



République Algérienne Démocratique et Populaire
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
جامعة عبد الحميد بن باديس
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
كلية علوم الطبيعة و الحياة



MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

SALAH SARA

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCES ALIMENTAIRES

Spécialité : **Nutrition et Pathologie**

THÈME

**ÉVALUATION DE L'EFFET ANTIMICROBIEN ET
ANTIOXYDANT DE L'HUILE ESSENTIELLE DE ROMARIN
(*ROSMARINUS OFFICINALIS L.*)**

Soutenu le 23 Juin 2024, devant le jury :

Qualité	Nom et Prénom	Grade	Etablissement d'origine
Présidente	ALACHAHER Fatima Z.	MAB	Université de Mostaganem
Examinatrice	CHERRAD Hayet	MAB	Université de Mostaganem
Rapporteur	MIR Hakima	MCA	Université de Mostaganem

*Année Universitaire
2023/2024*

Résumé

Le présent travail a été mené dans le cadre de la valorisation de la flore méditerranéenne algérienne et plus particulièrement, d'espèce végétale, à savoir, *Rosmarinus officinalis L.*, en analysant leur composition chimique, leur toxicité. Ainsi que celle de leurs huiles essentielles, mais aussi, en évaluant quelque'une de leur propriété biologique telles que, l'activité antimicrobienne, antioxydant. L'huile essentielle de romarin est obtenue à partir des feuilles et fleurs de la plante de *Rosmarinus officinalis L.* par un processus de distillation à la vapeur d'eau, représente un rendement de l'ordre de 0.62%. Les indices physiques de l'huile essentielle de la plante montrent une grande similitude. Ils sont conformes à ceux donnés par AFNOR. L'indice d'acide d'huile était de 2,24 et l'indice d'ester était de 325,10. L'étude chimique de cette huile essentielle par CPG a révélé la richesse de ces dernières en 15 composés exhibant un total d'environ 92,56 % de composés identifiés. L'activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose. Cette activité a été testée contre 4 souches bactériennes et un champignon. L'activité antibactérienne la plus importante a été exprimée sur *Staphylococcus* avec un diamètre d'inhibition de 21mm. Un taux significatif d'activité antifongique contre *Candida albicans* avec un diamètre de 22mm. Dont les résultats obtenus montrent que cet HE présente un effet positif sur les souches microorganismes. La capacité antioxydante a été mesurée à l'aide d'un test d'activité de piégeage des radicaux libres utilisant des radicaux libres utilisant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), D'après les résultats, l'huile essentielle est dotée d'un potentiel anti-radicalaire et antioxydant modéré, avec 64% pour la plante cultivée de la région de Mostaganem. **En Conclusion**, Cette huile essentielle a des activités biologiques bénéfiques sur des applications thérapeutiques de la médecine traditionnelle, en aromathérapie, en cosmétique, en cuisine, en raison de ses multiples bienfaits pour la santé et le bien-être.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis L* – huiles essentielles - Antioxydants – DPPH – Acide ascorbique.

Abstract

The present work was carried out within the framework of the valorization of the Algerian Mediterranean flora and more particularly, of plant species, namely, *Rosmarinus officinalis* L., by analyzing their chemical composition and their toxicity. As well as that of their essential oils, but also, by evaluating some of their biological properties such as, antimicrobial, antioxidant activity. Rosemary essential oil is obtained from the leaves and flowers of the *Rosmarinus officinalis* plant. L. by a steam distillation process, represents a yield of around 0.62%. The physical indices of the plant's essential oil show great similarity. They comply with those given by AFNOR. The acid number of the oil was 2.24 and the ester number was 325.10. The chemical study of this essential oil by CPG revealed its richness in 15 compounds exhibiting a total of approximately 92.56% of identified compounds. Antibacterial activity was determined by the agar diffusion method. This activity was tested against 4 bacterial strains and a fungus. The greatest antibacterial activity was expressed on staphylococcus with an inhibition diameter of 21mm. A significant rate of antifungal activity against candida albicans with a diameter of 22mm. The results obtained show that this EO has a positive effect on microorganism strains. The antioxidant capacity was measured using a free radical scavenging activity assay using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). According to the results, the oil essential has a moderate anti-radical and antioxidant potential, with 64% for the plant cultivated in the Mostaganem region. In Conclusion, This essential oil has beneficial biological activities in therapeutic applications in traditional medicine, in aromatherapy, in cosmetics, in cooking, because of its multiple benefits for health and well-being.

Keywords: *Rosmarinus officinalis* L – essential oils – Antioxidants – DPPH –Ascorbic acid.

الملخص

تم إنجاز هذا العمل في إطار تثمين نباتات البحر الأبيض المتوسط الجزائرية، وعلى وجه الخصوص، الأنواع النباتية، وهي *Rosmarinus officinalis L.*، من خلال تحليل تركيبها الكيميائي وسميتها. بالإضافة إلى زيوتها الأساسية، أيضًا من خلال تقييم بعض خصائصها البيولوجية مثل النشاط المضاد للميكروبات ومضادات الأكسدة. يتم الحصول على زيت إكليل الجبل الأساسي من أوراق وأزهار نبات *Rosmarinus officinalis L.* عن طريق عملية التقطير البخار، يمثل عائدًا يبلغ حوالي 0.62%. تظهر المؤشرات الفيزيائية للزيت العطري للنبات تشابهًا كبيرًا. أنها تمتثل لتلك المقدمة من AFNOR. كان الرقم الحمضي للزيت 2.24 ورقم الإستر 325.10. كشفت الدراسة الكيميائية لهذا الزيت العطري التي أجرتها CPG عن ثرائه في 15 مركبًا تظهر إجمالي 92.56% تقريبًا من المركبات المحددة. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا بواسطة طريقة انتشار الأجار. تم اختبار هذا النشاط ضد 4 سلالات بكتيرية وفطريات. تم التعبير عن أكبر نشاط مضاد للجراثيم على المكورات العنقودية التي يبلغ قطر تثبيطها 21 ملم. معدل كبير من النشاط المضاد للفطريات ضد المبيضات البيضاء بقطر 22 ملم. تظهر النتائج التي تم الحصول عليها أن هذا EO له تأثير إيجابي على سلالات الكائنات الحية الدقيقة. تم قياس قدرة مضادات الأكسدة باستخدام اختبار نشاط إزالة الجذور الحرة باستخدام 2,2-ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل (DPPH) ووفقًا للنتائج، يتمتع الزيت الأساسي بقدرة معتدلة مضادة للجذور ومضادات الأكسدة، بنسبة 64% للنبات المزروعة في منطقة مستغانم. في الختام، هذا الزيت العطري له أنشطة بيولوجية مفيدة في التطبيقات العلاجية في الطب التقليدي، في العلاج بالروائح، في مستحضرات التجميل، في الطبخ، بسبب فوائده المتعددة للصحة والرفاهية.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل المخزني – L الزيوت العطرية – مضادات الأكسدة – DPPH – حمض الأسكوربيك

REMERCIEMENTS

Ce travail été réalisé au Laboratoire Des Microorganismes Bénéfiques, Aliments Fonctionnels et de la Santé, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem

*Mes plus vifs remerciements et toute ma reconnaissance vont à mon Rapporteur de recherches Madame **MIR H**, Maître de Conférences A à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, sa simplicité, sa compétence, sa rigueur scientifique, ses conseils éclairés et ses critiques m'ont été très bénéfiques. Sa présence à chaque étape de ce mémoire et la confiance qu'elle m'a accordée m'ont soutenue et motivée pour mener à terme ce travail.*

*J'exprime mes respectueux remerciements à Madame **ALACHAHER F.Z**, Maître Assistant B à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, pour l'honneur qu'elle m'a faite en acceptant de présider ce jury.*

*Il m'est agréable de remercier Madame **CHERRAD H**, Maître Assistant B à l'université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem, d'avoir bien voulu participer dans ce jury et examiner ce travail*

Merci aussi à tous ceux - sans citer de nom, de peur d'oublier quelqu'un - avec qui j'ai travaillé durant la réalisation de mon mémoire.

SARA

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :

Mon cher père et ma chère maman

Mes chers frères.

Mes chères soeurs,

Mes meilleures et chers amis

SARA

Listes des Abréviations

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- **CO₂** : dioxyde de carbone.
- **C.P.G** : Chromatographie en Phase Gazeuse.
- **d**: densité. .
- DPPH** :Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.
- HE** : Huile essentielle.
- RO** : Rosmarinus Officinalis.
- IC 50** : Concentration inhibitrice médiane.
- **IA** : Indice d'Acide.
- **IE** : Indice d'Ester.
- **IR** : Indice de Réfraction.
- **mg / ml** : milligramme par millilitre.
- **MHE** : Masse de l'Huile Essentielle.
- **Mmv** : Masse de la matière végétale
- **mol/l** : mole par litre.
- **MV** : Matière Végétale.
- OMS** : Organisation mondiale de la santé.
- **pH** : potentiel d'hydrogène.
- **RHE** : Rendement en Huiles Essentielles.

LISTE DES FIGURES

Figure 1:Formule de l'isoprène (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011)	8
Figure 2:Différentes structures des monoterpènes (Mardani, 2022).....	9
Figure 3:Différentes structures des sesquiterpènes (Bahri, 2022)	10
Figure 4:Différentes structures des dérivés du phénylpropane (Rakhshandeh, 2022)	10
Figure 5:Principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005).....	14
Figure 6:Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau	15
Figure 7:. Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion (Lucchesi, 2005)	16
Figure 8:Schéma du principe de la technique d'extraction assistée par micro-ondes	18
Figure 9:Schéma du principe de la technique d'extraction par le CO2	19
Figure 10:Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydant (Gutierrez, 2019)..	23
Figure 11:Aspects morphologiques du Romarin (Annemer, 2022)	25
Figure 12:Rosmarinus officinalis L. (Mostaganem) (Sato, 2022)	27
Figure 13:Rosmarinus officinalis L. (Mostaganem) (Trudler, 2022).....	28
Figure 14:Structure de base des composés phénoliques. Structure de base des composés phénoliques. (Rašković et al., 2023).....	35
Figure 15:Structures des différentes classes de flavonoïdes (Guimarães et al., 2023).	38
Figure 16:Feuilles fraîches de Rosmarinus officinal L.	41
Figure 17:Feuilles séchées de R. officinalis Matériel non biologique	41
Figure 18:Température moyenne quotidienne maximale (ligne rouge) et minimale (ligne bleue), avec bandes du 25e au 75e percentile et du 10e au 90e percentile. Les fines lignes pointillées sont les températures moyennes perçues correspondantes.....	43

Figure 19:Vapo distillateur de type SPRING A 105 12 Litres utilisé pour l'extraction des Vapo distillateur de type SPRING A 105 12 Litres utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L (Khalid et al., 2020).	44
Figure 20: Les étapes d'extraction de l'huile essentielle	45
Figure 21:Méthode sur les disques (Carrubba et al., 2020).....	50
Figure 22:Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant	51
Figure 23:Huile essentielle de Rosmarinus officinalis L	54
Figure 24:Huile essentielle du romarin de la région de Mostaganem.....	55
Figure 25:Chromatogramme CPG de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L. de la région de Mostaganem	57
Figure 26:effet de l huile essentielle sur Bacillus Creus	61
Figure 27:effet de lhuile essentielle sur StaphylococcusA.....	61
Figure 28:effet de huile essentielle sur ; Escherichia coli	61
Figure 29:effet de lhuile essentielle sur PseudomonasA	61
Figure 30:. effet de lhuile essentielle sur candida	62
Figure 31:Virement de la couleur lors du test DPPH	64
Figure 32 :Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la vitamine C.....	65
Figure 33:Activité de piégeage du radical DPPH par l'huile essentielle du romarin.....	66

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Appellations du nom de romarin (Cardamone, 2023).....	25
Tableau 2 : Classification du Romarin (Oliveira et al., 2019)	27
Tableau 3: Composition chimique d’huile essentielle de Romarin de différents pays (Santos et al., 2020)	29
Tableau 4:Liste non exhaustive d'effets attribués aux composés de romarins	30
Tableau 5:Principales utilisations du romarin en Algérie (Liang, 2021)	32
Tableau 6:Propriétés biologiques des polyphénols et effets sur la santé.....	37
Tableau 7:Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées en 2023	43
Tableau 8:la nature et l’origine de différentes souches pathogènes utilisées.....	49
Tableau 9:Caractéristiques Organoleptiques d’huile essentielle de romarin récoltées à Mostaganem	55
Tableau 10:Caractéristiques physico-chimiques de l’huile essentielle du romarin	56
Tableau 11:Composition chimique de l’huile essentielle du romarin de Mostaganem.....	58
Tableau 12:Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin.....	59
Tableau 13:Activité antimicrobienne d’huile essentielle du romarin contre différentes souches bactériennes.	63
Tableau 14:Différentes valeurs de concentration inhibitrice médiane CI50.	67

TABLE DES MATIERES

Table des matières

Résumé	
Remercîments	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	1
I REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
I.1. Les huiles essentielles	6
I.1.1. Définition	6
I.2. Localisation et lieu de synthèse	6
I.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante	7
I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	7
I.5. Composition chimique	8
I.6. Domaines d'application	11
I.7. Toxicité des HEs	13
I.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	13
I.9. Conservation des huiles essentielles	20
I.10. Activité biologique des huiles essentielles	20
II. Espèces végétales étudiées	21
II.1. Les plantes médicinales et la phytothérapie	21
II.2. Description de la plante	23
II.3. Les composés phénoliques	34
II.3.1. Propriétés	35
II.4. Les flavonoïdes	38
II.4.1. Structure chimique	38
II.4.2. Propriétés biologiques	39
MATERIEL ET METHODE	41

1.1 LOCALISATION DU LIEU D'EXPRIMENTATION	41
1.1.1 Matériels biologique	41
1.2 Procédé d'extraction	44
1.2.1 Entraînement à la vapeur d'eau	44
1.2.2 Calcul du rendement	45
1.2.3 Caractéristiques organoleptiques	45
1.2.4 Caractéristiques physico-chimiques	46
1.2.5 Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle	47
1.2.6 Activités antimicrobiennes	48
1.2.7 Etude de l'activité antioxydante	50
1.3 Analyse statistique	52
RESULTATS & DISCUSSION.....	54
1. Rendement d'extraction	54
2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du romarin	54
3.Résultats des analyses physico-chimiques	56
5. Résultats de l'activité antibactérienne	60
6. Evaluation de l'activité antiradicalaire de notre huile essentielle de romarin (TEST DPPH)	64
6.1. Détermination d'IC50	67
CONCLUSION	69
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71
ANNEXE	80

Introduction

Introduction

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) mentionnent que 80 % de la population mondiale sont dépendants des plantes médicinales. Importantes sur le plan médical et culturel, les plantes médicinales sont aussi un facteur économique majeur pour les pays en voie de développement. Au moins 35 000 espèces végétales sont utilisées dans le monde à des fins médicales. Alors que les médicaments industriels les plus importants sont produits à partir de 90 espèces environ. Les plantes sont donc la source principale de substances actives. Selon des estimations de l'OMS, elles représentent environ 70 % des matériaux de base des produits pharmaceutiques modernes ([Guzmán et Lucie, 2021](#)).

L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané([Matos et al., 2020](#))

En Algérie la flore médicinale naturelle est relativement abondante et compte plus de 3000 espèces utilisées en médecine traditionnelle. Avec ses espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques, la flore reste peu exploitée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique ([Elyemni et al., 2019](#)).

Selon [Pateiro et al. \(2021\)](#), Les huiles essentielles sont connues pour avoir des propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d'entre eux possèdent des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Ainsi, ces huiles essentielles sont extraites par deux techniques principales : la distillation azéotropique (hydrodistillation, hydrodiffusion et distillation à la vapeur d'eau) et l'extraction aux solvants

Aujourd'hui, De nouvelles perspectives sur leurs propriétés anticancéreuses. L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les éventuels effets synergiques entre ses composants. Sa valeur est due à l'ensemble de ses constituants et pas seulement à ses composés majoritaires ([Bazzine & Benzaid, 2019](#)). Selon [Wu et al. \(2022\)](#) , les huiles essentielles et leurs composés actifs agissent sur les micro-organismes en inhibant la formation de la paroi cellulaire, en endommageant l'intégrité de la membrane cellulaire, en provoquant un dysfonctionnement mitochondrial, en supprimant la pompe à reflux, en induisant des effets sur la respiration et le métabolisme énergétique microbien ou en provoquant des dysfonctionnements du matériel génétique.

De plus, il est utilisé comme agent de lutte biologique contre les pathogènes des plantes et les mauvaises herbes, comme anti-inflammatoire et comme additif dans les emballages alimentaires actifs ([Raveau et al., 2020](#)). Les huiles essentielles font également l'objet de recherches pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydants dans les matrices alimentaires ([Okhli et al., 2020](#)).

Les huiles essentielles forment un groupe de composés bioactifs qui possèdent différentes caractéristiques biologiques captivantes. Elles sont utilisées dans différents secteurs tels que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie, l'alimentation et l'agriculture. L'engouement pour ces essences ne cesse de croître et connaît d'ailleurs, ces derniers temps, un véritable engouement. Dans le but de trouver des traitements de plus en plus efficaces et avec le moins d'effets secondaires possible, les chercheurs voient dans ces huiles essentielles des alternatives potentielles pour résoudre divers problèmes, tels que l'apparition de la résistance microbienne aux antibiotiques. L'évolution de ce phénomène est de plus en plus rapide et presque universelle et est particulièrement évidente pour les germes responsables d'infections nosocomiales. Dans de nombreuses situations, seul un nombre restreint d'antibiotiques demeure efficace ([Dolghi et al., 2022](#)). La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante: des cellules à huiles essentielles des Lauracées ou des Zingibéracées, poils sécréteurs des Lamiacées, poches sécrétrices des Myrtacées ou des Rutacées, canaux sécréteurs des Apiacées ou des Astéracées ([Borges et al., 2019](#))

Les Lamiacées sont des arbustes, sous arbrisseaux ou des plantes herbacées vivaces ou annuelles, en général odorants, rarement arbres ou lianes, à tiges quadrangulaires et à feuilles simples sans stipules, opposées-décussées, rarement pennées. Les fleurs réunies en inflorescences en cymes axillaires, sont bisexuées et zygomorphes, dotées de calices synsépales plus ou moins bilabiés et de corolles sympétales, typiquement bilabiées, longuement tubuleuses, avec deux lobes formant une lèvre supérieure et trois lobes formant la lèvre inférieure. Elles possèdent également quatre étamines ou parfois deux étamines et deux staminodes mais aussi, un ovaire supère à deux carpelles recoupés par une cloison et comprenant ainsi quatre loges à une graine chacune (tétrakène) ([Sharma et al., 2021](#)).

Un très grand nombre de genres de la famille Lamiaceae sont riches en huiles essentielles, ce qui leur confère une importance économique et thérapeutique mais aussi, en composés phénoliques, tannins, flavonoïdes, iridoïdes glycolysés, quinones, coumarines, terpénoïdes, saponines et dans certains cas, des pyridines et des alcaloïdes. Ils sont également très utilisés dans le domaine culinaire, de la parfumerie et du cosmétique. Parmi ceux les plus cités dans la

littérature : Salvia, Mentha, Origanum, Thymus, Rosmarinus, Ocimum et Lavandula (Kowalczyk *et al.*, 2020).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les Lamiacées (Labiées), nous nous sommes intéressés à l'huile essentielle de « *Rosmarinus Officinalis L.* » provenant de la wilaya de Mostaganem, *Le romarin (Rosmarinus officinalis L.)* est un arbuste buissonnant à feuilles persistantes qui pousse le long de la mer Méditerranée et dans les zones sub-himalayennes. En médecine traditionnelle, il a été utilisé comme analgésique antispasmodique doux pour soigner la névralgie intercostale, les maux de tête, la migraine, l'insomnie, les troubles émotionnels et la dépression. Différentes recherches ont mis en évidence les propriétés neuropharmacologiques du romarin comme thème principal. Le romarin possède d'importantes propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-apoptotiques, anti-tumorigènes, antinociceptives et neuroprotectrices. De plus, il montre des effets cliniques importants sur l'humeur, l'apprentissage, la mémoire, la douleur, l'anxiété et le sommeil, l'apprentissage, la mémoire, la douleur, l'anxiété et le sommeil (Ghasemzadeh *et al.*, 2020)

En outre, L'huile essentielle de *R. officinalis L* possède des propriétés antibactériennes grâce à ses composés actifs tels que les hydrocarbures monoterpéniques (39,32-40,70 %) et les monoterpènes oxygénés (36,08-39,47 %). Le 1,8-cinéole, l' α -pinène, le camphre et le trans - caryophyllène. Ces composés peuvent aider à lutter contre diverses souches de bactéries pathogènes, ce qui en fait un agent utile dans la lutte contre les infections bactériennes (Leporini *et al.*, 2020). L'huile essentielle de *R. officinalis* peut être utilisée pour le traitement de la dyspepsie et des formes plus légères de troubles gastro-intestinaux spasmodiques, des anomalies circulatoires, en complément du traitement des douleurs musculaires ou articulaires et des inflammations (Falleh *et al.*, 2020).

Les extraits des plantes médicinales (l'extrait méthanolique, l'extrait éthanolique et l'extrait aqueux) riches en composés phénoliques ont également fait l'objet de nombreuses recherches. Ce sont des produits naturels dotés d'une grande diversité structurale et de propriétés pharmaceutiques intéressantes qui suscitent actuellement un grand intérêt en tant que substance à effet anti-radicalaire, antimicrobien et anti-inflammatoire (Isman, 2020).

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et en particulier, avec les groupements fonctionnels des composés majoritaires : les phénols (thymol, carvacrol, eugénol), les alcools (α -terpinéol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes et les composés terpéniques et cétoniques (Leporini *et al.*, 2020). L'efficacité d'une huile essentielle dépend ainsi de sa richesse en composés phytochimiques ; plus elle est riche en substances actives, plus son activité est importante.

Il nous semble donc, intéressant d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche. L'objectif de notre travail vise à déterminer les propriétés biologiques l'huile essentielle de « *Rosmarinus Officinalis L.* » pour cela notre travail est structuré en deux parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent de deux chapitres.

- ❖ Le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles,
- ❖ Le deuxième est consacré à la description botanique d'espèce végétale étudiée.
- ❖ La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres,
 - Le premier (troisième chapitre) présente le matériel et Les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :
 - Une évaluation de l'activité antioxydant des polyphénols vis-à-vis du radical libre DPPH. Un test antibactérien est également réalisé afin de déterminer l'efficacité des huiles essentielles contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus*, pouvant être pathogène pour l'homme.
 - Le second (quatrième chapitre) est réservé à la présentation et à la discussion de l'ensemble des résultats obtenus.

