

COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITE ANTIOXYDANTE DE L'HUILE ESSENTIELLE DES FLEURS SECHES DE *LAVANDULA OFFICINALIS*

LAIB I.*¹ et BARKAT M. ¹

1- Institut de Nutrition, d'Alimentation et des Technologies Agro alimentaires, Université de
Constantine Mentouri, Algérie, *E-mail :mina.laib@gmail.com

Résumé : Cette étude a pour objectif de déterminer la composition chimique et d'évaluer l'activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de la lavande (*Lavandulaofficinalis*). L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. La composition de l'huile essentielle a été analysée par CPG. Elle a permis d'identifier 49 composés terpéniques dont les principaux sont :Linalyl acétate(15.26 %), Linalool (10.68%), 1,8- cineole (10.25%), γ -terpinene (11.2%) et camphor (11.25%). L'étude du pouvoir antioxydant de ces huiles a été réalisé par la méthode de DPPH• Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandulaofficinalis*mais moins efficace par comparaison à la vitamine E.

Mots clés : Huile essentielle ; *Lavandulaofficinalis* ; CPG ; Activité antioxydante ,Hydrodistillation

Abstract: This study aims to determine the chemical composition and to evaluate the antioxydant activity of the essential oil of the dry flowers of the lavender (*Lavandula officinalis*). The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation. The composition of essential oil was analyzed by CPG. It made it possible to identify 49 terpenic compounds whose principal ones are: Linalyl acetate (15.26%), Linalool (10.68%), 1.8 - cineole (10.25%), γ -terpinene (11.2%) and camphor (11.25%). The study of the antioxydant power of these oils was carried out by the method of DPPH•. The got results showed the existence of an antioxydant activity of the oil essential of the dry flowers of *Lavandula officinalis* but less effective by comparison with the vitamin E.

Key words: Essential oil; *Lavandula officinalis*; CPG; Antioxydant activity; Hydrodistillation

Introduction

Des études ont été menées sur le développement de nouvelles applications et l'exploitation des propriétés naturelles des huiles essentielles dans le domaine alimentaire. Les huiles essentielles et leurs composants sont connus pour posséder des activités antioxydantes et pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaire, ou approuvés comme additifs alimentaires (Caillet et Lacroix, 2007). Ainsi, les huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Elles font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour la protection des aliments contre l'oxydation (Bouhdid et al., 2006). Sans aucun doute, les conservateurs alimentaires chimiques ou synthétiques font partie de la panoplie des techniques et des moyens qui permettent d'assurer la sécurité du consommateur, d'allonger la durée de vie des produits alimentaires et de limiter leurs altérations par l'oxydation (Multon et al., 2002). Cependant, la recherche de nouvelles molécules s'est avérée nécessaire car, ces substances synthétiques ont montré un certain nombre d'inconvénients et de limites d'utilisation. En effet, le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroxytoluène (BHT) sont suspectés avoir des effets carcinogènes (Belhedj et al. 2006). Les nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire. Le recours aux huiles essentielles s'avère être un choix pertinent face à un risque de

contamination précis ou à la nécessité de réduire ou remplacer les agents de conservation chimiques ou synthétiques (Caillet et Lacroix, 2007). Ce sujet nous a semblé d'autant plus intéressant que la flore Algérienne est extrêmement riche en plantes aromatiques. L'objectif de cette étude est d'analyser la composition chimique des huiles essentielles de la lavande et de mettre en évidence leur activité antioxydante.

Matériel et Méthodes

Matériel végétal

Lavandula officinalis : est un arbrisseau buissonnant pouvant atteindre 1 m de hauteur. Les feuilles, linéaires et de couleur gris vert, ont une longueur variant entre 3 et 5 cm. La tige est ligneuse. Les Fleurs sont bleues groupées à l'aisselle de bractées ovales au sommet de rameaux fertiles formant des sortes d'épis un peu lâches, très aromatiques.

Règne	Plantes
Sous règne	plantes vasculaires
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiaceées
Genre	<i>Lavandula</i>
Espèce	<i>Lavandula officinalis</i>

Les fleurs de *Lavandula officinalis* ont été récoltées de l'Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires (INATAA), Université de Constantine, situé au septième Kilomètre du centre ville. La récolte était entreprise

manuellement au mois de juin 2009 en période de floraison. Les fleurs récoltées sont séchées à l'abri de la lumière et à température ambiante.

Les fleurs, fraîchement récoltées, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant environ 10 jours (figure 1).

