

N° d'ordre :

N° de série :

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE**

**SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE**

## **MEMOIRE DE FIN D'ETUDE**

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Biochimie

Spécialité : Biochimie

### **THEME**

**Extraction des Huiles Essentielles de *Rosmarinus officinalus L* et l'Etude de Son Effet Biologique**

**Dirigé par :**

M elle RAMADANE Farah

**Présenté par:**

BAHRI Mebarka

GHOUMA Soumia

KHELAIFA Khadidja

ZOBEIDI Oufa

Année universitaire 2014/2015



# DEDICACE

*Avec l'aide de dieu, nous pouvons réaliser ce modeste travail que*

*NOUS dédions A:*

*Nos parents, qu'ils trouvent ici toute notre gratitude pour leur soutien*

*tout au long de nos études.*

*Nos soeurs*

*Nos frères*

*Nos oncles ainsi que leurs familles,*

*Pour leur présence de tous les instants,*

*Pour le soutien qu'ils m'ont apporté,*

*Tous nos collègues et amies,*

*Avec toute notre affection et notre reconnaissance*

Mebarka

Khadidja

Oufa

Soumia

# Remerciements

Nous remercions créateur Allah, grand et miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donnés pour mener ce travail à terme.

Nos remerciements vont en particulièrement à:

Notre encadreur l'enseignante RHAMADANE FARAH pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de notre profonde reconnaissance, notre immense gratitude et notre grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance en couramment.

Nous remercions également Melle HADJAR BELAMOUDI pour son aide dans la réalisation de notre travail.

Nos remercions Melle KADRI MOUNIRA pour son aide dans la réalisation de la partie pratique.

Nous exprimons nos remerciements à tout l'équipe de SNV du laboratoire d'université HAMA LAKHDAR d'EL Oued pour leur soutien et leur encouragement tout le long de notre travail.

Sans oublier tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie d'université HAMA LAKHDAR d'EL Oued.

## Résumé

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenue par plusieurs méthodes parmi les l'hydrodistillation.

Dans ce travail nous avons effectué une étude phytochimique, ainsi que l'extraction d'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* et l'étude de son effet antimicrobien. Le rendement obtenu en huile essentielle était environ 0.58%, ce résultat est en accord avec des études précédentes.

L'activité antimicrobienne à donné des résultats importants avec des zones d'inhibitions différentes sur les souches testées.

**Mots clés:** Huile essentielle, *Rosmarinus officinalis*, hydrodistilation, activité antimicrobienne.

## SOMMAIRE

Introduction générale	
<b>PREMIÈRE PARTIE : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
<b>Chapitre I : GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES</b>	
1. Historique .....	6
2. Définition .....	7
3. Répartition et localisation.....	8
3.1. Répartition.....	8
3.2. Localisation .....	9
4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles .....	9
5. Taxonomie des huiles essentielles.....	10
6. Rôle physiologique .....	11
7. Domaines d'application des huiles essentielles .....	11
8. Composition chimique.....	11
8.1. Les composés aromatiques .....	11
8.2. Les terpènes .....	12
8.2.1. Les monoterpènes .....	12
8.2.2. Les sesquiterpènes .....	13
8.3. D'origine diverses .....	14
9. La biosynthèse des huiles essentielles .....	14
9.1. La biosynthèse des terpènes .....	15
10. Techniques d'extraction des huiles essentielles .....	16
10.1. Distillation .....	17
10.1.1. Extraction à la vapeur d'eau .....	17
10.1.2. Hydrodistillation.....	18
10.1.3. Hydrodiffusion .....	19
10.2. Extraction au four à micro-ondes .....	19
10.3. Extraction par des solvants organiques.....	20
10.4. Extraction par le corps gras .....	21
10.5. Extraction par fluides supercritiques .....	21
10.6. Extraction à l'eau surchauffée .....	22
10.7. Distillation par extraction simultanée (SDE).....	23
11. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles .....	23
11.1. Les facteurs intrinsèques .....	23
11.2. Les facteurs extrinsèques .....	23

12. Toxicité des huiles essentielles .....	23
13. Activité antimicrobienne.....	24
13.1. Définition d'un antimicrobien .....	24
13.2. Essais de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans les aliments....	25
13.3 Mode d'action des huiles essentielles .....	25
<b>Chapitre II : PRESENTATION DEL'ESPECE ETUDIEE</b>	
1. La famille des lamiacées .....	28
1.1. Caractéristiques .....	28
2. L'espèce <i>Rosmarinus officinalis L</i> (le romarin ) .....	29
2.1. Description botanique.....	29
2.2. Nomenclature.....	32
2.3. Classification .....	32
2.4. Origine et distribution géographique de la plante <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	33
2.4.1. Origine.....	33
2.4.2. Distribution géographique.....	33
2.5. Utilisations .....	34
2.6. Propriétés biologiques du romarin.....	35
2.6.1. Activité antibactérienne .....	35
2.6.2. Activité antifongique .....	36
2.7. Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis L</i> .....	37
2.7.1. Huiles essentielles .....	37
2.7.2. Acides phénoliques .....	37
2.7.3. Tanins des labiées .....	37
2.7.4. Cuticule cireuse des jeunes feuilles .....	37
2.7.5 Constituants divers .....	37
2.7.6. Flavonoïdes .....	37
<b>DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPERIMENTALE</b>	
<b>Chapitre III : MATERIELS ET METHODES</b>	
1. Présentation de la zone d'étude.....	41
2. Provenance du matériel végétal étudié .....	42
3. Les souches bactériennes testées .....	42
4. Matériels du laboratoire .....	42
5. Extraction des huiles essentielles .....	44
6. Screening chimique .....	45
6. 1. Recherche des alcaloïdes .....	45

6. 2. Recherche des polyphénols .....	45
6. 3. Recherche des flavonoïdes .....	45
6. 4. Recherche des polyterpènes et des stérols .....	45
6.5. Recherche des saponosides .....	45
6.6. Recherche Stéroïdes .....	45
6.7. Recherche des sucres réducteurs.....	45
7. Détermination du rendement .....	46
8. L'aromatogramme .....	46
<b>CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
1. Les huiles essentielles .....	49
2. Tests chimiques préliminaires .....	49
3. Résultats de l'aromatogramme .....	51
Conclusion générale .....	55
Références bibliographiques .....	57
Annexes .....	66
Résumé et mots-clés	

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Numéro</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>1</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	49
<b>2</b>	Résultats des tests chimiques préliminaires	50
<b>3</b>	Résultats de l'aromatogramme (Zones d'inhibitions en mm)	51

## LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
<b>1</b>	Ancienne unité de distillation	7
<b>2</b>	Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties des plantes	8
<b>3</b>	(A):Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur de ( <i>Menthapulegium</i> )(30.62)(khenaka. k).(B) : illustration schématique du développement des glandes productrice d'huile essentielle	9
<b>4</b>	Exemples de structures des composés aromatiques rencontrées dans les huiles essentielles	12
<b>5</b>	Exemples de structures des monoterpènes acycliques rencontrées dans les huiles essentielles	13
<b>6</b>	Exemples des structures des sesquiterpènes rencontrées dans les huiles essentielles	14
<b>7</b>	Biosynthèse des principaux métabolites secondaires	15
<b>8</b>	Biosynthèse des terpènes	16
<b>9</b>	Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau	18
<b>10</b>	Montage d'hydrodistillation (Clevenger)	18
<b>11</b>	L'hydrodiffusion	19
<b>12</b>	Montage d'extraction par micro-onde	20
<b>13</b>	Schéma d'une batterie d'extraction par solvant pour végétaux	21
<b>14</b>	Schéma de principe d'extraction par CO <sub>2</sub> supercritique	22
<b>15</b>	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne	26
<b>16</b>	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	30

<b>17</b>	Feuille de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	30
<b>18</b>	Fleur de romarin	31
<b>19</b>	Photographies de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	32
<b>20</b>	Structures chimiques des composés majeurs d'extrait de romarin	38
<b>21</b>	Situation géographique de wilaya d'El Oued	41
<b>22</b>	Situation géographique de la région de Hassi Khalifa	42
<b>23</b>	Photo d'autoclave et L'étuve	44
<b>24</b>	Un extracteur Clevenger	44
<b>25</b>	Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri	46
<b>26</b>	Protocole expérimental de la méthode aromatogrammeme	47
<b>27</b>	Résultats de screening chimique de <i>Rosmarinis officinalis</i>	50
<b>28</b>	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Rosmarinis officinalis</i> sur <i>Escherichia coli</i> (ATTC25922)	52
<b>29</b>	Activité antibactérienne des huiles essentielles de <i>Rosmarinis officinalis</i> sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATTC25923)	53

## LISTE DES ABREVIATIONS

- **%**: Pourcentage
- **°C** : Degré celsius
- **AFNOR** : Association française de normalisation
- **AMX<sup>25</sup>**: SD129-1CT amoxicillin
- **ATB**: Antibiotique
- **ATTC**: American type culture collection
- **C**: Carbone
- **CIP<sup>5</sup>**: SO060-1CT ciprofloxacine
- **Cm**: Centimètre
- **CO<sub>2</sub>**: Dioxyde de carbone
- **COT<sup>25</sup>**: SD010-1CT CO-trimoxazole (sulpha /trimethoprim)
- **DI**: Diamètre d'inhibition
- **DL**: Dose létale
- **DMSO**: Diméthylsulfoxyde
- **E. Coli** :Escherichia coli
- **FPP**: Farnésylpyrophosphate
- **g**: Gramme
- **GGP**: Géaranylgéranypyrophosphate
- **GPP**: Géranyl pyrophosphate
- **GRAS** :Generally recognized as safe
- **H.E.B.B.D**: Huile essentielle botaniquement et biochimiquement définie
- **h**:Heure
- **H**:Hydrogène
- **HE**: Huile essentielle
- **HEs**: Huiles essentielles
- **ISO**: International organisation for standardisation
- **K<sup>+</sup>**:Ion de potassium
- **Kg**: Kilo gramme
- **m** :Masse du résidé sec
- **m<sub>0</sub>**:Masse initiale de matière végétale
- **min**: Minute
- **ml**: Millilitre
- **mm**: Millimètre

- **P:** Pression
- **pH:** Potentiel hydrogénique
- **PPI<sub>2</sub>:**Pyrophosphate disopenténe -2-yle
- **PPI<sub>3</sub>:** Pyrophosphate d'isopenténe -3-yle
- **ppm:** Partie par million
- **R<sup>mt</sup>:** Rendement
- **SDE:** Distillation par extraction simultanée
- **T°:**Température
- **UI:** Microlitre
- **VIH:**Human immunodeficiency virus
- **VMHD:** Vacuum microwavehydrodistillation

# *Introduction générale*

### Introduction générale

Depuis plusieurs années, l'homme qui vit coté à coté avec les plantes est habitué à les consommer pour leurs propriétés médicinales et nutritives. Les produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée aux différents secteurs d'activité tels que : le cosmétique, la pharmacie, l'agroalimentaire, le phytosanitaire et l'industrie (BOUHAFS et *al.*, 2014).

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs. En vue d'assurer la conservation et la disponibilité de ces plantes pour l'avenir, la réglementation de leur exploitation et de leur exportation est essentielle, tout comme la coopération et la coordination au niveau international (ZHANG., 1998).

La famille *Lamiacée* se retrouve dans tous les coins de la planète. Ainsi, les individus de cette famille possèdent des phénols constitués d'hydrates des carbones aromatiques. Ce type de phénol donne des propriétés antiseptiques à la plante afin de se défendre contre les infections bactériennes. De plus, la forme aromatique concède des odeurs et des goûts particuliers aux *Lamiacée*, l'une des raisons pour la quelle ces plantes sont souvent utilisées comme épice dans les cuisines. Elles sont très accessibles à la population générale, donc de production abordable pour les communautés locales. Par ailleurs, les *Lamiacées* sont composées des terpènes. Ce type d'hydrocarbure dote les plantes d'une protection contre des mycètes et des insectes (CABRERA et LYDIA., 2001).

*Rosmarinus officinalis L* ou le romarin est un arbrisseau aromatique de la famille *Lamiacée (Labiée)*, touffu, rameux, d'environ 1m de hauteur, à tige ligneuse, à feuilles persistantes opposées. Les fleurs axillaires à corolle de type "labiée" sont de couleur bleue pâle à bleu violet clair. Le romarin tire son nom du latin *rosmarinus*, qui signifie "rosée demer"; il est reconnu pour sa saveur piquante et parfumée assez prononcée (AIT MOHAMED., 2012).

La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles; ils sont alors appelés « plantes aromatiques ». Ces huiles essentielles se trouvent dans de nombreuses parties de la plante : le bois, les feuilles, les fruits, les écorces, les graines et les racines. Ce sont des mélanges complexes constitués des plusieurs dizaines, voire de plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes et des composés aromatiques (EL HAIB., 2011). Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables et les procédés techniques utilisés pour l'obtention de ces essences sont aussi très variables. Les modes d'extraction les

plus fréquemment employés sont l'expression, l'absorption ou enfleurage à froid, la macération ou enfleurage à chaud, la dissolution et les multiples variantes de la distillation (KONE., 2011). Les huiles essentielles possèdent plusieurs effets, comme l'effet antimicrobien qui sera étudié dans ce mémoire.

Dans ce travail nous étudions le screening chimique et l'effet biologique d'huile essentielle extraite de la plante «*Rosmarinus officinalis* ». Notre travail est divisé en deux parties:

La première est une étude bibliographique comporte deux chapitres

- ✓ Dans le premier chapitre nous développons les huiles essentielles, leur composition chimique et les méthodes d'extractions.
- ✓ Dans le deuxième chapitre nous présentons une classification, une description botanique et les différentes utilisations de la plante étudiée.

La deuxième partie est expérimentale, divisé en deux chapitres, le premier illustre les matériels et les méthodes utilisés dans la réalisation de ce travail. Enfin, le dernier chapitre représente les résultats obtenus, accompagné d'une discussion et terminé par une conclusion générale.



*Première partie*  
*Synthèse bibliographique*

*Chapitre I:*

*Généralités sur les huiles  
essentielles*

**1. Historique**

L'utilisation d'huile essentielle remonte à la haute antiquité, période à la quelle ces dernières furent connues. En effet, 4000ans avant J.C, les Egyptiens préparaient déjà l'essence de cèdre par distillation sèche et effectuaient aussi les momifications suivant une technique très minutieuse à l'aide d'essences aromatiques dont ils avaient remarqué les propriétés antiseptiques. La première essence signalée dans un traité médical est celle du romarin utilisée au XIIIe siècle pour ses propriétés curative. Le romarin est connu depuis l'antiquité pour son parfum balsamique. L'essence de romarin, à la senteur camphrée pénétrante est utilisée à faible dose comme stimulante digestif et aussi pour soigner les fermentations intestinales. Les arabes, experts en chimie et en médecine ont inventé au haut moyen d'âge, le serpentín qui permet de perfectionner la réfrigération du produit distillés. Par ailleurs, la découverte en 1754 de l'eau de Cologne par un négociant italien, marque la naissance d'une véritable industrie des parfums. cette industrie s'est développées au XIXe siècle, notamment avec l'arrivé sur le marché de produits de synthèse issus du progrès de la chimie(NOURACHANI., 2010).

En 1931, le chimiste français René-Maurice Gatte fossé «aromathérapie». Il est considéré comme le père de l'aromathérapie moderne. Durant la guerre de 1939-1945, le Dr. Jean valent guérissait les blessures en utilisant des HEs. Les vertus curatives d'HE furent vulgarisées par son première livre publié en 1964 :«L'aromathérapie, traitement des maladies par les essences des plantes» (NOURACHANI., 2010).

Aujourd'hui, les HEs se vendent un peu partout : en pharmacie a des fins thérapeutiques, en parfumerie (parfums et lotions après-rasage), dans les magasins « bio». (Comme aromes dans les aliments), mais aussi dans les boutiques de cadeaux et sur les foires. On compte approximativement 3000 HE, dont environ 300 sont réellement commercialisées et destinées principalement a l'industrie des aromes et des parfums (BOUHAFS et *al.*, 2014).

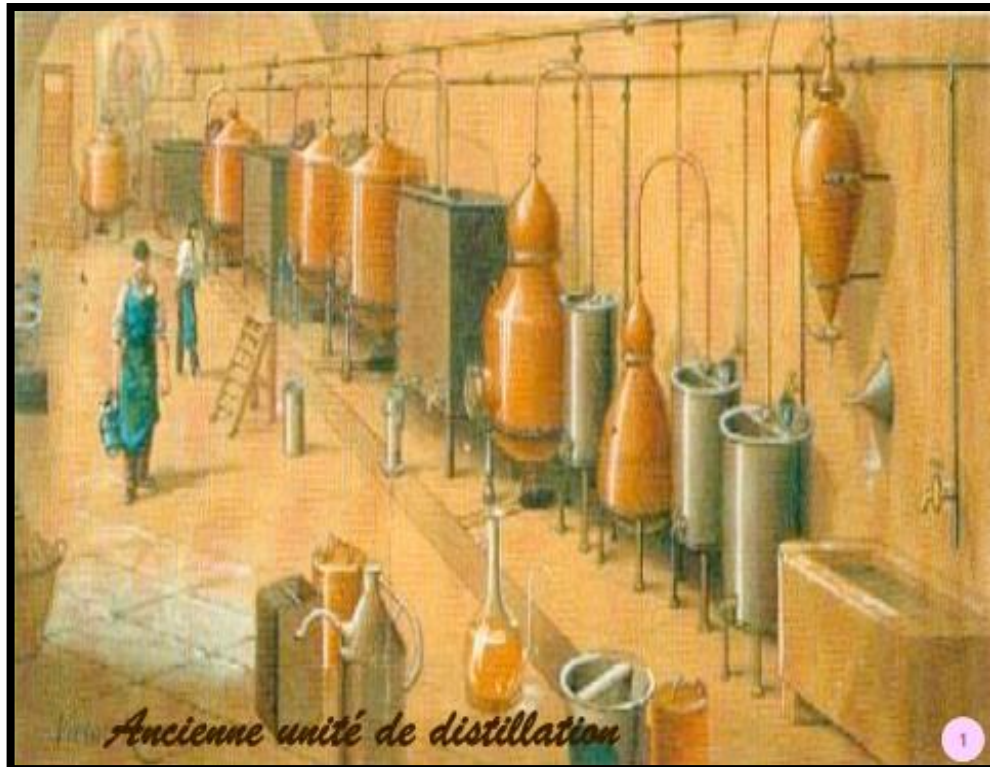
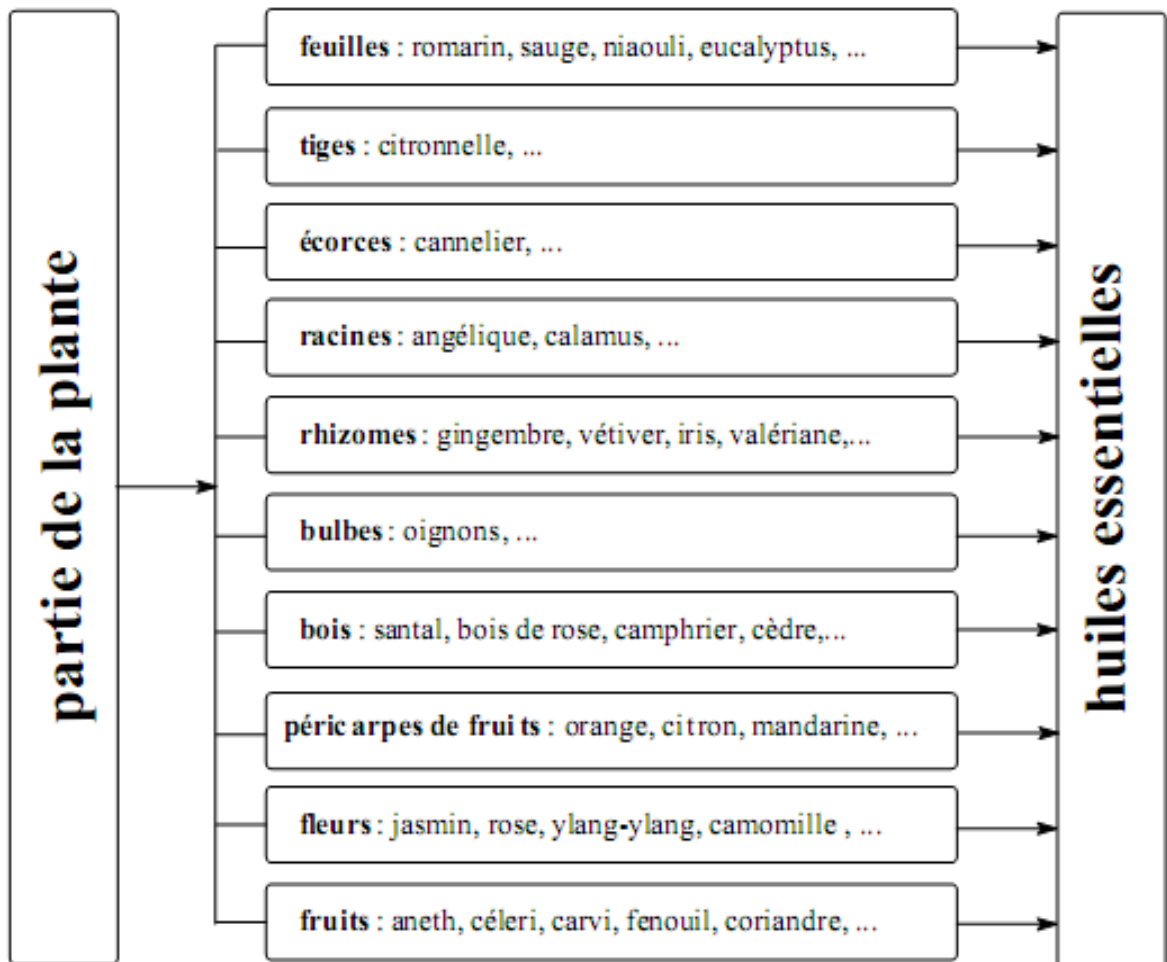


