

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMCCEN**  
**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de**  
**l'Univers**

**Département de Biologie**  
*Laboratoire des « Produits Naturels »*  
*Laboratoire « Antibiotiques et Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et*  
*Activité biologique »*

## MEMOIRE

Présenté par :

**M<sup>lle</sup> HAFOUD Sabrina**

**M<sup>lle</sup> ABED Amel**

En vue de l'obtention du **Diplôme de MASTER en BIOLOGIE**  
**Spécialité : Biochimie Appliquée**

## Thème

**Composition et activités biologiques de l'huile essentielle**  
**de *Rosmarinus officinalis* (Klil) de la région d'Adar**

**Soutenu, le 09/09/2020, devant le jury composé de :**

**Président :**

M<sup>elle</sup> BENARIBA N.

Maître de Conférences « A »

Université de Tlemcen

**Encadreur :**

M<sup>me</sup> BEKHECHI C.

Professeur

Université de Tlemcen

**Examineur :**

M<sup>r</sup> AZZI R.

Maître de Conférences « A »

Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2019/2020**

## *Remerciements*

Nous remercions Dieu Tout-Puissant, le Sublime de la Vérité, pour son aide et sa facilitation pour accomplir ce travail, et nous demandons à Sa Majesté de nous aider avec bonne volonté et récompenser en paroles et en actes.

Ensuite, nos plus sincères remerciements à nos parents pour leurs prières et leur désir constant de rechercher la connaissance. Nous demandons à Dieu Tout-Puissant de les habiller de vêtements de santé et de bien-être et de bénir leur âge.

Nous exprimons nos sincères remerciements, du fond du cœur à notre encadreur *M<sup>me</sup> BEKHECHI Chahrazed*, Professeur à l'université de Tlemcen pour son soutien, ses conseils, sa gentillesse, sa disponibilité, sa patience, sa compréhension et ses intérêts portés pour notre thème de recherche.

Nous adressons également nos remerciements les plus profondes à *Monsieur le Professeur TOMI Félix*, directeur de l'équipe « Chimie & Biomasse », à l'université de Corse, pour la caractérisation des huiles essentielles par CPG-Ir et CPG/SM.

Un grand remerciement va à notre responsable de spécialité, *M<sup>lle</sup> BENARIBA Nabila*, Maître de Conférences « A », à l'Université de Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements à *M<sup>r</sup> AZZI Rachid*, Maître de Conférences « A », à l'Université de Tlemcen, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de faire parti de ce jury.

Nous tenons à remercier également *M<sup>r</sup> MALTI Charaf Eddine Watheq*, Docteur en Biologie pour son aide, ses conseils et sa disponibilité au laboratoire durant tout le long de ce travail.

Nous exprimons un infini remerciement plein de gratitude, à tous les membres du laboratoire qui ont participé à la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici le témoignage de nous profonde reconnaissance.

En fin, Nous ne manquons pas non plus de remercier tous nos amis et parents qui nous ont aidés, que ce soit de près ou de loin.

*Merci à toutes et à tous*

## المخلص

### التكوين والأنشطة البيولوجية للزيت العطري من نبات (*Rosmarinus officinalis* (Klil) من منطقة أدرار

الزيوت الأساسية عبارة عن مجموعات طبيعية من الجزيئات المتطايرة والعطرية، التي يتم تصنيعها بواسطة النباتات العطرية لها خصائص مضادة للالتهابات، ومضادة للعدوى، ومضادة للأكسدة... يتعلق العمل الحالي بالتركيب الكيميائي ودراسة الأنشطة المضادة للأكسدة والميكروبات للزيت العطري لـ *Rosmarinus officinalis* من ثلاث محطات في منطقة أدرار.

أخذنا 12 عينة خضعت للتقطير المائي بجهاز من نوع Clevenger. مردود الزيت العطري متغيرة للغاية وتتراوح من 0.66 إلى 1.43٪.

الجزء الأول مخصص للتوصيف الكيميائي للزيت العطري المأخوذ من 12 عينة من *Rosmarinus officinalis*. حدد تحليل عينتين "مجتمعة" (EC 1 و EC 2) من الزيت العطري من أوراق نبات *Rosmarinus officinalis* عن طريق مزيج من تقنيات التحليل الطيفي واللوني (CPG-Ir و CPG/SM) 39 مركبًا. عينة EC 1 غنية بالكافور (36.4٪)، تليها  $\alpha$ -بينين (18.0٪). توجد مركبات أخرى بكميات ملحوظة: 1.8-سينول (7.9٪)، بورنيول (5.8٪)، فيربينون (5.6٪)، كامفين (5.2٪)، ليمونين (3.3٪) ولينالول (2.2٪). من ناحية أخرى، فإن عينة EC 2 أقل ثراءً بالكافور (21.4٪) ولكنها تحتوي على كمية أكبر من 1.8-سينول (14.0٪)، فيربينون (10.3٪)، بورنيول (9.0٪) ولينالول (4.1٪). يوجد مركبان أوليفيني، ألفا بينين (9.8٪) والكامفين (4.0٪) بكميات أقل مقارنة بعينة EC 1.