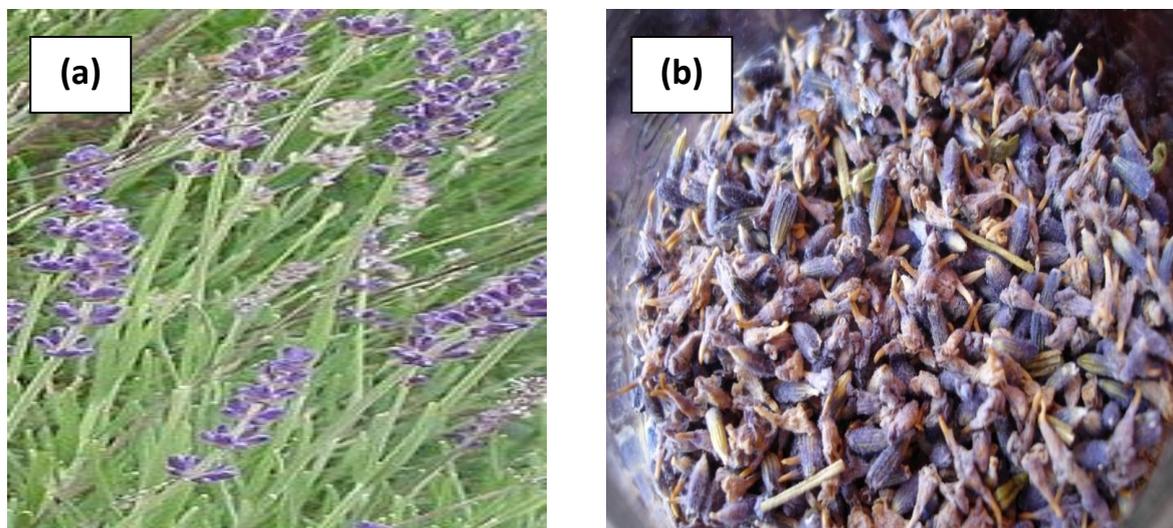


Figure I : *Lavandula officinalis* : (a) : Plante, (b) : Fleurs sèches

Extraction de l'huile essentielle. L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger, il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place 10 g des fleurs séchées et 100 ml d'eau distillée, un réfrigérant et un collecteur. L'huile essentielle obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4 °C.

Détermination de la composition chimique de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse. L'étude analytique de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* a été réalisée, au complexe GL1/K Département ADM/Soc service Laboratoire Skikda, par chromatographie en phase gazeuse type VARIAN CHROMPACK-CP 3800 par injection de 0.2µl d'extrait à l'aide d'une micro-seringue. Le gaz vecteur est l'hélium He d'un débit de 0.3ml/min. La colonne utilisée est une colonne capillaire de type CP-Chirasil-

Dex CB fusedsilica WCOT, de 25m de longueur et de 0.25mm de diamètre intérieur. L'épaisseur de la phase stationnaire est de 0.25µm ; la programmation de la température de la colonne initiale d'injection est de 70°C pendant 2.50mn, puis s'élève par palier de 15°C/mn à 240°C pendant 20mn ; le détecteur utilisé pour cette analyse est de type FID avec une température de 250° C. L'appareil est piloté par un ordinateur menu d'un logiciel et d'une banque de données NIST qui permet l'identification des composés. Le temps de sortie de chaque pic, le « temps de rétention », caractérise qualitativement la substance concernée. L'aire limitée par ces pics permet de mesurer la concentration de chaque composé séparé.

Evaluation de l'activité antioxydante. L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl)

selon la méthode décrite par Burits et Bucar (2000), où 50 µl de chacune des solutions méthanoliques des Huiles essentielles testées à différentes concentrations (200 µg/ml, 400 µg/ml, 600 µg/ml, 800 µg/ml et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine E a été également analysée avec la même concentration pour la comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine E et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, IC₅₀, TC₅₀ et l'efficacité antiradicalaire EA). Tous les essais ont été effectués en triple.

Détermination du pourcentage d'inhibition.

Selon Sharififar et al., (2007), l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = (A_{\text{blanc}} - A_{\text{échantillon}}) / A_{\text{blanc}}$$

A blanc : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai), et A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine E avec le DPPH est enregistrée à chaque concentration examinée.

Les concentrations en huile essentielle et en vitamine E, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC₅₀. Ce paramètre est défini comme la concentration

d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH initiale de 50% (Sharififar et al., 2007).

Détermination du temps d'équilibre TEC₅₀.

Le paramètre TEC₅₀ est défini comme le temps atteint à l'équilibre avec une concentration d'antioxydant égale à IC₅₀. Ce temps est calculé graphiquement (Sharififar et al., 2007).

Détermination de l'efficacité antiradicalaire

EA. Les deux facteurs IC₅₀ et TE₅₀ sont combinés afin d'obtenir le paramètre d'efficacité anti-radicalaire (Sharififar et al., 2007).

$$EA = 1/IC_{50} \times TEC_{50}$$

Résultats et discussion

Principaux composés de l'huile essentielle détectés par la chromatographie en phase gazeuse.

