Je dédie mon succès, la joie de mon cœur et l'étape de réaliser mes rêves à moi-même, car*

*c'est la première à se réjouir après la fatigue et de rester éveillée tard dans la nuit*

*À la chose la plus précieuse que j'ai, mes parents et compagnon de ma vie. Qui m'ont*

*soutenu, que Dieu les protège pour moi .Ceux qui ont regardé et travaillé dur sur mon*

*éducation et tous ceux qui ont contribué à l'achèvement de ce travail de près ou de loin*

*A notre chère encadreur Madame BOUSSOUSSA HADJER, Et aux membres de ma famille*

*surtout mes frères ; Belkacem , Djalal, Salah, Youcif, mon soutien et dans ce monde je ne*

*peux leurs compter aucune faveur*

*À tous mes proches et à tous mes amis, sans exception, et à ceux qui m'ont soutenu, surtout*

*ma meilleure amie Nesrine et nariman .*

*À mes estimés professeurs et à tous nos collègues de promotion*

*En fin de compte, je demande à Dieu Tout-Puissant de faire de cette œuvre un bénéfice*

*pour les étudiants.*

**NOUR EL HOUDA**

## Dédicace

*A ma très chère mère " fatiha "Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai pas te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. A mon très cher père "Salem " Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.*

*Que ce travail a traduit ma gratitude et mon affection. Pour mon lien dans la vie, mon cher frère "Ali".*

*À mes belles sœurs "Zahia et fadila". Que Dieu vous bénisse avec santé, bonheur, courage et surtout succès.*

*À toute ma famille, mes amis et mes proches, et à tous ceux qui ont eu le mérite de m'avoir soutenu tout au long de ma carrière universitaire. Merci d'être toujours là pour moi.*

*Une spéciale dédicace à une personne qui a été très paternaliste avec moi "Fadila" , merci pour votre soutien, tant que vous êtes en sécurité.*

WaHiba

## Liste des abréviations

**AA(%)** : pouvoir antioxydant

**BHA** : Butylhydroxyanisole.

**BHT** : Butylhydroxytoluène.

**CP** : composés phénolique.

**AAEC** : Capacité antioxydante équivalente à l'acide ascorbique.

**DPPH** : 2,2 -diphényl -1- picrylhydrazyl.

**HES**: Huiles essentielles.

**IC50** : Concentration à 50% de DPPH perdu.

**PI%** : pourcentage d'inhibition.

**RHE** : Rendement en huile essentielle.

**Rosmarinus officinalis L** : Rosmarinus officinalis Linné.

**IC50** : Concentration équivalente à 50% de DPPH perdu.

**PPM** : phosphomolybdate.

**UV- visible** : Spectrophotométrie ultraviolet.

**Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : sulfate de sodium anhydre.

**NO •** : le monoxyde d'azote

**OMS** : l'organisation mondiale de la santé

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Anion superoxyde

**OH** : groupement hydroxyle

**OH\*** : le radical Hydroxyle

**ONOOH** : le nitroperoxyde

**R<sup>2</sup>** : Coefficient de détermination

**R** : Rendement

**TBHQ**: *tert*-butylhydroquinone

## Liste des figures

<b>Figure1</b> : exemple de structures de quelques composés aromatique composant les huiles essentielles.....	13
<b>Figure2</b> : <i>Rosmarinus officinalis.L</i> .....	22
<b>Figure3</b> : carte géographique représente le site de la récolte de <i>Rosmarinus officinalis.L</i> .....	22
<b>Figure5</b> : schéma représente le protocole expérimentale de teste DPPH et leur réaction...	
<b>Figure 6</b> : Courbe d'étalonnage de vitamin C( acide ascorbique ).....	22
<b>Figure7</b> : Représentation graphique du pouvoir réducteur DPPHd'extrait de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	28
<b>Figure8</b> :Les valeurs d'IC50 de huile essentielle étudié et antioxydant standar VITC en utilisant le test DPPH.....	29.
<b>Figure 9</b> : Courbe du pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium de vit c (acide ascorbique).....	31
<b>Figure10</b> : Représentation graphique du pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium d'extrait de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	31

## Liste des tableaux

<b>Tableau1</b> : Les avantages thérapeutique et économique des plantes aromatique.....	6
<b>Tableau2</b> : Autres appellations de la plante de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	7
<b>Tableau 3</b> :Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	7
<b>Tableau4</b> Les méthodes et le principe d'extraction des huiles essentielles.....	10
<b>Tableau 5</b> : les types terpénoides.....	13
<b>Tableau6</b> : les composés d'origine diverse.....	13
<b>Tableau 7</b> : les types des antioxydants.....	17
<b>Tableau8</b> : le plante étudié, leurs nom scientifiques et noms vernaculaires ainsi que des formations sur la collecte.....	21
<b>Tableau9</b> : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	27
<b>Tableau 10</b> : Rendement en HE de romarin selon deux méthodes d'extraction.....	27
<b>Tableau10</b> :Valeurs IC <sub>50</sub> des différents échantillons d'huiles essentielles de teste(DPPh).....	27
<b>Tableau11</b> : Valeurs AEAC de huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis-L</i> et VITC du teste phosphomolybdate d'ammonium.....	30

## Table des matières

Remerciements .....	IV
Dédicace.....	V
Liste abrégées .....	VI
Liste des figures .....	VI.I
Liste des tableaux .....	VIII
Introduction.....	..02
<b>Chapitre I :Etude Bibliographique</b>	
I.1. Les plantes médicinales aromatiques.....	05
I.1.2 Définitions des plantes médicinales aromatiques .....	05
I.1.3 Les avantages des plantes médicinales aromatiques .....	05
I.2 La plante de <i>Rosmarinusofficinalis-L</i> .....	06
I.2.1 Description .....	06
I.2.2 Classification botanique .....	07
I.2.3Utilisation du Romarin .....	07
I.2.3.1 Utilisation traditionnelle et propriétés.....	07
I.2.3.2 Activité biologique de <i>Rosmarinus officinalis-L</i> .....	08
II. Huiles essentielles.....	08
II.1 Définition .....	09
II.2 Procédés d'extraction d'huiles essentielles.....	10
II.3 Propriétés physico-chimiques.....	11
II.4 Composition chimique .....	12
II.4.1 Terpénoïdes .....	12
II.4.2 Les Composés aromatiques.....	14
II.4.3Composés d'origine diverse .....	14

III Activité antioxydante.....	15
III.1.1 Les radicaux libres.....	15
III.1.2 Définition du stress oxydant .....	16
III.2 Les antioxydants .....	16
III. 2.1 Définition des antioxydants .....	16
III. 2.2 les types des antioxydants .....	17
III.3 Mécanisme d'action des antioxydants.....	18
Chapitre II : Matériels et Méthodes.....	20
II La plante étudiée : <i>Rosmarinus officinalis.L</i> .....	21
II.1 Matériel végétal.....	21
II.2 Calcul de teneur d'extrait .....	21
II.3 Conservation .....	21
II.4 Préparation de l'échantillon végétal .....	22
II.4.1 Extraction .....	22
II.5 Evaluation de l'activité antioxydante .....	22
II.5.1 Teste DPPH .....	22
II.5.1.1 Principe de la méthode .....	22
II.5.1.2Le mode opératoire .....	23
II.5.1.3 Principe de teste molybdate .....	23
II.5.1.4.1 Principe.....	23
II.5.1.4.2 Mode opératoire .....	24
<b>Chapitre III :Résultats et Discussion</b> .....	26
III.1. Détermination du rendement d'extraction.....	26
III.2 Evaluation activité antioxydante.....	27
III.2.1Test DPPH .....	27

III.2.2 Pouvoir réducteur de phosphomolybdate d'ammonium .....	30
<b>Conclusion .....</b>	<b>34</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>36</b>

**Résumé**

Notre travail porte sur l'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles (HES) du romarin (*Rosmarinus officinalis*) de la région de Laghouat. *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 «aklil», 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 antioxydante est évaluée par le test DPPH et le test phosphomolybdate. Les résultats montrent que les HES du *Rosmarinus officinalis* L. possèdent un pouvoir remarquable de piégeage du radical libre DPPH ( $IC_{50} = 0,102 \pm 0,048 \text{ mg/ml}$ ), qui est bon un pouvoir antioxydant par rapport à l'antioxydant de référence vit c ( $IC_{50} = 0,005 \pm 0,073 \text{ mg/ml}$ ) et pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium de l'HE du romarin (AEAC=0.48mg/ml) avec le antioxydant référence VITC (AEAC=0.37mg/ml). 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, DPPH, phosphomolybdate.

### **abstract**

Our work focuses on the study of the antioxidant activity of essential oils (HES) of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) from Laghouat region. *Rosmarinus officinalis* L. is a spontaneous aromatic plant widely distributed in Algeria, belonging to the labiate family (Lamiaceae) commonly called by the local population "aklil", It is still used in traditional medicine as an antispasmodic, as ingredients in beauty products as well as in the preservation of food products. The extraction of HES from *Rosmarinus officinalis* L. was carried out by hydrodistillation. Antioxidant activity was assessed by DPPH and phosphomolybdenum tests. The results show that *Rosmarinus officinalis* L. have a remarkable capacity for trapping the free radical DPPH ( $IC_{50} = 0,0102 \pm 0,048 \text{ mg/ml}$ ), which is significantly similar to that of the standard antioxidant vitamin c ( $IC_{50} = 0,005 \pm 0,073 \text{ mg/ml}$ ) and reducing power ammonium phosphomolybdate of rosemary EO (AEAC = 0.48mg / ml) with the antioxidant reference VITC (AEAC = 0.37mg / ml). These results can be considered as a starting point for applications of this plant in health or in the agrifood sector.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis*, Essential oils, Antioxidant activity, DPPH, phosphomolybdenum

## ملخص

يهدف هذا العمل الى دراسة النشاط البيولوجي للزيت الاساسي لنبات اكليل الجبل من منطقة افلو واد مرة (الاغواط) نبات اكليل الجبل نبات عطري ينتمي الى عائلة الشفاويات يدعى محليا بالإكليل ينمو بصفة تلقائية وهو منشربكثرة في الجزائر ومازال يستخدم الى حد الان في الطب التقليدي كمضاد للتشنج وفي تركيب المواد التجميلية وكذا حفظ المواد الغذائية.