Le manuscrit est archivé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

**Revue
bibliographique**

I Revue bibliographique

I.1. Les huiles essentielles

I.1.1. Définition

Une huile essentielle est un mélange naturel complexe de métabolites secondaires lipophiles, volatils, odorants et souvent liquides contenus dans des tissus végétaux spécialisés (Dolghi et *al.*,2022). Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, « L'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation « sèche ». Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (AFNOR, 2000). Cette définition détermine les huiles essentielles au sens strict. Mais, de ce fait, Elle écarte les produits obtenus en employant d'autres procédés d'extraction, comme l'utilisation de solvants non aqueux ou l'enfleurage (Bruneton, 1999).

Il est important de distinguer huile essentielle et essence. Cette dernière est une sécrétion naturelle élaborée par l'organisme végétal, contenue dans divers types d'organes producteurs, variables selon la partie de la plante considérée. En revanche, une huile essentielle est le résultat d'extraction de l'essence, autrement dit, l'essence distillée (Carette, 2000). Et contrairement à ce que le terme pourrait laisser penser, l'huile essentielle ne contient pas de corps gras comme l'huile végétale (Anton et Lobstein, 2005).

I.2. Localisation et lieu de synthèse

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables selon l'organe végétal considéré. Puis, elles s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées et emmagasinées dans des structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante, à savoir, des cellules à huiles essentielles (Lauraceae et Zingiberaceae), des poils glandulaires épidermiques qui produisent les essences dites superficielles (Labiaceae, Geraniaceae et Rutaceae), des poches sécrétrices (Myrtaceae, Auranthiaceae, Rutaceae) ou encore des canaux sécréteurs (Apiaceae, Umbelliferaceae et Asteraceae) (Bruneton, 1999 ; Boz et *al.*, 2009).

Les huiles essentielles peuvent être extraites de divers organes de la plante. Il peut s'agir d'écorces (cannelier, citron, orange, bergamote), de graines (carvi, cardamome, coriandre, fenouil), de feuilles (eucalyptus, mélisse, citronnelle), de racines (angélique, vétiver), de rhizomes (acore, gingembre), de fleurs (origan, ylang-ylang, camomille), de bois (bois de

cèdre,santal), de sèves (encens, myrte), de bourgeons (pin), des fruit (badiane)...etc (**Bruneton, 1999**).

I.3. Rôle des huiles essentielles dans la plante

Longtemps considérés comme métabolites secondaires, les constituants volatils ont un rôle encore mal défini dans la plante. Nous nous contenterons d'énumérer ici quelques hypothèses. Indépendamment des théories avancées, il semble que les compositions très variées des huiles essentielles autorisent des messages complexes et sélectifs si bien que chercher un rôle propre à chaque constituant paraît illusoire. D'après **Noureddine (2022)**, les essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs en modulant les comportements trophiques de ceux-ci vis à vis des plantes. Les constituants des huiles essentielles sont considérés par Lutz comme des modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire protégeant la plante contre les agents atmosphériques. Selon lui, certains de ces composés se comportent aussi comme source d'énergie à la suite d'une baisse de l'assimilation chlorophyllienne (**Mostafa, 2022**) Bouquet considère que certains de ces produits seraient des composés intermédiaires du métabolisme et qu'ils se trouveraient à l'état libre durant certaines périodes en relation avec l'activité végétale de la plante (**Mandal, 2022**).

Les travaux de Tomou ont montré que les mono et sesquiterpènes peuvent jouer des rôles aussi importants dans la relation des plantes avec leur environnement. C'est le cas du 1,8-cinéole et du camphre qui inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes (**Tomou , 2023**). Erman dégage lui, le rôle incontestable des huiles essentielles dans la pollinisation et la dispersion des diaspores grâce à leur pouvoir attracteur sur les insectes pollinisateurs, relation d'une grande importance écologique et physiologique (**Fraskou, 2023**). La volatilité et l'odeur marquée de ces essences en font des éléments de la communication chimique (**Dimakopoulou , 2023**).

Enfin, une mise au point de Croteau montre que les huiles volatiles auraient en réalité un rôle de mobilisateur d'énergie lumineuse et de régulateur thermique au profit de la plante. Elles réguleraient la transpiration diurne en absorbant les rayons ultraviolets par leurs constituants insaturés. La présence et la teneur des plantes en huile essentielle seraient donc en rapport avec la photochimie (**Skaltsa, 2023**).

I.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles contiennent les principes odorants responsables de l'arôme caractéristique de chaque végétal. Elles sont, de ce fait, constituées de substances à forte odeur aromatique. Habituellement, elles sont liquides, faiblement colorées, de densité inférieure à

celle de l'eau (0,759 à 1,096), à l'exception de quelques essences : celles de la cannelle, du girofle et du saffran. Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité, pouvoir rotatoire, indice de réfraction, miscibilité dans l'alcool,...) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide, d'ester, d'iode et de carbonyle) permettant d'évaluer la nature des composés organiques (acide, ester, alcène, carbonyle) présents dans l'essence. Elles sont peu polaires donc peu solubles dans l'eau, mais solubles dans la plupart des solvants organiques, elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux (**Sadiki et al., 2023**).

1.5. Composition chimique

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée.

Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phényle propane (**Kurkin, 2003**).

1.5.1. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à cinq atomes de carbone (C₅H₈) (fig.1) (**Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011**).

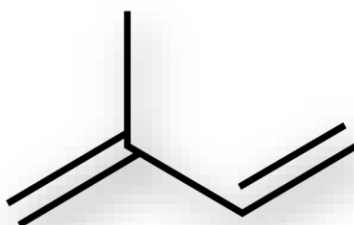


Figure 1: Formule de l'isoprène (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011)

Les terpènes sont subdivisés selon le nombre d'unités isopréniques en : hémiterpènes (1 unité : C₅), monoterpènes (2 unités : C₁₀), sesquiterpènes (3 unités : C₁₅), diterpènes (4 unités : C₂₀), sesterpènes (5 unités : C₂₅), triterpènes (6 unités : C₃₀), carotènes (8 unités : C₄₀) et les polyisoprènes (n unités : C_{5n}) (**Hernandez-Ochoa, 2005 ; Fillatre, 2011**).

1.5.2. Monoterpènes :

On y rencontre des monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène). Grâce à la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, elles peuvent se rattacher à un certain nombre de molécules, (**Mardani, 2022**).

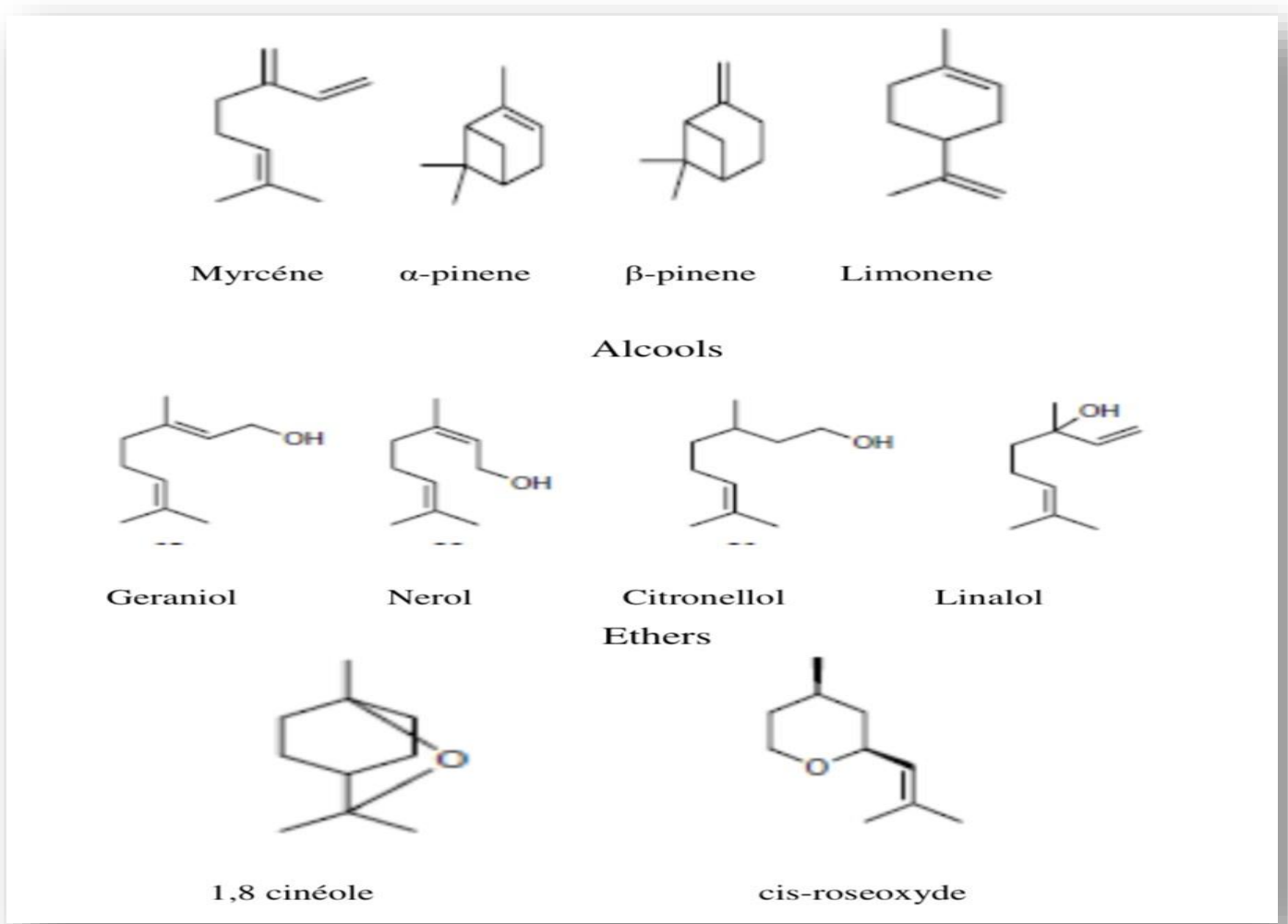


Figure 2: Différentes structures des monoterpènes (Mardani, 2022)

1.5.3. Sesquiterpènes :

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes amplifie le nombre des cyclisations possible, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits. On trouvera également des sesquiterpènes avec des fonctions chimiques caractéristiques : alcool (farnésol, carotol), carbures (β -caryophyllène), cétones, ester (Bahri, 2022).

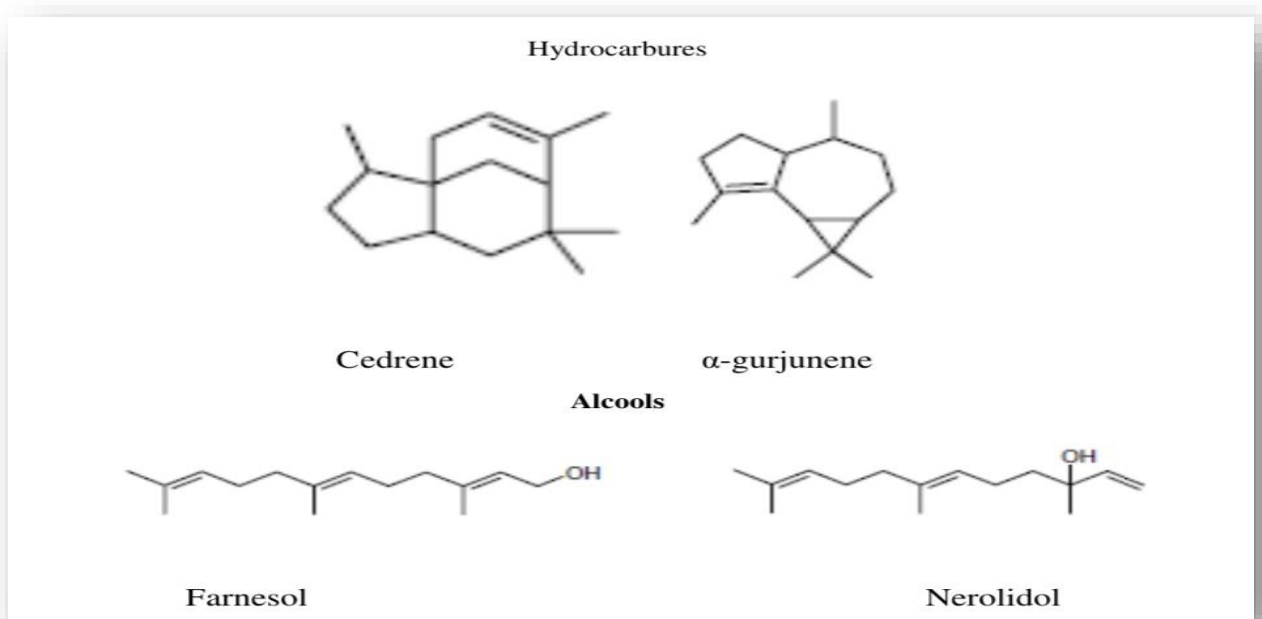


Figure 3: Différentes structures des sesquiterpènes (Bahri, 2022)

1.5.4. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques des huiles essentielles sont principalement des dérivés du phénylpropane C6-C3 ; parmi lesquels se trouvent des aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des phénols (chavicol, eugénol), des dérivés méthoxy (anéthol, estragol) ou méthylène dioxy (myristicine, safrol) (**Rakhshandeh, 2022**).

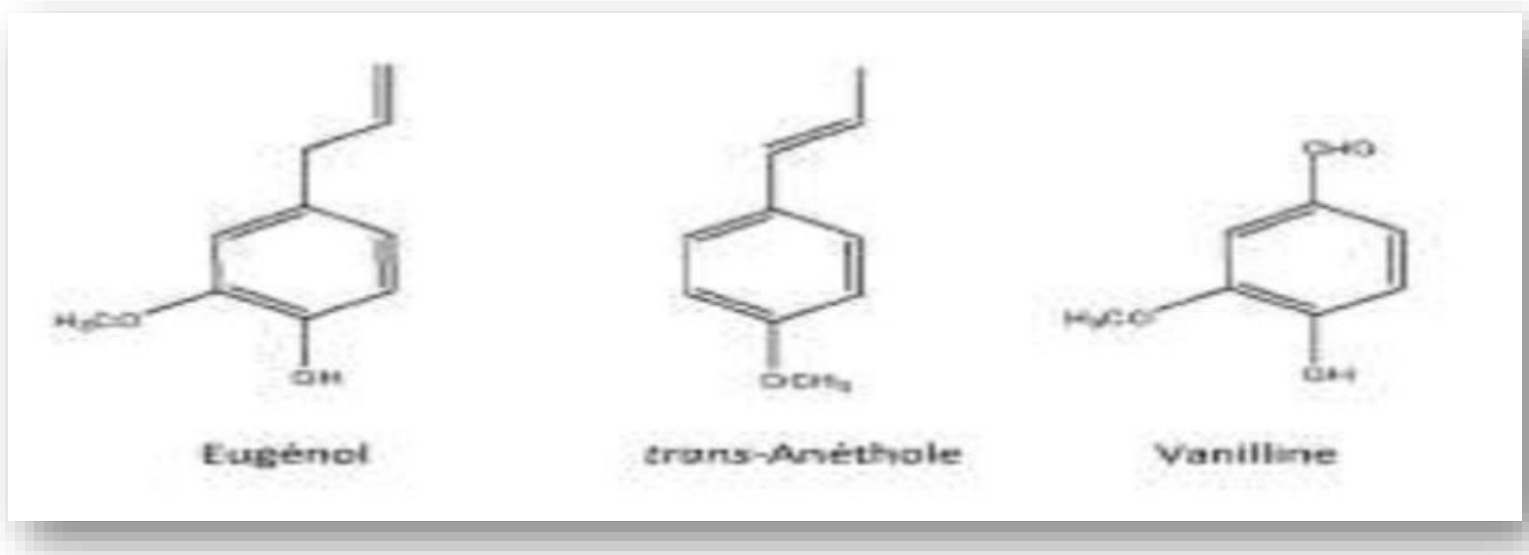


Figure 4: Différentes structures des dérivés du phénylpropane (Rakhshandeh, 2022)

I.6. Domaines d'application

Il existe une grande variété d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles essentielles qui leur confère aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes, mais aussi, les différentes utilisations possibles et leur coût de production (**Grysole, 2005 ; Fillatre, 2011**).

Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture (**Fillatre, 2011**).

I.6.1. *Parfums et cosmétiques*

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse, qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers domestiques ou industriels (**Tomou et al., 2024**).

I.6.2. *Santé : pharmacie et aromathérapie*

Les vertus thérapeutiques des huiles essentielles sont connues et utilisées depuis très longtemps, notamment en Asie où ces produits naturels constituent la base de la médecine traditionnelle. Il est donc logique de retrouver les huiles essentielles dans le domaine de la santé avec des applications pharmaceutiques et aromathérapies. En pharmacie, les huiles essentielles sont majoritairement destinées à l'aromatisation des formes médicamenteuses administrées par voie orale (**Ahmad, 2022**). De même, elles peuvent être utilisées pour leur activité antiseptique, en particulier dans le milieu hospitalier (**Nidal, 2022**).

De nombreux produits tels que les pommades, les crèmes et les gels à base d'huiles essentielles permettraient de faciliter l'administration des médicaments par voie transdermique étant donné la propriété de ces huiles à pénétrer aisément dans la peau (principalement due aux terpènes). Ces produits sont généralement destinés à soulager les entorses, les courbatures, les allergies articulaires ou musculaires (**Abdalraziq, 2022**).

Si les huiles essentielles trouvent des applications importantes dans la médecine dite conventionnelle ou scientifique, leurs bienfaits constituent la base d'un autre domaine de la santé qui se rapproche plus de la médecine traditionnelle : l'aromathérapie. Cette dernière correspond à l'utilisation des odeurs et des substances volatiles pour soigner, atténuer ou prévenir les infections et les indispositions internes uniquement par le moyen d'inhalation ou encore, à l'utilisation des huiles essentielles pour traiter certaines maladies externes par leur application sur la peau au travers de massages. La synergie des différents constituants des huiles essentielles détermine leur effet équilibrant. C'est ainsi que certaines huiles peuvent avoir des actions paradoxales comme par exemple, l'huile essentielle de lavande qui peut avoir un effet à la fois relaxant et stimulant (**Werner, 2022**).

1.6.3. Agro-alimentaire

Les huiles essentielles sont utilisées en industrie agroalimentaire comme arômes et épices alimentaires pour les boissons gazeuses ou alcooliques, les condiments, les confiseries, les produits laitiers, les produits carnés, les produits de boulangerie mais également pour la nutrition animale (**Qiu, 2024**). Les plus couramment utilisées sont celles de : menthe, vanille, poivre, basilic, gingembre, eucalyptus...etc (**Duan et Wang, 2024**).

Actuellement, les huiles essentielles ou leurs composés actifs, représentent un outil très intéressant pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires, tout en assurant une qualité organoleptique meilleure, en rehaussant le goût des aliments (**Sang et Wei, 2024**). Ces substances naturelles sont riches en composés antimicrobiens et antioxydants. Elles pourraient donc servir d'agents de conservation alimentaires et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés « généralement reconnus comme GRAS » ou approuvés comme additifs alimentaires par l'administration Américaine des aliments et des médicaments FDA (Food Drug Administration). Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments mais des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité sans pour autant être toxique pour l'homme (**Liu et Tan, 2024**).

1.6.4. Agriculture

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture moderne en faveur de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, s'est affermie ces dernières années. Concernant les pesticides, l'un des projets de loi vise à réduire la consommation en produits phytosanitaires de 50% en dix ans, l'échéance étant 2018. Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les huiles essentielles, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons (**Soltani, 2023**). Les modes d'application sont très variés soit par fumigation, attractif ajouté aux pièges à phéromones, répulsif ou par

contact (**Ncibi et al., 2023**). Outre leurs activités biologiques, les huiles essentielles présentent d'autres caractéristiques qui en font des produits adaptés dans la lutte contre les nuisibles. Parmi celles-ci, on peut citer :

- leur prix faible et approvisionnement assurés par une production mondiale importante pour de nombreuses huiles essentielles ;
- leurs multiples modes et sites d'action sur les insectes ;
- leur faible toxicité pour les mammifères (à quelques rares exceptions près) ;
- leur faible persistance dans l'environnement due à leur volatilité (temps de demi-vie en extérieur < 24 heures sur les surfaces, dans les sols ou l'eau).

I.7. Toxicité des HEs

Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet. L'application cutanée, des HEs contenant des furocoumarines et pyrocoumarines (huile de Citrus) ou même leur prise par voie orale, peut provoquer sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse. Aussi, l'absorption orale des HEs riches en monoterpènes sur de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que l'on nomme une néphrotoxicité. De plus l'usage des HEs en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (**Bakkali et al, 2008**).

I.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales (**Sallé, 2004**). En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées (**Crespo et al., 1991 ; Hellal, 2011**).

I.8.1. Distillation

La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est la plus ancienne et également la plus utilisée (**Franchomme et al., 1990 ; Bruneton, 1999**). La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale.

En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (Franchomme et al., 1990). Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion (Piochon, 2008).

1.8.1.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation (water distillation) est la méthode la plus simple et de ce fait, la plus anciennement utilisée (fig.5). Elle consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Cependant, l'hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (Bruneton, 1999 ; Lucchesi,2005).