L'analyse de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 49 composés terpéniques cités dans le tableau 1 et figure 2 par ordre d'élution. 49 composants représentant la somme des pourcentages des composants obtenus ont été identifiés dont 67.29% sont des dérivés monoterpéniques oxygénés et 15.3% sont des hydrocarbures monoterpéniques. Il semble que la majorité des composants de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* sont des monoterpènes. Les composants majeurs de cette huile sont : linalyl acétate (15.26%, 88.390 min), linalool (10.68%, 86.970 min), 1,8-cineole (10.25%, 53.064 min), γ-terpinène (11.2%, 52.339 min) et camphor (11.25%, 22.365 min).

Tableau I : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lavandulaofficinalis*

Composé	Temps de rétention (mn)	(m/m) %	Composé	Temps de rétention (mn)	(m/m)%
Tricyclene	6.101	tr	Carvone	82.354	tr
3-octanol	13.201	1.7	Dihydrolinaloolacetate	83.622	tr
Camphène	15.711	0.37	Linalool	86.970	10.68
βPinène	18.330	0.25	Lavandulylacetate	87.950	0.08
Octen-3-ol	19.178	0.41	Linalylacetate	88.390	15.26
Bornyle acetate	21.882	0.7	α- cis bergamotene	89.292	0.07
Myrcene	22.202	0.51	αPinène	89.997	0.3
Camphor	22.365	11.25	δ- Cadinene	90.700	0.02
α-phellandrene	25.337	tr			
δ- 3-carene	26.490	0.32			
1,4-Cineole	28.210	0.35			
Limonene	29.990	tr			
3-octanone	30.112	0.65			
o-cymene	30.995	tr			
p-cymene	40.114	0.49			
(z)-β-ocimene	42.151	0.87			
(E)-β-ocimene	43.571	0.75			
Hexyl-iso butyrate	43.622	0.95			
α- Campolenal1	47.911	tr			
trans sabinene hydrate	48.700	0.1			
Perillene	50.160	tr			
γ-terpinene	52.339	11.20			
1,8-cineole	53.064	10.25			
trans-pinocarveol	54.129	0.24			
Lavandulylisobutyrate	55.624	0.35			
Isoborneol	57.430	0.6			
Carvacrol	58.008	0.9			
Cis-chrysantheol	58.027	0.49			
Borneol	59.855	tr			
Lavandulol	60.235	0.7			
Terpinen-4-ol	61.751	0.7			
m- cymen-8-ol	63.015	0.6			
p-cymen-8-ol	64.899	1.25			
Neoisomenthol	70.367	0.15			
α- Terpeneol	73.205	0.5			
Hexyl butyrate	74.496	0.3			
Mytenol	76.469	0.75			
Cis- carveol	78.409	tr			
Dihydrocarveol	78.917	tr			
Isobornylformate	81.382	tr			
Hexyl-2-methyl butyrate	81.254	0.13			

