



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Et Sciences de la Terre et de l'Univers



DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

Laboratoire des produits naturels « LAPRONA »

MEMOIRE

Présenté par :

BENSABRI Sabrina et BENCHIRA Chaimaa

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Sciences Alimentaire

Option : Biologie de la nutrition

Thème

**L'Activité antimicrobienne des extraits de plante médicinale
*Rosmarinus officinalis***

Soutenu publiquement, le **29 / 06 / 2025**, devant le jury composé de :

Président	Mme BOUALI Wafaa	MCA	Université Tlemcen
Encadrant	Mme ZERHOUNI Khadidja	MCB	Université Tlemcen
Examineur	Mme ZENATI Fatima	MCB	Université Tlemcen

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

Nous remercions Allah, le Clément, le Miséricordieux qui nous a donné la patience, l'énergie et la volonté afin de finaliser ce travail.

*D'abord, nous tenons vivement à exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à notre encadreur **Dr Zerhouni Khadidja, Maître de conférences classe B** à la faculté des sciences de la nature et de la vie, science de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ainsi que pour sa grande patience et sa gentillesse jusqu'à la fin de ce mémoire.*

*Nous adressons notre sincère remerciement à **Dr BOUALI Wafaa, Maître de conférences classe A** à la faculté des sciences de la nature et de la vie, science de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen et **Dr ZENATI Fatima, Maître de conférences classe B** à la faculté des sciences de la nature et de la vie, science de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid -Tlemcen qui ont fait l'honneur d'être dans les jurys de notre soutenance.*

Nous adressons nos remerciements également à tous notre enseignants, pour les informations et les aides au cours des années de nos études.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin, qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout, je remercie Allah qui m'a éclairé mon chemin et d'aboutir au moment que j'ai l'attendu

Je dédie mon modeste travail :

*À mes très chers parents : Maman **Nadjah** et Papa **Abdallah** qui ont fait le possible pour moi,*

Surtout Maman qui a été toujours avec moi, qui a souffrant durant toutes mes années

D'études, franchement je ne peux pas exprimer autour de tous ce qui m'ont fait dès mon

Enfance jusqu'à ce moment.

*À mes chères sœurs : **Charifa, Nariman***

À toute ma famille qui a toujours participé à me donner du courage et de la volonté.

À tous les enseignants qui ont contribués à ma formation

À tous mes amies et collègues et tous les assistants qui me connaissent.

sabrina

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Allah, Le Très-Haut, pour Sa lumière, Sa patience et Sa miséricorde qui m'ont guidée tout au long de ce chemin.

Je dédie ce mémoire à ma mère bien-aimée **zahera** :

Qui vit à jamais dans mon cœur. Que Dieu l'accueille en Son vaste paradis et lui accorde Sa paix éternelle.

Que Dieu, dans Son infinie miséricorde, accueille-en Son vaste paradis.

Ton absence est une douleur profonde, mais ton amour reste gravé en moi,

Comme une lumière douce qui éclaire chacun de mes pas.

Ce mémoire est dédié à ton âme pure,

Toi qui as semé en moi la force, la foi et la persévérance.

Ton amour, ton courage et ta tendresse demeurent à jamais vivants dans mon cœur.

*À mon père **Abed karim** : dont le soutien, les sacrifices et les prières silencieuses ont été ma force dans les moments difficiles. À mon frère **walide**, compagnon fidèle de tous les instants, merci pour ta présence rassurante et ton encouragement constant. À tout ma famille, merci de croire en moi , ce travail est aussi le vôtre.*

chaimaa

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للميكروبات للزيت العطري المستخرج من النبات الطبي *Rosmarinus officinalis*، المعروف في الطب التقليدي بخصائصه المضادة للعدوى. والهدف من ذلك هو تبسيط استخدامه بشكل أفضل واعتباره بديلاً محتملاً للمضادات الحيوية، لا سيما في سياق يتسم بالظهور المتزايد للسلاسل الميكروبية متعددة المقاومة والحاجة إلى إعادة التفكير في استراتيجيات العلاج بالمضادات الحيوية.

النبات لهذا العطري الزيت على الحصول يتم، والذي أظهر إنتاجية قدرها 0.73 مل/جم، عن طريق التقطير المائي وتم اختباره على 6 سلالات بكتيرية مسببة للأمراض *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus* , *Bacillus subtilis* , *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* وفطريين خيطيين (*Aspergillus fumigatus*)، بالإضافة إلى ثلاث سلالات من الخمائر من نوع *Candida albicans*، بتقنية الرسم العطري للحالة الصلبة أظهر الزيت العطري خصائص مضادة للميكروبات مثيرة للاهتمام ضد جميع الكائنات الحية التي تم اختبارها بواسطة الأجسام الدقيقة بأقطار تتراوح بين 15 و 28 ملم للبكتيريا، مع قيم CMI تشير إلى فعاليته بين 0.25 و 1 بالمئة، وأقطار من 10 إلى 32 للفطريات.

تعزز هذه النتائج إمكانات الزيوت العطرية لـ *Rosmarinus officinalis* كبديل طبيعي واعد لمكافحة الكائنات الحية الدقيقة المختلفة بشكل فعال.

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinus officinalis* ، النشاط المضاد للميكروبات، CMI ، الزيت العطري

Résumé

Cette étude vise à évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis*, reconnue en médecine traditionnelle pour ses propriétés anti-infectieuses. L'objectif est de mieux rationaliser son utilisation et de l'envisager comme une alternative potentielle aux antibiotiques, notamment dans un contexte marqué par l'émergence croissante de souches microbiennes multirésistantes et la nécessité de repenser les stratégies d'antibiothérapie.

L'huile essentielle extraite de la plante de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la région Honaine (Tlemcen, Algérie) a montré un rendement de 0,73 ml/g obtenu par hydrodistillation, a été testé sur six souches bactériennes pathogènes : *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, deux champignons filamenteux (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*), et sur les trois levures de *Candida albicans*, par la technique d'aromatogramme en milieu solide. L'huile essentielle a montré des propriétés antimicrobiennes intéressantes contre l'ensemble des Micro-organismes testés avec des diamètres compris entre 15 et 28 mm pour les bactéries, avec des valeurs de CMI révélatrices de son efficacité comprises entre 0,25 et 1%, et des diamètres de 10 à 32 pour les champignons.

Ces résultats renforcent le potentiel des huiles essentielles de *R. officinalis* en tant qu'alternative naturelle prometteuse pour lutter efficacement contre divers micro-organismes.

Mots Clés : *Rosmarinus officinalis*, Activité antimicrobienne, CMI, L'huile essentielle.

Abstract

This study aims to evaluate the antimicrobial activity of the essential oil extracted from the medicinal plant *Rosmarinus officinalis*, recognized in traditional medicine for its anti-infectious properties. The objective is to better streamline its use and consider it as a potential alternative to antibiotics, particularly in a context marked by the growing emergence of multi-resistant microbial strains and the need to rethink antibiotic therapy strategies.

The essential oil extracted from the *Rosmarinus officinalis* plant harvested in the Honaine region (Tlemcen, Algeria), which showed a yield of 0.73 ml/g is obtained by hydrodistillation, was tested on 6 pathogenic bacterial strains: *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, 2 filamentous fungi (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*), and on the three yeasts of *Candida albicans*, by the solid-state aromatogram technique. The essential oil showed interesting antimicrobial properties against all of the tested microorganisms with diameters between 15 and 28 mm for the bacteria, with CMI values indicative of its effectiveness ranging between 0, 25 and 1%, and diameters from 10 to 32 for fungi.

These results reinforce the potential of *R. officinalis* essential oils as a promising natural alternative to effectively combat various microorganisms.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, Antimicrobial activity, MIC, Essential oil

Liste des figures

Figure 1: Aspects morphologiques du <i>Rosmarinus officinal</i>	6
Figure 2: Fleurs et feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
Figure 3: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.	13
Figure 4: Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau	14
Figure 5: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	16
Figure 6: Méthode de la diffusion en disque	19
Figure 7: détermination de la CMI par macrodilution.....	20
Figure 8: détermination de la CMI par microdilution.....	20
Figure 9: <i>Rosmarinus officinalis</i>	23
Figure 10: situation géographique de la zone d'étude.	24
Figure 11: Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger et flacon de l'huile de <i>Rosmarinus officinalis</i>	26
Figure 12: Préparation de l'inoculum	28
Figure 13: Protocole d'aromatogramme	28
Figure 14: Préparation des dilutions des huiles essentielles	30
Figure 15: Préparation de la microplaque.....	30
Figure 16: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Escherichia coli</i>	36
Figure 17: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Bacillus subtilis</i>	36
Figure 18: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i>	36
Figure 19: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Bacillus cereus</i>	37
Figure 20: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	37

Figure 21: Présentation des résultats de la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices	39
Figure 22: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Candida albicans</i>	41
Figure 23: Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>Aspergillus fumigatus</i>	41

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition nutritionnelle et chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	9
Tableau 2: Différentes chémotypes de <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
Tableau 3: les appareils de laboratoire utilisés	24
Tableau 4: Milieux de culture utilisés.....	25
Tableau 5: Souches bactériennes et fongiques utilisées dans l'activité antimicrobienne.....	25
Tableau 6: Rendement en HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
Tableau 7: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition * (D).....	34
Tableau 8: Résultat de l'effet antimicrobien d'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les souches	35
Tableau 9: Présentation des résultats de la détermination des Concentrations Minimales.....	39
Tableau 10: Résultat de l'effet antifongique d'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les souches	40

Liste des abréviations

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

HE : Huile essentielle.

% : Pourcentage.

° C : Degré Celsius.

± : plus ou moins.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

µg : Micro gramme.

CMB : Concentration Minimal Bactéricide.

D : Diamètre.

H : Heure.

g : Gramme.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

UFC : Unité formant colonie

Table des matières

Introduction	1
Partie Bibliographique	3
Chapitre I : Généralité sur la <i>Rosmarinus officinal</i>	4
I.1 Historique	4
I.2 Noms vernaculaires	4
I.3 Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
I.4 Classification	5
I.5 Caractéristiques botaniques de <i>Rosmarinus officinal</i>	6
I.6 Utilisation du romarin.....	6
I.6.1 Propriétés du Romarin :	7
I.6.2 Toxicité du romarin.....	8
I.6.3 Applications nutritionnelles	8
I.7 Les huiles essentielles :.....	9
I.7.1 Définition des huiles essentielles :.....	9
I.7.2 Composition chimique des huiles essentielles :.....	9
I.7.3 Utilisation de l'huile essentielle :.....	10
I.7.4 Composition biochimique du romarin	10
I.7.5 Classification des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	11
I.7.6 Les types des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
I.8 Les méthodes d'extraction des huiles essentielles :.....	13
I.8.1 Extraction par Hydrodistillation :	13
I.8.2 Entraînement par la vapeur d'eau :	14
I.8.3 Hydrodiffusion :.....	14
I.8.4 L'extraction par solvants :.....	15
I.9 Conservation des huiles essentielles.....	15

Chapitre II : Activité antimicrobienne	16
II.1 Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles :.....	16
II.1.1 Mode d'action antibactérien :	16
II.1.2 Mode d'action antifongique :.....	17
II.2 Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne :.....	17
II.2.1 Méthode de diffusion sur disque.....	18
II.2.2 Méthode de dilution	19
Matériel et méthodes :	23
I. Matériel utilisé.....	23
I.1 Matériel végétal	23
I.1.2 Présentation de la région d'étude :	23
I.2 Matériel au laboratoire.....	24
I.3 Méthode d'extraction des huiles essentielles :	26
I.4 Préparation de l'inoculum :	27
I.5 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide :	28
I.6 Détermination de la « CMI ».....	29
I.6.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI ».....	29
I.6.2 CMI par microdilution en milieu liquide d'antibiotique	31
Résultats et discussion	32
I. Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
I.1 Rendement en huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
II. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	34
II.1 Etude de l'activité antibactérienne :	34
II.2 Détermination des Concentrations Minimale Inhibitrice :	38
III. Etude de l'activité antifongique :	40
Conclusion	42
Référence bibliographiques.....	45

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales et aromatiques Utilisé par les humains depuis les temps anciens. De nos jours, leur utilisation a une croissance significative dans l'industrie Parfums, cosmétiques et médicinale (**Mouas *et al.*, 2017**).

Les plantes médicinales jouent un rôle important dans la nutrition en agissant comme des traitements alternatifs pour les maladies chroniques telles que l'obésité, le diabète de type 2 et l'hypertension. Ils perfectionnent les habitudes alimentaires et procurent des bénéfices nutritionnels, mettant en exergue leur rôle crucial dans la gestion de la santé et l'évitement des maladies (**Nascimento *et al.*, 2024**).

Les huiles essentielles issues des plantes présentent des propriétés antimicrobiennes grâce à leur richesse en composés chimiques actifs, capables d'inhiber la croissance des micro-organismes dans les aliments, ce qui renforce la sécurité alimentaire. Toutefois, leur utilisation reste limitée en raison de leur faible solubilité dans l'eau et de leur instabilité. (**Moccia *et al.*, 2023**).

Dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales algériennes, et en raison des nombreuses propriétés thérapeutiques des Lamiacées (ou Labiées), notre intérêt s'est porté sur l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Cette plante a été récoltée à Ouled Youcef, un village relevant de la commune de Honaïne, dans la wilaya de Tlemcen. Originaire des régions méditerranéennes, *le romarin (Rosmarinus officinalis)* pousse à l'état sauvage en Algérie. Il est largement reconnu pour ses usages en cuisine, ainsi que pour ses vertus médicinales, notamment son activité antimicrobienne. Il est d'ailleurs inscrit dans la pharmacopée officielle de plusieurs pays. (**Hendel *et al.*, 2019**).

