

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

تعماري للايج تماعنوب

Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Sciences Biologique



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention de diplôme de **Master** en

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Microbiologie Appliquée

L'effet antimicrobien et antifongique Des extraits du romarin

Présenté par:

- Kerbel souaad
- Ladjal Ettoumi Sara
- Semai Ihcene

Devant le jury :

Président : Mr CHEURFA M. (MCA. Univ.DBKM).

Promotrice : Mme BENSEHAILA S. (MCA. Univ.DBKM).

Co-promoteur : Mr ATTOU A. (PhD-S. Univ Djelfa).

Examineur : Mr AMROUCHE Z. (MCA. Univ.DBKM).

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu tout puissant qui nous a accordé santé et courage pour mener ce travail jusqu'au bout.

Nous tenons à remercier également notre promotrice Mme Benshaila.S., et Mr Attou.A. qui a accepté de nous encadrer et qui nous a toujours guider dans la réalisation de ce travail.

Nous remercions Mr Cheurfa.M., d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous vifs remerciements vont également à : Mr Amrouche.Z., pour avoir acceptés d'examiner notre travail.

Enfin nous remercions tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin pour l'élaboration de ce travail.

Dédicace I

*A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le
Chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que*

Je dédie :

*A la chandelle de ma vie, à la lumière de mon univers, à la source de
Tendresse, A la femme qui m'a mise au monde ma mère Aicha.*

*A l'être le plus cher de ma vie, mon père qui m'a apporté son appui
Durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont
Donnée confiance, courage et sécurité.*

A l'homme de ma vie Mohammed

A mes chères sœurs Israa Asmaa Maroua

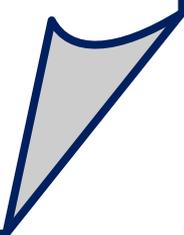
A mes chers frères Farouk et Rayan

A mes trinôme Sara et Souad

Spécial dédicaces à toutes personnes qui trace un empreint dans mon travail

Je-vous aime.

Semai Ihcéne



Dédicace 2

*Je dédie ce travail à ceux que j'ai tant aimés avec beaucoup
D'affection, mes parents, tous les mots du monde ne peuvent
Exprimer l'amour et le respect que je porte à ma mère et mon
Père pour leur soutien et leurs sacrifices énormes.*

A mon fils

A mes sœurs et Frères

A mon cher mari

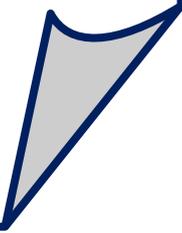
A ma seconde famille

A mes trinôme Sara et Ihcéne

A tous de m'apporter chacun à votre manière

Quelque chose dans ma vie

Kerbel souaad



Dédicace 3

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère (Nassira) qui souhaité voir ma réussite et m'a donnée toute l'affection pour que je puisse continuer.

A mon cher père (Boualam), que Dieu ait pitié de lui, qui a souhaité que j'obtienne ce succès.

A mes chères frère (mohamed – khalil – billale – abodjihad – djallal - ossama) s et mes sœurs (nawal – amal - howaria)

Aux petits bourgeons fils de frères et sœurs :(yasser ; bouallam ; taim ; hamani ; diaa) et (razan ; sendesse ; hund ; noure ; iman ; ranim ; alaa ; sidra)

La femme de mon cher frère (Hafida)

A tous mes enseignants

A mes amis dans cette recherche (Semai Ihcene - Kerbel souaad)

A tous mes amis (Amina et Abir et

Abla ; Amina ; Soumia ; Lobna ; Fatiha ; Romaissa)

*À ceux qui m'ont soutenu et soutenu dans mon parcours académique, mon enseignant
ATTOU Alaa Eddine.*

Toute ma promotion, en générale et tous les étudiants de Micro Biologie

Ladjal Ettoumi Sara

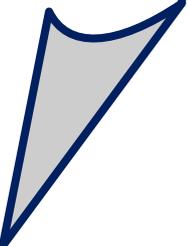


Table des Matières

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Résumé

Introduction Générale

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : La plante médicinale *Rosmarinus officinalis-L*

I.1. Les plante médicinale	1
I.1.1. Introduction.....	1
I.1.2. Les avantages des plantes médicinales	1
I.2. La plante de <i>Rosmarinus officinalis-L</i>	2
I.2.1. Historique.....	2
-Usage traditionnelles.....	2
-Usage moderne.....	3
I.2.2. Définition	3
I.2.3 Etymologie.....	4
Appellations régionales :.....	4
b) Description botanique :	5
I.2.4. Répartition géographique de la plante	6
I.2.5. Récolte du Romarin	7
I.2.6. Parties utilisés	7
I.2.7. Utilisations du romarin « <i>Rosmarinus officinalis</i> »	7
II. Propriétés du Romarin.	8

Chapitre II: Composés Phénoliques

II .Composés Phénoliques	9
II.1.Les polyphenols	9
II.2. Classification des polyphénols.	9
II.2.1. Les acides phénols.	9
II.2.1.1. Définition.....	9
II.2.1.2. Propriétés biologiques.	10
II.2.2. Flavonoïdes.....	10
II.2.2.1. Définition.....	10
II.2.2.2. Propriétés biologique	10
II.2.3. Les coumarines.	11
II.2.3.1. Définition.....	11
II.2.3.2. Propriétés biologiques.	11
II.2.4. Les quinones.	11
II.2.4.1. Définition.....	11
II.2.4.2. Propriétés biologiques.	11
II.2.5. Les tanins.....	12
II.2.5.1. Définition.....	12
II.2.5.2. Propriétés biologiques.	12
II.2.6. Les saponines.....	12
II.2.6.1. Définition.....	12
II.2.6.2. Propriété biologiques.....	12

Partie Expérimental

Materiel et Methodes

1.Matériels et Méthodes	13
III.2. 2.Présentation de la forêt "SIDI- SBAA"	13
III.2.2.1. Caractéristiques géographiques du site " forêt	14

III.2.2.2. Caractéristiques climatiques du site " forêt :	15
2. Méthodes d'étude :	15
2.1. Récolte et séchage	15
2.2. Détermination de taux d'humidité	16
2.3. Préparez la solution (extraits)	16
2.4. Concassage et broyage	17
2.5. Macération a l'éthanol-eau distillée :	17
2.6. Conservation de l'extrait	17
2.7. Détermination du rendement :	17
3. Les tests phytochimique :	18
3.1. Test des saponosides	18
3.2. Test des flavonoïdes	18
3.4. Test des Tanins	18
3.6. Sucres réducteurs :	19
4. Dosage des polyphénols totaux	19
Principe	19
Mode opératoire	19
5. Etude de l'activité biologique des extraits	20
➤ Principe	20
➤ Mode opératoire	20
➤ Calcul des IC50	21
6. Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique :	21
6.1.1. Les milieux de cultures utilisés :	22
6.1.2. Préparation de précultures	22
6.1.3. Conservation des souches	22
6.1.4. Préparation des extraits	22
6.1.5. évaluation de l'activité antibactérienne :	22
6.2.1. Les milieux de cultures utilisés :	23

6.2.2.Préparation de précultures	23
6.2.3.Préparation des dilutions de l'extrait.....	23
6.2.4.évaluation de l'activité antifongique :	23

Résultats et Discussion

1. Taux d'humidité	24
2.Détermination du rendement :	25
3. Etude phytochimique.....	26
4.Dosage des polyphénols totaux	27
5.Activité antioxydante :	27
6.Activité antimicrobienne	30
7.Activate antifongique	33

CONCLUSION

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Liste des Abréviations

% : pourcentage.

A : Absorbance.

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

EXT : extraits.

H : Humidité.

MH : Mueller Hinton.

MI : Macération I.

MII : Macération II. OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ml : Millilitre.

MS : Matière sèche.

MS : Matière sèche.

R : Rendement.

RO : *Rosmarinus officinalis*.

UV : Ultra-violet.

V : volume.

Liste des Tableaux

Tableaux 01 : Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	04
Tableaux 02 : Les trois genres de La plante médicinale <i>Rosmarinus officinalis</i> -L.....	05
Tableaux 03 : Coordonnés géographiques de la forêt "SIDI- SBAA".....	13
Tableaux 04 : Les donne climatique P (mm) et T moy (°C) de la forêt "SIDI- SBAA".....	14
Tableaux 05 : La Sensibilité par chèque Zone Diamètre d'inhibition	21
Tableaux 06 : Taux d'humidité des feuilles du <i>Rosmarinus officinalis</i>	24
Tableaux 07 : Les composés phytochimique détectés dans <i>Rosmarinus officinalis</i> de la région de Miliana.....	26
Tableaux 08 : Résultats teneurs des polyphénols totaux de chaque extrait.....	27
Tableaux 09 : Valeurs des IC50.....	30
Tableaux 10 : Diamtère des zones d'inibition des différentes souches testées	31
Tableaux 11 : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition des différents extraits De romarin à la souche fongique testée (<i>C. albicans</i>).....	33

Liste des Figures

Figures 01 : Photo de <i>Rosmarinus officinalis</i>	03
Figures 02 : Photo représente les parties de la plante du <i>Rosmarinus officinalis</i>	06
Figures 03 : Localisation du site d'étude " forêt : SIDI- SBAA".....	14
Figures 04 : Diagramme ombrothermique de Gaussen du site "forêt : SIDI-SBAA" (1981-2018)	15
Figures 05 : Schéma préparation de l'extrait de romarin.....	17
Figures 06 : Réaction du DPPH avec un antioxydant.....	20
Figures 07 : Teneur en humidité et en matière sèche de l'échantillon étudié.....	24
Figures 08 : Le rendement d'extraction des extraits bruts de romarin.....	25
Figures 09 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro-éthanolique 1.....	28
Figures 10 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro-éthanolique1.....	28

Résumé

Rosmarinus officinalis (Lamiacée) est une plante endémique de la flore algérienne très utilisée en Algérie pour ses vertus médicinales et contient des substances et des composés naturels qui ont montré un grand potentiel dans le traitement de maladies humaines telles que le cancer, les maladies infectieuses ...etc. Dans ce cadre, le présent travail est porté sur une étude phytochimique des polyphénols majoritaires contenus dans cette plante, et une évaluation de leur activité antioxydante, antifongique et antibactérienne.

Le rendement de l'extraction par l'éthanol et l'eau distillée dans les feuilles de romarin a un pourcentage de 7 % ; 9.85 % (70/30 ; v/v) et (50/50 ; v/v) respectivement. L'Ext 2 est supérieur à celui de l'Ext 1.

En effet la teneur totale en composés phénoliques a été déterminée en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu à l'aide de l'acide gallique utilisé comme phénol standards, Les teneurs en composés phénoliques totaux révèlent que la teneur la plus diminuée des polyphénols est constatée dans la fraction l'hydro-éthanolique (70/30 ; v/v) du *Rosmarinus officinalis* (0.95mg EAG/g d'Extrait) et pour l'hydro-éthanolique (1.9 mg EQ/g d'Extrait).

La détermination de l'activité anti-radicalaire vis-à-vis le radical DPPH montre que l'extrait l'hydro-éthanolique (50/50 ; v/v) a un pourcentage d'inhibition égal 74,87 % présente un pouvoir antioxydant plus élevé que celui de l'extrait l'hydro-éthanolique (70/30 ; v/v) a un pourcentage d'inhibition égal 59,85 %.

L'activité antibactérienne a également été testée sur trois souches bactériennes (Gram+ et Gram-) selon la méthode de diffusion de disque.

Les bactéries testées sont plus sensibles (*E. coli*, *Pseudomonas aërogénosa* et *Staphylococcus aureus*) à l'action des extraits testés.

L'activité antifongique a également été testée sur *Candida Albicans* selon la méthode de diffusion de disque La levure testée est plus sensible à l'action des extraits testés.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, activité antioxydante, antimicrobienne, antifongique

الملخص

إكليل الجبل هو نبات مستوطن من النباتات الجزائرية يستخدم على نطاق واسع في الجزائر لفوائده الطبية ويحتوي على مواد ومركبات طبيعية أظهرت إمكانات كبيرة في علاج الأمراض التي تصيب الإنسان مثل السرطان والأمراض المعدية.. إلخ. في السياق، تم تنفيذ العمل الحالي على دراسة كيميائية نباتية للبوليفينول الرئيسي الموجود في هذا النبات، وتقييم نشاطها المضاد للأكسدة والفطريات والبكتيريا.

حصيلة مردود مستخلصات الهيدروإيثانول من أوراق إكليل الجبل بنسبة 7٪ من (30/70؛ v / v) و85.9٪ من (50/50؛ v / v) على التوالي.. نسبة المستخلص 2 أعلى من نسبة المستخلص 1.

في الواقع تم تحديد المحتوى الكلي للمركبات الفينولية باستخدام كاشف folin_cicalteu باستخدام حمض الغاليك المستخدم كمعيار الفينول، لوحظ البولي فينول في الجزء الهيدروإيثانول (v/v 30/70) من إكليل الجبل (0.95 mg EAG /g) من المستخلص 1 extraie والجزء الهيدروإيثانول (1.9 mg EQ/g) من مستخلص 02 extraie.

تم تقييم مضادات الأكسدة عن طريق اختبار DPPH، حيث وجد أن مستخلص إكليل الجبل الهيدروإيثانول (50/50) لديه نسبة التثبيط تساوي 74.87٪ أعلى من مضاد الأكسدة الموجود في الهيدروإيثانول (30/70) له نسبة تثبيط تساوي 59.85٪.

تم اختيار النشاط المضاد للبكتيريا أيضا على ثلاث سلالات بكتيرية (Gram+.Gram-) وفقا لطريقة انتشار القرص البكتيريا المختبرة أكثر حساسية لعمل المستخلصات المختبرة.

كما تم اختبار الفعالية المضادة للفطريات على المبيضات لبيانات وفقا لطريقة انتشار القرص، وكانت الخميرة المختبرة أكثر حساسية لتأثير المستخلصات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل، نشاط مضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، مضاد للفطريات

Abstract

Rosmarinus officinalis (Lamiaceae) is an endemic plant of the Algerian flora widely used in Algeria for its medicinal properties and contains natural substances and compounds which have shown great potential in the treatment of human diseases such as cancer, infectious diseases, etc.... In this context, the present work is focused on a phytochemical study of the majority polyphenols contained in this plant, and an evaluation of their antioxidant, antifungal and antibacterial activity.

The yield of the extraction by ethanol and distilled water in the rosemary leaves has a percentage of 7% ; 9.85% (70/30 ; v/v) and (50/50 ; v/v) respectively. Ext 2 is superior to Ext 1.