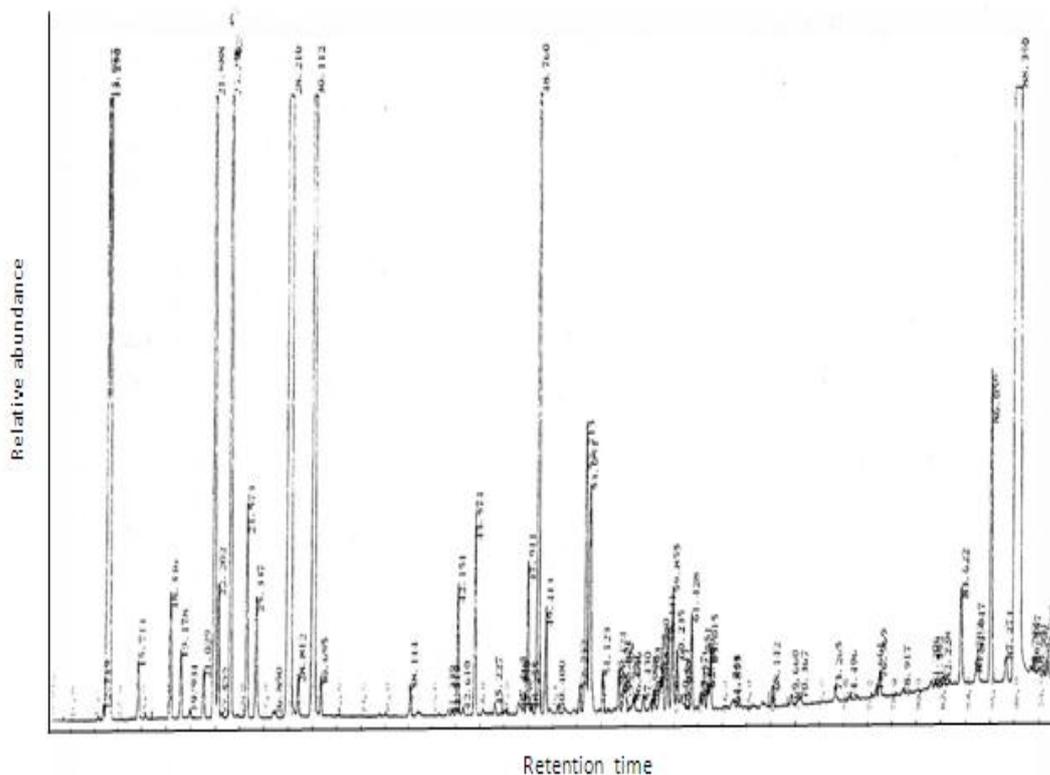


Figure II : Chromatogramme de l'HE de *Lavandula officinalis* obtenu par CPG

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Kulevanova et *al.*,(2000) qui ont examiné la composition chimique des huiles essentielles des fleurs de *Lavandula officinalis* collectées dans la montagne de KOZJAK (MACEDONIA). Ils ont trouvé 32 constituants avec une prédominance de linalool (25.7%), linalyl acétate (23.2%) et lavandulyl acetate (12.4%) avec une dominance des composants monoterpéniques et la présence des hydrocarbures sesquiterpéniques et ses dérivés oxygénés. Verma et al. (2009) ont analysé la composition des fleurs de *Lavandula officinalis* récoltées dans la région d'Uttarakand (Inde), ils ont identifiés 37 composés monoterpéniques, dont les composés majeurs étaient : linalyl acétate (47.56%),

linalool (28.06%), lavandulyl acétate (4.34%) et α - terpineol (3.7%). Sun kim et Sun lee (2002) ont comparé la composition chimique de l'huile essentielle de la lavande obtenue par différentes méthodes d'extraction. Ils ont trouvé que le linalyl acétate (35.44%) et le linalool (18.70%) sont prédominants dans les huiles essentielles obtenues par distillation à la vapeur. Leurs teneurs étaient seulement de 2,63 et 4,04 % respectivement par extraction au solvant (éthanol) et 36,80 et 43,47 % dans le cas d'une extraction par microonde. D'après ces résultats, on remarque que la composition chimique de l'huile essentielle de l'espèce *Lavandula officinalis* récoltée à Constantine est différente de celles dans de nombreux travaux sur la même espèce dans

les différentes régions dans le monde, avec une prédominance des composés monoterpéniques dans la plupart des cas, mais à des proportions différentes. Cette différence de composition est due probablement à diverses conditions notamment l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de la récolte, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites et la méthode d'extraction (Svoboda et Hampson, 1999).

Activité antioxydante

Cinétique de la réaction. La cinétique de réduction du radical libre DPPH obtenue pour chaque concentration de vitamine E et d'huile essentielle est indiquée dans la figure 3. Pour les deux composés examinés (vitamine E et huile essentielle), la réaction est biphasée, avec une baisse rapide dans l'absorbance dans les premières minutes, suivies d'une étape plus lente, jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint (figure 3), alors on distingue deux zones : une zone à forte cinétique de piégeage du radical observée au bout des cinq premières minutes pour la vitamine E pour toutes les concentrations et au bout des 10 minutes pour la concentration 1000 µg/ml. Cette zone est

observée au bout des 15 premières minutes pour l'huile essentielle ; une deuxième zone à faible cinétique de piégeage du radical DPPH ou zone de tendance vers l'équilibre constatée après les 5 minutes pour toutes les concentrations de la vitamine E, exceptée la concentration 1000 µg/ml. Pour l'huile essentielle, cette zone est constatée après les 15 minutes. Lorsqu'on effectue la réaction entre le DPPH et la vitamine E donneuse d'hydrogène, on constate que la réaction atteint un équilibre au bout d'un temps court par rapport à l'huile essentielle de *Lavandula officinalis*. L'activité antioxydante est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH•, l'atome H est transféré sur ce dernier alors transformé en une molécule stable DPPH, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre et également l'absorbance au cours du temps de réaction jusqu'à l'épuisement de la capacité d'antioxydant donneur d'hydrogène (Villano et *al.*, 2007).