أما الجزء الثاني فقد خصص لدراسة الفعالية المضادة للأكسدة والبكتيريا للزيت العطري لهاتين العينتين. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة من خلال طريقة تقليل جذور DPPH. تبين أن عينة EC 2 نشطة، مع  $IC_{50}$  بترتيب  $0.29 \pm 3.46$  ملغ/مل، لكنها تظل منخفضة مقارنة بالمركب المرجعي، حمض الأسكوربيك ( $IC_{50} = 0.02 \pm 0.001$  ملغ/مل). أخيرًا، تم اختبار دراسة النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري للعينتين بطريقة الانتشار القرصي ضد ست سلالات بكتيرية (*Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli*، *Klebsiella pneumoniae*، *Bacillus cereus* و *Staphylococcus aureus*). تبين أن *S. aureus* و *B. cereus* هما الأكثر حساسية للزيت العطري للعينتين، حيث تراوحت أقطار التثبيط بين 11.3 و 13.3 مم، بينما وجد أن *E. coli* الأكثر حساسية فقط للزيت العطري لعينة EC 2، ويبلغ قطر منطقة التثبيط 13.0 مم.

أخيرًا، بسبب الأزمة الصحية الناجمة عن فيروس كورونا (Covid-19)، لم نتمكن من تقييم القوة المضادة للفطريات لهذه الزيوت العطرية ضد الفطريات وكذلك النشاط المضاد للالتهابات من خلال اختبار التثبيط الخاص بـ ليوكسيجيناز في المختبر.

**الكلمات المفتاحية:** *Rosmarinus officinalis*، زيت عطري، تركيبة كيميائية، CPG(Ir)، CPG/MS، نشاط مضاد للأكسدة، DPPH، قوة مضادة للبكتيريا.

## Résumé

### Composition et activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Klil) de la région d'Adrar

Les huiles essentielles sont des complexes naturels de molécules volatiles et odorantes, synthétisés par les plantes aromatiques. Elles possèdent des propriétés anti-inflammatoires, anti-infectieuses, antioxydantes.... Le présent travail concerne la composition chimique et l'étude des activités antioxydante et antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* provenant de trois stations de la région d'Adrar.

Nous avons prélevé 12 échantillons qui ont été soumis à une hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. Les teneurs en huiles essentielles sont très variables, allant de 0,66 à 1,43%.

La première partie est consacrée à la caractérisation chimique de l'huile essentielle des 12 échantillons de *R. officinalis*. L'analyse de deux échantillons « communelle » (EC 1 et EC 2) de l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* par la combinaison des techniques chromatographique et spectroscopique (CPG-Ir et CPG/SM) a permis d'identifier 39 composés. L'échantillon EC 1 est riche en camphre (36,4%), suivi d' $\alpha$ -pinène (18,0%). D'autres composés sont présents en quantités appréciables : 1,8-cinéole (7,9%), bornéol (5,8%), verbénone (5,6%), camphène (5,2%), limonène (3,3%), et linalol (2,2%). Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en camphre (21,4%) mais, il contient une quantité plus importante en 1,8-cinéole (14,0%), verbénone (10,3%), bornéol (9,0%) et en linalol (4,1%). Deux composés oléfiniques, l' $\alpha$ -pinène (9,8%) et le camphène (4,0%) sont présents en quantités moins importantes par rapport à l'échantillon EC 1.

La deuxième partie a été consacrée à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de ces deux échantillons. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la méthode de la réduction du radical DPPH. L'échantillon EC 2 s'est montré actif, avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $3,46 \pm 0,29$  mg/ml, mais qui reste faible par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$  mg/ml). Enfin, l'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux échantillons par la méthode de diffusion sur disque a été testée vis-à-vis de six souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*). *S. aureus* et *B. cereus* se sont montrés les plus sensibles à l'huile essentielle des deux échantillons, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 11,3 et 13,3 mm, alors que *E. coli* s'est révélé le plus sensible uniquement à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 13,0 mm.

Enfin, à cause de la crise sanitaire due au coronavirus (Covid-19), nous n'avons pas pu évaluer le pouvoir antifongique de ces huiles essentielles contre le mycélium ainsi que l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de la lipoxgénase *in vitro*.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, composition chimique, CPG(Ir), CPG/SM, activité antioxydante, DPPH, pouvoir antibactérien.

## Abstract

### Composition and biological activities of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Klil) from Adrar [ALGERIA] region

Essential oils are natural complexes of volatile and fragrant molecules, synthesized by aromatic plants. They have anti-inflammatory, anti-infectious, antioxidant properties.... The present work concerns the chemical composition and the study of the antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from three stations in the Adrar region.

We took 12 samples which were exposed to hydrodistillation with a Clevenger apparatus. We found that the essential oil contents are very variable from one to another ranging from 0.66 to 1.43%.

The first part is devoted to the chemical characterization of the essential oil from the 12 samples of *R. officinalis*. The analysis of the two samples (EC 1 and EC 2) of the essential oil from the leaves of *Rosmarinus officinalis* by the combination of chromatographic and spectroscopic techniques (GC(RI) and GC/MS), permit the identification of 39 compounds. Sample EC 1 is rich in camphor (36.4%), followed by  $\alpha$ -pinene (18.0%). Other compounds were present in appreciable quantities: 1,8-cineole (7.9%), borneol (5.8%), verbenone (5.6%), camphene (5.2%), limonene (3.3%), and linalool (2.2%). Otherwise, sample EC 2 is less rich in camphor (21.4%) but, it contains a greater amount of 1,8-cineole (14.0%), verbenone (10.3%), borneol (9.0%) and linalool (4.1%). Two olefinic compounds,  $\alpha$ -pinene (9.8%) and camphene (4.0%) are present in smaller amounts compared to sample EC 1.