Indeed the total content of phenolic compounds was determined using the Folin-Ciocalteu reagent using gallic acid used as phenol standards, The contents of total phenolic compounds reveal that the lowest content of polyphenols is observed in the hydro-ethanolic fraction (70/30 ; v/v) of *Rosmarinus officinalis* (0.95mg EAG/g of Extract) and for the hydro-ethanolic (1.9 mg EQ/g of Extract)

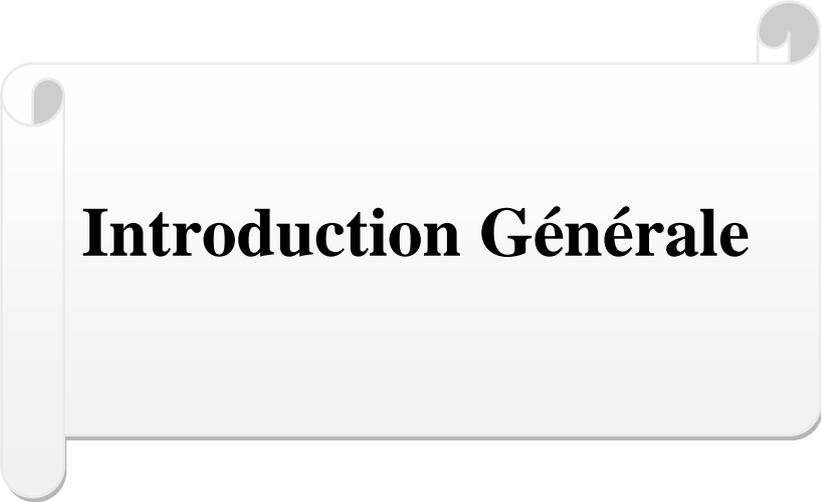
The determination of the anti-radical activity vis-à-vis the DPPH radical shows that the hydro-ethanolic extract (50/50 ; v/v) has a percentage of inhibition equal to 74.87% presents a antioxidant power higher than that of the hydro-ethanolic extract (70/30 ; v/v) has a percentage of inhibition equal to 59.85%.

Antibacterial activity also tested on three bacterial strains (Gram+ and Gram-) according to disk diffusion method.

The bacteria tested are more sensitive (*E. coli*, *Pseudomonas aerogenosa* and *Staphylococcus aureus*) to the action of the extracts tested.

The antifungal activity also tested on *Candida Albicans* according to the disc diffusion method The yeast tested are more sensitive to the action of the extracts tested.

Keywords : *Rosmarinus officinale*, antioxidant activity, antimicrobial, antifungal



Introduction Générale

Introduction Générale

Introduction Générale :

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'homme depuis l'antiquité. De nos jours leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. (Mouas, et al., 2017). L'Algérie est caractérisée par une grande superficie étendant de la mer Méditerranée au nord à la profondeur du Sahara africain au sud, cette extension lui donne une diversité dans la situation climatique, et présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (Mouas, et al., 2017). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. (Benbott et Bouali, 2018).

Les plantes supérieures ont la capacité de synthétiser par des voies métaboliques complexe, de nombreux composés qui sont utilisés pour diverses fonctions adaptatives. Surtout lorsqu'ils sont confrontés à des stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Les plantes renferment donc une large variété de molécules chimiques (, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques (antitumorale, antivirale, antimicrobienne, antioxydante cicatrisante...). Aujourd'hui, les gens reconnaissent aussi que les plantes sont Un grand nombre de molécules biologiquement actives. (Thomas, 2011).

Et devant cette grande diversité de plantes médicinales, nous avons notre étude sur *Rosmarinus officinalis*, de régions Miliana. Ce choix est venu du fait de sa large diffusion et de sa grande utilisation par la population en médecine traditionnelle en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques et efficaces.

Donc notre travail consiste à répondre à la question suivante : est ce que les extraits Hydro-éthanolique des feuillettes du *Rosmarinus officinalis* **peut provoquer d'activité antioxydante et l'effet antifongique et antimicrobienne ?**

Notre étude comporte deux grandes parties, dont la première est consacrée à la synthèse Bibliographique, elle est divisée en deux chapitres :

➤ Nous aborderons les différentes connaissances bibliographiques sur *Rosmarinus officinalis*.

➤ Le deuxième chapitre sera consacré aux Composés Phénoliques de *Rosmarinus officinalis*.

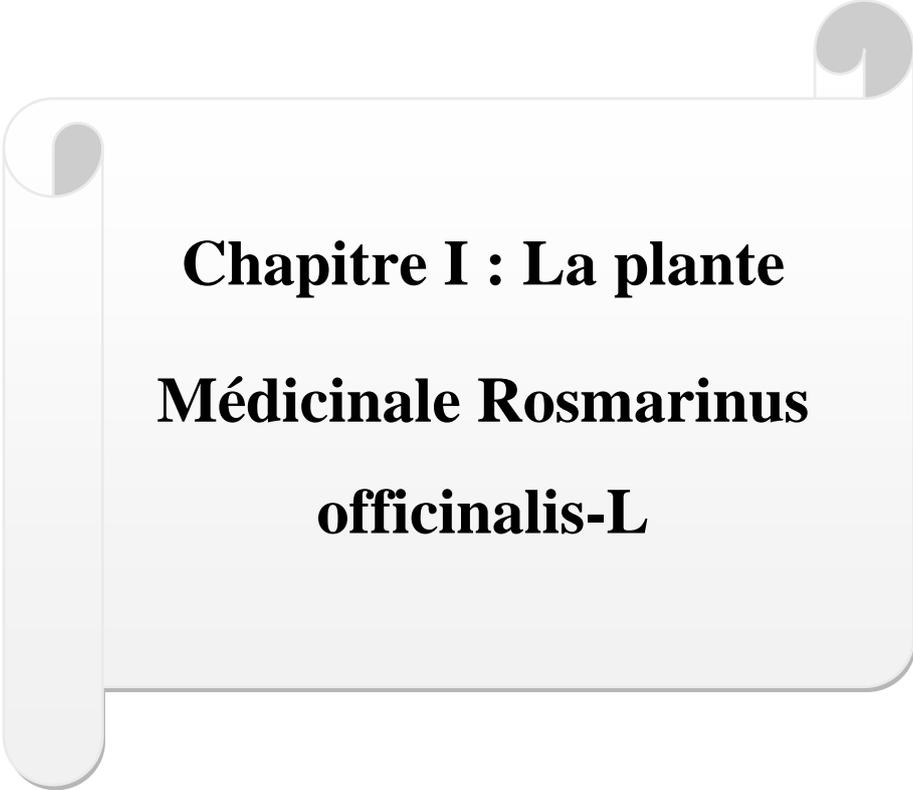
La partie pratique est subdivisée en deux chapitres :

➤ Le chapitre troisième a été consacré aux matériels et les méthodes utilisées pour l'extraction, taux d'humidité, le rendement, les tests phytochimique, déterminer la teneur en polyphénols totaux, suivis l'évaluation d'activités anti-oxydants, antifongique et antimicrobienne.

➤ Le chapitre quatrième sera consacré aux résultats obtenus dans notre étude.

A la lumière des résultats obtenus, différentes perspectives de recherche seront évoquées.

Enfin, une conclusion générale, résume l'ensemble des résultats obtenus.



**Chapitre I : La plante
Médicinale Rosmarinus
officinalis-L**

I.1. Les plante médicinale

I.1.1. Introduction

Les plantes médicinales sont importantes ils utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la sant² humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine ; feuille, fleur (**Dutertre, 2011**).

Depuis des milliers d'années, l'homme a utilisé les plantes trouvées dans la nature en médecine traditionnelle (MTR), pour traiter et soigner des maladies. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (**Sanago, 2006**).

Ces plantes médicinales contiennent de nombreux principes actifs où certains sont issus du métabolisme secondaire. Elles produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (**Chabbi, 2008**).

I.1.2. Les avantages des plantes médicinales

Depuis quelques temps, nous observons un réel engouement des français pour le retour aux médecines douces, naturelles. En effet, de plus en plus de personnes se tournent vers les plantes pour soulager leurs maux du quotidien. Pourtant ces plantes sont utilisées depuis des siècles par nos ancêtres, et elles sont même à l'origine des débuts de la médecine en Europe. Le 1er recueil de plantes médicinales datant de 1 500 avant J-C.

Pour se là on peut dire que les plantes médicinales elle a des avantages tel que Traitement d'infections chroniques ou récurrentes (bronchites, cystites), d'allergies, d'affections liées à une mauvaise circulation, d'affections gastro-intestinales, de problèmes dermatologiques ou d'affections légères du système nerveux (stress, insomnie et spasmophilie) et aussi leur pouvoir de l'activité antibactérienne, antifongique et antivirale. La phytothérapie soigne aussi les maladies articulaires comme l'arthrose (**Iserin et al., 2001**).

I.2. La plante de *Rosmarinus officinalis-L* :

I.2.1. Historique

Tout au long de l'histoire, la santé humaine a dépendu des plantes. Aujourd'hui, il est très difficile de trouver des preuves de la première utilisation de plantes médicinales à l'époque préhistorique. Par conséquent, la recherche devrait être basée sur la découverte de fossiles végétaux dans les sédiments (**De Rivera et Obón, 1991**).

La plante de romarin a également été importante tout au long de l'histoire humaine en raison des propriétés magiques ou miraculeuses qui lui sont attribuées dans diverses cultures (**Villiera, 2002**). Un exemple est les restes trouvés au cours de la première dynastie des pharaons, lorsque des brins de romarin ont été placés sur les tombes pour rafraîchir le voyage vers la terre des morts (**De Rivera et Obón, 1991**).

D'autre part, les Grecs et les Romains considéraient le romarin comme une plante sacrée. Les peuples de Grèce et de Rome croyaient que le romarin symbolisait l'amour et la mort, et depuis lors, cette plante est apparue lors des mariages et des funérailles, comme un symbole clair d'amour durable et que ce lien ne sera jamais rompu ; De même, les Grecs brûlaient des branches de romarin dans leurs temples (**Lopez et Costa, 1996 ; Prinz et al., 2007**).

Au Moyen Âge, cette plante n'était pas seulement utilisée à des fins alimentaires ou médicinales, elle avait également des utilisations telles que la fumigation des mauvais esprits et la protection contre les ravageurs (**Lawless, 1998 ; Pamplona-Roger, 1999 ; Villiera, 2002 ; Carvalho, 2010**).

-Usage traditionnelles

Rosmarinus officinalis est l'une des plantes médicinales les plus utilisées au monde. Les extraits d'huile essentielle de cette plante sont utilisés depuis des siècles dans la médecine traditionnelle pour traiter une variété de maux. Aujourd'hui, le romarin a trouvé une utilisation dans la médecine moderne (**Hostettmann, 1997**). Le romarin accélère la récupération, stimule les glandes surrénales et traite efficacement la fatigue. Depuis, il a des propriétés stimulantes et légèrement antidépressives. Il se prend en infusion de fleurs ou de feuilles. (**Auadi, 2010**).

-Usage moderne

Cette plante est utilisée en médecine pour ses diverses propriétés : antispasmodique, diurétique, hépato-protectrice, apaisante dans les maladies respiratoires (**Lemonica et al., 1996 ; Souza et al., 2008**), antibactérienne, antimutagène, antioxydante, chimio-prophylactique (**Ibanez et al., 2000 ; Perez et al., 2007 ; Wang et al., 2008**). anti-inflammatoires, anti métastatiques (**Cheung et Tai, 2007**), inhibiteurs de la tumorigènes mammaire et de la prolifération des tumeurs cutanées (**Singleton et Nelshoppen, 1991; Huang et al., 1994**). D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent la phase d'initiation et de stimulation de la carcinogenèse (**Oford et al., 1995**). Le carnosol du romarin a une activité anti-virale contre le virus du SIDA (VIH), tandis que l'acide carbonique a un fort effet inhibiteur sur la protéase du VIH-1 (**Paris et al., 1993 ; Aruoma et al., 1996**).

I.2.2. Définition

Le romarin *Rosmarinus officinalis* L. est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage. Le romarin aime les terrains calcaires et s'accommode très bien des contrées arides et rocailleuses. On le reconnaît aisément, toute l'année. Ce sont les feuilles, les sommités fleuries, qu'on aura pris le soin de sécher, ou l'huile essentielle qui sont utilisées en phytothérapie (**Gianmario et al., 2007**). Le romarin comme toutes les plantes aromatiques et médicinales contient des composés chimiques ayant des propriétés anti-inflammatoires et antispasmodiques et une action sur le système nerveux. (**Gonzalez et al., 2007**) (**Suzana. R et al., 2007**), antioxydante et antimicrobienne.



Figure 01 : Photo de *Rosmarinus officinalis*

I.2.3 Etymologie

Le nom latin Romarins est généralement interprété comme "ros" pour la rosée et "marinus" pour appartenir à la mer, bien qu'il pousse généralement loin de la mer. Cette interprétation serait un produit de l'étymologie traditionnelle, mais il est probable que le leom original dérive des mots grecs "rops" buisson et "myron" baume (Heinrich et al., 2006).

Appellations régionales :

En Algérie : Région de l'Est : Eklil, Région de l'Ouest : Helhal

En, Maroc et Tunisie : azir, barkella, haselban, Aklil, ikilil ljabal, klile (Bellakhdar, 2006).

En France : Herbe-aux-couronnes, rosée de mer, rose marine, romarin des troubadours, bouquet de la vierge (Botanica, 2011 ; Monod, 1978).

En Allemand : Folia Anthos, Folia Rorismarini, Encensier, rosemary (Angl), Rosmarinblatter, Krankkrautblatter, Kranzenkrautblatter, Rosmarein (Pharmacopée-française, 1998).

a) Place dans la systématique

Selon l'ancienne classification (Cronquist, 1981), basée sur les caractéristiques chimiques, morphologiques et anatomiques de la plante, *Rosmarinus officinalis* appartient à la famille de la menthe.

Tableaux 01 : Classification botanique *Rosmarinus officinalis*-L (Quézel & Santa, 1963).

Règne	Plante
Embranchement	Spermaphyte
Classe	Dicotylédone
Ordre	Lamiale
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

Tableaux 02 : les trois genre de La plante médicinale *Rosmarinus officinalis-L* (Bartels, 1997).

Le genre <i>Rosmarinus</i> ne regroupe que trois espèces
✓ <i>Rosmarinus Officinalis</i> l'espèce la plus aromatique et importante,
✓ <i>Rosmarinus eriocalix</i> Jord. & Fourr,
✓ <i>Rosmarinus tomentosus</i> Huber-Morath et Maire, morphologiquement très proche de <i>R.eriocalyx</i> .

b) Description botanique :

Le romarin est une plante herbacée vivace semi-arbustive à feuillage persistant avec un petit arbuste sauvage horticole et très ramifié (**Nurdan Sarac et al., 2000**). IL a une forte odeur aromatique et un goût camphré légèrement amer, pousse dans tous les sols, notamment calcaires. On le trouve dans les collines rocheuses sèches des pays méditerranéens (**Halim, 1997**). Il tolère également des températures élevées et pousse dans les zones basses et les zones chaudes (0-20°) m (**Rafik, 1998**). Atteignant une hauteur de 90 cm et pouvant atteindre 2 mètres.

c) Appareil végétatif

- Feuille :

Les feuilles sont aromatiques, simples et ont une nervure médiane proéminente, la couleur de la surface supérieure des feuilles a tendance à être vert claire. Les feuilles inférieures sont roses ou argentées. Les feuilles émergent de la tige en groupes de trois feuilles de longueur de 2 cm (**Rafik, 1998**).