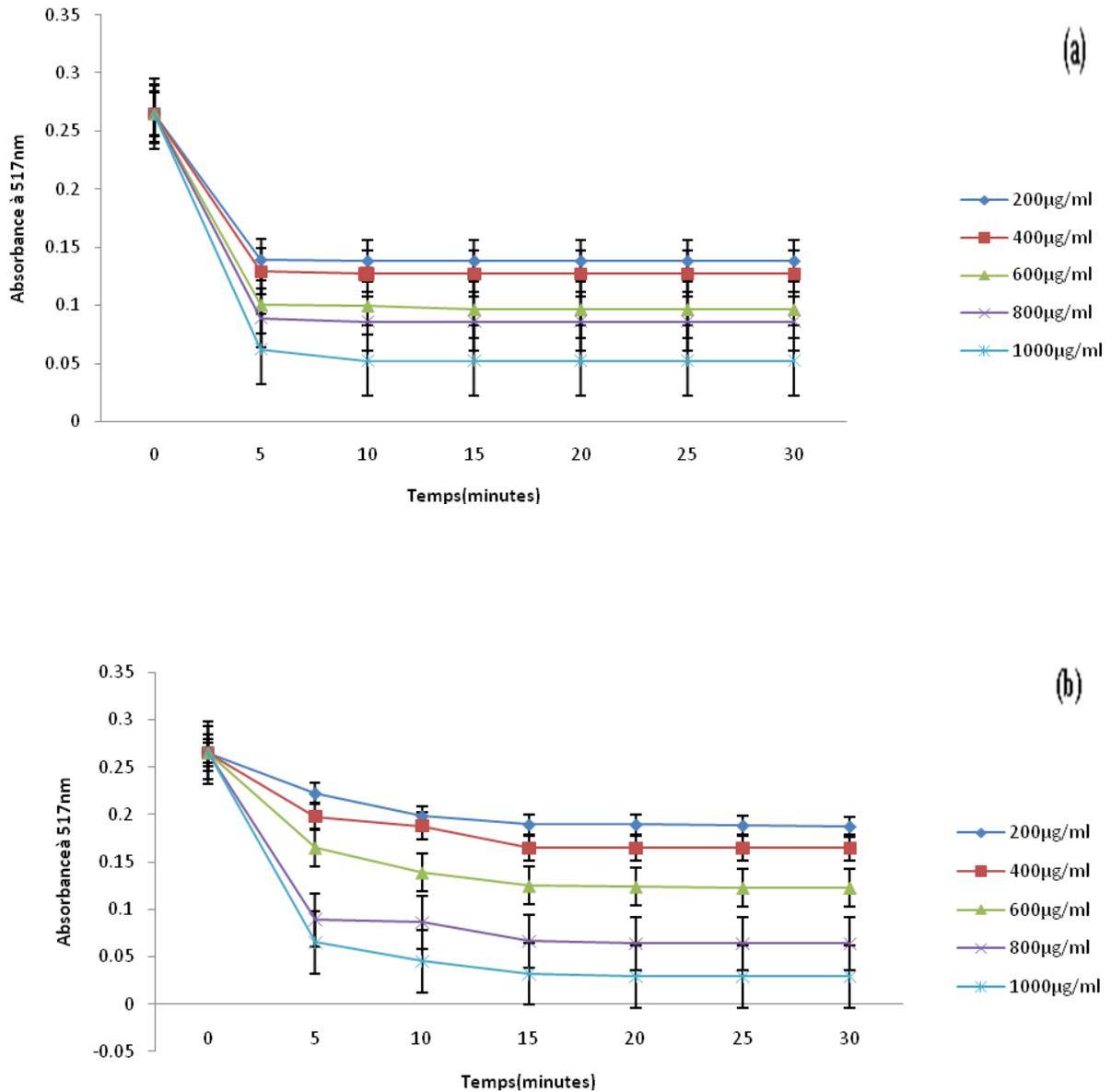


Figure III: cinétique de réduction du DPPH :
 (a) : vitamine E ;(b) : huile essentielle de la lavande

Pourcentage d'inhibition. Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans la figure 4. Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la

vitamine E ou pour l'huile essentielle de la lavande. On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile essentielle est inférieur à celui de la vitamine E pour toutes les concentrations utilisées.