The second part was devoted to the study of the antioxidant and antibacterial activity of the essential oil of these two samples. The antioxidant power was evaluated by the method of reduction of the DPPH radical. Sample EC 2 was shown to be active, with an  $IC_{50}$  of the order of  $3.46 \pm 0.29$  mg/ml, but which remains was low compared to the reference compound, ascorbic acid ( $IC_{50} = 0,02 \pm 0.001$  mg/ml). Finally, the study of the antibacterial activity of the essential oil of the two samples by the diffusion on disc method was tested against six bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*) were shown to be the most sensitive to the essential oil of the two samples, with diameters of the inhibition zone varying between 11.3 and 13.3 mm, while *E. coli* was found to be the most sensitive only to the essential oil of sample EC 2, with a diameter of the inhibition zone around 13.0 mm.

Finally, because of the health crisis due to the coronavirus (Covid-19), we were unable to evaluate the antifungal power of these essential oils against the mycelium as well as the anti-inflammatory activity by the inhibition test of the lipoxygenase *in vitro*.

**Key words:** *Rosmarinus officinalis*, essential oil, chemical composition, GC(RI), GC/MS, antioxidant activity, DPPH, antibacterial power.

# Sommaire

Dédicaces

Remerciements

الملخص

Résumé

Abstract

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
<b>Synthèse Bibliographique .....</b>	<b>4</b>
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique sur <i>Rosmarinus officinalis</i> .....</b>	<b>5</b>
I. Description de la famille des Lamiacées .....	5
II. Présentation du romarin.....	6
II.1. Historique .....	6
II.2. Description botanique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	6
II.3. Systématique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	6
II.4. Usages thérapeutiques .....	7
II.5. Travaux antérieurs .....	7
II.5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	7
II.5.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	12
<b>Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles .....</b>	<b>14</b>
I. Définition .....	14
II. Localisation .....	14
III. Propriétés physiques.....	14
IV. Composition chimique .....	15
IV.1. Terpénoïdes .....	15
IV.2. Phénylpropanoïdes .....	15
V. Méthodes d'extraction.....	15
V.1. Techniques conventionnelles d'extraction .....	16
V.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	16
V.1.2. Hydrodistillation.....	16
V.1.3. Extraction par solvant organique.....	17
V.2. Extraction par des techniques innovantes .....	17
V.2.1. Extraction par du CO <sub>2</sub> supercritique.....	17
V.2.2. Extraction par micro-ondes .....	17
VI. Activités biologiques des huiles essentielles .....	18
VI.1. Activité antimicrobienne.....	18
VI.1.1. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	19
VI.1.2. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	20

VI.2. Activité antioxydante .....	20
VI.2.1. Différents types de radicaux libres.....	21
VI.2.2. Origine et production des espèces réactives oxygénées.....	21
VI.2.3. Dommages oxydatifs des radicaux libres.....	21
VI.2.4. Propriétés antioxydantes des huiles essentielles .....	22
VI.2.5. Méthode d'étude de l'activité antioxydante .....	22
<b>Partie Expérimentale .....</b>	<b>23</b>
I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles.....	24
II. Extraction des huiles essentielles.....	25
III. Détermination des rendements en huiles essentielles .....	25
IV. Analyse des huiles essentielles .....	25
IV.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	25
IV.1.1. Conditions opératoires .....	26
IV.1.2. Identification des constituants.....	26
IV.2. Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM) .....	26
IV.2.1. Conditions opératoires .....	26
IV.2.2. Identification des constituants.....	26
V. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin.....	26
V.1. Activité antioxydante des huiles essentielles .....	27
V.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).....	27
V.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles .....	28
V.2.1. Provenance des germes.....	28
V.2.2. Mise en culture des souches .....	28
V.2.3. Méthode d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles .....	29
<b>Résultats et discussion.....</b>	<b>31</b>
I. Rendements en huile essentielle des différents échantillons .....	32
II. Analyse des huiles essentielles .....	33
III. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	36
III.1. Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	36
III.2. Pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	38
III.2.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme) .....	38
<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>
<b>Références Bibliographiques .....</b>	<b>44</b>
<b>Annexes .....</b>	<b>51</b>

## Liste des photos

- Photo 1** : Vue d'ensemble d'un pied de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Daïra d'Adrar, le 11/06/2020) ..... 24
- Photo 2** : Feuilles de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Daïra d'Adrar, le 11/06/2020)..... 24
- Photo 3** : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de la ciprofloxacine ..... 40



## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Schéma du montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau .....	16
<b>Figure 2</b> : Montage de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation .....	16
<b>Figure 3</b> : Schéma du principe d'extraction au CO <sub>2</sub> supercritique .....	17
<b>Figure 4</b> : Extraction par micro-ondes sans solvant .....	18
<b>Figure 5</b> : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	22
<b>Figure 6</b> : Situation géographique des lieux de prélèvements de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	24
<b>Figure 7</b> : Rendements (%) en huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> de la wilaya d'Adrar .....	32
<b>Figure 8</b> : Structure des composés majoritaires dans l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> d'Adrar.....	35
<b>Figure 9</b> : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> d'Adrar testées par la méthode de DPPH .....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle du romarin collecté en Algérie, au Maroc et en Tunisie .....	8
<b>Tableau 2 :</b> Origine des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	28
<b>Tableau 3 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	33
<b>Tableau 4 :</b> Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> des deux échantillons exprimée en $CI_{50}$ .....	37
<b>Tableau 5 :</b> Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (EC 1 et EC 2) de l'huile essentielle de <i>R. officinalis</i> relatives aux souches bactériennes selon la méthode de disque .....	38