- Tige :

La tige est lignifiée intensément ramifiée et porte de petites feuilles persistantes lancéolées et rigides qui se ressemblent à des aiguilles

- Racine :

La racine du *Rosmarinus officinalis-L*. Est profonde et ramifiée.

d) Appareil reproducteur :

- Fleur :

Sa floraison débute au mois d'avril jusqu'à fin octobre et ses belles fleurs sont bleues à violettes ou inclinées vers le blanc. Elles se rassemblent en inflorescences terminales en grappes qui ont deux lèvres, complètes supérieure et inférieure, lobées en trois lobes. Il est abondant en nectar, attire les abeilles, ses fleurs sont succulentes, et elles ne durent qu'un peu de temps (**Rafik, 1998**).

- Fruit

Est tétrakène de forme ovale située au fond du calice. Peut être sous forme de baie, sèche et lisse.



Figure 02 : photo représente les parties de la plante du *Rosmarinus officinalis*

I.2.4. Répartition géographique de la plante

Originnaire de la région méditerranéenne, le romarin pousse spontanément dans le Sud d'Europe et d'Asie, en particulier en Espagne, il existe aussi en Italie, en Grèce, dans le sud de

la France ; dans le nord de l'Afrique, les Philippines, Antilles et l'Australie (**Benikhlef, 2014**). (**Al Namer-Rachad, 2014**). Il préfère les climats chauds, est sub-spontané en plusieurs endroits privilégiant un sol calcaire, de faible altitude, ensoleillé et modérément sec (**Al namer-Rachad, 2014**).

I.2.5. Récolte du Romarin

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée quand les principes actifs sont à leur maximum, afin de pouvoir compter sur des effets utiles et constants. Les feuilles et les tiges herbacées sont récoltées lorsque la fleur commence à se développer, 12 à 18 mois après plantation (**Reclu, 2004**). Les feuilles se récoltent durant toute l'année mais sont plus parfumées au printemps. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil quand la rosée s'est dissipée (**Reclu, 2004 ; Gilly, 2005 ; Harding, 2011**).

I.2.6. Parties utilisées

Ce sont les feuilles on coupe seulement la partie aérienne et ne jamais arracher la plante entière de romarin (**Chafai Elalaoui et al., 2014**). Les sommités fleuries, séchées, ou l'huile essentielle et les extraits qui sont utilisés en phytothérapie.

I.2.7. Utilisations du romarin « *Rosmarinus officinalis* »

Le romarin est à la fois une plante ornementale, une plante aromatique et une plante médicinale. Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis* sont utilisées comme condiment et entrent dans la composition de thés et infusions. Romarin sous forme de feuille Huiles sèches ou huiles essentielles, principalement utilisées dans la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, revitalisants, shampoings et autres Préparer). *Rosmarinus officinalis* est également utilisé dans la production d'antioxydants naturels, avec Il existe diverses utilisations dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (**Chafai Elalaoui et al., 2014**).

I.2.8. Autres utilisations avec d'autres herbes :

Un mélange de ses feuilles et de baies de genièvre a été brûlé dans les hôpitaux de toute la France pour tuer les germes pendant la Seconde Guerre mondiale (**Benbott et Bouali, 2018**).

II. Propriétés du Romarin.

II.1. Activité antibactérienne

Les plantes riches en métabolites auraient des activités antibactériennes et antifongiques. La recherche se concentre actuellement sur la recherche de nouveaux agents antimicrobiens plus efficaces que les médicaments de synthèse, d'une part, et devraient être bien accueillis par l'organisation, d'autre part. De nombreux groupes de recherche ont étudié l'activité antimicrobienne des plantes médicinales et ont découvert que ces plantes sont des agents nutritifs actifs à la fois contre les bactéries et contre les champignons, les levures et les virus (**Pebret, 2003**).

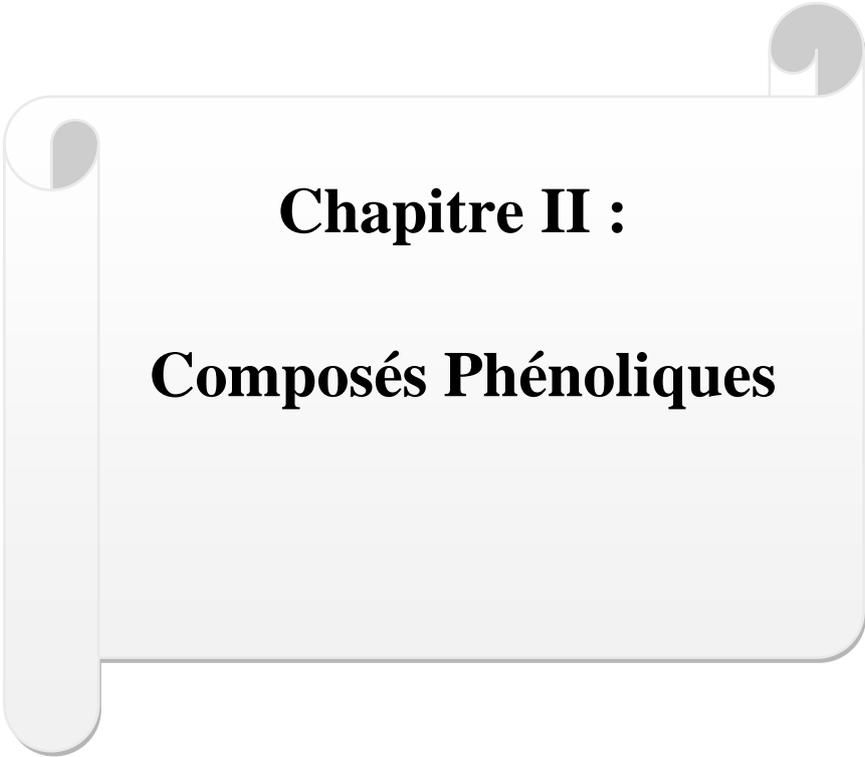
Les antibiotiques se sont avérés très efficaces dans le traitement de nombreuses maladies qui ont tourmenté l'humanité, fournissant un remède efficace contre des maladies autre fois considérées comme incurables. Après une longue période d'utilisation intensive d'antibiotiques, nous entrons dans des temps plus difficiles. Le monde bactérien est capable de s'adapter à la nouvelle donne écologique, notamment à la présence d'antibiotiques. En développant des stratégies de résistance aux molécules antibiotiques (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), les bactéries reprennent leur avantage (**Gaudy et Bugeaud, 2005**). Pour rechercher de nouveaux antibiotiques et antimicrobiens, une autre étude a été conçue pour étudier l'activité antimicrobienne Extraits de composés isolés de certaines plantes des 29 bactéries et levures d'importance dermatologique.

II.1. Activité antifongique

Le romarin (*Rosmarinus officinalis-L*) montre un effet inhibiteur sur la germination des spores ou des arthrospores de tous les dermatophytes testés à des concentrations comprises entre 0,001 et 4 %. Cet effet était plus fort avec les souches fongiques anthropophiles et à des concentrations plus faibles (**Ouraini et al., 2005**).

L'activité antifongique de différents extraits végétaux a été évaluée sur quatre espèces de champignons du genre *Candida.sp* : *Candida albicans* (3 souches), *Candida glabrata* (une souche), *Candida krusei* (une souche) et *Candida Dublini* (une souche). Notre sélection s'est principalement concentrée sur ces espèces, souvent impliquées dans de multiples candidats et présentant des problèmes de résistance aux antifongiques conventionnels **(Develoux et Bretagne, 2005)**.

Les infections causées par les souches de *Candida* sont la principale cause de mycoses nosocomiales (80 %). Les souches de *Candida* peuvent provoquer une variété d'infections allant d'infections bénignes des muqueuses à des infections invasives (septicémie) **(Ryan, 2004)**



Chapitre II :
Composés Phénoliques

II. Composés Phénoliques

L'une des principales origines des plantes réside dans leur capacité à produire Substances naturelles très diverses. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides) ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » Ils possèdent des métabolites dits "secondaires". Cette production de métabolites secondaires est très faible, comprenant plus de 200 000 molécules ont été identifiés et classés selon leur composition chimique. Parmi ces composés secondaires, on peut citer ; les alcaloïdes, les terpénoïdes, les composés phénoliques...etc (**Side, 2019**)

II.1. Les polyphénols

Les composés phénoliques sont un groupe très large de molécules dans le règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires des plantes. Ils sont dans leur Squelette., un ou plusieurs cycles aromatiques avec un ou plusieurs groupes hydroxyle ainsi que des groupements fonctionnels (esters, esters méthyliques...). Ces dernières années, la recherche sur les composés phénoliques a été En raison de leurs activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques et oxydantes même lutter contre le cancer. (**Belgaid et Chikhoun, 2009**)

II.2. Classification des polyphénols.

Les composés phénoliques représentent une grande famille dont la structure de base est le phénol, un cycle carbonique hydroxylé. (**Richard, 2012**) ; se trouvent de nombreuses substances, qui peuvent se classer selon leur structure.

II.2.1. Les acides phénols.

II.2.1.1. Définition.

Le terme d'acide-phénol (ou acide phénolique), en général, décrit les phénols possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique (**Hassaine, 2020**). Et sont des petites molécules constituées d'un Noyau benzénique, Ils sont solubles en majorité dans les

solvants polaires pour les phénols, Leur biosynthèse est dérivée de l'acide benzoïque (C₆-C₁) et acide cinnamiques (C₆-C₃) et sont incolores et plutôt rares dans la nature (**Richard, 2012**).

II.2.1.2. Propriétés biologiques.

Les phénols sont surtout des antiseptiques (arbutoside de la busserole), des antalgiques (dérivés salicylés de la reine des prés et du saule) et des anti-inflammatoires. Les acides phénoliques (comme l'acide rosmarinique), sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales (**Deschepper, 2017**) ; Par ailleurs, plusieurs composés acides phénoliques sont antibactériens et antifongiques.

II.2.2. Flavonoïdes.

II.2.2.1. Définition.

Les flavonoïdes découverts en 1936 par le Hongrois Szent-Györgyi dans le zeste de citron, Les flavonoïdes dérivé du terme en latin ; fla vus= jaune. Ont une structure de C₆-C₃-C₆ à poids moléculaire faible (**Hassaine, 2020**). Ce sont principalement des glycosides Soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, bien que quelques-uns soient solubles dans l'eau faible. Les génines sont solubles dans les solvants organiques non polaires, tandis que Les flavonoïdes tissulaires superficiels sont lipophiles et nécessitent des solvants modérés polarité (**Richard, 2012**). Les Flavonoïdes Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (**Touafek, 2010**), et Ils sont retrouvés également dans les plantes médicinales. Les composés peuvent être répartis en différentes classes de flavonoids Parmi les nombreuses classes de flavonoïdes identifiées, les principales sont : les flavonols, les flavones, les isoflavones, les flavanones, les flavanes et les anthocyanines (**Hassaine, 2020**).

II.2.2.2. Propriétés biologiques

La propriété biologique reconnue des flavonoids est telles qu'anti-inflammatoires, anti-allergiques, hépato protectrices, antimicrobiennes, antioxydantes et anticancérigènes (**Abedini, 2013**).

II.2.3. Les coumarines.

II.2.3.1. Définition.

Les coumarines constituent une classe importante des métabolites secondaires, produits naturels et donnent une odeur caractéristique semblable à celle du foin fraîchement fauché (**Kholkhal, 2014**). La structure de la coumarine se trouve dans environ 150 espèces, appartenant à 30 familles de plants différents, ils sont des composés aromatiques naturels, de formule brute ($C_9H_6O_2$) et divisés en deux : Coumarines simples, Coumarines complexes (**Hassaine, 2020**).

II.2.3.2. Propriétés biologiques.

Se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés physiologiques et antimicrobiennes. Elles sont capables de prévenir la peroxydation des lipides hydroxyles, superoxydes et pyroxyde (**Aidoud et Sammoudi, 2016**).

II.2.4. Les quinones.

II.2.4.1. Définition.

Ce sont des substances colorées et brillantes, en général rouges, jaunes ou orange, responsables de la réaction de brunissement dans les fruits et végétaux. Les quinones possèdent deux fonctions cétones. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou, éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq (orthoquinones) (**Chenni, 2010 ; Kholkhal, 2014**).

II.2.4.2. Propriétés biologiques.

Les quinones utilisées dans les colorants, dans les médicaments et dans les fongicides, possèdent généralement des propriétés antimicrobiennes (antifongiques) et anti-dermatophytiques. Leurs principales cibles dans la cellule microbienne sont les adhésines, les polypeptides et les enzymes membranaires (**Saidi, 2019**).

II.2.5. Les tanins.

II.2.5.1. Définition.

Les tanins Ils sont d'origine végétale et non azotée qu'on trouve dans de nombreux végétaux tels que les écorces d'arbres, les fruits (raisin, datte, café, cacao...) et les feuilles de thé, Ils sont solubles dans l'eau (en solution instable), dans l'alcool et l'acétone. (**Kholkhal, 2014**), Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail, ils sont caractérisés par une saveur astringente (**Laouini, 2014**).

II.2.5.2. Propriétés biologiques.

Les tanins permettent d'imperméabiliser la peau, Elle possède en outre des propriétés anti-diarrhéique, antibactérienne et antifongique, De même, ils ont un potentiel antioxydant, inhibiteur enzymatique, anti tumoral et antiviral (**Richard, 2012**).