L'huile essentielle extraite de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* en tant qu'agent antimicrobiens représente une piste prometteuse dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques. En effet l'objectif de notre travail est de découvrir des alternatives naturelles, efficaces et durables face aux limites actuelles des antibiotiques, tout en valorisant la pharmacopée traditionnelle.

Notre étude sera répartie en trois parties, initiés par une recherche bibliographique où nous apporterons dans **le premier chapitre** une généralité sur la *Rosmarinus officinalis*.

Dans **le deuxième chapitre** l'activité antimicrobienne.

Introduction

La deuxième partie présentera les matériels et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir

- ✓ L'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
- ✓ L'effet antimicrobien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* par la méthode d'aromatogramme pour déterminer la sensibilité, et la méthode de microdilution pour déterminer la CMI

La dernière partie abordera les différents résultats et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale

Partie Bibliographique

Chapitre I : Généralité sur la *Rosmarinus officinal*

I.1 Historique

L'utilisation du *Rosmarinus officinal* est aussi ancienne que l'histoire de l'humanité. Durant la première dynastie pharaonique de l'Égypte, le romarin était déposé dans les tombeaux des pharaons afin de les parfumer. De plus, ils utilisent des crèmes et des huiles à base de romarin pour prévenir la température élevée et la chaleur du désert (**Borges et al., 2019**). En 220 av. J.-C., le romarin fut introduit en Chine pour ses vertus revigorantes et sa capacité à tonifier un corps fatigué, il était également utilisé en aromathérapie pour parfumer les chambres et servait d'insecticide naturel (**González-Minero et al., 2020**).

Le romarin a occupé une place essentielle dans l'histoire de la médecine et de la cosmétique. Introduit en Grande-Bretagne par les Romains pour ses effets bénéfiques sur la circulation sanguine. Il a également marqué l'univers de la parfumerie grâce à l'extraction de son huile essentielle par Ramon Llull en 1330. Son influence s'accrut au XVI^e siècle lorsque la reine Isabelle de Hongrie l'adopta sous forme d'infusion pour traiter son rhumatisme (**Ambrose et al., 2016; Muñoz-Centeno, 2002**).

Le *Rosmarinus officinal* a joué un rôle notable lors de la grande peste de Londres en 1665, provoquée par *Yersinia pestis*, ses vapeurs étaient inhalées lors des déplacements dans les zones contaminées. Pendant la Seconde Guerre mondiale, en France, un mélange de feuilles de romarin et de baies de genévrier était brûlé dans les hôpitaux afin d'éliminer les germes (**Schiller et Schiller, 2008**). Enfin, il est important de souligner que le romarin est aujourd'hui l'une des plantes les plus utilisées en médecine pour ses propriétés antispasmodiques, diurétiques, antiépileptiques et antirhumatismales. Il est également employé dans le traitement du diabète, de la dysménorrhée, des maladies cardiaques et pour soulager les troubles respiratoires (**Elansary et al., 2020**).

I.2 Noms vernaculaires

Le romarin, connu scientifiquement sous le nom de *Rosmarinus officinalis*, il est également désigné par d'autres appellations communes telles que "rose marine" ou "encensier". Sur le plan vernaculaire, cette plante porte différents noms selon les régions et les traditions : *Iklil al jabal*, *Klil*, *Hatssalouban*, *Hassalban*, *Lazir*, *Azïir*, *Ouzbir*, *Aklel* ou encore *Touzala*. En Algérie, le

romarin est désigné selon les régions par des appellations spécifiques : *Eklil* dans l'Est, *Helhal* dans l'Ouest, et *Yazir* dans le Centre du pays. Ces multiples dénominations témoignent de l'importance culturelle et médicinale de cette plante dans les sociétés méditerranéennes (**Fedjeret al., 2022**).

I.3 Présentation de *Rosmarinus officinalis*

Le *Rosmarinus officinalis*, plus connu sous le nom de romarin, est une plante vivace ligneuse de la famille des Lamiacées. Originaire du bassin méditerranéen et aujourd'hui cultivé dans le monde entier, le romarin se distingue par ses feuilles persistantes, aromatiques et en forme d'aiguilles, ainsi que par ses fleurs aux teintes variées blanches, roses, violettes ou bleues. (**Begum et al., 2013**), reconnue comme plante médicinale, elle renferme de nombreux phytoconstitués, des molécules bioactives qui lui confèrent des propriétés pharmacologiques notables, telles que des effets anti-inflammatoires, antioxydants, antimicrobiens et antitumoraux (**Oliveira et al., 2019**).

I.4 Classification

- Phylum végétal : Phylum des plantes à graines
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous-classe : Gamopétales
- Commande : Tubi Floral
- Sous-ordre : Labiatae
- Famille : Lamiacées
- Genre : Romarin
- Espèce : *Rosmarinus officinalis* (**Hoefler, 1994**).

I.5 Caractéristiques botaniques de *Rosmarinus officinal*

Le *Rosmarinus officinal* est un arbrisseau facilement identifiable grâce à son parfum caractéristique. Avec une hauteur de deux mètres d'environ. Sa racine est pivotante et profondément ancrée dans le sol. Sa tige, anguleuse et fragile, présente une forme tortueuse. Ses feuilles coriaces sont sessiles, opposées, rigides et brillantes, avec des bords enroulés. Elles sont vertes sur la face supérieure et blanchâtres, légèrement hérissées sur la face inférieure. Ses fleurs bleues, qui s'épanouissent tout au long de l'année, attirent de nombreux insectes. Son fruit est une petite baie ovale, sèche et lisse (Damerdji, 2012 ; Hanine *et al.*, 2023 ; Leplat, 2017). Une branche de romarin est illustrée dans la **Figure 1** et **Figure 2**.



Figure 1:Aspects morphologiques du *Rosmarinus officinal* (Quezel et Santa, 1963)



Figure 2:Fleurs et feuilles de *Rosmarinus officinalis* (Leplat, 2017).

I.6 Utilisation du romarin

Le *Rosmarinus officinal* est couramment employé en médecine traditionnelle et moderne pour traiter diverses affections. Il est notamment utilisé comme antispasmodique, antirhumatismal, diurétique et antiépileptique. Il intervient également dans le traitement de la colique néphrétique, du diabète, de la dysménorrhée, des maladies cardiaques et des troubles respiratoires. En outre, il possède des propriétés analgésiques permettant de soulager les douleurs abdominales, les maux d'estomac et les irritations de la gorge. Il est aussi reconnu comme un tonique bénéfique pour la mémoire, en particulier en cas d'efforts physiques ou mentaux intenses. Par ailleurs, le romarin est utilisé comme insecticide et herbicide, en plus de nombreuses autres applications rapportées (Karadag *et al.*, 2019). En gastronomie, le romarin est un condiment largement employé dans le

bassin méditerranéen et en Angleterre pour parfumer les viandes, les poissons et les légumes. On trouve également un miel issu exclusivement du nectar de ses fleurs, connu sous le nom de miel de romarin. Ce miel, au parfum intense, se distingue par sa saveur aromatique, pouvant même remplacer la vanille dans la préparation des gâteaux (**Fedjer et al., 2022**). En cosmétique, l'huile de romarin est utilisée depuis des siècles comme ingrédient dans les produits de beauté et les savons. Elle est également reconnue pour stimuler la croissance des cheveux, et son huile essentielle est fréquemment intégrée dans la composition de nombreux parfums (**Arnold et al., 1997**).

I.6.1 Propriétés du Romarin

1) Avantages pharmacologiques

L'utilisation du *Rosmarinus officinalis* souligne son vaste potentiel pharmacologique grâce à un profil riche en composés bioactifs, tels que l'acide carnosique, le carnosol et l'acide rosmarinique. Des données expérimentales appuient les propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes importantes du romarin, essentielles pour diminuer le stress oxydatif et les réactions inflammatoires liées à des pathologies chroniques comme les affections neurodégénératives, les maladies cardiovasculaires et le cancer (**Benyaich et Aksissou, 2024**).

- **Effets anti-inflammatoires** : Le *Rosmarinus officinalis* est riche en polyphénols importants, y compris les acides phénoliques, les diterpènes et les flavonoïdes. Ces composés possèdent des qualités anti-inflammatoires et antibactériennes, favorisent le fonctionnement de la barrière intestinale et régulent la flore intestinale, ce qui pourrait diminuer l'inflammation dans l'intestin et réduire le danger de maladies inflammatoires intestinales (**Zhang et Lü, 2024**).
- **Effets antioxydants** : L'oxydation des lipides représente un enjeu de santé important, car elle conduit à la formation de composés nocifs impliqués dans le stress oxydatif, un facteur associé à de nombreuses maladies. Limiter ce processus est donc crucial pour préserver la qualité des aliments et réduire les risques liés au stress oxydatif (**Shahidi et Zhong, 2011**). Les extraits et huiles essentielles de romarin, riches en composés antioxydants, se révèlent efficaces pour freiner l'oxydation des lipides, aussi bien dans les systèmes biologiques que dans les produits alimentaires (**Senanayake, 2018**).

Toutefois, il est crucial de prendre en compte que l'activité antioxydante et antimicrobienne du romarin est influencée par le stade de fructification, le type d'extraits, la méthode d'extraction, la

présence d'un inhibiteur, l'éventualité d'un effet synergique avec d'autres éléments, et la concentration des composés actifs des extraits (Nieto *et al.*, 2018) .

I.6.2 Toxicité du romarin

Le romarin peut devenir très toxique si consommé en doses non conseillées.

Il est recommandé de ne pas l'utiliser pendant la grossesse et l'allaitement. Il est aussi recommandé d'éviter l'usage pour les individus souffrant d'hypertension, d'insomnie ou d'épilepsie. Il peut déclencher diverses réactions allergiques, comme des irritations cutanées, des troubles de l'estomac et de l'intestin (Meziane, 2014).L'huile essentielle de romarin peut provoquer des crises convulsives et épileptiques (Harrane, 2012).

I.6.3 Applications nutritionnelles

- 1) **Nutrition animale** : Des études ont montré que l'ajout la poudre de romarin avec un pourcentage de 0,5 et 2% dans le régime alimentaire des volailles stimule la croissance et améliore leur santé digestive et rehausse la qualité de leur chair renforce leurs capacités antioxydantes, tout en favorisant une flore intestinale saine (Wang *et al.*, 2024).
- 2) **Additif alimentaire** : On ajoute des extraits de romarin à différents produits alimentaires, y compris les huiles, les boissons et les viandes, afin d'optimiser leur longévité et leur qualité nutritionnelle (Vardanyan *et al.*, 2025).
- 3) **Microencapsulation** : Afin de maintenir leurs caractéristiques antioxydantes, les extraits de romarin sont microencapsulés pour leur utilisation dans des produits laitiers comme le fromage cottage, garantissant ainsi leur bioactivité pendant la période de conservation (Ribeiro *et al.*, 2016).

Les Composition nutritionnelle et chimique de *Rosmarinus officinalis* est present dans le **Tableau1**.

Tableau 1:Composition nutritionnelle et chimique de *Rosmarinus officinalis* (Benyaich et Aksissou, 2024).

Classification	Composant
Macronutriments	Glucides, Fibres alimentaires, Lipides (Graisse), Protéines, Eau
Acides gras	saturés, monoinsaturés, polyinsaturés
Vitamines	AcideAscorbique, Folate, Niacine, Riboflavine, Thiamine, Vitamine A, Vitamine B12, Vitamine B6, Vitamine D (D2 + D3), Vitamine E
Huiles essentielles	1,8 Cinéole, 3-Carène, α -Pinène, α -Thuyène, β -Pinène, Borneol, Camphène, Campholénal, Camphre, Iso-Pinocamphone, Limonène, Linalol, Myrcène, Myrtenol, p-Cymène, Terpinéol, Vérbenone
Minéraux	Aluminium, Arsenic, Baryum, Bismuth, Bore, Cadmium, Calcium, Chrome, Cobalt, Cuivre, Fer, Plomb, Lithium, Magnésium, Manganèse, Nickel, Phosphore, Potassium, Sélénium, Argent, Sodium, Strontium, Titane, Vanadium, Zinc

I.7 Les huiles essentielles

I.7.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques (Damtie, 2023). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles sont très utilisées dans l'industrie des produits cosmétiques, pharmaceutiques et agro-alimentaire. Les huiles essentielles localisent dans des diverses parties de la plante aromatique : les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines espèces, même dans les racines. Plus de 2000 variétés de plantes sont gorgées d'huiles essentielles ; elles se répartissent sur 60 familles (Madjour, 2014).

I.7.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont produites par diverses structures différenciées des plantes, dont le nombre et les caractéristiques varient selon les espèces. Elles sont généralement localisées dans le cytoplasme de certaines cellules sécrétrices végétales, présentes dans un ou plusieurs organes de la plante, notamment les poils ou trichomes sécréteurs, les cellules épidermiques, les cellules

sécrétoires internes ainsi que les poches sécrétoires. Ces huiles se présentent sous forme de mélanges complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents (Sell et Sell, 2006).

Elles sont principalement constituées de composés organiques. Les composés organiques volatils sont des substances chimiques à faible poids moléculaire, caractérisées par une faible solubilité dans l'eau et une pression de vapeur élevée. Ils sont produits notamment par certaines bactéries (Herrera-Cabrera *et al.*, 2024).