## Liste des abréviations

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique

**APG III** : Angiosperm Phylogeny Group III

**ARN** : Acide Ribonucléique

**CPG(Ir)** : Chromatographie en Phase Gazeuse (associée aux Indices de rétention)

**CPG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**DO** : Densité optique

**ERO** : Espèces Réactives Oxygénées

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**UFC** : Unité Formant Colonie

# **Introduction**

## INTRODUCTION

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire (OMS, 2002) **(Toure, 2015)**

Les plantes médicinales et aromatiques furent utilisées par l'homme depuis l'antiquité. De nos jours, leur utilisation a pris un essor considérable dans les industries de parfum, des produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes sont la source principale de substances actives où au moins 35 000 espèces sont utilisées dans le monde. L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays. **(Mouas et al., 2017)**

Les plantes aromatiques sont des plantes produisant des aromates, autrement dit des composés parfumés. Elles rejoignent la cohorte des « herbes », terme par lequel on désignait autrefois toutes les plantes utiles à la cuisine, à la parfumerie, à la médecine, à l'agrément et qui n'étaient pas toutes parfumées. Elles avaient un rôle d'insecticide, entraient dans la préparation de la lessive et certaines étaient même parées de vertus magiques, bénéfiques ou maléfiques **(Schall, 2008)**.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la présence des huiles essentielles ou substances aromatiques qui sont des substances chimiques diverses et odorantes, fabriquées par la plante et stockées dans certaines parties (feuilles, fleurs, tiges, graines ou racines), sous l'action d'un stress, comme le vent, la chaleur, la coupure ou même le froissement entre les doigts. Ces éléments sont libérés dans l'atmosphère **(Polese et Devaux, 2001)**.

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe. Les composés terpéniques représentent les principaux constituants.

De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, des biologistes, .....et des médecins en raison de leur utilisation dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternative aux produits chimiques de synthèse **(Ouis, 2015)**.

Et devant cette grande diversité des plantes médicinales, et les propriétés nombreuses des huiles essentielles, nous avons choisi une espèce végétale cultivée à Adrar, à savoir : *Rosmarinus officinalis* L., qui est très répandu dans les régions nord de l'Algérie, dans un climat tempéré et semi-aride, et rarement dans les régions sahariennes. A notre connaissance, l'espèce de cette région n'a jamais fait l'objet d'une étude de la composition chimique.

## INTRODUCTION

Ainsi, notre travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des espèces aromatiques en déterminant les activités biologiques : antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de cette espèce végétale. Ainsi, la valorisation de ces produits naturels nécessite généralement une connaissance précise de leur composition chimique.

Cette étude est subdivisée en trois parties :

La première partie concerne une synthèse bibliographique qui comporte trois chapitres principaux. Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la description botanique de l'espèce étudiée et les travaux déjà réalisés sur cette plante. Dans le deuxième chapitre, nous avons abordé des généralités sur les huiles essentielles. Au cours du dernier chapitre, nous avons évoqué l'étude du pouvoir antioxydant et antimicrobien des huiles essentielles.

Dans la deuxième partie, nous présenterons le matériel et les méthodes utilisées dans cette étude. Cette partie est divisée en trois axes principaux. Dans le premier axe, nous avons réalisé l'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles de l'espèce végétale de *Rosmarinus officinalis*. Dans le deuxième axe, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'huile essentielle par la méthode de DPPH. Dans le troisième axe, nous nous sommes intéressés à l'étude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles par la technique de diffusion sur disque.

Enfin, dans la troisième partie du mémoire, nous avons rapporté les résultats obtenus, concernant les rendements, la composition chimique, l'étude des activités biologiques et la discussion de ces résultats avec la littérature et nous avons achevé ce mémoire par une conclusion et des perspectives.

# **Synthèse Bibliographique**

### Chapitre I : Synthèse bibliographique sur *Rosmarinus officinalis*

Le romarin dont le genre est *Rosmarinus*, dérive du latin : « ros » qui signifie « rosée » et « marinus » signifiant « littoral ». Il colonise souvent les zones rocheuses du bassin méditerranéen. Le romarin n'est donc autre que la « rosée de la mer » (**Santich et Geoff, 2013**).

Commun à l'état sauvage, le romarin est sans doute l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'il se rencontre dans tous les jardins et les parcs, en bordures odorantes dont les fleurs bleues, très intéressantes, s'épanouissent quasiment tout au long de l'année (**Beniston et Beniston, 1984**).

#### I. Description de la famille des Lamiacées

Les Lamiacées sont une importante famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 2 600 à 2 700 espèces, très voisines quant à leurs caractères botaniques et aromatiques (**Franchomme et al., 2001**).

Ce sont des plantes à feuilles opposées ou verticillées, ordinairement herbacées, frutescentes, arbustives, exceptionnellement arborescentes, voire lianescentes, écailleuses, ou même épineuses ; à tige tétragones, au moins pour les plus jeunes, à fleurs labiées (d'où l'ancien nom de famille), à divisions plus ou moins irrégulières, à quatre étamines, ordinairement didynames, rarement réduites à deux, fleurs zygomorphes, souvent plus ou moins actinomorphes (**Franchomme et al., 2001**).

Les Lamiacées s'étendent sur une aire de dispersion très étendue, surtout dans les régions tempérées et chaudes, particulièrement sur les rives septentrionales et orientales de la méditerranée ; sous les tropiques, on les rencontre surtout sur les montagnes, mais elles ne manquent nulle part (**Franchomme et al., 2001**).