تم استخلاص الزيت العطري لنبته الاكليل بواسطة التقطير المائي بواسطة جهاز clevenger وقد تم تقييم النشاط المضاد للاكسدة باختباري DPPH واختبار phosphoMolybdate .كشفت النتائج المتحصل عليها ان الزيت العطري لمستخلصنا له قدرة جيدة على تثبيط الجذور الحرة مقارنة بمضادات الاكسدة المرجعية مع قيم تتراوح ما بين (0,010±0,048 مع/مل) و(0,073 ± 0,005 =IC50) وقيم تتراوح (0,48 ± 26,66 مع/مل =AEAC) و(مع/مل=0,37±38 AEAC).

**الكلمات المفتاحية :** الزيت العطري , *Rosmarinus officinalis*, النشاط المضاد للاكسدة , اختبار DPPH , اختبار phosphoMolybdate.

# INTRODUCTION

Les plantes médicinales aromatiques sont des plantes qui présentent des activités médicamenteuses (Borée., 2012) qui peuvent être utilisées entières ou sous forme d'une partie précise de la plante; des feuilles, des fleurs, des racines ....(Beloued,.,2001). Aujourd'hui, la médecine moderne utilise les constituants de ces plantes tels que les huiles essentielles (HE), les CP, et les alcaloïdes comme remède pour traiter de divers maladies car elles présentent d'immenses avantages par rapport aux traitements chimiques et leurs effets indésirables sont limités. (Borée., 2012).

Les propriétés médicinales des plantes sont dues à des produits synthétisés par les plantes elles-mêmes appelés métabolites secondaires. L'utilisation des HE comme antioxydants naturels est un domaine d'intérêt croissant car certains antioxydants synthétiques tels que le BHA et le BHT, VITC sont maintenant soupçonnés d'être potentiellement nocifs pour la santé humaine. (Amorati et Valgimigli., 2013).

La situation géographique exceptionnelle de l'Algérie permet une très grande richesse de la flore, bordée par la mer Méditerranée au nord, elle est caractérisé par une très grande variation de reliefs et de climats ; depuis le Tell au Nord, les hauts plateaux pour arriver aux dunes de sables du Sahara situées dans le Sud. Beaucoup d'espèces végétales que l'on trouve en Algérie, contiennent des substances actives qui ont des propriétés médicinales qui sont très recherchées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques et l'aromathérapie (Borée., 2012).

C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à étudier le romarin ; une plante qui pousse à l'état spontané dans les monts de la région de Laghouat. Le romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*) fait l'objet des récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est un herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciées pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antispasmodiques et anti-tumorales et largement utilisées en médecine traditionnelle (Atik bekkara et al ., 2007).

Ce travail a pour objet de l'extraction et l'études de l'activité antioxydante de huile essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis.L.*

- La première partie propose une recherche bibliographique sur le sujet qui est consacré à l'étude des plantes médicinales, l'activité antioxydante des huiles essentielles ainsi que leurs procédés d'extraction.

- La seconde partie met en évidence le matériel et les méthodes utilisés lors de la réalisation de cette étude, tels que la méthode d'extraction de l'huile essentielle, l'étude l'effet antioxydant in-vitro en utilisant le test DPPH et le test molybdate.

-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.

# **Chapitre I : les plantes médicinales aromatiques.**

## I.1 Plantes médicinales

Le monde des végétaux est plein de ressources et de vertus pour l'homme non seulement sa nourriture mais aussi des substances actives qui procurent souvent un bienfait à son organisme parfois affectent de troubles insidieux (Beloued.,2001).

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature, pour traiter et soigner des maladies (Dominguez,, 2020).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs( Mimouna et al.,2021)

Ces plantes médicinales renferment de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Elles produisent déjà 70% de nos médicaments,

### I.1.2 Définitions des plantes médicinales aromatiques

Ce sont toutes les plantes qui contiennent une ou de substances pouvant être utilisées à de fine thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles.

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des Propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) (Jamaledine., 2017).

### I.1.3 Les avantages des plantes médicinales aromatiques

Les plantes médicinales aromatiques ont connus ces dernières années un important regain d'intérêt et ceci devant le recul des produits chimiques. La diversité de leur utilisation (pharmacologie, cosmétique, fabrication de détergents, teinture et produits de massage) a accru la demande, surtout en huiles essentielles(Baba Aissa., 2000).

## Chapitre I : les plantes médicinales

**Tableau1** : Importance thérapeutique et économique des plantes médicinales aromatiques.

Importance thérapeutique	Importance économique
<p>-utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux.</p> <p>pour favoriser la santé. Chaque plante médicinale a une définition qui lui est propre et une utilisation spécifique (Kansole, 2009).</p> <p>-Traitement d'infections chroniques ou récurrentes (bronchites, cystites), d'allergies, d'affections liées à une mauvaise circulation, de troubles hormonaux et gynécologiques (ménopause, règles irrégulières), d'affections gastro-intestinales, de problèmes dermatologiques ou d'affections légères du système nerveux (stress, insomnie et spasmophilie). La phytothérapie soigne aussi les maladies articulaires comme l'arthrose (Iserin et <i>al.</i>, 2001).</p>	<p>-utilisées dans de nombreuses activités qui font l'objet d'échanges commerciaux pour la fabrication de médicaments car elles représentent la partie importante et essentielle de matières premières qui soutiennent l'industrie pharmaceutique.</p> <p>-Utiliser comme aromes pour amélioration de gout ou colorants naturels.</p> <p>-Utiliser dans la fabrication de produits cosmétique par l'utilisation des huiles volatiles.( Iserin et <i>al.</i>, 2001).</p>

### I.2 La plante *Rosmarinus officinalis-L*

#### I.2.1 Description

Le romarin, est un arbrisseau de la famille des Lamiacées originaire des pourtours de la Méditerranée. Il possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques, mais c'est aussi une herbe condimentaire et une plante mellifère, ainsi qu'un produit fréquemment utilisé en parfumerie. Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur.

## Chapitre I : les plantes médicinales

Il possède des feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, légèrement enroulés aux bords, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous, avec une odeur très camphrée. Les fleurs varient du bleu pâle au violet (Williams, 1996).

**Tableau 2 :** autres appellations de la plante de *Rosmarinus officinalis-L*

Pays	Nom vernaculaire	Référence
<b>Algérie</b>	Lazir, Iklil Aljabal, aziir Ouzbir, hatsa louban, haselban Touzala	(Schauenberg & Paris, 1977., 2006, 2013) (El Rhaffari, 2008).
<b>Maroc</b>	azir, barkella, haselban, Aklil, iklil ljabal, klile	(El Rhaffari., 2008). Bellakhda.r, 2006)
<b>Tunisie</b>	azir, barkella, haselban, Aklil, iklil ljabal, klile	(El Rhaffari., 2008).
<b>France</b>	Herbe-aux-courounnes, rosée de mer, rose marine, romarin des troubadours, bouquet de la vierge	(Botanica ., 2011; Monod, 1978)
<b>Allemand</b>	Folia Anthos, Folia Rorismarini, Encensier, rosemary (Angl), Rosmarinblatter, Krankkrautblatter, Kranzenkrautblatter, Rosmarein	(Pharmacopée-française, 1998)

### I.2.2 Classification botanique (Quézel & Santa., 1963 modifiée., 2020).

**Tableau 3 :** classification botanique de *Rosmarinus officinalis-L*.

Réngé	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales (Labiales)

Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis L</i>

### I.2.3 Utilisation du Romarin

#### I.2.3.1 Utilisation traditionnelle et propriétés thérapeutiques

Le romarin est connu à l'échelle mondiale comme plante aromatique et médicinale qui fait l'objet d'usages multiples allant du simple usage de la médecine traditionnelle aux multiples usages industriels: pharmacologie, agroalimentaire, cosmétique et autres (Hamedo et Abdelmigid, 2009).

Le romarin est un stimulant ou un calmant mais c'est surtout un remède diurétique, cholagogue et un stimulant digestif ; il est également employé contre les coliques néphrétiques, les vers et les rhumatismes ((Djerroumi et Nacef., 2004)En usage externe, il combat la règle irrégulière, les pertes blanches, accélère la cicatrisation, guérit les entorses, les foulures et les contusions (Djerroumi et Nacef., 2004)

Le thé du romarin peut être utilisé pour les maux de tête et les rhumes guéris, ainsi il est utilisé comme diurétique efficace et stabilisateur de l'humeur (Haloui, Louedec, Michel, & Lyoussi., 2000).Rosemary était censée de renforcer la mémoire dans la Grèce antique (Rili,et a.l,2017)

#### I.2.3.2 Activité biologique de *Rosmarinus officinalis-L.*

L'extrait d'huile essentielle de romarin faisait partie du groupe d'huiles essentielles ayant des effets antifongiques (Yang & Clausen., 2007).

