

Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Maroc

M. Bourkhiss^{1*}, M. Hnach¹, B. Bourkhiss², M. Ouhssine² et A. Chaouch²

¹Département de chimie, Faculté des Sciences, Université Moulay Ismail BP 11 201, 50000 Meknès, Maroc.

²Laboratoire de biotechnologie microbienne, Département de biologie, UFR Amélioration et transformation microbienne et végétale, Faculté des sciences, Université Ibn Tofaïl, 14 000 Kénitra, BP 133, Maroc.

(Reçu le 04 Novembre 2006, accepté le 30 Mars 2007)

* Correspondance, courriel : bourkhiss121@yahoo.fr

Résumé

Le rendement, la composition chimique et les propriétés antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite de la biomasse foliaire de *Tetraclinis articulata* (Vahl) du Khémisset (Maroc) ont été étudiés. La teneur moyenne en huile essentielle des feuilles de cette espèce est 0,22 % par rapport à la matière sèche. Trente quatre composés ont été identifiés par GC et GC/MS ; l'acétate de bornyle (30,74 %), l' α -pinène (23,54 %), le camphre (17,27 %) et le limonène (23,31 %) constituent les principaux composés de cette huile. Une forte activité inhibitrice vis-à-vis de six microorganismes utilisés a été enregistrée.

Mots-clés. *Tetraclinis articulata* (vahl), feuilles, huiles essentielles, composition chimique, propriétés antimicrobiennes, Maroc.

Abstract

Chemical composition and antimicrobial properties of essential oil of the Moroccan *Tetraclinis articulata* leaves

The yield, chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil extracted from *Tetraclinis articulata* (Vahl) leaves growing in Khemisset (Morocco) were studied. The essential oils yield average is 0,22 %. Thirty four components were

identified by GC and GC/MS ; bornyl acetate (30,74 %), α -pinene (23,54 %), camphor (17,27 %) and limonene (23,31 %) are the principal components of this oil. A strong inhibited activity against six microorganisms is obtained.

Keywords : *Tetraclinis articulata (Vahl)*, leaves, essential oil, chemical composition, antimicrobial properties, Morocco.

1. Introduction

L'utilisation des vertus antimicrobiennes des huiles essentielles ne date pas d'aujourd'hui [1]. Plusieurs manuscrits très anciens décrivaient déjà de nombreuses recettes à base de plantes et d'huiles aromatiques que les prêtres et les médecins employaient. Actuellement, l'utilisation des huiles essentielles s'effectue sur des bases scientifiques et rationnelles dans le but de mettre au point de nouveaux produits à divers usages médical, vétérinaire et cosmétique. En effet, dans la littérature, plusieurs travaux de recherche ont prouvé les propriétés antimicrobienne, antivirale et insecticide des composés terpénoïdes [2-6].

Cependant une grande quantité de substances à activité biologique telles que les alcaloïdes, les phénols, les terpénoïdes, les stéroïdes ou les flavonoïdes restent toujours inconnues. Il faut noter également que rares sont les plantes médicinales qui ont fait l'objet d'études phytochimiques et/ou biologiques très approfondies. Malheureusement, *Tetraclinis articulata (Vahl)* est un exemple éloquent d'essence forestière qui n'échappe pas à cette règle. Toutes ces considérations nous ont amené à envisager des possibilités d'utilisation de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata (Vahl)* du Maroc pour traiter, à prix modique, des infections diverses faisant intervenir des agents fongiques et des bactéries.

Au Maroc, les populations locales utilisent cette essence forestière dans la médecine traditionnelle. Les différentes parties de l'arbre, particulièrement les feuilles et les rameaux, sont utilisées dans le traitement des infections intestinales et respiratoires [7]. Dans une étude ethnopharmacologique réalisée dans le Maroc oriental, *Ziyyat et al.* [8] ont rapporté que les feuilles de Thuya de Bérbérie sont utilisées contre le diabète et l'hypertension. Une première ébauche sur la bioactivité de l'huile essentielle extraite du bois de *Tetraclinis articulata (Vahl)* originaire d'Essaouira a prouvé son pouvoir antimicrobien [9].

Le présent travail a pour objectif la détermination de la composition chimique ainsi que l'activité antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) récoltées dans la région de Khémisset (Maroc).

2. Matériel et méthodes

2-1. Matériel végétal

La récolte des échantillons de feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) utilisés dans cette étude a été effectuée dans la région de Khémisset (Maroc) le mois de Février 2005 sur des arbres pris au hasard. Les échantillons étudiés ont été séchés à l'ombre pendant dix jours.