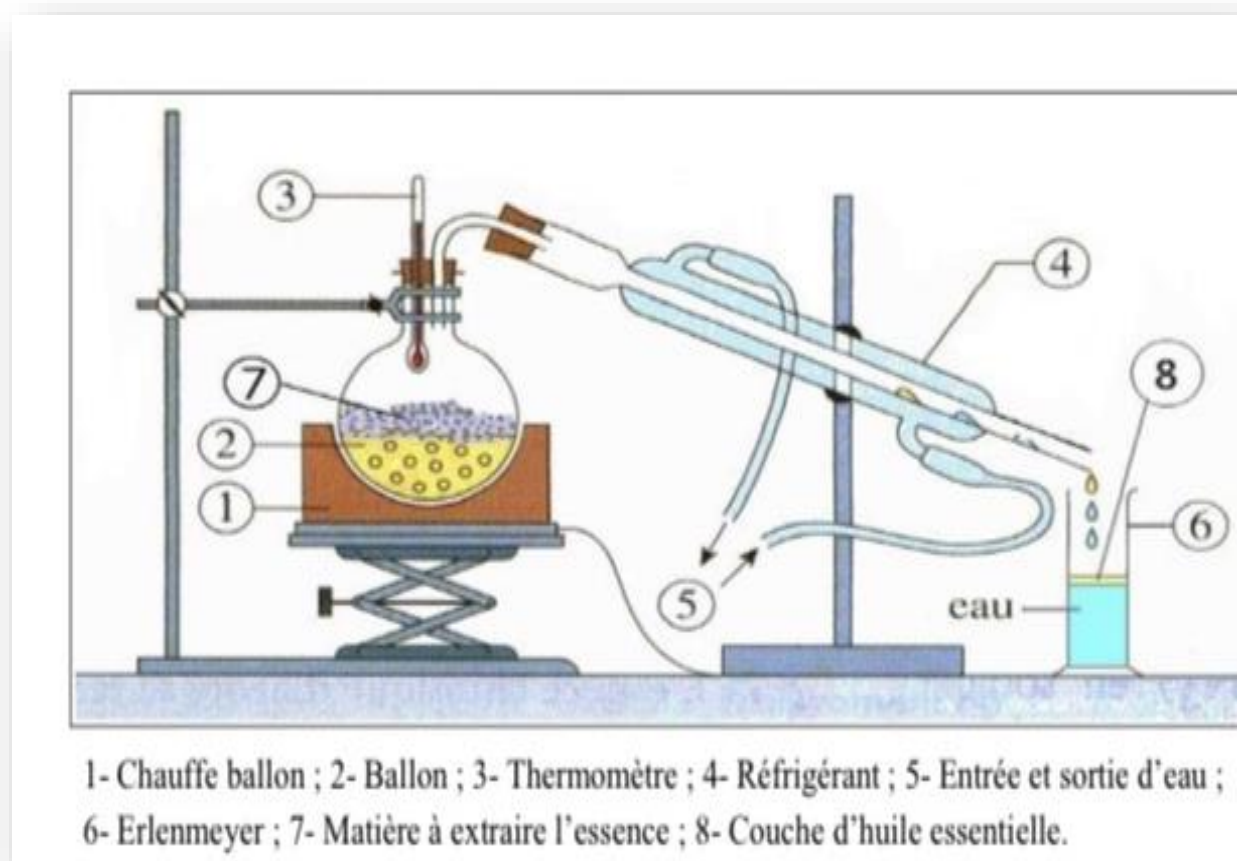


Figure 5: Principe de la technique d'hydrodistillation (Lucchesi, 2005)

1.8.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction (steam distillation) (**fig.6**), le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau, il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. Cette dernière endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante (**Franchomme *et al.*, 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005**).

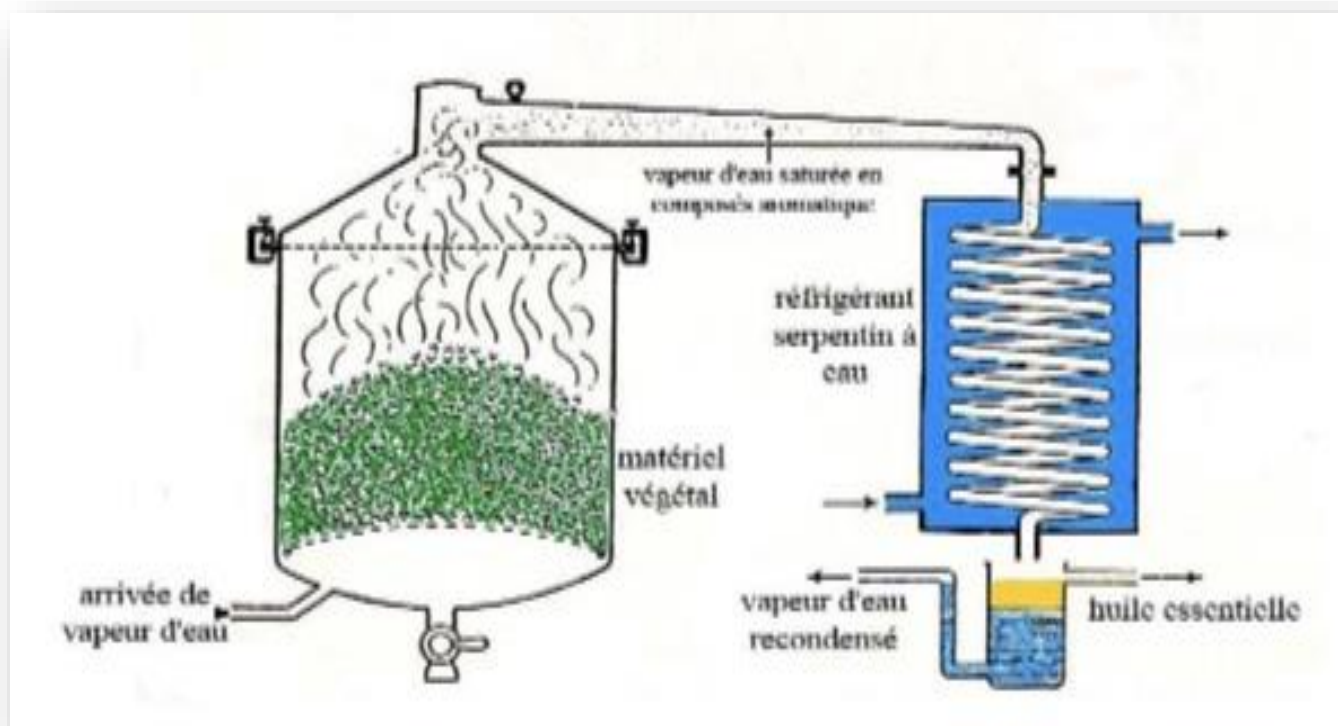


Figure 6: Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau

1.8.1.3. Hydro diffusion

Cette technique relativement récente, est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite (0,02 – 0,15 bar), la vapeur d'eau à travers la matière végétale (fig.7). L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc, moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'huile essentielle obtenue contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale « essence de percolation » (**Franchomme *et al.*, 1990 ; Richard, 1992 ; Lucchesi, 2005**).

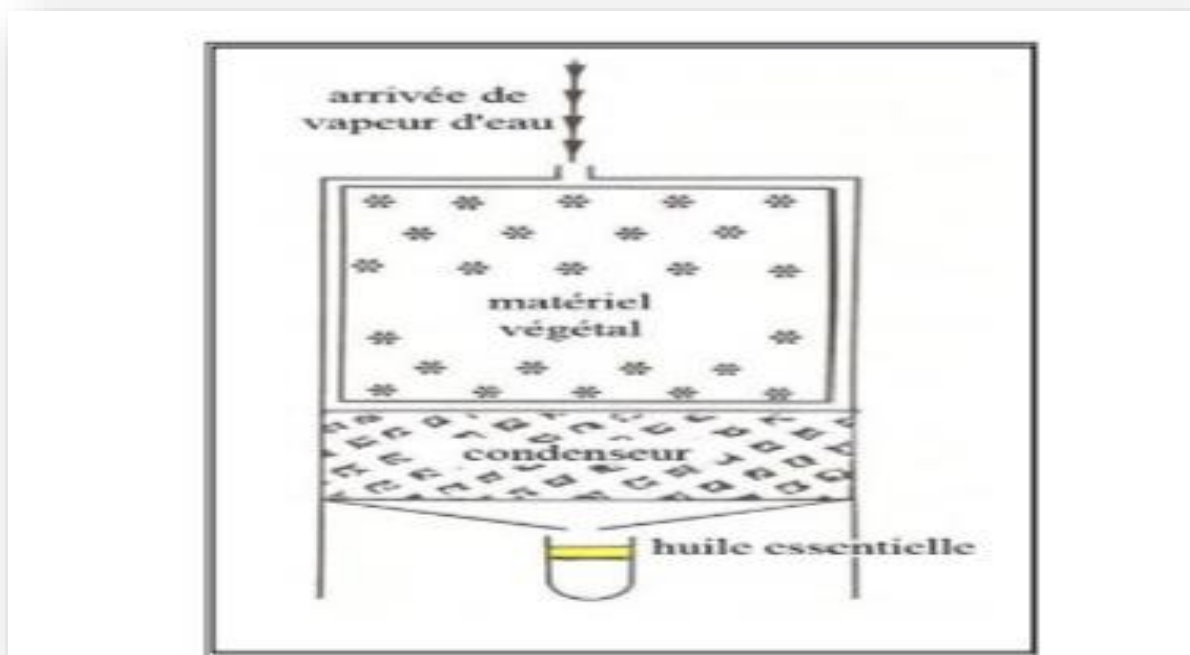


Figure 7.: Schéma du principe de la technique d'hydrodiffusion (Lucchesi, 2005)

1.8.1.4. Extraction à froid

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes. Le principe de ce traitement mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices en essences. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau puis est isolée par décantation (Dugo et Di Giacomo, 2002 ; Roux, 2008).

1.8.1.5. Extraction par solvants organiques

Dans ce procédé, l'extrait de plantes est obtenu au moyen de solvants non aqueux. Les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone (Dapkevicius *et al.*, 1998 ; Kim et Lee, 2002 ; Hernandez- Ochoa, 2005). Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que Les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres (Richard,1992). Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après Distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu » (Hernandez-Ochoa, 2005 ; Proust, 2006). L'emploi de cette méthode est restrictif, ceci se justifie par son coût, Les problèmes de sécurité et de toxicité ainsi que, la réglementation liée à la protection De l'environnement (Lagunez Rivera, 2006).

1.8.1.6. Enfleurage

Cette technique est employée en parfumerie, elle est réservée aux fleurs ou aux organes les plus fragiles des plantes, elle consiste à pratiquer une diffusion des composés odorants dans une masse de matière grasse animale. Si le procédé se fait à froid, il s'agit d'une extraction par enfleurage, si par contre, il se pratique à chaud, les graisses étant fondues au bain-marie (50°C – 70°C), il s'agit alors d'une digestion (**Besombes, 2008**).

Ce procédé classique et ancien n'est plus utilisé ; d'une part, la diffusion est lente et d'autre part, il est nécessaire de renouveler plusieurs fois les pétales pour obtenir des pommades concentrées. De plus, les composés odorants extraits doivent être séparés de leur charge grasse (**Bruneton, 1993**).

1.8.1.7. Extraction assistée par micro-ondes

Cette technique combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils peuvent être recueillis par un solvant ou entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante (fig.8). Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation (**Meredith, 1998 ; Hemwimon et al., 2007**). L'extraction assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée étant donné les avantages qu'elle présente : technologie verte, économie d'énergie (température plus basse) et de temps (dix fois plus rapide), dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées, mais aussi, utilisation de petites quantités de solvant et un rendement d'extraction élevé (**Hemwimon et al., 2007 ; Lucchesi et al., 2004 ; Olivero-Verbel et al., 2010**).

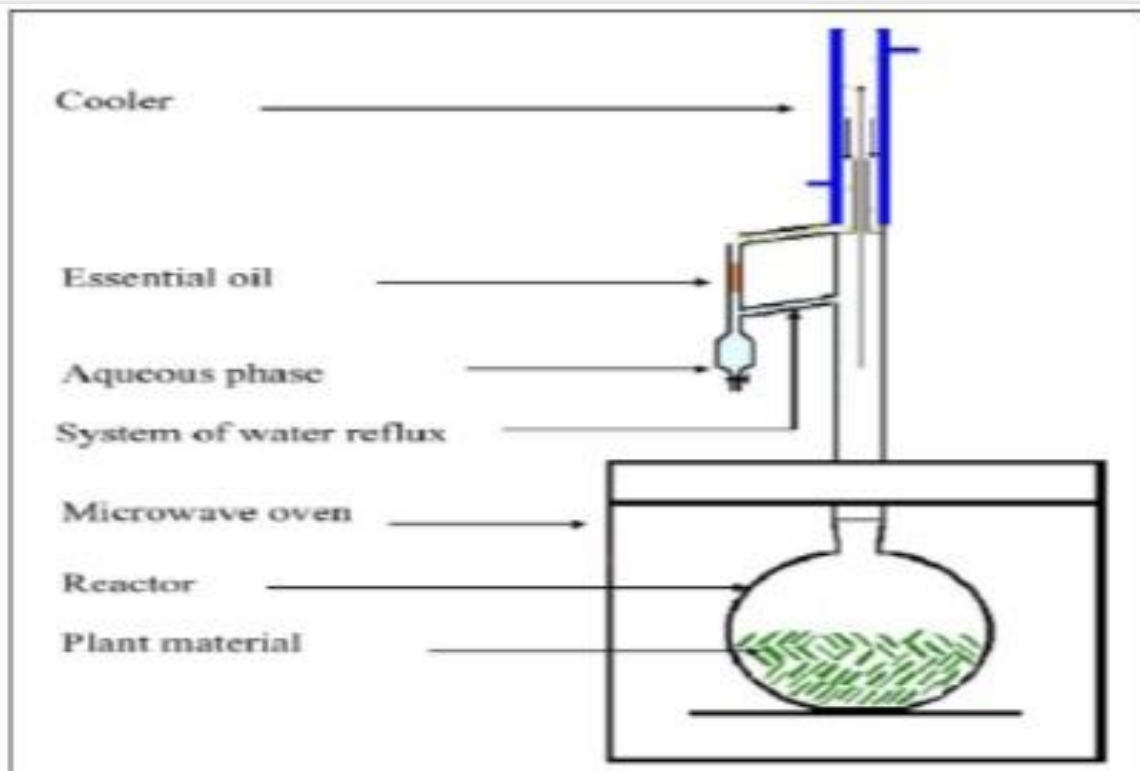


Figure 8: Schéma du principe de la technique d'extraction assistée par micro-ondes

1.8.1.8. Extraction par fluide à l'état supercritique

Ce procédé utilise généralement le dioxyde de carbone (CO₂) qui au-delà du point critique (P= 73,8 bars et T= 31,1°C), possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (Khajeh *et al.*, 2005 ; Piochon, 2008). Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque Stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente (fig.9) (Lagunez Rivera, 2006).

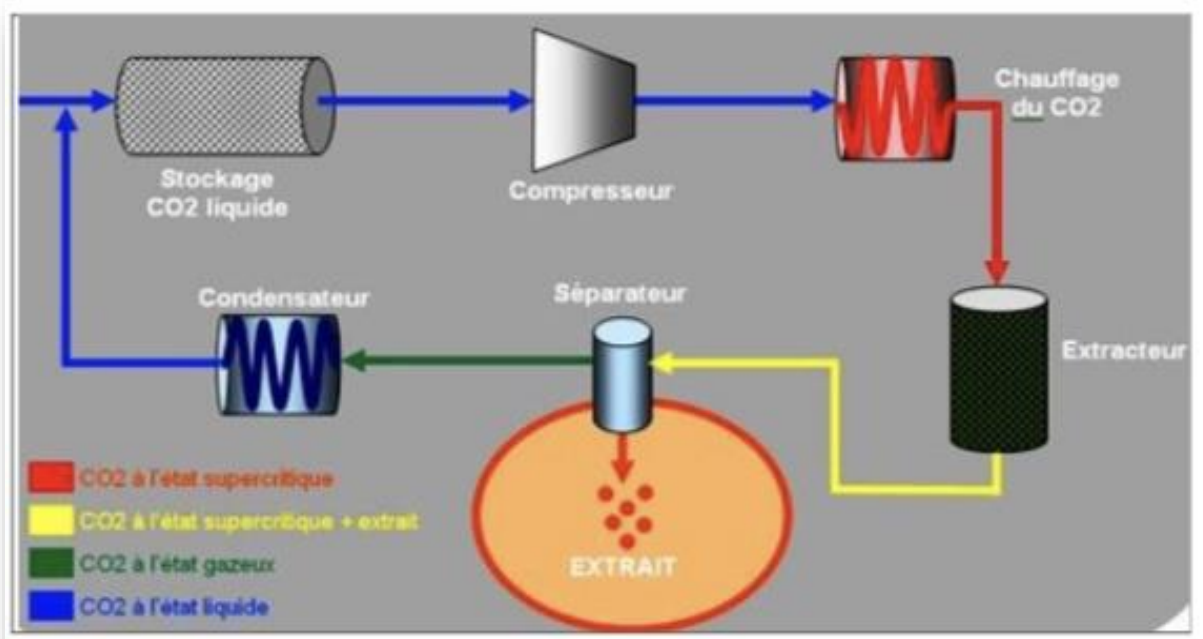


Figure 9: Schéma du principe de la technique d'extraction par le CO2

En jouant sur les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi, obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles, non chargés en molécules non volatiles. Ainsi, la température et la pression à ne pas dépasser pour extraire uniquement les principes volatils est de 60°C et 60 bars (**Richard, 1992**). D'autres travaux de recherche montrent la possibilité d'utiliser l'eau comme un solvant alternatif au CO2 (**Ozel et al., 2003 ; Deng et al., 2005**). Toutefois, son utilisation est relativement limitée, ceci est dû à ses conditions d'obtention délicates ($P= 221$ bars Et $T= 374^{\circ}\text{C}$) et à sa nature corrosive (**Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007**).

L'avantage de cette technique d'extraction est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus, elle permet d'éviter la dégradation des composés thermosensibles offrant ainsi une huile de qualité supérieure. A ces différents avantages, s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité du CO2 (**Carlson et al., 2001 ; Lagunez Rivera, 2006 ; Wood et al., 2006**). L'unique point faible de cette méthode est le coût très élevé des appareillages liés à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars (**Pellerin, 1991 ; Lagunez Rivera, 2006**).

I.9. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans). Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés (**RAYNAUD, 2006**). Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (**norme AFNOR NF T 75-001, 1996**) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE.

I.10. Activité biologique des huiles essentielles

I.10.1. *Activité antioxydant*

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif (**Magulska et Wesolowski 2023**).

On distingue trois types d'antioxydants enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques, les substances naturelles dont les huiles essentielles sont classées tant qu'antioxydants non enzymatiques. L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), cette dernière est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (**Yu et al., 2021**).

Par contre les antioxydants à réaction directe sont capables de donner des électrons d'oxygène radicalaire afin qu'il puisse le piéger, empêchant ainsi la destruction des structures biologiques. Ils peuvent agir comme agents réducteurs capable de passer leurs électrons aux ROS et les éliminer (**Jeeno et al., 2023**). Quelques travaux ont rapporté que certaines huiles essentielles sont plus efficaces que les antioxydants synthétiques. Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique (**Patel et al., 2022**).

I.10.2. *Activité antibactérienne*

L'une des premières mises en évidence in vitro de l'activité antibactérienne des HEs date de la fin du XIXème siècle, lorsque **Buchholtz** a étudié la croissance des propriétés inhibitrices de l'huile des graines de carvi et de thym en 1875. Toutefois, il aura fallu attendre le début du XXème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Des lors, plusieurs recherches ont démontré le pouvoir antimicrobien de certaines essences sur une large palette de micro-organismes, y compris sur des bactéries résistantes aux antibiotiques. Néanmoins, le mécanisme d'action des HEs sur les cellules bactériennes et fongiques reste difficile à cerner, compte tenu de la composition complexe des huiles volatiles (**Iseppi et al., 2019**). La variabilité des constituants des huiles suggère qu'elles agissent sur plusieurs sites d'action dans les micro-

organismes, étant donné que chaque composé possède son propre mode d'action (**Meenu et al., 2023**).

Les caractéristiques des huiles sont attribuées aux dérivés terpénoïdes et phénylpropanoïdes dont elles sont constituées. L'activité de ces molécules bioactives dépend, à la fois des caractères lipophiles de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les membranes de la cellule bactérienne et induire sa rupture. Le contenu cytoplasmique est déchargé à l'extérieur de la cellule impliquant sa destruction (**Guo et al., 2021**). Également, une perturbation chémo-osmotique et une fuite de potassium intra-cytoplasmique peuvent subvenir, suivi de la libération d'acides nucléiques, de l'ATP, et du phosphate inorganique. D'après **Urasaki et al. (2020)**, les composés phénoliques et les aldéhydes possèdent un mécanisme similaire, avec une efficacité inhibitrice proportionnelle de la membrane. Des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. La synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides peuvent être inhibés par les huiles essentielles (**Reichling, 2022**).

II. Espèces végétales étudiées

II.1. Les plantes médicinales et la phytothérapie

II.1.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont définies comme étant des drogues végétales au sens de la pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Une drogue végétale est une plante ou une partie de plante, utilisée soit le plus souvent sous forme desséchée, soit à l'état frais (**Rahman et al., 2023**).

D'après **Farzaei (2020)**, en Algérie comme tous les pays du Maghreb, les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées surtout dans les milieux ruraux par les personnes âgées qui connaissent encore certaines recettes de tisane.

Dans le Hoggar, et en absence de médecins, dans certaines contrées isolées, les Touaregs se soignent avec les plantes médicinales et aromatiques dont ils connaissent le secret transmis de père en fils.

En Kabylie, lorsqu'il y a de la neige et les routes sont coupées, les montagnards utilisent des plantes médicinales et aromatiques pour se soigner (fumigation des feuilles d'eucalyptus contre la grippe).

Dans la steppe pendant la transhumance, les nomades utilisent l'armoise blanche pour lutter contre les indigestions. Comparé à d'autres pays africains, l'Algérie a très peu de tradi-praticiens reconnus et d'herboristes agréés.

En Algérie ils existent de nombreux herboristes, il y a ceux qui conditionnent et vendent leurs produits dans les pharmacies et d'autres qui vendent leurs produits sans emballages. Les deux catégories sont approvisionnées par des plantes médicinales et aromatiques cultivées ou collectées à partir du couvert végétal naturel. Les produits sont généralement vendus par les herboristes sur présentation d'une ordonnance à des patients ne présentant pas des maladies graves pouvant entraîner des complications.

Le savoir thérapeutique traditionnel, thésaurisé et transmis de génération en génération chez les populations rurales, est un héritage familial oral dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées. La préservation de ce patrimoine ancestral en voie d'érosion est plus qu'indispensable. Sa perte serait irrémédiable pour l'humanité, si aucun effort n'est déployé pour sa transcription fidèle et urgente.

II.1.2. Définition de la phytothérapie

La phytothérapie désigne le traitement thérapeutique fondé sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels, dans le but de guérir, soulager ou prévenir une maladie

On distingue deux entités différentes :

II.1.2.1. La phytothérapie traditionnelle

Qui reprend des usages ancestraux, empiriques et se consacre aux effets de la plante dans sa globalité, et sur tout l'individu, en utilisant des préparations domestiques (consultations d'herboristes, achat de remèdes.), administrées essentiellement par voie orale (tisanes, infusions, poudres) (**Pfersch et Thumann, 2019**). Cette médecine non conventionnelle est l'une des formes de traitement les plus anciennes qui continue à jouer un rôle important en Afrique, en Asie et en Amérique latine par l'usage de plantes médicinales (**Bauer et Moissl-Eiching, 2019**).