L'huile essentielle de romarin possède selon les travaux de recherche une activité insecticide (Khalfi-Habes., 2007). L'HE de romarin a montré une grande activité de ses composantes à des systèmes de test anticancéreux, et les activités ont été principalement liés à leurs concentrations (Wang *et al.*,2012).

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).

## II. Huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles et la connaissance de ses propriétés curatives remontent aux civilisations chinoises et égyptiennes car elles sont considérées comme une des plus anciennes formes de la médecine et de la cosmétique.

### II.1 Définition

D'abord, le terme "huile essentielle" a été défini par l'**Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM)** :

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. »

Mais il a été également défini par l'**Organisation internationale de normalisation (Norme ISO)** :

« Produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation sèche. »(**Jean Bruneton ;1999**)

Une huile essentielle est un liquide odoriférant d'aspect fluide à épais et de couleur variable selon les plantes dont elle est extraite. Elle est extraite de différentes parties d'un végétal : les feuilles (menthe poivrée, basilic grand vert), les fleurs (lavande), le bois (cèdre Atlas, santal blanc), les racines (gingembre, valériane, vetiver), les graines (coriandre, anis vert, carotte).elle obtenue par distillation ou par extraction chimique ,par des solvants(eau, alcool ou autre)( Van beek et al,2018).

## II.2 Procédés d'extraction d'huiles essentielles

Les HEs sont obtenues de diverses manières. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation

**Tableau 4** : les méthodes et le principe d'extraction des huiles essentielles.

Méthode	Principe	Référence
L'entraînement à la vapeur d'eau :(distillation simple)	consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentín refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentín, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier.	(Marzouk et <i>al.</i> , 2006).
hydro distillation	C'est la méthode la plus ancienne. Pour ce faire, on charge la cuve d'un alambic en plantes aromatiques auxquelles on ajoute une quantité d'eau correspondant à deux, et jusqu'à six fois la quantité d'eau en matières premières. On porte l'ensemble à la température nécessaire à la production de vapeur d'eau.	(El-Hassouni, et <i>al</i> ,2020) .
La distillation à vapeur saturée	<b>C'est la méthode la plus couramment utilisée pour la fabrication des H.E.</b> Elle consiste à faire passer de la vapeur d'eau à travers la matière végétale placée dans l'alambic. La vapeur provoque l'ouverture des cavités des plantes qui <b>libèrent ainsi les molécules des huiles volatiles</b> . La température doit être ajustée et contrôlée pour ne pas « brûler » l'élément végétal ni dénaturer l'huile essentielle. La vapeur qui contient l'H.E. est dirigée à travers un système de refroidissement (serpentín) où elle se liquéfie, ce qui sépare de fait l'huile essentielle de l'eau.	
L'hydrodiffusion	<b>Cette appellation désigne une autre forme de distillation à la vapeur</b> : la vapeur est introduite par	(Brouneton,2009 ; Figueredo,2007).

## Chapitre I : les plantes médicinales

	le haut pour passer à travers la matière végétale choisie. La condensation du mélange de vapeur contenant l'huile se produit sous la grille retenant la matière végétale. Cette méthode utilise moins de vapeur, le processus d'obtention est plus court et le rendement en huile est meilleur.	
Extraction par micro-ondes	L'avantage essentiel de ce procédé est de réduire la durée de distillation et incrémente le rendement d'extrait.	(Bruneton, 2009).
Extraction par du CO2 supercritique	Très moderne, très coûteuse, cette méthode consiste à faire passer un courant de CO2 à haute pression qui fait éclater les poches à essence et entraîne les substances aromatiques.	Bocevaska et Sovova, 2007 ; Gaspar et <i>al.</i> , 2000).
Extraction par solvants	Cette méthode est utilisée pour obtenir des huiles florales extrêmement parfumées. Les plantes et le solvant sont placés dans un récipient et chauffés pour favoriser l'extraction des huiles par le solvant. La mixture ainsi obtenue est ensuite filtrée et devient ce que l'on appelle un «concret», qui est alors mélangé à de l'alcool, refroidi et filtré. Après évaporation de l'alcool, reste l'huile très parfumée, appelée «absolu».	(Bruneton, 2009).
L'expression à froid	Cette méthode d'extraction dite « <b>pression à froid</b> » n'implique aucune chaleur. La plupart des H.E. d'agrumes sont extraites par ce procédé, qui consiste à soumettre la matière à une grande pression mécanique (écorces ou zestes, de bergamote, citron, lime, mandarine, orange).	(Lahrech, 2010).

### II.3 Propriétés physico-chimiques

Les huiles essentielles forment un groupe très homogène (Bernard et *al.*, 1988 ; Bruneton, 2009). Leurs principales caractéristiques sont :

- Liquide à température ambiante.
- Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes ;
- Volatiles et très rarement colorées ;
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes ;
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpène et en

dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpène donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivée oxygénés produira l'effet inverse ;

- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau ;
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques ;
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'air (El h ,2021).

### II.4 Composition chimique

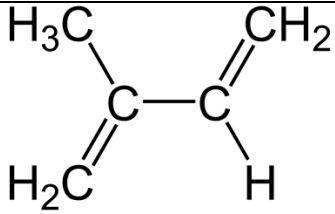
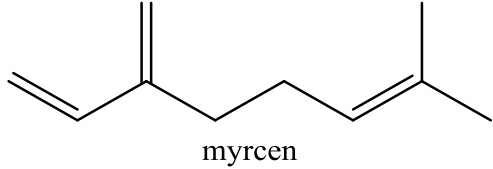
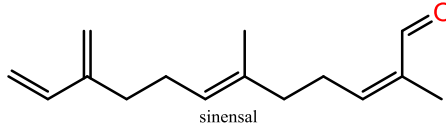
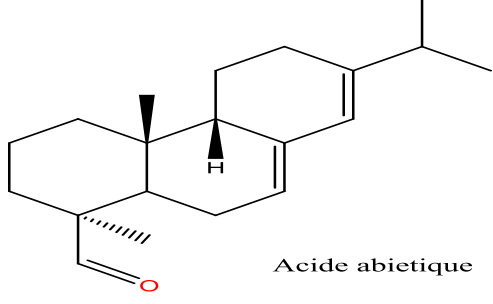
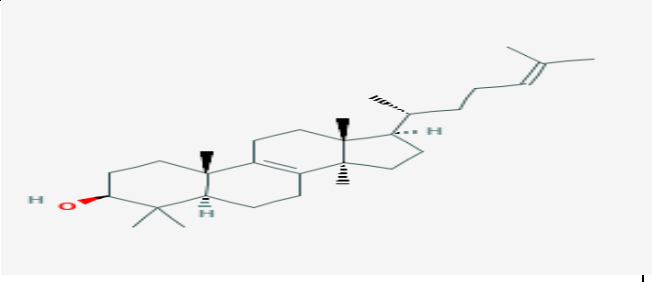
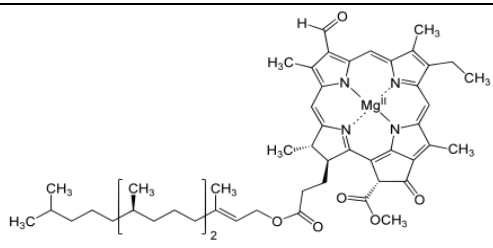
Comme toute substance, les HEs se caractérisent par une composition chimique analysable et très variable. Le nombre de composants isolés est d'environ des milliers et il en reste beaucoup à découvrir. Ces constituants appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: le groupe des terpénoïdes (les composés terpéniques) et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, beaucoup moins fréquents. Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils (Festy, 2012).

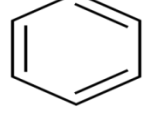
#### II.4.1 Terpénoïdes

Les terpènes sont de simples hydrocarbures( $C_5H_8$ ), La plupart des terpénoïdes avec la variation de leurs structures sont biologiquement actifs et sont utilisés dans le monde entier pour le traitement de nombreuses maladies (Tableau 4). Pendant ce temps, les terpénoïdes jouent un rôle diversifié dans le domaine des aliments, des médicaments, des cosmétiques, des hormones, des vitamines, etc.

## Chapitre I : les plantes médicinales

**Tableau 5:** Les différentes classes terpénoïdes (Boukhobza & Goetz, 2014).

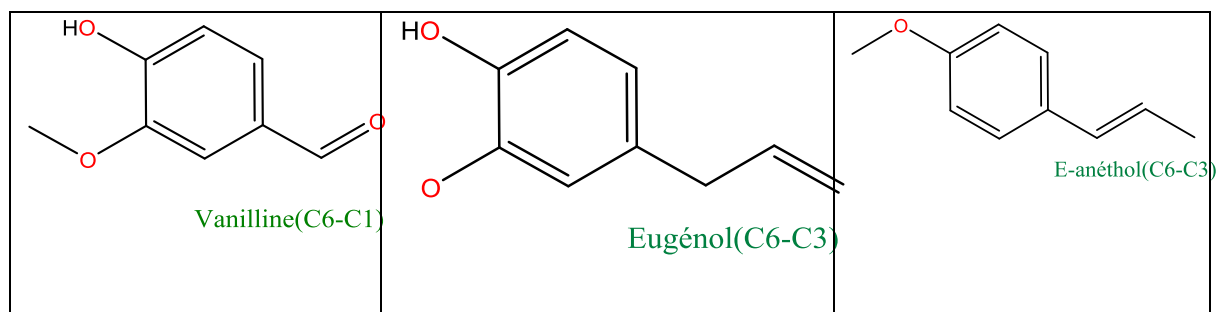
Squelette carboné	Type de terpénoïdes	Exemple de molécule	Exemple de Structure
C5	Hemiterpènes	Isoprène	 <chem>CC(=C)C=C</chem>
C10	Monoterpènes	Myrcène, ocimène	 <p style="text-align: center;">myrcène</p>
C15	Sesquiterpènes	Sabinène, camphène	 <p style="text-align: center;">sinenol</p>
C20	Diterpènes	Acide abietique	 <p style="text-align: center;">Acide abietique</p>
C30	Triterpènes	Lanostérol	
C40	Tetraterpènes	Caroténoïde	

+ C40	Polyterpénes	Caoutchouc	$\left[ \text{CH}_2 - \text{CH} = \text{CH} - \text{CH}_2 \right]_m \text{CH} - \text{CH}_2 \left[ \right]_n$ 
-------	--------------	------------	---

Les principales activités biologiques relevées sont liées à la recherche de nouveaux composés antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoire, antiviraux, antidiabétiques, ... etc.