Presque, toutes les Lamiacées contiennent, ordinairement dans des glandes épidermiques pédicellées, ou sessiles, des essences souvent complexes qui leur communiquent des propriétés thérapeutiques variables, et spécifiques, et font employer un certain nombre d'entre elles en parfumerie. Ces glandes se trouvent sur tous les organes végétatifs et reproducteurs, surtout sur les feuilles, ainsi que sur le calice des fleurs (**Franchomme et al., 2001**).

La plupart des espèces contiennent, en outre, des quantités notables de tanins, et quelques unes renferment des principes amers (germandrées) ou des acides phénols (romarins), etc. Seules, les Lamiacées possèdent des essences cétoniques qui sont neurotoxiques (**Franchomme et al., 2001**).



### II. Présentation du romarin

#### II.1. Historique

Faure raconte que le romarin est connu depuis la plus haute antiquité et est utilisé dans les cérémonies religieuses. Pour alimenter les ateliers crétois, il le faisait venir de Ligurie. A Rome, dans les jardins, ils installaient des plantes à parfum dont le romarin. Au moyen Age, ils étaient très sensibles aux vertus des plantes. Lieutaghi insiste sur ses propriétés médicinales et « l'eau de la reine de Hongrie » fut une réussite commerciale (Gilly, 2005).

Savoie (1987) a précisé que le romarin est un buisson « sempre-verde » et qu'en Italie, il fleurit toute l'année. En Corse, la récolte se faisait en novembre (Gilly, 2005).

Aujourd'hui, le romarin est un aromate culinaire et fournit une huile essentielle encore recherchée par l'industrie des parfums (Gilly, 2005).

#### II.2. Description botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

*Rosmarinus* est un arbuste ou sous-arbrisseaux ligneux très odorant. Les feuilles linéaires sont à marge révolutée, gaufrées, verdâtres en dessus, plus ou moins hispides blanchâtres en dessous. Le calice est en cloche, bilabié. La corolle est bleue pâle ou blanchâtre à 2 lèvres : la supérieure entière ou à peine émarginée pas plus longue que l'inférieure qui est trilobée (Quézel et Santa, 1963).

Selon Goetz et Ghedira (2012), le romarin est un arbrisseau touffu de 50 cm à 1,5 m de haut et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux et très feuillé. Les fleurs bilabiées, sont d'un bleu pâle ou blanchâtre maculées de tâches violettes rapprochées en petites grappes axillaires et terminales.

*Rosmarinus officinalis* a une inflorescence en épis très courts, à bractées squamiformes de 1 - 2 mm rapidement caduques. Le calice est à pilosité pruineuse très courte, constituée par des poils étroitement appliqués (Quézel et Santa, 1963).

#### II.3. Systématique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

Selon l'APG III, l'espèce *Rosmarinus officinalis* est classée comme suit :

- **Clade** : Spermaphytes
- **Clade** : Angiospermes
- **Clade** : Eudicots
- **Clade** : Lamiales
- **Famille** : Lamiacées
- **Genre** : *Rosmarinus* L.
- **Espèce** : *Rosmarinus officinalis* L.

### II.4. Usages thérapeutiques

Le romarin est une plante aromatique aux nombreuses propriétés thérapeutiques (**Lacoste, 2014**). La drogue est utilisée en compresses pour éviter les retards de cicatrisation et l'eczéma et comme insecticide. Elle est également utilisée comme additif de bain (drogue ou huile essentielle) pour stimuler la circulation sanguine et pour son effet vasodilatateur (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Par voie externe, la drogue est employée en traitement complémentaire des pathologies rhumatismales et des troubles circulatoires sous forme d'huiles, de pommades et de liniments. Elle est également utilisée en cas de nez bouché et de rhume et en bain de bouche pour l'hygiène buccale (**Goetz et Ghedira, 2012**).

En raison de sa teneur en huile essentielle, la drogue est utilisée comme carminatif et stomachique dans les troubles digestifs, les ballonnements, les flatulences et pour stimuler l'appétit et la sécrétion gastrique. Elle est également indiquée comme cholagogue et cholérétique. Le romarin peut être utilisé comme antiseptique léger et cicatrisant par voie locale (**Goetz et Ghedira, 2012**).

### II.5. Travaux antérieurs

#### II.5.1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'huile essentielle de *R. officinalis* a fait l'objet de plusieurs études (Tableau 1). Selon la littérature, cette huile essentielle est riche en monoterpènes, tels que : le 1,8-cinéole, le camphre, l' $\alpha$ -pinène, le camphène, l'acétate de bornyle, l' $\alpha$ -terpinéol et la verbénone comme composés majoritaires.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**Tableau 1 : Composés majoritaires identifiés dans l'huile essentielle du romarin collecté en Algérie, au Maroc et en Tunisie**