Les constituants volatils des huiles essentielles appartiennent à diverses classes chimiques, notamment : Alcools (ex. : géraniol, linalool), Éthers ou oxydes, Aldéhydes (ex. : citronellal, sinensal), Cétones (ex. : menthone, p-vétivone), Esters (ex. : acétate de γ -tépinyne, acétate de cédryle), Amines et amides, Phénols (ex. : thymol), Composés hétérocycliques, et surtout les terpènes, qui représentent la majorité des constituants. Les alcools, aldéhydes et cétones sont particulièrement intéressants pour leur diversité aromatique : Notes fruitées (ex. : (E)-nérolidol), Notes florales (ex. : linalool), Notes agrumes (ex. : limonène), Notes herbacées (ex. : γ -sélinène) (Dhifi *et al.*, 2016).

I.7.3 Utilisation de l'huile essentielle

Les huiles essentielles peuvent être employées :

- en traitement médical ;
- en création de parfums ;
- dans la fabrication de liqueurs ;
- en soins esthétiques et cosmétiques ;
- pour l'hygiène (comme pour la désinfection des espaces) ;
- en gastronomie (pour donner du goût à certains mets) (Lardry, 2007).

I.7.4 Composition biochimique du romarin

Le *Rosmarinus*. *O* contient une variété d'ingrédients actifs, notamment des huiles essentielles, Flavonoïdes, diterpènes, triterpènes et stéroïdes, tanins, lipides, rosmarinine, acides rosmarin (Harrane, 2012).

Les principaux composants de l'huile essentielle de romarin sont les suivants :

- Huile essentielle : 1,8-cinéole, α -pinène, camphre ;

- Acides phénoliques : acides caféique, rosmarinique et chlorogénique ;
- Diterpènes phénoliques : acide carnosolique et carnosol ; Tanins ;
- Triterpènes et stéroïdes : acides oléanolique et ursolique ;
- Flavonoïdes : glucosides de flavones simples (**Brunton, 1999**).

I.7.5 Classification des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

En fonction de l'action spécifique des huiles essentielles sur les micro-organismes et à travers l'indice aromatique dérivé des aromatogrammes, les huiles essentielles sont organisées en catégories.

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (**Abdessultane, 2017**).

I.7.6 Les types des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

On distingue trois sortes d'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, qui diffèrent en fonction de leur provenance géographique et de leur composition chimique (**Tableau 2**). On les appelle en fonction du principe actif qui prédomine (**Boudjebir, 2017**).

Tableau 2: Différentes chémotypes de *Rosmarinus officinalis* (**Boudjebir, 2017**).

	Origine	Principes actifs	Propriétés
<i>Rosmarinus officinalis</i> à cinéol	Maroc, organe distillé : rameaux.	Oxydes : 1,8 cinéole (60%) cétones : Camphre (10%).	Mucolytique, expectorante, anticatarrhale Anti-infectieuse Respiratoire et fongicide
<i>Rosmarinus officinalis</i> à verbenone	France, organe distillé : rameaux.	Cétones : Verbénone (30%) Camphre (7%) Oxydes : 1,8 cinéole (20%) /esters acétate de bronyle.	Régulatrice hépatique, cholérétique, cholagogue Mucolytique, expectorante Tonique générale
<i>Rosmarinus officinalis</i> à camphre	France (Midi) organe distillé : rameaux.	Cétones : Camphre (30%) Oxydes : 1,8 cinéole (30%) Monoterpène (40%) : α et β - pinène.	Décontractant musculaire Cardiotonique (à faible dose) Emménagogue Cholérétique et cholagogue Mucolytique

I.8 Les méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les méthodes d'extraction des huiles essentielles varient considérablement, chacune présentant des avantages et des inconvénients distincts qui influent sur le rendement et la qualité. Les techniques traditionnelles telles que la distillation à la vapeur et l'hydrodistillation dominent l'industrie, représentant environ 93 % de la production d'huiles essentielles. Parmi les principales méthodes d'extraction :

I.8.1 Extraction par Hydrodistillation

D'après l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et la pharmacopée européenne, l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de sa qualité sont idéalement réalisés par hydrodistillation (Selles, 2012).

Elle implique l'immersion directe de la matière végétale à traiter (entière ou éventuellement réduite en morceaux) dans un alambic rempli d'eau, qui est par la suite porté à ébullition. Sur une surface froide, les vapeurs hétérogènes sont condensées et l'huile essentielle est séparée grâce à la différence de densité (Figure 3) (Bruneton, 2009).



- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1:supporte | 7:entré et sortie d'eau |
| 2:alimentation électrique | 8:condenseur,réfrigérant droit |
| 3:chaffe ballon électrique | 9:eau |
| 4:thermomètre | 10:huile essentielle (essence) |
| 5:ballon à fond rond | 11:distillat |
| 6:matière à distiller | 12:tube gradué |

Figure 3: Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Naab et hadibi, 2018).

I.8.2 Entraînement par la vapeur d'eau

C'est la méthode la plus ancienne et la plus adaptée pour obtenir l'essence des plantes. C'est également la seule technique de distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle réduit au minimum les transformations d'hydrolyse (notamment celles des esters). Le distillateur, aussi appelé distillateur à vapeur, sert à l'extraction quantitative et qualitative des huiles essentielles. L'ancien distillateur ne séparait pas les plantes de l'eau, ce qui entraînait une cuisson des plantes et la production d'huiles essentielles à l'arôme « brûlé ». Dans les distillateurs modernes, l'eau et les plantes aromatiques sont soit disposées dans une même cuve avec une grille de séparation, soit placées dans deux cuves distinctes (**Figure 4**) (**Bouguerraet al., 2021**).

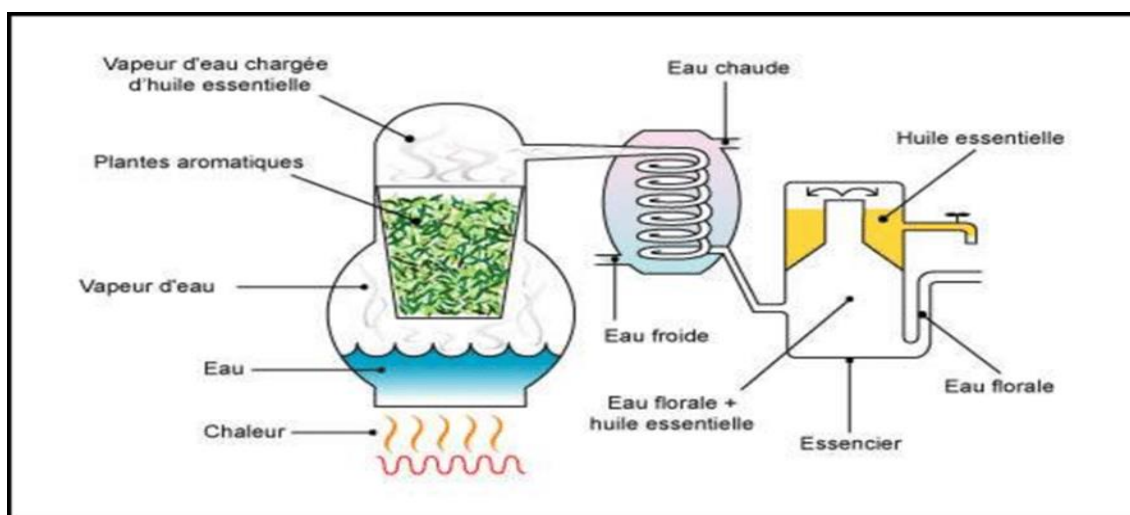


Figure 4: Montage de l'entraînement à la vapeur d'eau (**Goudjil, 2016**).

I.8.3 Hydrodiffusion

L'hydrodiffusion fait référence au processus de passage d'un courant de vapeur d'eau à très basse pression à travers la masse végétale. La composition des produits obtenus présente une différence significative au niveau qualitatif par rapport à celle des produits issus des méthodes antérieures. Autrefois, l'enfleurage était employé par l'industrie du parfum pour les parties délicates comme les fleurs. Il s'agit d'un procédé où un corps gras est en contact avec les fleurs afin de se saturer en essence. L'alcool pur épuise le corps gras, et ce dernier est évaporé sous vide à une température de 0°C (**Benyadah, 2008**).

I.8.4 L'extraction par solvants

Cette méthode est employée pour les végétaux délicats qui sont immergés dans un mélange chimique favorisant la dissolution des composés aromatiques. Suite à la séparation du solvant par distillation, le produit doit être dissous dans de l'alcool (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

I.9 Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles présentent une stabilité limitée, ce qui complique leur stockage. L'encapsulation est une technique mise en œuvre pour les préserver des conditions adverses, optimisant leur rendement et leur sûreté en tant qu'additifs alimentaires naturels, tout en préservant leurs caractéristiques antioxydantes et antibactériennes pour la conservation des denrées alimentaires (**Frederico et al., 2023**).

Chapitre II : Activité antimicrobienne

II.1 Mécanisme d'action antimicrobienne des huiles essentielles :

II.1.1 Mode d'action antibactérien

L'utilisation de produits actifs d'origine végétale a suscité un intérêt accru en raison non seulement de la résistance des microorganismes pathogènes aux antibiotiques classiques, mais également de leur composition naturel et biologique. Généralement la présence de composés actifs dans les huiles essentielles tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes, l'alcool, les hydrocarbures et les phénols est connue par son rôle d'exercer ces propriétés antibactériennes (Goetz et Ghedira, 2012).

1) Sites d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles sur les bactéries est complexe et encore mal connu. En raison de la diversité de leurs composants, leur effet antimicrobien résulte probablement de plusieurs mécanismes agissant sur différentes cibles cellulaires. Leur activité repose notamment sur la nature hydrophobe de leurs composés actifs, qui perturbent la membrane bactérienne, affectant le transport ionique, la production d'énergie, et pouvant inhiber la synthèse de l'ADN et l'ARN par la suite la synthèse des protéines et des polysaccharides (Figure 5) (Trombetta *et al.*, 2005).

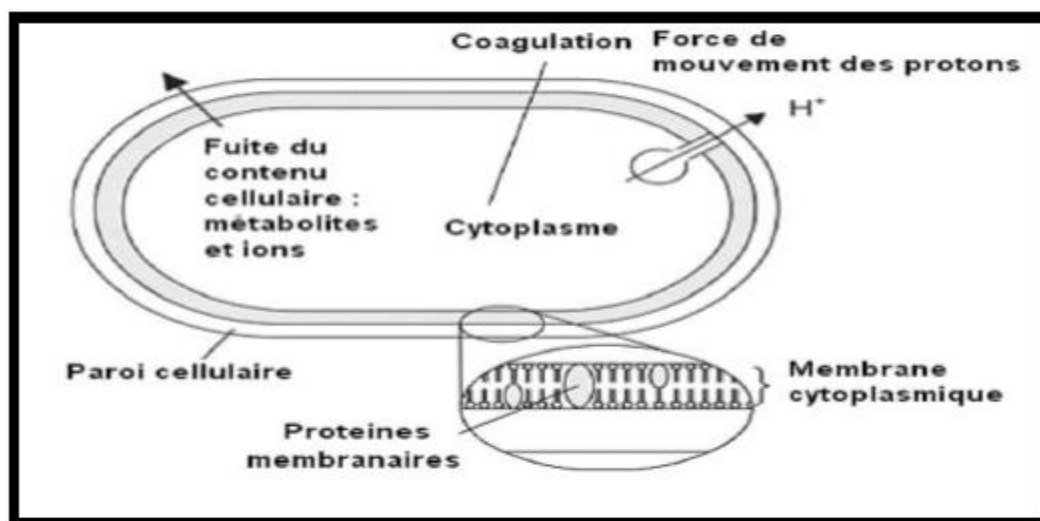


Figure 5: Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Goetz et Ghedira, 2012).

2) Mécanismes d'action de certains composants des huiles essentielles

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est liée à leur composition chimique, notamment aux groupements fonctionnels des composés majoritaires. Certains composants clés, comme le carvacrol et le thymol, altèrent les membranes des bactéries à Gram négatif, perturbant leur structure et provoquant des fuites intracellulaires (**Dorman et Deans, 2000 ; Ultee *et al.*, 2002**).

D'autres composés, tels que les alcools et aldéhydes, agissent respectivement en dénaturant les protéines ou en interférant avec des biomolécules essentielles, affectant ainsi le fonctionnement global de la cellule bactérienne (**Goetz et Ghedira, 2012**).

II.1.2 Mode d'action antifongique

Les huiles essentielles exercent une action antifongique en perturbant plusieurs fonctions vitales des champignons. Elles peuvent interférer avec la respiration cellulaire des levures et champignons filamenteux (**Cox *et al.*, 2000 ; Hyldgaard *et al.*, 2012**) et inhiber certaines enzymes impliquées dans la production d'énergie ou la synthèse des structures cellulaires (**Burt, 2004**).

Des observations microscopiques ont révélé des altérations importantes dans les cellules de *Candida*, telles qu'une désorganisation interne, une augmentation des vésicules et des anomalies dans la division cellulaire (**Saada *et al.*, 2024**).

Chez les champignons filamenteux, les huiles essentielles provoquent des changements morphologiques visibles, affectent la formation des hyphes et ciblent principalement la paroi ainsi que les membranes cellulaires et nucléaires. Cela se traduit notamment par une diminution de la sporulation et de la production d'aflatoxines (**Helalet *et al.*, 2006 ; Rammanee et Hongpattarakere, 2011 ; Dwivedy *et al.*, 2016**).

II.2 Méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne

Actuellement, l'activité antimicrobienne d'une substance peut être évaluée *in vitro* à l'aide de nombreuses méthodes classiques (**Remmal *et al.*, 1993**), utilisant des milieux solides ou liquides. Dans le cadre de notre étude, trois techniques ont été choisies pour tester l'effet antimicrobien des extraits végétaux :

- * la méthode de diffusion sur gélose,
- * la méthode de dilution en milieu liquide,

* et la méthode de dilution en milieu solide.