Figure 1 : Ancienne unité de distillation (SMADJA., 2009).

## 2. Définition

Selon le norme AFNOR et ISO : « l'huile essentielle est 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 frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (ABDELKARIM et *al.*, 2013).

Ce sont des substances volatiles et odorantes obtenues des végétaux par entraînement à la vapeur d'eau. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire. Les HEs sont des mélanges liquides très complexe (EL HAIB., 2011). Selon la pharmacopée européenne 7<sup>ème</sup> édition «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (DUVAL., 2012).



**Figure 2 :** Provenance des huiles essentielles en fonction des différentes parties de plantes (FIGUEREDO., 2007).

### 3. Répartition et localisation

#### 3.1. Répartition

Les HEs sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques. Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Exemple : *Myrtaceae* (Girofle), *Lauraceae* (laurier), *Rutaceae* (citron), *Lamiaceae* (Menthe), *Apiaceae* (Coriandre) *Zingiberaceae* (Gingembre)... etc.

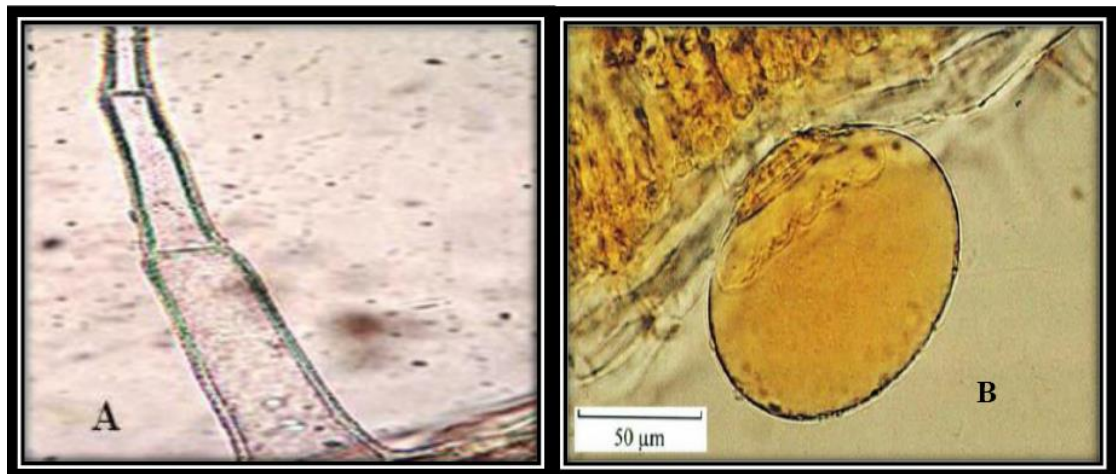
Les HEs peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries (Menthe, Lavande) les feuilles (Eucalyptus, Laurier) les rhizomes (Gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines (Vétiver), les graines (Muscades)

bien que cela soit moins habituel dans des écorces (Cannelier) (FROUHAT et LAHCINI., 2013).

### 3.2. Localisation

Les HEs sont produites dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors stockées dans des cellules à HEs (*Lauraceae* ou *Zingiberaceae*), dans des poils sécréteur (*Lamiaceae*), dans des poches sécrétrices (*Myrtaceae* ou *Rutaceae*) ou dans des canaux sécréteurs (*Apiaceae* ou *Asteraceae*). Elles peuvent aussi être transportées dans l'espace intracellulaire lorsque les poches à essences sont localisées dans les tissus internes.

Sur le site de stockage, les gouttelettes d'HE sont entourées de membranes spéciales constituées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés, associés à des groupement peroxydes. En raison de leur caractère lipophile et donc de leur perméabilité extrêmement réduite vis-à-vis des gaz ces membranes limitent fortement l'évaporation des EHs ainsi que leur oxydation à l'air (LAIB., 2011).



**Figure 3 :** (A) : Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles, poil sécréteur de (*Mentha pulegium*) (30.62) (khenaka.k). (B) : illustration schématique du développement des glandes productrices d'huile essentielle (BOUHAFS et al., 2014).

### 4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

On trouve généralement les HEs incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Toutes les HEs sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (RHAYOUR., 2002).

\*Leur point d'ébullition varie de 160° C à 240°C.

\*Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).

\*Elles ont un indice de réfraction élevé.

\*Elles sont dextrogyres ou lévogyres, rarement inactives sous la lumière polarisée.

\*Ce sont des produits stimulants employés à l'intérieur des corps, quelques fois purs, généralement en dissolution dans l'alcool ou un solvant adapté (KIRAM., 2011).

## 5. Taxonomie des huiles essentielles

L'HE Botaniquement et Biochimiquement définie (H.E.B.B.D). Répond à trois critères fondamentaux :

\*L'espèce botanique exacte, en latin pour éviter les confusions

\*L'organe producteur (feuilles, fleurs, racines, etc....)

\*Sa spécificité biochimique, variable selon l'époque et le lieu de rencontre

●**L'espèce botanique exacte** : le nom complet se compose

-Du genre

-D'une épithète qualitative

Exemple : *Lavandula - Vera* = lavande vrai

-*Spica* = aspic

- *Hybrida*= lavandin

\***L'organe producteur**

Lorsque l'HE est retirée de la plante entière, il n'est pas nécessaire de l'indiquer (ex: *Mentha Piperita*, *Rosmarinus Officinalis*) par contre, pour certaines plantes, l'indication de l'organe producteur est indispensable car l'HE obtenue est différente.

Exemple : l'HE. *Citrus Aurantium Amara* (Oranger amer), on aura 3 HE différentes suivant la partie de la plante distillée

\*HE. *Citrus Aurantium Amara op Folium* (feuille)

\*HE. Citrus Aurantium Amara op Flos (fleurs)

\*HE. Citrus Aurantium Amara op Zestes (écorce) (BALI et *al.*, 2014).

## 6. Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent des HEs en tant que métabolites secondaires. Ces derniers ne sont pas essentiels pour la croissance des plantes. Dernièrement, des études ont montré que dans les plantes, les HEs ont pour fonction d'attirer les insectes pollinisateurs ou repousser les insectes hostiles. Un certain nombre d'entre elles ont également des propriétés antiseptiques, insecticides, fongicides et bactéricides (KEHAL., 2013).

## 7. Domaines d'application des huiles essentielles

Les HEs commercialisées dans le monde sont destinées à quatre grands secteurs industriels : parfumerie cosmétique; parfumerie technique (savons, détergents); alimentation et médecine (médecine douce et pharmaceutique). L'industrie alimentaire utilise les huiles essentielles pour rehausser le goût, aromatiser et colorer les aliments. Le secteur des boissons gazeuses s'avère un gros utilisateur d'huiles essentielles.

Les HEs possèdent des profils de composition chimique différents. Elles sont utilisées comme agents naturels de conservation des aliments. Leur utilisation comme agents de conservation est due à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. L'HE la plus utilisée dans le monde est celle de lorange (KEHAL., 2013).

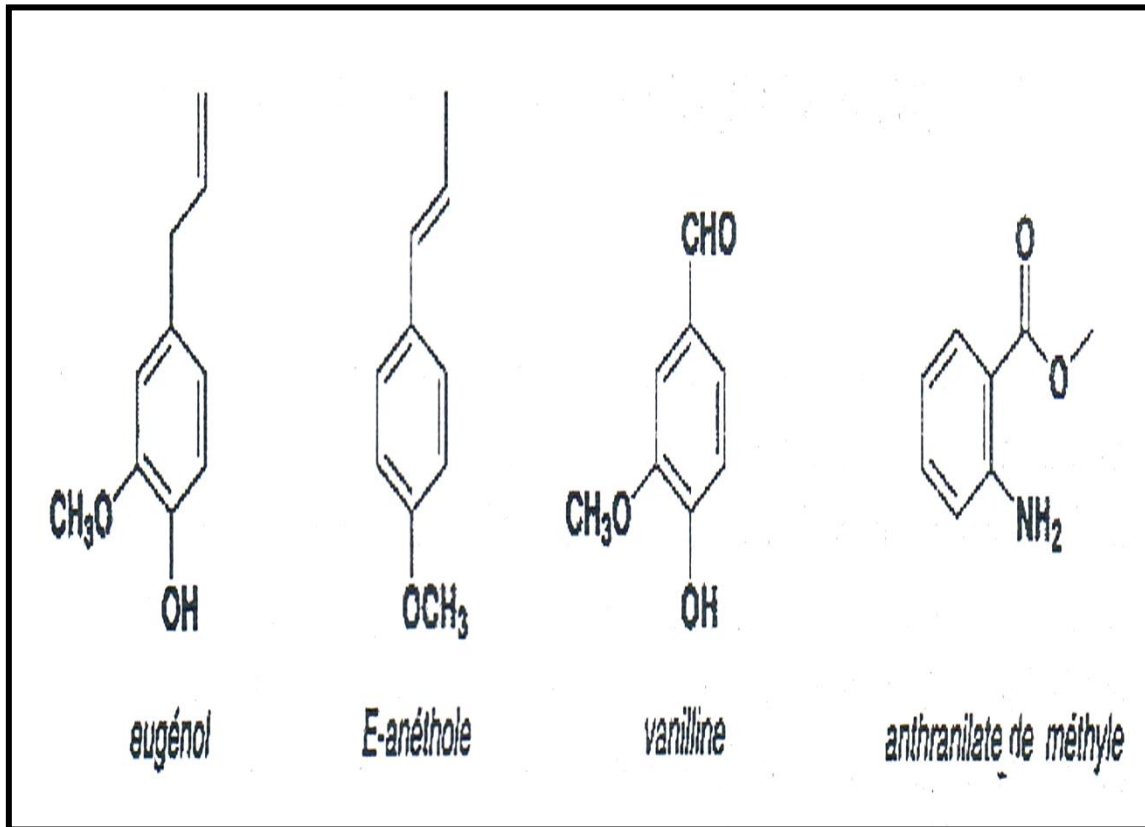
## 8. Composition chimique

Les HEs peuvent être classées en plusieurs familles biochimiques. L'activité thérapeutique d'une HE est liée à sa structure biochimique, aux groupes fonctionnels de ses composés principaux (alcools, phénols, composé terpéniques....) et à leur actions synergiques. Les principales familles biochimiques sont présentées ci-dessous pour expliciter les diverses propriétés des HEs (FLORENCE., 2012).

### 8.1. Les composés aromatiques

Les dérivés du phénylpropane ( $C_6-C_3$ ) sont beaucoup moins fréquents que les précédents, très souvent des allyl et propénylphénols, parfois des aldéhydes. On peut également rencontrer dans les HEs des composés  $C_6-C_1$  comme la vanilline (assez fréquente) ou comme l'antranilate de méthyle. Les lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines)

étant, au moins pour le plus simple d'entre elle, entraînables par la vapeur d'eau, elles seront également présentes dans certaines HEs (BELYAGOUBI., 2006).



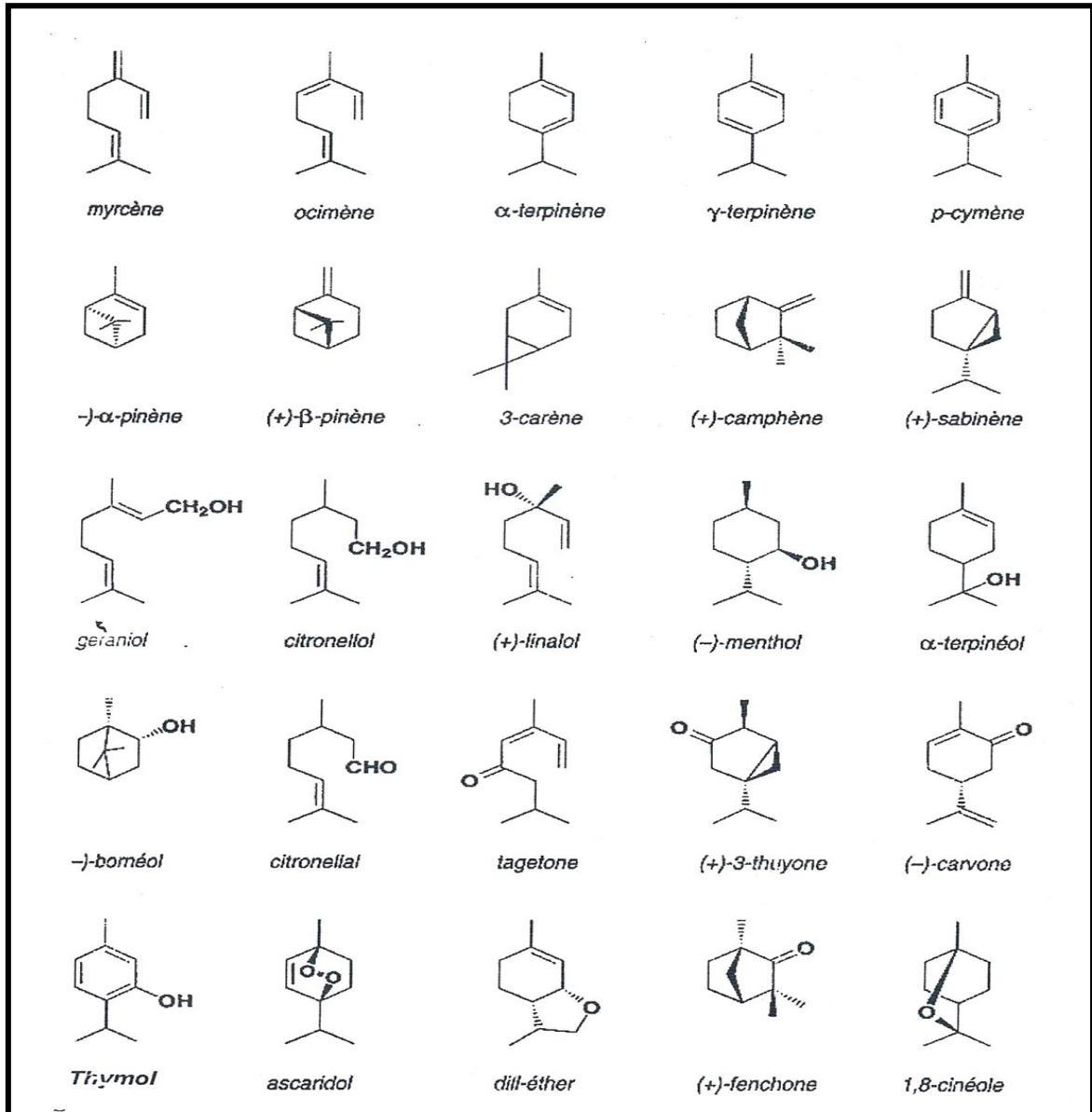
**Figure 4 :** Exemples de structures des composés aromatiques rencontrés dans les huiles essentielles (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

## 8.2. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures résultant de la combinaison de plusieurs unités d'isoprène (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>), et ont pour formule de base des multiples de celle-ci, c'est-à-dire (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Les terpènes peuvent être considérés comme des terpènes modifiés avec des groupes méthyles ajoutés ou enlevés, ou des atomes d'oxygène ajoutés. On utilise le terme «terpène» de façon plus large, en y incluant les terpénoïdes. Tout comme les terpènes, les terpénoïdes peuvent être classés selon leur nombre (n) d'unités isoprènes (NAITACHOUR., 2012). Les monoterpènes et les sesquiterpènes représentent 90 à 95% de l'huile totale (RAMDANE., 2009).