Parties utilisées	Composés identifiés	Lieu de récolte	Références bibliographiques
<b>Algérie</b>			
Feuilles, fleurs et petites tiges	*Composés identifiés dans HE extraite par entraînement à la vapeur d'eau : 1,8-cinéole (51,6%), camphre (14,1%), $\alpha$ -pinène (6,5%), $\beta$ -pinène (4,2%), bornéol (4,2%), camphène (3,4%), myrcène (2,9%), $\alpha$ -terpinéol (2,9%), $\beta$ -caryophyllène (1,8%).	Bordj Bou Arreridj	<b>Boutekedjiret <i>et al.</i>, 1997</b>
	*Composés identifiés dans HE extraite par hydrodistillation : 1,8-cinéole (31,9%), camphre (19,7%), $\alpha$ -terpinéol (12,8%), bornéol (12,1%), terpinéol-4 (4,0%), linalol (3,9%), acétate de bornyle (3,1%), $\beta$ -caryophyllène (3,0%), camphène (3,0%).		<b>Boutekedjiret <i>et al.</i>, 2003</b>
Feuilles, fleurs et petites tiges	-1,8-cinéole (52,4%), camphre (12,6%), $\alpha$ -pinène (5,7%), $\beta$ -pinène (5,2%), $\beta$ -caryophyllène (4,2%), bornéol (3,4%), camphène (3,0%), <i>p</i> -cymène (2,2%), $\alpha$ -terpinéol (2,1%).	Bordj Bou Arreridj	<b>Boutekedjiret <i>et al.</i>, 1998</b> <b>Boutekedjiret <i>et al.</i>, 2003</b>
Feuilles, fleurs et petites tiges	- (A1) : $\alpha$ -pinène (15,5%), $\beta$ -caryophyllène (10,6%), camphre (9%), verbénone (6,9%), nopol (5,7%), $\alpha$ -humulène (4,6%), thymol (4,5%), $\beta$ -bisabolène (3,4%), <i>p</i> -cymène (3,7%), limonène (3,3%), linalol (3,3%), 1,8-cinéole (2,7%), camphène (2,6%), acétate de bornyle (2,6%), bornéol (2,0%).	(A1) plantation de l'Institut National d'Agronomie d'Alger	<b>Boutekedjiret <i>et al.</i>, 2005</b>
	- (A2) : camphre (12,3%), bornéol (11,9%), $\beta$ -caryophyllène (9,6%), verbénone (8,7%), 1,8-cinéole (5,7%), acétate de bornyle (4,6%), linalol (4,0%), $\alpha$ -pinène (3,4%), calamenène (2,9%), Iso pinocampone (2,1%), $\alpha$ -terpinéol (2,0%).	(A2) jardin de l'École Nationale Polytechnique d'Alger	
	- (B) : 1,8-cinéole (52,4%), camphre (12,6%), $\beta$ -pinène (5,7%), $\alpha$ -pinène (5,2%), $\beta$ -caryophyllène (4,2%), bornéol (3,4%), camphène (3,0%), <i>p</i> -cymène (2,2%), $\alpha$ -terpinéol (2,1%).	(B) zone de Bibans située à 200 km à l'Est d'Alger	
	- (D) : camphre (33,6%), camphène (10,5%), $\alpha$ -pinène (10,0%), limonène (4,5%), calamenène (3,6%), 1,8-cinéole (3,5%), <i>p</i> -cymène (3,4%), $\beta$ -caryophyllène (3,0%), $\alpha$ -bisabolol (2,4%), bornéol (2,2%).	(D) Djelfa	
	- (L) : camphre (33,1%), camphène (10,1%), $\alpha$ -pinène (9,7%), 1,8-cinéole (6,4%), $\beta$ -caryophyllène (5,7%), calamenène (4,1%), calamenène (3,5%), bornéol (2,7%), $\alpha$ -bisabolol (2,1%), $\alpha$ -amorphène (2,0%).	(L) Laghouat	
Parties aériennes	- 1,8-cinéole (29,5%), 2-éthyl-4,5-diméthylphénol (12,0), camphre (11,5%), bornéol (9,4%), $\alpha$ -terpinéol (9,2%), $\alpha$ -pinène (7,5%), camphène (5,0%), 2,7-dimethylocta-2,6-dienol (4,0%), $\beta$ -pinène (3,2%), acétate de bornyle (3,0%).	Oued Souf	<b>Kabouche <i>et al.</i>, 2005</b>