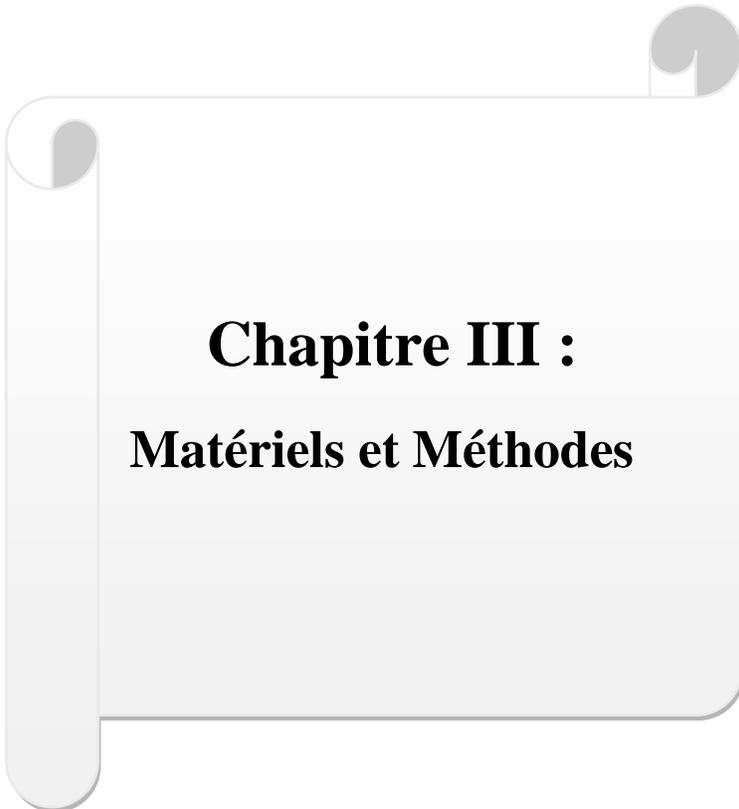
II.2.6. Les saponines.

II.2.6.1. Définition.

Le nom saponine dérive du mot latin « **sapo** », qui signifie savon, parce que ces composés moussent lorsqu'on les mélange avec l'eau Elles sont des constituants de nombreuses plantes médicinales (**Vincken et al., 2007**). Ils se composent d'aglycones non polaires liés à un ou plusieurs sucres elles. Ils existent sous deux formes : les stéroïdes et les triterpénoïdes (**Laouini, 2014**).

II.2.6.2. Propriété biologique.

Les saponosides isolés à partir des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle (**Sparg et al., 2004**). Ils possèdent une grande variété d'activités biologiques telles que : antipyrétique, antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires, antalgiques et anti- œdémateuses, sont particulièrement toxiques pour les animaux (**Laouini, 2014**).



Chapitre III :
Matériels et Méthodes

1. Matériels et Méthodes

Dans Notre études nous avons obtenu des extraits à partir des feuilles du *Rosmarinus officinalis* ; le but de notre travail expérimental était :

- L'étude qualitative et quantitatives des extraits.
- L'étude de l'activité antioxydant
- L'étude de l'activité antibactérienne
- L'étude de l'activité antifongique

Cette étude a été réalisé au niveau de Laboratoire de biochimie de l'université de Djilali Bounaâma de khemis-Miliana et dans laboratoire privé **ABADDENI**, cité ferhat ain defla.

1.1. Échantillonnage

Afin d'étudier l'effet antibactérienne et antifongique dès l'extrait de romarin, nous avons apporté une quantité de romarin, de la région de Miliana de la forêt de "**SIDI-SBAA**" le **23 mars 2022**. Avec le choix de deux emplacements pour extraire une quantité de romarin indiqué (**Tableau n° : 02**)

Tableau 03 : Coordonnés géographiques de la forêt "SIDI- SBAA"

Latitude	36.284756	36.285409
Longitude	2.261668	2.262162
Altitude	402m	402m

1.2. Présentation de la forêt "SIDI- SBAA"

La forêt "SIDI-SBAA" est localisée au niveau de la zone de "SIDI- SBAA", au Sud de la commune de Miliana, et à l'Ouest de la commune de Khemis Miliana. La forêt "SIDI-SBAA" s'étend sur une superficie totale de 741 ha. Elle est limitée au Nord par la montagne de Zakkar, à l'Est par la commune d'Ain Torki, à l'Ouest par la commune de Ben Allal et au Sud par la commune de Khemis-Milina.

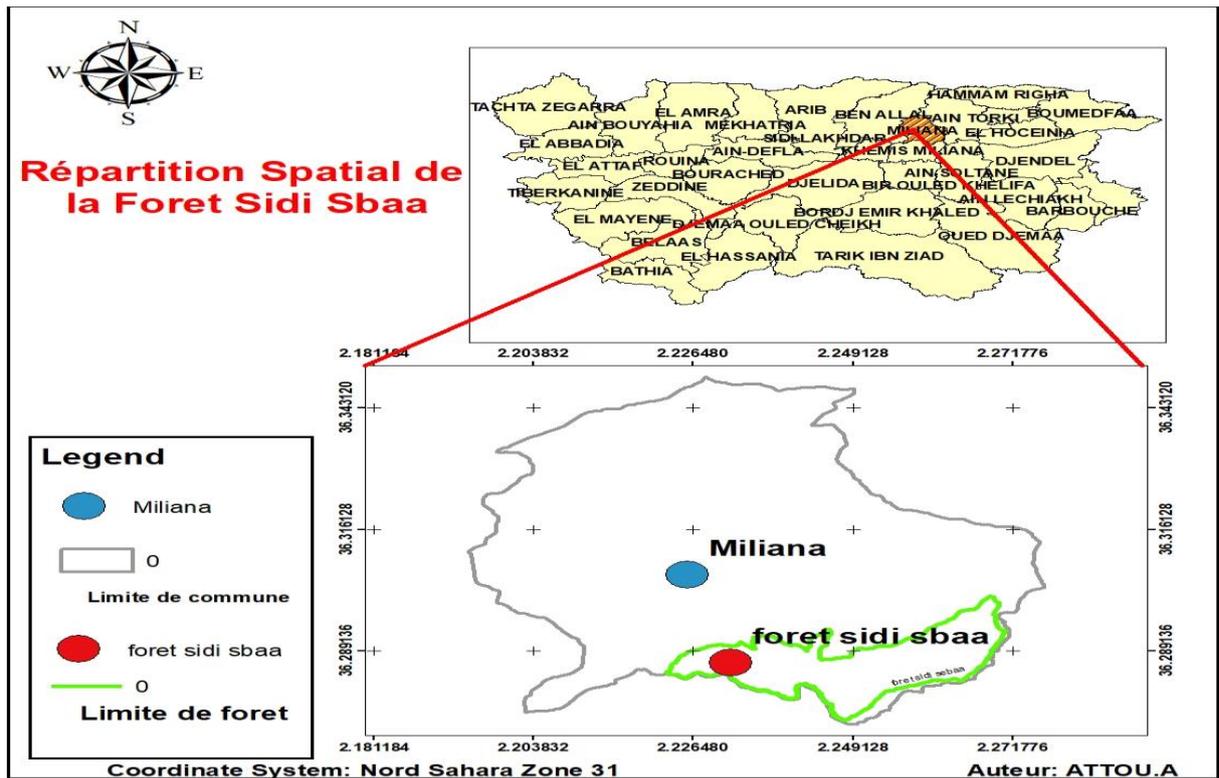


Figure 03 : Localisation du site d'étude " forêt : SIDI- SBAA" (ATTOU, 2022).

1.3.Caractéristiques géographiques du site " forêt : SIDI- SBAA" Les coordonnées géographiques de la forêt "SIDI- SBAA" sont résumés dans le tableau suivant

Tableaux 04 : les donne climatique P (mm) et T moy (°C) de la forêt "SIDI- SBAA".

Mois	P (mm)	T moy (°C)
janvier	67,1815789	8,55684211
Février	62,9771053	9,23815789
Mars	58,6247368	11,7044737
Avril	51,5665789	14,2855263
Mai	41,8507895	18,18
Juin	14,3192105	22,9173684
Juillet	4,475	26,6194737
Aout	12,4121053	26,8218421
septembre	29,4381579	22,9226316
octobre	44,6042105	18,4618421
novembre	67,0513158	13,1236842
Décembre	64,0589474	9,79184211

1.4. Caractéristiques climatiques du site " forêt : SIDI- SBAA" La figure suivante représente le Diagramme ombrothermique de Gausson tracé pour le site ("forêt : SIDI- SBAA") sur une période de 38 ans.

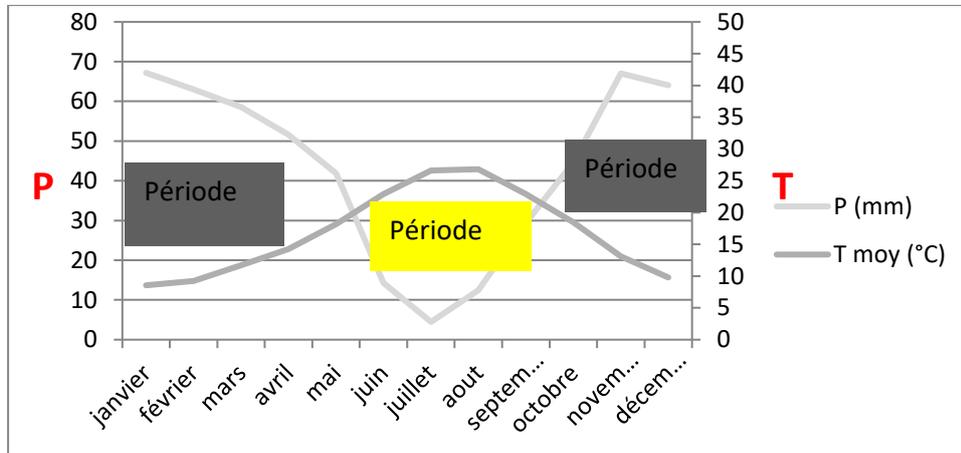


Figure 04 : Diagramme ombrothermique de Gausson du site "forêt : SIDI-SBAA" (1981-2018).

D'après les valeurs des précipitations et de la température pour la période (1981, 2018), le site "forêt : SIDI-SBAA" est caractérisé par une période humide allant janvier à Mai. Sachant que le période le plus pluvieux de 1^{er} zone (janvier jusqu'à novembre) est le mois avec une moyenne de précipitation 67.18 et 67.05 mm et une température moyenne de 8.55 et 13.12°C, avec 2^{eme} zone de mois (octobre jusqu'à décembre). Alors que la période sèche, allant de Mai à 15 septembre (**Tableaux 04**).

2. Méthodes d'étude :

2.1. Récolte et séchage

Pour préparer l'extrait de romarin, nous avons déposé notre échantillon, à l'abri du soleil, pendant une période de 15 jours, afin de sécher la plante de romarin de façon naturelle. Puis stocké à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation.

Le séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles récoltées afin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération des microorganismes.

2.2. Détermination de taux d'humidité

Peser 5 g de feuilles fraîches dans des capsules propres. Mettre ces capsules dans l'étuve à $103 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ pendant 1 heure.

Laisser refroidir les capsules avant la pesée dans un dessiccateur. Répéter l'opération Plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constante (Makhloufi, 2013).

Le taux d'humidité (H %) est calculé par la formule suivante :

$$H \% = (M1 - M2 / M1) \times 100$$

Où H% : Taux d'humidité en %

M1 : Masse de l'échantillon avant séchage en g.

M2 : Masse de l'échantil l'on après séchage en g.

Matière sèche MS% = $100 - H\%$

2.3. Préparez la solution (extraits)

Toutes les étapes et la méthode de préparation de l'extrait de romarin sont présentées dans la figure n°05

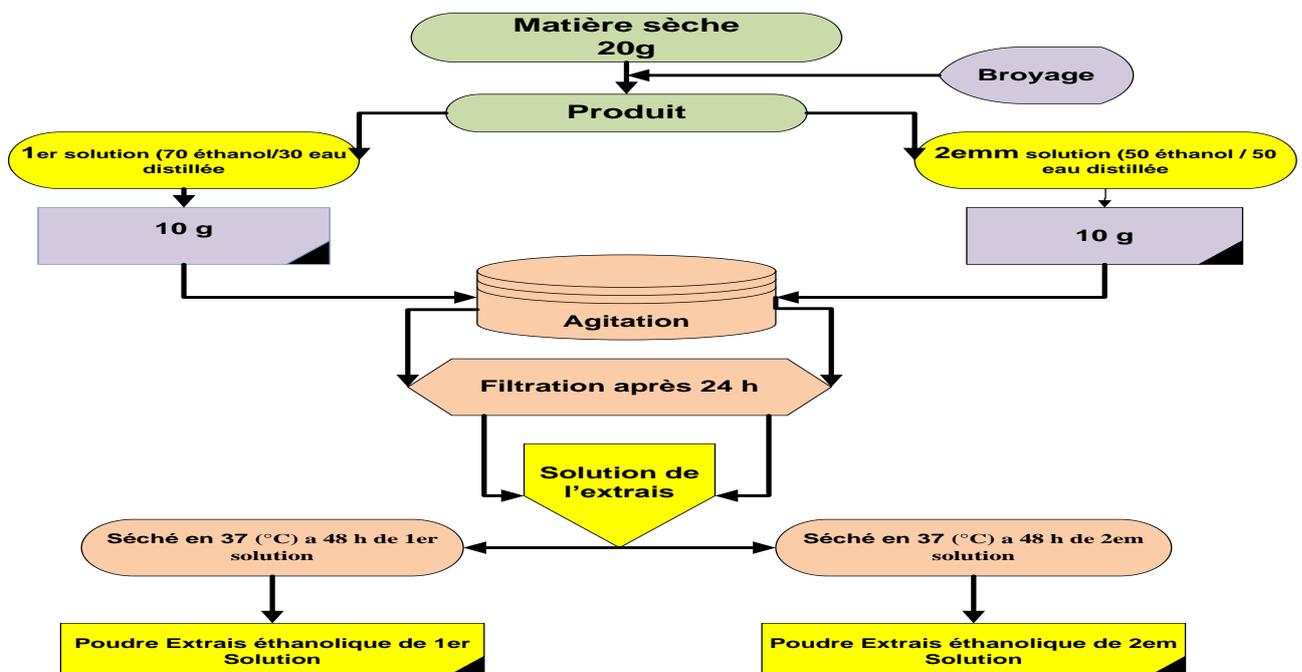


Figure 05 : Schéma préparation de l'extrait de romarin

2.4. Concassage et broyage

Les feuilles sèches ont été ensuite broyées à l'aide d'un broyeur électrique à hélice jusqu'à leur réduction en poudre a pour diminuer la taille de la matière végétale a pour objectif d'élever la surface du contact avec le solvant Utilisé.

L'extrait a été obtenu à partir des feuilles du *Rosmarinus officinalis* en utilisant une technique d'extraction solide-liquide par l'éthanol-eau distillée de différent pourcentage. (70 /30), (50/50).

La macération consiste à laisser tremper une plante sèche dans un solvant approprié pendant plusieurs heures (Lee et Lee, 2003), Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Hamia et al., 2014 ; Mouas et al., 2017).

2.5. Macération a l'éthanol-eau distillée :

10 g du matériel végétal en poudre ont été macérées dans 100 ml l'éthanol-eau distillée de deux solutions avec différent volume (70 E/30 E.D) ; (V/V) ET (50 E/50 E.D) ; (V/V) puis ajoutées dans un agitateur pendant 24 h température ambient. Les extraits ont été filtrés et évaporés sous pression réduite à 40° à 48°c dans une étuve pendant 24h.