L'efficacité d'un agent antimicrobien vis-à-vis d'un microorganisme est généralement exprimée par deux paramètres clés :

La concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration empêchant la croissance du microorganisme (**Andrews, 2001**).

Et la concentration minimale bactéricide (CMB), qui représente la concentration minimale capable de tuer le microorganisme (**El Kalamouni, 2010**).

II.2.1 Méthode de diffusion sur disque

Cette méthode repose sur l'utilisation de disques de papier (type Wattman) imprégnés des substances à tester. Ces disques sont déposés sur la surface d'un milieu gélosé ensemencé de manière homogène avec la souche microbienne ciblée (**Amhis et al., 2001**).

Au cours de l'incubation, le composé diffuse dans la gélose. Lorsque sa concentration devient insuffisante pour inhiber la croissance bactérienne, une zone d'inhibition se forme autour du disque (**El Kalamouni, 2010**). L'activité antimicrobienne est alors évaluée en mesurant le diamètre de cette zone, exprimé en millimètres ou centimètres (**Figure 6**) (**Bouزيد, 2011**).

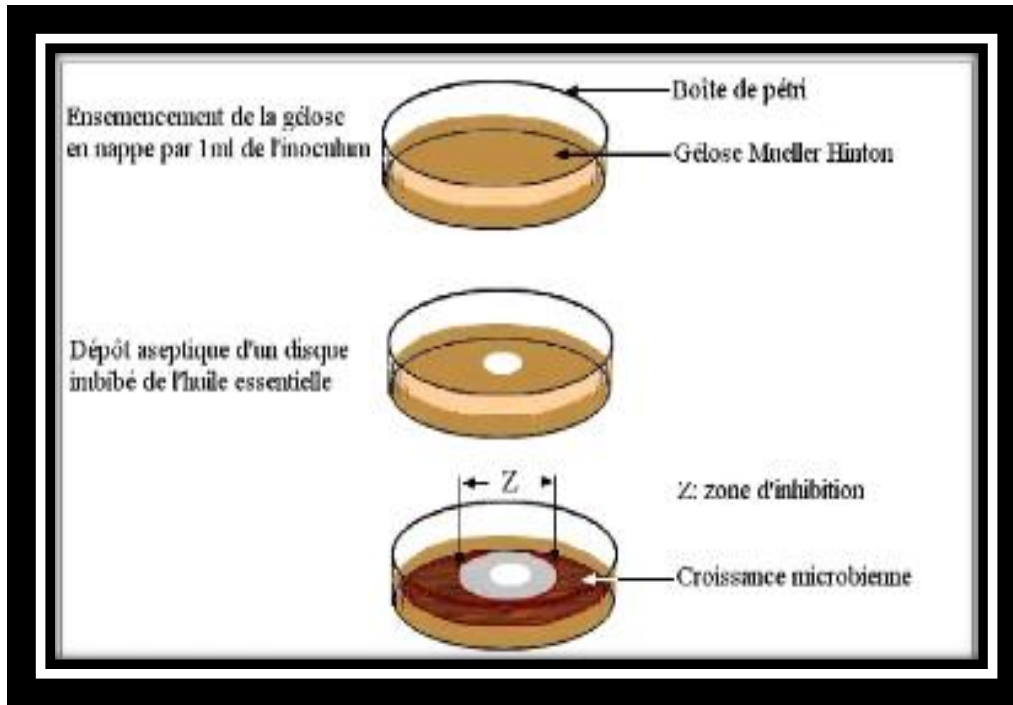


Figure 6: Méthode de la diffusion en disque (Boukhatem *et al.*, 2014).

II.2.2 Méthode de dilution

Les méthodes de dilution, en milieu liquide (bouillon) ou solide (gélose), visent à déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la souche testée. Toutefois, cette valeur n'est pas toujours parfaitement précise : la CMI réelle se situe entre la concentration la plus faible empêchant toute croissance et la concentration immédiatement inférieure (El Kalamouni, 2010).

1) Dilution en bouillon

Cette technique consiste à exposer une suspension bactérienne à différentes concentrations d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. Elle peut être réalisée selon deux approches :

- ✓ En tubes à essai (macrodilution) (Figure 7).
- ✓ Ou en microplaques de titration (microdilution) utilisant de faibles volumes (Figure 8) (Jorgensen et Turnidge, 2015).
- ✓ Après incubation, la CMI est identifiée comme la plus faible concentration d'antimicrobien pour laquelle aucune croissance visible n'est observée dans le tube ou la cupule correspondante (Joffin et Leyral, 2006).

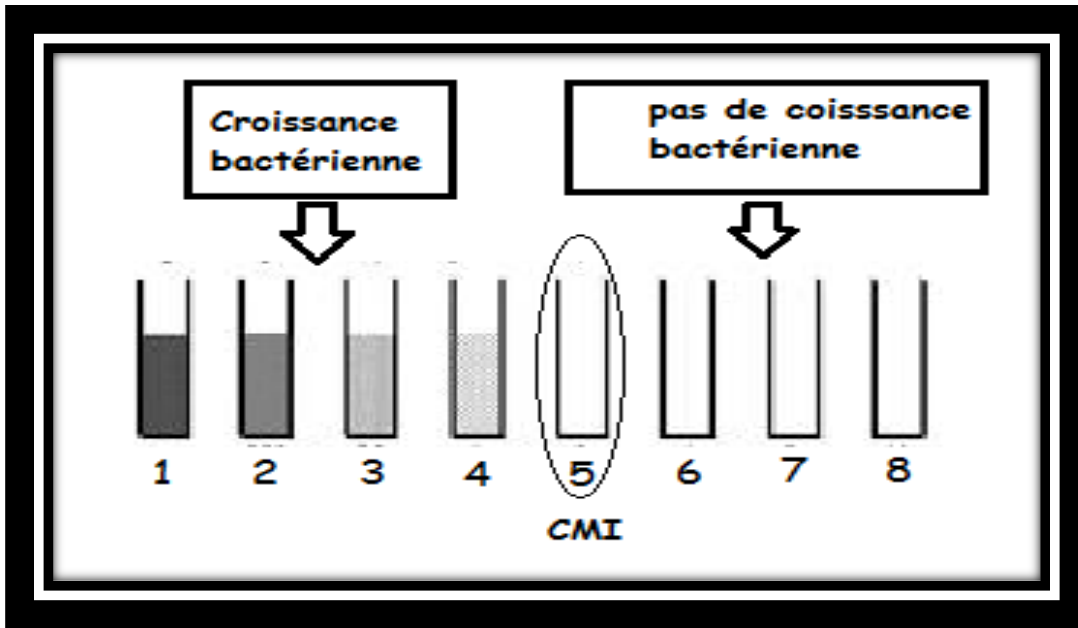


Figure 7: détermination de la CMI par macrodilution (Denis *et al.*, 2016).

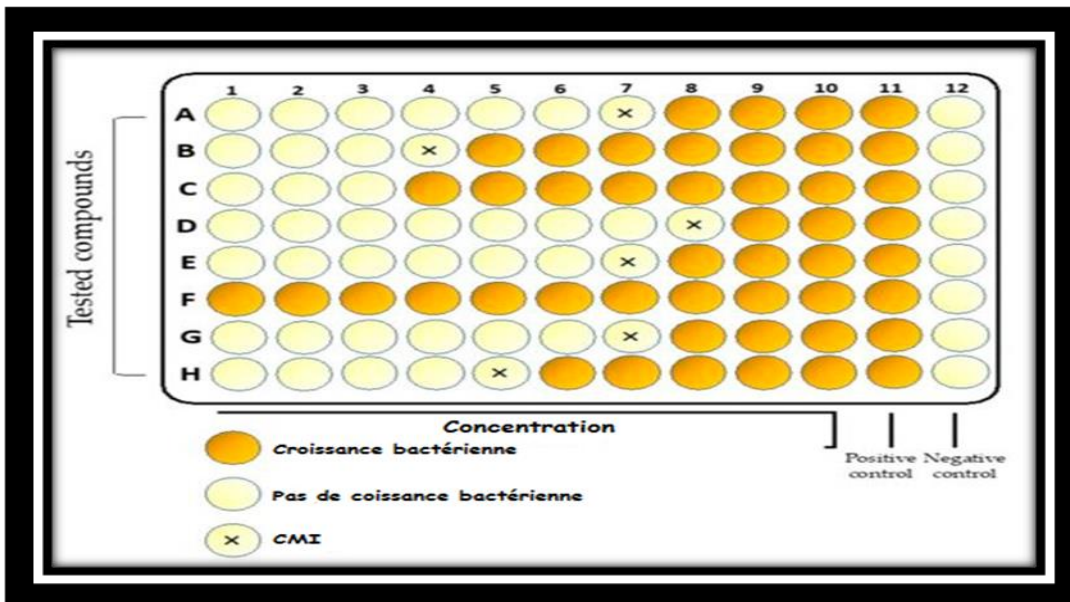


Figure 8: détermination de la CMI par microdilution (Pandey *et al.*, 2016).

2) Dilution en gélose

Cette méthode consiste à incorporer l'agent antimicrobien à une concentration déterminé dans le milieu gélosé, ensuite les suspensions microbiennes à examiner sont ensemencés en utilisant des écouvillons à la surface de la gélose de la boîte de pétri **(El kalamouni, 2010)**.

La lecture de la CMI de chaque souche après incubation est révélée par l'inhibition de la croissance de microorganismes sur le milieu **(Joffin et Leyral, 2006)**.

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

I. Matériel utilisé

I.1 Matériel végétal

Le matériel végétal, objet de l'étude, le (*Rosmarinus officinalis*) (**Figure 9**) a été prélevé le mois de février 2025, dans la Wilaya de Tlemcen à l'ouest d'Algérie. Un échantillon de 500g pris uniquement sur la partie aérienne de l'espèce étudié a été récolté d'une manière aléatoire dans la région Ouled youcef , honaine relevant de la Wilaya de l'étude. La matière végétale a été ensuite étalée sur du papier, puis séchée à l'air ambiant durant 3 semaines, puis mis dans des bocaux hermétiques et conservés à sec (température ambiante) à l'abri de l'humidité.



Figure 9: *Rosmarinus officinalis*.

I.1.2 Présentation de la région d'étude

Ouled Youcef est un village situé dans la commune de Honaïne, dans la wilaya de Tlemcen, au nord-ouest de l'Algérie (**Figure 10**). Ce village fait partie des localités constituant la commune de Honaïne depuis 1984. La région est caractérisée par un relief montagneux, dominé par le djebel Tadjera, qui culmine à 1 063 mètres. Le village est situé à une altitude moyenne de 101 mètres, avec des variations allant de -5 à 419 mètres.

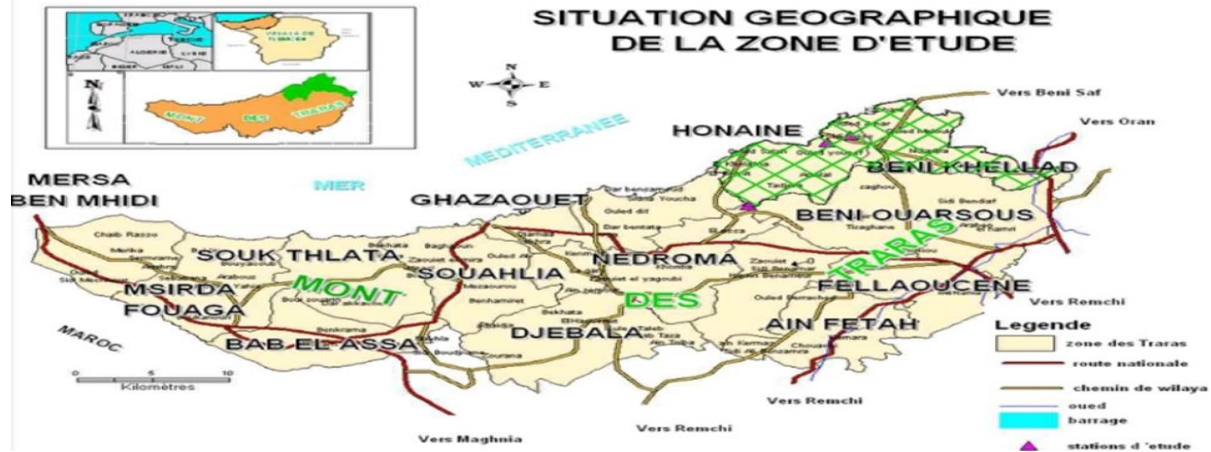


Figure 10: situation géographique de la zone d'étude.

I.2 Matériel au laboratoire

Les matériels utilisés sont les suivants :

- bec bunsen
- les tube à essai et les boîte de pétrie
- les flacons
- Papier whatman ($\varnothing=6\text{mm}$)
- Ecouvillon

➤ Les appareils

Plusieurs appareils utilisés pour étudier l'activité antibactérienne de *Rosmarinus Officinalis*, le tableau suivant site ces appareils (**Tableau 3**).

Tableau 3: les appareils de laboratoire utilisés.

Matériel	Utilisation
Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	Extraction des HEs
Agitateur plaque chauffante	Préparation du milieu de culture
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Autoclave	Stériliser les matériels et les milieux de culture
Etuve réglée à 37C°	Incubation les souches bactériennes
Micropipette	Préparation de microvolumes

➤ Réactifs

Les antibiotiques : Gentamicine, utilisés comme témoin (+) pour les activités antibactériennes d'HE.