### II.4.2 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**).



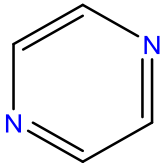
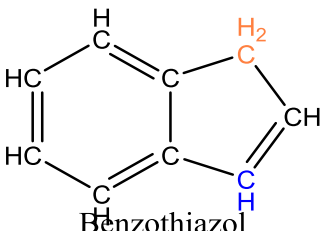
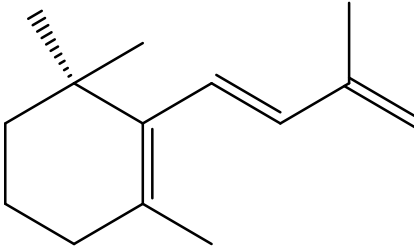
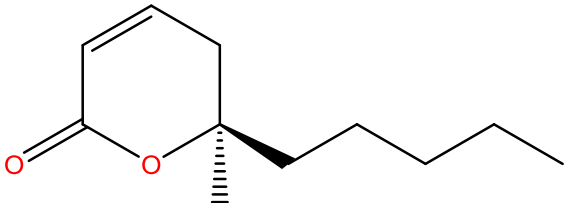
**Figure 1** : exemple de structures de quelques composés aromatique composant les huiles essentielles.

### II.4.3 Composés d'origine diverse

Il s'agit précisément de

- composés issu de la dégradation de acide gras.
- composés issu de la dégradation des terpènes.
- composés azotés ou soufrés(El houité,2021).

**Tableau 6:** les composés d'origine diverse

Composés	Structures
Composé azoté	 <p style="text-align: center;">Pyrazine</p>
Composé soufré	 <p style="text-align: center;">Benzothiazol</p>
Composés issus de la dégradation de terpène	 <p style="text-align: center;">B-Ionon</p>
Composés issus de la dégradation d'acide gras	 <p style="text-align: center;">Massoialactone</p>

## III Activité antioxydante

### III.1.1 Les radicaux libres

L'oxygène est un élément essentiel pour les organismes multicellulaires parce qu'il permet de produire de l'énergie en oxydant de la matière organique. Mais nos cellules convertissent une partie de cet oxygène en métabolites toxiques : les radicaux libres organiques (Krimat et al,2017).

Un radical libre est une espèce, atome ou molécule, contenant un électron non

apparié. Ce déséquilibre n'est que transitoire et il est comblé soit par l'acceptation d'un autre électron soit par transfert de cet électron libre sur une autre molécule. Ces espèces radicalaires très instables et très réactives sont produites d'une manière continue au sein de notre organisme, dans le cadre de nombreux phénomènes biologiques. Par exemple, lors de la respiration cellulaire, l'oxygène moléculaire se transforme en diverses substances oxygénées, communément appelées radicaux libres de l'oxygène ou espèces réactives oxygénées (ROS) (Aurousseau, 2002).

Radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. Au début des années 2000, ces notions n'étaient généralement évoquées que dans les congrès scientifiques.

Mais ces dernières années, l'industrie pharmaceutique, les laboratoires d'analyses médicales et la presse grand public ont massivement diffusé des informations relatives aux antioxydants, sans parfois l'esprit critique nécessaire (Defraigne and Pincemail, 2008). Les principaux radicaux libres sont les formes activées de l'oxygène. On en distingue six :

L'anion super oxyde  $O_2^-$ , L'eau oxygénée  $H_2O_2$ , Le radical hydroxyle  $HO^\cdot$ , L'oxygène singlet  $O_2$ , L'oxyde nitrique  $NO$ , L'acide hypochloreux  $ClHO$ . Ce sont des agents oxydants très agressifs. Ils ont, selon les circonstances, des effets favorables ou des effets nocifs, constituant le stress oxydant (Riccardo et al, 2013).

### **III.1.2 Définition du stress oxydant**

Le stress oxydant représente l'incapacité pour l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces réactives oxygénées (ROS), en raison de l'existence d'un déséquilibre entre la production de ces substances et la capacité de défendre des antioxydants (Koechlin-Ramonatxo, 2006). Le stress oxydant, principale cause initiale de plusieurs maladies, cancer, diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires (Favier, 2003).

### **III.2 Les antioxydants**

#### **III. 2.1 Définition des antioxydants**

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses

stratégies anti-oxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène( Goudable et *al.*,1997)).

La nature des systèmes antioxydants diffère selon les tissus et les types cellulaires et selon qu'on se trouve dans le milieu intracellulaire ou extracellulaire. Les défenses anti oxydantes de notre organisme peuvent se diviser en systèmes enzymatiques et systèmes non enzymatiques (Shahidi, 1997).

### III. 2.2 les types des antioxydants

Les antioxydants, véritables boucliers pour l'organisme se trouvent en premier lieu dans l'alimentation. Les principaux antioxydants naturels sont les bioflavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines C et E, et le sélénium (Elaerts, 2014).Ce qui montre le( tableau7)

**Tableau 7:**les types des antioxydants

	<b>Exemple</b>	<b>Propriété</b>
Antioxydants synthétiques	1(BHA) (E 320), (BHT) (E 321), (TBHQ), 2-Les gallates de propyle (E 310), d'octyle (E311) et de dodécyle (E 312)	1-solubilité dans les milieux lipidiques, sont toxiques et/ou cancérigènes à haute dose. Leur utilisation est donc en baisse (Benoît al,2020).  2- Ils sont moins solubles dans les matières grasses, Ils sont sensibles à la chaleur, Ils sont toujours utilisés avec des agents complexants tels que l'acide citrique (Frankel, 1993).
<b>Antioxydant naturel</b>	Vitamine C : poivron, goyave, oseille, citron, orange, kiwi, choux, papaye, fraises... - Vitamine E : huile de tournesol, de soja, de maïs, beurre, margarine, oeufs... - Vitamine A : foie, beurre,	1-les vitamines sont liposolubles (solubles dans les graisses) 2- jouer un rôle important à la fois dans la protection contre le cancer et les maladies cardiovasculaires (Caillet et Lacroix, 2007).

	<p>oeufs...</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Sélénium : Poissons, oeufs, viandes...</li><li>- Zinc : fruits de mer, viandes, pain complet, légumes verts ;</li><li>- Polyphénols (flavonoïdes et tanins en particulier) : fruits et légumes, thé...</li></ul>	
--	--	--

### III.3 Mécanisme d'action des antioxydants

Selon (Goudable et *al.*,1997) et (Barlow, 1990), un antioxydant est une substance qui, ajoutée à faible dose à un produit naturellement oxydable à l'air, est capable de ralentir le phénomène d'oxydation en augmentant le temps au bout duquel il y a une altération décelable du produit. L'antioxydant peut agir de trois différentes manières :

En inhibant la formation des radicaux libres, on parle d'antioxydant de rupture de chaîne désigné aussi sous forme « antioxydant vrai ». En fixant directement l'oxygène préférentiellement dans la phase de propagation. En chélatant les métaux catalyseurs d'oxydation, on parle alors « d'antioxydant secondaire».

**Chapitre II**

**Matériel**

**et méthodes**

### II La plante étudiée : *Rosmarinus officinalis.L.*

#### II.1 Matériel végétal

Dans ce travail ,nous avons étudié *Rosmarinus officinalis.L* appartient à la famille botanique des *Lamiacées* au sein du genre *Rosmarinus*.les information de ce matériel(nom de plante,mois de collecte) sont rapportées dans le tableau1.

**Tableau 8 :** La plante étudiée, leurs nom scientifiques et noms vernaculair ainsi que des informations sur la collecte.

Nom	Noms vernaculair	Région de récolte	Mois de récolte	Teneur %
<i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i>	Lazir,aklil aljabal.	Ouad moura,aflou laghouat	Mars 2020	2.5ml



**Figure 2 :** *Rosmarinus officinalis.L*(Nour,2021).



**Figure 3** :carte géographique représente le site de la récolte de *Rosmarinus officinalis.L.*(wikipedia,2020).

### II.2 Calcul de teneur d'extrait

La teneur en huile essentielle est calculée par la formule donne :

$$T\% = (m/m_0) \times 100$$

Où :

T: teneur exprimé en %.

M : masse, en gramme, de l'huile essentielle récupérée.

M0: prise d'essai initiale du matériel végétale en gramme

### II.3 Conservation

Afin l'extraction ont ajout une petite quantité de sulfate de sodium anhydre (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à l'huile essentielle .pour éliminer tous trace d'eau.par la suite mettre l'huile dans un verre teinté. A l'abri de lumière et réfrigérateur à +4C (Bruneton,2009 ;Z hiri etbaudoux,2005) .