2.6. Conservation de l'extrait

Nous avons obtenu des extraits purs qui ont été conservés dans un réfrigérant à une température de 4°C et à l'abri de la lumière en utilisant un papier d'Aluminium pour empêcher le contact de l'extrait avec la lumière.

2.7. Détermination du rendement :

Le rendement est le rapport entre la masse de matière végétale sèche extraite obtenue sur la masse de la matière végétale sèche utilisée. Il est calculé selon la relation suivante (Mohammedi, 2006) :

$$R\% = (m_{ex} / m) * 100$$

Où :

R : le rendement en (%).

M_{ex} : la masse de l'extrait après évaporation du solvant en (g).

M_{éch} : la masse sèche de l'échantillon végétal en (g)

3. Les tests phytochimique :

Ce sont des techniques qui permettent de déterminer les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal et des réactions physicochimiques qui permettent d'identifier la présence des substances chimiques.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes...etc.

3.1. Test des saponosides

0.5 g de poudre de la plante a été mélangé à 10 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. Après filtration, l'extrait a été refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (**François, 2010**).

3.2. Test des flavonoïdes

10g de plante, mise en poudre, a été pesé puis mélangé à 150 ml d'une solution HCl (1%). Ce mélange a été macéré durant 24 h, après filtration, nous avons ajouté NH₄OH au 10 ml du filtrat jusqu'à la basicité. L'apparition d'une couleur jaune clair implique la présence des **flavonoïdes** (**Harborne, 1998**).

3.4. Test des Tanins

Nous avons déposé 10g de plante, mise en poudre, dans l'alcool éthylique 50%, après filtration, nous avons ajouté au filtrat quelques gouttes FeCl₃ (1%).

La présence de tanins, il se développe une coloration verdâtre ou bleu-noir (**Harborne, 1998**).

3.5. Test des Quinones

1 ml de chaque extrait, a été traité par quelques gouttes d'une solution de soude à 1%, L'apparition d'une coloration jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones (**Oloyede, 2005**)

3.6. Sucres réducteurs :

1 ml de chaque extrait a été traité par 1mL de réactif de Fehling (0,5 ml de réactif A et 0,5 ml de réactif B), après chauffage, la formation d'un précipité rouge brique indique la présence des sucres réducteurs (**Trease et Evans, 1987**)

4. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux des différents extraits de la plante a été estimée par la méthode de (**Kähkönen et al., 1999**) en utilisant le réactif de Folin–Ciocalteu.

➤ Principe

Cette méthode est basée sur l'interaction des composés phénoliques avec le réactif de folin-ciocalteu qui est un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$), en oxydant les composés phénoliques, ce réactif est réduit en un mélange d'oxyde de tungstène (W_2PW_{23}) et d'oxyde de molybdène (MO_8O_{23}).

Ces produits ont une couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Ribéreau-Gayon et al., 1982**).

➤ Mode opératoire

La teneur en composés phénoliques a été estimée selon la méthode de la bouratoire ST Dans une fiole jaugée, une quantité de 20µl de chaque extrait a mélangée avec 100 ml de réactif de Folin– Ciocalteu à 10% est bien agitée.

Après incubation 3 min nous avons ajouté 300 µl d'une solution de carbonate de sodium à 7,5% (m/v). Ensuite, la fiole est complétée avec 2 ml de l'eau distillée puis laissé pendant 30 minutes à température ambiante, et la lecture est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (UV) à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (**mg EAG/g**).

5. Etude de l'activité biologique des extraits

Evaluation de l'activité antioxydant a été évalué par la méthode de DPPH.

➤ Principe :

Le DPPH est se caractérise par sa capacité à produire un radical libre stable utilisé pour remplacer les radicaux libres produits en réponses à des stress internes ou d'un antioxydant, la couleur violette caractéristique du DPPH est transformée en une couleur jaune (Brand et al., 1995). Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 515 et 517 nm,

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :



Où : (RH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphényle picryl hydrazine (jaune) (Yang et al., 2010).

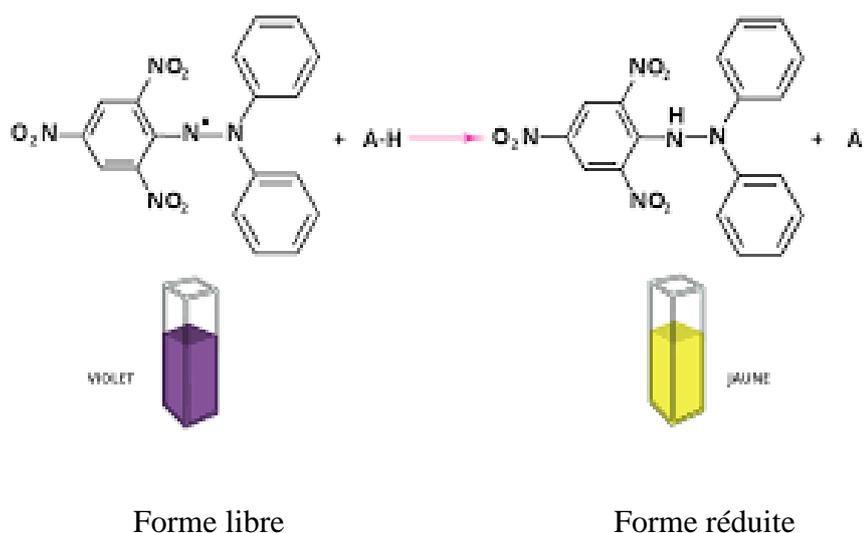


Figure 06 : réaction du DPPH avec un antioxydant (Brand-Williams et al., 1995)

➤ Mode opératoire :

Le protocole expérimental utilisé est : préparé d'une solution mère d'un 100ul d'Ext et 1ml d'éthanol ; à partir de la solution mère ont préparé des concentrations. 1 ml de DPPH a ensuite été ajouté à chaque C.

Le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle négatif qui contient uniquement la solution de DPPH est mesurée à 517 nm.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (PI%) :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{AbsTémoin} - \text{Abséchantillon})}{(\text{AbsTémoin})} * 100$$

- Inhibition% : pourcentage d'inhibition des radicaux libres.
- Abs Témoin : absorbance du témoin.
- Abs échantillon : Absorbance de la solution contenant l'échantillon ternes en présence.

➤ **Calcul des IC50 :**

La concentration inhibitrice à 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient Concentration 50%), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH.

Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires ou logarithmiques des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations de chacun des extraits testés (Scherer et Godoy, 2009).

6. Mise en évidence de l'activité antibactérienne et antifongique :

L'évaluation des activités antibactérienne et antifongique a été réalisée par la méthode de diffusion en gélose dite méthode de diffusion sur disques. Dans Cette étude a utilisé 4 souches de référence de type « ATCC : American Type Culture Collection », notamment :

- *Pseudomonas* ATCC 27853 Gram (-).
- *Escherichia coli* ATCC 25922 Gram (-)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Gram (+)
- *Candida albicans* ATCC 10231

L'activité est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (**Tableaux 05**) des différentes espèces vis à vis de l'extrait donnée .

Tableaux 05 : La Sensibilité par chèque Zone d'inhibition

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	diamètre < 8mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14 mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	diamètre > 20 mm

Source :(Mouas., et al. 2017)

6.1.1. Les milieux de cultures utilisés

Selon les méthodes utilisées et selon les souches, nous avons utilisé les

Milieux suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes ;
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux différents

Extraits de *Rosmarinus officinalis*.

6.1.2. Préparation de précultures

Les souches à tester ont été cultivées dans des boîtes de pétrie contenant de la gélose nutritive et incubée pendant 24h à 37°C.

6.1.3. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive) (Rožman et Jeršek, 2009).

6.1.4. Préparation des extraits

Un extrait a été testé dans cette partie (hydro-éthanolique). Les méthodes d'extraction sont présentées précédemment et les solutions des extraits ont été préparées dans le Diméthylsulfoxyde

L'activité antibactérienne a été effectuée avec les deux extraits à une concentration de 5mg/ml (solution mère) (Al Namer, 2014).

Les dilutions des deux extraits ont été préparées : (75 %, 50 %, 25 %) avec un solvant Organique Diméthyle sulfoxyde.

6.1.5. Évaluation de l'activité antibactérienne :

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide (milieu Muller- Hinton) pour l'activité antibactérienne.

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

Des boîtes de Pétri contenant la gélose de Mueller Hinton est déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. A la surface de chaque boîte on dépose des disques de

papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 10 µl de différents volumes d'extrait supplémentée de DMSO (EXT, 75 %, 50 %, 25 % et DMSO). Incubé pendant 24 heure 18° à 37°C. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm.

6.2.1. Les milieux de cultures utilisés :

Selon les méthodes utilisées et selon les souches, nous avons utilisé les milieux suivants :

Gélose Sabouraud avec Chloramphénicol pour l'isolement et l'entretien des levures et la Gélose Sabouraud pour l'étude de la sensibilité aux différents extraits de *Rosmarinus officinalis*.

6.2.2. Préparation de précultures

Les souches à tester ont été cultivées dans des boites de pétrie contenant le milieu Sabouraud et incubée pendant 48h à 37°C.

6.2.3. Préparation des dilutions de l'extrait

Les dilutions des deux extraits ont été préparées : (75 %, 50 % 25 %) avec le solvant l'éthanol.

6.2.4. Évaluation de l'activité antifongique :

Nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu solide. Après la préparation de la préculture, Une suspension de levures est préparée avec l'eau physiologique (Na Cl).

Des boites de Pétri contenant le milieu est déjà solidifié et inoculé de la souche testée. A la surface de chaque boite on dépose des disques de papier filtre (Whatman n° 5) stériles de 6 mm de diamètre imbibés par 10 µl de différentes dilutions d'extrait supplémentée (EXT, 75 %, 50 % 25 % et éthanol). Incubé pendant 48 heure à 37°C. Généralement, les levures seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition.



Chapitre IV :
Résultats et Discussion

1. Taux d'humidité

Les résultats de séchage sont présentés dans le tableau et la **figure** :

Tableaux 06: Taux d'humidité des feuilles du *Rosmarinus officinalis*.

Mo (g)	M1 (g)	H (%)
5	4.3	14

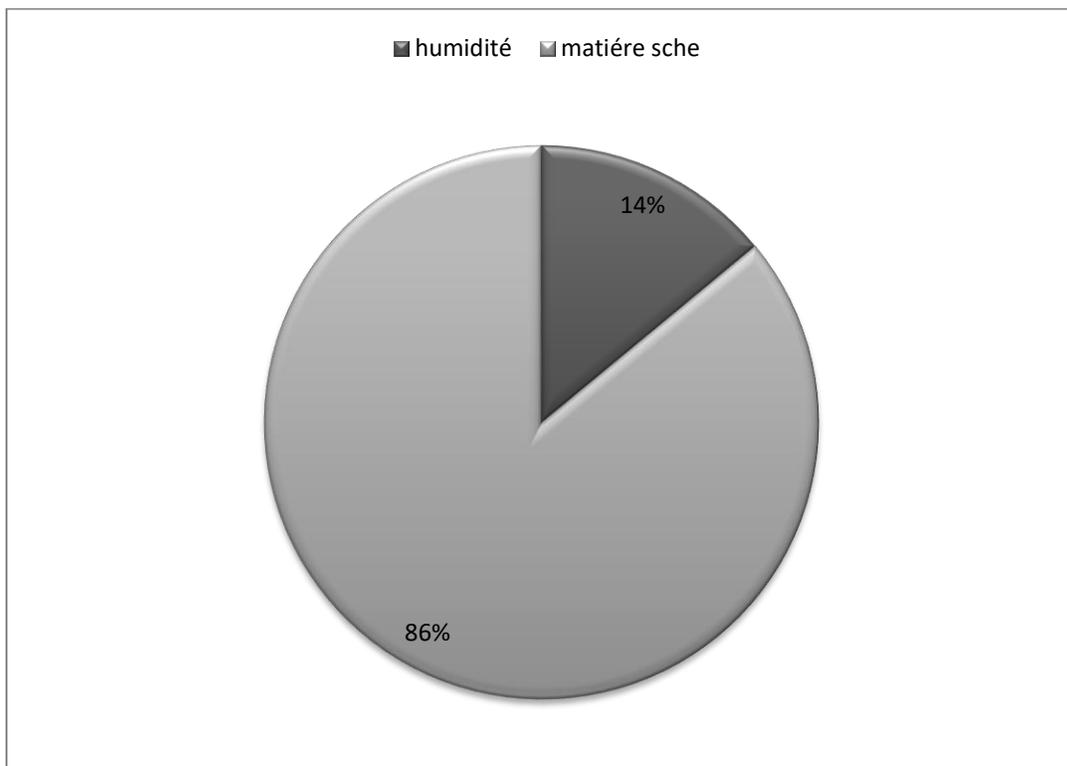


Figure 07 : Teneur en humidité et en matière sèche de l'échantillon étudié

Nos résultats qui sont représentés sur la figure montrent que les feuilles de la région de Miliana (SIDI SEBAA) ont un taux d'humidité 14% qui correspond à 86% de matière sèche (MS).

Selon, (Makhloufi, 2013 ; Accourent *et al.*, 2001), La teneur en eau dans les feuilles du romarin est, (28,17%), (30%), cette teneur diffère de façon remarquable avec nos résultats.

La différence des teneurs de nos échantillons en eau comparées à celles de travaux Antérieurs, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du Cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (Albu *et al.*, 2004).