### 8.2.1. Les monoterpènes

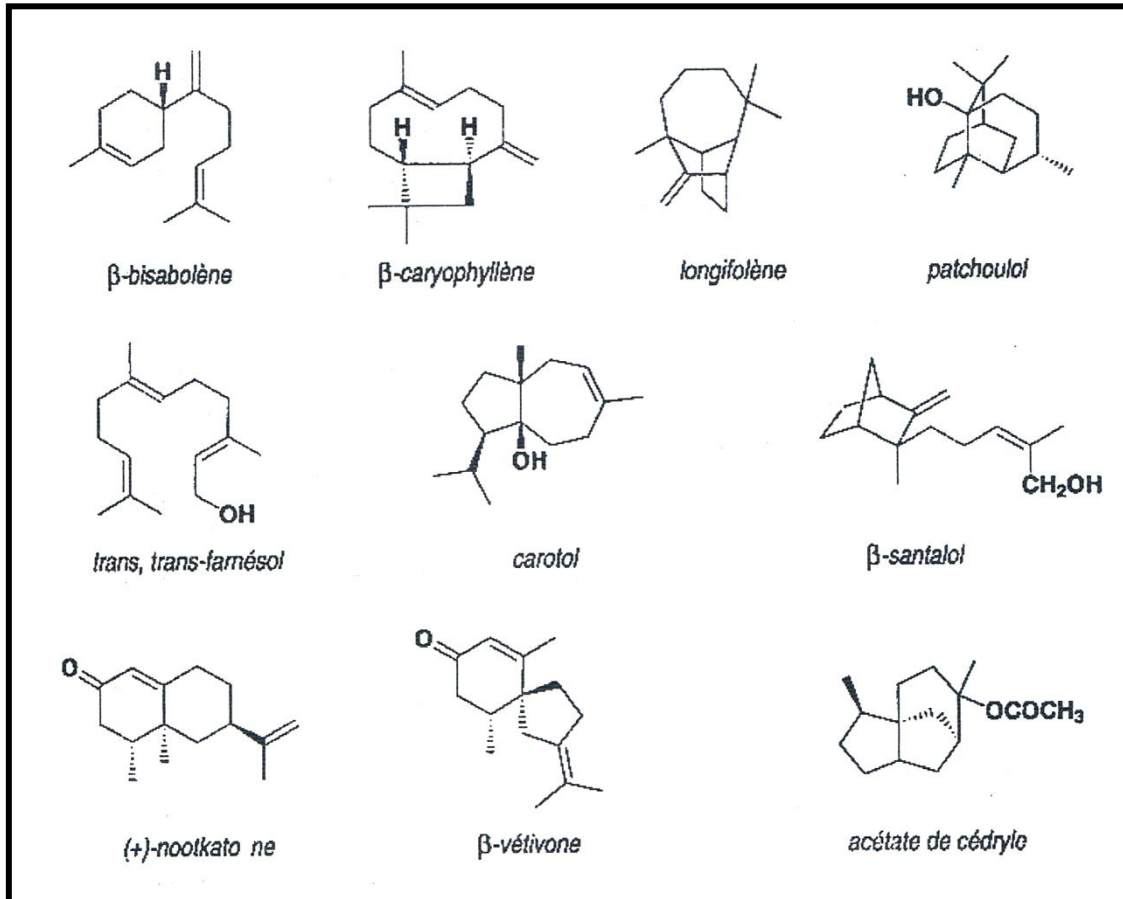
Ils sont formés par le couplage de deux unités isopréniques (C<sub>10</sub>). Ils sont les molécules les plus représentatives, constituant 90% des HEs et permettent une grande variété des structures (BELKHIRI., 2009).



**Figure 5 :** Exemples de structures des monoterpènes acycliques rencontrés dans les huiles essentielles (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

### 8.2.2. Les sesquiterpènes

Les mêmes familles chimiques rencontrées dans la série des monoterpènes se trouvent dans cette série; les carbures (B-bisabolene, B -caryphylléne), les alcools (farnésol, carotol...), les cétones (nootkatone, B-vétivone ...), les aldéhydes sinensals...), les esters ( acétate de cédryle...) (SAIDY., 2007).



**Figure 6 :** Exemples des structures des sesquiterpènes rencontrés dans les huiles essentielles (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

### 8.3. D'origine diverses

Il existe un nombre non négligeable des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issus soit de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes en acides gras comme les acides linoléique et  $\alpha$ -linoléique en (3-cis hexanol, decanale,  $\beta$ -ionone) (HELLAL., 2011).

### 9. La biosynthèse des huiles essentielles

On a longtemps pensé que les terpènes, considérés comme des produits ultimes du métabolisme, s'accumulaient dans les tissu spécialisées: glandes, poils,...et n'étaient pas repris par le métabolisme de la plante. Mais, des expériences menées sur différentes espèces et dans des conditions variées ont pu établir que ces composés participent activement au métabolisme sans pour autant conclure au rôle qu'ils pouvaient jouer. Cependant, le catabolisme des essences aurait lieu pendant la période de déficience en produits issus de la photosynthèse. Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et les stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu des métabolites secondaires des végétaux (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

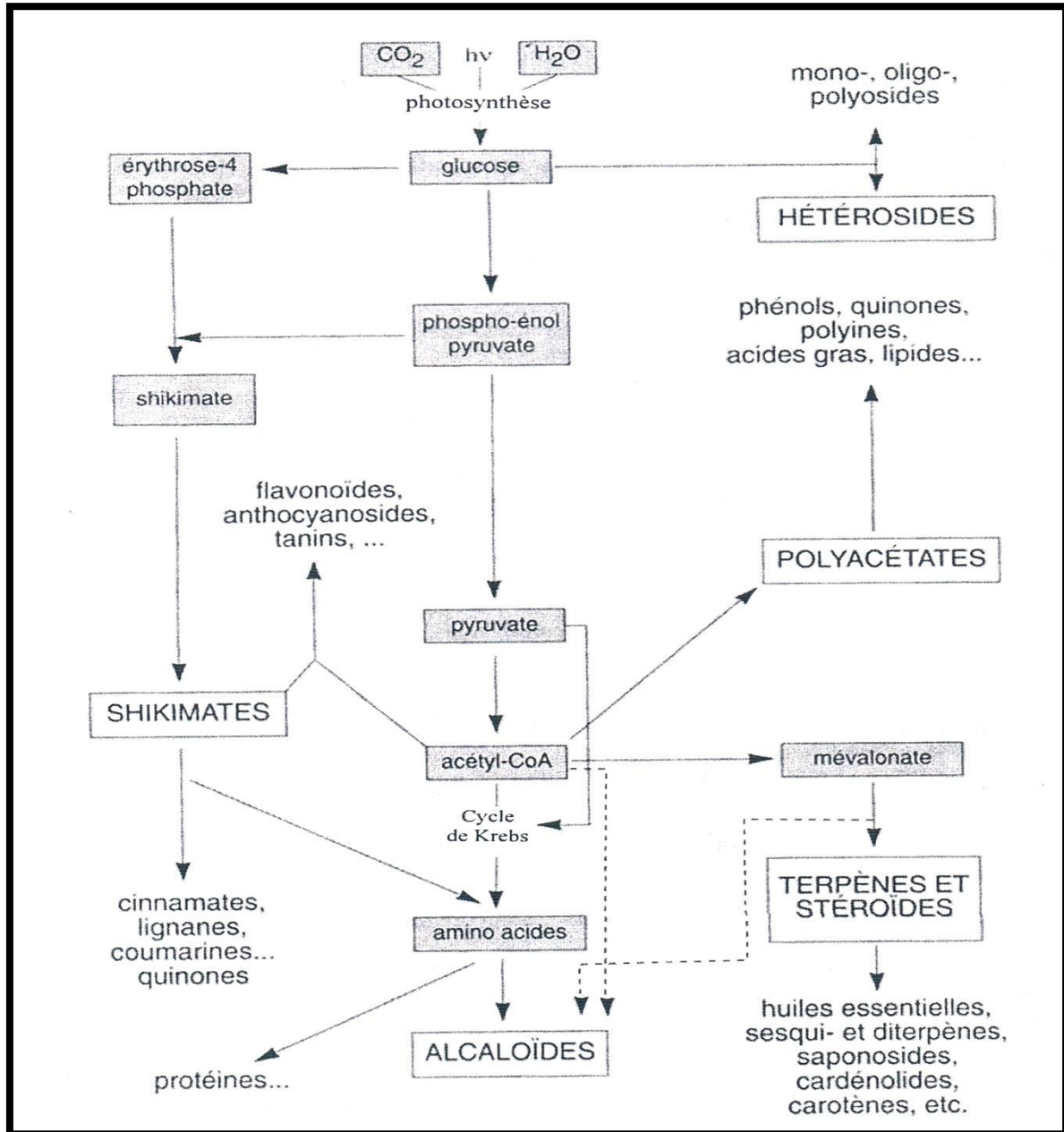


Figure 7 : Biosynthèse des principaux métabolites secondaires (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

### 9.1. La biosynthèse des terpènes

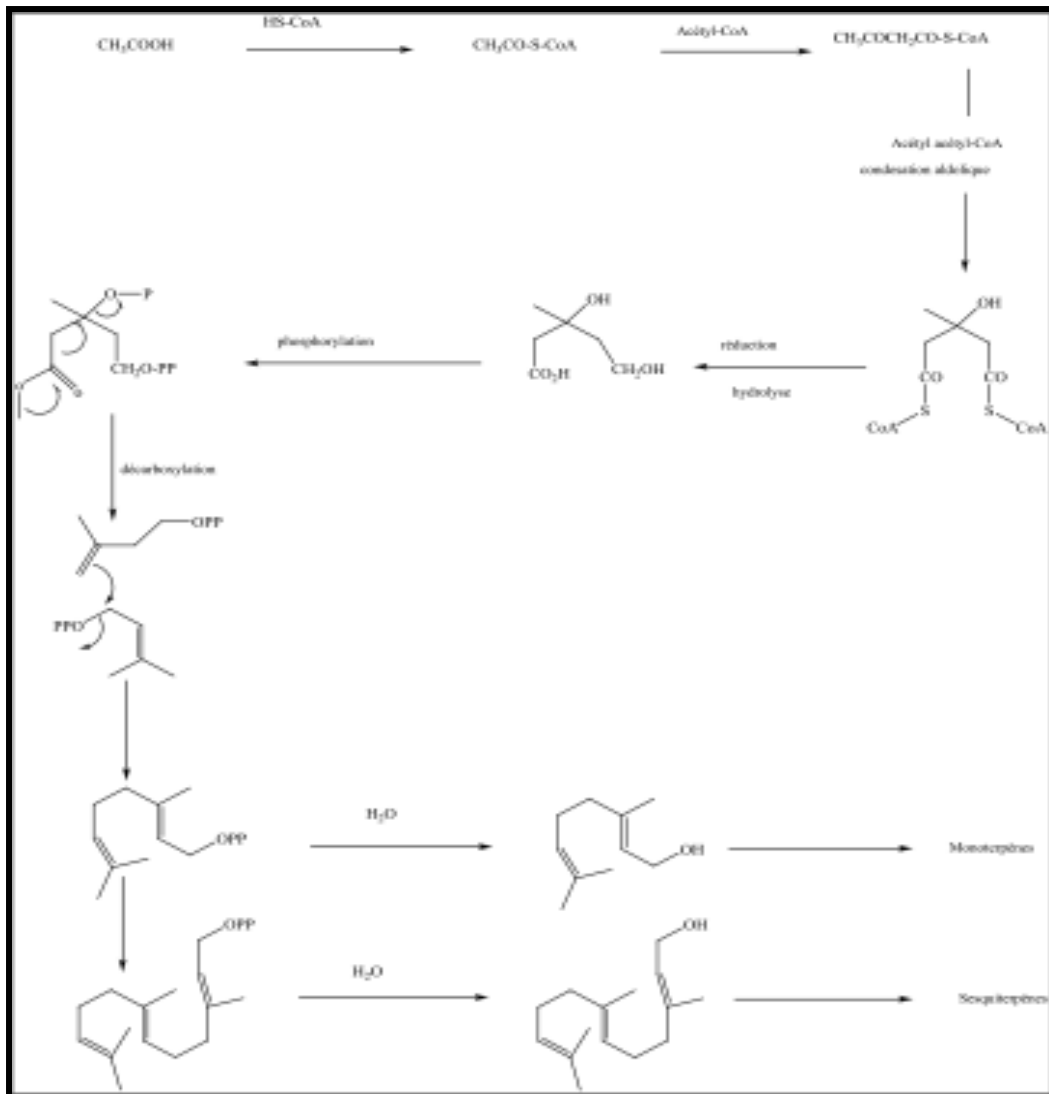
Biogénétiquement, le précurseur universel de tous les terpènes est l'acide mévalonique (Figure8), obtenu après condensation enzymatique de trois molécules d'acides acétique. Sa phosphorylation suivie d'une décarboxylation abouti à l'unité isoprénique de basse : le pyrophosphate d'isopentène-3-yle (PPI-3) qui en s'isomérisant donne pyrophosphate d'isopentène-2-yle (PPI-2). Sa propriété d'être un agent d'alkylant électrophile lui permet de

fixer des unités (PPI-3) donnant une combinaison qu'est à l'origine selon le nombre des unités isopréniques fixes des intermédiaire biosynthétique suivant :

\*Géranylpyrophosphate (GPP) (C-10) : donne naissance aux monoterpènes

\*Farnésylpyrophosphate (FPP) (C-15) : aboutit aux sesquiterpènes

\*Géranulgéranylphosphate (GGP) (C-20) : conduit aux diterpènes (EL HAIB., 2011).



**Figure 8 :** Biosynthèse des terpènes (EL HAIB., 2011).

### 10. Techniques d'extraction des huiles essentielles

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramille) (HELLAL., 2011).

## 10.1. Distillation

La distillation reste la méthode la plus utilisée pour l'isolement des composés d'arômes, du fait, qu'elle produit des substances volatiles facilement analysables et exige une technologie relativement simple et donc un coût d'équipement plus bas. C'est une technique qui reste largement utilisée malgré les phénomènes physiques et chimiques qui l'accompagnent et modifient sensiblement le contenu du matériel végétal et par conséquent l'HE qui en est extraite (ELOUTASSI., 2004). La distillation convient aux huiles ayant une forte composante volatile. Elle se base sur la caractéristique que possèdent ces composantes qui peuvent être facilement transportées par des particules de vapeur d'eau (KIRAM., 2011). Il existe trois principes de la distillation :

### 10.1.1. Extraction à la vapeur d'eau

C'est le processus le plus répandu, les végétaux sont déposés sur une grille à travers laquelle circule de la vapeur d'eau. Celle-ci entraîne avec elle les molécules parfumées qu'elle enlève aux plantes. La solution obtenue circule dans un serpentin où elle se condense en refroidissant. L'HE étant plus légère que l'eau, elle reste en surface. La distillation se fait lentement, sous basse température et basse pression, avec de l'eau de source non calcaire (BALI et *al.*, 2014).

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'HE qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange «eau + HE ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'HE. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (LUCCHESI., 2005).

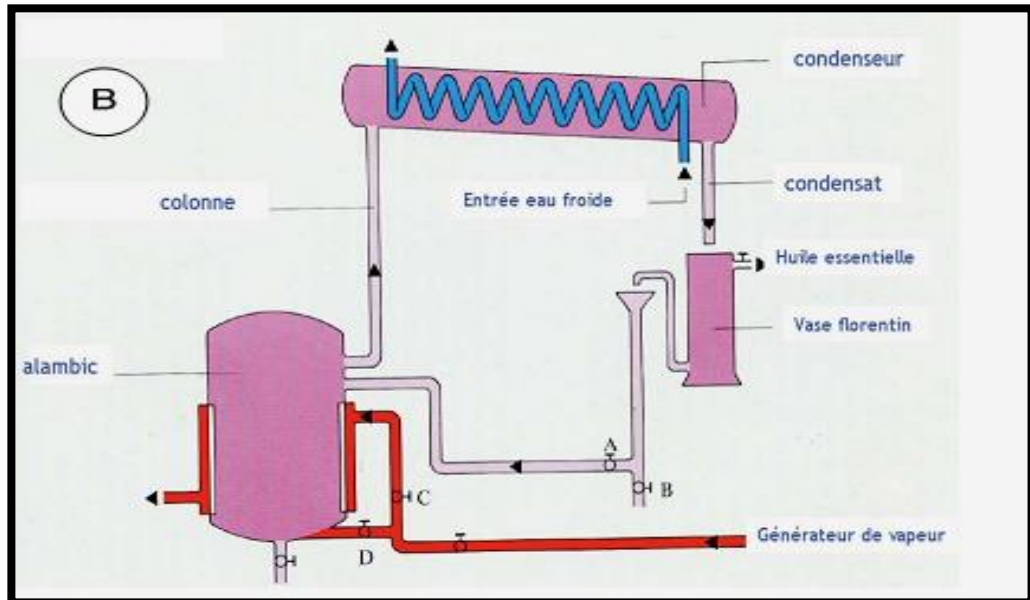


Figure 9 : Dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau (BOUSBIA., 2011).

### 10.1.2. Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (loi de Dalton et loi de Raoult) (ELHAIB., 2011). La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les HES se séparent de l'eau par différence de densité (BENAYAD., 2008).

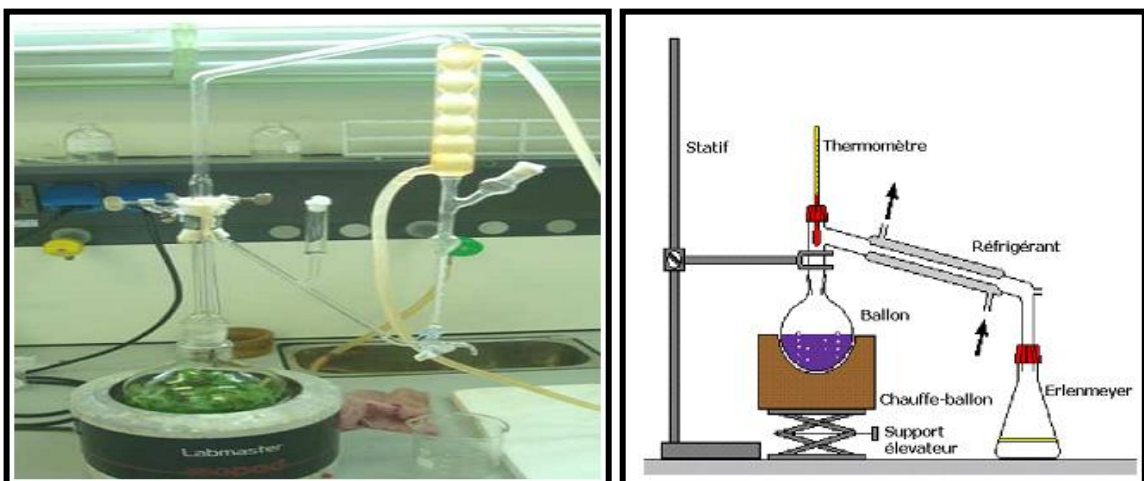


Figure 10 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger) (BOUKHATEM et al., 2010).

### 10.1.3. Hydrodiffusion

Cette technique; relativement récent, consiste à faire passer, du haut vers le bas et à pression réduite, la vapeur d'eau au travers de la matrice végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'HE obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale : "essence de percolation" (BALI *et al.*, 2014).