2-2. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation de dix échantillons dans un appareil de type Clevenger [10]. Au cours de chaque essai, 100g de matière première ont été traités. La distillation dure environ 180 minutes après l'apparition de la première goutte du distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur. Pour chaque échantillon, trois expériences ont été réalisées. L'huile essentielle a été stockée à 4°C à l'obscurité et séchée avec du sulfate de sodium anhydre. Pour exprimer les valeurs des rendements par rapport à la matière sèche (en mL/100g de matière sèche), l'humidité des différents échantillons a été préalablement déterminée. Le pourcentage de matière sèche est estimé par séchage de 5 g de chaque échantillon 4 heures dans une étuve à 102°C.

2-3. Analyses chromatographiques

Pour chaque échantillon, trois analyses chromatographiques ont été réalisées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression de type Hewlett-Packard (série HP 5890), équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type DB-5 de 25 m de longueur, 0,25 mm de diamètre et 0,25 µm d'épaisseur de film, d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) réglé à 260°C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air et d'un injecteur split-splitless réglé à 240°C. Le mode d'injection est Split (rapport de fuite : 1/50, débit : 66 mL/min). Le gaz vecteur utilisé est l'azote avec un débit de 1 mL/min. La température de la colonne est programmée de 50 à 250°C à raison de 4°C/min. L'appareil est piloté par un système informatique de type HP "ChemStation",

gérant le fonctionnement de l'appareil et permettant de suivre l'évolution des analyses chromatographiques.

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leurs indices de Kovats (IK) et sur la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM). Cette dernière est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série HP 5980) couplé avec un spectromètre de masse (série HP 5772). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La température de la colonne (identique à celle utilisée pour CG) est programmée de 50 à 250°C à raison de 4°C/min puis est maintenue à 250°C pendant 20 min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 2 ml/min. Le mode d'injection est Split (rapport de fuite : 1/70, débit : 112 mL/min). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masse NIST 98.

2-4. Microorganismes étudiés

Dans cette étude, les microorganismes utilisés sont : *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Penicillium parasiticus*, *Aspergillus niger*. Ils ont été choisis pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leurs pathogénicités.

Les quatre souches bactériennes sont des lots de « American Type Culture Collection » ATCC; elles sont entretenues par repiquage sur gélose nutritive favorable à leur croissance. En revanche, les deux moisissures citées ci-dessus sont cultivées sur le milieu nutritif « Potato Dextrose Agar » (PDA).

2-5. Procédure microbiologique

Une mise en émulsion de l'huile essentielle a été préalablement réalisée grâce à une solution d'agar agar à 0,2 % [11,12]; étant donné que cette huile n'est pas miscible à l'eau et donc aux milieux de culture. Elle permet d'obtenir, dans le milieu une répartition homogène des composés à l'état dispersé et augmenter au maximum le contact germe/composé. L'huile essentielle est diluée d'abord au 1/10e dans la solution agar agar. Des quantités de cette dilution ont été ajoutées aux tubes à essais contenant la gélose nutritive pour les bactéries et le PDA pour les moisissures. Ils sont ensuite stérilisés, refroidis à 45°C et versés dans des boîtes de pétri. Les concentrations finales en huiles essentielles sont 1/100, 1/250, 1/500, 1/1000 et 1/5000 (V/V). Des témoins contenant le milieu de culture plus la solution d'agar agar à 0,2 % seule, sont également préparés.

L'ensemble se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier se présente sous forme de bouillon de culture de

24 heures pour les bactéries et sous forme d'une suspension dans l'eau physiologique de spores provenant d'une culture de sept jours dans le PDA pour les moisissures. La température d'incubation est de 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 7 jours pour les champignons. Chaque essai est répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

3. Résultats et Discussion

3-1. Rendement et composition chimique

Le rendement moyen en huile essentielle, extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl), est de 0,22 %. Ce rendement est inférieur à celui cité par Barrero *et al.* [13]. En effet, ces auteurs ont montré lors d'une étude réalisée sur les feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) prélevées dans la région de Tétouan, que la teneur obtenue pour une durée d'extraction de 6 heures est de 0,70 %.