2. Détermination du rendement :

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans la **Figure 8** suivante :

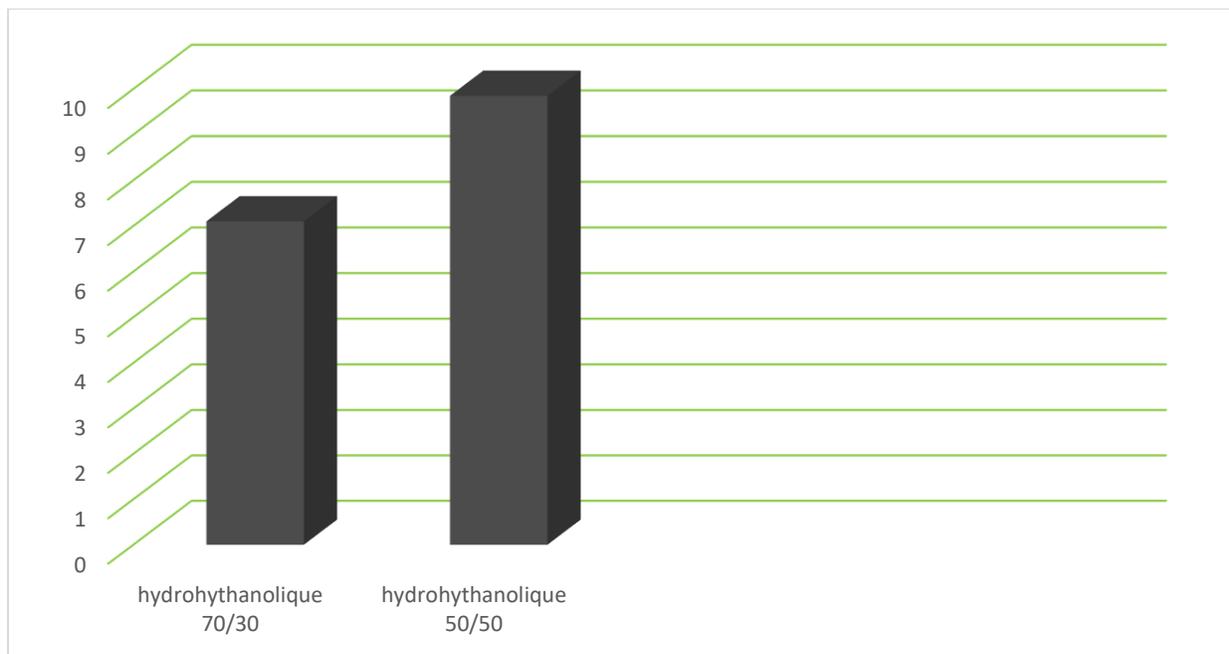


Figure 08 : le rendement d'extraction des extraits bruts de romarin

D'après les résultats, nous avons enregistré des rendements d'extraction de romarin important : 7 % et 9.85 % dans le solvant (hydro-éthanolique, 70/30 ; 50/50) respectivement. Ces résultats montrent que l'extrait hydro-éthanolique (50/50 ; E.D/E) présente un rendement élevé par rapport à celui de l'extrait hydro-éthanolique (70/30 ; E.D/E).en comparant avec d'autres chercheurs, nos valeurs sont plus élevées par rapport à (Kasparaviciene *et al.*, 2013) qui ont enregistré un rendement de 2.2 pour l'extrait hydro-éthanolique et très bas par rapport à rendement obtenus par (Mata *et al.*, 2007) qui ont trouvés un rendement de 51.1% avec l'extrait hydro-éthanolique.

D'une manière générale, le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement, les conditions environnementaux, Le climat, la zone géographique, l'organe de la plante utilisé, la période de séchage...etc. (Vekiari *et al.*, 2002 ; Kelen et Tepe, 2008).

3. Etude phytochimique

Les test phytochimique sont des tests qualitatifs utilisées pour la révélation de la présence de quelques métabolites secondaires, ces réaction basées sur des changement de couleur et de précipitations spécifique ; Les résultats sont représentés dans le tableau qui montre la présence des Flavonoïdes, les tanins, les Quinones et l'absence de Sucres réducteurs.

Remarque : (+) présence ; (-) absence.

Tableau 07 : Les composés phytochimique détectés dans *Rosmarinus officinalis*

De la région de Miliana (Annexe I)

Metabolite Secondaries	Réactifs	Hydro-éthanolique 70/30	Hydro-éthanolique 50/50
Flavonoïdes	Acétate de plomb	+	+
Tannins	FeCl ₃	+	+
Quinones	Solution de soude	+	+
Saponosides	/	+	+
Sucres réducteurs	Fehling	-	-

Des résultats similaires ont également été rapportés par (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007 ; Fadili *et al.*, 2015 ; et Goyal kaur 2019, Emam, 2010) le criblage phytochimique de l'extrait hydro-éthanolique des parties aériennes du romarin a indiqué la présence des flavonoïdes, des

tannins, des saponosides et l'absence des sucres réducteurs. Selon (Makhloufi, 2013), le test photochimique indique la présence Quinones.

4. Dosage des polyphénols totaux

Les analyses quantitatives des phénols totaux, est déterminé à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage exprimé en mg équivalent d'acide gallique. La courbe d'étalonnage est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 1$. (ANNEX II).

Les résultats sont représentés sur le tableau exprimés en mg équivalent en acide gallique par g d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

Tableau 08 : Résultats teneurs des polyphénols totaux de chaque extrait.

Extrait	Hydro-éthanolique (70/30)	Hydro-éthanolique (50/50)
Teneur (mg EAG/g d'extrait)	0.95	1.9

La teneur en polyphénols totaux le plus élevé a été enregistré par l'extrait hydro-éthanolique (50/50) avec une teneur de 1.9 mg EAG /g d'extrait par un pour a l'extrait hydro-éthanolique (70/30) 0.9 mg EAG /g d'extrait.

Nos résultats est accordance avec ceux de (Aneta et al., 2007) avec une valeur de (1.71 mg/g) et est inférieur à celle obtenus par (Muchuweti et al., 2007) (10,83 mg EAG/g).

La variation en teneurs obtenues peut être due à certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Podsdek, 2007 ; Falleh et al., 2008).

5. Activité antioxydante :

5.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire par le test de DPPH :

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des composés bioactifs tels que les antioxydants naturels. Le radical DPPH est généralement l'un des composés le plus utilisé

pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydant en raison de sa stabilité en forme radicale et la simplicité de l'analyse (Enneb *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de concentrations de l'extrait N 1 et N 2 :

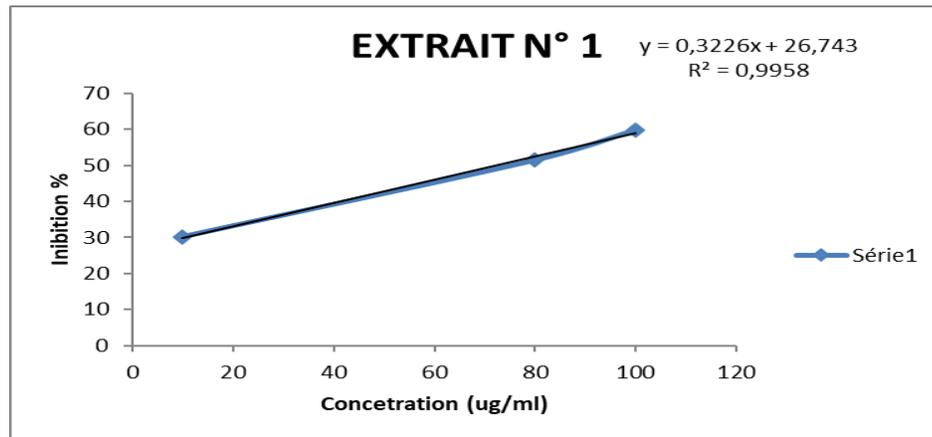


Figure 09 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro-éthanolique 1.

Selon les résultats, le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits.

À une concentration de 100 $\mu\text{g/ml}$, l'extrait 1 d'*Rosmarinus Officinalis* montre l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 59,85 %

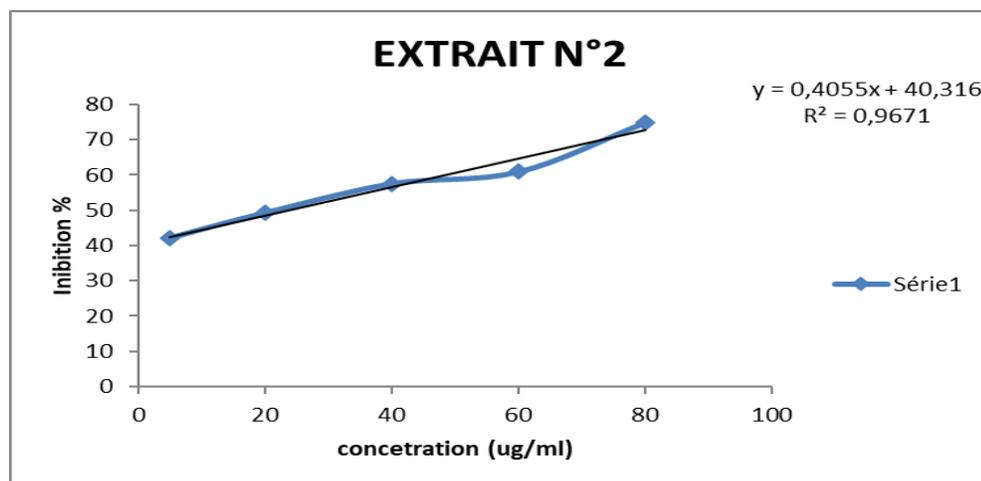


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de l'extrait hydro-éthanolique 1.

Selon les résultats, le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits.

À une concentration de 80 µg/ml, l'extrait 2 d'*Rosmarinus Officinalis* montre l'activité la plus élevée avec un pourcentage d'inhibition de 74,87 %.

L'extrait hydro-éthanolique N 2 ont exercé le meilleur pouvoir anti-radicalaire avec inhibition de 74.87 % par a pour L'extrait hydro-éthanolique N 1 a une inhibition de 59.85 %.

Une étude a montré que l'extrait aqueux a inhibé le radical DPPH avec un pourcentage de 85,5% (**Makhloufi, 2011**) ce dernier est plus élevé par rapport à celle que nous avons trouvé.

Les résultats d'inhibition de radicale DPPH obtenus sont supérieur aux ceux de (**bendif et Hamdi, 2017**) qui trouve 57.96% avec l'extrait éthanolique, et inférieure par a pour de (**kasparaviciene et al., 2013**) avec l'extrait hydro-éthanolique de valeurs 80% .

divers modèles d'essai expérimentaux ont été employés pour la caractérisation des propriétés Anti-oxydantes des extraits de quatre herbes appartenant à la famille de lamiacée Les extraits ont montré des degrés variables d'activité dans tous les essais utilisés (**Dorman et al., 2003**).

5.2. Calcul des IC50 de deux EXT :

L'IC50, paramètre qui définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH, Plus la valeur de l'IC50 est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Les IC50 calculées à partir des équations des régressions logarithmiques données précédemment, ainsi que les valeurs de l'activité antiradicalaire sont données dans le **tableau N 09** :

Tableau 09 : Valeurs des IC50

L'échantillon			IC50
Extrait N1	hydro-	éthanolique (70/30)	0.072
Extrait N2	hydro-	éthanolique (50/50)	0.023

Les résultats des IC50 présentés dans le tableau N 09 montrent que : l'extrait N1 de la plante est doté d'un pouvoir antioxydant (IC50 égale 0.072 mg/ml), et l'extrait N2 a un pouvoir anti-radical (IC50 0.023 égale mg/ml).

Nos résultats de l'activité anti-radicalaire sont désaccord a celui estimé chez (**Genena, 2008 ; Makhloufi, 2010**) qui est de IC50 égale 15.75 mg/ml et 86 mg/ml respectivement.

Engénérale, le potentiel réducteur des extraits végétale est dû a la présence de molécules capables de donner des électrons qui peuvent réagir avec les radicaux libres et les convertir en produits stables, parmi lesquelle les polyphénol.

6. Activité antimicrobienne

Les extraits hydro-éthanolique ont été évalués pour l'activité antimicrobienne contre les bactéries (*E. coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*).

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les zones d'inhibition observées autour des disques Imprégnés des différents extraits des feuilles de la plante étudiée (annexe III) ont été mesurées.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Diamètre des zones d'inhibition des différentes souches testées.

Souches Bactériennes	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)							
	Extrait hydro-éthanolique (70/30)				Extrait hydro-éthanolique (50/50)			
	100% S.M	75 %	50 %	25 %	100% S.M	75 %	50 %	25 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	9	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	12	10	0	0	11	9	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	10	4	2	9	6	4	1

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'extrait hydro-éthanolique.

Selon les résultats de l'effet de 2 extraits hydro-éthanolique du romarin ont interprété que :

➤ Avec l'extrait hydro-éthanolique (70/30) :

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 11mm pour la solution mère ; 9mm avec la dilution 75 %, et elle résistante pour 50 %, 25 %.

Les résultats indiquent que *Pseudomonas aeruginosa* sensible (+) pour la solution mère et la première dilution et résistance (-) dans les deux dernières dilutions.

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli* qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 12mm pour la solution mère ; 10mm avec la dilution 75 %, et elle résistante pour 50 %, 25 %

Les résultats indiquent que *E. coli* sensible (+) pour la solution mère et première dilution et résistance (-) dans les deux dernières dilutions.

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 11mm pour la solution mère ; 10mm avec la dilution 75 %, et 4mm avec la dilution 50 %, 2mm avec la dilution 25 %.

Les résultats indiquent que *Staphylococcus aureus* sensible (+) pour la solution mère et première dilution et Non sensible pour les deux dernières dilutions.

➤ Avec l'extrait hydro-éthanolique (50/50)

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* qui ne donne pas un diamètre de zone d'inhibition.

Les résultats indiquent que *Pseudomonas aeruginosa* résistance (-) dans toutes les dilutions.

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *E. coli* qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 11mm pour la solution mère ; 9mm avec la dilution 75 %, et elle résistante pour 50 %, 25 %

Les résultats indiquent que *E. coli* sensible (+) pour la solution mère et première dilution et résistance (-) dans les deux dernières dilutions.

Évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis *Staphylococcus aureus* qui donne un diamètre de zone d'inhibition de 9mm pour la solution mère ; 6mm avec la dilution 75 %, et 4mm avec la dilution 50 %, 1mm avec la dilution 25 %.

Les résultats indiquent que *Staphylococcus aureus* sensible (+) pour la solution mère et Non sensible pour les trois dernières dilutions.

➤ Nous remarquons que l'extrait hydro-éthanolique (70/30) de romarin a un pouvoir

Antimicrobien plus élevé que celui de l'extrait l'extrait hydro-éthanolique (50/50) sur tout dans la solution mère et dans la première dilution.

Nos résultats ont été confirmée par les études de (Falleh et al., 2008 ; Hayouni et al., 2007 ; Ayadi et al., 2011 ; Gachkar et al., 2006) ont observé un effet antimicrobienne du romarin pour les extraits hydro-éthanolique.

Par contre (Al-marir, 2014 ; Fernanda et al., 2013) pour l'extrait éthanolique et hydro-éthanolique ils ont dit que l'extrait de romarin n'a aucun fait sur les bactéries testées.

De cette étude analytique de l'activité antimicrobienne des extraits hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* ressort que :

- ✓ Les souches bactériennes testées sont sensible a ces extraits , cette sensibilité est différente selon les souches .
- ✓ l'extrait hydro-éthanolique (70 / 30 ; v/v) est plus actif que l'extrait hydro-éthanolique (50/50 ; v/v).

7. Activité antifongique

Les extraits hydro-éthanolique ont été évalués pour l'activité antifongique contre leveur (*Candida albicans*). Les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés des différents extraits étudiée après 48 h d'incubation à 37°C (annexe III) et sont présentées et résumés dans le tableau :

Tableaux 11 : Valeurs des diamètres de la zone d'inhibition des différents extraits De romarin à la souche fongique testée (*C. albicans*).