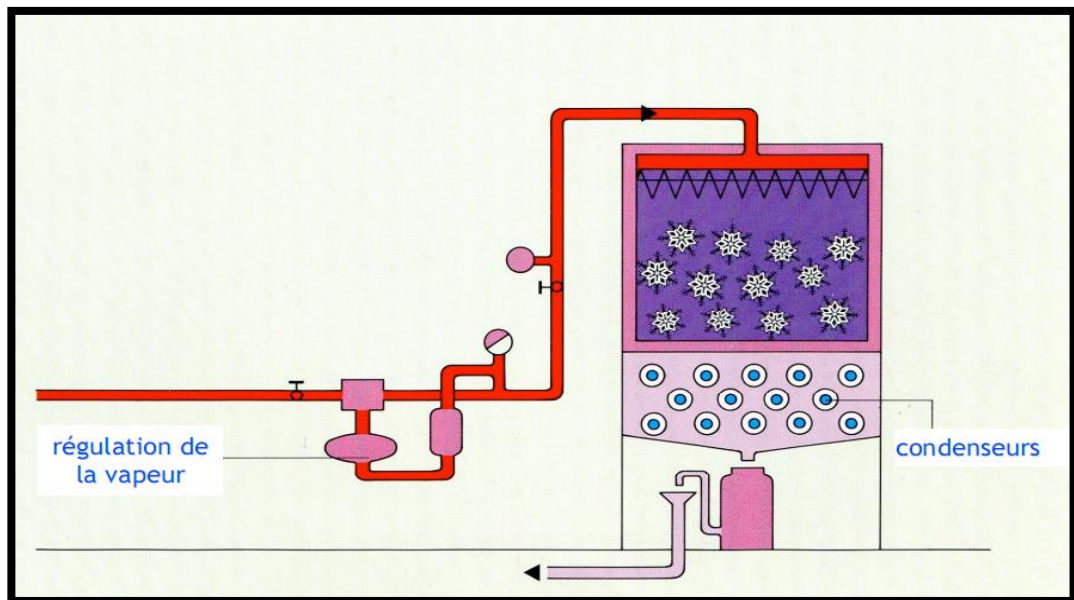


Figure 11 : Technique d'hydrodiffusion (SMADJA., 2009).

### 10.2. Extraction au four à micro-ondes

L'échantillon à extraire est introduit directement dans le four et soumis aux micro-ondes. Le chauffage par micro-ondes permet de porter à ébullition en peu de temps l'eau contenue dans la matière, provoquant ainsi l'éclatement des cellules qui libèrent par la suite les composés volatils en dehors du tissu biologique. L'HE est entraînée sous forme d'azéotrope vers le condensateur et séparée de l'eau par décantation. Il existe deux variantes pour ce type de procédé :

- \*L'hydrodistillation par micro-ondes à pression atmosphérique: elle s'applique essentiellement aux matières végétales à teneur en eau supérieure à 80%;
- \*L'hydrodistillation par micro-ondes à pression réduite qui s'effectue avec ou sans ajout d'eau respectivement aux produits secs ou humides. Ce procédé est appelé VMHD (Vacuum Microwave HydroDistillation). On réduit la pression du milieu au cours de l'opération. Ce procédé présente les intérêts suivants :

- La qualité n'est pas altérée par l'action hydrolysant de l'eau .

- Le temps d'extraction est rapide .
- Le profil aromatique du produit est proche du naturel .

Parmi toutes ces techniques d'obtention des HEs, seule l'hydrodistillation a été retenue. En effet, il s'agit de la méthode la plus utilisée dans les laboratoires et globalement dans le monde pour extraire les essences végétales (NOURACHANI., 2010).

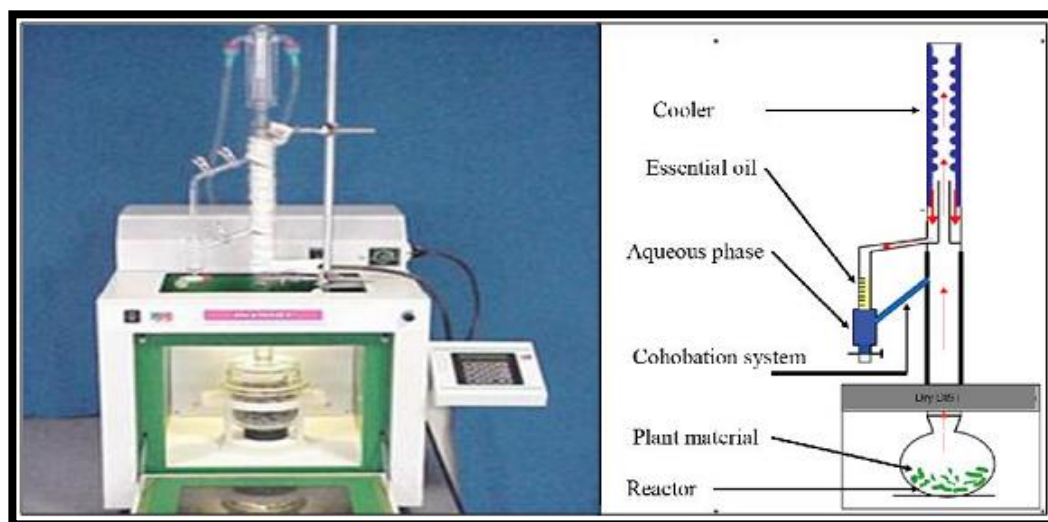
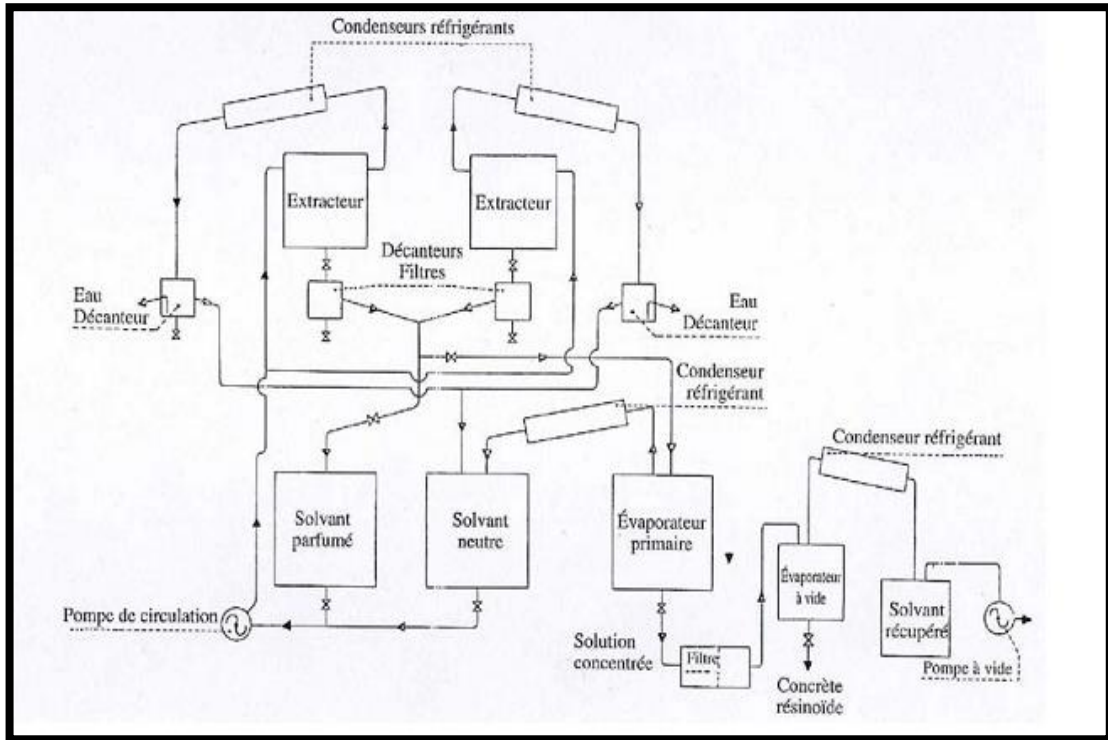


Figure 12 : Montage d'extraction par micro-onde (BALI et *al.*, 2014).

### 10.3. Extraction par des solvants organiques

Les HEs ont la propriété de se solubiliser dans la plupart des solvants organiques en particulier les hydrocarbures aliphatiques (n-pentane, n- hexane). Les solvants, purs ou en mélange sont choisis en fonction de leurs propriétés, entre autre, la polarité, la température d'ébullition, la réactivité, la possibilité d'être recyclés. L'extraction directe des plantes par des solvants organiques entraîne divers constituants avec les HEs. L'extrait récupéré est appelé concrète, il contient des pigments, des matières grasses et d'autres composés. Le traitement à froid de la concrète par l'alcool absolu, et la distillation fractionnée, permettent d'obtenir, la phase dite absolue qui contient la majeure partie des composés volatils (NGUETCHOUI MBOUGA ., 2012).



**Figure 13** : Schéma d'une batterie d'extraction par solvant pour végétaux

(LAGUNEZ RIVERA., 2006).

#### 10.4. Extraction par le corps gras

La méthode d'extraction par le corps gras est utilisée en fleurage dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétal. Le produit obtenu est une pommade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage ou la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers le corps gras et la digestion se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras (CHOUTAH, 2012).

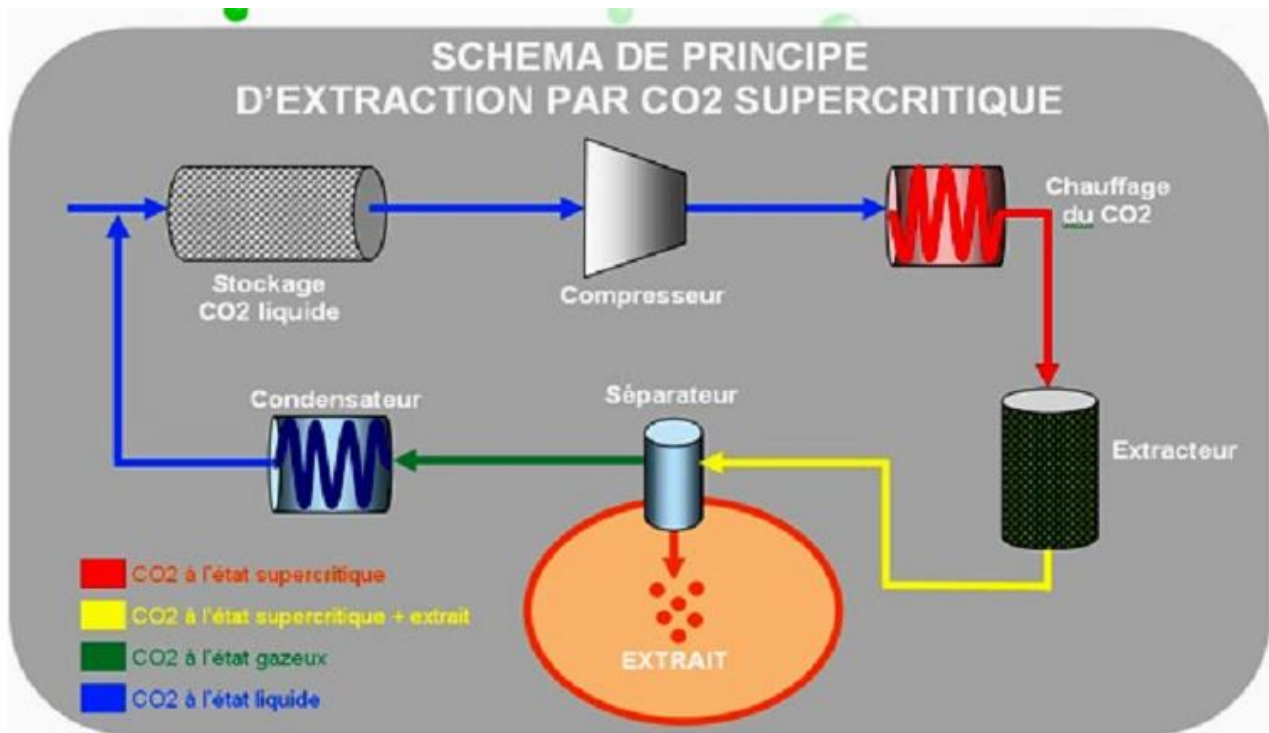
#### 10.5. Extraction par fluides supercritiques

Extraction par fluides supercritiques a pris ces dernières années, beaucoup d'essor concernant l'extraction des extraits végétaux. Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction. En outre tous les processus de dégradation possibles tels que l'oxydation ou

isomérisation sont réduits au minimum du fait que le temps d'extraction y'est reduit. tout fois, cette technique d'extraction présente un inconvénient la basse polarité du dioxyde de carbone supercritique qui est le solvant d'extraction le plus employé. Au-de là du point critique ( $p=73,8$  bars, $T^{\circ}=31,1^{\circ}C$ ), le  $CO_2$  possède les proprités intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction (HELLAL., 2011).

L'extraction par un gaz liquéfié ou par un fluide à létat supercritique met en oeuvre généralement le dioxyde de carbone .

Les températures d'extaction sont basses et non agressives pour les constituants les plus fragiles à ces différentes avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité l'inertie et inflammabilité de  $CO_2$  (RAMDANE., 2009).



**Figure 14 :** Schéma de principe d'extraction par  $CO_2$  supercritique (JOUAUL., 2012).

### 10.6. Extraction à l'eau surchauffée

Ce mode d'extraction utilise l'eau surchauffée à une température entre 125 et 175°C sous pression. Il utilise de l'eau désoxygénée qui traverse une cellule ou se trouve la matière végétale. Ce procédé utilisé avec du romarin donne un rendement plus élevé en composés oxygénés que l'entraînement à la vapeur (ABDELKARIM et *al.*, 2013).

## 10.7. Distillation par extraction simultanée (SDE)

L'extraction par distillation simultanée est l'extraction liquide- liquide qui est menée dans un appareil de Likens et Nikerson modifié. Son principe est le suivant: les composés volatils entraînés à la vapeur d'eau sont extraits par des vapeurs des solvants que l'on condense ensuite dans un réfrigérant puis on recycle en contenu le solvant. Cet appareillage initialement conçu pour l'étude de la bière, par la suite été étendu à un grand nombre d'aromes (ABDELKARIM *et al.*, 2013).

## 11. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles

### 11.1. Les facteurs intrinsèques

Les cellules productrices d'HE pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les HEs extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. Les travaux de Maffei et Sacco (1997), ont montré des différences de composition des HEs en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et de sous-espèces différentes.

Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'HE des plantes de *Lavandula* obtenus par clonage (LAIB., 2011).

### 11.2. Les facteurs extrinsèques

Huang *et al.* (1995) ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des HEs. Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des HEs. Fantino (1990) a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs le temps de stockage des HEs après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. D'après Carette (2000), les HEs se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car, avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître (LAIB., 2011).

## 12. Toxicité des huiles essentielles

Il est erroné de dire qu'un remède naturel ne peut pas faire de mal ! Les poisons les plus puissants sont d'origine végétale ! Par conséquent, il convient d'aborder le monde fascinant des traitements naturels avec un réel intérêt, de l'amour mais aussi toute la prudence nécessaire (BEKHECHI et ABDELOUAHID., 2010).

Les effets toxiques d'une HE varient considérablement selon sa nature. Certaines HEs se révèlent cytotoxiques. Les HEs du thym et de la lavande, selon la phase dans laquelle elles sont mises en contact; à titre d'exemple, elles sont avérées cytotoxiques pour des cellules de hamster chinois. par ailleurs, des HEs des différentes variétés d'origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées du cancer (BOUHAFS *et al.*, 2014).

Il est donc indispensable que les HEs soient délivrées par des pharmaciens sur prescription médicale en toute connaissance de cause et en tout cas, on ne devrait en vendre libre que des HEs particulièrement diluées pour éviter tout accident (BALI *et al.*, 2014).

En règle générale, les HEs ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible : une  $DL_{50}$  comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées : (anis, eucalyptus, girofle, etc.) ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc.). D'autres ont une  $DL_{50}$  inférieure à 1g/kg : HE de boldo (0.13 g/kg, convulsions apparaissent dès 0.07 g/kg); l'essence de moutarde (0.34 g/kg); l'origan et la sarriette (1.37 g/kg); le basilic, l'estragon et l'hysope (1.5 ml/kg). Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue. Reste à savoir que dans leur emploi externe, les risques de toxicité sont fortement réduits (BENGGOUTA., 2005).

### **13. Activité antimicrobienne**

#### **13.1. Définition d'un antimicrobien**

La qualité microbiologique des aliments constitue l'une des bases essentielles de leur aptitude à satisfaire aussi bien la sécurité des consommateurs que la conservation des aliments. Un aliment, exposé à la détérioration par les bactéries et les moisissures peut voir diminuer ses caractéristiques sensorielle, nutritive et sanitaire. L'essor de la chimie a permis l'apparition de nouvelles substances antimicrobiennes. Ces dernières sont définies comme étant des substances utilisées pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris les antibiotiques et autres agents antibactériens et antifongiques. Ces substances synthétiques ont été employées couramment. Cependant, en raison du souci croissant des consommateurs aux denrées contenant de tels additifs chimiques, la recherche des additifs naturels, particulièrement d'origine végétale, a notamment augmenté ces dernières années. Par conséquent, le développement des produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire et utile. Les HEs sont connues pour posséder d'activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (BOUGERRA., 2012).

### 13.2. Essais de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles dans les aliments

Les plantes aromatiques et leurs HEs ont été employées pendant des milléniums pour fournir des saveurs caractéristiques pour les aliments et les boissons. En plus de la saveur contribué aux aliments, beaucoup de plantes aromatiques et leurs HEs montrent une activité antimicrobienne et pourraient empêcher la croissance des microorganismes d'altération et pathogènes, améliorant de ce fait la sécurité alimentaire (BALI et *al.*, 2014). Par exemple l'Origan, le romarin, la sauge et le Thym sont les assaisonnements typiques particulièrement dans la région méditerranéenne. Ces herbes ont un statut de GRAS donné par Food and Drug Administration (2006), signifiant qu'elles sont généralement sûres et sans danger pour la consommation humaine. Parmi le groupe diversifié des constituants chimiques des HEs, le carvacrol, qui exerce une action antimicrobienne bien distinguée, est additionné à différents produits alimentaires en industrie agro-alimentaire. Il y est rajouté pour améliorer le goût et pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (BOUGERRA., 2012).