II.1.2.2. La phytothérapie moderne

Ou phytothérapie rationnelle, ou encore phytothérapie médicale, qui utilise des méthodes modernes d'extraction des principes actifs contenus dans les plantes médicinales, et valide leurs propriétés bénéfiques pour la santé par une approche scientifique d'analyses biochimiques et pharmacologiques, ainsi que par des essais cliniques (**Kim, 2019**).

II.1.3. Le stress oxydatif

Le stress oxydatif appelé aussi stress oxydant, est un type d'agression des constituants de la cellule, apparaissant quand des espèces réactives oxygénées (ROS) et/ou des espèces réactives oxygénées et azotées oxydant pénètrent la cellule ou s'y forment. Ces molécules sont

instables et très cytotoxiques car elles oxydent d'autres molécules en leur soustrayant un électron ce qui les rend instables (**Gutierrez, 2019**).

II.1.3.1. Origine du stress oxydatif

Le stress oxydatif est induit par divers stress cellulaires biotiques et abiotiques (attaque de pathogènes, stress hydrique, thermique, excès de salinité...) (**Gutierrez, 2019**). Il peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire, un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs pro-oxydants (Tabac, alcool, médicaments, rayons ultraviolets, pesticides, ozone, amiante, métaux toxiques).

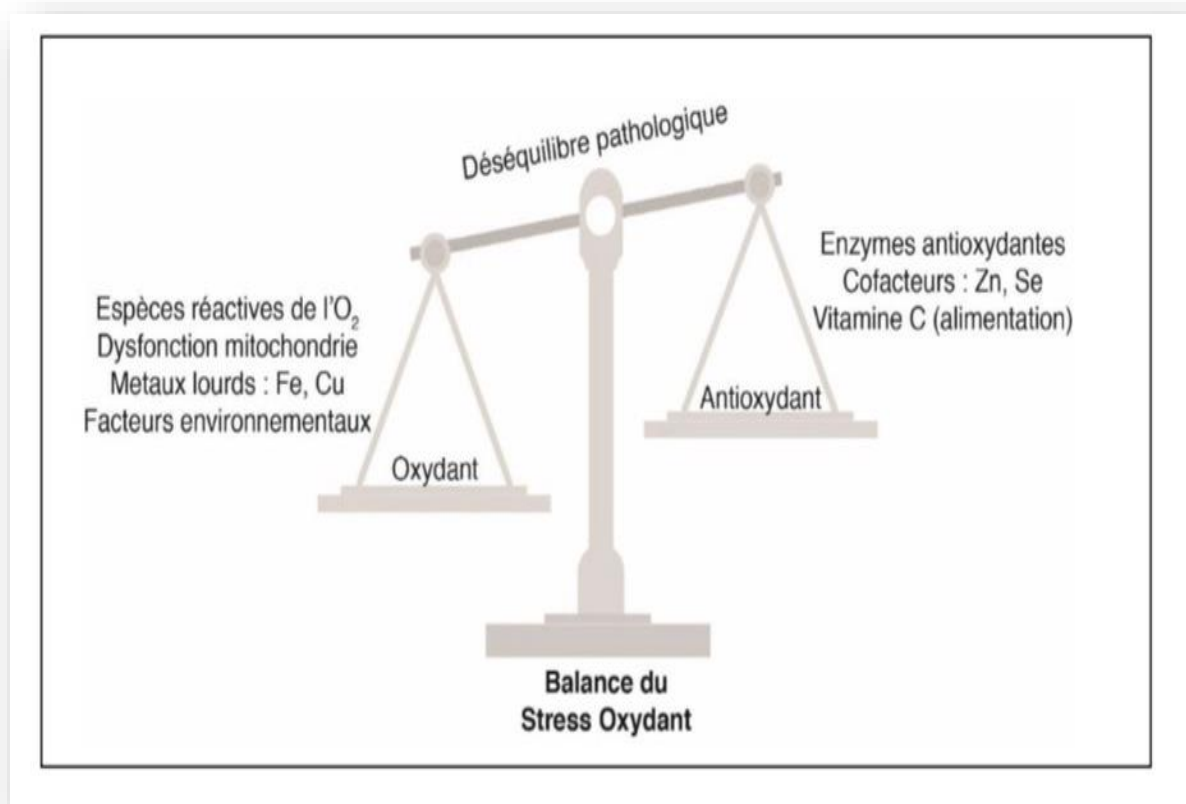


Figure 10: Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydant (Gutierrez, 2019).

II.2. Description de la plante

II.2.1. Historique

Le romarin, ou *Rosmarinus Officinalis* de son nom en latin, trouve son origine en Europe du Sud, où il est depuis longtemps utilisé comme aromate et plante médicinale (**Musolino, 2023**).

Dans l'Antiquité, les Grecs le dédiaient à la déesse Aphrodite et les Romains le faisaient brûler pour son effet bienfaisant. Plus tard, son effet énergisant fut mis au centre et le romarin

devint un symbole porte-bonheur. Les mariées portaient une couronne de romarin, une branche était posée dans le berceau des baptisés et l'herbe aromatique accompagnait les morts dans leur dernier voyage

Au Moyen-âge, le romarin était utilisé comme plante médicinale pour obtenir gloire et célébrité. Aux temps anciens, cette plante aromatique avait des usages externes à la cuisine : on l'utilisait contre les rages de dents et les pieds froids, les problèmes gastriques, l'athérosclérose, les symptômes d'empoisonnement, la fatigue, les attaques cérébrales et pour la circulation sanguine. En outre, on se protégeait avec du romarin des mauvais esprits et de la peste aussi. Il est aujourd'hui principalement cultivé aux Pays-Bas et dans les pays des Balkans (**Musolino, 2023**).

II.2.2. Définition

Le romarin ou *Rosmarinus officinalis* 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 à 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, qui sont souvent utilisées en phytothérapie (**Benzineb, 2019**).

II.2.3. Origine du nom

Rosmarinus officinalis est une espèce qui appartient à la famille des lamiacées qui sont des gamopétales super ovaires tétra cyclique appartenant à l'ordre des lamiales. Le thème *Rosmarinus rose des mers* est un nom latin de cette plante qui se compose de deux parties. *Ros* : rosée apparenté à *rhus* : buisson cette plante habite souvent les coteaux maritimes. Habituellement considérée comme monotypique, cette plante est présente sur le littoral dans tout le bassin méditerranéen surtout en région calcaire. Elle y fleurit toute l'année, ses fleurs sont mellifères. Elle peut être sous forme d'arbuste, sous-arbrisseau ou plante herbacée. *Marinus* : marin. C'est une plante odorante à tiges quadrangulaires, à feuilles opposées décussées sans stipules et fleurs réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées sous forme de verticille (**Macri, 2023**).

Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant. La corolle bilabée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée. L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées

Tableau 1. Appellations du nom de romarin (Cardamone, 2023).

Tableau 1 : Appellations du nom de romarin (Cardamone, 2023).

Nom commun	Romarin
Nom scientifique	Rosmarinus officinalis L., le mot romarin (Rosmarinus) dérive du latin « Ros » rosée ;« Marinus» : marin ou de marine et en anglophones: rosmary
Appellations régionales en Algérie	En plus souvent Région de l'Est :Eklil Région de l'Ouest : Helhal Région du Centre :Yazir
Autre nom	Herbes aux couronnes, herbes aux troubadours, encensier, arbre de marine, rose de mère, Rose de marine,roumaniou, roumarine .



Figure 11:Aspects morphologiques du Romarin (Annemer, 2022)

II.2.4. Description botanique

□ Appareil végétatif :

O Racine : la racine du Rosmarinus officinalisL. Est profonde et pivotante.

O Tige : arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme plus ou moins simulant des épis (Bonesi, 2022)

O Feuille : linéaire, gaufrée, feuilles coriaces, sessiles, opposées, rigides brillantes à bords repliés verdâtre en dessus plus ou moins hispides blanchâtre en- dessous de 18 à 50 x 1.5 à 3 mm (Loizzo, 2022).

Les feuilles sèches dégagent une forte odeur et un gout amer. Elles contiennent jusqu'à 2% d'huile essentielle oleum Romarinus =Oleum anthos, renfermant du Cinéol et du Borneol, des alcaloïdes et des acides organiques. Ces feuilles, voire l'essence de romarin, entrent dans la composition de nombreux produits Antirhumatismaux du fait de leur fortement rubéfiant sur la peau alcool spritus rasmarinus

□ Appareil reproducteur :

O Fleurs : en mai, très courtes grappes axillaires et terminales. Chaque fleur environ 1 cm de long de couleur purpurin ; bleu pâle ou blanchâtre en cloche bilabée à lèvre supérieure ovale entière et à lèvre à 2 lobes lancéolés. Lèvre supérieure en casque légèrement bifide. Lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian est large et concave. Les 2 étamines Sont plus longues que la corolle. L'ovaire présente 2 carpelles surmontées d'un style long courbe et bifide.

O Fruit : est tétrakène de forme ovale située au fond du calice. Peut être sous forme de baie, sèche et lisse (Passalacqua, 2022).



Figure 12: Rosmarinus officinalis L. (Mostaganem) (Sato, 2022)

II.2.5. Classification classique

La classification botanique complète du genre *Rosmarinus L.* n'a été achevée qu'au début du 20e siècle en raison de l'extrême variabilité des espèces. Le romarin appartient à la deuxième série de la famille des labiées ou Lamiacées qui en compte six. Cette famille, l'une des plus importantes de la flore d'Algérie, compte plus de 200 genres et 3500 espèces (Boelens, 1985).

Tableau 2 : Classification du Romarin (Oliveira et al., 2019)

<u>Division</u>	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
<u>Ordre</u>	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
<u>Genre</u>	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	Rosmarinus officinalis.L

II.2.6. Répartition géographique

En Algérie les différentes espèces de romarin s'étalent sur une superficie excédant 100 000 hectares (Ananou et al., 2023) sur la bande littorale et hauts plateaux et est dénommé généralement « klil » ou « M'zir » dans les régions Berbérophones.

Le romarin possède une aire géographique très vaste, il pousse sur tous types de terrains avec une préférences pour les sols calcaires, argileux-limoneux, située dans les endroits ensoleillés, chauds, secs et abrités du vent. Le romarin officinal est spontané dans toute la région méditerranéenne (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, France, Espagne, Portugal, Grèce, Turquie et Italie).

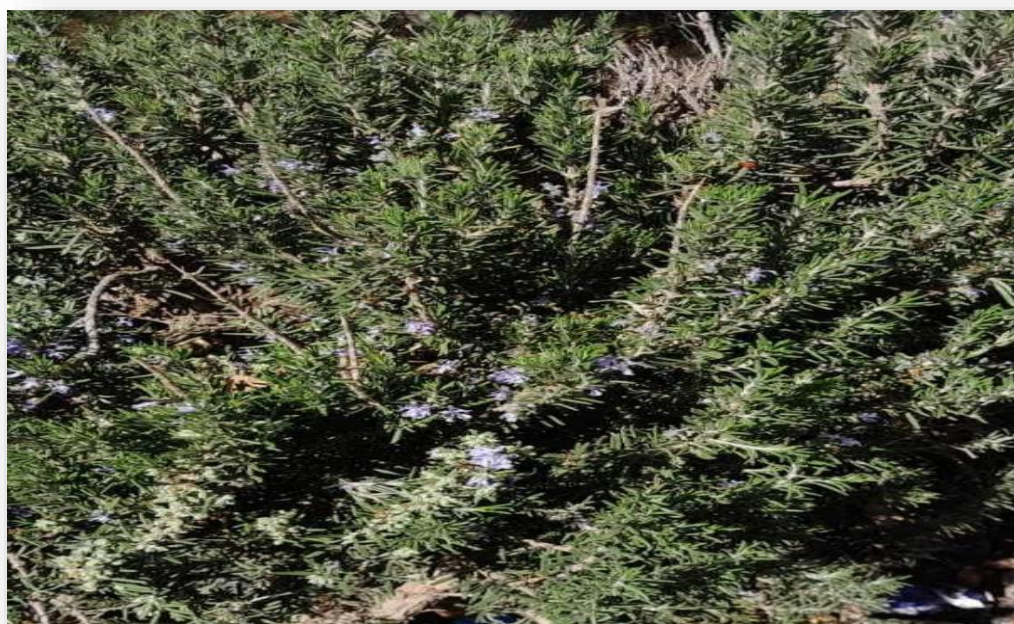


Figure 13: *Rosmarinus officinalis* L. (Mostaganem) (Trudler, 2022)

II.2.7. Composition chimique du Romarin

♣ Huile essentielle : Représente 1 à 3% de la plante, sa composition ainsi que la concentration dépendent fortement des chémotypes. Cependant en termes de nature des composés, les études effectuées sur de nombreux échantillons d'huiles de *R. officinalis* et *tournefortii* ne montrent aucune différence notable. En effet ses principaux constituants peuvent être le 1,8-cinéole, l' α -pinène, camphor, borneol, de l'acétate de bornyl, de la verbénone, du p-cymène ou du myrcène; ils peuvent être accompagnés de β -caryophyllène, de limonène, de linalool, de β -pinène, de sabinène, de γ -terpinène, d' α -terpinéol et de terpinene-4-ol (Teuscher et al., 2005)

♣ Phénols diterpiniques: constitués principalement d'acide carnosolique (environ 0,35%) qui se dégrade facilement en carnosol, et est accompagné d'isorosmanol, de rosmariquinone, de rosmaridiphénol.

- ♣ Dérivés de l'acide cinnamique (tannins): représentent environ 3,5% et sont constitués principalement d'acide rosmarinique (1,1 à 2,5%).
- ♣ Flavonoïdes : présents sous forme d'aglycones et d'hétérosides comme la cirsimarine, la diosmine, l'hespéridine, l'homoplantiginine (**Manach *et al.*, 2004**).

*Tableau 3: Composition chimique d'huile essentielle de Romarin de différents pays (Santos *et al.*, 2020)*

Huile essentielle	1,8-cinéole, Camphre, a-pinène, Autres monoterpènes (bornéol, limonène, camphène, a-terpinéol).
Diterpènes phénoliques tricycliques	Acide carnosolique, Carnosol, Rosmanol, Épirosmanol, Isorosmanol, Rosmaridiphénol, rosmari-quinone, Rosmadiol...
Acides phénols	Acides caféiques, Chlorogénique, Rosmarinique
Flavones méthylées	Genkwanine, Lutéoléine, Diosmétine
Triterpènes et stéroïdes	Acide oléanolique, Dérivés d'acide ursolique, α - et β -amyrines
Autres constituants	Polysaccharides acides, Traces de salicylates

II.2.8. Utilisation et propriétés du romarin

De par sa vaste aire de répartition géographique et facilité de culture, le *R. officinalis* via son huile essentielle, est largement utilisé dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées,

desserts, bonbons, etc.). Cette plante agit comme agent aromatisant et conservateur du fait de ses propriétés antioxydante, antimicrobienne et antiradicalaire (**Kubica et al., 2020**). Elle est aussi utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.). Les extraits de romarin contribuent à l'augmentation des sécrétions biliaires, agissent dans les affections du système nerveux et se révèlent un excellent cicatrisant des plaies et brûlures L'activité antivirale d'extraits observée in vitro est due essentiellement à leur teneur en acide rosmarinique. Les carnosols et l'acide carnosique ont le potentiel d'augmenter la détoxification d'importants carcinogènes humains, les rendant ainsi de promettants candidats pour les programmes chémopréventifs (**Fonseca et al., 2022**). Des extraits éthanoliques ont montré une importante activité dose-dépendante cholérétique ainsi qu'une importante activité hépatoprotective (**Borras, 2021**). L'effet antispasmodique des extraits éthanoliques a été mis en évidence après administration d'acétylcholine ou d'histamine. L'application dermique d'un extrait de romarin réduit de façon conséquente la formation de tumeurs cutanées (**Bernstein, 2021**). De façon générale, selon la nature des composés et leurs concentrations une multitude d'effets bioactifs est attribué aux extraits de romarins (**tableau 4**).

Tableau 4: Liste non exhaustive d'effets attribués aux composés de romarins

Effet bioactif	Composé	Effet bioactif	Composé
Acaricide	α -terpinene Gamma-terpinene Limonene	Expectorant	1,8-cineole α -pinene Bornyl-acetate Camphene Camphor Limonene
Analgésique	Borneol Camphor Myrcene P-cymene	Arôme	1,8-cineole Alpha-phellandrene Alpha-pinene Alpha-terpinene Alpha-terpineol Beta-pinene Borneol
			Bornyl-acetate Camphene

			Delta-3-carene Gamma-terpinene Limonene Myrcene P-cymene Terpinolene
Anesthésique	1,8-cineole Camphor	Fongicide	1,8-cineole Alpha-phellandrene Borneol Camphor Caryophyllene-oxide Myrcene P-cymene Terpinen-4-ol Terpinolene Gastroprotective 1,8-cineole
Antiallergique	1,8-cineole Terpinen-4-ol	Hépatoprotectif/ Hépatotonic	Borneol 1,8-cineole
Antiasthmatique	Limonene Terpinen-4-ol	Herbicide	1,8-cineole Alpha-pinene Beta-pinene Borneol Camphor Limonene P-cymene Terpinen-4-ol Hypotensive 1,8-cineole
Antibacterien	1,8-cineole Alpha-phellandrene Alpha-pinene Alpha-terpineol Borneol Bornyl-acetate Delta-3-carene Delta-cadinene Limonene Myrcene P-cymene Sabinene Terpinen-4-ol	Insecticide	Alpha-pinene Alpha-terpinene Alpha-terpineol Caryophyllene-oxide Limonene

Antiinflammatoire	1,8-cineole Alpha-pinene Alpha-terpineol Beta-pinene Borneol Caryophyllene-oxide Delta-3-carene Limonene	Laxatif	Alpha-phellandrene P-cymene Lipolytic Limonene Nematicide 1,8-cineole Alpha-terpineol Borneol Camphor Limonene Terpinen-4-ol
Antioxydant	Camphene Gamma-terpinene	Stimulant	Camphre

En Algérie, le romarin est traditionnellement utilisé comme antispasmodique, antirhumatisme, stimulant et antiseptique (**tableau 5**)

Tableau 5: Principales utilisations du romarin en Algérie (Liang, 2021)

Wilaya	Partie utilisée	Utilisation en médecine traditionnelle	Mode d'emploi
Biskra	Toute la partie aérienne	Rhumatisme-Douleurs stomacales – Défaillance de foie	Tisane
Khenchela	Feuilles	Maladies du cœur – Estomac – jaunisse	Infusion
Bouira	Feuilles	Douleurs stomacales	Infusion
Ain – Temouchent	Toute la partie aérienne	Asthénie – Cellulite – Frigidité – Migraine – Œdème – Surmenage – Dépression nerveuse – Entorse – Foie – Impuissance	Infusion Inhalation Massage Embrocation
Nâama	Rameaux et fleurs	Antispasmodique	Infusion et bain

		et antiseptique	
El-bayadh	Feuilles	Insomnie – Fonction biliaire – Troubles intestinaux – Tonique pour le foie	Tisane
Mila	Feuilles	Antispasmodique et antiseptique – Plante fourragère – Mélangée au bain contre les peaux sensibles	Infusion
Mascara	Feuilles	Antispasmodique – Carminatif – Stomachique – Chologogue – Emmenagogue – Cosmétique (parfums).	Extrait sec et liquide – Eau distillée – Sirop – Infusion – Collyre
Médéa	Feuilles	Douleurs rhumatismales – circulation du sang – Excitation de digestion – Relève le tonus des surmenés et des convalescents – Stimulation de la fonction biliaire – Effet tonifiant sur le foie – Inflammation de la fonction biliaire – Paresse d’estomac – Recherchée par les abeilles – Préparations antimaigrissantes - Cosmétique	Infusion Essence Teinture Sirop Extrait sec Extrait liquide Eau distillée Colyre

M'sila	Feuilles	Toux – Conjonctivite – Graines consommées par les ovins – Appréciee par les abeilles	Infusion Collyre
Sétif	Feuilles et fleurs	Douleurs gastriques et coliques – Condimentaires	Infusion
Souk ahras	Feuilles	Estomac – Cuir chevelu	Infusion
Sidi Belabes	ND	Estomac – Grippe	ND
Oran	Feuilles	Antispasmodique et antirhumatisme	Infusion
Mostaganem	Feuilles	Rhumatisme	ND

ND : non déterminé

II.3. Les composés phénoliques

Les polyphénols forment un vaste ensemble de substances difficiles à définir simplement. L'élément structurale fondamentale qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction, éther, ester, hétéroside. Les connaissances en matière de polyphénols sont actuellement en pleine évolution et les équipes de recherche dans le monde y accorde actuellement un grand intérêt (**Rašković et al., 2023**).

Les polyphénols sont des alcools aromatiques qui proviennent des végétaux. Ils sont présents partout dans les racines, les tiges, les fleurs, les feuilles de tous les végétaux. Les phénols simples, déchets du métabolisme végétal, sont assemblés en polyphénols comme la lignine. Les composés phénoliques définissent un ensemble de substances que l'on a appelées pendant longtemps les matières tanniques, d'une façon générale et imprécise parce qu'on ne connaissait pas, avec suffisamment de précision, la nature de ces substances. Il y a quatre principales familles de composés phénoliques : les acides phénols, les flavones, les anthocyanes, les tanins (**Rašković 2023**).

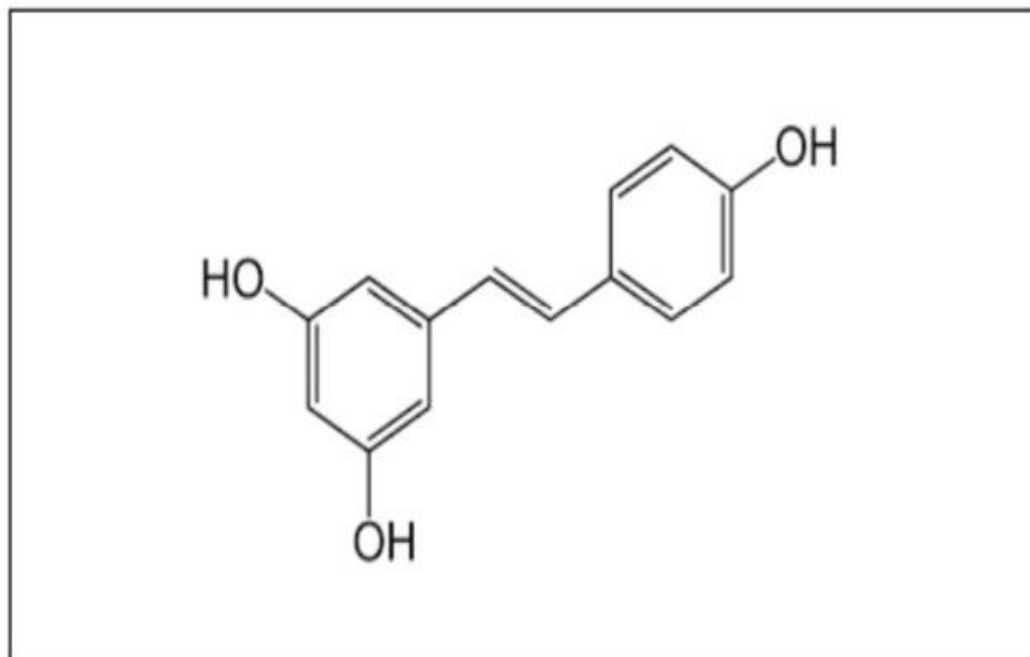


Figure 14: Structure de base des composés phénoliques. Structure de base des composés phénoliques. (Rašković et al., 2023).