Les résultats de l'analyse chimique de l'huile essentielle des feuilles sont regroupés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* du Khemisset (Maroc)

Constituants	Indice de Kováts	%
α -thujène	931	2,26
α -pinène	939	23,54
Camphène	953	2,59
β -pinène	980	0,56
δ 3-carène	1011	0,02
α -terpinène	1018	0,27
p-cymène	1026	0,91
Limonène	1031	5,98
α -campholénal	1125	0,31
Oxyde de(Z)- limonène	1134	0,29
(E)-pinocarvéol	1139	0,63
Camphre	1143	17,27
Isobornéol	1156	0,12
Bornéol	1165	4,57

4-terpinéol	1177	0,71
Cymène-8-ol	1180	0,64
α-terpinéol	1189	0,40
Myrténol	1194	0,46
Verbénone	1204	1,74
(E)-carvéol	1217	0,72
(Z)-carvéol	1229	0,10
Acétate de cis chrysanthényle	1262	0,04
acétate de bornyle	1285	30,74
Carvacrol	1298	0,03
Acétate d'α-terpényle	1350	0,62
α-longipinène	1351	0,04
α-copaène	1376	0,06
-élémente	1433	<0,05
Germacrine d	1480	0,04
(E)- β-guaiene	1500	0,13
γ-cadinène	1513	0,14
oxyde de caryophyllène	1581	0,23
Widdrol	1597	0,38
α-humulène	1709	<0,05
Total		97,78

Trente quatre composés ont été identifiés et représentant environ 98 % de la composition chimique totale. Les composés majoritaires obtenus dans l'huile essentielle étudiée sont: l'acétate de bornyle (30,74 %), l'α-pinène (23,54 %), le camphre (17,27 %). Ensemble, ces trois composés constituent plus des trois quarts de la composition totale. Cependant, d'autres constituants présents en quantités moins importantes ont été identifiés, à savoir le limonène (5,98 %), le bornéol (4,57 %), le camphène (2,59 %) et l'α-thujène (2,26 %). Globalement, l'huile essentielle étudiée peut être répartie en quatre classes de composés terpéniques : les hydrocarbures (37,63 %), les esters (31,40 %), les cétones (19,01 %) et les alcools (8,52 %). L'ensemble de ces composés donne à cette huile une forte odeur balsamique agréable, de couleur jaunâtre.

Barrero et al. [13] ont rapporté que l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) de la région de Tétouan (Maroc) est caractérisée par la dominance du camphre (19,10 %), de l'acétate de bornyle (16,50 %) et du bornéol (9,60 %). Cette

composition chimique est relativement différente de la notre. En effet, l'huile essentielle de la région de Khémisset est plus riche en acétate de bornyle (30,74 %) mais elle contient un taux plus faible en bornéol (4,57 %). Au cours de cette même étude, ces auteurs ont mentionnés la présence de l' α -pinène et du limonène qu'on trouve aussi dans notre essence mais avec des pourcentages plus importants. Toutefois, les deux huiles contiennent le camphre dans des proportions comparables.

3-2. Tests antimicrobiens

Les résultats de l'activité antifongique et antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) sont donnés dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Activités antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) de Khemisset

Concentration V/V	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/5000	T
Bactéries						
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	+
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	-	-	+	+
Champignons						
<i>Penicillium parasiticus</i>	-	-	-	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	+	+	+

T : témoin ; - : inhibition ; + : croissance.

L'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) présente, in vitro, une bonne activité inhibitrice vis-à-vis des germes testés. Cependant, les microorganismes étudiés n'ont pas manifesté la même sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle. Chez les bactéries, *Staphylococcus aureus* a montré une plus grande sensibilité par rapport à *Escherichia coli* vis-à-vis de l'huile essentielle étudiée. Cette constatation confirme ce qui a été rapporté par plusieurs travaux [14,15]. Il est à noter également qu'aussi bien *Escherichia coli* que *Bacillus subtilis* ont présenté la même vulnérabilité à cette essence. Ceci est en accord avec ce qui a été avancé par *Satrani et al.* [9].

Micrococcus luteus est inhibé à partir de la concentration 1/1000 V/V. Ce résultat est analogue à celui rapporté par *Satrani et al.* [12]. En revanche, chez les champignons l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* (Vahl) inhibe les deux agents fongiques testés à la concentration de 1/500 V/V.

L'activité antimicrobienne de cette huile essentielle est due principalement à son profil chimique. Il est à préciser que notre essence est caractérisée par la présence de l' α -pinène (23,54 %) connu pour son effet inhibiteur. En effet, une étude réalisée par *Angioni et al.* [16] sur les huiles essentielles des feuilles de *Juniperus oxycedrus* a montré qu'elle présente une bonne activité inhibitrice de *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Cette huile essentielle est caractérisée par l'abondance de l' α -pinène (environ 86 %).