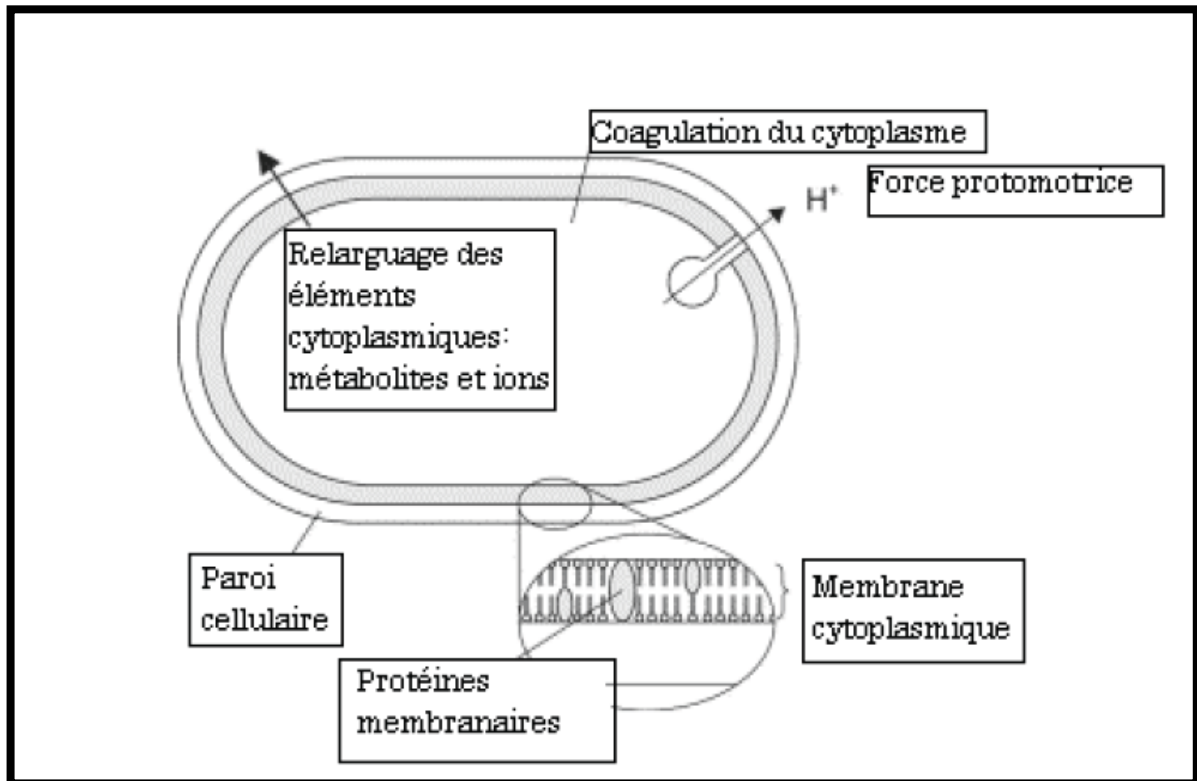
### 13.3. Mode d'action des huiles essentielles

Plusieurs théories sont proposées pour expliquer le mécanisme par lequel les HEs exercent leur activité antimicrobienne. La composition complexe des HEs tend à prouver que cette activité serait due à plusieurs mécanismes d'action différents, liés à la nature chimique de ces composés.

La plupart des mécanismes d'action sont attribués à l'interaction des composants des HEs avec la membrane cellulaire. Les HEs sont constituées de molécules lipophiles capables de pénétrer la double couche phospholipidique, leur accumulation entre les phospholipides entraîne alors un changement de conformation et un mauvais fonctionnement de la membrane cellulaire, perturbant ainsi le transport membranaires des substances nutritives (KHENAKA., 2011).

L'activité antibactérienne des HEs du poivre (*Piper nigrum*), du géranuim (*Pelargonium graveolens*, d'origan (*origanum vulgare*) et du thym (*thymus vulgaris*) sur 25 genres différents de bactéries est testée. Les huiles volatiles ont montré des effets inhibiteurs considérables contre tous les organismes testés, alors que leurs constituants majeurs ont montré des degrés différents au niveau de la culture bactérienne. L'activité des huiles volatiles est comparée à celle des antibiotiques sur des bactéries en culture. Ces recherches ont montré que les constituants à structure phénolique tels que le carvacrol, l'eugénol et le thymol, sont hautement actifs contre les microorganismes. Les composants de cette classe sont connus d'être des agents bactéricides ou bactériostatiques selon la concentration utilisée ( KIRAM., 2011).

Le mode d'action des HEs dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chimiosmotique et une fuite d'ions ( $K^+$ ) (BOUGUERRA., 2010).



**Figure 15 :** Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (ELODIE., 2010).

## *Chapitre II :*

### *Présentation de l'espèce étudiée*

## 1. La famille des lamiacées

L'ancien nom des *Lamiaceae* : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles. La famille des lamiaceae (labiées) comprend près de 224 genres et 4000 espèces. Dont la plupart ont une importance économique due à leur production d'huiles essentielles. Elle est aussi bien répandue dans les zones tropicales que dans les zones tempérées du monde. La plus grande diversité est rencontrée selon cet ordre : le bassin méditerranéen, l'Asie centrale, le continent Américain, les Iles du pacifique, l'Afrique équatoriale et la Chine. Un très grand nombre de genres de la famille des lamiaceae sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et irridioïdes glycosylés (ABDELKRIM et al., 2013). C'est une importante famille de plantes dicotylédones avec environ 6000 espèces réparties en 9 sous familles elles même réparties en 210 genres (les lavandes, les menthes, le romarin...), cette famille est une grande source d'HEs (BOUCHIKHI TANI., 2011). C'est l'une des grandes familles de dicotylédones gamopétales herbes ou arbustes; aromatique, poilues, glanduleuses, comprennent 6500-7000 espèces, cosmopolite, mais en concentration importante dans les régions méditerranéennes, ne se rencontrent guère que dans les régions les présahariennes et dans l'étage supérieur du Hoggar, sauf les trois espèces *Marrubim desrti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* (BOUMEZA., 2011). *Rosmarinus officinalis* de la famille des Labiatae est un arbrisseau à odeur pénétrante pouvant atteindre 2 m de hauteur. Ses fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année et attirent de nombreux insectes (DAMERDJI et LADJMI., 2014). Le *Rosmarinus officinalis* est un arbuste de la famille Lamiacées, originaire de la région méditerranéenne. Autant que le Thym et l'origan, le romarin se démontre efficace comme agent antibactérien sur *Bacillus cereus* et *Bacillus subtilis* (CABRERA et al., 2001). La famille des *lamiaceae* (labiées) comprend près de 200genre et 4000 espèce dont la plupart ont une importance économique due à leur production d'HEs (NAITSAID.,2007).

### 1.1. Caractéristiques

La famille de *lamiaceae* est caractérisée par:

- ✓ Ce sont des plantes herbacées, annuelles ou surtout vivaces, ou des sous-arbrisseaux (pianche28), parfois des arbres (Hyptis).
- ✓ La section des tiges est carrée avec des amas de collenchyme au niveau des angles lorsque la plante est herbacée, mais ce caractère disparaît chez les plantes ligneuses par suite du fonctionnement des assises génératrices secondaires qui est circulaire .

- ✓ Les feuilles, sans stipules, sont opposées décussées, parfois verticillées, éventuellement amplexicaules (*Lamium amplexicaule* L), simples ou quelquefois lobées ou découpées, exceptionnellement composées pennées ou palmée (Viyex), entières à dentées (BOTINEAU., 2010).
- ✓ Les inflorescences, situées à l'aisselle des feuilles supérieures, sont du type de la cyme : d'abord bipares, puis unipares par manque de place (DUPONT et GUIGNARD., 2012) .
- ✓ Le fruit est un tétrakne logé au font d'un calice persistant, chaque demi- carpelle donnant naissance à un akène élémentaire (DUPONT et GUIGNARD., 2007).

## **2. L' espèce *Rosmarinus officinalis* L (le romarin)**

### **2.1. Description botanique**

Plante très connue, le romarin est originaire du bassin méditerranéen. Depuis l'antiquité il est employé pour améliorer et stimuler le mémoire. Encore aujourd'hui, en Grèce les étudiants en font bruler dans leurs chambres en période d'examens. Le romarin est en effet considéré comme une plante tonique, revigorante, stimulante : autant de vertus que reflète sa saveur aromatique bien particulière (RICHARD., 2001). Le romarin est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité (FROUAT et LAHCINI., 2013). Le romarin. plante médicinale et aromatique, est un arbrisseau touffu, xérophyte, toujours vert de 1 m à 1.5 m pouvant atteindre jusqu'à 2 m dans les régions pluvieuses (conditions écologiques favorables) et se modifier suivant les conditions du milieu. Il est spontané dans toute la région méditerranéenne, c'est un ornement des collines et des coteaux ou des montagnes (YAZINA., 2010). Le romarin, plante commune à l'état sauvage, est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (ATIK BEKKARA et al., 2007). *Rosmarinus officinalis* L. est poussant spontanément dans les lieux pierreux de la région méditerranéenne et cultivé dans les jardins. Des feuilles vertes avec des petites fleurs bleues ont été cueillies d'un jardin sur une colline libanaise (HILAN et al., 2006). Le romarin officinal à camphre ou aussi appelé herbe aux couronnes, herbe des troubadours ou rose marine (GAYDA., 2013). Arbrisseau commun à tout le bassin méditerrané, dont l'Algérie où on le trouve sur les coteaux arides et collines. On le cultive également pour faire des baies. Cet arbrisseau touffu et ligneux de 1 à 2 m environ est toujours vert. Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées. Les rameaux velus portent des feuilles opposées et étroites d'un vert grisâtre sous le dessous. Groupées à l'aisselle des feuille, les fleurs sont d'un bleu pâle, maculées intérieurement

de violet. Le romarin dégage une odeur analogue à celle de l'encens ; saveur est camphrée, légèrement ânière (LUCIENNE., 2013).



Figure 16 : *Rosmarinus officinalis L* (KADDEM., 1990).

#### ❖ Feuille

Les feuilles opposées, sont linéaires, coriaces, à bords repliés en dessous, d'un vert foncé et chagriné sur la face supérieure, blanchâtres et tomenteuses sur la face inférieure (<http://www.armonydevivre.fr/romarin-info-18.html>). Feuilles en aiguilles vert profond, de 2,5 cm de longueur (BURNIE et *al.*, 2003).

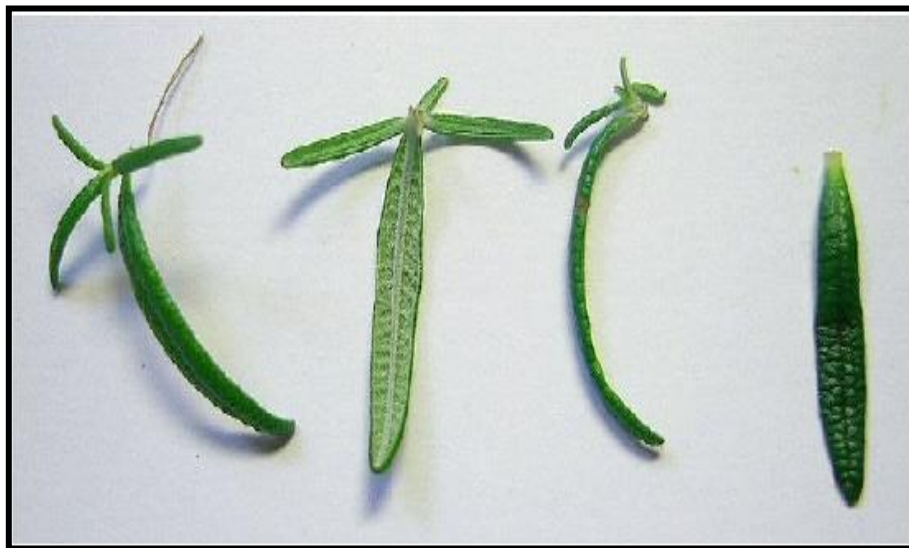


Figure 17 : Feuille de *Rosmarinus officinalis L* (MOSTEFAL., 2012).

**❖ Inflorescence**

La floraison bleu lavande à bleu profond intervient, suivant les sujets, entre l'automne et la fin du printemps (BURNIE et *al.*, 2003).

**❖ Fleur**

Les fleurs qui s'épanouissent presque toute l'année et tout particulièrement l'hiver, sont groupées en grappes axillaires ou terminales. La corolle bleu-pâle ou lilas-clair, possède 2 lèvres bien marquées, la supérieure à 2 lobes, l'inférieure à 3 lobes. Il n'y a que 2 étamines dont une seule loge est fertile (<http://www.armonydevivre.fr/romarin-info-18.html>).



**Figure 18** : Fleur de romarin ( <http://www.armonydevivre.fr/romarin-info-18.html>).

**❖ Fruit**

Le fruit est un tétrakène brun et luisant. Odeur et saveur : fortement aromatiques. IL existe de nombreux poils tecteurs sur L'épiderme inférieur, des poils sécréteurs sur les 2 épidermes (<http://www.armonydevivre.fr/romarin-info-18.html>).



**Figure 19 :** Photographies de *Rosmarinus officinalis L* (AIT MOHAMED., 2012).

## 2.2. Nomenclature

**Arabe :** Iazir, Klil, Hassalhan , Yazir.

**Français :** Romarin, Rose marine, Encensier, Romarin de troubadours, Herbers aux couronnes, etc.

**Anglia :** Common rosemary (BOUMAZA., 2011).

**Italien:** Osmarino, Ramerino, Rosmarino, Usmarino

**Espagne:** Romaní ‘Romero, Romé (ANONYME., 2008).

\*azir, barkella, haselban( Algérie, Maroc)

\*Aklil, ikilil ljabal, klile (Algérie, Maroc, Tunisie) (FADI., 2011).

## 2.3. Classification

La systématique botanique est pour un chercheur la carte d'identification de la plante et sans cette dernière, il est très difficile d'entamer un travail de recherche. On peut résumer la systématique botanique de la plante comme suit (ZOUBEIDI., 2004).

**Règne :** Plantae

**Embranchement :** Phanérogames ou Spermaphytes

**Sous-embranchement :** Angiospermes

**Classe :** Eudicots

**Sous-classe :** Gamopétales

**Ordre :** Lamiales

**Famille :** Lamiacées

**Genre :** Rosmarinus

**Espèce :** *Rosmarinus officinalis* L (BOUCHIKHI TANI., 2011).

## **2.4. Origine et distribution géographique de la plante *Rosmarinus officinalis* L**

### **2.4.1. Origine**

Leur origine le sud de l'Europe, notamment les régions côtières de la mer Méditerranée : l'Espagne, le sud de la France, l'Italie, la Grèce, la Turquie, le Maghreb (du Maroc à la Tunisie), ainsi la région du Caucase (BENZAZZEDDINE., 2010). Originaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs (MASSON., 2001).

### **2.4.2. Distribution géographique**

Garrigues, forêts claires. Commun dans toute l'Algérie. Floraison toute l'année (BELOUED., 2009). Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus sur le particulièrement pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs et arides, exposés au soleil, à l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires (ZEGHARD., 2008). Le romarin est une plante aromatique médiévale par définition une plante sauvage en majorité non cultivée, poussant en Europe, en Asie de l'Est et en Amérique du Nord (EL KALAMOUNI., 2010). En Algérie cette plante est bien apparente en différente région. En Oranie elle est souvent cultivée comme plante d'ornement cette plante est retrouvée dans la steppe a Sid Djilali dans la région de Sid El Makhfi, ainsi on peut la voire dans le littoral a Béni Saf dans la zone de Sid Safi. Nous pouvons rencontrer le romarin cultivé a différente altitude suivant les étages bioclimatiques a titre d'exemple, il est retrouvé à Tlemcen : lala Seti 1025 mètre, le grand bassin 750 mètres, et chetouan (MOSTEFAI., 2012).

## 2.5.Utilisations

Le romarin est une plante méditerranéenne ayant des qualités et propriétés stimulantes, antiseptiques et insecticides. Il sert à la fabrication des parfums il fut utilisé en médecine contre les débilités de tout genre. Il calme les nerfs sur tout au moment de la ménopause. Il est en même temps diurétique (MOSTEFAL., 2012).

\* **En cuisine :** Le romarin est un aromate apprécié, aux utilisations culinaires diverses. On l'emploie dans les ragoûts et les civets, les soupes, les marinades, sur les grillades sous forme de feuilles séchées. On s'en sert aussi pour parfumer les flans et les confitures. Mais, la crème de romarin reste de loin la forme la plus utilisée (ATHAMENA., 2009).

\* **En Phytothérapie :** Le romarin est réputé pour activer et faciliter les fonctions digestives, en particulier le travail de la vésicule biliaire (il est cholagogue, facilitant l'évacuation de la bile). Il est également antispasmodique, et son action stimulante sur le système nerveux permet de le recommander pour traiter les divers cas d'asthénie. Ces propriétés phytothérapeutiques sont contenues dans les feuilles et les extrémités florales (ATHAMENA., 2009).

\***En Parfumerie :** L'utilisation du romarin en parfumerie est très ancienne. L'essence est obtenue par distillation des feuilles des sommités fleuries. Cette plante est surtout utilisée dans la composition des parfums masculins (ATHAMENA., 2009).

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique et considérée utile pour contrôler l'érosion du sol. L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (ATHAMENA., 2009).

\* Le romarin est à la fois une plante ornementale, aromatique et médicinale.

\* Les feuilles séchées de *Rosmarinus officinalis L* sont utilisées en tant que condiment et rentrent dans la composition des thés et infusions.

\**Rosmarinus officinalis L* sous forme de feuille séchées ou d'HE, trouve sa principale utilisation pour la fabrication de produits cosmétiques (parfums, savons, crèmes, tonifiants de cheveux, shampooings et autres préparations).

\**Rosmarinus officinalis* L sert aussi à produire les antioxydants naturels qui ont plusieurs utilisations dans les industries agroalimentaires, cosmétiques et en pharmaceutiques (CHAFAI ELALAOUI et al., 2014).

Le romarin est souvent cultivé pour son HE. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (FROUHAT et LAHCINI., 2013). Le romarin est utilisé dans :

- Stimulation du mémoire
- Anti adversaire et eupeptique
- Traitement naturel d'organiser la menstruation
- Utile dans la bile (BEN AHMED MHANECH., 2012).

Le romarin est très utilisé dans la cuisine méditerranéenne, pour aromatiser de multiples plats. C4 est en outre une plante médicinale de choix, déjà utilisée par les romains : en infusion ou sous forme d'HE, le romarin est réputé faciliter la digestion, stimuler l'activité intellectuelle et la mémoire et lutter contre le vieillissement cellulaire grâce à ses puissantes propriétés antioxydantes, récemment mises en évidence (SILBERFELD., 2012).

Le romarin est aussi utilisé comme anti-oxydant dans l'industrie de la fabrication des produits à base de viande (ANONYME., 2006). La feuille est une ancienne herbe condimentaire utilisée surtout en Italie et avec les fruits de mer, le porc, l'agneau. Antiseptique, anti-oxydante, elle conserve la nourriture, aide à la digestion des graisses, entre dans des composés amaigrissants (NEIL et MATTHEW., 2005).

## **2.6. Propriétés biologiques du romarin**

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et considérablement évaluée, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle. Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, anti-oxydantes, antimicrobiennes et anti-tumorales (ATHAMENA., 2009).

### **2.6.1. Activité antibactérienne**

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du romarin, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransférase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du romarin peuvent empêcher la lésion de la

carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase. Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée par examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) supercritique du romarin, a présenté un large spectre antimicrobien. La croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique (FROUHAT et LAHCINI., 2013). Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1 (ZEGHAD., 2009).

### **2.6.2. Activité antifongique**

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'HE du romarin à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette HE en tant que préservatif naturel contre l'*Aspergillus parasiticus* (FROUHAT et LAHCINI., 2013).

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 HEs y compris celle du romarin, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomyce spombe*, *Saccharomyce scerevisiae*, *Yarrowia lypolitica*) examinées (FROUHAT et LAHCINI., 2013).

Le romarin possède des propriétés anti-inflammatoire, antiulcero-génique et antispasmodique, son action stimulante sur le système nerveux. Cette plante est réputée pour activer et faciliter les fonctions digestives, en particulier le travail de la vésicule biliaire (AYADI et al., 2011).

L'inflammation est un ensemble d'activation de mécanismes de défenses de l'organisme qui inclut la reconnaissance, la destruction et l'élimination des substances qui lui sont étrangères. Les causes d'activation de ce processus sont nombreuses. Il peut s'agir d'un agent pathogène, d'une lésion tissulaire, d'une substance inerte (PINEAU., 2012).