### II.4 Préparation de l'échantillon végétal

#### II.4.1 Extraction

L'huile essentielle a été obtenue par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type cleverger (figure).

L'extraction se fait en plaçant le matériel végétal (150g) au milieu du ballon et en ajoutant de l'eau, placé au-dessous d'un chauffe ballon. ce dernier est surmonté d'une colonne qui

communiquent avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargées de gouttelettes d'huile essentielle. L'extraction dure six heures.



Figure 4 : appareil hydro distillation type clevenger

### II.5 Evaluation de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des HES a été évalué *in vitro* en utilisant deux tests, le test du DPPH, le test du molybdate.

#### II.5.1 Teste DPPH

##### II.5.1.1 Principe de la méthode

La méthode 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un test standard utilisé pour évaluer les propriétés antioxydantes qui est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH). Ce dernier est un radical stable soluble dans le méthanol ou éthanol qui présente une absorption caractéristique à 517 nm qui lui confère une coloration violette, cette couleur passe du violet au jaune lorsque le DPPH est réduit en diphenpicrylhydrazine par un capteur de radicaux libres (Rather et al., 2012).

- La réaction peut être résumée sous la forme de l'équation :



### II.5.1.2 Le mode opératoire

Un volume de 1 ml, de chaque solution fille, récemment préparée dans le méthanol, est ajouté à 1 ml de solution de DPPH (200 µM) fraîchement préparée. Après 30 min d'incubation, à température ambiante et à l'obscurité, l'absorbance est lue contre le blanc à 517 nm par spectrophotométrie (uv/vis). Chaque absorbance correspond à un pourcentage d'inhibition calculé par la relation suivante :

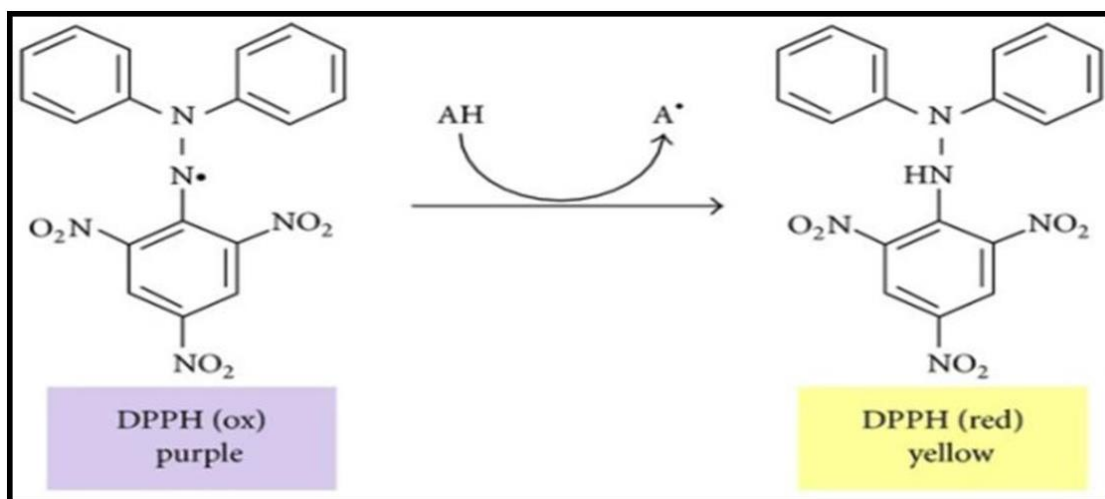
$$I\% = \frac{A_c - A_e}{A_c} \times 100\%$$

Où :  $I\%$  : pourcentage d'inhibition

**A<sub>c</sub>**: Absorbance du control en absence de l'antioxydant après 30 min d'incubation.

**A<sub>e</sub>**: Absorbance des échantillons mesurés après 30 min d'incubation.

A partir des valeurs du  $I\%$ , nous avons tracé le graphique des variations de inhibition, en fonction de la concentration d'huile essentielle pour déterminer les valeurs d'EC50, qui est la concentration d'huile essentielle (en mg/ml) à 50% de neutralisation des radicaux libres (DPPH). La vitamine C utilisé comme antioxydant de référence.



**Figure 5** : schéma représente le protocole expérimentale de teste DPPH et leur réaction.

### II.5.1.3 Principe de teste molybdate

#### II.5.1.4.1 Principe

Le test phosphomolybdate (PPM) est basé sur la réduction, en milieu acide, de l'ion  $\text{Mo}^{+6}$  en ion  $\text{Mo}^{+5}$  par des substances réductrices présentes dans l'extrait végétal qui forment avec le phosphate- $\text{Mo}^{+5}$  des complexes de couleur verdâtre. (Prieto et al., 1999)

### II.5.1.4.2 Mode opératoire

L'extrait d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à différentes concentrations (50 ; 100 ; 150 ; 200  $\mu\text{g/ml}$ ) est mélangé à 2 ml de réactif molybdate (préparé à partir de molybdate d'ammonium à 4 mM, du phosphate de sodium à 28 mM et de l'acide sulfurique à 0,6 mM). Les solutions ont été ensuite incubées à 95°C pendant 90 minutes dans un bain marie. L'absorbance a été mesurée à 695 nm.

A partir des valeurs de Absc, nous avons tracé le graphique des variations de l'absorbance, en fonction de la concentration de huile essentielle. La vitamine C utilisée comme antioxydant de référence.

# **Chapitre III**


## **Résultats et discussion**

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

**Tableau 9** : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de romarin.

	Aspect	Couleur	Odeur	
<b>L'AFNOR</b>	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine	
<b>Huile Essentielle</b>	Liquide mobile, limpide	Jaune pâle	Camphrée	

Le rendement obtenu dans notre étude, est inférieur à celui du romarin marocain et similaire au romarin tunisien, où les rendements en huile essentielle obtenus par entraînement à la vapeur étaient d'environ 1,2 % et 0,44 % respectivement (Wolling A et al, 2016). Cette constatation, est similaire avec les travaux de (BOUSSADIA et al, 2020) et (El Kharraf Set al, 2021).

Cette différence de rendement pourrait-être expliquée par la méthode d'extraction, le moment de la récolte de la plante (stade de floraison), l'altitude, du climat, partie utilisée et si les plantes étaient sauvages ou cultivées ((Wolling A et al, 2016 ; El Kharraf Set al,2021).

**Tableau 10** : Rendement en HE de romarin selon deux méthodes d'extraction (Wollinger et al., 2016).

Méthode d'extraction	Rendement%	
	Alexander et al., (2016)	BRUNETON (1999)
hydro distillation	1,8%	1 à 2,5%
entraînement à la vapeur d'eau	2,5%	1 à 2,5%

### III.2 Evaluation de l'activité antioxydante

#### III.2.1 Test DPPH

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis-L* et de l'antioxydant standard (l'acide ascorbique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violet (DPPH) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm.

L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'antioxydant synthétique est exprimée par le facteur IC<sub>50</sub> qui exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50% ; plus la valeur d'IC<sub>50</sub> est petite, plus l'activité de l'extrait testée est grande.

En comparant les valeurs IC<sub>50</sub> de l'extrait testé de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis-L* par rapport à celui de la VIT C, nous remarquons que l'activité antiradicalaire de l'extrait est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH• de la substance de référence.

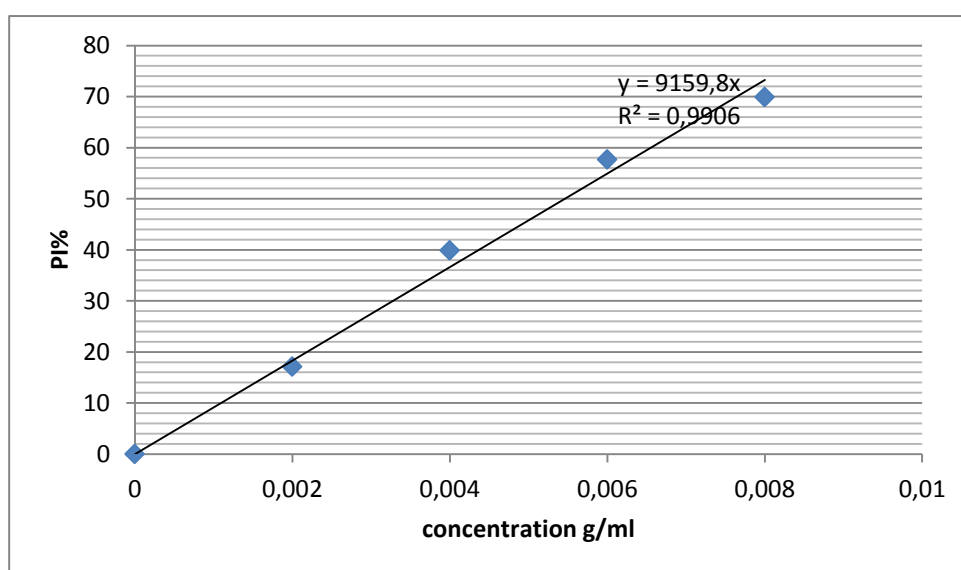
L'HES du romarin a montré une activité antiradicalaire (IC<sub>50</sub> = 0,010g/ml ± 0,048), inférieure à celle de l'antioxydant de référence VIT C (0,005 g/ml ± 0,073) (Tableau 3). L'effet antiradicalaire des huiles essentielles sur le DPPH• est dû à leur capacité donatrice d'un atome d'hydrogène (Conforti et al., 2006).