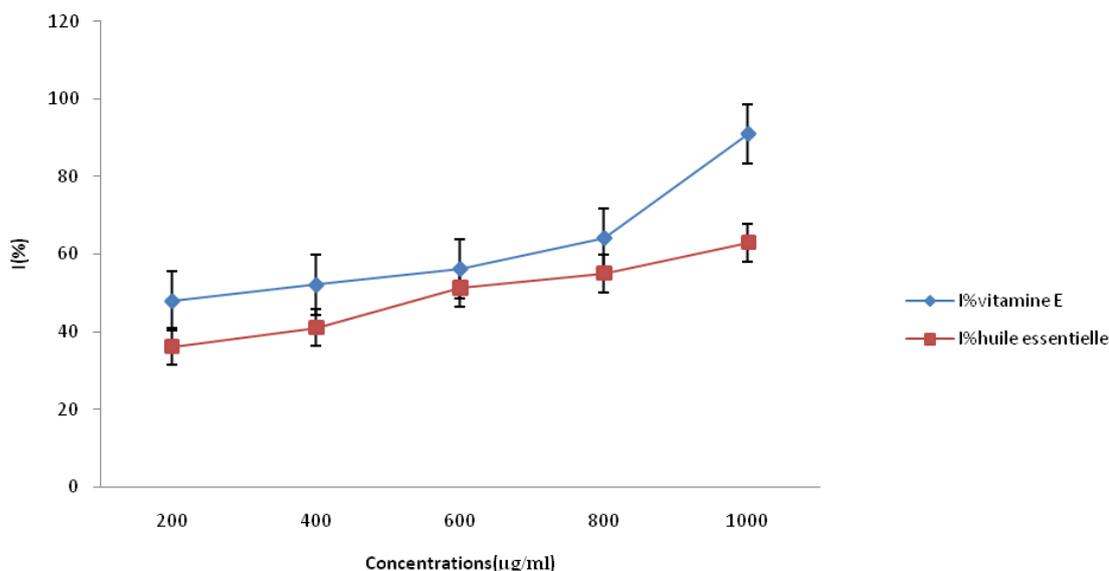


Figure IV: Pourcentage d’inhibition pour l’huile essentielle et la vitamine E

Détermination d’IC50. L’IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d’un composé, car il exprime la quantité d’antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la

valeur d’IC50 est basse, plus l’activité antioxydante d’un composé est grande. Les valeurs d’IC50 pour l’huile essentielle de la lavande et la vitamine E sont indiquées dans la figure 5.

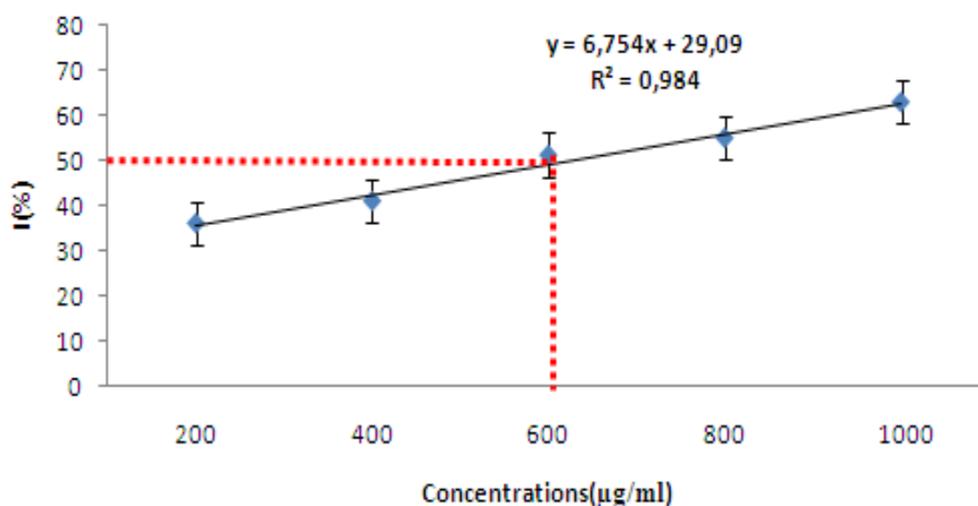


Figure V: Calcul d’IC50 pour l’huile essentielle de la lavande

L’huile essentielle de la lavande pouvait ramener le radical libre stable 2,2-diphényl-1-

picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un

IC50 de $584 \pm 0.58 \mu\text{g/ml}$ montrant une activité antioxydante inférieure à celle de la vitamine E. Il semble d'après ces résultats que la vitamine E est l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 de $384 \pm 0.76 \mu\text{g/ml}$ par rapport à l'huile essentielle étudiée.

Détermination de TC50. On a choisi l'état d'équilibre comme période de mesure où il s'avère que la réaction ne progresse pas plus loin. Le temps à l'état d'équilibre dépend de la réactivité des antioxydants et des concentrations utilisées. On constate que la vitamine E réagit d'une façon plus rapide avec DPPH•. Le TEC50 pour l'HE étudiée est de $17 \pm 1 \text{mn}$, alors que la vitamine E a besoin seulement de 8 ± 0.66 minutes pour diminuer la concentration du radical libre de 50% (Figure 6).