II.3.1. Propriétés

Leurs nombreuses propriétés pharmacologiques *in vitro* sont généralement liées à leur affinité pour les protéines et à leurs propriétés antioxydantes. De plus, même complexés avec les protéines ou les carbohydrates, ces composés phénoliques conservent leurs propriétés antioxydantes. En outre, des études épidémiologiques récentes montrent qu'une alimentation riche en polyphénols est corrélée à un faible risque de développer des maladies cardiovasculaires et des cancers, ce qui suggère une activité antioxydante *in vivo* pour les polyphénols. Lors de leur action antioxydante, les polyphénols sont simultanément convertis en des dérivés stables. C'est pourquoi, les nutritionnistes et épidémiologistes recommandent une consommation d'antioxydants alimentaires. Il se peut qu'en arrivant dans le sang les composés phénoliques inactivent directement les radicaux libres. Les composés phénoliques sont également des molécules susceptibles de complexer certains ions, en particulier le fer et le cuivre, qui induisent des oxydations d'acides gras. Des polyphénols auraient un effet important sur des pathologies comme le cancer ou les maladies cardio-vasculaires. D'après certaines

études, ils réduisent les phénomènes d'oxydation des tissus, et bloquent également l'action d'une protéine qui protège les parties cancéreuses ou malignes lors des traitements de chimiothérapie. Ils ont également un effet antiviellissement et sont utilisés à ce titre dans des crèmes de soin pour la peau. Les acides phénols et polyphénols ont une action vasoprotectrice et antifongique ; en présence du cuivre, ils sont très actifs contre les *Candida* et les autres microbes (propriétés antiseptique et bactéricide). Nous ne citerons que les dérivés qui ont une activité antioxydante et antimicrobienne (**Milanović, 2023**)

L'intérêt pharmacologique des drogues à coumarines est limité. L'esculoside est présenté comme étant veinotrope et vasculoprotecteur, parfois qualifié de facteur vitaminique P. Certains furocoumarines sont photosensibles, et de ce fait ont comme indication thérapeutique le traitement du psoriasis et celui du vitiligo. La visnadine, une pyrocoumarine a été extraite, commercialisée pour ses propriétés vasodilatatrices coronariennes et présentée comme ayant une action favorable sur des troubles de la sénescence cérébrale (**Rašković et al., 2023**).

II.3.2. Mécanismes et pouvoir antioxydant des polyphénols

La production excessive de ROS peut provoquer des lésions tissulaires susceptibles d'entraîner un processus inflammatoire. L'activité antioxydante des polyphénols dépend de la structure de leurs groupes fonctionnels. Le nombre de groupes hydroxyles influence considérablement plusieurs mécanismes de l'activité antioxydant, tels que le piégeage des radicaux et la capacité de chélation des ions métalliques. Les activités antioxydantes des polyphénols sont liées à leur capacité à piéger un large éventail de ROS. En effet, les mécanismes impliqués dans la capacité antioxydant des polyphénols comprennent la suppression de la formation des ROS par l'inhibition des enzymes impliquées dans leur production, le piégeage des ROS, ou l'augmentation ou la protection des défenses antioxydantes. (Snezhkina et al, 2019). Les méthodes d'évaluation du pouvoir antioxydant : Il existe différentes méthodes pour mesurer le pouvoir antioxydant d'un aliment ou d'un fluide biologique :

- Le test DPPH 20°
- Le test FRAP 37°

Tableau 6: Propriétés biologiques des polyphénols et effets sur la santé

Polyphénols	Activités biologique	Auteurs
Acides phénols	Antibactériennes, antiulcéreuses, Antiparasitaires, Antifongique, antioxydantes	(Gurbuz et al., 2009)
Coumarines	Protectrices vasculaires, anti-inflammatoires, Antioxydantes, antiparasitaires, Analgésiques et anti- œdémateuses	(Smyth T et al., 2009)
Flavonoïdes	Antitumorales, antiparasitaires, Vasodilatatrices, antibactériennes, anti Carcinogène, Anti- inflammatoires, analgésiques, Hypotenseurs, antivirales, diurétique, Ostéogène, antioxydantes, Antiathérogènes, antithrombotiques, Antiallergique.	(Tripoli et al., 2007)
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux, antioxydant	(Bruneton, 1993)
Proanthocyanidines	Effets stabilisant sur le collagène, Antioxydantes, Antitumorales, antifongiques, anti- Inflammatoires	(Masquelier et al., 1979)
Tannins galliques	Antioxydantes	(Kubata et al., 2005)
Saponines	Antioxydantes, anti-inflammatoires, Analgésiques	(Kim et al., 2009)

II.4. Les flavonoïdes

II.4.1. Structure chimique

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone, fait de deux cycles en C6 reliés par une chaîne en C3. Le pont à 3 carbonnes entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone. Tous les flavonoïdes environ 300 ont une origine biosynthétique commune, à savoir les flavones, les flavonols et les flavanones. Ils peuvent être regroupés en une dizaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central (Guimarães *et al.*, 2023).

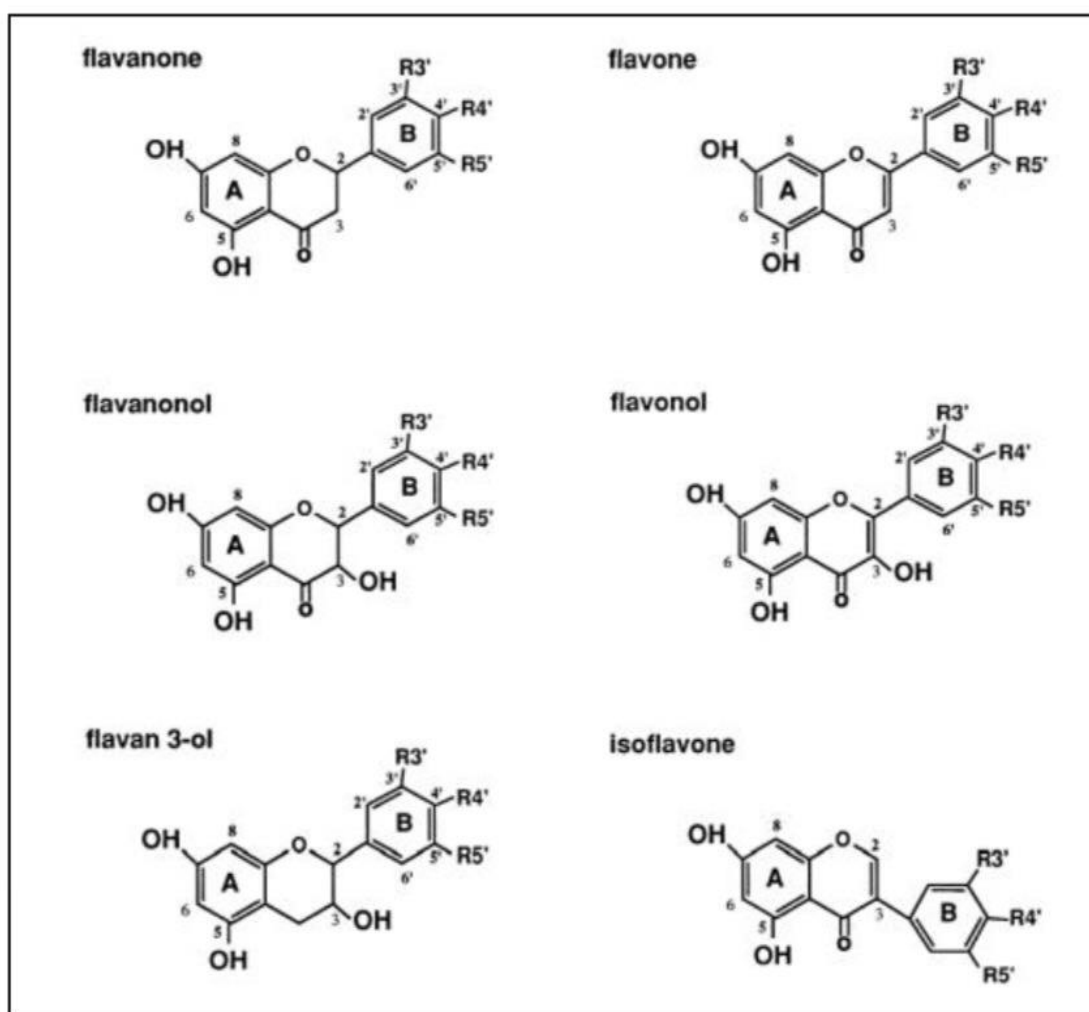


Figure 15: Structures des différentes classes de flavonoïdes (Guimarães *et al.*, 2023).

II.4.2. Propriétés biologiques

- Activité anti-oxydante
- Propriétés pro-oxydantes
- Inhibition enzymatique
- Activité anti-tumorale
- Effets cardiovasculaires
- Pharmacologie : La principale activité attribuée aux flavonoïdes est une propriété vitaminique P. Potentiellement veinoactifs, ils diminuent la perméabilité des capillaires sanguins et renforcent leur résistance. Souvent anti-inflammatoires, les flavonoïdes peuvent être antiallergiques, hépatoprotecteurs, antispasmodiques, hypocholestéroléminants, diurétiques, antibactériens, antiviraux et pour un petit nombre d'entre eux cytostatiques in vitro. Ce sont aussi des piègeurs de radicaux libres. En règle générale, les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques de l'histidine décarboxylase, de l'élastase, de la hyaluronidase et de la phosphodiesterase de l'AMPc (**Guimarães *et al.*, 2023**).

Matériel et Méthode

Matériel et Méthode

1.1 LOCALISATION DU LIEU D'EXPRIMENTATION

Notre travail a été effectué au sein du laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la santé (LMBAFS) de l'Université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem. Durant la période allant du mois de Février à la fin du mois de Mars 2024.

1.1.1 Matériels biologique

1.1.1.1 Matériel végétal

Il est constitué de la plantes *Rosmarinus officinalis L.* qu'est collectée au niveau de l'université Abdelhamid Ibn Badis à Mostaganem. La partie sur laquelle nous avons basé notre travail est la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L.* (feuilles, fleurs).



Figure 16: Feuilles fraîches de *Rosmarinus officinalis L.*

Les échantillons, fraîchement récoltés, sont séchés à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours. Une fois la plante séchée, nous avons séparé les feuilles des rameaux et elles sont conservées dans des sacs propres et aérés en papier pour servir ultérieurement à l'extraction de l'huile essentielle (Fig17).



Figure17: Feuilles séchées de *R. officinalis* Matériel non biologique

L'ensemble des verrerie et l'appareillage et les réactifs utilisés est mentionnés dans l'annexe.

1.1.1.2 *Présentation de la zone d'étude*

Le matériel végétal provient de la région de Mostaganem. La région de Mostaganem se situe au nord-ouest de l'[Algérie](#), en bordure du golfe de Mostaganem, à 80,7 km à l'est d'[Oran](#) et à 363 km à l'ouest d'[Alger](#). Elle est l'une des plus importantes villes de l'[Ouest algérien](#) et du littoral algérien.

1.1.1.3 *Caractéristiques édaphiques*

D'après les travaux qui ont été réalisés par (Ait Ourabe, 2000) sur les paramètres physiques, chimiques et physico-chimiques de différentes parcelles de la station expérimentale. Il ressort ce qui suit :

- Texture : équilibrée à limoneuse.
- Structure : polyédrique moyennement développée et dépourvue de calcaire.
- La teneur en matière organique et en moyenne avec rapport C/N compris entre 4,3 et 23,8.
- Un sol poreux et perméable.
- Un pH neutre entre 6,5 et 7,5.
- Le complexe absorbant est saturé dans tous les horizons.
- Une capacité d'échange cationique (C.E.C) comprise entre 11 et 26.7meq /100g de sol.
- Le sol renferme de bonnes réserves minérales notamment en phosphore assimilable et en potassium assimilable.
- La teneur en azote est faible.

1.1.1.4 *Caractéristiques climatiques*

- *Température* : La *saison fraîche* dure 4,0 mois, du 21 novembre au 23 mars, avec une température quotidienne moyenne maximale inférieure à 18 °C. Le mois le plus froid de l'année à Mostaganem est *janvier*, avec une température moyenne minimale de 8 °C et maximale de 15 °C. (fr.weatherspark.com).

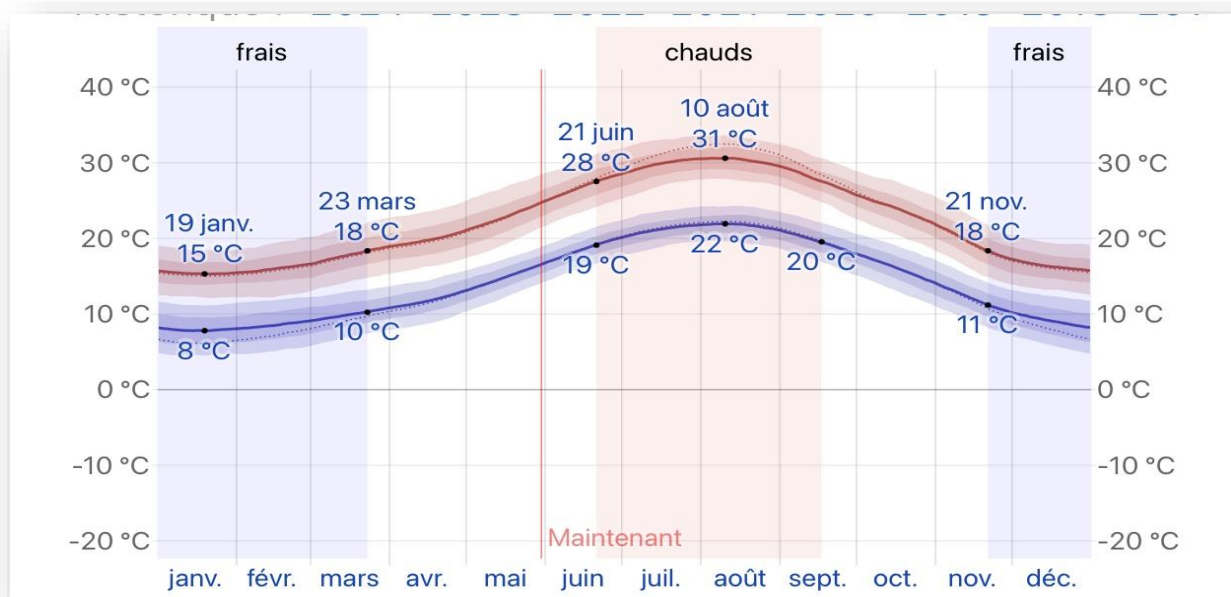


Figure 18: Température moyenne quotidienne maximale (ligne rouge) et minimale (ligne bleue), avec bandes du 25e au 75e percentile et du 10e au 90e percentile. Les fines lignes pointillées sont les températures moyennes perçues correspondantes.

- Précipitation : La saison connaissant le plus de précipitation dure 7,8 mois, du 25 septembre au 19 mai, avec une probabilité de précipitation quotidienne supérieure à 12 %. Le mois ayant le plus grand nombre de jours de précipitation à Mostaganem est novembre, avec une moyenne de 6,1 jours ayant au moins 1 millimètre de précipitation.
- Les vents : Cette section traite du vecteur vent moyen horaire étendu (vitesse et direction) à 10 mètres au-dessus du sol. La vitesse horaire moyenne du vent à Mostaganem connaît une variation saisonnière modérée au cours de l'année. La période la plus venteuse de l'année dure 6,5 mois, du 3 novembre au 19 mai, avec des vitesses de vent moyennes supérieures à 15,6 kilomètres par heure.

Tableau 7: Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées en 2023

Mois	janv.	févr.	Mars	avr.	Mai	Juin	juil.	Août	sept.	oct.	nov.	déc.
Vitesse du vent (kph)	17.1	17.5	16.8	17.2	15.9	14.9	14.0	13.9	14.6	14.8	16.5	17.1

3.Méthode

1.2 Procédé d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par la méthode entraînement à la vapeur d'eau concernant les feuilles et les baies de *Rosmarinus officinalis L.*

1.2.1 Entraînement à la vapeur d'eau

L'extraction des huiles essentielles des feuilles fraîches et sèches du romarin a été réalisée à l'aide d'un vapo-distillateur de type SPRING A 105 12 Litres (**fig.19**).



Figure 19: Vapo distillateur de type SPRING A 105 12 Litres utilisé pour l'extraction des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L (Khalid et al., 2020).

Les vapeurs formées dans l'extracteur traversent la plante, libèrent l'huile du tissu végétal et l'entraînent avec elles. Après condensation dans le réfrigérant, celles-ci chutent et sont récupérées dans une ampoule de décantation, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à une température de 0°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage (**Khalid et al., 2020**).

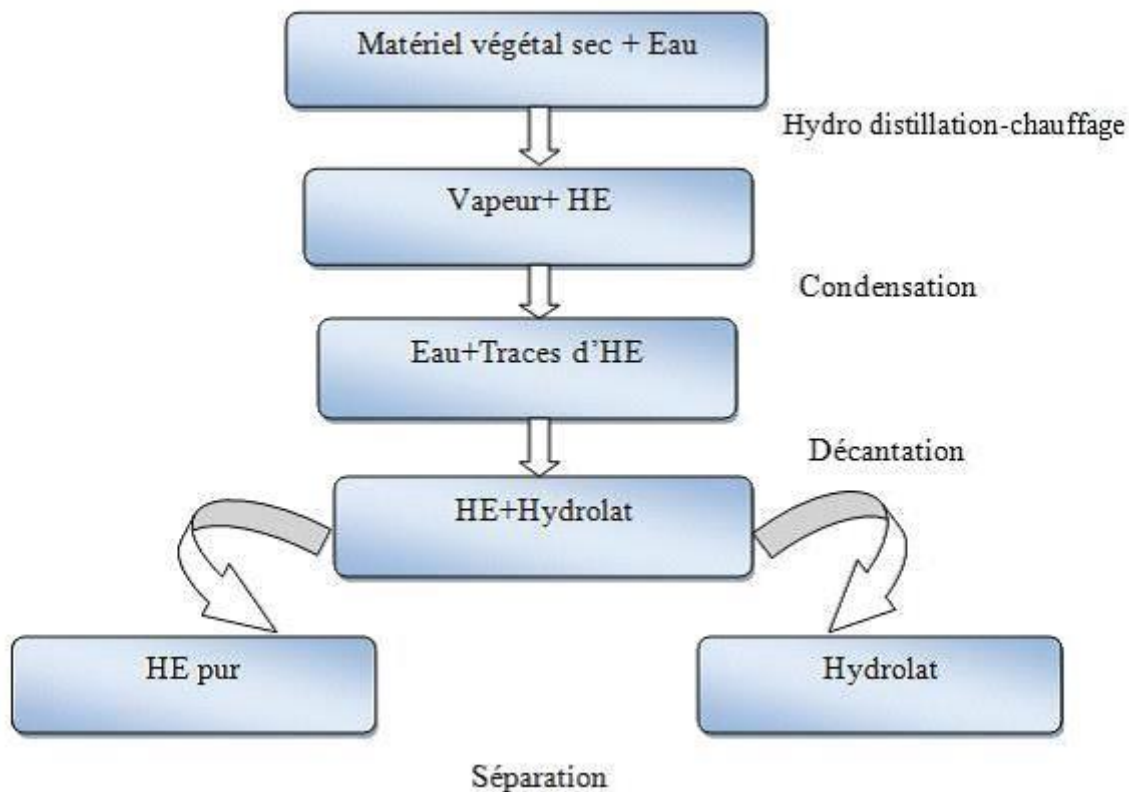


Figure 20: Les étapes d'extraction de l'huile essentielle

1.2.2 Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{RHE} = \frac{M'}{M} \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en % ;

M' : Masse d'huile essentielle en gramme ;

M : Masse de la plante en gramme.

1.2.2.1 Volume d'huile essentielle

Le volume de l'huile essentielle est déterminé grâce aux graduations millimétriques de l'éprouvette.

1.2.3 Caractéristiques organoleptiques

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles consiste à évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur et la flaveur ; en utilisant les sens.

1.2.4 Caractéristiques physico-chimiques

1.2.4.1 Calcul de la densité

La densité d'une huile essentielle est définie comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle et le volume de celui-ci :

$$d = \text{MHE} / \text{VHE}$$

d : densité

MHE : Masse de l'Huile Essentielle (g)

VHE : Volume de l'Huile Essentielle (ml)

1.2.4.2 Détermination de l'indice de réfraction (IR)

L'indice de réfraction d'une substance, est le rapport de vitesse de la lumière (à une longueur d'onde définie) dans le vide à sa vitesse dans la substance.

La mesure de l'indice de réfraction d'une huile, se fait à l'aide du réfractomètre (Annexe II) à une température constante (AUDIGIE *et al.*, 1983).

➤ Mode opératoire :

- L'instrument est réglé à une température ambiante ;
- Verser une goutte d'H.E sur la surface du prisme ;
- Fermer le couvercle du prisme, assurer que le film d'H.E ne contient pas de bulles d'air, puis pointer le réfractomètre en direction d'une source lumineuse ;
- Quand il y a du liquide sur le prisme, le champ est divisé en une partie claire et une partie sombre. Le point auquel la ligne de démarcation entre ces deux parties traverse l'échelle verticale donne la mesure. On peut ajuster la ligne sur l'échelle verticale à l'aide de vis située au-dessus ou au-dessous de la boîte contenant le prisme ;
- Lire avec précision la valeur affichée.