➤ Milieux utilisés

Pour la revivification et la culture des souches, nous avons utilisé les milieux représentés dans le **Tableau 4**. Le Mueller Hinton solide et celui liquide ont été utilisés pour effectuer les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Tableau 4: Milieux de culture utilisés.

Souches	Milieux de culture
Bactéries	Bouillon nutritif
Levures	Bouillon nutritif, Sabouraud en gélose
Champignons	Potato Dextrose Agar (PDA)

➤ Les souches utilisées

Pour déceler l'activité antimicrobienne d'huile essentielle de la plante choisie, romarin. on a impliqué des souches de références (**Tableau 5**) :

Tableau 5: Souches bactériennes et fongiques utilisées dans l'activité antimicrobienne.

Bactéries	A Gram positif	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
		<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
		<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
	A Gram négatif	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853
		<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603		
Champignons filamenteux	<i>Fusarium oxysporum</i> MNHN 963917	
	<i>Aspergillus fumigatus</i> MNHN 566	
Levures	<i>Candida albicans</i> (1) ATCC 26790	
	<i>Candida albicans</i> (2) ATCC 10231	
	<i>Candida albicans</i> (3) IP444	

I.3 Méthode d'extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro distillation en utilisant l'appareil de clévenger (**Figure 11**). 500g de plante sèche (romarin) est introduite dans une ampoule de 2L au-dessus d'une ballon imprégné de l'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 heures. Les vapeurs chargées d'huile qui se dégagent passent à travers le serpentín de refroidissement en verre où aura lieu la condensation. L'opération d'extraction dure deux heures à partir du début de l'ébullition. L'huile ainsi obtenue est récupérée. Enfin, lorsque les huiles essentielles sont volatiles et capable de perdre leur propriété, donc il faut la gardée et conservée dans des flacons opaques bien scellés à une température basse (4 °C) (**Bouchra et al.,2019**).

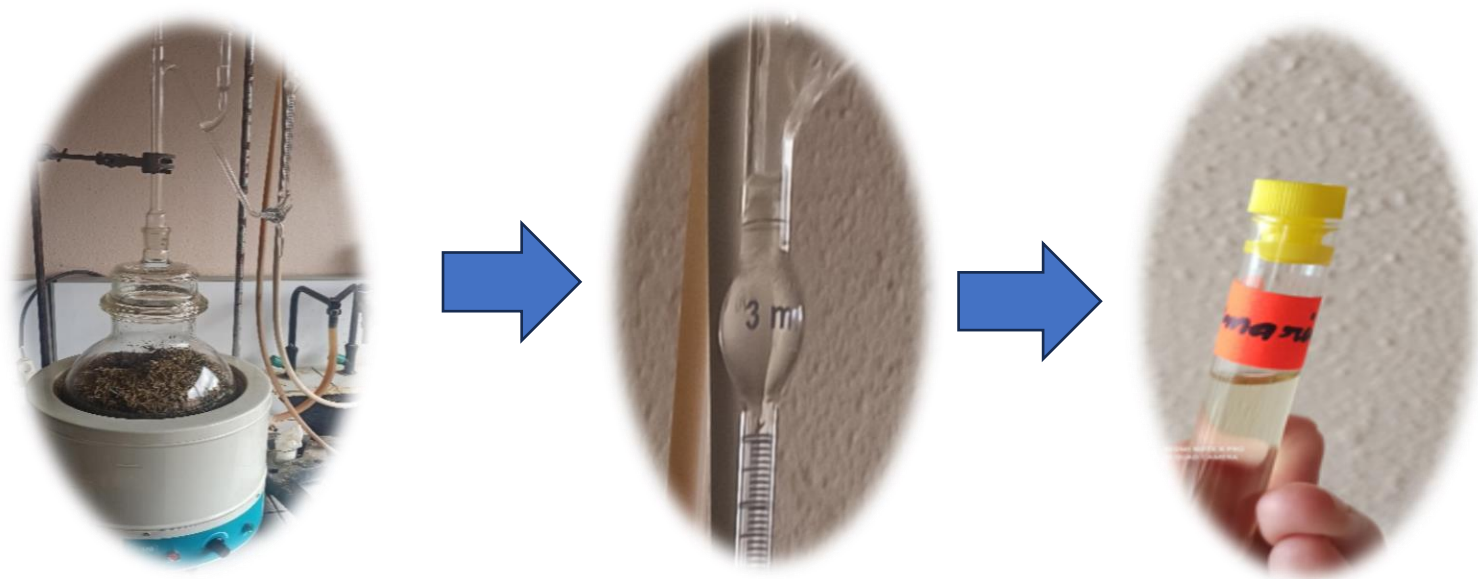


Figure 11:Dispositif d'extraction des huiles essentielles de type Clevenger et flacon de l'huile de *Rosmarinus officinalis*.

- **Calcul de rendement**

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de la matière végétale et la masse de l'huile essentielle obtenue, selon la formule suivante :

R : Rendement en huile essentielle.

MHE : la Masse d'huile essentielle.

$$R_{HE} = \frac{MHE}{Ms} \cdot 100$$

Ms : la Masse de la matière végétale en g.

I.4 Préparation de l'inoculum

1) Pour les bactéries et *Candida albicans*

Chaque culture doit être ensemencée en stries sur une gélose nutritive pour les bactéries et sur sabouraud pour *Candida albicans* pour obtenir des colonies isolées. Après une incubation à 37°C pour les bactéries et à 35°C pour *Candida albicans*, pendant 24h, quatre à cinq colonies bien isolées sont transférées avec une anse dans un tube de bouillon nutritif (ou eau physiologique 0,9 %). Incuber le bouillon à 37°C (35°C pour *C. albicans*) jusqu'à ce qu'il devienne trouble. Ajuster la turbidité à la bonne densité au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, ce qui correspond à une densité optique entre 0,08 à 0,1 lue à 625nm pour les bactéries (équivalent à 10⁸ UFC/ml) (EUCAST, 2003) et entre 0,12 à 0,15 lue à 530 nm pour *Candida albicans* (équivalent à 10⁶ UFC/ml) (NCCLS, 2001) (Figure12).

2) **Pour les champignons filamenteux** : En ce qui concerne les champignons filamenteux, l'inoculum a été préparé par un ensemencement sur la gélose PDA pendant 4 jours à 25°C afin d'avoir une sporulation adéquate. La suspension sporale est préparée dans de l'eau physiologique et la concentration a été ajustée à 10⁶ spores / ml ce qui correspond à une transmittance de 0.68 à 0.82% lue à 530 nm (Pfaller *et al.*, 1998).



Figure 12: Préparation de l'inoculum.

I.5 Méthode de diffusion des disques sur milieu solide

La turbidité des souches doit être ajusté à 10^8 UFC/ml pour les bactéries, 10^6 UFC/ml pour *Candida albicans* et 10^6 spores / ml pour les champignons filamenteux. Pour la réalisation de cette méthode, nous suivons le protocole suivant (Figure 13) :

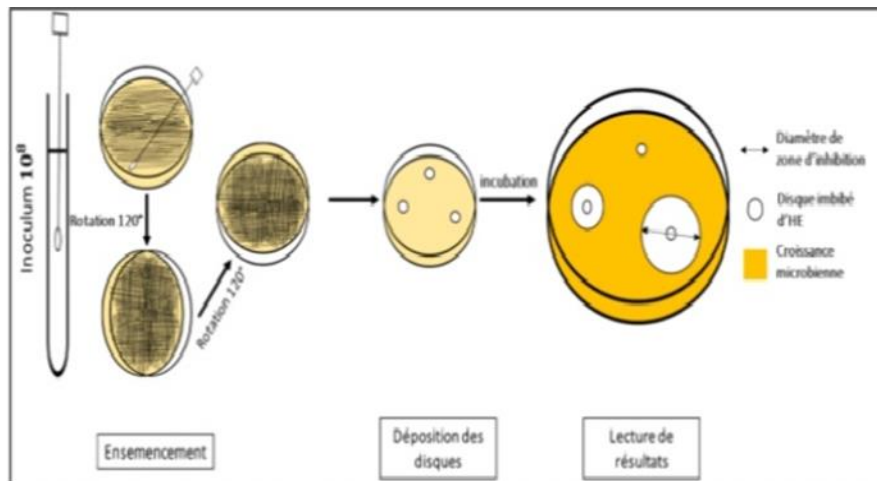


Figure 13: Protocole d'aromotogramme.

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne précédemment préparée ;
- Essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube ;
- Fritter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- Laisser les boîtes de Pétri pendant 2h à 4°C ;
- Appliquer les disques imbibés par 5µl de l'extrait (500µg/disque) sur la gélose Mueller-Hinton, en pressant chaque disque à l'aide de pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué le disque ne doit pas être déplacé (CLSI, 2010).

Les boîtes sont incubées 24h à 37 °C (35°C pour *C. albicans*) et 48h à 25 °C pour les champignons filamenteux. L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide au tour de disque dont le diamètre de la zone d'inhibition est mesuré et exprimé soit en centimètre soit en millimètre (Joffin et Leyral, 2006).

I.6 Détermination de la « CMI »

I.6.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

La méthode de microdilution en utilisant des microplaques de 96 puits a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) (Aouni *et al.*, 2013).

- **Préparation de la suspension bactérienne :** L'inoculum est préparé à partir de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml dilué au 1/100 (9900 µL de bouillon BHIB stérile avec 100µL de la suspension standardisée à 10^8 UFC/ml) pour avoir une concentration $\simeq 10^6$ UFC/m.
- **Protocol**

Chaque huile essentielle a été diluée dix fois à partir de la solution mère (400 µL d'HE avec 10 µL de tween 80 et 590 µL de BHIB) par des dilutions $\frac{1}{2}$ successives. Une solution de dilution a été préparée (mélange de 9900 µL de bouillon BHIB et 100 µL de tween 80 à 1%. Un volume de 500µL de solution de dilution a été ajouté dans des tubes d'hémolyse stériles pour le but d'obtenir des concentrations compris entre 40 % et 0.08% et une concentration de tween 80 à 1% constant (Figure 14).

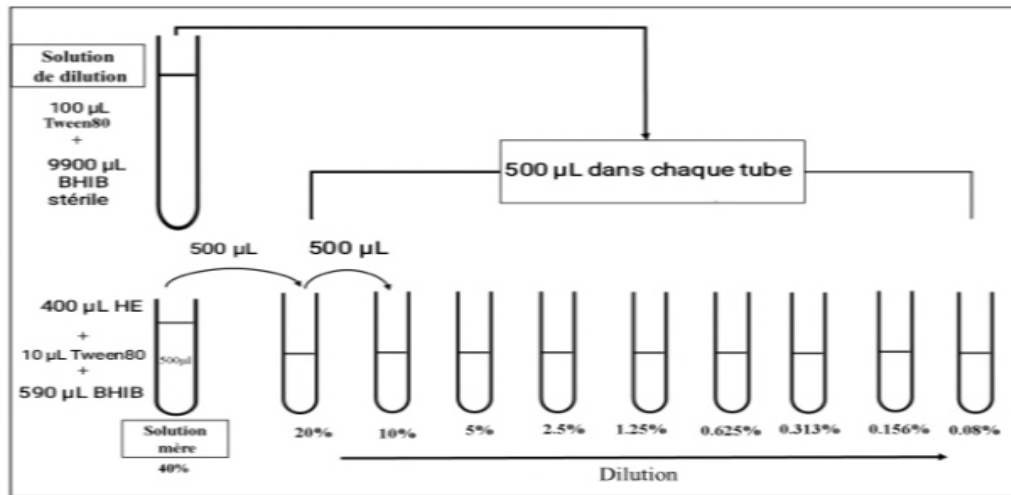


Figure 14:Préparation des dilutions des huiles essentielles.

Après, dix microplaques sont employées (deux microplaques pour chaque HE) dans lesquelles 90 µL de suspension bactérienne de 10^6 UFC/mL est déposée avec 10 µL de chaque concentration (deux rongée des puits pour chaque souche). Ainsi, les concentrations des huiles essentielles dans la microplaque sont comprises entre 4% et 0.008% (**Figure 15**). Après incubation des microplaques à 37°C pendant 24h, la CMI est définie comme la plus faible concentration d'huile essentielle qui empêche toute croissance bactérienne visible (absence de turbidité) (**Djenane et al., 2011**). L'onzième puit est rempli par 100 µL de la suspension bactérienne comme témoin positif, et le douzième puit est rempli par 100 µL de bouillon stérile comme témoin négative pour vérifier la contamination.

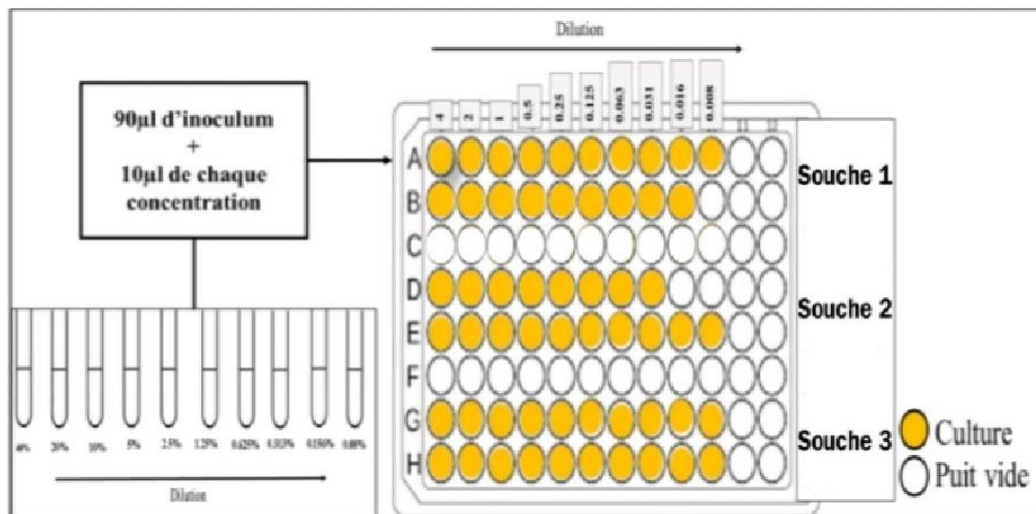


Figure 15:Préparation de la microplaque.