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Parties aériennes	- camphre (14,6%), 1,8-cinéole (12,2%), $\beta$ -caryophyllène (10,9%), bornéol (10,6%), $\beta$ -pinène (8,5%), camphène (7,2%), $\alpha$ -pinène (5,4%), acétate de bornyle (5,3%), $\alpha$ -terpinéol (5,2%), Oxyde de caryophyllène (3,1%), $\alpha$ -humulène (3,0%), linalol (2,2%).	Le parc national El Hamma (nord de l'Algérie)	<b>Djeddi et al., 2007</b>
Feuilles et fleurs	- camphre (13,8%), $\alpha$ -pinène (12,6%), 1,8-cinéole (11,8%), bornéol (10,1%), linalol (5,9%), verbénone (5,9%), limonène (4,0%), iso pinocamphone (3,6%), camphène (2,9%), <i>p</i> -cymène (2,4%), 3- $\delta$ -carène (2,1%).	- Daïra de Tlemcen (Cultivé)	<b>Atik-Bekkara et al., 2007</b>
	- $\alpha$ -pinène (23,1%), camphre (14,5%), $\beta$ -pinène (12,2%), 1,8-cinéole (5,0%), camphène (4,6%), myrcène (4,5%), acétate de bornyle (3,6%), iso pinocamphone (3,6%), limonène (3,2%), terpinéol-4 (2,0%).	- Daïra de Honâine (Spontané)	
Parties aériennes	- eucalyptol (35,5%), camphre (14,1%), $\alpha$ -pinène (11,5%), camphène (8,0%), bornéol (5,3%), $\beta$ -caryophyllène (5,1%), $\beta$ -pinène (4,0%), $\alpha$ -terpinéol (3,6%), <i>p</i> -cymène (2,0%).	Kherrata (Béjaïa)	<b>Lograda et al., 2013</b>
	- Eucalyptol (42,2%), $\alpha$ -pinène (13,8%), camphre (9,1%), bornéol (7,3%), camphène (5,3%), $\alpha$ -terpinéol (5,2%), <i>p</i> -cymène (2,9%).	Bibans (Bordj Bou Arreridj)	
	- $\alpha$ -pinène (25,2%), camphre (24,1%), camphène (22,7%), eucalyptol (8,8%), limonène (4,6%), <i>p</i> -cymène (2,3%).	Boutaleb (Setif)	
	- camphre (38,8%), $\alpha$ -pinène (16,9%), %, camphène (13,8%), eucalyptol (5,4%), limonène (4,5%), bornéol (3,4%), <i>p</i> -cymène (1,9%).	Agmeroual (Batna)	
	- camphre (16,9%), $\alpha$ -pinène (13,6%), eucalyptol (12,1%), bornéol (11,9%), linalol (5,1%), verbénone (3,9%), limonène (3,8%), camphène (3,7%), $\alpha$ -terpinéol (2,6%), <i>cis</i> -pinocamphone (2,3%), <i>p</i> -cymène (2,2%).	N'gaous (Batna)	
	- camphre (42,7%), camphène (17,7%), $\alpha$ -pinène (15,1%), eucalyptol (6,6%), bornéol (3,3%), limonène (3,2%), <i>p</i> -cymène (1,7%), $\beta$ -pinène (1,4%), terpinéol-4 (1,3%), $\alpha$ -terpinéol (1,3%).	Boussâada (M'sila)	
Parties aériennes	-1,8-cinéole (72,9%), camphre (17,2%), bornéol (4,2%), sabinène (2,4%), terpinéol-4 (1,9%).	Youkous (Tébessa)	<b>Boutabia et al., 2016</b>
	-1,8-cinéole (32,6%), sabinène (15,9%), camphène (14,4%), bornéol (9,7%), pinocamphone (6,2%), camphre (4,5%), terpinéol-4 (3,6%), $\alpha$ -pinène (3,4%), $\alpha$ -terpinéol (3,3%), <i>p</i> -cymène (1,6%), verbénone (1,0%).	Draa Hammam (Tébessa)	
	-1,8-cinéole (32,8%), sabinène (16,0%), camphène (14,5%), bornéol (9,7%), pinocamphone (6,2%), camphre (4,5%), terpinéol-4 (3,7%), $\alpha$ -pinène (3,4%), $\alpha$ -terpinéol (3,3%), <i>p</i> -cymène (1,6%), $\beta$ -pinène (1,5%), verbénone (1,0%).	Ammacha (Tébessa)	
Feuilles et fleurs	- verbénone (23,5%), camphre (22,4%), bornéol (16,6%), eucalyptol (11,7%), linalol (6,4%), iso pinocamphone (4,8%), $\alpha$ -terpinéol (3,3%).	Mascara	<b>Belkhodja et al., 2016</b>