## 2.7. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis* L

### 2.7.1. Huiles essentielles

L'HE du romarin (1 à 2% dans la plante) contient : de l' $\alpha$  - pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'HE on trouve dans le romarin: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acideursolique, l'acide oléanolique, l'acétate de germanicol; des lactones diterpéniques picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol, romadial, des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline, du mucilage et de la résine (BENIKHLEF., 2014). La composition de HE peut varier selon la phase de développement et l'origine des feuilles (FADI., 2011).

### 2.7.2. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques présents dans le romarin et à des teneurs importante sont:

- L'acide rosmarinique
- L'acide caféique
- L'acide néo-chlorogénique
- L'acide vanillique (ZOUBEIDI., 2004).

### 2.7.3. Tanins des labiées

Acides phénoliques : environ 3% de l'acide caféique avec l'acide rosmarinique notamment (FADI., 2011).

### 2.7.4. Cuticule cireuse des jeunes feuilles

n-alkanes (97%), isoalkanes et alkènes (FADI., 2011).

### 2.7.5. Constituants divers

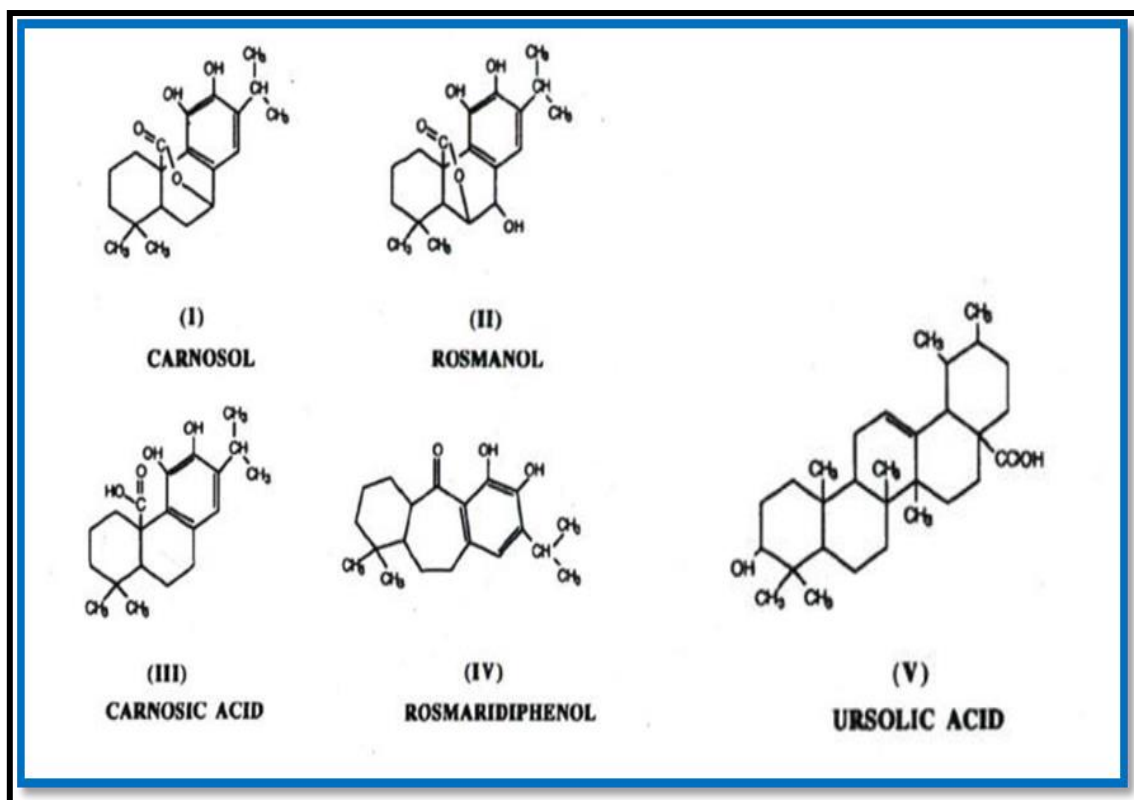
Polysaccharides acides (environ 6%); traces de salicylates (FADI., 2011).

### 2.7.6. Flavonoïdes


Cette plante est très riche en flavonoïdes, dont 07 sont principaux :

lutéoline (03 structures connues: 3'-O- $\beta$ -D-glucuronide, 3'-O-(4''-O-acyl)- $\beta$ -D-glucuronide, 3'-O-(3''-O-acyl)- $\beta$ -D-glucuronide), ériocitrine, hespiridine, diosmine,

isoscutellarin7-0-glucoside, hispidulin7-0-glucoside, genkwanine. Ces composés sont localisés dans les feuilles, les fleurs, les racines et les tiges. Leur concentration change durant l'évolution de la plante. La lutéoline3-0-béta-D-glucuronide qui a été longuement étudiée montre un pic de concentration aux environs de juin- août. Ceci indique qu'il y a une relation entre les phyto-régulateurs et les flavonoïdes (AKROUM., 2006). Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles (MOHAMMEDI., 2006).



**Figure 20** : Structures chimiques des composés majeurs de l'extrait de romarin (FADI., 2011).



*Deuxième partie*  
*Etude experimental*

***Chapitre III:***  
***Matériels et Méthodes***

### 1. Présentation de la zone d'étude

La wilaya d'El Oued est située au Sud- Est de l'Algérie, elle a une superficie de 44586.80Km<sup>2</sup>. Elle demeure une des collectivités administratives les plus étendues du pays. La longueur de sa frontière avec la Tunisie est de 300 Kms environ. Elle est couverte par le grand Erg Oriental sur les 2/3 de son territoire. La wilaya d'El Oued est délimitée:

- ✓ au nord, par les wilayas de Tébessa et Khenchela
- ✓ au nord et au nord-ouest par la wilaya de Biskra
- ✓ au sud et au sud-est par la wilaya de Ouargla et à l'est par la Tunisie (ANONYME., 2013).



**Figure 21:** Situation géographique de wilaya d'El Oued (ANONYME., 2011).

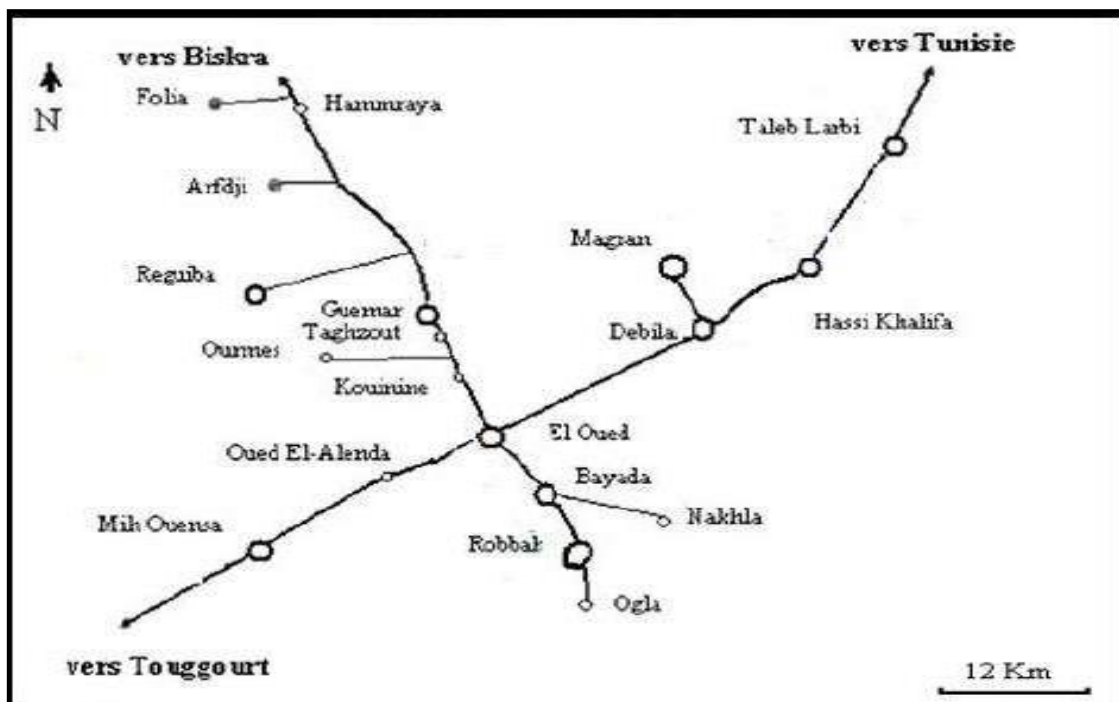


Figure 22: Situation géographique de la région de Hassi Khalifa ( GORI et TEBBALE., 2014).

## 2. Provenance du matériel végétal étudié

La plante *Rosmarinis officinalis L* a été achetée chez un herboriste connu dans la région d'El- Oued, qui a son tour la ramené de Hassi Khalifa.

## 3. Les souches Bactériennes testées

- *Escherichia coli* (ATTC25922)
- *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923)

## 4. Matériels du Laboratoire

### A. Appareillage

- Une balance électronique Sensible.
- Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.
- L'étuve réglée à 37C°.
- Réfrigérateur.

- Autoclave.
- Bain marie.

**B. Réactifs**

- L'eau Distillée
- Drajendorf
- Solution alcoolique de chlorure ferrique
- Alcool chlorhydrique
- Anhydride acétique
- Acide acétique
- Liqueur de Fehling
- DMSO

**C. Milieux de culture**

- Gélose Mueller Hinton commerciale.

**D. Autres**

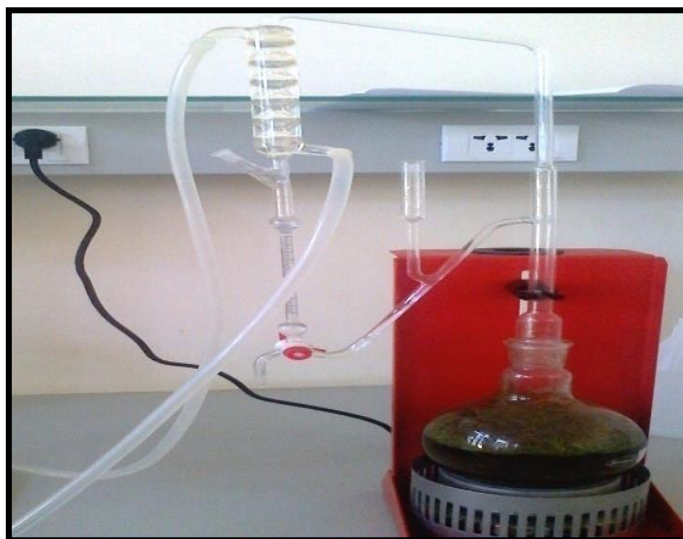
- L'anse de platine.
- Flacons en verre teintés opaques (conservation des huiles essentielles).
- Becher.
- Boîte de pétri stérile.
- Tubes à essai stériles.
- Papiers Filtre (pour préparé les disques).
- Vaseline.
- Bec bunsen.
- Papier Aluminium.
- Papier hygiénique (pour nettoyage).
- Pipette graduée.
- Seringue.
- Cristalliseur.
- Eprouvette.
- Hawne (pour broyage du matériel végétal).



**Figure 23:** Photo d' autoclave et L'étuve.

## 5. Extraction des huiles essentielles

Pour chaque expérience, 50 gramme de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* sèche, a été soumise à l'hydrodistillation pendant quatres heures (AYADI et *al.*, 2011). L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger. L'HE obtenue est conservée au réfrigérateur dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à 4 °C (LAIB et BARKAT., 2011).



**Figure 24 :** Un extracteur Clevenger.

## 6. Screening chimique

La partie aérienne de la plante *Rosmarinis officinalis* L (feuilles, fleurs, tiges) rendues sous forme de poudre ont été soumises aux tests phytochimiques par l'intermédiaire d'une variété de solvants en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

### 6.1. Recherche des alcaloïdes

4ml d'une solution d'extrait à 10% dans l'eau additionnée d'une goutte de HCl concentré, la solution obtenue est répartie dans un tube à essai, et ajouté 2gouttes de réactif de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration brun-rougeâtre indique la présence d'alcaloïdes.

### 6.2. Recherche des polyphénols

2ml d'extrait végétal, on ajoute deux gouttes de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2%. L'apparition d'une coloration bleue noirâtre ou verte plus ou moins foncée signe la présence de dérivés poly phénoliques.

### 6.3. Recherche des flavonoïdes

➤ **Réaction dite à la cyanidine (réaction de Shibata):** dans un tube à essai, mettre 2ml d'extrait végétal, ensuite ajouter 5 ml d'alcool chlorhydrique (4ml EtOH+1ml HCl concentré), ajouter ensuite deux à trois copeaux de magnésium. La présence d'une coloration rose-oranger ou violacée signe la présence des flavonoïdes.

### 6.4. Recherche des polyterpènes et des stérols

Dans 3ml d'extrait végétal ajouter quelques gouttes d'anhydride acétique. Ensuite introduire 0.5ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couleur rouge intense indique la présence des terpènes et verte foncée indique la présence des stérols.

### 6.5. Recherche des saponosides

5ml d'extrait végétal sont mis dans un tube à essai. Après avoir agité pendant quelques minutes, la hauteur de mousse est mesurée. Une hauteur de mousse supérieure à 1cm et persistante après 15mn de repos indique la présence des saponosides.

### 6.6. Recherche des stéroïdes

Dans 1 ml d'extrait végétal ajouter 1 ml de solution d'acide acétique, suivi par 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. Si la solution ne donne aucune couleur verte cela prouve la présence de stéroïdes non saturés. Dans un 2<sup>ème</sup> tube, le même volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> est ajouté. La présence de la couleur rouge indique la présence des dérivés des stéroïdes.

### 6.7. Recherche des sucres réducteurs

1 ml d'extrait brut sont additionnés 5 ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3 min de chauffage au bain-marie à 70 °C indique une réaction positive.

## 7. Détermination du rendement

Le rendement en HE est exprimé par le volume d'huile (ml) obtenue par le poids (g) de la matière végétale (YOUBA., 2009).

## 8. L'aromatogramme

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des HEs. Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des HEs préalablement sélectionnées et reconnues. Bien que peu utilisé de nos jours, l'aromatogramme permet de démontrer ici le fort pouvoir anti-infectieux des HE (DA SILVA., 2010). C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des HEs. Le principe est similaire à celui d'un antibiogramme, les antibiotiques étant remplacés par des HEs. L'aromatogramme est peu utilisé ; il permet de savoir si les germes d'un prélèvement biologique sont sensibles ou résistants à une huile essentielle. Pour cela, il fautensemencer le milieu gélifié coulé en boîte de Pétri avec le prélèvement biologique d'un patient ou encore avec un champignon pathogène ou une bactérie connue. Les prélèvements sont effectués au niveau de cavités naturelles ou de muqueuses (pus, crachats, urines, selles...) (CHABERT., 2013).

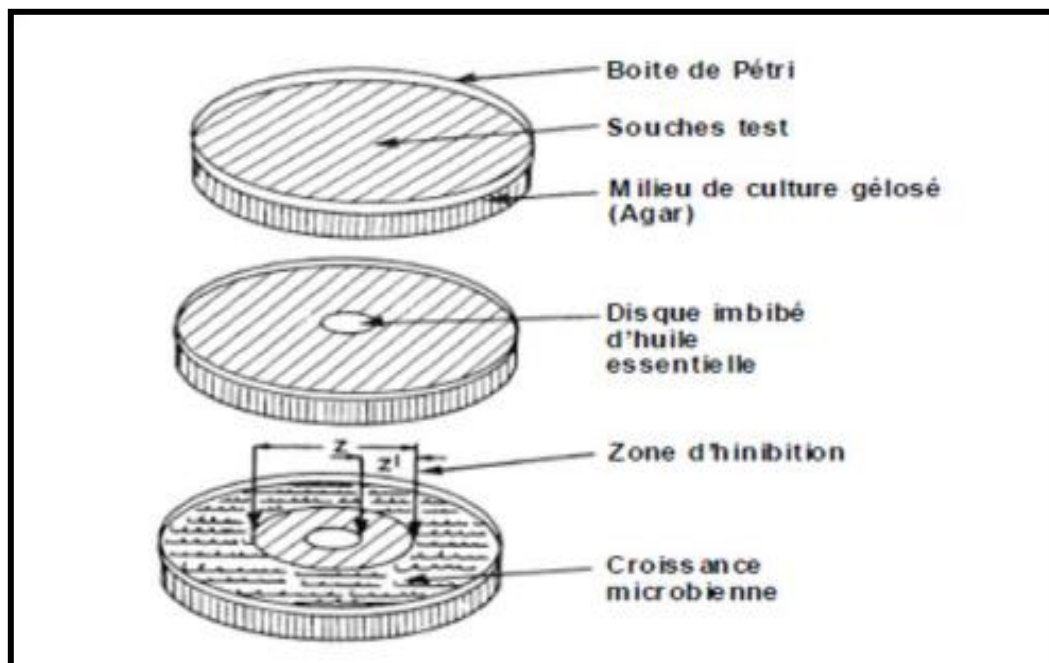
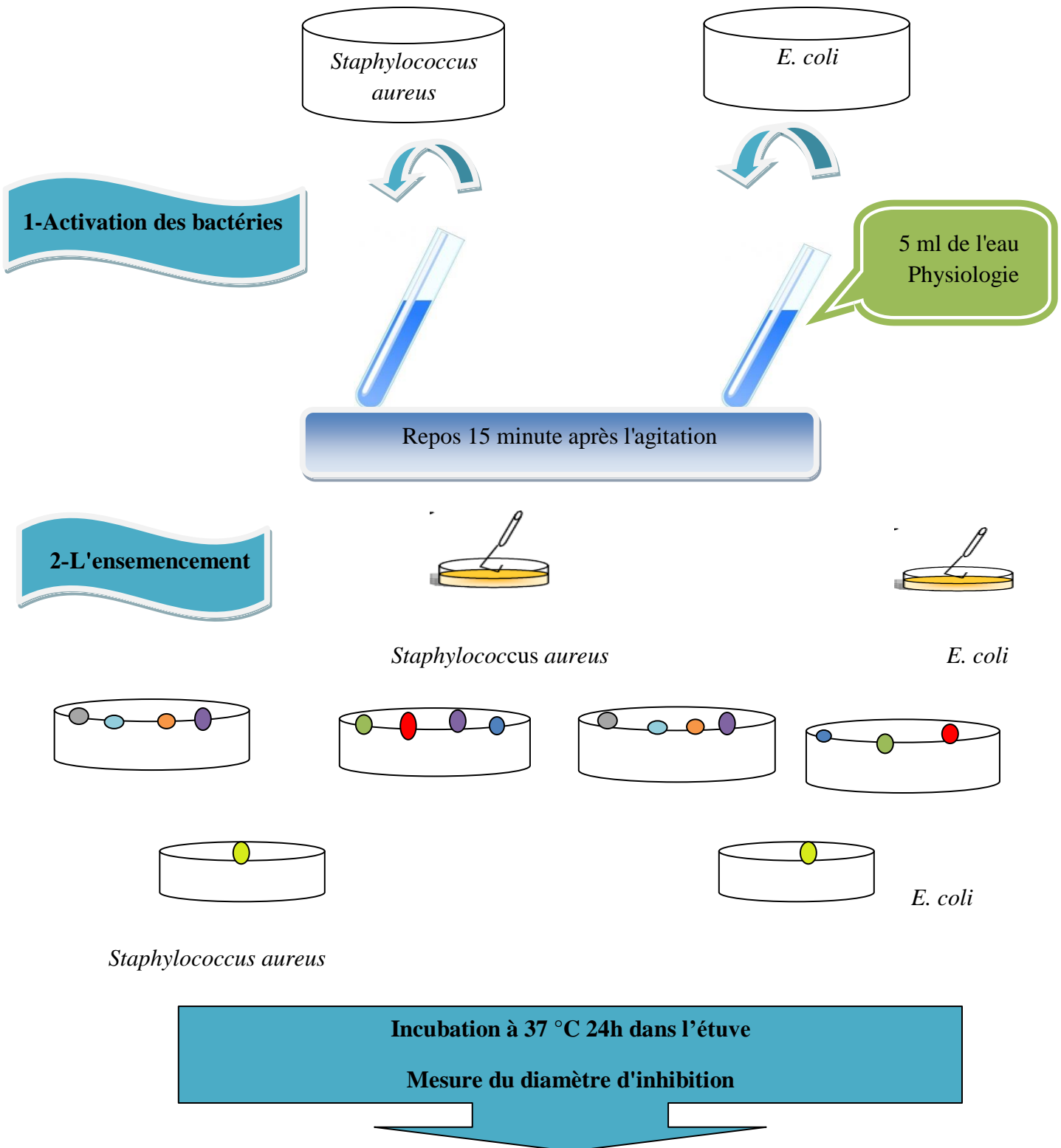


Figure 25 : Illustration de la méthode des aromatoigrammes sur boîte de Pétri (MARIE., 2006).