I.6.2 CMI par microdilution en milieu liquide d'antibiotique

- **Principe**

La méthode de microdilution en milieu liquide est utilisée déterminer la sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens. Elle est considérée comme la méthode de choix pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact des concentrations croissantes d'antibiotiques.

- **Technique**

- Une microplaque de 96 puits est utilisée ;
- Une solution de l'antibiotique avec une concentration de 256 µg/ml est préparée ;
- Dans la première colonne de la microplaque, colonne de témoin, 100µl de bouillon Mueller Hinton est distribué ;
- Dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 50µl du bouillon Mueller Hinton ;
- 50 µl de l'antibiotique sont introduites dans le 2 ème puits. Après avoir bien homogénéisé le contenu du 2 ème puits une série de dilution est réalisée où 50µl sont prélevés, puis déposé dans le 3 ème puits, et ainsi de suite jusqu'au 12ème puits où 50 µl restantes sont éliminés. Cela pour obtenir des dilutions en série de progression géométrique de raison $\frac{1}{2}$ allant de 128 µg/ml au 0.25 µg/ml ;
- 50 µl de l'inoculum bactérien de 10^8 UFC/ml (DO de 0,08-0,1) sont ajoutés dans chaque puits sauf la colonne de témoin ;
- Les microplaques sont scellées et incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Lecture**

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotiques où il n'y a pas de croissance bactérienne visible.

Résultats et discussion

I. Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

I.1 Rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les valeurs du rendement d'HE de *Rosmarinus officinalis* sont rapportées dans le **Tableau 6** suivant:

Tableau 6:Rendement en HE de *Rosmarinus officinalis* .

La plante médicinale	Nombres d'extractions	Durée de distillation (h)	Matière Végétal (g)	Eau distillée (ml)	Poids d'H.E (g)	Rendement (%)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	2h	500g	1000ml	3,64g	0,73%

L'extraction des HEs de *Rosmarinus officinalis* a été effectuée par hydro-distillation dans un appareil de type Clevenger. Le rendement a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante de romarin. L'échantillon de *Rosmarinus officinalis* est fourni un taux relativement d'environ 0.73% est conforme avec les normes **AFNOR** (0,5% et 2%).

En comparant nos résultats avec d'autres travaux réalisés sur la même espèce et utilisant la même méthode d'extraction, nous constatons que notre rendement est supérieur à celui obtenu par **(Boutekdjiret et al., 2003)** (0,44 %) ainsi que **(Derwich et al., 2011)** (0,54 %) sur des échantillons de romarin du Maroc. En revanche, notre rendement reste inférieur à celui rapporté par **(Vella et Laratta ,2023)** (1,57 %) et **(Wollinger et al., 2016)** (1,8 %).

De manière générale, les variations observées dans les rendements peuvent être attribuées à la méthode ainsi qu'aux conditions d'extraction utilisées au laboratoire. Plusieurs facteurs peuvent influencer ces rendements, notamment l'origine géographique, les conditions écologiques telles que la température et l'humidité, l'espèce végétale concernée, l'organe prélevé, le stade de développement, la période de récolte, ainsi que les conditions de conservation du matériel végétal. D'autres éléments comme la méthode d'extraction, la durée et la température de séchage, ainsi que la présence de mauvaises herbes peuvent également avoir un impact direct sur la quantité d'huile essentielle obtenue **(Messabhia et al., 2021)**.

II. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

II.1 Etude de l'activité antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne de nos extraits, nous avons utilisé la transcription de **Tableau 7 (Biyiti *et al.*, 2004)**.

Tableau 7: Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition * (D).

Inhibition	Transcription	Sensibilité
D < 8mm	-	Résistante
9mm \geq D \leq 14	+	Sensible
15mm \geq D \leq 19mm	++	Assez sensible
D \geq 20mm	+++	Très sensible

* Diamètre de disque inclus.

+ : Sensible, ++ : Assez sensible, +++:Trèssensible, - :Résistante

Résultats et discussion

Le **Tableau 8** montre les diamètres d'inhibition (en mm) mesurés autour des disques imbibés d'HE de *Rosmarinus officinalis* appliqués sur différentes souches bactériennes, indiquant leurs sensibilités à cette huile.

Tableau 8:Résultat de l'effet antimicrobien d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur les souches

Souches	HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>		Gentamicine (mm)
	Diamètre d'inhibition (mm)	Transcription	
<i>Bacillus subtilis</i>	22	(+++)	16 (++)
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	(+++)	18(++)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	(-)	17(++)
<i>Escherichia coli</i>	16	(++)	20(+++)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	(+)	17(++)
<i>Bacillus cereus</i>	21	(+++)	19(++)

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle est estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant l'huile à tester vis-à-vis des souches des bactéries après 24 heures d'incubation à une température adéquate de 37°C. Le pouvoir antibactérienne de cet huile essentielle est obtenu par la mesure du diamètre de zone d'inhibition en (mm) a l'aide d'un pied à coulisse.

L'HE de *Rosmarinus officinalis* a montré un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes testés sauf *Pseudomonas aeruginosa*, il a exercé une activité antibactérienne élevé sur *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* avec formation des larges zones d'inhibition comprises entre de 21 à 28mm, Concernant *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* l'huile essentielle a montré un effet faible avec un diamètre d'inhibition de 15 à 16 mm, contrairement à *Pseudomonas aeruginosa* il n'a aucun effet antibactérien.



Figure 16: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Escherichia coli*.

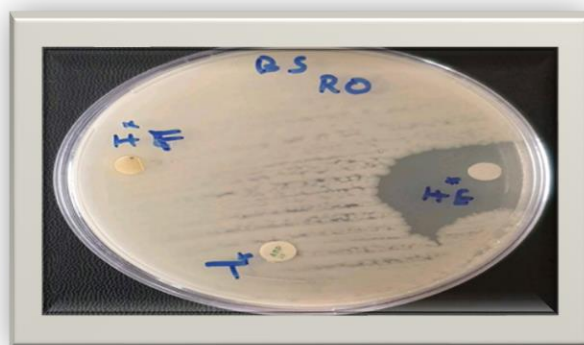


Figure 17: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Bacillus subtilis*.



Figure 18: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Staphylococcus aureus*.



Figure 19: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Bacillus cereus*.



Figure 20: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Klebsiella pneumoniae*.

Plusieurs études antérieures ont démontré que les huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* possèdent une forte activité antibactérienne contre différentes espèces pathogènes.

Selon (Mouas *et al.*, 2017), l'huile essentielle du romarin provenant des écotypes de Blida et Djelfa a été testée sur cinq souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*). Les résultats ont montré une efficacité remarquable contre la plupart des souches testées, à l'exception de *P. aeruginosa*, qui s'est révélée plus résistante. Les souches les plus sensibles étaient *S. aureus* et *E. faecalis*, avec des zones d'inhibition atteignant respectivement 23,75 mm et 22,75 mm pour l'écotype de Blida, et 16,75 mm et 14,25 mm pour celui de Djelfa. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans notre

étude. En revanche, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre *P. aeruginosa* a été confirmée par (Majda *et al.*, 2022).

De nombreuses études ayant évalué l'activité inhibitrice des huiles essentielles (HE) ont montré que les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles aux HE que les bactéries à Gram négatif. Cette différence de sensibilité est principalement attribuée à la structure complexe de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram négatif, qui comprend une double membrane dotée d'une perméabilité sélective (Busatta *et al.*, 2008).

Toutefois, (Moreira *et al.*, 2005) ont démontré que certaines bactéries Gram négatif peuvent également être sensibles à l'action des huiles essentielles. En réalité, cette sensibilité varie en fonction des caractéristiques propres à chaque huile essentielle, telles que sa composition chimique et sa concentration.

Le mode d'action des huiles essentielles (HEs) repose essentiellement sur leur interaction avec la structure de la paroi cellulaire et la perméabilité membranaire des bactéries, qu'elles soient à Gram positif ou à Gram négatif. Chez les bactéries Gram négatif, la présence d'une membrane externe hydrophile constitue une barrière qui limite la pénétration des molécules hydrophobes, telles que les huiles essentielles, les empêchant ainsi d'atteindre la membrane cytoplasmique et d'exercer leur effet destructeur (Lattab *et al.*, 2024).

II.2 Détermination des Concentrations Minimale Inhibitrice

La seconde méthode utilisée, celle des dilutions en milieu liquide, est une approche quantitative visant à déterminer la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance microbienne, appelée Concentration Minimale Inhibitrice (CMI). Cette analyse est réalisée uniquement sur les extraits ayant présenté les plus grands diamètres d'inhibition lors du test de diffusion.

Pour les souches qui ont montré une certaine sensibilité (mm), nous avons déterminé les CMI. Les résultats sont représentés dans la **Figure 21** et le **Tableau 9**, pour les extraits et l'antibiotique de référence (Gentamicine).

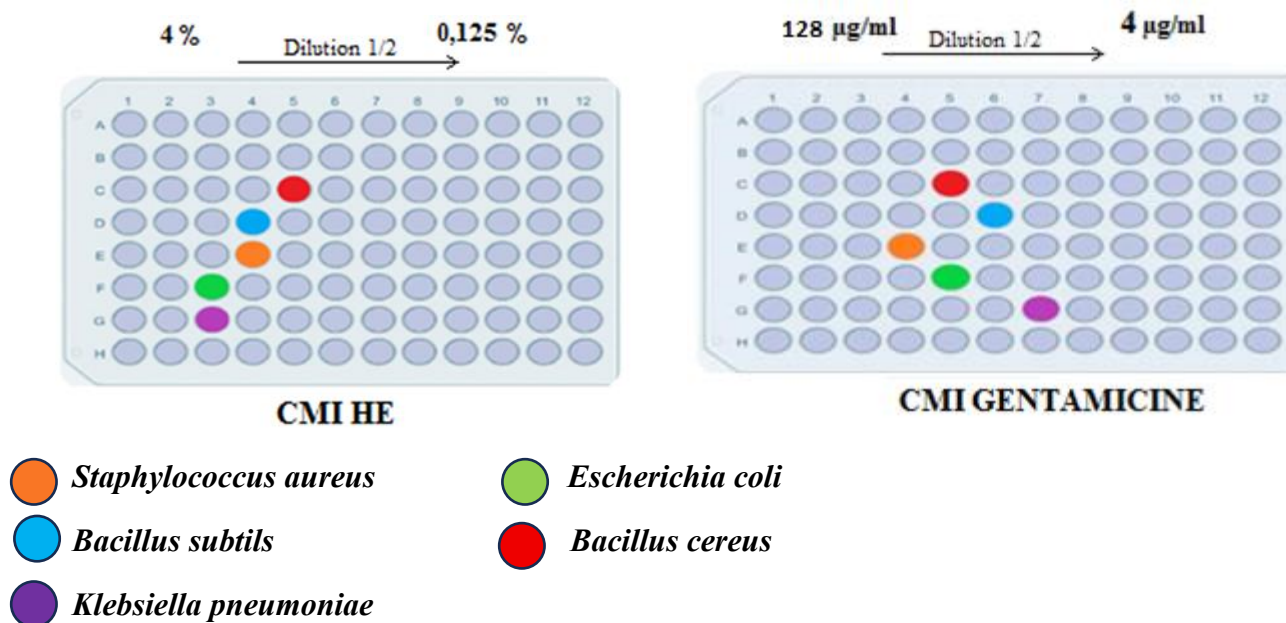


Figure 21:Présentation des résultats de la détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices

Tableau 9:Présentation des résultats de la détermination des Concentrations Minimales.

Bactéries	L'huile essentielle de <i>Rosmarinu officinalis</i> v/v %	Gentamicine (µg/ml)
<i>Bacillus cereus</i>	0.25	16-8µg/ml
<i>Bacillus subtilis</i>	0.5	8-4µg/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.5	32-16µg/ml
<i>Escherichia coli</i>	1	4-2µg/ml
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	16-8µg/ml

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées dans un large intervalle de concentrations, compris entre 0.25 et 1%. *Rosmarinus officinalis* (romarin) démontre une faible concentration inhibitrice, surtout contre les bactéries Gram-positives comme *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Toutefois, son efficacité est légèrement moins marquée contre les Gram-

Résultats et discussion

négatives, comme *E. coli* et *K. pneumoniae*. Ces résultats sont relatifs avec celles de l'activité antibactérienne.

Plusieurs d'études (**Chraibiet al.,2020**) et (**Abdulhasanet al.,2016**) et (**Jafari-Sales et Pashazadeh, 2020**) montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente une activité antibactérienne très forte, avec des Concentrations Minimales Inhibitrices compris entre (0,031 et 0,5) contre les souches *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

III. Etude de l'activité antifongique

Les diamètres des zones d'inhibition mesurés pour chaque souche antifongique, en réponse aux extraits testés, sont répertoriés dans **le Tableau 10**.