Nos résultats ont montré que l'huile essentielle du romarin était parmi les huiles qui ont une activité antioxydante importante (Sacchetti et al., 2005, Beretta et al., 2011, Wollinger et al., 2016, Rili., 2017).

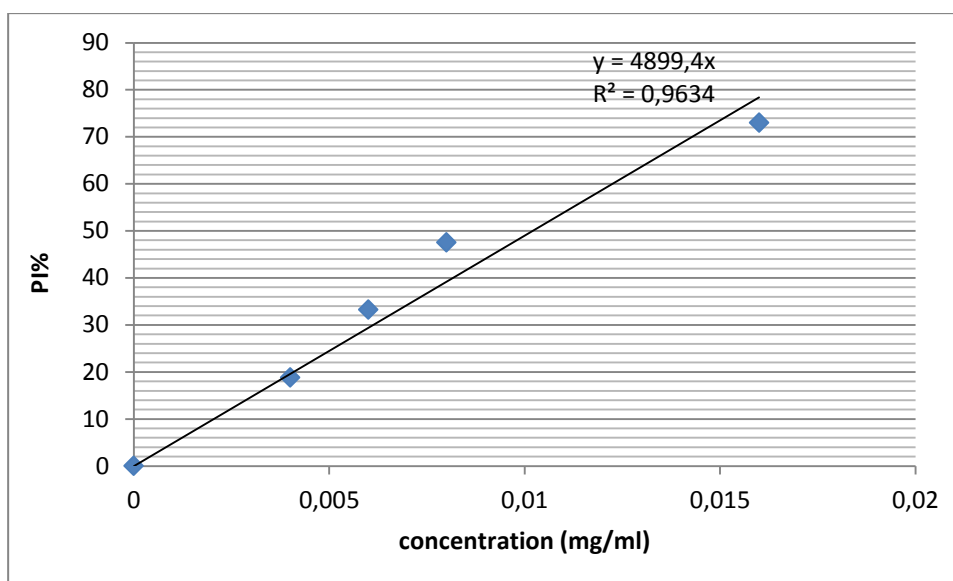
## Chapitre III : Résultats et discussion

**Tableau 11:** les valeurs IC<sub>50</sub> (mg/ml) des différents échantillons d'huiles essentielles de teste( DPPH).

	IC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>Rosmarinus officinalis-L</i>	0,010±0,048
<i>Mentha pulegium</i>	0,76 ± 0,015
<i>Thymus vulgaris</i>	1,07 ± 0,013
VITC	0,005 ± 0,073



**Figure 6 :** Courbe représentant la variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration en acide ascorbique.

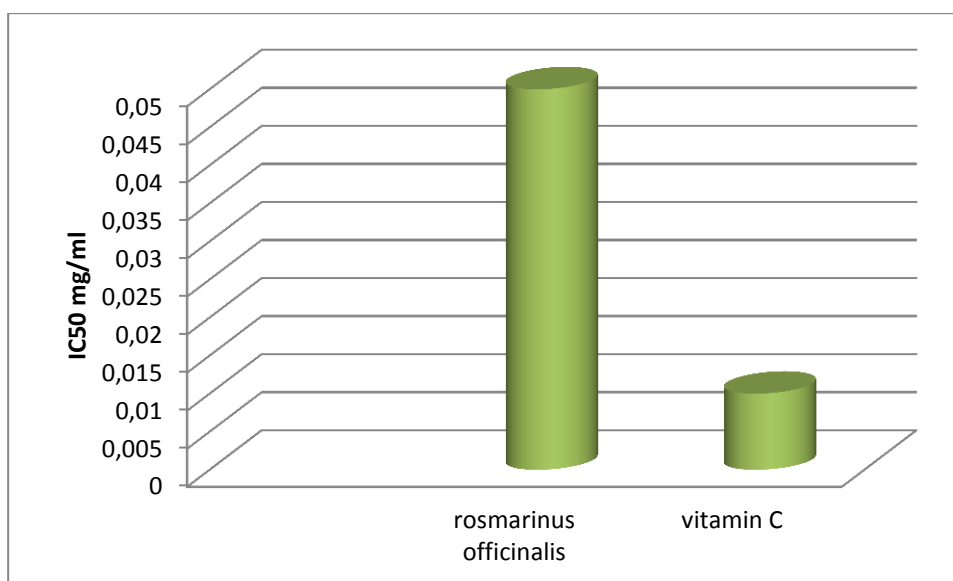


**Figure7** : Représentation graphique du pouvoir réducteur DPPH de l'HE de *Rosmarinus officinalis-L.*

Au vu de la courbe illustrée ci-dessus (figure 7), on remarque que le pourcentage d'activité antioxydante augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou pour l'extrait d'huile essentielle. Il semble aussi que l'activité anti-radicalaire est fortement dépendante aux concentrations d'HE, plus l'extrait d'HE est concentré, plus le pourcentage d'activité est élevé.

L'huile essentielle étudiée dans ce travail a montré un  $IC_{50}$  important à celui de l'antioxydant de référence VitC, donc une activité antioxydante moins importante. Un résultat faible a été obtenu par Bajalana *et al.*, (2017), pour une valeur d' $IC_{50}$  de 0,077mg /l et par Aleksandar *et al.*, (2014) sur les huiles essentielles de romarin.

la figure (8) représenté l'activité antiradicalaire de l'HE de romarin avec l'antioxydant de référence VITC .



**Figure 8 :**Les valeurs d'IC50 de huile essentielle étudié avec huile essentielle référence et antioxydant standar VITC en utilisant le test DPPH.

Ainsi, nos résultants comparés au résultats d'autre espèces de la même famille (*lamiaceae*) ,Les résultats démontrent qu'*Origanum vulgare* ( $IC_{50(EEt)} = 0,74 \pm 0,005$  mg/ml;  $IC_{50(ED)} = 0,32 \pm 0,025$  mg/ml;  $IC_{50(EI)} = 1,29 \pm 0,057$  mg/ml), *Mentha pulegium* ( $IC_{50(EEt)} = 0,76 \pm 0,015$  mg/ml;  $IC_{50(ED)} = 0,65 \pm 0,028$  mg/ml;  $IC_{50(EI)} = >2$  mg/ml), *Thymus serpyllum* ( $IC_{50(EEt)} = 0,93 \pm 0,02$  mg/ml;  $IC_{50(ED)} = 0,89 \pm 0,018$  mg/ml;  $IC_{50(EI)} = 1,32 \pm 0,085$  mg/ml) et *Thymus vulgaris* ( $IC_{50(EEt)} = 1,07 \pm 0,013$  mg/ml;  $IC_{50(ED)} = 1,06 \pm 0,014$  mg/ml;  $IC_{50(EI)} = 1,72 \pm 0,10$  mg/ml) possèdent des activités antioxydantes plus importantes par rapport à notre échantillon (Tamert et al., 2016).

### III.1.2 Pouvoir réducteur de phosphomolybdate d'ammonium

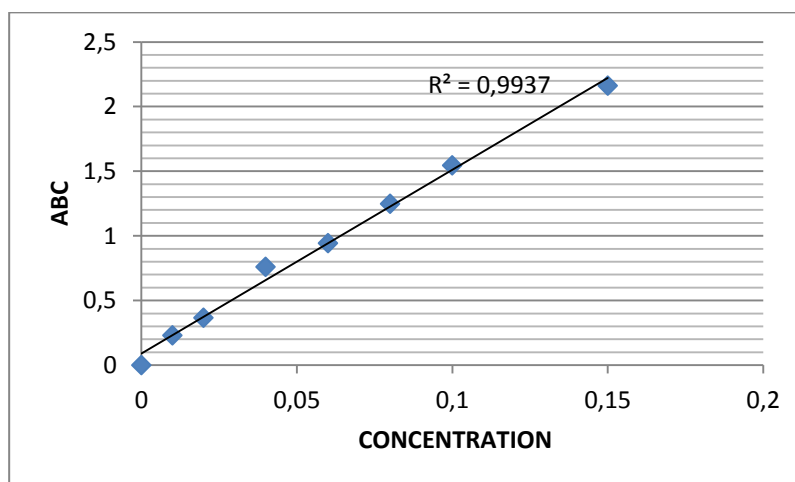
La méthode du phosphomolybdate d'ammonium est basée sur la réduction du molybdate  $MO^{+6}$  en  $MO^{+5}$  par les antioxydants de l'extrait d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*-L. Les résultats du test (Figures 9,10) montrent qu'il existe une relation proportionnelle entre le pourcentage de réduction du molybdate et la concentration de l'extrait.

L'évaluation de l'activité antioxydante de notre extrait a été référée à celle d'acide ascorbique (vitamine C). Donc, à partir des pentes tirées du graphe ci-dessous, nous avons calculé le paramètre  $AEA_C$  de notre extrait.