Souche Fongique	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)							
	Extrait hydro-éthanolique (70/30)				Extrait hydro-éthanolique (70/30)			
	100%	75 %	50 %	25 %	100%	75 %	50 %	25 %
	S.M				S.M			
Candida albicans	11	10	1	1	10	0	0	0

Le tableau rapporte les résultats du pouvoir antifongique des différents extraits hydro-éthanolique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de la souche fongique *Candida albicans* par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Ont interprété que :

Les résultats obtenus ont montré que l'extrait hydro-éthanolique (70/30)

À produit des zones d'inhibitions de diamètre 11mm pour la solution mère ; 10mm avec la dilution 75 %, et 0 mm avec la dilution 50 % et la dilution 25 %. Et l'extrait hydro-éthanolique (50/50) a produit des zones d'inhibitions de diamètre 10mm pour la solution mère ; 0mm avec la dilution 75 %, la dilution 50 % et la dilution 25 %. Selon l'échelle donnée par (Mouas et al., 2017)

Donc la levure *Candida albicans* est sensible (+) à l'extrait hydro-éthanolique (70/30) pour la S.M et dans la première dilution par a pour l'extrait hydro-éthanolique (50/50) est sensible (+) que pour la S.M.

Cette étude ont été confirmée par (Khalid, 2013 ; Akroum, 2021) ont observé un effet antifongique du romarin pour les extraits hydro-éthanolique et éthanolique.

De cette étude analytique de l'activité antifongique des extraits hydro-éthanolique de *Rosmarinus officinalis* ressort que :

- ✓ la souche (*Candida albicans*) étudiée est sensible a ces extrait .
- ✓ l'extrait hydro-éthanolique (70 / 30 ; v/v) est plus actif que l'extrait hydro-éthanolique (50/50 ; v/v).

Conclusion

Conclusion :

Aujourd'hui, l'intérêt du monde pour les plantes médicinales s'est accru malgré le développement de diverses sciences médicales et ses spécialités, On note la préférence pour son utilisation par rapport à l'utilisation de Produits chimiques, Et elle prépare La source principale et principale de l'industrie pharmaceutique et des médicaments d'origine végétale.

L'importance de la recherche est qu'elle comprenait l'étude d'une plante importante de la famille *Rosmarinus officinalis* qui a pris de la région Miliana forêt "SIDI- SBAA". L est considéré comme l'une des plantes les plus importantes qui jouent un rôle important dans le domaine de la médecine traditionnelle. Il s'agit d'une étude qui permis d'évaluer différent propriété du romarin.

Dans le présent travail, on s'est intéressé aux effets antifongiques et antimicrobienne des extraits bruts de feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

Nous résumons notre travail dans cette étude comme suit :

- ✓ L'extraction et la récupération des extraits du *Rosmarinus officinalis*.

de la région de Miliana (Wilaya de Ain Defla), par Macération à l'éthanol – Eau distillée on deux volumes diffèrent.

- ✓ Le rendement d'extraction par l'hydro-éthanol (70/30 ; v/v) et (50/50 ; v/v)

Dans les feuilles de romarin a un pourcentage de 7 % ; 9.85 % respectivement. Ont d'obtenir des rendements diffèrent en fonction des diffèrent volume de solvants, dans les deux extraits Nous avons constaté que sont riches en métabolites secondaires

- ✓ Elle a permis de mettre en évidence à travers un criblage phytochimique la présence des tanins, des flavonoïdes, des Quinones et des et Saponosides Tandis que Sucres réducteurs. Sont totalement absentes dans tous les extraits.

- ✓ Le dosage quantitatif des phénols totaux les deux extraits hydro-éthanolique (70/30 ; v/v)

Conclusion

et (50/50 ; v/v) a révélé que le romarin contient 0.95mg EAG/d'extrait ; 1.9 mg EAG/d'extrait respectivement.

✓ L'activité antioxydante des extraits, a été déterminée par la méthode DPPH avec des pourcentages d'inhibition 59,85 % extraits hydro-éthanolique (70/30 ; v/v) et 74,87 % hydro-éthanolique (50/50 ; v/v).

✓ La méthode d'aromatogramme a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de deux extrait l'hydro-éthanolique (70/30 ; v/v) et (50/50 ; v/v) vis-à-vis les trois souches bactériennes testées. Ont montré que le pouvoir bactérien contre les souches de EXT 1 et plus élevée par a pour les 2eme EXT respectivement, et ont montré que les extraits du romarin ont une activité bactérienne contre un certain nombre de bactérie.

✓ L'étude du pouvoir antifongique des différents extraits l'hydro-éthanolique (70/30 ; v/v), et (50/50 ; v/v) a permis de visualiser une action inhibitrice intéressante de EXT 1 sur Candida Albicans plus élève comparativement au EXT 2 respectivement, et ont montré que les extraits du romarin ont une activité fongique contre un certain nombre fongique.

En fin Une analyse chimique est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur la composition qualitative et quantitative de ces extraits étudiés afin de mettre en lumière l'effet thérapeutique de cette plante médicinale *Rosmarinus officinalis-L.*

En perspective, notre travail nécessite d'autres études complémentaires tels que :

- ❖ la définition des meilleurs moyens de déterminer les effets des plantes sur la santé.
- ❖ Dosage des paramètres plasmatiques (Triglycéridémie, cholestérolémie, hémoglobine glycosylé, transaminases, urée, créatinine, ...).
- ❖ Mener une étude plus approfondie pur isoler, identifier les molécules responsables de l'activité antifongiques et antimicrobiennes.

Conclusion

- ❖ Utiliser d'autres méthodes comme HPLC pour identifier, caractériser et séparer les différents constituants des extraits .

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

Abdullah Ijaz Hussain, Farooq Anwar, Shahzad Ali Shahid Chatha, Abdul Jabbar, Shahid Mahboob, Poonam Singh Nigam. (2010). *Rosmarinus officinalis* essential oil: Antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities. *Brazilian Journal of Microbiology* : 1076, 1070-1078.

ABEDINI. A., 2013. Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiacée), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse du grade de Docteur en Science des médicaments. Université Lille 2, droit et santé - France. pp 44-89

Acourene S et Tama M, (2001). Caractérisation physicochimique des principaux cultivars de dattes de la région de Ziban. *Revue Recherche Agronomique. INRAA Algerie Vol 1.P 59-6*

AIDOUD. A, SAMMOUDI. R., 2016. Plantes médicinales anti rhumatismales du Sahara Algérien. Mémoire de Master en Sciences Biologiques, Option Immunologie approfondie. Université 8 Mai 1945 - Guelma.p 9.

AL Namer Rashad Mohammed Musleh, (2014). Valorisation Pharmacologique de *Rosmarinus officinalis* et de *Lavandula Officinalis* : Toxicité aigüe, Potentiel Psychotrope et Antibactéries. Thèse de doctorat, Pharmacologie et Toxicologie. Université Mohammed

Aouadhi. S., 2010. Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. A étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Tunisie, p.p.155.

Akroum.S., 2021. Article, antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* and *Zingiber officinale* extracts on the species of the genus *candida* and on *streptococcus pneumonia*.

Ayman Al-Mariri, PhD; Mazen Safi, PhD. (2014).*In Vitro* Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria.38: 36-42.

Références Bibliographiques

Bahorun, T., (1997). Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentiel. *Food and agricultural research council, Réduit, Mauritius.* 83-94.

Ayadi S., Jerribi. Et Abderrabba M., (2011) - Extraction et études des huiles essentielles de Romarins OFFICINALIS cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. Unité de recherche physico-chimique moléculaire. IPFST boîte postale, la marsa Tunisie, p.51.

Belgaid S., et Chikhoun, (2005) mémoire, ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIFONGIQUE

Benbott, et Bouali, (2018). Etude des activités biologiques de Romarins OFFICINALIS-L des régions Ouargla et Ain M'Lila. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de master en Biologie.

Benikhlef, mémoire, Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur Romarins OFFICINALIS de la région de Bechar et Ouargla 2014.

Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. -Wiss. U Technol,* 28 : 25-30

Cabanel. S., (2013). Houittuyniacordata Thunberg Saururaceae. Thèse du grade de Docteur en Pharmacie. Université Toulouse III Paul Sabatier - France. Pp 38-102.

Carvalho, A. M. (2010). Plantas y sabiduría popular del Parque Natural de Montesinho: un estudio etnobotánico en Portugal. Madrid, CSIC.

Catherine GAUDYBUXERAUD. (2005). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Elsevier /Masson.

CHENNI. M., (2010). Contribution à l'étude chimique et biologique de la racine d'une plante médicinale Bryonia dioica Jacq. Mémoire de Magistère en Chimie, Option Chimie moléculaire : analyse, modélisation, synthèse. Université d'Oran - Senia, pp 32-33

Cheung. S., Tai. J., (2007). Anti-proliferative and antioxidant properties of rosmariny.

De Rivera, D., Obón, C. (1991). Las plantas medicinales de nuestra región. Editora regional de Murcia.

Références Bibliographiques

Deschepper. R., (2017).Variabilité de la composition des huiles essentielles et l'intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse du grade de Docteur en Pharmacie. Université d'Aix-Marseille - France. P 31.

Dorman D, Peltoketo A, Hiltunen R, Tikkanen M. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83 : 255-262

Belabbas. M. A., (2005). Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. *Phytothérapie*, 3, 4, p.p. 147-157

Falleh H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C. R. Biologies*. 331: 372-379.

François Muanda Nsemi, (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. *Biologie végétale*. Université Paul Verlaine - Metz, Français. ffNNT : 2010METZ011Sff. fftel-01752680f

Fernandez-López J., Zhi N., Aleson-Carbonell L., Pérez-Alvarez J.A. & Kuri V., (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat Science*, 69: 371-380.

G., (2000). Combined use of supercritical fluid extraction, Micellar electrokinetic chromatography and reverse phase high performance liquid chromatography for the analysis of antioxidants from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Genena.A.K ; Hesne.k. ; Smanai Jounior.A. ; Souza.S.M., 2008. Rosemary , a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. *Journal of Cienc.Tecnol.Aliment.,Campinas* 28 (2).

Gianmario, S. Silvio, P.A. Rita, M. Teresa, D. Roberto, T. Aurelia. (2007). Characterization of topical anti-inflammatory compounds in *Rosmarinus officinalis* L.

Références Bibliographiques

H. Enneb, A. Belkadhi, F. Cheour, et A. Ferchichi, (2015). Comparaison des composés phénoliques et du pouvoir antioxydant de la plante de henné (*Lawsonia inermis* L.).

Halimi Abdel Qader, Plantes Médicinales, Ministère de l'Agriculture, Algérie, (1997).

Hamadache. N., (2011). Criblage des extraits phénoliques d'origine végétale doués d'activité antibactérienne : recherche des inhibiteurs naturels de β -lactameses. Mémoire de Magistère en Biologie, Option Biochimie appliquée aux substances végétales bioactives. Université Abderrahmane Mira - Béjaia (UAMB). Pp 4-8

Hamia C, Guergab A, Rennane N, Birache M, Haddad M, Saidi M, Yousfi M. (2014). Influence des solvants sur le contenu en composés phénoliques et l'activité antioxydante des extraits du rhanterium adpressium. Annales des sciences et technologie, 6 : 1

Hamdi Bendif1, Khawla Adouni2 & Messaoud Boudjeniba1.(2017). The effect of growth regulators and explants on callus induction in four Cultivars of potato (*Rosmarinus officinalis*). ISSN 2490-4392, Journal of Bioressources Valorization, 38:34-41.

Harbarne J. (1973). Phytochemical methods. London. Chapman and Hall, p: 49.
O. (2005). Chemical Profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. Pakistan, J. nutrition, 4: 379-381.

Hassaine. A., (2020). chapitre- LES COMPOSES PHENOLIQUES-, Université Badji Mokhtar Annaba.

Hostettmann. K., (1997). Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse.

Huang. M. T., Ho. C. T., Wang. Z. Y., Ferraro. T., Lou. Y. R., Stanber. K., Ma.W., Hoffman. L., Besseau. S., Geoffroy. P., Rizenhaler. C., Meyer. D., Lepierre. C., Pollet. B. et Legrand. M., (1994). Silencing of Hydroxycinnamoyl transferase affects phenylpropanoid biosynthesis. Plant cell, 16, 4, p.p. 1446-146.

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

Références Bibliographiques

Kasparaviciene G, Ramanauskiene K, Savickas A, Velziene S, Kalvėniene Z, Kazlauskiene D, Ragazinskiene O, Ivanauskas K, Ivanauskas K. (2013). Evaluation of total phenolic content and antioxidant activity of different *Rosmarinus officinalis* L, Ethanolic extracts. *J. Biology*, 59 : 39–44.

Khalid el mansouri, 2013. These, Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales.

Kholkhal. F., (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp et *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de doctorat en biologie, Option Produits naturels, Aspects nutritionnels et Activités Biologiques. Université Abou bekr Belkaid - Tlemcen, pp 18-22.

Khorman A., (2013). La contribution a l'optimisati1948. Mémoire de master, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah, 26p.

LAOUINI. S., (2014). Etude phytochimique et activité biologique d'extraits des feuilles de *Phoenix deactyliferal*. dans la région du sud d'Algérie (la région d'Oued Souf). Thèse de doctorat en Chimie Industrielle, Option Génie chimique. Université Mohamed Khider - Biskra, pp 39-92.

lavandula OFFICINALIS: toxicité aiguë, potentiel psychotrope et antibactérien. Thèse doctorat,

Lawless.J., (1998). Guia familiar de aceites esenciales. Tikal, ISBN : 84-305-8664-4.

Lee W, Lee Y., (2003). Extraction optimization in food engineering, Flavor and aroma Substances. Korea Institute of Science and Technology Seoul, Korea, p: 923.

Lemonica. I. P., Damasceno. D. C., Di-Stasi L. C., (1996). Study of the embryotoxic effects of an extract of Rosmary (*Rosmarinus officinalis*). *Brazilian journal of medical and biological research*, 29, 2, p.p. 223-227.

López Piñero, JM., Costa Taléns, M. (1996). Las plantas del mundo en la historia. Fundación Bancaja.

M. E. Gonzalez, E. I. Pena, A. L. Martinez, J. Moreno, P. Guevara-Fefer, M. Deciga Camps, F. L. Lopez-Munoz. (2007). Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L.

Références Bibliographiques

using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology* 111 : 476-482.

M.Develoux, S. (2005) Bretagne.Candidoses et levures diverses. EMC-Maladies Infectieuses 2 119–139.

Makhloufi A. (2001). Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Romarin* OFFICINALIS L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat, Université ABOUBAKER BELKAI

Chafai Elalaoui Ali, Boukil Ahmed, Bachar Mohamed, Driss Lkhoumsi et Guermal. (2014). Manuel des bonnes pratiques de collecte du romarin (*Romarin* OFFICINALIS).

Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M., (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* 103 : 778-786.

Mémoire ; 2019 unv Mostaganem. Effets antimicrobiens des extraits de Romarin (*Rosmarinus OFFICINALIS*) sur les qualités physico-chimiques et microbiologiques d'un lait fermenté type yaourt.