Tableau 10 :Résultat de l'effet antifongique d'HE de *Rosmarinus officinalis* sur les souches

les souches		Diamètre d'inhibition (mm)	Transcription
Levures	<i>Candida albicans 1</i>	21	(+++)
	<i>Candida albicans 2</i>	12	(+)
	<i>Candida albicans 3</i>	10	(+)
Champignons filamenteux	<i>Fusarium oxysporum</i>	10	(+)
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	32	(+++)

Les résultats montrent, que L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a effet faible avec un diamètre d'inhibition 10 à 12 mm Concernant *Candida albicans 2* et *Candida albicans 3* montrent Sensibilité modérée. Et une Sensibilité élevée avec un diamètre d'inhibition 21mm Concernant *Candida albicans 1*, indiquant une forte activité antifongique.

Concernant les champignons filamenteux, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a démontré une activité antifongique élevée contre *Aspergillus fumigatus*, avec un diamètre d'inhibition de 32 mm, indiquant une très bonne sensibilité (+++). En revanche, une faible sensibilité a été observée vis-à-vis de *Fusarium oxysporum*, avec un diamètre d'inhibition limité à 10 mm, traduisant une activité antifongique plus limitée.



Figure 22: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Candida albicans*.

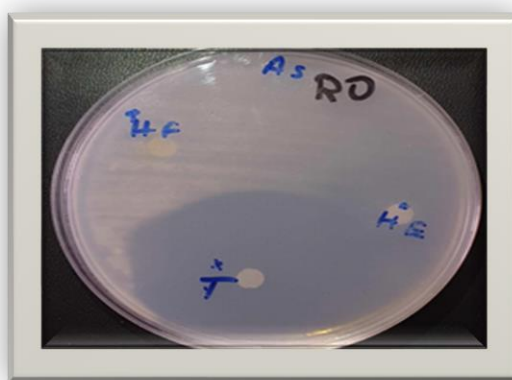


Figure 23: Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *Aspergillus fumigatus*.

Une étude de (Abada *et al.*, 2025) rapportent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a une activité antifongique de la souche de *Candida albicans*, avec un diamètre d'inhibition 33 mm. Et une autre étude de (Shebi et Geetha, 2019) indiquant que L'extrait a montré une bonne activité antifongique à différentes concentrations avec une zone d'inhibition maximale de 38 mm à une concentration de 100 μ l. Les résultats de ces travaux montrent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sensibilité très élevé.

De même (Ijaz *et al.*, 2024) ont rapporté que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente une activité inhibitrice notable à l'égard de la souche *Aspergillus fumigatus* avec un diamètre d'inhibition de 33 mm, ce qui vient corroborer les résultats obtenus dans la présente étude.

Conclusion

Conclusion

Ce travail s'est inscrit dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales, notamment le *Rosmarinus officinalis*, espèce largement répandue dans les régions méditerranéennes et reconnue pour ses nombreuses vertus thérapeutiques. À travers l'étude de l'activité antimicrobienne de ses extraits, en particulier l'huile essentielle, nous avons pu démontrer un effet inhibiteur significatif vis-à-vis de plusieurs souches microbiennes pathogènes par la méthode de diffusion sur milieu solide et la méthode de microdilution. En effet le rendement en huile essentielle est de 0,73%.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielle de *Rosmarinus officinalis* a montré une efficacité contre toutes les souches bactériennes testées à Gram+ et à Gram- (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*), champignons filamenteux (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*), et sur les trois levures de *Candida albicans*. L'huile essentielle a démontré une activité antimicrobienne notable à l'égard de l'ensemble des micro-organismes testés. Les diamètres d'inhibition observés pour les bactéries variaient entre 15 et 28 mm, tandis que les concentrations minimales inhibitrices (CMI) se situaient entre 0,25 et 1%, indiquant une efficacité significative. Pour les champignons, les zones d'inhibition mesuraient entre 10 et 32 mm, confirmant également un potentiel antifongique intéressant.

Les résultats obtenus confirment le potentiel de l'extrait de romarin en tant qu'agent antimicrobien naturel, susceptible de constituer une alternative ou un complément à la synthèse des nouveaux antimicrobiens, en particulier dans le contexte actuel marqué par l'émergence croissante de résistances aux antibiotiques.

Les conclusions de cette recherche ne constituent qu'un premier pas dans l'investigation du potentiel des composés bioactifs naturels. Pour enrichir la connaissance des vertus curatives du romarin.

Conclusion

Pour approfondir dans ce travail, il serait pertinent :

- D'identifier et d'isoler les métabolites secondaires responsables de l'activité antibactérienne à partir des extraits les plus actifs ;
- D'évaluer la toxicité des extraits testés par des études « *in vivo* » ;
- D'examiner d'autres propriétés biologiques de ces extraits, notamment leurs activités antioxydante et anti-inflammatoire.

Référence bibliographiques

1. **Abada, E., Mashlawi, A. M., Gadallah, A. A., Hakami, O., El Alfy, M. A. A., Meganid, A. S., & Elbaz, R. M.** (2025). Antimicrobial with Time-kill Kinetics, Antioxidant, and Anticancer Properties of *Rosmarinus officinalis* L. Oil Extract Based on Its Bioactive Components. *BioResources*, 20(2).
2. **Abdessultane, M.** (2017). Effet du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur la conservation traditionnelle des dattes dans la région d'Adrar . (en ligne). Mémoires de Master : Chimie d'environnement. Adrar : Université Ahmed Draia p47. Disponible sur : <http://www.univ-adrar.dz/8080/xmlui/handle/123456789/933> (page consultée le 20/11/2021).
3. **Abdulhasan, G. A., Alzubaidy, S. K., & Abed, I. J.** (2016). Effect of sub-inhibitory and inhibitory concentrations of some antibiotics and rosemary essential oil (*Rosmarinus officinalis* L.) on biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae*. *World Journal of Experimental Biosciences (ISSN: 2313-3937)*, 130-135
4. **Ambrose, D. C., Manickavasagan, A., & Naik, R. (Eds.).** (2016). *Leafy medicinal herbs: botany, chemistry, postharvest technology and uses*. CABI.
5. **Amhis, W., Benslimane, A., Tioult, D., & Naim, M.** (2001). Tests de sensibilité utile au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb*, 91, 22-25.
6. **Andrews, J. M.** (2001). Détermination des concentrations minimales inhibitrices. *Journal of antimicrobial Chemotherapy*, 48(suppl_1), 5-16. antioxydante de trois plantes aromatiques." UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA FACULTE.
7. **Aouni M., Pelen F., Soulimani R.** (2013). Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. *Phytothérapie* 11:225-236.
8. **Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B., Laouer, H.** (1997). Etude comparative des huiles essentielles de *Rosmarinus eriocalyx jordan* & fourr. D'Algérie et *R. officinalis* L. d'autres pays. *Recherche sur les huiles essentielles*. 09: 167-175.
9. **Begum, A., Sandhya, S., Ali, S. S., Kr, V., Reddy, S., & Banji, D.** (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). 12(1), 61–73. https://www.food.actapol.net/pub/6_1_2013.pdf
10. **Bellakhdar, J.** (1997) *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Ibis Press (Ed). Paris, 764 p
11. **Benyadah N.** (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires

- stokes.Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Éclair Département de Chimie Faculté des Sciences de rabat.
12. **Benyaich, A., & Aksissou, M.** (2024). The Pharmacological and Nutritional Properties of *Rosmarinus officinalis*: A Comprehensive Review. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(11).
 13. **Benyaich, A., & Aksissou, M.** (2024). The Pharmacological and Nutritional Properties of *Rosmarinus officinalis*: A Comprehensive Review. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(11).
 14. **Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V., Amvam-Zollo P.H.** (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Medical & Pharmaceutical Trade Shows in South Africa*. 13 : 11-20.
 15. **Bouchra L, Imane N, Taha E, Abdelhak B, Mustapha T , Mahdi C , Nouredine E.** (2019). Extraction of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* L. by Two Different Methods : Hydrodistillation and Microwave Assisted Hydrodistillation. *The Scientific World Journal*. Article ID 3659432, 6 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/3659432>
 16. **Boudgebir K .** (2017),Evaluation de l'activité antimicrobienne de deux huiles essentielles *Rosmarinus officinalis* et *Cymbopogon citratus* en perspective de leurs utilisation comme conservateur de denrées alimentaires(en ligne).Mémoire de Master : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire.Blida -:Université Blida - 150 p Disponible sur <https://www.theses-algerie.com> > ev...(page consulter le 20/12/2021).
 17. **Bouguerra Nourelhouda, AGGOUNE Asma ,SAADI Rania.** (2021).Etude Comparative des méthodes d'extraction des huiles Essentielle dans les plantes. Diss. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M9SILA
 18. **Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., Taibi, H., & Djamel, T.** (2014). Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse [Potential application of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil as antibacterial drug in aromatherapy]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 8(4), 1418.
 19. **Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M.** (2003). Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481-484.

20. **Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M. C., & Ayachi, A.** (2011). Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubépine monogyne. *Leban Sci J*, 12(1), 59-69.
21. **Borges, R.S., Sánchez Ortiz, B., L., Matias Pereira, A.C., Keita, H., Tavares Carvalho, J.C.** (2019). Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* : revue de sa phytochimie, de son activité anti-inflammatoire et des mécanismes d'action impliqués. *J. Ethn.* 229 : 29-45.
22. **Bruneton, J.** (2009). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*, 4 e éd. Tec & Doc / Lavoisier, Paris, 279-281.
23. **BRUNETON. J.** (1999). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 3e Édition Tec and Doc. Paris. (Collection Lavoisier), ISBN: 978-2-7430-0315-9, 1120p
24. **Burt S.** (2004), Huiles essentielles : leurs propriétés antibactériennes et leurs applications potentielles dans les aliments – une revue. *Revue internationale de microbiologie alimentaire*, 94(3), 223-253.
25. **Cattoir, V., Denis, F., Martin, C., & Ploy, M. C.** (2016). *Bactériologie médicale: techniques usuelles*. Elsevier Health Sciences.
26. **Centeno, L. M. M.** (2002). Plantas medicinales españolas. *Rosmarinus officinalis* L.(Lamiaceae)(romero). *Studia Botanica*, 21.
27. **CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2010).** *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard*. Eighth Edition. Pennsylvania, USA.
28. **Chraïbi, M., Farah, A., Elamin, O., Iraqui, H. M., & Fikri-Benbrahim, K .** (2020). Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 11(1), 25-29.
29. **Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., et Wyllie, S. G.** (2000). Mode d'action antimicrobien de l'huile essentielle de *Melaleuca alternifolia* (huile essentielle d'arbre à thé). *Journal of applied microbiology*, 88(1), 170-175.

30. **Damerdji, A.** (2012). La faune malacologique sur différentes plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie nord-occidentale). *Afrique Science Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 8(1).
31. **Damtie, D.** (2023). *Sources and Processes (Production and Post-Production Operations) Involved in the Production of Essential Oils* (pp. 1–22). Informa. <https://doi.org/10.1201/9781003389774-1>
32. **Derwich, E. Z. Benziane, R. Chabir and R. Taouil.** (2011). In vitro antibacterial activity and GC/MC analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 3, 89-95.
33. **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., et Mnif, W.** (2016). Caractérisation chimique des huiles essentielles et investigation de certaines activités biologiques: un examen critique. *Médicaments* 3 (4): 25-31.
34. **Djenane D., Yangüela J., Amrouche T., Boubrit S., Boussad N., Roncalés P.** (2011). Chemical composition and antimicrobial effects of essential oils of *Eucalyptus globulus*, *Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus* in minced beef. *Food Science and Technology International* 17(6):505–515.
35. **Dorman H. J. D. et Deans S. G.** (2000). Agents antimicrobiens d'origine végétale : activité antibactérienne des huiles volatiles végétales. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
36. **Dwivedy, A. K., Kumar, M., Upadhyay, N., Prakash, B., et Dubey, N. K .** (2016). Huiles essentielles végétales contre les champignons osseux et les mycotoxines alimentaires. *Opinion actuelle en sciences alimentaires*, 11, 16-21.
37. **Elansary, H. O., Mahmoud, E. A., Shokralla, S., & Yessoufou, K .** (2015). Diversity of plants, traditional knowledge, and practices in local cosmetics: A case study from Alexandria, Egypt. *Economic Botany*, 69, 114-126. *Egypt. Economic Botany*, 69(2), 114–126. <https://doi.org/10.1007/s12231-015-9303-1>
38. **El-kalamouni C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits des plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. These de Doctorat, Université de Toulouse.