**Figure 26 :** Protocole expérimental de la méthode d'aromatogramme.

*Chapitre IV:*  
*Résultats et Discussion*

## 1. Les huiles essentielles

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$R^{mt} = \frac{m}{m_0} \times 100$$

**m** : Masse du résidé sec

**m<sub>0</sub>** : Masse initiale de matière végétale

L'HE de *Rosmarinus officinalis* est extraite par hydrodistillation, il est liquide mobile avec un rendement de 0,58%, d'une coloration jaune claire et à odeur caractéristique de l'odeur du partie aérienne, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 1.

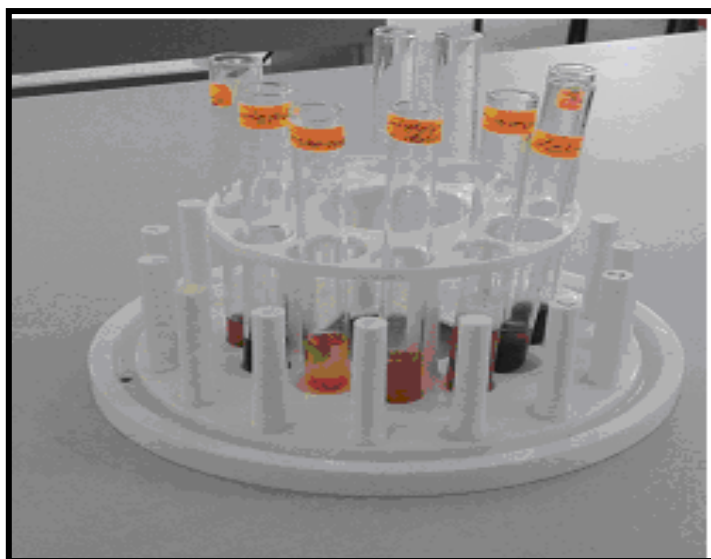
**Tableau 1** : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

Huile essentielle	Aspect	Couleur	Odeur
AFNOR	Liquide mobile limpide	Presque incolore à jaune pale	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
Huile essentielle de <i>Rosmarinis officinalis</i>	Liquide mobile	Jaune Claire	Caractéristique de celle du partie aérienne

Les caractéristiques organoleptiques des HEs ne donnent qu'une idée générale sur la qualité de cette huile. Un travail complémentaire ultérieur sur des quantités plus importantes nous permettra de déterminer les caractéristiques physico-chimiques de cette huile.

## 2. Tests chimiques préliminaires

Dans notre travail nous avons fait un screening chimique de la partie aérienne de la plante *Rosmarinus officinalis*.



**Figure 27:** Résultats de screening chimique de *Rosmarinis officinalis*.

**Tableau 2 :** Résultats des tests chimiques préliminaires

Principes actifs	Taux au teneur
Les alcaloïdes	+
Les poly phénols	+++
Les flavonoïdes	++
Les polyterpènes et des stérols	+
Les saponosides	+++
Les Stéroïdes	+
Les sucres réducteurs	+++

(+):petite quantité    (++) :moyenne quantité    (+++): grande quantité

Les résultats des tests préliminaires montre la richesse de cette espèce en principes actifs tels que : polyphénols, flavonoïdes, tannins, alcaloïdes etc. Par contre les alcaloïdes les polyterpènes, stérols et stéroïdes sont en quantité moins importante dans cet espèce. Donc à partir de ces résultats, nous avons orientés notre travail pour l'étude de l'activité antimicrobienne des HEs de

cette plante par la méthode des disques pour confirmer une partie de leur utilisation dans la médecine traditionnelle.

### 3. Résultats de l'aromatogramme

L'activité antimicrobienne de l'HE de *Rosmarinis officinalis* a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne. Les résultats sont résumés dans le tableau 3.

**Tableau 3** : Résultats de l'aromatogramme (Zones d'inhibitions en mm).

Produits testés	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATTC 25923)	<i>Escherichia coli</i> (ATTC25922)
Huile essentielle de <i>Rosmarinis officinalis</i>	17±2,82	13,25±1,06
H E diluée à 25%	/	/
H E diluée à 50%	/	/
H E diluée 75%	/	/
ATB COT <sup>25</sup>	31±1,41	26±1,41
ATB AMX <sup>25</sup>	17,5±2,12	30±0,00
ATB CIP <sup>5</sup>	27,5±3,53	28,5±0,70

(/): Pas d'inhibition

D'après le tableau, nous avons constaté que l'HE de *Rosmarinis officinalis* a une activité antimicrobienne mais à des degrés différents, et cela se traduit par les diamètres des zones d'inhibitions qui varient d'une souche à l'autre :

#### *Escherichia coli* (ATTC25922)

L'HE de la plante étudiée présente une activité inhibitrice modérée vis-à-vis cette souche Gram- dont le diamètre de la zone d'inhibition est égale à 13,25mm, cette activité peut être due à

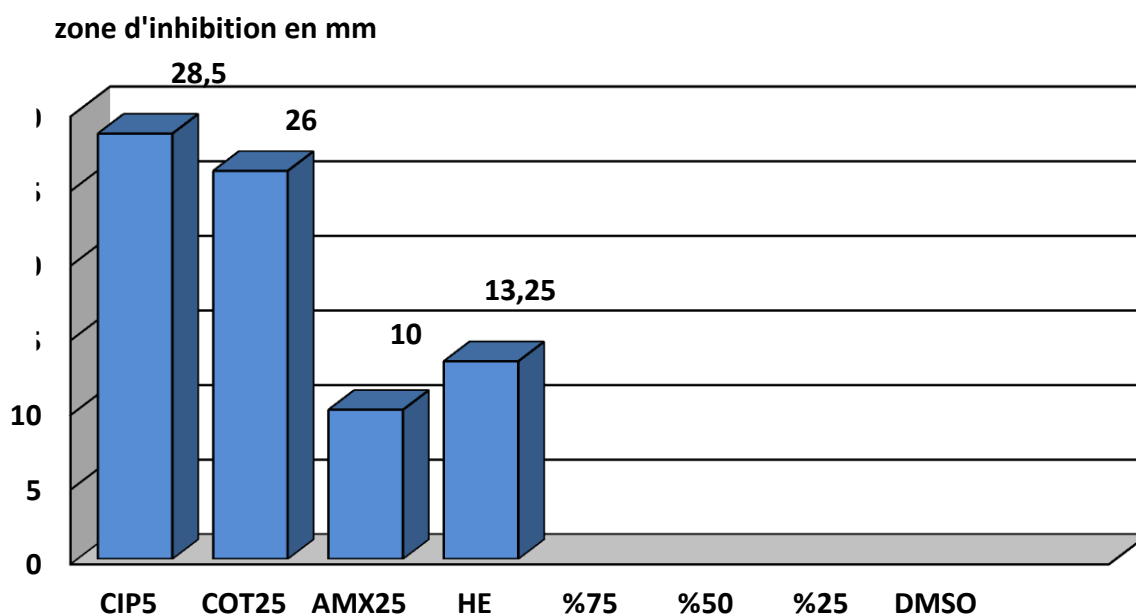
la composition terpénique de cette HE qui peut engendrer la destruction de la membrane bactérienne, par contre l'huile diluée à différentes concentrations ne présente aucune activité.

#### *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923)

Nous remarquons que l'HE de *Rosmarinis officinalis* présente une très forte activité sur cette souche dont le diamètre de la zone d'inhibition égale 17mm.

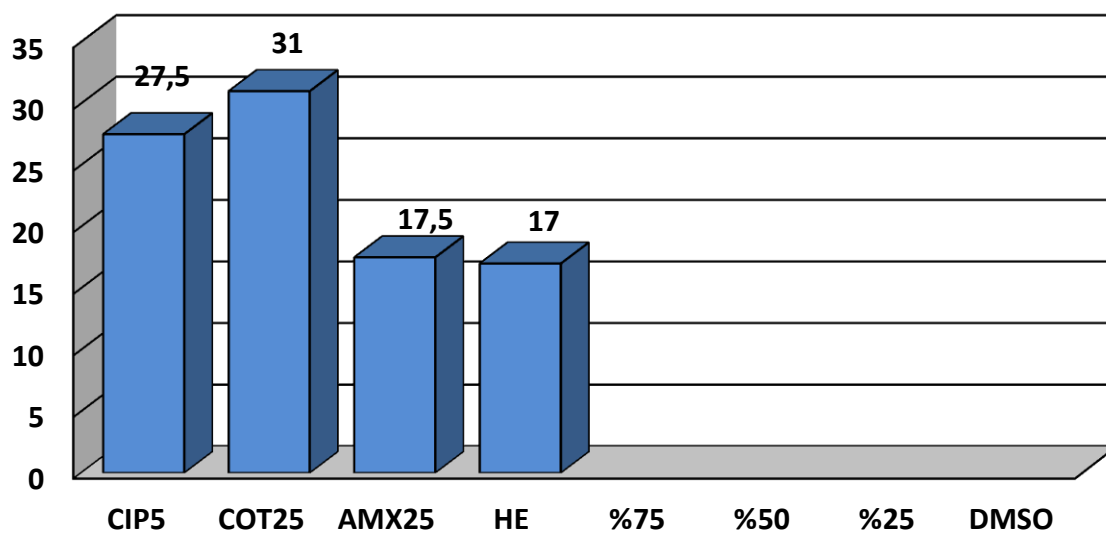
L'étude du pouvoir antibactérien d'HE de *Rosmarinis officinalis* par la méthode de diffusion sur gélose ou la méthode du disque absorbant appelée aussi aromatoگرامme et la mesure du diamètre des zones d'inhibition y compris le disque (6mm) permettent de déterminer cette activité antimicrobienne de cette plante in vitro. Cette huile montre une activité forte sur la bactérie G+ avec une plus grande zone d'inhibition, pour *Staphylococcus aureus* la zone.

Ces résultats sont différents avec ceux obtenus par (FROUHAT et LAHCINI., 2013). Cette différence d'activité peut être due à plusieurs facteurs dont essentiellement, la température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition des huiles, la partie de plante utilisée, méthode d'extraction...etc.



**Figure 28 :** Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinis officinalis* sur *Escherichia coli* (ATTC25922).

zone d'inhibition en mm



**Figure 29:** Activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinis officinalis* sur *Staphylococcus aureus* (ATTC 25923).

*Conclusion  
générale*

### Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie a reçu un grand intérêt dans la recherche biomédicale et devient aussi importante que la chimiothérapie. Ce regain d'intérêt vient d'une part du fait que les plantes médicinales représentent une source inépuisable de substances et de composés naturels bioactifs et d'autre part du besoin de la recherche d'une meilleure médication par une thérapie plus douce sans effets secondaires. Les études phytochimiques basée sur des tests spécifiques ont montré la présence d'alcaloïdes, polyphénols, tannins, flavonoïdes, etc... dans l'espèce étudiée.

Un grand nombre des plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes. Plusieurs travaux de recherches ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques. L'extraction des HEs des plantes médicinales peut être réalisée par plusieurs méthodes. Cependant dans le présent travail une seule méthode a été préconisée: hydrodistillation dans un appareil de type « Clevenger».

La valeur du rendement en HE de la partie aérienne était de 0.58%. Cette valeur est identique avec celles obtenus chez d'autres études de la même espèce. La méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien d'HE du «*Rosmarinus officinalis L*» vis-à-vis de deux souches bactériennes *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

L'activité antimicrobienne de HE a été évaluée par la méthode *in vitro*, a permis de révéler une activité moyenne sur la croissance de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de 13.25 et 17mm respectivement, ces souches ont été très sensible à l'activité des antibiotiques utilisés cependant aucune activité n'a été observée avec les dilutions testées sur ces mêmes souches.

Nos résultats ne sont que des tests préliminaires, alors d'autres études approfondies sont nécessaires.

*Références  
bibliographiques*

Références bibliographiques

1. ABDELKRIM N.,BEHIR M.,BEN ALI E.,HAMAMA K.,2013- L'activité antimicrobienne d'huile essentielle d'*origanummajorana*L. Mémoire licence académique. Université d'El-Oued.52 p.
2. AIT MOHAMED O., 2012- Activités anticancéreuses des extraits de quelques Plantes médicinales locales. Thèse doctorat en sciences biologiques. Université Abderrahmane Mira de Bejaia . 166 p.
3. AKROUM S.,2006- Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba*L. Mémoire magister. Université Mentouri de Constantine.91 p.
4. ANONYME., 2006- Projet filière des plantes aromatiques et médicinales. Chemonics international Inc. Contrat n°608-M-00-05-00043-01. Soumas à: Mission de l'usaid au Maroc.53p.
5. ANONYME., 2008- *Rosmarinus officinalis* L. Tela Botanica base de données Nomenclaturale de la flore de France par Benoit Bock BDNFFV( 4-02):1-2 .
6. ANONYME., 2013- Invest in Algeria wilaya d 'El- Oued.18 p .
7. ANONYME., 2012 - Plantes mellifères. Abeilles & Fleurs ( 735):23-24.
8. ANONYME.,2011- Rubrique monographie wilaya d'El- Oued. Agence Nationale d'intermédiation et de Régulation Foncière. 6p.
9. ATHAMENA S.,2009- Etude quantitative des flavonoïdes des grains de *Cuminumcyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'évaluation des l'activité biologique. Mémoire magister. Université El- Hadj Lak dar de Batna. 88 p.
10. ATIK BEKKARA F., BOUSMAHA L., TALEB BENDIAB S., BOTI J., 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 vol.7 (1): 6-11.

11. AYADI S., JERRIBI C., ABDERRABBA M., 2011- Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis cueillie* dans trois régions différentes de la Tunisie. J.SOC .Alger. Chim . 21 (1): 25-33.
12. BALI M., BEKKARI H., TLIBA F., TOUANSA R .,2014 - Les huiles essentielles et leurs propriétés biologiques. Mémoire licence académique d' El-Oued .63p.
13. BEKHECHI C., ABDELOUAHID D., 2010- Les huiles essentielles . Office des duplication universitaire N° 5145. Alger . 55p.
14. BELKHIRI F.,2009- Activité antimicrobienne et antioxydant des extraits du *tamuscommunis L et caeruleus L*. Mémoire magister. Université Farhat Abbes de Sétif.85p.
15. BELOUED A., 2009- Plantes médicinales d'Algérie office des publications universitaires 5<sup>ème</sup> édition Alger .284p.
16. BELYAGOUBI L.,2006- Effet de quelque essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration de céréales. Mémoire magister. Université Abou Baker Belkaid.76p.
17. BEN AHMED MHANECH A.,2012-Le traitement par les plantes médicinales Ed. Dar El Houda .Ain Mlila .Alge.128 p.
18. BENAYAD N., 2008- Les huiles essentielles médicinales marocaines moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées laboratoire des substances naturelles et thermolyse éclair. Université Mohamed v -Agdal.61p.
19. BENAZZEDDIINE S.,2010- Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilusoryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Triboliumconfusum* (Coleoptera; Tenebrionidae).Mémoire ingénieur. Université El-Harrach Alger.89p.
20. BENGGOUTA N., 2005- Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments . Mémoire magister. Université Mentouri de Constantine.118p.
21. BENIKHLEF A.,2014- Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire master en Agronomie. Université Abor Belkaid-Tlemcen. 27p.

22. BOTINEAU M., 2010- Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs Ed .TEC& DOC. Paris.1315p.
23. BOUCHIKHI TANI Z., 2011- Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoxelidesobtectus* (Coleoptera , Bruchidae ) et la mite *Tineolabissella* ( Lepidoptera , Tinedae ) par des plantes aromatiques et leurs huile essentielles. Thèse doctorat. Université Aboubakr Belkaid Tlemcen. 128 p.
24. BOUCHIKHI TANI Z., ANOUAR KHELIL M., BENDAHOU M., MESTARI M.,2009- Action des huiles essentielles de trois plantes aromatiques de l'ouest Algérien sur la mite *tineolabisselliella*. Rec. Ivoir. Sci. Technol. ISSN( 1813-3240):175-186 .
25. BOUHAFS M., HANLAOUI A., BOUASSID S.,2014- Etude l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes. Mémoire licence académique. El-Oued.45p.
26. BOUMAZA D.,2011- Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales: *Inula viscose*. *Rosmarinusofficinalis* de la région d'Oran. Mémoire magister en chimie. Université d'Oran.56 p.
27. BOUGUERRA A., 2012- Etude des activité biologiques de huile essentielle extraite des graines de *foeniculumvulgaremill*. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine.103p.
28. BOUSBIA N., 2011- Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse doctorat. Université d'Avignon et des pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique Ina el Harrach – Alger.128p.
29. BURNIE G.,FORRESTER S., GREIG D., GUEST S., HARMONY M., HOBLEY S., JACKSON G., LAVARACK P.,LEDETT M.,MCDONALD R., MACOBOY S., MOLYNEUX B., MOODIE D., MOORE J., NEWMON D., NORTH T., PIENAAR P., PURDY G., RYAN S., SCHIEN G., SILK J., 2003 -Botanica Encyclopédie de botaniques & d'horticulture plus de 10000 plants du monde entier. Paris. 1020 p.
30. CABRERA L ., RANGER.,2001- Evaluation des effets antibiotiques des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*. *Rosmarinisofficinalis* et *oreganunvulgare* sur *clavibactermichiganensis*. Le travail a été réalisé dans le cadre du cours Initiation au projet 145-509-SL. 17p.