Mlle LEPLAT M., (2017) THESE doctorat, Le Romarin, *Romarin* OFFICINALIS L., une Lamiacée médicinale de la garrigue Provençale.

Mouas Yaminal, Benrebiha Fatma Zohra1, Chaouia Cherifa1. (2017). Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Romarin* OFFICINALIS L. *Revue Agrobiologia*, 366 :363-370.

Muchuweti M., Kativu E., Mupure C. H., Chidewe C., Ndhala A. R. et Benhura M. A. N. (2007). Phenolic composition and antioxidant properties of some species. *American journal of food technology*, 2(5): 414-42

Nurdan Sarac, Aysel Ugur, (2007). Anti-microbial activities and usage in folkloric medicine of some Lamiaceae species growing in Mugla, Turkey, *EurAsia J BioSci* 4, 28-37.

Références Bibliographiques

Ouraini. D., Agoumi. A., Ismaïli-Alaoui. M., Alaoui. K., Cherrah. Y., Amrani. M.Pamplona-Roger, J. D. (1999). Enciclopedia de las plantas medicinales. Biblioteca educación y salud, Editorial Safeliz.

Pebret. F., (2003). maladie infectieuse. Édition heurs de France 1ed.France.312p :58.

Perez. M., Calderon. N., Croci. C., (2007). Radiation–induced enhancement of antioxidant activity in extracts of Rosmary (*Rosmarinus officinalis* L). *Food chemistry*, 104, p.p. 585-592.

Podsdek, A. (2007). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A Review. *LWT*, 40:1-11. Percival SL. *Microbiology of waterborne diseases*. Ed. Elsevier Academic Press, Amsterdam; Boston, 2004, p. 480.

Prince Vijeya Singha, J. S., Selvendirana, K., Mumtaz Banua, S., Padmavathia, R., Sakthisekaran, D. (2004). Protective role of Apigenin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats. *Phytomedicine*, vol. 11 (4) : 309–314.

Rafik Saleh, (1998). Étude morphologique et chimique de la plante syrienne de romarin, Université de Damas, Syrie.

Ribéreau-Gayon J, Peynaud E, Sudraud P, Ribéreau-Gayon P. (1982). Composés phénoliques. In *Traité d'œnologie, sciences et techniques du vin*. Edition Dunod, Paris, p : 173-201.

Richard. A., (2012). Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appliquées à la dermatologie. Thèse du grade de Docteur Vétérinaire. Université Claude-Bernard, Lyon I - France. Pp 22-31.

Rožman T. and Jeršek B.5. (2009). Antimicrobial activity of rosemary extracts (*Rosmarinus officinalis* L.) Against different species of *Listeria*. *Acta agriculturae Slovenica*, Vol. 93; N°1, Pp.51-58.070-107

Ryan, K. J. (2004). *Candida, Aspergillus, and Other Opportunistic Fungi*. In Ryan, K.J. and Ray, C.G. (Ed.), *Sherris Medical Microbiology* (4th ed., pp. 659-668). USA : McGraw-Hill.

Références Bibliographiques

Saidi. I., (2019). Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des Fabaceae : *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès : extraction des substances. Bioactives. Thèse de doctorat en Science biologique, Option Enzyme, Microorganismes et Bio-industries. Université Djillali Liabès – Sid Bel Abbés. pp 4-29.

Scherer, R. and Godoy, H.T. (2009) Antioxidant Activity Index (IAA) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Method. *Food Chemistry*, 112, 654-658.

Singletary. K. W., Nelshoppen J. M., (1991). Inhibition of dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer letters.*, 60, 2, p.p. 169- 175.

Souza. C., Schiavetto. I., Thomazini. F. et Oliveira. W., (2008). Processing of *Rosmarinus officinalis* extract on spray and spotted bed dryers. *Brazilian journal of chemical engineering*, 25, 1, p.p. 59-69.

SPARG. S.G; LIGHT. M.E; STADEN. V., (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 219-243.

Thomas, M., (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*). Université d'Orléans.

Touafek, (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens. Doctorat en chimie organique. Université Mentouri-Constantine.

Trease E, Evans W., (1987). *Pharmacognosy*. Billiare Tindall. Londone, 13: 61- 62.

Université Mohamed v-Agdal, Rabat.V – AGDAL.

Vekiari S.A., Protopadakis E.F., Papadopoulou P., Papanicolaou D, Panou C. et Vamvakias M., (2002). Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peel of a lemon variety; *Journal of Agricultural and Food Chemistry*; 5(1), 147- 153

VINCKEN. J.P; HENG. L; GROOT. A; GRUPPEN. H., (2007). Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Journal of phytochemistry*, 68, 275-297

Références Bibliographiques

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

Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., (2007). Schempp C.M. Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*.

Yang J, Gadi R, Paulino R, Thomson T. (2010). Total phenolic, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage. *J. Food chemistry*, 122(3) : 627-63.

Zakkad F., (2017). THESE de Doctorat ; Etude phytochimique et évaluation de quelques Propriétés biologiques de trois espèces de l'Euphorbia.

Annexes I : Les résultats des tests phytochimiques obtenus pour les deux extraits

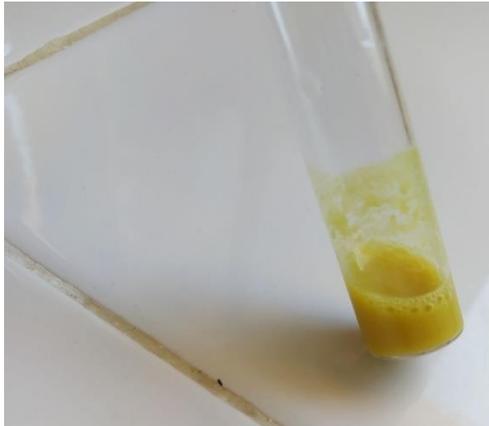


Figure 11 : couleur jaune implique la présence des flavonoïdes



Figure 12 : coloration verdâtre ou bleu-noir la présence Tanins

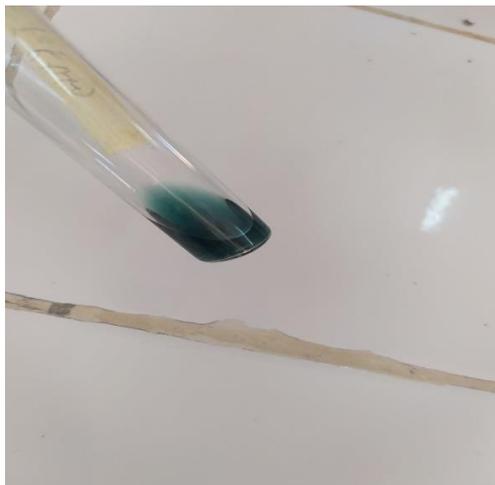


Figure 14 : l'absence de Sucres Réducteurs



Figure 15 : La formation d'une mousse la présence des saponosides

Annexes II : Les absorbances et droite d'étalonnage de l'acide gallique

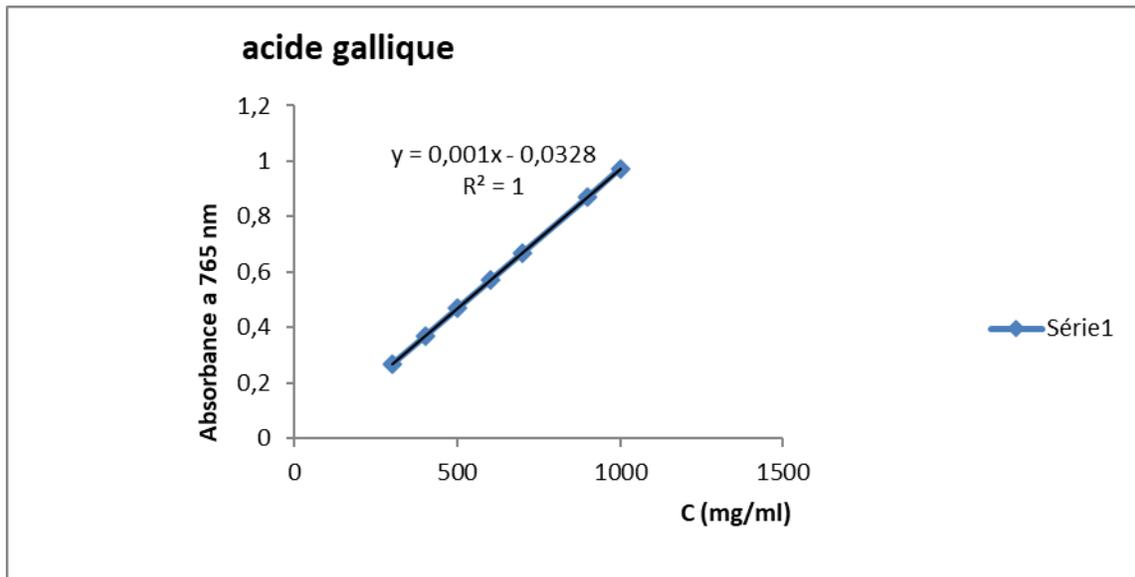


Figure 16 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

Annexes III : Résultat des diamètres (mm) des zones d'inhibition

(Diamètre des disques) des 4 souches testées.



Figure 17 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro-éthanolique (70/30 ; V/V) de romarin contre *Staphylococcus aureus* selon la méthode d'aromatogramme (disques)



Figure 18 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro- éthanolique

(50 / 50 ; V/V) de romarin contre *Staphylococcus aureus* selon la méthode d'aromatogramme



Figure 19 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro- éthanolique (70/30 ;

v/v) de romarin contre *E. coli* selon la méthode d'aromatogramme (disques)



Figure 20 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro- éthanolique (50/50 ; v/v) de romarin contre *E. coli* selon la méthode d'aromatogramme (disques)

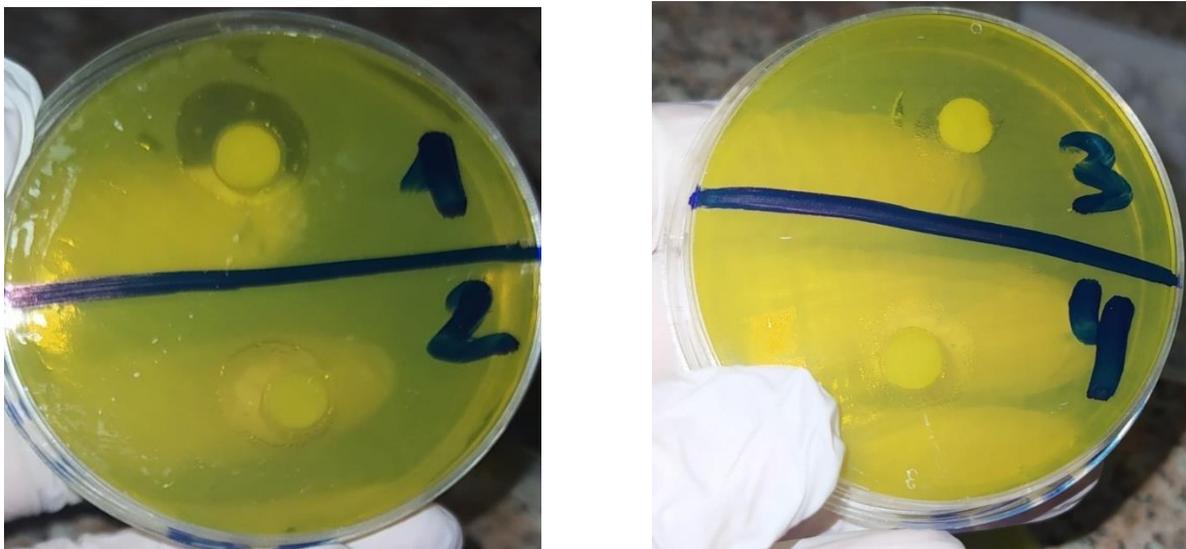


Figure 21 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro-éthanolique (70/30 ; V/V) de romarin contre *Pseudomonas aeruginosa* selon la méthode d'aromatogramme (disques)

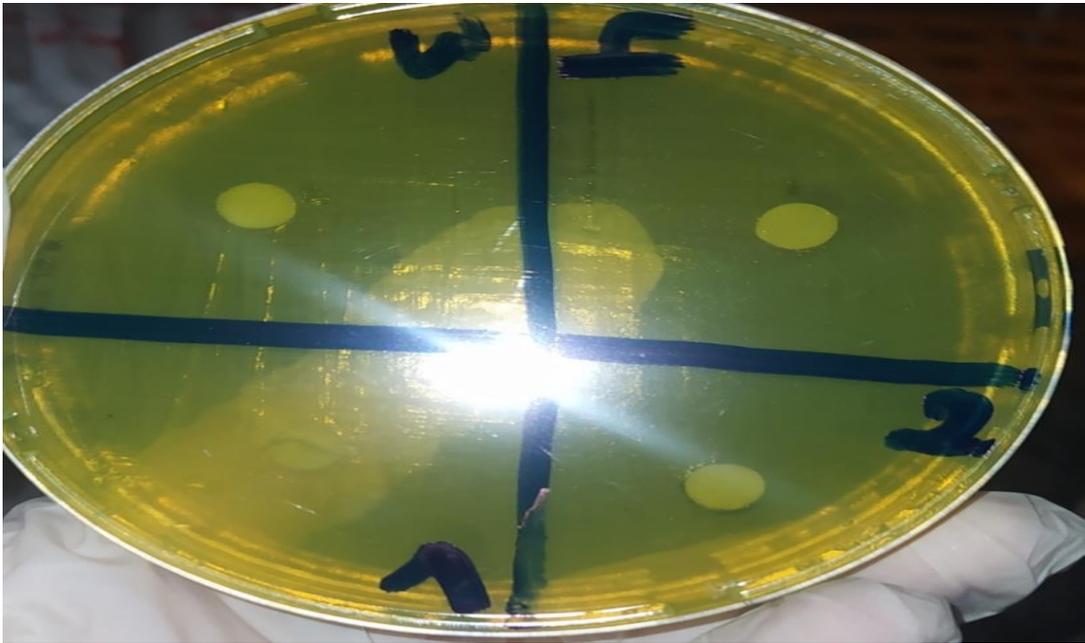


Figure 22 : Evaluation de l'activité antimicrobienne d'extrait hydro-éthanolique (50/50 ; V/V) de romarin contre *Pseudomonas aeruginosa* selon la méthode d'aromatogramme (disques).



Figure 23 : Evaluation de l'activité Antifongique d'extrait hydro-éthanolique



Figure 18 : Evaluation de l'activité Antifongique d'extrait hydro-éthanolique

Annexes

(70/30 ; V/V) de romarin contre *C. albicans*

(50/50 ; V/V) de romarin contre *C. albicans*



Annexe III : Balance électrique peser

Le romarin.



Annexe IV : l'extrait éthanolique avant le séchage