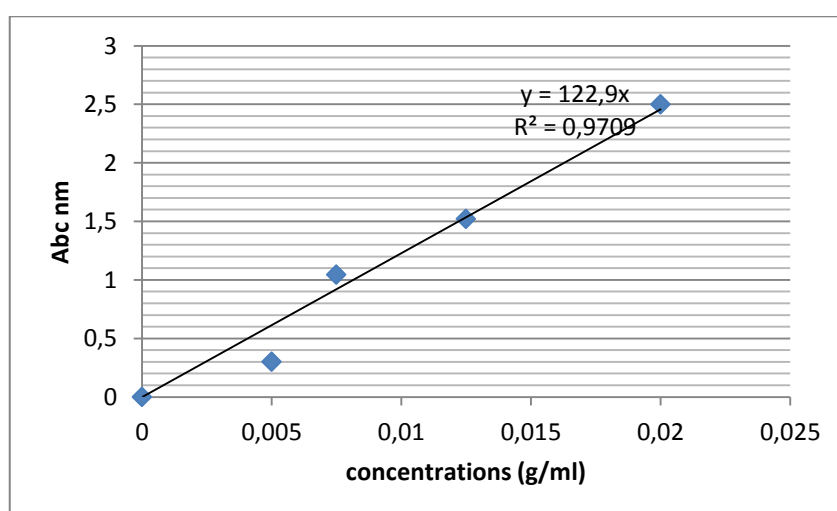
## Chapitre III : Résultats et discussion

Ce paramètre, est défini comme étant la concentration de la solution standard de la vitamine C possédant la capacité antioxydante équivalente à une solution de 1 mM de la substance étudiée (extrait). Plus la valeur de AAEC est importante, plus le pouvoir antioxydant des extraits est important (Boussoussa, 2016).

Les résultats du pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium de l'HE du romarin avec le antioxydant référence VITC dans ce travaux ont présentés dans le( tableau 4), les (figures9,10)



**Figure 9 :** Courbe du pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium par la vit c (acide ascorbique).



**Figure10:** Représentation graphique du pouvoir réducteur phosphomolybdate d'ammonium d'extrait de *Rosmarinus officinalis-L.*

**Tableau12** : Valeurs AEAC- de huile essentielle du *Rosmarinus officinalis-L* et VITC du teste phosphomolybdate d'ammonium

	AAEC (mg/ml)
Rosmarinus offinalis	<b>0,48 ± 26,66</b>
VITC	<b>0,37±38</b>

Le résultat que nous avons obtenu pour l'extrait d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis-L. du teste phosphomolybdate* est inférieure à celui obtenu dans les travaux de (Eric *et al.*, 2012) sur l'huile essentielle de romarin récoltée dans la Chine (AAEC =0,94mg/ml). En comparant aussi notre résultat avec les travaux de (BAJALAN et al, 2017), sur le romarin iranien remarque aussi une activité antioxydante plus élevée (AAEC= 0, 62).

D'après (Benabed K, 2011), L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis-L* a donné un valeur faible d'activité antioxydante , tandis que les huiles essentielles du *Tymus vulgaris*, *Mentha pulegium* et *Tymus algeriensis* ont montré une activité antioxydante importante. Plusieurs espèces appartenant à la famille des Lamiacées présentent des activités antioxydantes importantes (Urban et al., 2021 , Touaibia,et al., 2021) .

# 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 antioxydante de l'HE extraite de la plante *Rosmarinus officinalis L.* utilisée en médecine traditionnelle en Algérie.

L'extraction des HES a été réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger, le rendement obtenu est de 0,41%.

L'activité antioxydante des HES a été évaluée par deux tests: le test de réduction du radical libre DPPH, et le test de phosphomolybdate. Le premier a démontré que notre HE possède une excellente capacité de neutralisation du radical libre DPPH avec une  $IC_{50}$  de  $0,01 \pm 0,09$  mg/ml pas loin de celle du antioxydant de référence vitC ( $0,005 \pm 0,37$   $\mu$ g/ml). D'autre part le test de molybdate d'ammonium montre que les HE inhibent efficacement l'oxydation avec  $AEAC=40\%$  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.

Quelques perspectives générales peuvent être tirées à l'issue des résultats obtenus dans ce travail :

Travailler sur plusieurs échantillons de la même espèce selon les saisons et les stations de collection différentes pour pouvoir mener une grande étude comparative de cette espèce;

Utiliser les différentes méthodes d'extraction pour la même espèce afin d'étudier le degré d'impact de ces dernières sur les composants volatiles des huiles essentielles ;

Mener une étude des huiles essentielles de cette famille *in vivo* ;

Développer des médicaments antiradicalaires à base des plantes, doués d'une activité antioxydante.

# Références

### Référence

1. **Adams, R.P.**, 2007. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/
2. **Adrar, N., Oukil, N., Bedjou, F.**, 2016. Antioxidant and antibacterial activities of Thymus
3. **AFNOR.**, 1999 : Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.
4. **AFNOR.**, 2000 : Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1. Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P.
5. **Ali, I.B.E.H., Chaouachi, M., Bahri, R., Chaieb, I., Boussaïd, M., Harzallah-Skhiri, F.**, 2015.
6. **AMORATI, Riccardo, FOTI, Mario C., et VALGIMIGLI, Luca.** Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2013, vol. 61, no 46, p. 10835-10847.
7. **AMORATI, Riccardo, FOTI, Mario C., et VALGIMIGLI, Luca.** Antioxidant activity of essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2013, vol. 61, no 46, p. 10835-10847.
8. **Anògioni, A., Barra, A., Cereti, E., Barile, D., Coïsson, J.D., Arlorio, M., Dessi, S., Coroneo, V., Cabras, P.**, 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3530–3535.
9. Association Tela Botanica. Botanique : se former, identifier des plantes sauvages [en ligne]. Disponible sur : <<http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-75333-synthese>> (consulté le 24/11/2014)
10. **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.
11. **BABA AISSA, F.** Encyclopédie des plantes utiles, flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. *Ed Librairie moderne Rouiba*, 2000, vol. 46.
12. **BAHORUN, T.** Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In : *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists.* 1998.

13. **BAJALAN, Iman, ROUZBAHANI, Razieh, PIRBALOUTI, Abdollah Ghasemi, et al.** Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. *Industrial crops and products*, 2017, vol. 107, p. 305-311.
14. **BARLOW, Susan M.** Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In : *Food antioxidants*. Springer, Dordrecht, 1990. p. 253-307.
15. **BEKKARA, F. Atik, BOUSMAHA, L., BENDIAB, SA Taleb, et al.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 2007, vol. 7, no 1.
16. **Bellakhdar, J.** (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*.
17. **Bellakhdar, J.** (2006). *Plantes médicinales au Maghreb et soins de base : précis de phytothérapie moderne* : Eds Le Fennec.
18. **Belouad A.,** 2001 : *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des Publications Universitaires, Alger, 5-10
19. **BELOUED, Abdelkader.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Offices des publications universitaires, 2005.
20. **BELOUED, Abdelkader.** *Plantes médicinales d'Algérie*. Offices des publications universitaires, 2005.
21. **BELOUED, A.** (2001) *Plantes médicinales d'Algérie* .office des publication universitaires 5ed.alger . 284 p :184.
22. **BENABDE, K.** (2011). *Composition chimique et activité antioxydant et antimicrobien de huiles essentielles de quelques plantes de la famille des lamiaceae*. Mémoire de magister. (p.28). Laghouat- Alger ; université Amar Telidji- Laghouat faculté des science de l'ingénierat département de biologie.
23. **BENABDERRAHIM, Mohamed Ali, YAHIA, Yassine, BETTAIEB, Imen, et al.** Antioxidant activity and phenolic profile of a collection of medicinal plants from Tunisian arid and Saharan regions. *Industrial Crops and Products*, 2019, vol. 138, p. 111427.
24. **Borée, D.** (2012). *Atlas illustré des plantes médicinales et curatives*.
25. **BOUSSADIA, Nadjet, BOUZERDOUM, Youssra, et REZZAGUI, A.** Encadreur. *Effet antioxydant et hépatoprotecteur de Rosmarinus officinalis (revue systématique)*. 2020. Thèse de doctorat. Université de Jijel.
26. **Boussoussa H.,** 2016, *Étude phytochimique et activités biochimiques des extraits*

27. **BOUTEKEDJIRET, C., BENTAHAR, F., BELABBES, R., et al.** The essential oil from *Rosmarinus officinalis L.* in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 1998, vol. 10, no 6, p. 680-682.
28. **BOZIN B, MIMICA-DUKIC N, SAMOJLIK I, JOVIN E:** Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae*) essential oils. *J Agric Food Chem* 2007, 55:7879–7885.
29. **BRAND-WILLIAMS, Wendy, CUVELIER, Marie-Elisabeth, et BERSET, C. L. W. T.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 1995, vol. 28, no 1, p. 25-30.
30. **BRUNETON J., 1999 :** Pharmacognosie - Phytochimie - Plantes médicinales. Éd. Tec et Doc et EMI.
31. **BRUNETON J., 1993 :** pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. édition. technique et documentaire, 3eme édition. 484, 489, 548, 555, 634 p.
32. **CAILLET, Stéphane, YU, Hanling, LESSARD, Stéphan, et al.** Fenton reaction applied for screening natural antioxidants. *Food Chemistry*, 2007, vol. 100, no 2, p. 542-552.
33. **CHAN, E. W., KONG, Lei Quan, YEE, Kar Yen, et al.** Rosemary and sage outperformed six other culinary herbs in antioxidant and antibacterial properties. *Int J Biotechnol*, 2012, vol. 1, p. 143.
34. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind Crop Prod* 2013, 43:587–595.
35. Chemical composition and antioxidantantibacterial, allelopathic and insecticidal activities of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. *Ind. Crop Prod.* 77,631–639.
36. **COUIC-MARINIER, Françoise et LOBSTEIN, Annelise.** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 2013, vol. 52, no 525, p. 22-25.
37. **DJERROUMI, A ET NACEF , M.**(2004)100plantes médicinales d'Algérie. Homa.1ed. 158p :128.
38. **DJERROUMI, A. et NACEF, M.** 100 plantes médicinales d'Algérie. *Homa. 1ed. 158p*, 2004, vol. 128.
39. **DOMINGUEZ, Audrey.** *Histoires des noms des plantes: le Jardin médicinales d'Antoine Mizauld.* 2020. Thèse de doctorat. Université Grenoble Alpes [2020-....].
40. **EL HOUTI ,FATIHA** ,essentielle sur les huiles essentielles .,(2021) 19-40.
41. **EL KHARRAF, Sara, EL-GUENDOZ, Soukaina, FARAH, Abdellah, et al.** Hydrodistillation and simultaneous hydrodistillation-steam distillation of