1.2.4.3 Détermination de l'indice d'acide

L'indice d'acide d'un corps gras est la masse d'hydroxydes de potassium exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser l'acidité libre (acides gras libres), contenue dans un gramme de corps gras (IA est sans unité) (COUTOULY *et al.*, 2006).

➤ Mode opératoire :

- Introduire dans un erlenmeyer 0.5 g/l d'huile essentielle, 25 ml d'éthanol ;
- Ajouter 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur ;
- Neutraliser la solution avec l'hydroxyde de potassium contenu dans la burette jusqu'à ce que la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes

➤ Calcul : L'indice d'acide est donné par la formule suivante :

$$IA = 5.61 \text{ v/m}$$

Où : v : est le volume en millilitre de solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

m : est la masse en gramme de la prise d'essai

1.2.4.4 Détermination de l'indice d'ester

L'indice d'ester d'un corps gras est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire pour saponifier des acides gras combinés présents dans 1g de corps gras (GAVRILOVIC *et al.*, 1996).

- **Principe :** Hydrolyse des esters par chauffage dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

• Solvants chimiques

Ethanol à 95% volumique.

C (KOH)= 0.5 mol/l

C (HCl)= 0.5 mol/l

- **Mode opératoire :**

- Introduire dans un ballon 0.5 g d'huile essentielle, ajouter à l'aide d'une burette 25ml de la solution d'hydroxyde de potassium KOH ainsi que des fragments de pierre de ponce ;
- Adapter un tube en verre au réfrigérant puis placer le ballon sur le bain d'eau bouillante pendant une heure ;
- Laisser le ballon refroidir, démonter le tube, ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur et enfin titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique.

- **Calcul :** L'indice d'ester est donné par la formule suivante :

$$IE= 28.05/m (V_0 - V) - IA$$

Où : V_0 : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique dans le test blanc.

V : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique utilisée.

m : la masse en gramme de prise d'essai.

IA : la valeur d'indice d'acide, déterminée selon NFT 75-103.

1.2.5 Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse chimique des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse CPG

- Les conditions opératoires

-Injecteur

-Température : 250°C

-Mode d'injection : split 1/50

-Volume injecté : 0.2 µl

- Colonne

-Type : HP-5MS

- Dimension : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm
- Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane. (Autre : Spécifier)
- Température du four :60°C 8 min, 2°C/min jusqu'à 240°C., isotherme pendant 5 min
- Durée d'analyse : 103 min
- Gaz vecteur : Azote N2 pur.
- Débit GV : 0.5 ml/min
- Détecteur : FID
- Température FID : 270 °c
 - Equipement :
- Chromatographe : GC MASTER DANI.
- La loi utilisée pour l'identification des pics :

$$I_i = 100 \cdot \left(\frac{t_R(i) - t_R(n)}{t_R(n+1) - t_R(n)} \right) + 100 \cdot n$$

1.2.6 Activités antimicrobiennes

L'antibiogramme est une technique de routine d'analyse médicale. Il est réalisé lorsque l'examen bactériologique d'un prélèvement biologique a mis en évidence la présence de bactéries. L'antibiogramme permet alors de déterminer si une bactérie est résistante ou sensible à tel ou tel antibiotique testé. Grâce à ces résultats, le médecin pourra prescrire le traitement le plus adapté et efficace pour traiter l'infection bactérienne (**Cluzel, 2019**).

- **Principe** : L'activité antibactérienne est une substance active capable d'inhiber la multiplication ou détruire les micro-organismes utilisés pour lutter contre des bactéries, les gènes, qui détruit les bactéries avec une action bactéricide (**Hassanen et al., 2020**).

Pour notre étude, nous avons testé la sensibilité de cinq souches microbiennes de référence provenant de l'Institut Pasteur d'Alger vis-à-vis des agents antimicrobiens standards (antibiotiques et antifongiques) et biologiques (huiles essentielles). Il s'agit de cinq souches bactériennes (deux Gram négatives et deux Gram positive) (**Tableau 8**).

Tableau 8: la nature et l'origine de différentes souches pathogènes utilisées

Souches	Références	Gram
Staphylococcus aureus	ATCC 33862	Positive
Escherichia coli	ATCC 25922	Négative
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	Négative
Bacillus cereus	ATCC 10876	Positive
Candida albicans	ATCC10231	

➤ **Mode opératoire :** Méthode sur les disques (**Carrubba et al., 2020**).

-Repiquage des espèces bactériennes : les différentes espèces bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées à 37°C afin d'obtenir des colonies isolées qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

-Préparation de l'inoculum : Des colonies bien séparées des espèces bactériennes concernées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et homogénéisées dans 10 ml de bouillon nutritif puis portées à l'incubation pendant (18-24) heures à 37°.

-Préparation des disques : Des disques de papiers Wathman n°1 de 6 mm de diamètre, stériles (Stérilisation à 120°C pendant 15 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés de méthanol sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

- Préparation des milieux de culture : La gélose de Muller Hinton stérile prête à l'usage a été coulée dans des boîtes de pétrie stérile de 90 mm de diamètre.

L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées à 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.

- Ensemencement : Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sont ensemencées par étalage à l'aide d'un râteau stérile, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable, et sur la surface du couvercle de boîte pétrie.

L'activité antibactérienne est déterminée en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 heures d'incubation à 37°C.



Figure 21: Méthode sur les disques (Carrubba et al., 2020).

1.2.7 Etude de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant d'huile essentielle de romarins officinales a été évalué par : le test de DPPH.

Vu la complexité de l'action des antioxydants in vitro, il est indispensable d'utiliser différentes techniques pour estimer de manière efficace la capacité anti oxydante de notre échantillon (Lopez-Alarcon & amp; Denicola, 2013).

1.2.7.1 Test de DPPH

➤ Principe :

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH^o) est un radical organique stable de couleur violette, qui absorbe à 517 nm. Sa stabilité est due au fait qu'il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. En présence d'agents antioxydants qui sont des donneurs d'hydrogène (AH), le composé est réduit en une forme non radicalaire DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) et vire au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance (Mwithiga et al., 2022). La réaction peut être représentée par l'équation suivante (fig.21)

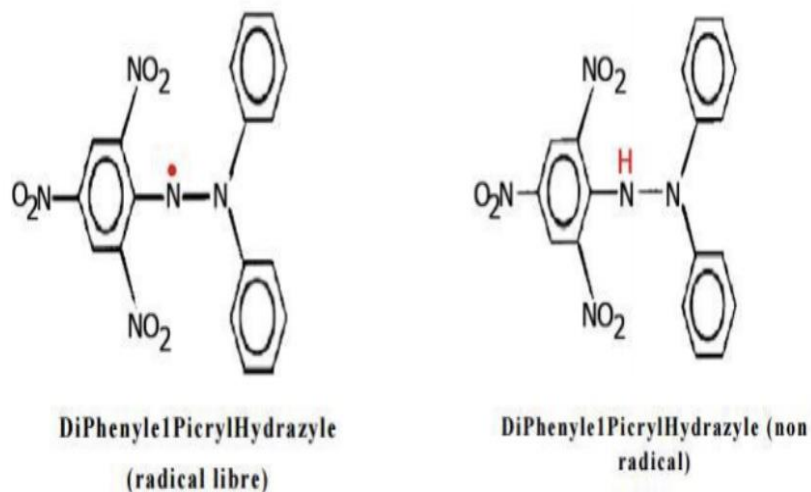


Figure 22: Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

➤ **Mode opératoire :**

L'activité antioxydante a été mesurée par la méthode de DPPH selon le protocole décrit par **Mwithiga et al. 2022**. Pour chaque huile essentielle, une solution mère de 10 mg/ml est préparée dans du méthanol et à partir de laquelle des dilutions sont préparées pour le test. L'acide ascorbique est utilisé comme standard pour lequel une solution mère de 1mg/ml est préparée dans du méthanol et à partir de laquelle des dilutions sont préparées pour le test. 100µl de l'échantillon à tester ont été ajoutés à 1200µl d'une solution méthanolique de DPPH (0,4%). Après agitation, le mélange a été laissé à l'obscurité pendant 30 min puis la densité optique a été mesurée à 517nm. Le contrôle négatif contient uniquement la solution de DPPH et le contrôle positif est représenté par l'acide ascorbique utilisé comme standard.

➤ **Expression des résultats :**

L'activité antiradicalaire est exprimée en pourcentage de réduction de la solution de DPPH° (**Chen, 2020**). Le pouvoir de réduction est déterminé en appliquant la formule suivante :

$$PR = (AC - AE) / AC \times 100$$

PR : Pouvoir de la réduction exprimé en pourcentage (%) ;

AE : Absorbance de la solution de DPPH° en présence de l'huile essentielle ou de l'acide ascorbique ;

AC : Absorbance de la solution de DPPH° en absence de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique.

La variation du pouvoir de réduction en fonction de la concentration de l'huile essentielle et de l'acide ascorbique, permet également de calculer le paramètre CE50 qui représente la « Concentration Efficace ». Cette dernière est définie comme étant la concentration de l'huile essentielle (ou de l'acide ascorbique) nécessaire pour réduire 50% de l'activité de DPPH° (**Sharifi et al., 2020**)

Les valeurs CI50 moyennes sont déterminées par les régressions linéaires de trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des échantillons testés et l'ordonnée par le pouvoir de réduction en pourcentage (**Bedini et al., 2020**)

1.3 Analyse statistique

Les résultats sont exprimés sous forme de $M \pm ES$ de 3 essais par échantillon. Après analyse de variance, la comparaison des moyennes entre les différents échantillons est effectuée en utilisant le test 't' de Student (test 't' est significatif à $P < 0,05$).

Résultats & discussion

Résultats & discussion

1. Rendement d'extraction

Dans cette étude, nous avons procédé à l'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis L.* par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau. Et cela afin d'évaluer ses propriétés antibactériennes. Cette technique a permis d'obtenir une huile essentielle (**Fig.23**) d'une coloration jaune claire presque blanche, avec un rendement de 0.62%.

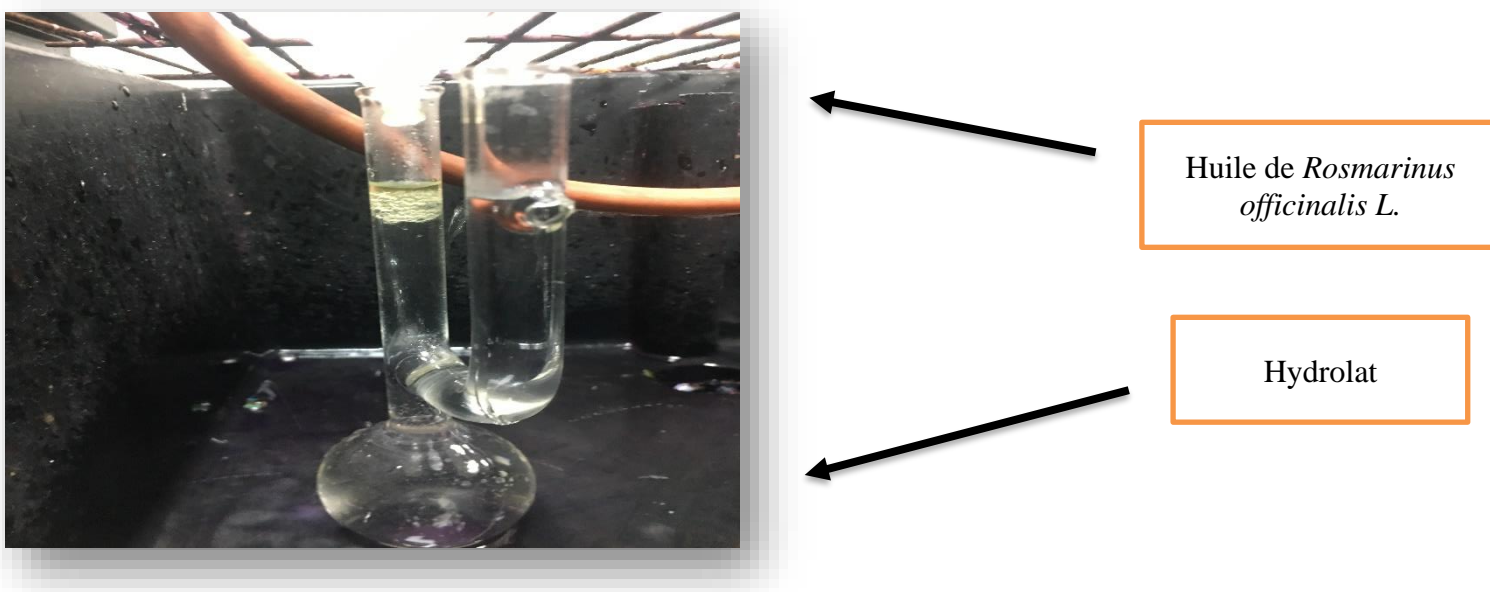


Figure 23: Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*

Ce résultat est conforme avec les normes AFNOR. (0,5-2%), cette variation peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux ; origine de la plante, la nature du sol, la période de la récolte, le régime d'irrigation, la durée de séchage, le mode d'extraction, les propriétés génétiques, les changements climatiques, et la variété (**WaniAR et al., 2021**). **Diniz et al ,2020**, a montré que l'irrigation a un effet positif sur la croissance végétative. Ainsi que l'insuffisance ou l'excès de l'eau a un effet négatif sur le rendement en HE.

2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du romarin

L'huile essentielle du romarin obtenue par hydrodistillation est représentée par la **fig24**.

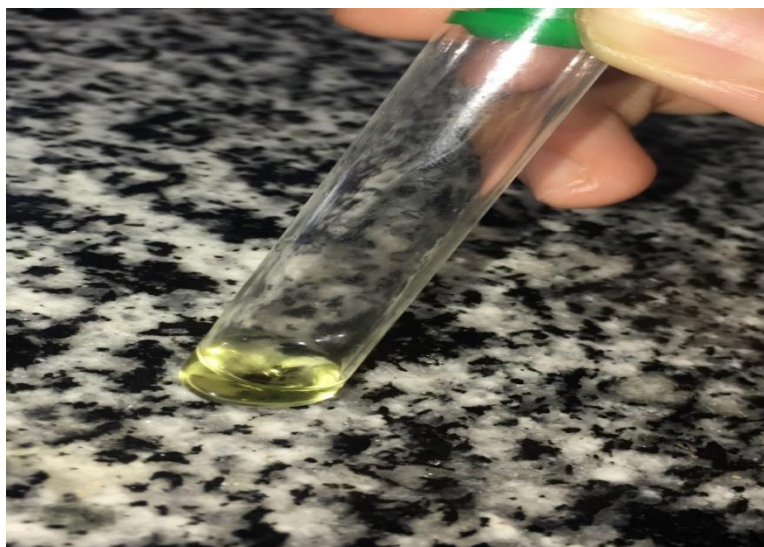


Figure 24: Huile essentielle du romarin de la région de Mostaganem.

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du romarin obtenue par vapo-Distillation sont résumées dans le **Tableau .9**

Tableau 9: Caractéristiques Organoleptiques d'huile essentielle de romarin récoltées à Mostaganem

Origine	Aspect	Couleur	Odeur et saveur
Huile essentielle du romarin (région de Mostaganem)	Liquide	Jaune claire	Odeur caractéristique de l'espèce
Huile essentielle du romarin (norme d'AFNOR)	Liquide mobile	Presque incolore à jaune pâle	Odeur caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée.

L'huile essentielle d'échantillon présente des caractéristiques organoleptiques conformes aux normes AFNOR et qui présente une légère différence au niveau de la couleur.

En ce qui concerne la couleur de l'huile essentielle de romarin de la région de Mostaganem qui est jaune et selon l'AFNOR l'huile essentielle espagnole possède une couleur qui va du jaune pâle au vert-jaunâtre, on peut dire que notre résultat est dans les normes.

L'odeur camphrée de cette huile essentielle est liée à la présence d'une quantité assez importante de camphre.

3. Résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats des constantes physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin sont regroupés dans le **Tableau.10**

Tableau 10: Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin

Paramètres physico-chimiques	La valeur de l'HE du romarin (région de Mostaganem)	Normes AFNOR (2000)
Densité	0,888	0,894 - 0,912
Indice de Réfraction	1,451	1,464 – 1,476
Indice d'acide	2,24	-
Indice d'ester	325,10	-

La densité de l'huile essentielle égale à 0,888 g/ml, elle représente un résultat conforme aux normes d'AFNOR.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle de romarin est de 1,451 L'indice d'acide du romarin est de 2,24

L'indice d'ester du romarin est de 325,10. Ce résultat obtenu est conforme aux normes AFNOR.

4. L'analyse par CPG

Les résultats de l'analyse par CPG de la région de Mostaganem sont montrés dans le chromatogramme **Fig.25**

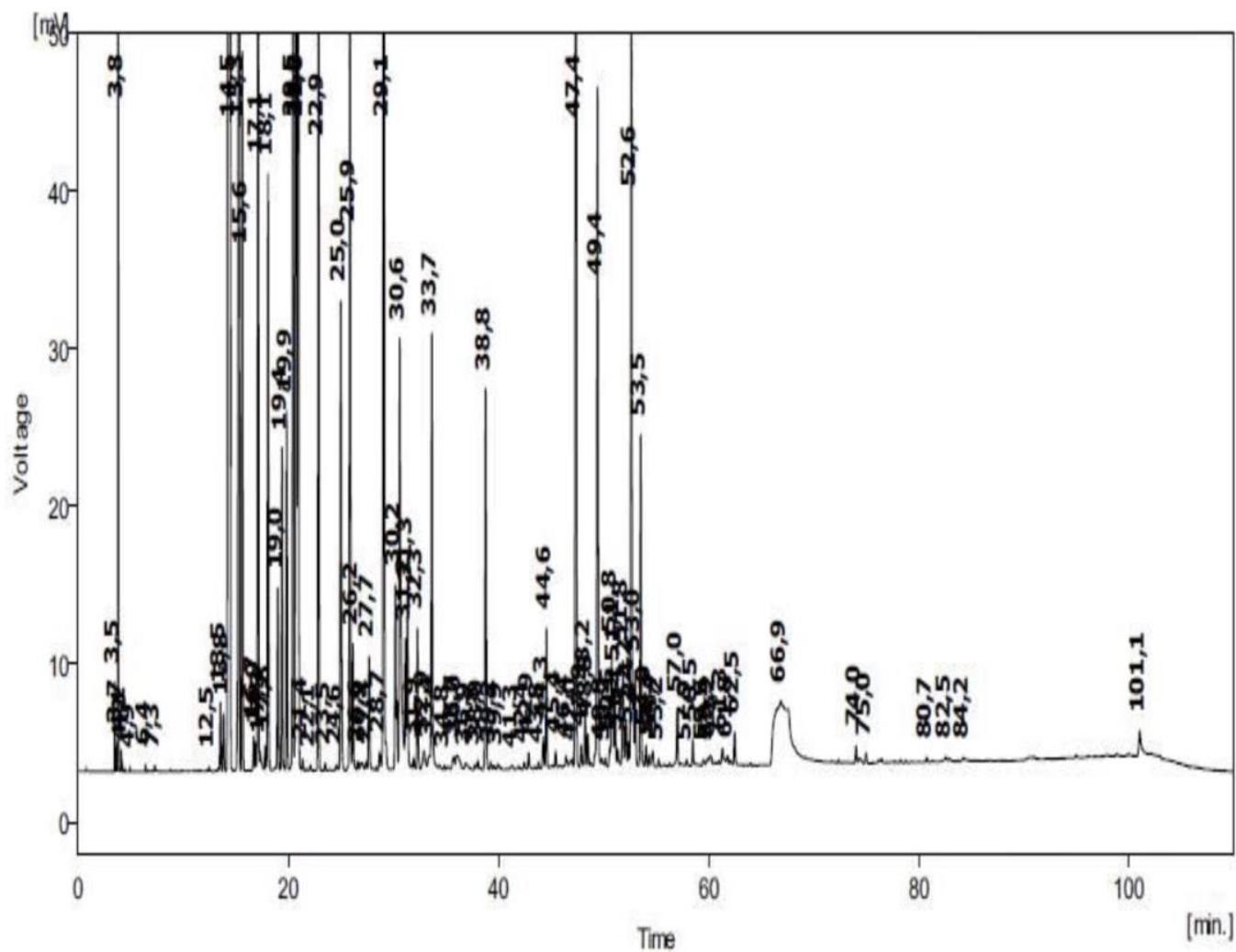


Figure 25: Chromatogramme CPG de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Mostaganem

Le Tableau.11 représente les principaux composés identifiés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* de la région de Mostaganem :

Tableau 11: Composition chimique de l'huile essentielle du romarin de Mostaganem.

Constituants	Temps de rétention	Rendement
1-octen-3-ol	13,7	0,1
Eucalyptol	15,9	11,73
Linalol	17	0,20
Chrysauthenone	18,08	6,38
Camphor	20,13	22,35
Bornéol	20,85	16,63
Isopinocamphone	21,10	4,84
α-terpinéol	21,57	3,32
Ryrtenol	21,88	0,72
Cylopentene 1-Ethanol,2-4-trimethyl	22,05	1,67
Verbénone	22,9	23,48
Grandlure II	23,19	0,33
5-caranol	23,43	0,10
p-mentha-1,8-dien-3one	24,31	0,35
Bornyl acetate	24,7	1,36

L'analyse chromatographique, de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* a permis l'identification de 15 composés exhibant un total d'environ 92,56 % de composés identifiés. On note la présence des monoterpènesoxygénés, des cétones et des sesquiterpènes. En plus on note l'existence d'alcools (d'octen3ol, de linalool), de chrysanthénone, d'eucalyptol (éther) et 02 à 4 sesquiterpènes.

L'ensemble est dominé par la présence du verbénone (23,48%), du camphore (22,35%), de Bornéol (16,63%), et d'eucalyptol (11,73%). En outre, l'huile essentielle testée contient également des quantités de divers constituants mineurs.

Grager et Passet (1973), ont introduit la notion de chémotypes pour distinguer les individus génétiquement différents à l'intérieur d'une même espèce, en utilisant les constituants majoritaires.