Paramètre d'efficacité antiradicalaire. Un nouveau paramètre a été défini, l'efficacité antioxydante, qui combine les deux paramètres (IC50 et TC50) afin de caractériser facilement le comportement d'une substance en tant qu'antioxydant. Les paramètres de calcul de l'activité antioxydante sont résumés dans le tableau 2. Il semble que l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* a une activité antioxydante mais elle est moins efficace que celle de la vitamine E (tableau 2). Il semble aussi que cette activité est liée à la présence des composés phénoliques dans l'huile essentielle. Le rôle principal des composés comme réducteurs des radicaux libres est souligné dans plusieurs rapports (Villano et al., 2007).

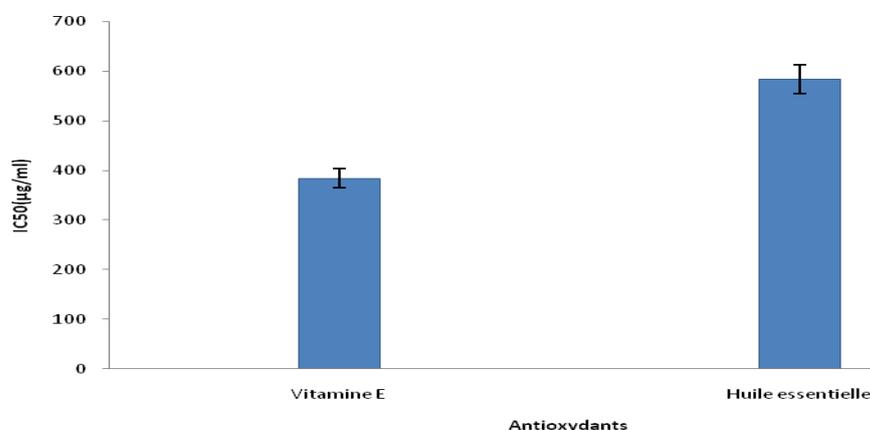


Figure VI: Valeurs d'IC50

Tableau II : Les paramètres de calcul de l'activité anti-oxydante

	IC50(µg/ml)	TEC50 (mn)	AE
Vitamine E	384 ± 0.76	8 ± 0.66	0.32 ± 0.06
HE	584 ± 0.58	17 ± 1	0.1 ± 0.66

Le camphor qui est un composé majoritaire de notre huile essentielle avec une concentration de 11.25% possède une forte activité antioxydante (Svoboda et Hampsen, 1999). Ce n'est pas uniquement les composés majoritaires des HE qui sont responsables de cette activité antioxydante, mais il peut y avoir aussi d'autres composés minoritaires qui peuvent interagir d'une façon synergique ou antagoniste pour créer un système efficace vis-à-vis des radicaux libres (Lu et Foo, 2001 ; Sing et *al.*, 2006). La présence de carvacrol même à faible concentration dans l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* (0.9%) peut expliquer l'activité de piégeage du radical DPPH. Par ailleurs, Economou et *al.* (1991) ont trouvé une activité antioxydante des huiles essentielles des fleurs du genre *Lavandula* contre la détérioration oxydante du saindoux. De même, Hui et *al.*,(2010) ont

analysé la capacité antioxydante d'huile essentielle de la lavande sur l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique et l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique par la vitamine E avec la même concentration pour la comparaison. Ils ont constaté que l'huile essentielle de la lavande a présenté une activité antioxydante plus forte que la vitamine E contre la peroxydation des lipides. Dans deux études réalisées séparément par Lis-Balchin et Deans (1997) et Lis-Balchin et *al.* (1998), ils ont prouvé qu'il n'y avait aucune corrélation entre le pourcentage des composants principaux, linalol et linalylacetate et l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites de la lavande. Ces résultats contradictoires sont dus probablement à la différence de la composition chimique entre ces huiles essentielles (Lis- Balchin, 2002).