31. CHAFAI ELALAOUI A., BOUKIL A., BACHAR M., DRISS L., GUERMAL A., 2014 - Manuel des bonnes pratiques de collecte du Romarin « *Rosmarinus officinalis* ». Projet Pam plantes médicinales et aromatiques. Avenue Omar Ibn Al-Khattab. BP: 763. Agdal. Rabat.10p.
32. CHOUTAH O.,2012- Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de glycyrrhizaglabra. Thèse doctorat. Université d'Oran.228p.
33. DA SILVA F., 2010- Utilisation des huiles essentielles en infectiologie orl. Thèse doctorat en Pharmacies .Université Henri Poincaré- Nancy 1.145p.
34. DAMERDJI A ., LADJMI A., 2014 - Contribution a l'étude bioécologique de la faune de *Rosmarinus officinalis* L. ( Romarin ) (labiées ) dans la région de Tlemcen (N.O .Algérien ). Rev. Ivoir. Sci. Technol ISSN( 1813-3290): 224-243 .
35. DUBONT F., GUIGNA J-L.,2007 - Botanique systématique moléculaire. Elsevier Masson sas 14<sup>ème</sup> édition .Paris-Sud.285P.
36. DUBONT F., GUIGNARD J-L., 2012 - Botanique les familles de plants . Elsevier Masson sas. 15<sup>ème</sup> éditions .Paris-sud . 300 p.
37. DUVAL L., 2012- Les essentielles à l'officine. Thèse doctorat. U.F.R .de médecine-pharmacie de Rouen.153p.
38. EL KHALAMOUNI C., 2010 - Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse doctorat. Université de Toulouse.375p.
39. ELOUDI G., 2010- Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation identification et mode d'action. Thèse doctorat. Université de Corse –Pasqual Paoli .143 p.
40. ELOUTASSI N., 2014- Elaboration de procédés biotechnologiques pour la valorisation du Romarin ( *Rosmarinus officinalis* ) Marocain. Thèse doctorat sciences en biologie. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. 129 p .
41. FADI Z., 2011- Le romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal. Thèse doctorat en Pharmacie. Université Mohammed v rabat. 129 p .

42. FROUHT Z., LAHCINI B., 2013- Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire master académique. Université Kasdi Merbah Ouargla .49 p
43. GERALDINE C., 2013- Myrtacées et aromathérapie. Thèse doctorat en pharmacie. Université Joseph Fourier.107p.
44. GOUMNI Z., SALHI A.,2013- Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extrait de la plante *Laurusnobilis L.* Mémoire magister. Université KasdiMerbah Ouargla.48p.
45. GORI Z., TEBBALE H.,2014-Impact de différents modes de conservation sur les caractéristiques biochimiques de quelques plantes spontanées médicinales. Mémoire magister. Université d'Ouargla.INA.45p.
46. HILAN C., SFEIR R., JAWISH D., AITOUR S., 2006- Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des *lamiaceae*. Lebanese Science Journal, vol.(2):13-22.
47. JOUAULT S., 2012- La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité .Thèse doctorat. Université Lorraine.142p.
48. KADDEM S-E., 1990 - Les plantes médicinales on Algérie. Ed IBN SINA. 3<sup>ème</sup> CIMT.181p.
49. KEHAL F., 2013- Utilisation de l'huile essentielle de citrus limon comme agent conservateur et aromatique dans la crème fraiche. Mémoire magister. Université de Constantine .193p.
50. KHENAKA K.,2011- Effet de diverses plantes médicinales et de leur huiles essentielles sur la méthanogénèse rumina le chez *l'ouvin*. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine. 61p.
51. KIRAM A.,2011- Etude phytochimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *pituranthosscoparius* (Coss.et Dur)Benth et Hook de l'est Algérien. Mémoire magister en biologie. Université Mohamed Kheider Biskra. 74p.
52. KONE S., 2011- Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate information Service. PO BOX 5180- 65726. Eschborn. Germany : 1-6 .

53. LAGUNEZ L., 2006- Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse doctorat laboratoire de chimie agro-industrielle (LCA). Toulouse. 331p.
54. LAIB I., 2011- Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandulaofficinalis* sur les moisissures des légumes secs. Mémoire magister en Sciences Alimentaires. Université Mentouri Constantine. 94p.
55. LUCCHESI M., 2005- Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse doctorat. Université de Réunion. 143p.
56. LUCIENNE A., 2013- les plantes médicinales d'Algérie. Ed. BERTI. Alger. 239 p.
57. MACE I., 2005- plantes aromatiques et médicinales les leybrennes. édition française. Paris. 303p.
58. MARIE C., 2006- Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse doctorat. France. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne. 161p.
59. MOHAMMEDI Z., 2006 - Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire magister. Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen . 105 p.
60. MOSTEFAI A., 2012- Contribution à une étude morphométrique de *Rosmarinus officinalis* L (lamiacées) dans la région de Tlemcen. Mémoire master. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen. 106 p.
61. NAIT SAID N., 2007- Etude phytochimique des extraits chloroformiques des plantes: «*Pituranthos chloranthus*» et «*marrubium vulgare*». Mémoire magister. Université El Hadj Lakhdar Batna. 112p.
62. NAITACHOUR K., 2012- Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi-Ouzou. Mémoire magister. Université Mouloud Mameri Tizi-Ouzou. 123p.

63. NGUEMTCHOUIN M., 2012- Formulation d'insecticides en poudre par adsorption des huiles essentielles de *xylopiiaaethiopica* et de *ocimumgratissimum* sur des argiles camerounaises modifiées. Thèse doctorat. Université de Ngaoundere.269p.
64. NOUIOUA W., 2012- Biodiversité et ressources phylogénétiques d'un écosystème forestier «*paeniamaxula L mill*». Mémoire magister. Université Ferhat Abbas de Sétif.78p.
65. NOURACHANI I., 2010- caractérisation physico-chimique et biologique de l'huile essentielle des écorces de *gyptocaryagassifolia*. Mémoire. d'Antanarivo.69p.
66. PINEAU S., 2012- Mécanismes d'action cellulaires et physiologiques des composés de la mélisse (*Melissa officinalis* L) et de la valériane (*Valeriana officinalis* L) caractérisation et perspectives d'applications pharmaceutiques et phytosanitaires. Thèse doctorat en pharmacie. Université Angers .159p.
67. RAMDANE F.,2009- Analyse et caractérisation de quelques métabolites secondaires de la plante nauplius gravéolens de Tamanrasset. Mémoire magister. Université Kasdi Merbah de Ouargla.111p.
68. RHAYOUR K.,2002- Etude mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*. *bacilles subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobactéréumfortuitum*. Thèse doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.158p.
69. RICHARD T., 2001- La Rousse encyclopédie des plantes médicinales Ed I.S.B.N. Paris.335p.
70. *Rosmarinus officinalis* - Lamiacees (Labiées) [http : // www. aromnjdevivir.fr / romarin info-18 html](http://www.aromnjdevivir.fr/romarin%20info-18.html).( page consultée le 11/11/2014).
71. SAIDJ F., 2007- Extraction de l'huile essentielle de thym: *thymus numidicus kabylica*. Mémoire magister. Université M'Hamed Bougera Boumerdes.78p.
72. SMADJA J.,2009- Les huiles essentielles. laboratoire de chimie des substances naturelles et des sciences des aliments (LCSNSA).Université de Réunion.50p.
73. WHQNG X., 1998- Réglementation de médicaments à base de plantes la situation dans les monde .Organisation mondiale de la santé Genève .59 p .

74. YAZINA H., 2010- Etude e biomasse du rosmarin ( *Rosmarinusoffecinalis* L.) dans le massif des béni-imploul-Aurès- ALGERIE). Université de Foresterie. Sofia. 42 p.
75. YOUBA B., 2009- Activités biologiques des substances actives du gingembre (*Zingiberofficinalisroscoe*). Mémoire magister en biologie. Université Abderrahmane Mira de Bejaia .93p.
76. ZEGHAD N., 2009- Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique ( *Thymus vulgaris* , *Rosmarinus officinalis* ) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine . 84 p.
77. ZOUBEIDI C., 2004- Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. Labiatea. Mémoire magister. Université de Ouargla.45 P.

# *Annexes*

---

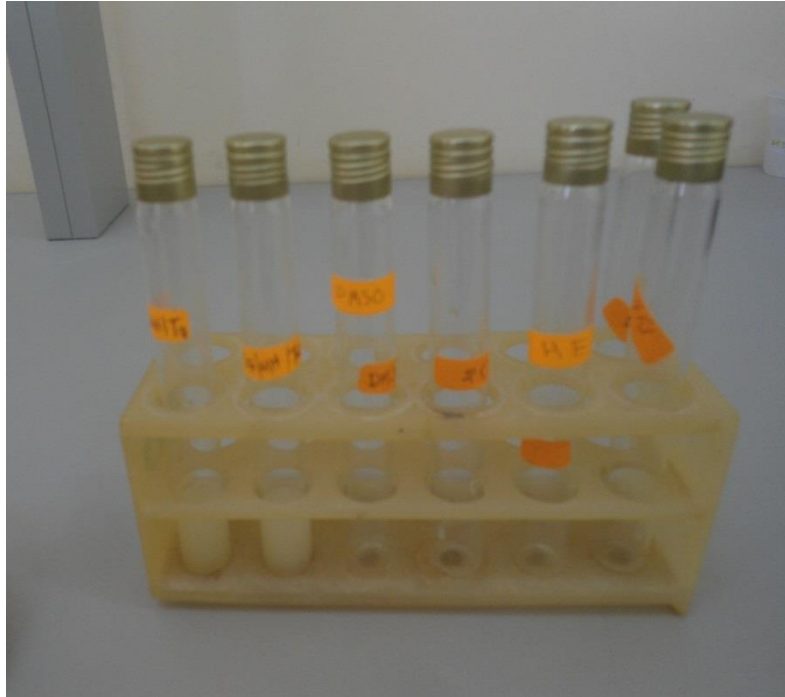
## Les annexes

### Annexe N° 1: Précautions d'usage des huiles essentielles

Une huile essentielle est une substance active qui peut être dangereuse si mal employée. Les huiles essentielles sont très riches en principes actifs et extrêmement puissants. Il faut les manipuler avec précaution et les utiliser avec modération. Et pour ce la il faut:

- Respecter scrupuleusement les dosages et modes d'utilisation préconisés qui peuvent être différents selon les voies d'absorption indiquées.
- Ne pas utiliser les huiles essentielles chez les personnes ayant des antécédents épileptiques ou convulsifs, les personnes hypersensibles aux huiles essentielles, les asthmatiques, et les personnes allergiques.
- Ne jamais injecter d'huiles essentielles par voie intraveineuse ou musculaire; Allergie : Il est conseillé de pratiquer un test d'allergie avant d'utiliser une huile essentielle.
- Allergies respiratoires, Asthme: L'utilisation des huiles essentielles en diffusion atmosphérique est contre-indiquée.
- Soleil : Eviter toute exposition aux rayons solaires et UV dans les heures qui suivent l'application ou la prise d'une huile essentielle photosensibilisation (Citron, Orange, Mandarine, Bergamote, Khella).
- Absorption accidentelle : Faire ingérer (et, si possible, faire vomir) de l'huile végétale pure (1 à 3 cuillères à soupe, olive, tournesol etc.). Ne jamais faire boire de l'eau! Les huiles essentielles ne sont pas hydrosolubles.
- Les huiles essentielles sont à éviter pour les femmes enceintes, les personnes âgées ou fragiles et les enfants de moins de 3 ans.
- N'appliquez jamais d'huiles essentielles sur les muqueuses ou autour des yeux.
- Les huiles essentielles s'emploient en général très diluées sur la peau pure, elles risqueraient d'être dangereuses. Les huiles essentielles sont solubles dans l'huile ou l'alcool, mais elles ne sont pas hydrosolubles (ne se dissolvent pas dans l'eau).
- Les huiles essentielles contenant des phénols sont hépatotoxiques (origan, sarriette, thym à thymol...).
- À savoir aussi, les chats (Ou autres animaux) ne supportent pas les HEs, qui peuvent s'avérer mortels pour eux (BOUHAFS et *al.*, 2014).

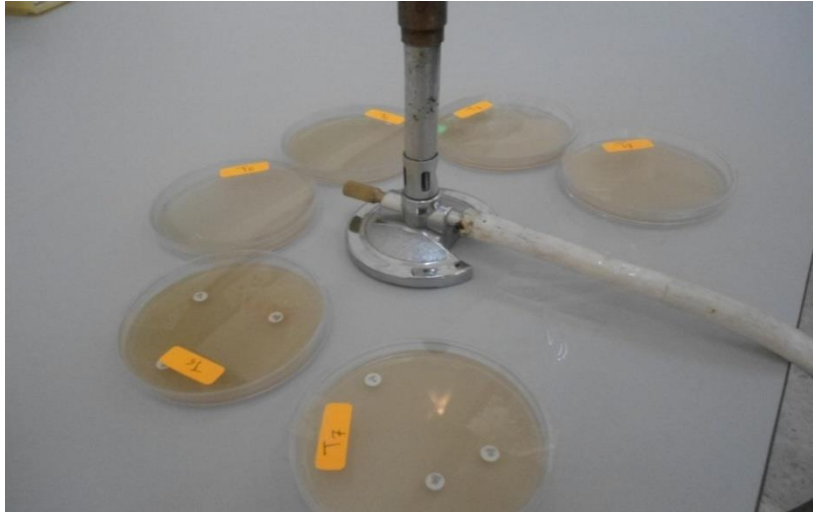
Annexe N°2:Photos originales de l'aromatogramme



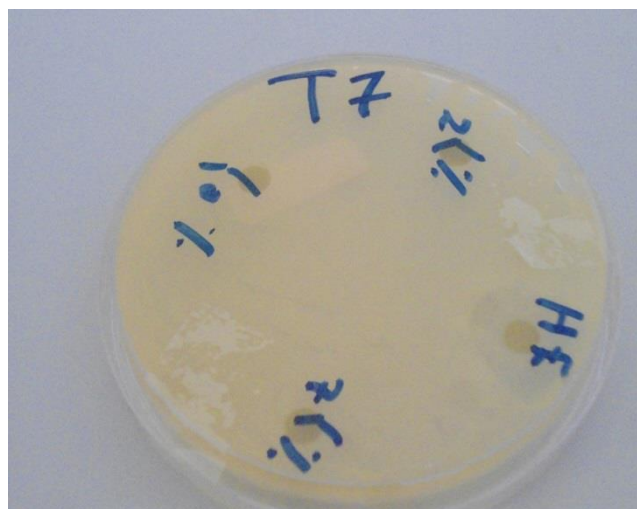
préparation des dilutions des huiles essentielles



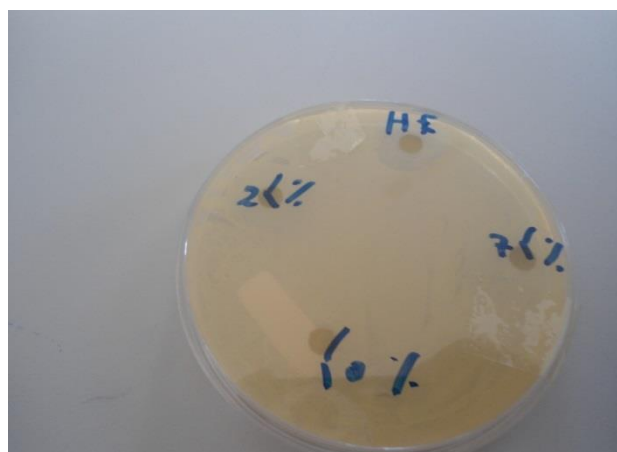
L'ensemencement des bactéries



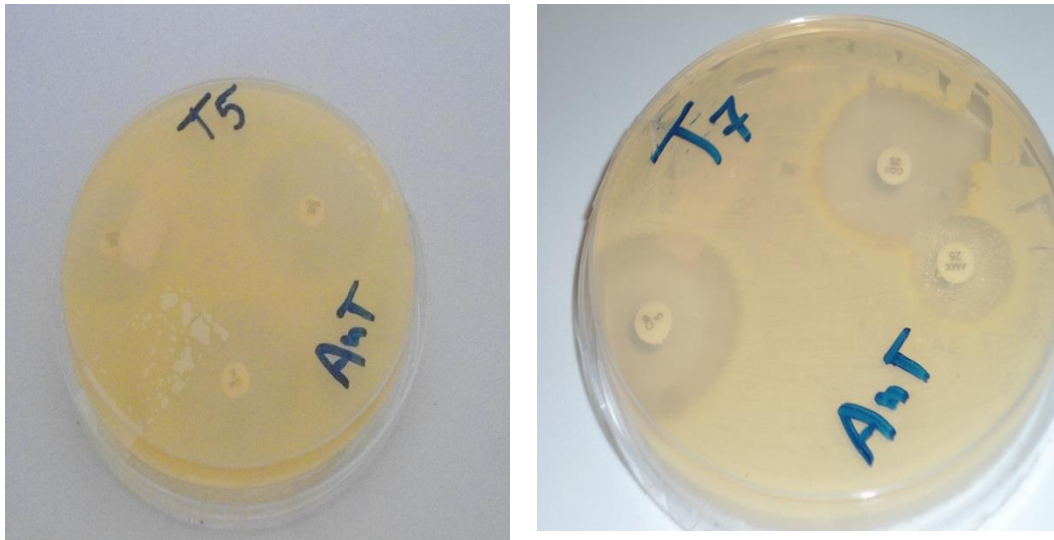
Préparation d'aromatogramme d'*E. coli* et *Staphylococcus aureus*



Résultat d'aromatogramme d'*E. coli*



Résultat d'aromatogramme de *Staphylococcus aureus*



**Résultat d'aromatogramme des ATBs des deux souches**

## Résumé:

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenue par plusieurs méthodes parmi les l'hydrodistillation.

Dans ce travail nous avons effectué une étude phytochimique, ainsi que l'extraction d'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* et l'étude de son effet antimicrobien. Le rendement obtenu en huile essentielle était environ 0.58%, ce résultat est en accord avec des études précédentes.

L'activité antimicrobienne à donné des résultats importants avec des zones d'inhibitions différentes sur les souches testées.

**Mots clés :** Huile essentielle, *Rosmarinus officinalis*, hydrodistillation, activité antimicrobienne.

## ملخص

الزيت الأساسي هو سائل مركز من مكونات نباتية , نحصل عليه عن طريق عدة طرق من بينها التقطير.

في هذه الدراسة قمنا بدراسة فيتو كيميائية، وكذلك استخلاص الزيت الأساسي من الجزء الهوائي لنبته إكليل الجبل ودرسنا فعاليته ضد البكتيريا.

المر دود المتحصل عليه من خلال استخلاص الزيت مقدر بـ 0.58% وهذه النتيجة متقاربة مع دراسات سابقة .

الفعالية البيولوجية ضد الميكروبات أعطت نتائج هامة ضد البكتريا المدروسة.

**الكلمات المفتاحية:** الزيت الأساسي، إكليل الجبل، الاستخلاص بالتقطير، فعالية ضد الميكروبات.