Tableau 12: Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin

Composée majoritaire	%	Origine
α-pinène	23,1	ALGERIE (Tlemcen)
camphre	14,5	
β-pinène	12,2	
α-pinène	14,9	IRAN (Tehran)
linalool	14,9	
pipéritone	23,7	
α-pinène	10,2	TURQUIE (Izmir)
1,8-cinéole	61,4	
α-pinène	11,4	MAROC
1,8-cinéole	50,2	
Camphre	9,1	
α-pinène	13,5	SERBIE (Vojvodina)
Limonène	21,7	
Camphre	21,6	

La comparaison de la composition de notre l'huile essentielle isolée de *Rosmarinus officinalis L* avec celle obtenue à partir de la même espèce recueillie dans des sites géographiques différentes du monde (**Tableau 12**). Elle nous a révélé qu'une huile essentielle peut présenter 07 profils chimiques différents. On distingue :

- Le Romarin à pipéritone qui se trouve généralement en IRAN.
- Le deuxième chémotype est le romarin à verbénone et acétate de bornyle (*Rosmarinus officinalis L.* ct verbénone) souvent originaire de Corse.
- Le quatrième chémotype est le romarin à limonène et camphre originaire de SERBIE
- Le Romarin à α pinène détecté en Turquie et en Algérie (Tlemcen)

En conséquence, on peut en déduire que *Rosmarinus officinalis* localisée en Algérie possède 03 chémotypes différents (à α pinène, à verbénone et à Bornéol).

Les variations du polymorphisme chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* issue des différents pays est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur

environnemental (**Meccatti et al., 2023**), les conditions climatiques et géographiques qui changent d'un pays à un autre, le génotype, le stade végétatif de la plante, et à la période de la cueillette La méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition de l'huile essentielle).

Rosmarinus officinalis L. cueillie en Turquie selon **YESIL CELIKTAS et al., 2007** est composé principalement de 1,8-cinéole (60,9%) l' α -pinène (7,8%) et camphre (7,1%). Par contre l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* cueillie au Portugal (**Santos et al., 2020**) est constituée essentiellement de verbanone (35,4%) ; camphre (5,5%) et 1,8-cinéole (3,1%).

Alors que le composé majoritaire de l'huile essentielle du romarin de Tunisie selon **MATHLOUTHI et al., 2009** est le cinéole (50 %) suivi du camphre (12 %), de l' α -pinène (10%) et du bicyclo-3.1.1-heptane (6,5%).

Entre autres, nous avons comparés la composition chimique de notre huile essentielle à certains travaux qui sont réalisés sur la composition de l'huile essentielle de romarin cueilli de différentes localités de l'Algérie. Nous constatons que la composition chimique des huiles essentielles du romarin diffère selon la localité.

En effet, dans la région des Bibans (**Bordj-Bou-Argeridj**), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) (**Rašković et al., 2023**).

Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Argeridj contient surtout du (E)- β -caryophyllène (13,9%) à côté du camphre (12,1%), du bornéol (10,1%), de l' α -terpinéol (9,5%) et 7,5% decinéole (**Ananou et al., 2023**).

5. Résultats de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *R. officinalis L.* A été évaluée dans cette étude par la technique de diffusion en milieu gélosé par l'antibiogramme (méthode de disques) vis-à-vis cinq germes pathogènes ; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*.

La méthode de disque a permis de déterminer l'action de l'HE de la plante dissout dans le DMSO sur les différentes souches, celle-ci se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier préalablement imprégné de l'HE comme témoin de l'absence de la croissance bactérienne dans cette zone.

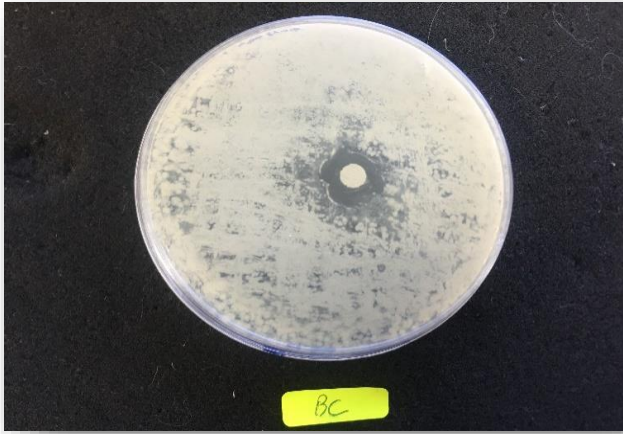


Figure 26:effet de l huile essentielle sur Bacillus Creus

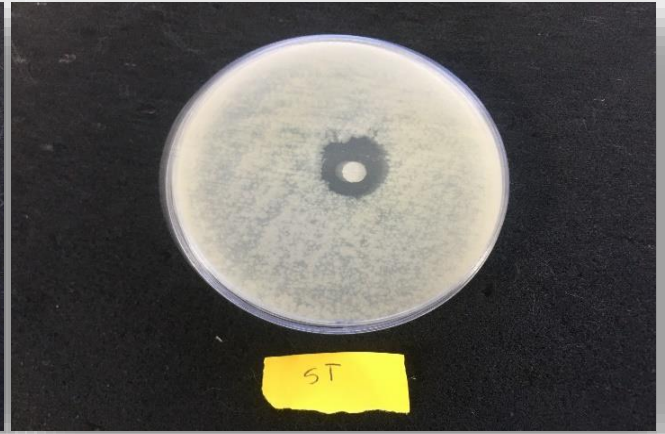


Figure 27:effet de lhuile essentielle sur StaphylococcusA

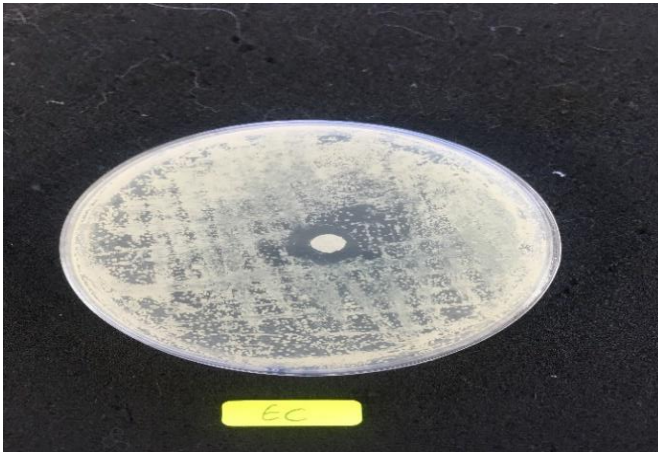


Figure 28:effet de huile essentielle sur ; Escherichia coli

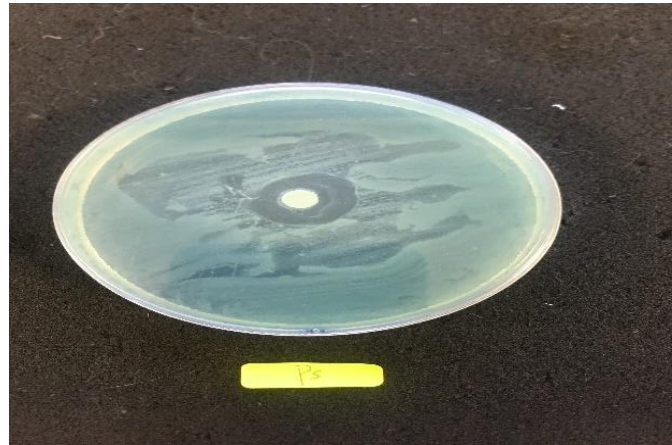


Figure 29:effet de lhuile essentielle sur PseudomonasA

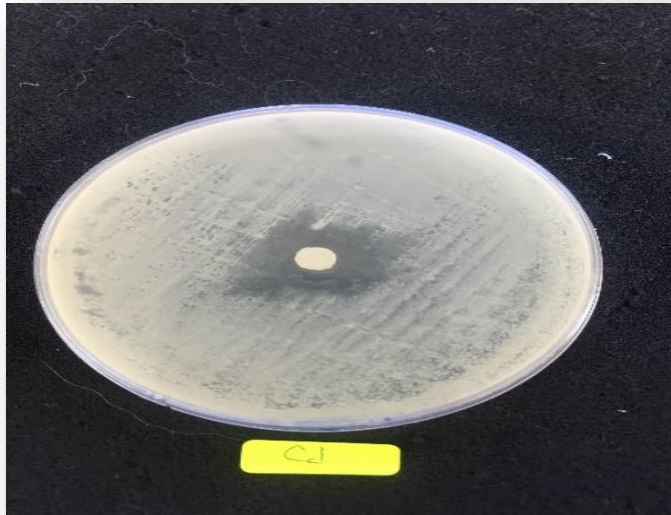


Figure 30: effet de l'huile essentielle sur candida

D'après **Manilal et al., (2019)**, et selon les résultats obtenus dans cette étude, on peut classer la sensibilité des bactéries testées comme suit ; *S.aureus* et *P.aeruginosa* (diamètre d'inhibition est entre 8 et 14) sont sensible alors qu'*E. coli* (diamètre d'inhibition est entre 15 et 20) est très sensible.

Il en ressort de l'étude de la sensibilité des souches testées que l'HE agit différemment sur ces microorganismes. C'est-à-dire, qu'un composé peut avoir une action très importante sur un germe (la sensibilité d'*E. coli*) ou une action moindre (*S. aureus* et *P. aeruginosa*). L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif majoritaire, mais plutôt à l'action combinée (synergie) de différents composés (**Essawi et Srour, 2022**). D'après **Zhou et al., (2021)**, les bactéries Gram (+) sont plus sensibles que les bactéries Gram (-) cette sensibilité peut s'attribuer à la différence dans les couches externes des bactéries Gram (-) et Gram (+). Les bactéries Gram (-), indépendamment de la membrane des cellules, possèdent une couche additionnelle la membrane externe, qui se compose des phospholipides, des protéines et des lipopolysaccharides, cette membrane est imperméable à la plupart des molécules. Ces résultats sont en d'accord avec nos résultats pour le cas de *S. aureus* et *P. aeruginosa*. Cependant, l'inhibition de la croissance des bactéries Gram (-) a été rapportée, particulièrement en combinaison avec les facteurs qui peuvent déranger l'intégrité de la cellule et/ou la perméabilité de la membrane (le cas d'*E. coli*). La résistance de la souche peut être attribuée à la capacité de l'agent antibactérien de diffuser uniformément dans l'agar (**Dharriwali et al., 2019**). Il peut aussi lier à la méthode de diffusion en milieu gélosés (**Zhou et al., 2021**). Comme

il a été rapporté auparavant, le mode d'action principale des huiles essentielles consiste en la lyse de la paroi bactérienne du fait de leurs propriétés lipophiles (Souza *et al.*, 2020).

Selon Belaiche (2021), qui a montré que la perte des composés volatils d'huile essentielle durant l'extraction a une influence sur son efficacité sur les bactéries. Donc, il serait rentable d'essayer un autre procédé d'extraction pour obtenir d'huile essentielle efficaces du point de vue activité antibactérienne. La faible efficacité pourrait être aussi due au fait qu'au cours de la période d'incubation quelques composants volatils de l'huile peuvent s'évaporer des milieux de culture, ce qui diminuerait sa concentration, et par la suite son activité antibactérienne.

Tableau 13: Activité antimicrobienne d'huile essentielle du romarin contre différentes souches bactériennes.

Bactéries	Diamètre(mm)	Gram
Staphylococcus	21	+
Bacillus cereus	16	+
Echerichia coli	15	-
Pseudomonas	13	-
Levure	Diamètre(mm)	Gram
Candida albicans	22	

Selon les résultats obtenus dans cette étude, l'huile essentielle de romarin a exercé une activité antimicrobienne importante contre *Candida albicans* et *Staphylococcus* avec une diamètre inhibition de 22 et 21 mm respectivement se pendant l'activité été modéré moyenne vis-à-vis, *Bacillus cereus*, *Echerichia coli* et *Pseudomonas* avec des diamètres inhibitions de 16, 15 et 13mm. Cette observation est particulièrement intéressante car il suggère que l'huile essentielle peut être efficace contre les différentes souches bactériennes testées.

L'activité anti bactérienne des huiles essentielles extraites du *Rosmarinus officinalis L.* peut être expliquée par le mécanisme de toxicité vis-à-vis des microorganismes qui se fait soit par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts d'hydrogène avec les protéines des parois cellulaires ou les enzymes, la chélation des ions métallique, inhibition du métabolisme bactérien, la séquestration de substance nécessaire à la croissance des bactéries (Karou *et al.*, 2005).

6. Evaluation de l'activité antiradicalaire de notre huile essentielle de romarin (TEST DPPH)

Le DPPH est un donneur de radicaux libres qui accepte un électron ou un hydrogène pour devenir une molécule diamagnétique stable. Les tendances de la présence d'électrons ou de l'hydrogène sont des facteurs essentiels pour caractériser une activité antioxydante qui implique des piègeurs de radicaux libres. La capacité de piégeage des radicaux de l'huile essentielle est comparée à celle de la vitamine C (contrôle positif), dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que les échantillons. La réduction de ce radical donne une coloration jaune pâle selon la réaction suivante (Roginsky&dissi, 2005) :



(AH) n : représente une molécule capable de réduire (céder un atome d'hydrogène au radical DPPH[•]) le radical DPPH[•] violet au DPPH-H (DPPH réduit) d'une couleur jaune pâle. Ainsi la perte de couleur est rapide ce qui montre que le donneur de proton dans l'échantillon est considéré comme un antioxydant fort.

L'CI50 qui représente la quantité d'un antioxydant nécessaire pour réduire la concentration initiale de DPPH de 50%, est utilisé comme indicateur pour comparer la capacité antioxydante des échantillons dans lesquels l'échantillon avec le plus fort pouvoir antioxydant présente des valeurs plus faibles de l'CI50 en comparaison avec une référence qui est la vitamine C.

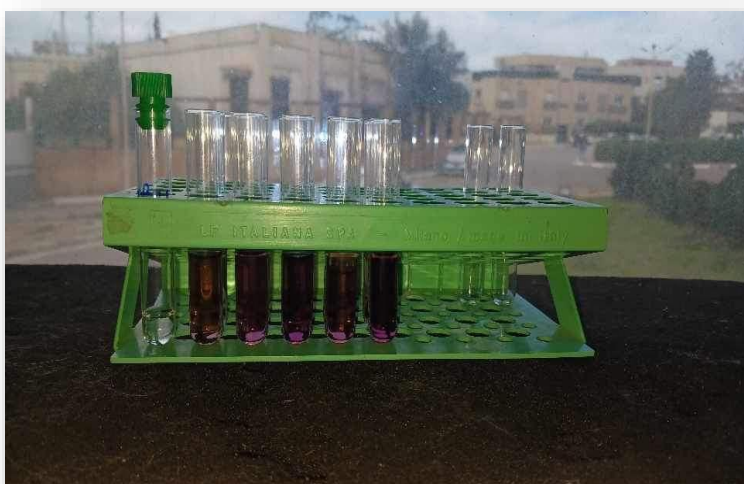


Figure 31: Virement de la couleur lors du test DPPH

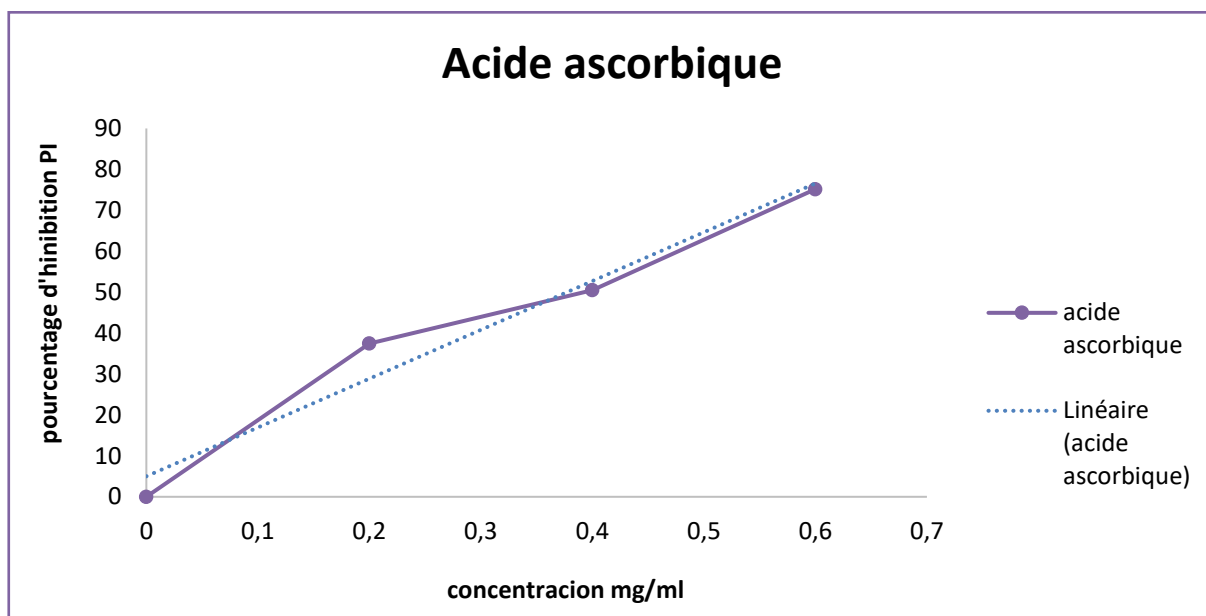


Figure 32 : Pourcentage d'inhibition du radical DPPH de la vitamine C

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de trois mesures par échantillon. La comparaison des moyennes est réalisée entre les différents extraits par le test Student (Test T). Les moyennes portant l'indices (*) sont significativement différentes ($p < 0,05$)

En effet, la capacité d'huile essentielle de romarin et de l'acide ascorbique a donné un atome hydrogène est testée dans notre étude en utilisant le radical libre stable DPPH. **La Figure 33** montre le pourcentage d'inhibition de radical DPPH pour les différentes concentrations de l'huile essentielle de romarin et de l'acide ascorbique.

Le radical DPPH est l'un des substrats les plus utilisés pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa solubilité, simplicité de l'analyse et sa sensibilité à détecter les composants actifs à des basses concentrations. L'intensité de cette couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu fournisseur de proton (**kaur et al., 2019**).

Les résultats montrent que le pourcentage d'inhibition est fortement dépendant des constatations en substrat, et ce pour l'huile essentielle. Plus précisément, l'augmentation en concentration de l'échantillon provoque l'élévation de pourcentage d'inhibition du radical libre et par conséquent l'augmentation de l'activité anti radicalaire (**kostova et al., 2021**).

La capacité antioxydante d'une huile essentielle est largement dépendant des constituants phénoliques. Des nombreuses épreuves ont été rapportées dans la littérature pour expliquer la relation structure-activité de certains composés naturels. Il a été proposé que l'activité antioxydante est en relation avec le nombre et la position de groupements hydroxyles sur le noyau des flavonoïdes (**Denkova et al., 2020**).

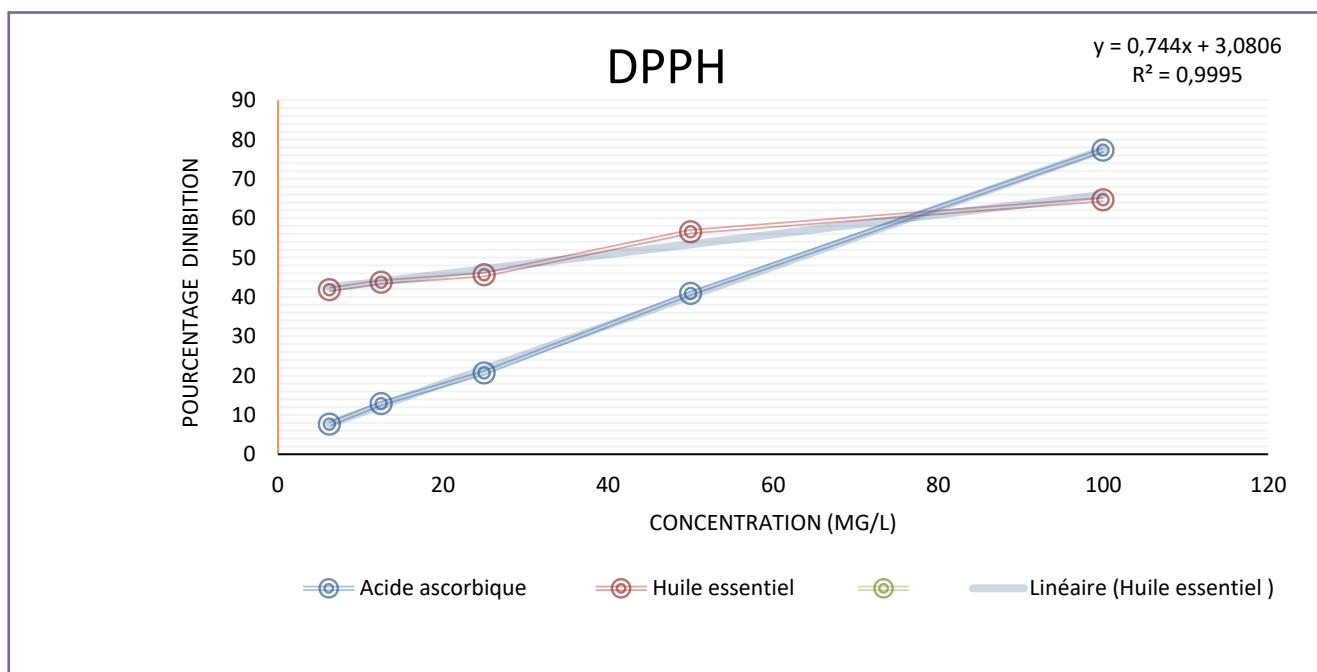


Figure 33: Activité de piégeage du radical DPPH par l'huile essentielle du romarin

Chaque valeur représente la moyenne \pm ES de trois mesures par échantillon. La comparaison des moyennes est réalisée entre les différents extraits par le test Student (Test T). Les moyennes portant l'indices (*) sont significativement différentes ($p < 0,05$)

Nos résultats, révèlent que l'huile essentielle testé ainsi que l'acide ascorbique pris comme référence sont des anti-radicalaire. La comparaison de l'activité du radical DPPH de l'huile essentielle du romarin et de standard (l'acide ascorbique) montre une activité anti radicalaire dépendante de la concentration. À chaque fois que la concentration augmente, le pourcentage d'inhibition augmente. A la concentration la plus faible 5mg/ml, le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 42% pour l'huile. A la concentration de 50mg/ml, le pourcentage d'inhibition moyenne est de l'ordre de 58% pour l'huile, à la concentration plus agissant 100 mg/ml, le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 64% pour l'huile. On remarque que même à de faibles concentrations, l'huile montre un pourcentage d'inhibition important, ce qui permet de déduire que les composés phénoliques contenus dans l'huile essentielle de *R. officinalis* sont très efficaces comme antioxydants.