De même, au cours de leurs travaux sur l'huile essentielle de *Croton stellulifer*, *Martin et al.* [17] ont rapporté que l'activité observée contre les bactéries et champignons étudiés est attribuée particulièrement à la présence de l' α -pinène parmi les composés majoritaires de cette essence. Le biotest réalisé par *Aligiani et al.* [18] sur l'huile essentielle de *Sideritis siphylea* (contenant comme constituant principal l' α -pinène 35,20 %) a montré qu'elle possède une grande activité contre les microorganismes testés. On remarque également que l'huile essentielle des feuilles *Tetraclinis articulata* (*Vahl*) contient le camphre (17,27 %) et le bornéol (4,57 %), constituants connus pour leurs activités antimicrobiennes.

En effet, au cours d'une étude, *Felice et al.* [19] ont conclu que le camphre et ses dérivés ainsi que le bornéol peuvent être considérés comme des constituants antimicrobiens de l'huile essentielle d'*Achillea teretifolia*. Les bioessais effectués sur les huiles essentielles riches en bornéol ont prouvé que ce composé est doté d'un grand pouvoir antimicrobien [20]. En plus du bornéol, les autres alcools terpéniques (trans-pinocarvéol, 4-terpinéol, cymène-8-ol, α -terpinéol, trans-carvéol...), constituant environ un total de 9 % de cette huile, sont connus par leur fort pouvoir antimicrobien du fait de leur grande solubilité dans l'eau et donc ce qui leur confère une haute habilité à pénétrer les parois des cellules bactériennes et fongiques [21].

D'autre part, les esters et surtout l'acétate de bornyle (30,74 %), peuvent aussi participer à l'effet antibactérien et antifongique enregistré. En effet, en se basant sur les travaux de *Tzakou et al.* [22], les huiles essentielles de deux chémotypes de *Thymus longicaulis* riches en acétate de géranyl pour le premier et en acétate d' α -terpényle pour le deuxième, possèdent une grande activité antimicrobienne. Cependant l'effet synergique entre tous ces constituants chimiques peut aussi être pris en compte dans cette activité [23,24].

4. Conclusion

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, de la composition chimique et des propriétés antibactérienne et antifongique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata (Vahl)* récoltées dans la région de Khémisset (Maroc). Le rendement moyen en huile essentielle est 0,22 %. Les analyses chimiques, par CG et CG/SM, ont permis d'identifier environ 98 % des produits volatiles totaux de cette essence. L'acétate de bornyle (30,74 %), l' α -pinène (23,54 %), le camphre (17,27 %) et le limonène (23,31 %) constituent les principaux composés identifiés parmi les trente quatre caractérisés. Les résultats obtenus, dans cette étude, montrent que l'huile essentielle des feuilles de *Tetraclinis articulata (Vahl)* présente une activité inhibitrice très importante, *in vitro*, sur les quatre bactéries et deux champignons testés.

L'activité antimicrobienne de cette huile essentielle est due principalement à sa richesse en constituants suivants : L' α -pinène, le camphre le bornéol et les esters. D'ailleurs, tous ces composés sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Les performances antibactérienne et antifongique mises en évidence méritent d'être étudiées avec plus de détails afin d'envisager des perspectives d'application de cette essence.

Références

- [1] - M. F. BEYLIER-MAURAIL « Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie ». *Rivista Italiana EPPOS*. 58, (1976) 283-286.
- [2] - C. F. CARSON & T.V. RIELY « Antimicrobial activity of the major components of essential oil of *Melaleuca altemifolia* » *J. Appl. Bacteriol.* 78, (1995) 264-269.
- [3] - N. DE TOMMASI, C. CONTI, M.L STEIN & C. PIZZA « Structure and *in vitro* antiviral activity of triterpenoid saponins from *Calendula arvensis L* » *Planta Medica*. 57, (1991) 250-252.
- [4] - K. HAYACHI, M. KAMYA & T. HAYACHI « Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HVS-1, influenza and HI ». *Planta Medica*. 61, (1995) 237-241.
- [5] - J. V. LARRONDO, M. AGUT & M. A. CALVO-TORRAS « Antimicrobial activity of essence from labiates ». *Microbios*. 82, (1995) 171-172.
- [6] - M. TIZIANA BARATTA, H. J. D. DOMAN, S.G. DEANS, A. C. FIGUEIREDO, J. G. BARROSSO & G. ROBERTO « Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils ». *Flavor and Fragrans Journal*. 13, (1998) 235-244.
- [7] - J. BELKHADAR, R. CLAISSE, J. FLEURENTIN, C. YAUNOS, « Repertory of standard herbal drugs in the Moroccan pharmacopoeia ». *Journal of Ethnopharmacology*. 35, (1991) 123-143.