39. **Elyacoubi, H., Ait-Haddou, S., Ben-Yahya, G., Ez-Zriouli, R., Riyahi, J., & Rochdi, A.** (2024). Chemical Composition and Antifungal Activity of Rosmarinus officinalis Essential Oil against Four Pathogenic Fungi (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae* and *Helminthosporium sativum*) of Wheat in Morocco. *Acta fytotechnica et zootechnica*:: ISSN 1336-9245, 27(3).
40. **EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing)** .(2003). of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Euclid).
41. **Fedjer, Z., Mazari, A., Blama, A.** (2022). Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de Souk-Ahras cas du Romarin à Taoura et du figuier de Barbarie à Sidi Fredj. *Rech. Agr.* 20 : 43-60
42. **Frederico, C., Franciscato, L. M. S. dos S., & Ruiz, S. P.** (2023). Essential oils as natural food additives: stability and safety. *Arquivos de Ciências Da Saúde Da UNIPAR*. <https://doi.org/10.25110/arqsaude.v27i10.2023-018>
43. **Ghédira, K., & Goetz, P.** (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Paris.
44. **Goudjil Bilal, Mohamed.** (2016). "Composition chimique, activité antimicrobienne et
45. **Gupta, P.** (2016). An overview on tannins. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 4(37). <http://www.jddt.in/index.php/jddt/article/view/363>
46. **Hanine ,a., salsabil ,b .,manel, b.** (2023). Effet antibactérien d'une plante médicinale «*rosmarinus officinalis*» .Option microbiologie appliquée. Université 8 Mai 1945-Guelma,p5
47. **Harrane, A.** (2012). Écologie et systématique du genre *Rosmarinus* L. dans la région de sud Algérois. Thèse de doctorat. Option : Écologie et environnement. Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. Djelfa. Algérie. p.119.
48. **Harrane-Zaoui, A.** (2012). Écologie et Systématique du genre *Rosmarinus* L. dans la région du sud algérois (Wilaya de Djelfa) (Doctoral dissertation, Thèse Magister, Ecologie et Environnement, Univ. Houari Boumediene, Alger).
49. **Helal, G. A., Sarhan, M. M., Abu Shahla, A. N. K., et Abou El Khair, E. K.** (2006). Effets de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* L. sur la croissance, la teneur en

- lipides et la morphogénèse de la souche ML2 d'*Aspergillus niger*. *Journal of Basic Microbiology*. 46(6), 456-469.
50. **Hendel, N., Napoli, E., Sarri, M., Saija, A., Cristani, M., Nostro, A., Ginestra, G., & Ruberto, G.** (2019). Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary: Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1), 1–17. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2019.1590246>
51. **HOEFLER, C.** (1994). Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses: activités cholérétiques, antihépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse du grade de Docteur en Science pharmacognosie. Université de Metz - France. p 9.
52. **Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L.** (2012). Huiles essentielles dans la conservation des aliments : mode d'action, synergies et interactions avec les composants de la matrice alimentaire. *Frontiers in microbiology*, 3, 12.
53. **Jafari-Sales, A., & Pashazadeh, M.** (2020). Study of chemical composition and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in vitro. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology, International Society of Academicians*, 3(1), 62–69. <https://doi.org/10.38001/IJLSB.693371>
54. **Jardak, M, J Ellouni-Mseddi, S Aifa et S Mnif.** (2017). Chemical composition, antibiofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Tunisia". *Lipids in Health and Disease*, vol. 16.14-23
55. **Joffin J.N., Leyral G.** (2006). *Microbiologie technique*. Tome 1, Dictionnaire des techniques 4 édition.
56. **Jorgensen, J. H., et Turnidge, J. D.** (2015). Méthodes de test de sensibilité : méthodes de dilution et de diffusion sur disque. *Manuel de microbiologie clinique*, 1253-1273.
57. **Kanwal, A., Bilal, M., Rasool, N., Zubair, M., & Zakaria, Z. A.** (2022). Total Synthesis of Terpenes and Their Biological Significance: A Critical Review. *Pharmaceuticals*, 15(11), 1392. <https://doi.org/10.3390/ph15111392>

58. **Karadag, A.E., Çaşkurlu, A., Demirci, F., Okur, M.E., Orake, D., Sipahi, H., Baser, K.H.C.** (2019). Evaluation antibactérienne, antioxydante, anti-inflammatoire et analgésique in vitro des fractions d'extraits de fleurs de *Rosmarinus officinalis* L. *J.Sud Afr. Bot.* 125 : 214-220.
59. **Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. and Sripal R.** (2001) Bioflavonoïds classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* 2001; 33: 2-16.
60. **Lardry J. M., et Haberkorn V.** (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, la revue*, 7(61), 14-17.
61. **Lattab, A., Khouatemiami, A. A., Tounsi, I., Boudiaf, A., Harizi, N., & Djida, M.** (2024). *Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis contre Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa.* *PoLSMER*, 2(2). <https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/871>
62. **Liu, W., Cui, X., Zhong, Y., Ma, R., & Xia, Y.** (2023). Phenolic metabolites as therapeutic in inflammation and neoplasms: molecular pathways explaining their efficacy. *Pharmacological Research*, 193, 106812. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106812>
63. **Madjour Sassia .** (2014) thèse de Master 2 en chimie pharmaceutique, Université Med Khider Biskra 2013-2014.
64. **Majda, E. E.O. Faiçal, L. Amal, E. Taha, B. Abdelhak, and E. Noureddine.** (2022). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Wild and Cultivated *Rosmarinus Officinalis* from Two Moroccan Localities. *Journal of Ecological Engineering*, 23(3): 214–222. DOI:10.12911/22998993/145458 méridionales. Tome II, CNRS, Paris, (1963) : pp 600(1963).
65. **Messabhia, A., Soualmia, A., & Guerdi, A.** (2022). *Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis* (Doctoral dissertation, Université de Larbi Tebessi–Tebessa).
66. **Meziane, D.** (2014). Extraction assistée par micro-ondes des antioxydants à partir du *Rosmarinus officinalis* L. et de ses coproduits (Doctoral dissertation).

67. **Moccia, S., Crescente, G., Bouymajane, A., Cascone, G., Squillaci, G., & Morana, A.** (2023). Essential oils: An Overview of Extraction Methods and Food Applications. *Current Nutraceuticals*, 04. <https://doi.org/10.2174/2665978604666230601104713>
68. **Mohammedi, Z.** (2013). Etude Phytochimique Et Activités Biologiques De Quelques Plantes Médicinales De La Région Nord Et Sud Ouest De l'Algérie (Doctoral Dissertation).
69. **Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C.** (2017). Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Agrobiologia*, 7(1), 363-370. <https://www.asjp.cerist.dz/en/article/119423>
70. **Naab D et Hadibi S.** (2018). Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles. *Zingiber officinale* et *Rosmarinus officinalis* en combinaison avec la nisine -101p. (en ligne). Mémoire de Master: Biotechnologie microbienne. TIizi - Ouzou. Université Mouloud Mammeri Disponible sur : <http://agrobiologia.net/online/performances-de-croissance-en-pre-sevrage-des-chevreaux-de-la-race-alpine-eleves-dans-les-conditions-arides-du-sud-est-algerien/aissaoui>.
71. **Nandan, K., et Rana, D.** (2024). Exploring Secondary Metabolites: An Introduction. 12–22. <https://doi.org/10.9734/bpi/mono/978-93-48388-70-4/ch2>
72. **Nascimento, F. H. de S., Oliveira, V. J. dos S. de, & Reis, B. L. dos.** (2024). Utilização de plantas medicinais no tratamento da obesidade, diabetes mellitus tipo 2 e hipertensão arterial sistêmica em duas Unidades de Saúde da Família. *Deleted Journal*, 18, e1512. <https://doi.org/10.32712/2446-4775.2024.1512>
73. **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards).** (2001) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement, M100- S11, Wayne, PA, USA.
74. **Nieto, G., Ros, G., et Castillo, J.** (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines*, 5(3), 98.
75. **Oliveira, J. R. de, Camargo, S. E. A., et Oliveira, L. D. de.** (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 26(1), 5. <https://doi.org/10.1186/S12929-019-0499-8>

76. **Oussala M., Caill S., Saucier L., Lacroix M.** (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from Meat Science, 236-244.
77. **Pandey A-K, Kumar P, Singh P, Tripathi N-N et Bajpai V-K .** (2017). Essential oils: Sources of an .
78. **Pandey, M., Pandey, A., Kumar, R., Pathak, A., et Dikshit, A.** (2016). Analyse antimicrobienne comparative de divers extraits de *Tridax procumbens* L. sur des bactéries pathogènes présentes dans l'eau. *Revue pharmaceutique internationale actuelle*, 5(3) 22-26.
79. **Pfaller M.A., Messer S.A., Karlsson A., Bolmstrom A.** (1998). Evaluation of the Etestmethod for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by usingthree different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*. 36 (9): 2586–2589.
80. **QUEZEL P., SANTA S.** (1963): Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques.
81. **Quinone.** (2022). Elsevier eBooks. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-824315-2.00255-4>
82. **Ramasubramania raja, R., Likitha, M., & Sekar, M.** (2018). Alkaloids – an overview. 2. <https://doi.org/10.28933/JPRR-2018-02-2801>
83. **Rammanee, K., et Hongpattarakere, T.** (2011). Effets des huiles essentielles d'agrumes tropicaux sur la croissance, la production d'aflatoxines et les altérations de l'ultrastructure d'*Aspergillus flavus* et d'*Aspergillus parasiticus*, *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1050-1059.
84. **Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M., & Tantaoui-Elaraki, A.** (1993). Méthode améliorée pour la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles en milieu gélosé. *Journal of Essential Oil Research*, 5(2), 179-184.
85. **Ribeiro, A., Caleja, C., Barros, L., Santos-Buelga, C., Barreiro, M. F., & Ferreira, I. C.** (2016). Rosemary extracts in functional foods: Extraction, chemical characterization and incorporation of free and microencapsulated forms in cottage cheese. *Food & function*, 7(5), 2185-2196.

86. **Saada, A., Monpierre, L., Djénontin, E., Andriantsoaririna, V., Ratsimbason, M., Randriamialinoro, F., ... & Durand, R.** (2024). Efficacité in vitro des huiles essentielles contre diverses espèces de *Candida*. *Recherche sur les produits naturels*, 1-6.
87. **Santos-Buelga, C., & San Feliciano, A.** (2017). Flavonoids: From Structure to Health Issues. *Molecules*, 22(3), 477. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES22030477>
88. **Schiller, C., & Schiller, D.** (2008). *The aromatherapy encyclopedia: a concise guide to over 385 plant oils*. Basic Health Publications, Inc..
89. **Sehari N-H.** (2018). Etude de l'effet de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* et de la *Mentha pulegium* dans la lutte biologique contre les parasites des denrées stockées. Thèse de Doctorat en Biodiversité Végétale. Univ de Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes. p 71-72
90. **Sell, C., & Sell, C. S. (Eds.)**. (2006). *The chemistry of fragrances: from perfumer to consumer*. Royal Society of Chemistry.
91. **Selles C.** (2012). Valorisation d'une plante médicinale à activité antidiabétique de la région de Tlemcen: *Anacyclus pyrethrum* L. Application de l'extrait aqueux à l'inhibition de corrosion d'un acier doux dans H₂SO₄ 0.5 M (Doctoral dissertation)
92. **Senanayake, S. P. J. N.** (2018). *Rosemary extract as a natural source of bioactive compounds*. 2, 51–57. <https://doi.org/10.31665/JFB.2018.2140>
93. **Shahidi, F., & Zhong, Y.** (2011). Lipid Oxidation and Improving the Oxidative Stability. *ChemInform*, 42(7). <https://doi.org/10.1002/CHIN.201107260>
94. **Shebi, S., Geetha, R., & Thangavelu, L.** (2019). Evaluation of the anti-mycotic activity of rosemary oil against *Candida albicans*. *Int J Res Pharm Sci*, 10(2), 1228-32
95. **Shokri, A, Majid S, Mahdi Fr, et al.** (2017). "Antileishmanial Activity of *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus Officinalis* Essential Oils and Nanoemulsions on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER)". *Iranian Journal of Parasitology*, vol. 12, n°4, pp 622-631.
96. **Souiy, Z.** (2023). Essential oil extraction process. In *Essential Oils-Recent Advances, New Perspectives and Applications*. IntechOpen.

97. **Trombetta, D., Castelli, F., Sarpietro, M. G., Venuti, V., Cristani, M., Daniele, C., ... & Bisignano, G.** (2005). Mécanismes d'action antibactérienne de trois monoterpènes. *Agents antimicrobiens et chimiothérapie*, 49(6), 2474-2478.
98. **Ultee, A., Bennik, M. H. J., et Moezelaar, R. J. A. E. M.** (2002). Le groupe hydroxyle phénolique du carvacrol est essentiel à l'action contre le pathogène d'origine alimentaire *Bacillus cereus*. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 68(4), 1581-1588.
99. **Vardanyan, A., Mairapetyan, S., Tadevosyan, A., Asatryan, A., Matevosyan, A., & Ghalachyan, L.** (2025). Pharmacochémical investigation of *Rosmarinus officinalis* L. cultivated by clonal micropropagation and hydroponic combined method. *Functional Foods in Health and Disease*, 15(1), 19–29. <https://doi.org/10.31989/ffhd.v15i1.1526>
100. **Vella, F. M., & Laratta, B.** (2023, October). Rosemary Essential Oil Extraction and Residue Valorization by Means of Polyphenol Recovery. In *Biology and Life Sciences Forum* (Vol. 26, No. 1, p. 8). MDPI.
101. **Wang, P., Wei, Q., Zhang, C., Pan, H., Li, J., Ji, P., ... & An, Q.** (2024). Effect of rosemary on growth performance, meat quality, fatty acid content, intestinal flora, and antioxidant capacity of broilers. *Animals*, 14(17), 2480.
102. **Wilkinson, J. M.** (2006). Méthodes de test de l'activité antimicrobienne des extraits. *Phytomédecine moderne : transformer les plantes médicinales en médicaments*, 157-171.
103. **Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W.** (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus. Chimie*, 19(6), 754-765.
104. **Zeb, A.** (2021). Chemistry of phenolic antioxidants. In *Phenolic antioxidants in foods: Chemistry, biochemistry and analysis* (pp. 25-87). Cham: Springer International Publishing.
105. **ZERMANE. A.** (2010). Etude de l'extraction supercritique application aux systèmes Université Mentouri - Constantine, p 21.

106. **Zhang, L., & Lü, J.** (2024). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) polyphenols and inflammatory bowel diseases: Major phytochemicals, functional properties, and health effects. *Fitoterapia*, 177, 106074. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2024.106074>
107. **Zhang, S., Wang, Y., Fan, H. S., & Li, R.** (2024). Review of the Antimicrobial Properties of Rosemary Extract for Preservative Functions. <https://doi.org/10.54097/4vdy358>