D'un autre côté, l'acide ascorbique a la concentration la plus faible 4mg/ml, le pourcentage d'inhibition est de l'ordre de 8% ; et a la capacité plus élevée de 100mg/ml le pourcentage d'inhibition est plus élevé de 88%. On remarque que l'acide ascorbique démontrant ainsi une activité antioxydant plus puissante. En raison de sa concentration plus élevée de DPPH capturé l'acide ascorbique peut offrir une protection plus efficace contre le stress oxydatif et favoriser une meilleure santé globale. Toutefois, il est important de noter que

d'autres facteurs tels que la biodisponibilité et la stabilité des composés doivent également être pris en compte pour évaluer pleinement leur efficacité en tant qu'antioxydants.

D'après (Malesev D., 2007), cette forte activité antioxydante de l'huile essentielle pourrait s'expliquer par la présence de polyphénols. Le choix du système solvant approprié reste l'une des étapes les plus importantes dans l'optimisation de l'extraction des polyphénols, des flavonoïdes et d'autres composés antioxydants. Les résultats de l'activité antioxydante peuvent ainsi être influencés par la nature de l'organe végétal étudié.

6.1. Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement liée 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, nos résultats sont présentés dans le **Tableau.14**

Tableau 14: Différentes valeurs de concentration inhibitrice médiane CI50.

CI50/variété	Acide Ascorbique en µg/ml	Huile essentielle en µg/ml
CI50	63,063	360.96

Salhi *et al.*, (2019), montre que L'CI50 D'HE du romarin est de 20,9 C µg/ml (0,02 mg/ml) c'est une très forte capacité anti radicalaire par rapport à notre résultat, on note que cette huile est extraite des feuilles de romarin cultivé au Pakistan et récolte pendant l'hiver, cette différence peut être due à un facteur géographique et climatique.

Le profil d'activité anti radicalaire obtenue révèle que notre huile essentielle est moins efficace et inférieur à celui de l'antioxydant standard avec des valeurs de CI50 égale à 360,96 µg/ml.

En revanche, des études réalisées sur la même l'huile ont trouvé des IC50 de 710,15±6,15 µg /ml dans la région de Mostaganem, et de 1240,20±16,63µg/ml dans la région de Rélizane (Mimouni, 2020), cela peut être expliqué par une composition chimique différente de l'huile essentielle. En fait des plantes botaniquement identiques, peuvent fournir des huiles essentielles de composition plus ou moins différentes, on parle alors de chimio types (Tremblin, 2019). D'autre part, il a été aussi démontré l'existence d'une synergie entre les différentes molécules antioxydants, l'absence d'une molécule ou sa présence en faible quantité, peut ainsi influencer

la capacité antioxydante de la plante (**Juergens, 2019**). Plus la CI50 est faible, plus l'activité antioxydant du composé est élevée.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leur propriété thérapeutique. Une étude des propriétés anti oxydante et anti bactériennes a concerné une plante de la famille des lamiacées très fréquemment employées en Algérie. Le présent travail a été mené dans le cadre de la valorisation de la flore méditerranéenne algérienne et plus particulièrement, d'espèce végétale, à savoir, *Rosmarinus officinalis L.*, en analysant leur composition chimique, leur toxicité. Ainsi que celle de leurs huiles essentielles, mais aussi, en évaluant quelqu'une de leur propriété biologique telles que, l'activité antimicrobien, antioxydant.

L'extraction par vapo-distillation d'huile essentielle (HE) de Romarin (originaire de Mostaganem), a donné de rendements respectifs de 0,62%. L'huile essentielle de romarin présente des caractéristiques organoleptiques conformes aux normes AFNOR avec une légère différence au niveau de la couleur, qui est due à la variabilité de la composition chimique d'huile essentielle. Les indicateurs physiques de l'huile essentielle de romarin sont très conformes avec ceux fournis par l'AFNOR. La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide et indice d'ester) est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques CPG cette dernière technique, a permis de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis L.* Par rapport aux résultats obtenus, nous constatons que l'huile essentielle paraît très riche en termes de composés. On note une différence relativement importante entre les teneurs de ces composés.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été évaluée sur quatre souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* et *Pseudomonas aeruginosa*, et une souche antifongique contre *Candida* selon la méthode de diffusion sur disque, les résultats obtenus indique que l'huile essentielle du romarin est active et donne une activité antimicrobienne sur toutes les souches avec un effet très important sur *Staphylococcus aureus*. A la base de ces résultats, on peut prédire que ces huiles essentielles peuvent servir comme une base de lutte biologique.

L'activité antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* a été évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Ont démontré une activité anti radicalaire égale à 64% avec un $IC_{50} = 360,9 \mu\text{g/ml}$. On peut noter que cette activité était même supérieures à l'acide ascorbique.

En conclusion, l'huile essentielle de romarin est un produit naturel polyvalent et bénéfique pour la santé, grâce à ses caractéristiques organoleptiques distinctes, ses propriétés physico-

chimiques particulières et ses activités biologiques diverses. Son utilisation judicieuse et éclairée peut apporter de nombreux bienfaits pour le corps et l'esprit.

Sachant que notre pays possède une biodiversité immense dont chaque plante se caractérise par un réservoir assez de métabolites secondaires et des composants importants, parmi eux l'huile essentielle qui contient des propriétés importantes bénéfiques sur la santé. Demande d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose de :

- ✓ Déterminer de nouvelle substance bioactive naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- ✓ Développer des médicaments anti radicalaires à base des plantes, doués d'une activité antioxydante.
- ✓ Orienter les recherches scientifiques vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de l'activité antioxydant et antibactérien des composés poly phénoliques en générale
- ✓ Compléter cette étude par l'identification des composés qui possèdent un pouvoir rotatoire
- ✓ Étudier la variation de la composition en huiles essentielles selon les saisons ou les mois.
- ✓ Exploiter la richesse de la flore algérienne pour créer de nouveaux espaces d'études
- ✓ Donner naissance à plusieurs idées dans le domaine de la biotechnologie.

Références bibliographiques

A

Aburjai T., Natsheh F.M. (2003). Plants used in cosmetics. *Pytother. Res*, **17:987-1000**

Ahmed HM , et al. (2020). Enquête sur les extraits de plantes de romarin (*Rosmarinus officinalis*) et leurs effets potentiels sur l'immunité.

Allegra A, et coll. (2020). Activité anticancéreuse de *Rosmarinus officinalis* L. : Mécanisme d'action et potentiels thérapeutiques.

Ananou S, Bouraqqadi M, Zouhri N, El Kinany S, Manni L. (2023). Contrôle de *Listeria monocytogenes* dans un fromage frais à l'aide de plantes aromatiques et médicinales et d'entérocoque : une étude comparative. **76(7): 37401169**

Annemer S, Farah A, Stambouli H, Assouguem A, Almutairi MH, Sayed AA, Peluso I, Bouayoun T, TalaatNouh NA, El OualiLalami A, EzZoubi Y. (2022). Enquête chimométrique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Salvia rosmarinus* Spenn. *Molécules*. **27(9):2914**.

Atikbekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007). Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. **7: 6-11**.

B

Bakkali, F., Avertebeck, S., Avertebeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biologieeffets of essentialoils. *Rev. Food Chem. Toxicol*, **46: 446–475**

Bao TQ, et al. (2020). Effets et mécanismes antidiabétiques du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et de ses composants phénoliques.

Bazzine, OK, Benzaid, ZE et al. (2019). Etude de la composition chimique et l'activité biologique des huiles essentielles de thymus cap (Thèse de doctorat). **83p**.

Bedini S, et al. (2020). Huiles essentielles d'allium sativum, de *Rosmarinus officinalis* L et de *Salvia officinalis* :un bouclier épice contre les mouches à viande. *Insectes*.

Beloued A, (1998). Plantes médicinales d'Algérie. Département de botanique à l'institut National Agronomique d'EL-Harrach-Algérie. **277p**.

Bellakhdar J. (1997). La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). **764p**.

Benzineb, L. (2019). Effets antimicrobiens des extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur les qualités physico chimique et microbiologique d'un lait fermenté type yaourt. **15 page**.

Bentahar, A et Lamri, N.(2018). Extraction des huiles essentielles de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *teucrium polium* L) et formulation des pommades antimicrobienne.

Benabid A, (2000). Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. Ibis Press.**360p.**

Beloued A .(1998). Plantes médicinales d'Algérie. Département de botanique à l'institut National Agronomique. **277p.**

BiomedSci. Rosmarinus officinalis L.(2018). (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. de Oliveira JR, Camargo SEA, de Oliveira LD. **26(1):5.**

Bruneton J, (1999). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier.**1120p.**

Borges.RS , BLS Ortiz , ACM Pereira , H. Keita .(2019) . JCT Carvalho.Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* : un examen de sa phytochimie, de son activité anti-inflammatoire et des mécanismes d'action impliqués.*Journal of Ethnopharmacology* . **29-45.**

C

Carruba A, et al.(2020).Caractérisation du matériel génétique du romarin(*Rosmarinus officinalis* L.) de sicile par une approche multidisciplinaire.Plante.

Carlson L.H.C., Machado R.A.F., Spricigo C.B., Pereira L.K., Bolzan A.(2001). Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. **21:33-39p**

Cavalli J.-F .(2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. **274p.**

Chen XL et coll. (2020). Diterpénoïdes abietane avec activité de dommages antioxydants de *Rosmarinus officinalis*.

Crespo M.E., Jiménez J., Navarro C .(1991). Special methods for the essential oils of the genus *Thymus*. **12:41-46.**

Couplan F, (2000). Dictionnaire d'étymologie de botanique : Comprendre facilement tous les noms scientifiques. **238p**

D

Diniz do Nascimento L, et coll. (2020). Composés naturels bioactifs et activité antioxydante des huiles essentielles de plantes à épices : nouvelles découvertes et applications potentielles.*Biomolécules*.

Dolghi A, Coricovac D, Dinu S, Pinzaru I, Dehelean CA, Grosu C, Chioran D, Merghes PE, Sarau CA. (2022).*Molécules*. **27(18):6106.**

Dorman H.J., Deans S.G .(2000).Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol*, **88(2):308-316p**

E

Edris A.E, (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytother*. **21:308-323p**

Egpuna C, et al. (2021). Composés bioactifs efficaces contre le diabète sucré de type 2 : une revue systématique.

F

Falleh.H , MB Jemaa , M. Saada , R. Ksouri.(2020) . Les huiles essentielles : un conservateur alimentaire écologique et prometteur.

Fillatre Y.(2011). Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. **288p**

Franchomme P., Pénoel D. (1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. **445p**

G

Ghasemzadeh Rahbardar M, et al. (2020). un conservateur alimentaire écologique et prometteur. **21:308-323p**

González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Déciga Campos M, López-Muñoz FJ. (2007) . Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *Journal of Ethnopharmacology*; **111:476-482.**

Goldmann D.A., Weinstein R.A., Wenzel R.P., Tablan O.C., Duma R.J., Gaynes R.P, Schlosser J., Martone W.J, .(1996). Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial-resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership. **275(3) :234-240p**

Guimarães NSS, Ramos VS, Prado-Souza LFL, Lopes RM, Arini GS, Feitosa LGP, Silva RR, Nantes IL, Damasceno DC, Lopes NP, Rodrigues T. (2023). Antioxydants (Bâle). L'extrait glycolique de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) protège les mitochondries hépatiques des dommages oxydatifs et prévient l'hépatotoxicité induite par l'acétaminophène. **12(3):628.**

Guo F, Chen Q, Liang Q, Zhang M, Chen W, Chen H, Yun Y, Zhong Q, Chen W. (2021). Activité antimicrobienne et mécanisme d'action proposé du linalol contre *Pseudomonas fluorescens*. *Microbiol avant*. **12(5):62094.**

H

Hadizadeh-Talasaz F, Mardani F, Bahri N, Rakhshandeh H, Khajavian N, Taghieh M. (2022). BMC Complément Med Ther. Effet de la crème au romarin sur la cicatrisation des plaies par épisiotomie chez les femmes primipares : un essai clinique randomisé. **22(1):226.**

Hassanen NHM, et al. (2020). Effet protecteur du romarin contre les lésions rénales induites par la diéthylnitrosamine chez le rat. Biomarqueurs.

Harley R.M., Atkins S., Budantsev A., Cantino P.H., Conn B., Grayer R., Harley M.M., Kok R., Krestovskaja T., Morales A., Paton A.J., Ryding O. (2010). The families and genera of vascular plants .1130- 1146.

Harma, S., Barkauskaite, S., Jaiswal, AK, .&Jaiswal, S. (2021). Huiles essentielles comme additifs dans les emballages alimentaires actifs. Chimie alimentaire, **3(4):3128403.**

Heinrich, (2006). Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.

I

Ielciu I, Niculae M, Pall E, Barbălată C, Tomuță I, Olah NK, Burtescu RF, Benedec D, Oniga I, Hanganu.(2022). Effets antiprolifératifs et antimicrobiens de *Rosmarinus officinalis* L. Liposomes chargés.D.Molécules.;**27(13):3988.**

Iseppi R, et al. Nat Prod Rés. (2019). Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus vulgaris* L. et leur combinaison contre les agents pathogènes d'origine alimentaire et les bactéries d'altération dans les légumes prêts à manger.

Isman.MB. (2020) .Développement commercial des huiles essentielles végétales et de leurs constituants comme principes actifs dans les bioinsecticides.Revues de phytochimie , **19:235-241**

J

Jean Botton A, (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, techniques et documentation. Troisième Edition. **22P.**

Jeen P, Yadoung S, Yana P, Hongsibsong S (2023) Profilage phytochimique et capacitéantioxydante des plantes traditionnelles, nord de la Thaïlande. Plantes **12:3956.**

Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P.(2002). Botanique systématique: Une perspective phylogénétique. **467p**

K

Kalemba D., Kunicka A.(2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. 10:813-829p*

Kim YD. (2020). Ethnopharmacol. Plantes médicinales pour les maladies gastro-intestinales parmi les groupes ethnolinguistiques Kuki-Chin du Bangladesh, de l'Inde et du Myanmar : une étude comparative et d'analyse de réseau. **251:112415.**

Kuklinski C .(2000). Farmacognosia:Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural.

Kowalczyk A. M. Przychodna , S. Sopata , A. Bodalska , I. Fecka. (2020) . Thymol et huile essentielle de thym : nouvelles perspectives sur certaines applications thérapeutiques. *Molécules,25(18):4125*

Kowalczyk A. M. Przychodna , S. Sopata , A. Bodalska , I. Fecka. (2020) . Thymol et huile essentielle de thym : nouvelles perspectives sur certaines applications thérapeutiques. *Molécules,25(18):4125*

Kubeczka. KH . (2020) . Histoire et sources de la recherche sur les huiles essentielles. Manuel des huiles essentielles (3e éd.),

L

Leporini M, et al. (2020). *Plantes . 25(4):753*

Leporini M, Bonesi M, Loizzo MR, Passalacqua NG, Tundis R. (2020) . [The Essential Oil of *Salvia rosmarinus* Spenn. from Italy as a Source of Health-Promoting Compounds: Chemical Profile and Antioxidant and Cholinesterase Inhibitory Activity.](#) *Plants. 9(6):798.*

Lucchesi M.E .(2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. **146p**

M

Macedo LM, et al. (2020). *Plantes* .3(2):45

Mapoli G.(2003). Variations individuelle et saisonnière de la teneur et de la composition des huiles essentielles de *E. citriodora* acclimaté à Pointe-Noire (Congo-Brazzaville). **58p**

Meccatti VM, Santos LF, de Carvalho LS, Souza CB, Carvalho CAT, Marcucci MC, Abu Hasna A, de Oliveira LD. (2023). *Molécules*. Action antifongique des extraits glycoliques de plantes médicinales contre les espèces *Candida* .28(6):2857.

Meenu M, Padhan B, Patel M, Patel R, Xu B. (2023). Activité antibactérienne des huiles essentielles de différentes parties des plantes contre *Salmonella* et *Listeria* spp.. *Chimie alimentaire*. 4(4):134723.

Musolino V, Macrì R, Cardamone A, Tucci L, Serra M, Lupia C, Maurotti S, Mare R, Nucera S, Guarnieri L, Marrelli M, Coppoletta AR, Carresi C, Gliozzi M, Mollace V. (2023). *Salviarosmarinus* Spenn. (Lamiaceae) Hydroalcoholic Extract: Phytochemical Analysis, Antioxidant Activity and In Vitro Evaluation of Fatty Acid Accumulation. *Plants* (Basel).

Mwithiga G, et al. (2020). Taus de croissance du romarin (*Rosmarinus officinalis*) , rendement en huile et qualité de l'huile sous différents amendements du sol. Hélyon.

N

Noureddine B, Mostafa E, Mandal SC. (2022). *J Ethnopharmacol*. Enquêtes ethnobotaniques, pharmacologiques, phytochimiques et cliniques sur les plantes médicinales marocaines traditionnellement utilisées pour la prise en charge des dysfonctionnements rénaux. **292:115178.**

P

Pateiro.M , PE Munekata , AS Sant'Ana , R. Domínguez , D. Rodríguez-Lázaro , JM Lorenzo. (2021). Application d'huiles essentielles comme agents antimicrobiens contre la détérioration et les micro-organismes pathogènes dans les produits carnés. *Journal international de microbiologie alimentaire* .

Q

Qiu K, Wang S, Duan F, Sang Z, Wei S, Liu H, Tan H. (2024).Romarin : Révéler une ancienne culture aromatique en tant que nouvelle source d'additifs alimentaires fonctionnels prometteurs - Une revue.ComprRev Food Sci Food Saf. **23(1):13273.**

QUEZEL P,(1963).Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.

R

Rahman K, Akhtar N, Subhan F, Ali K.Braz J. Biol. (2023). Étude ethnomédicale quantitative et état de conservation de la flore médicinale utilisée par les peuples autochtones de la vallée du Sultan Khail. **83:267583**

Rašković A, Milanović I, Pavlović N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. (2014). Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential.

Rathore S, Mukhia S, Kapoor S, Bhatt V, Kumar R, Kumar R.SciRep. (2022). Variabilité saisonnière de la composition des huiles essentielles et de l'activité biologique des accessions de *Rosmarinus officinalis* L.**12(1):3305.**

Raveau , J. Fontaine , A. Lounès-Hadj Sahraoui. (2020) . Les huiles essentielles comme produits de biocontrôle alternatifs potentiels contre les agents pathogènes des plantes et les mauvaises herbes.**9(3):365**

Razafindrakoto B.(1988). Huiles essentielles d'Eucalyptus de Madagascar ; Variabilité de la composition et du rendement en fonction de la période de récolte ; essais de classement chemotaxonomique et propriétés pharmacodynamiques. **225p**

Reichling J. (2022). Propriétés antivirales et virucides des huiles essentielles et des composés isolés - Une approche scientifique.**88(8):587-603**

Richard H, (1992). Epices et aromates. **339p**

S

Sadiki M, et al. (2023). L'effet combiné des huiles essentielles sur les propriétés physico-chimiques du bois et leur activité antiadhésive contre les moisissures : application de la méthodologie de conception de mélanges. *Bio-encrassement*.

Sardans J., Rodà F., Peñuelas J. (2005). Effects of water and a nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Environmental and Experimental Botany*.**53:1-11.**

Satoh T, Trudler D, Oh CK, Lipton SA. (2022). Antioxydants (Bâle). Utilisation thérapeutique potentielle de l'acide diterpène carnosique de romarin pour la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et le long COVID grâce à l'activation de NRF2 pour contrer l'inflammasome.**11(1):124.**

Sharif-RD J, et al. (2018). Plantes *Rosmarinus* : concepts agricoles clés vers des applications alimentaires. *PhytotherRés*.

Soltani A, Ncibi S, Djebbi T, Laabidi A, Mahmoudi H, Mediouni-Ben Jemâa J. (2024). Stratégies de lutte écologique contre les insectes nuisibles : performance à long terme de l'huile essentielle de romarin encapsulée dans du chitosane et de la gomme arabique *Int J Environ Santé*.**34(5):2315-2332.**

T

Thumann TA, Pferschy-Wenzig EM, Moissl-Eichinger C, Bauer R.J Ethnopharmacol. (2019). Le rôle du microbiote intestinal dans l'activité des plantes médicinales traditionnellement utilisées dans l'Union européenne pour les troubles gastro-intestinaux. **245:112153.**

Tomou EM, Fraskou P, Dimakopoulou K, Dariotis E, Krigas N, Skaltsa H. (2023). Analyse chimiométrique démontrant la variabilité de la composition des huiles essentielles chez 10 espèces de *Salvia* provenant de différentes sections taxonomiques ou clades phylogénétiques. *Molécules*.**29(7):1547.**

U

Ulewicz-Magulska B, Wesolowski M .(2019). Contenu phénolique total et potentiel antioxydant des herbes utilisées à des fins médicales et culinaires. *Aliments végétaux Hum Nutr* **74:6167.**

Urasaki Y, Beaumont C, Talbot JN, Hill DK, Le TT. (2020). Akt3 régule la réponse spécifique des tissus à l'huile essentielle de Copaiba . *Int J Mol Sci.* **21(8):2851**

W

Wang J. , F. Zhao , J. Huang , Q. Li , Q. Yang , J. Ju. (2023) . Application des huiles essentielles comme agents antimicrobiens à libération lente dans la conservation des aliments : stratégies de préparation, mécanismes de libération et cas d'application .Examens critiques en science alimentaire et nutrition .**1-26.**

WaniAR, et al. (2021).Un examen actualisé et complet du potentiel antiviral des huiles essentielles et leurs constituants chimiques, avec un accent particulier sur leur mécanisme d'action contre diverses gripes et coronavirus. *Microbe pathogène.*

Wu, F. Zhao , Q. Li , J. Huang , J. Ju. (2022) . Mécanisme antifongique de l'huile essentielle contre les champignons d'origine alimentaire et son application dans la conservation des aliments cuits au four.Examens critiques en science alimentaire et **nutrition .1-13 ,**

Y

Yu M, Gouvinhas I, Rocha J, Barros AIRNA . (2021) . Analyse phytochimique et antioxydante de plantes médicinales et alimentaires vers des ressources alimentaires et pharmaceutiques bioactives.

Annexe

1- Le matériel utilisé lors de l'expérimentation :

- Balance de précision.
- Hôte à flux laminaire
- Etuve.
- Plaque chauffante
- Chauffe ballon.
- chromatographe en gaze gazeuse
- Spectrophotomètre

2- Verrerie

- Tubes à essai en verre. - Réfrigérant .
- Flacons. - Ecouvillon stérile.
- Béchers. - Pipette pasteur.
- Ballon.
- Anse de platine stérile. - Fioles.
- Burette
- Entonnoir. - Ampoule à décantier.
- Erlenmeyer. - Pipettes graduées.

3-produits chimiques utilisés :

- Eau distillée
- Acide Ascorbique
- Eau physiologie
- méthanal
- Phénophtaléine
- Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium
- KOH
- Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium