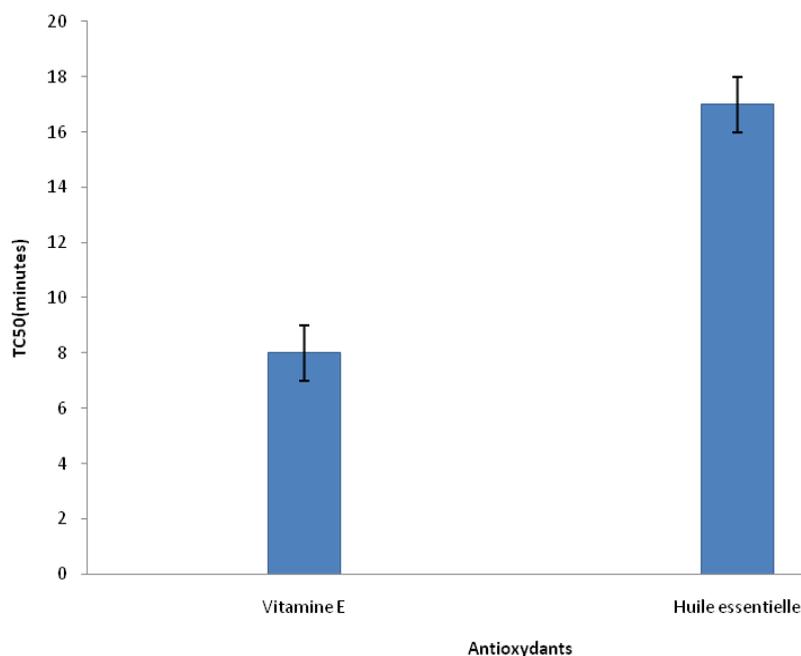


Figure VII : Valeurs de TC50

Conclusion

Ce travail a été mené dans le cadre de l'étude de la composition chimique de et l'activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs de *Lavandula officinalis*. Les résultats obtenus indiquent que le rendement d'extraction de l'huile essentielle par hydro distillation est de $1.36 \pm 0.2\%$. La cinétique d'extraction a montré que la quasi- totalité de l'huile essentielle est extraite au bout des 80 premières minutes. L'analyse de la composition chimique par CPG a permis d'identifier 49 composants mono terpéniques dont 67.29% sont des dérivés mono terpéniques oxygénés et 15.3% sont des hydrocarbures mono terpéniques. Cinq constituants majoritaires ont été déterminés : linalyl acétate (15.26%) suivi ensuite par camphor (11.25%), γ terpinene (11.2%) et le linalol (10.68%). L'huile essentielle a présenté une activité antioxydante mais moins efficace par rapport à la vitamine E. il est souhaitable de procéder à une analyse approfondie des mécanismes d'action de ces composés et une recherche plus avancée sur la synergie des composés de base et l'association d'extraits d'huiles essentielles dans les produits alimentaires. En fin, ces propriétés naturelles des huiles essentielles en font des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire.

Références bibliographiques

Belhadj S. K., Mahdjoub M. A., Ammar S., Chraief I., Mighri Z. & Aouni M., "Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle de *Coridothymus capitatus* (L.) », Thèse de doctorat Université de Monastir, Tunisie, 2006, 73 p.

Bouhdid S., Idomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S. & Abrini J., "Thymus essential oils : chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities", Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 2006.

Burits M., & Bucar F., "Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil". *Phytotherapy Research*, 14, 2000, p: 323-328.

Caillet S. & Lacroix M., « Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire », *INRS -Institut Armand-Frappier, (RESALA)*, 2007, P : 1 - 8.

Economou L., Venskutonis R. & Van Beek T.A., "Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs", *Journal of the Science of Food and agriculture*. 77, 1991, p:140-146.

Hui L., He L., Huan L., Xiao Lan L. & Aiguo Z., "Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis related bacteria" *African Journal of Microbiology Research*, 4, 4, 2010., p :309-313.

Kulevanova' S., Stetkov' G. & Ristic M., "Examination of and essential oils of *Lavandula officinalis* grown on mountain KOZJAK (MACEDONIA)", *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia*. 19,2, 2000, p: 165-169.

Lis-Balchin M. & Deans S.G., "Bioactivity of selected plant essential oils against *Listeria monocytogenes*", *journal of Applied Microbiology*, 82, 1997, p: 62-75.

Lis-Balchin M., Deans S.G. & Eaglesham E., "Relationship between the bioactivity and

chemical composition of commercial plant essential oils”, *Flavour and Fragrance journal*, 13, 1998, p :98–104.

Lu F & Foo L.Y., “Antioxidant activity of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*)”, *Food Chemistry*, 75, 2001, p: 197-202.

Multon J. L., *Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires*, Paris, Lavoisier, 2002, p. 207 - 231.

Sharififar F. , Moshafi M.H. , Mansouri S.H., Khodashenas M. & Khoshnoodi M., “In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss”, *Food Control*, 18, 2007, p: 800–805.

Sing R., Marimuthu P., De Heluani C.S & Catalan Ceser A.N., “Antioxidant and biocidal Activities of *Carum nigrum* (seed) Essential oil, Oleoresin, and Their Selected Components”.

Journal of Agricultural and Food Chemistry .54, 2006, p: 174-181.

Sun Kim N .& Lee D.S., “Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry”, *Journal of Chromatography* , 982, 2002, P:31–47.

Svoboda k.p. & Hampson J.B., “Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities”, Plant Biology Departement, Riverside Campus Ayr - SAC (Scottish Agricultural College), Auchincruive Ayr, Scotland, UK., 1999

Villano D., Fernandez-Pachon M.S., Moya M.L., Troncoso A.M. & Garcia-Parrilla M.C., “Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical”. *Talanta* .71, 2007, p: 230–235