- [8] H. ZIYYAT, A. LEGSSYER, H. MEKHFI, A. DASSOILI, M. SERHROUCHNI, W. BENJELLOUN « Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco ». *Journal of Ethnopharmacology*. 58, (1997) 45-54.
- [9] B. SATRANI, A. FARAH, M. TALBI « Composition chimique et activité antibactériennes et antifongique de l'huile essentielle extraite du bois de *Tetraclinis articulata* du Maroc ». *Ann. Fals. Exp. Chim.* 964, (2004) 75-84.
- [10] S. SIMARD, J. M. HACHEY & G. J. COLIN « The variation of the essential oil composition with the extraction process, the case of *Thuya occidentalis* L and *Abies balsamea* L ». *J. Mill Wood Techn*, 8, (1988) 561-573.
- [11] A. REMMAL, A. T-ELARAKI, T. BOUCHIKHI, K. RHAYOUR & M. ETTAYIBi « Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in Agar medium ». *J. Essent. Oil Res.* 5, (1993) 179-184.
- [12] B. SATRANI, A. FARAH, M. FECHTAL, M. TALBI, M. BLAGHEN & A. CHAOUCH «Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Saturija alpina* du Maroc ». *Ann. Fals. Exp. Chim.* 956, (2001) 241-250.
- [13] A. F. BARRERO, M.M HERRADOR, P.ARTEAGA, J.QUILEZ, M.AKSSIRA, F. MELLOUKI & S. AKKAD « Chemical composition of the essential oil of leaves and wood of *Tetraclinis articulata* (Vahl) Masters », *J.Ess. Oil. Res.* 17, (2005) 166-168.
- [14] F. HAJJI, S. FKIH-TANTAOUI, A. TANTAOUI-ELARAKI « Antimicrobial activity of twenty one Eucalyptus essential oils ». *Fitoterapia*. L XIV, 1, (1993) 71-78.
- [15] A. TANTAOUI-ELARAKI, N. LATTAOUI, A. ERRIFI « Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus broussonetti*, *T. Zygis* and *T. Satureoïde* ». *J. Essent. Oil. Res.*, 5, (1993) 45-53.
- [16] A. ANGIIONI, A. BARRA, M. T. RUSSO, V. CORONEO, S. DESSIP, P. CABRAS « Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity ». *J. Agric. Food Chem.* 51, (2003) 3073-3078.
- [17] A. R. MARTIN, L. R. SALGUEIRO, M. J. GONCALVES, R. VILA, F. TOMI , T. ADZET, J. CASANOVA « Activity and chemical composition of the bark oil of *Croton stellulifer* ». *Planta Medica*, 66(7), (2000) 647-650.
- [18] N. ALIGIANNIS, E. KALPOUTZAKIS, I. B. CHINOU, S. MITAKOU, E. GIKAS, A. TSARBOPOULOS « Composition and antimicrobial activity of essential oils of five taxa of *Sderitis* from Greece ». *J. Agric. Food Chem.* 49, (2001) 811-815.
- [19] S. FELICE, N. FRANCESCO, A.A. NELLY, B. MAUREZIO & H. WERNER « Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea falcata* L ». *Flav. and Fragr. J.*, 20 (3), (2004) 291-294.
- [20] N. TABANCA, N. KIRIMER, F. DEMIRCI, K. H. BASER « Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristana* subsp. *phrygia*

- and the enantiomeric distribution of borneol ». *J. Agric. Food Chem.* 49, (2001) 4300-4303.
- [21] K. KNOBLOCH, A. PAULIS., B. IBERL, H. WEIGNAUD, N. WEIS « Antibacterial and antifungal properties of essential oil components ». *J. Ess. Oil Res.* 1, (1989) 118-119.
- [22] O. TZAKOU, E. VERYKOKIDOU, V. ROUSSIS, I. CHINO « Chemical composition and antibacterial properties of *Thymus longicaulis* subsp. *chaoubardii* oils: three chemotypes in the same population ». *J. Essent. Oil Res.*, 10, (1998) 97-99.
- [23] P. FRANCHOMME « L'aromatologie à visée anti-infectieuse ». *Phytomédecine*, 1 et 2, (1981) 25-47.
- [24] C. GUELDNER R, D. M. WILSON, A. HEIDT « Volatil compounds inhibiting *Aspergillus flavus* ». *J. Agric. Food. Chem.* 33, (1985) 413-419.