- Rosmarinus officinalis and Origanum compactum: Antioxidant, anti-inflammatory, and antibacterial effect of the essential oils. *Industrial Crops and Products*, 2021, vol. 168, p. 113591.
42. **EL RHAFFARI ,L.** (2008).catalogue des plantes Potentielles pour la Conception de tisanes, l'organisation non gouvernementale Italienne :movimondo; 1ed. Maroc .14 p :6.
43. **El-Hassouni, Tahani, El-Bachiri, Mor. J. Chem.** 8 (2020) 866–875.
44. **EL-HASSOUNI, A., TAHANI, A., EL-BACHIRI, A., et al.** Altitude effect on the chemical composition and antioxidant activity of rosemary in the region of Talsint (Morocco). *Moroccan Journal of Chemistry*, 2020, vol. 8, no 4, p. 8-4 (2020) 866-875.
45. **EL-SAIED, Al-Baraa, KHAFAGI, O. A., MAREI, Abdo, et al.** Medicinal and economic plants in El-Menoufia Governorate, Egypt. *Egypt. J. Biomed. Sci*, 2018, vol. 52, p. 55-73.
46. **FAVIER, Alain.** Le stress oxydant. *L'actualité chimique*, 2003, vol. 108, no 10, p. 863-832.
47. **FRANKEL, E. N.** In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science & Technology*, 1993, vol. 4, no 7, p. 220-225.
48. **GOUDABLE, Joëlle et FAVIER, Alain.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 1997, vol. 11, no 2, p. 115-120.
49. **HALOUI, Mounsif, LOUEDEC, Liliane, MICHEL, Jean-Baptiste, et al.** Experimental diuretic effects of Rosmarinus officinalis and Centaurium erythraea. *Journal of ethnopharmacology*, 2000, vol. 71, no 3, p. 465-472.
50. **HAMEDO, Hend A. et ABDELMIGID, Hala M.** Use of antimicrobial and genotoxicity potentiality for evaluation of essential oils as food preservatives. *The Open Biotechnology Journal*, 2009, vol. 3, no 1.
51. **HENDEL, Noui, NAPOLI, Edoardo, SARRI, Madani, et al.** Essential oil from aerial parts of wild Algerian rosemary: Screening of chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 2019, vol. 22, no 1, p. 1-17.
52. **Horváthová E, Slameňová D, Navarová J:** Administration of rosemary essential oil enhances resistance of rat hepatocytes against DNAdamaging oxidative agents. *Food Chem* 2010, 123:151–156.
53. **Iserin ,P.** (2001).encyclopédie des plantes médicinales. Larousse ,2éd paris.335p :128-6.

54. **JAMALEDDINE, M., EL OUALIDI, J., TALEB, M. S., et al.** Inventaire et état de conservation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au Maroc. *Phytothérapie*, 2017, vol. 15, no 3, p. 114-122.
55. **GOUDABLE, Joëlle et FAVIER, Alain.** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. *Nutrition clinique et métabolisme*, 1997, vol. 11, no 2, p. 115-120.
56. **KOECHLIN-RAMONATXO, Christelle.** Oxygène, stress oxydant et suppléments antioxydants ou un aspect différent de la nutrition dans les maladies respiratoires. *Nutrition clinique et métabolisme*, 2006, vol. 20, no 4, p. 165-177.
57. **KRIMAT, S., METIDJI, H., TIGRINE, C., et al.** Analyse chimique, activités antioxydante, anti-inflammatoire et cytotoxique d'extrait hydrométhanolique d'*Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 2017, p. 1-8.
58. **Kurkin V. A.**, 2003 : Chem. Nat. Compd, 39,123.
59. **LAKEHAL, Samah, CHAOUIA, Cherifa, et BENREBIHA, Fatma Zohra.** Antibacterial and Antioxidant Activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Essential Oil Growing in Djelfa (Algeria). In : Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration. Springer, Cham, 2017. p. 1253-1254.
60. Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, 2013, 335p.
61. **LI, Shengyu, ZHAO, Yujuan, ZHANG, Li, et al.** Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods. *Food chemistry*, 2012, vol. 135, no 3, p. 1914-1919.
62. mass Spectroscopy. Allured, Carol Stream, IL, USA.
63. **MEJÍA, Luis C., ROSSMAN, Amy Y., CASTLEBURY, Lisa A., et al.** New species, phylogeny, host-associations and geographic distribution of genus *Cryptosporella* (Gnomoniaceae, Diaporthales). *Mycologia*, 2011, vol. 103, no 2, p. 379-399.
64. **MIMOUNA, BOUKHENISSA, ASMA DAHMANI HINDE MEBANI.** *Synthèse bibliographique sur les plantes médicinales à effets cardiovasculaire De la région de M'sila*. 2021. Thèse de doctorat. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA.
65. **MOHARRAM, F. A., MARZOUK, M. S. A., IBRAHIM, M. T., et al.** Antioxidant galloylated flavonol glycosides from *Calliandra haematocephala*. *Natural Product Research*, 2006, vol. 20, no 10, p. 927-934.

66. **MORAN, Louise K., GUTTERIDGE, John, et QUINLAN, Gregory J.** Thiols in cellular redox signalling and control. *Current medicinal chemistry*, 2001, vol. 8, no 7, p. 763-772.
67. **NOUI, Hendel.** Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary: Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. 2019.
68. numidicus and *Salvia officinalis* essential oils alone or in combination. *Ind. Crop Prod* 88, 112–119.
69. **OJEDA-SANA AM, VAN BAREN CM, ELECHOSA MA, JUAREZ MA, MORENO S:** New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components. *Food Control* 2013, 31:189–195.
70. **OUTALEB, Tidya, YEKKOUR, Amine, HAZZIT, Mohamed, et al.** Phytochemical profiling, antioxidant and antimicrobial effectiveness of *Rosmarinus tournefortii* De Noe extracts issued from different regions of Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 2020, vol. 32, no 3, p. 247-259.
71. phénoliques de l'espèce *Rhanterium adpressum*, Thèse de Doctorat, L'École Normale Supérieure de Kouba-Alger, 185p.
72. **PINCEMAIL, Joël, BONJEAN, Karine, CAYEUX, Karine, et al.** Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante. *Nutrition clinique et métabolisme*, 2002, vol. 16, no 4, p. 233-239.
73. **PRAJAPATI, Veena, TRIPATHI, A. K., AGGARWAL, K. K., et al.** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource technology*, 2005, vol. 96, no 16, p. 1749-1757.
74. **QUEZEL, Pierre et SANTA, Sébastien.** *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. 1963.
75. **RILI, Cylia, ISSAADI, O. Encadreur, et al.** Propriétés antioxydantes des extraits d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*). 2017.
76. **RILI, Cylia, ISSAADI, O. Encadreur, et al.** Propriétés antioxydantes des extraits d'une plante médicinale (*Rosmarinus officinalis*). 2017.
77. **ROMBI, Max et ROBERT, Dominique.** *120 plantes médicinales: composition, mode d'action et intérêt thérapeutique:... de l'ail à la vigne rouge*. Alpen, 2007.
78. **ROMBI, Max.** *100 plantes médicinales: composition, mode d'action et intérêt thérapeutique*. Romart, 1998.
79. **SCANLON, Bridget R., ZHANG, Zizhan, SAVE, Himanshu, et al.** Global models underestimate large decadal declining and rising water storage trends relative to

- GRACE satellite data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, vol. 115, no 6, p. E1080-E1089.
80. **SHAHIDI, F.** Antioxidants: Principles and applications. In : Handbook of antioxidants for food preservation. Woodhead Publishing, 2015. p. 1-14.
81. **TAMERT, A. et LATRECHE, A.** Activité antioxydante des extraits de six Lamiaceae aromatiques de l'Algérie occidentale. *Phytothérapie*, 2016, p. 1-8.
82. **TAVAFI, Majid et AHMADVAND, Hasan.** Effect of rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Tissue and Cell*, 2011, vol. 43, no 6, p. 392-397.
83. **Teixeira B, Marques A, Ramos C, Neng NR, Nogueira JMF, Saraiva JA, Nunes ML:**
84. **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.
85. **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.
86. **WILLIAMS, Michael, RASTETTER, E. B., FERNANDES, D. N., et al.** Modelling the soil-plant-atmosphere continuum in a *Quercus*–*Acer* stand at Harvard Forest: the regulation of stomatal conductance by light, nitrogen and soil/plant hydraulic properties. *Plant, Cell & Environment*, 1996, vol. 19, no 8, p. 911-927.
87. **YANG, Vina W. et CLAUSEN, Carol A.** Inhibitory effect of essential oils on decay fungi and mold growth on wood. In : *Proceedings, one hundred third annual meeting of the American Wood Protection Association... St. Louis, Missouri, May 6-8, 2007: volume 103. Birmingham, Ala.: American Wood Protection Association, c2007: pages 62-70.* 2007.
88. **ZAOUALI, Yosr, BOUZAINE, Taroub, et BOUSSAID, Mohamed.** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and chemical toxicology*, 2010, vol. 48, no 11, p. 3144-3152.