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Parties aériennes	- camphre (39,7%), 1, 8-cinéole (18,3%), $\alpha$ -pinène (13,2%), camphène (9,5%).	Djelfa	<b>Lakehal <i>et al.</i>, 2018</b>
Parties aériennes	- $\alpha$ -pinène (13,5-28,5%), camphène (4,6-22,4%), <i>p</i> -cymène (0,5-3,3%), limonène (0,8-4,9%), 1,8-cinéole (2,7-47,6%), camphre (3,1-41,2%), bornéol (0,8-6,5%), $\beta$ -caryophyllène (0,4-6,5%).	15 échantillons	<b>Hendel <i>et al.</i>, 2019</b>
<b>Maroc</b>			
Feuilles	- 1,8-cinéole (43,5-57,7%), $\alpha$ -pinène (9,6-12,7%), camphre (7,4-10,8%), $\beta$ -pinène (5,5-7,8%), camphène (3,2-4,0%), bornéol (3,0-4,5%), $\beta$ -caryophyllène (0,5-4,3%), <i>p</i> -cymène (1,0-2,5%), limonène (1,8-2,1%), verbénone (0,0-0,5%).		<b>Chalchat <i>et al.</i>, 1993</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (54,8%), camphre (8,6%), $\beta$ -pinène (6,8%), myrcène (3,3%), $\alpha$ -pinène (3,2%), camphène (2,1%), limonène (2,1%), bornéol (2,1%).	Elateuf et Debdou	<b>Elamrani <i>et al.</i>, 2003</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (50,5%), $\alpha$ -pinène (15,8%), camphre (11,6%), camphène (6,8%), $\beta$ -pinène (4,8%), bornéol (2,6%), <i>p</i> -cymène (2,2%), acétate de bornyle (2,1%).	Rabat Zemour-Zaers	Salé <b>Alnamer <i>et al.</i>, 2011</b>
Feuilles	- camphre (35,9%), camphène (19,7%), $\alpha$ -pinène (14,5%), 1,8-cinéole (6,5%), limonène (6,5%), $\beta$ -pinène (4,6%), bornéol (3,4%).	Montagnes Snassen)	Beni- <b>Fadel <i>et al.</i>, 2011</b>
Parties aériennes	- $\alpha$ -pinène (36,2%), 1,8-cinéole (33,9%), camphène (6,1%), camphre (5,1%), verbénone (4,3%), bornéol (4,2%), sabinène (3,4%).	Agadir	<b>Megzari <i>et al.</i>, 2015</b>
	- acétate de bornyle (31,2%), $\alpha$ -pinène (15,8%), camphène (13,1%), sabinène (7,1%), oxyde de caryophyllène (4,7%), $\delta$ -3-carène (4,5%), $\beta$ -caryophyllène (4,1%), bornéol (3,6%), camphre (3,3%), acétate d' $\alpha$ -terpinyle (2,9%), 1,8-cinéole (1,2%), verbénone (0,3%).	Oued Laou	
	- 1,8-cinéole (35,9%), $\alpha$ -pinène (16,6%), camphène (13,7%), camphre (6,4%), sabinène (6,0%), bornéol (4,8%), oxyde de caryophyllène (3,8%), $\beta$ -caryophyllène (2,6%).	Ayoune Charquia	
Feuilles	- camphre (22,1%), 1,8-cinéole (18,4%), $\alpha$ -pinène (12,2%), camphène (6,8%), oxyde de caryophyllène (6,3%), $\beta$ -myrcène (5,1%), $\beta$ -pinène (4,1%), limonène (4,0%).	Sefrou	
Feuilles	- 1,8-cinéole (46,2 ; 17,0%), camphre (17,3 ; 21,3%), $\alpha$ -pinène (1,9 ; 9,2%), camphène (2,6 ; 7,4%), bornéol (6,8 ; 4,8%), caryophyllène (2,3 ; 6,4%), $\beta$ -pinène (5,6 ; 8,6%), $\alpha$ -terpinéol (5,3 ; 1,9%), terpinéol-4 (2,2 ; 2,8%).	Moyen Atlas et Loukkos	<b>Hannour <i>et al.</i>, 2017</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (51,6-54,9%), camphre (12,6-16,9%), bornéol (5,3-8,6%), $\alpha$ -pinène (6,4-8,5%), $\alpha$ -terpinéol (2,8-3,7%), $\beta$ -pinène (0,8-3,2%).	Debdou	<b>Ismailiet <i>et al.</i>, 2017</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (35,7%), $\alpha$ -pinène (20,0%), 2-hepténal (9,8%), camphre (9,6%), ( <i>Z</i> )- $\beta$ -ocimène (7,7%), $\alpha$ -humulène (4,6%), 1-octen-3-one (3,5%).	Oujda	<b>Aitboulahsen <i>et al.</i>, 2018</b>

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Feuilles	- 1,8-cinéole (53,2%), camphre (22,5%), $\alpha$ -pinène (8,2%), $\alpha$ -terpinéol (5,0%), camphène (4,2%), bornéol (2,8%).	Skoura m'daz	<b>El Kamli <i>et al.</i>, 2019</b>
Feuilles et tiges	- 1,8-cinéole (33,9%), camphre (14,7%), $\alpha$ -pinène (12,8%), $\beta$ -pinène (7,2%), myrcène (4,5%), ledène (3,9%), $\beta$ -caryophyllène (3,8%), $\beta$ - <i>trans</i> -terpinéol (3,5%), oxyde de caryophyllène (2,8%), camphène (2,5%), $\alpha$ -terpinéol (2,3%).	Er-Rich	<b>Chraïbi <i>et al.</i>, 2020</b>
<b>Tunisie</b>			
Feuilles	- 1,8-cinéole (23,3-59,1%), camphre (1,8-37,3%), bornéol (1,4-17,5%), camphène (1,2-15,4%), $\alpha$ -pinène (6,8-13,1%), $\alpha$ -terpinéol (1,7-6,1%), verbénone (0,0-0,2%).	6 stations	<b>Zaouali <i>et al.</i>, 2010</b>
Feuilles et fleurs	- 1,8-cinéole (50,0%), camphre (11,9%), $\alpha$ -pinène (10,0%), $\beta$ -pinène (6,5%), caryophyllène (3,9%), camphène (3,7%), bornéol (3,5%), <i>p</i> -menth-1-en-8-ol (2,2%).	Hadjeb Elayoun	<b>Mathlouthi <i>et al.</i>, 2011</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (23,2-52,6%), camphre (7,2-27,5%), $\alpha$ -pinène (7,1-10,4%), bornéol (3,3-10,0%), camphène (2,1-11,1%), $\alpha$ -terpinéol (1,6-3,5%), acétate de bornyle (0,3-4,2%), <i>trans</i> -caryophyllène (1,1-7,7%).	Plusieurs stations	<b>Ben Jemia <i>et al.</i>, 2014</b>
Feuilles	- 1,8-cinéole (29,1-60,4%), camphre (5,9-28,0%), $\alpha$ -pinène (6,8-12,6%), camphène (1,6-12,9%), bornéol (2,6-12,6%), $\beta$ -pinène (0,7-4,5%), $\alpha$ -terpinéol (0,0-3,9%), $\beta$ -fenchyl alcool (0,0-5,8%), <i>p</i> -cymène (0,7-3,1%), acétate de bornyle (0,4- 4,8%), <i>trans</i> -caryophyllène (0,4-3,3%).	13 stations	<b>Yeddes <i>et al.</i>, 2018</b>
Feuilles et fleurs	- 1,8-cinéole (47,2 ; 37,6%), camphre (13,3 ; 7,1%), $\alpha$ -pinène (7,0 ; 19,4%), bornéol (5,4 ; 4,4%), $\beta$ -pinène (4,6 ; 3,6%), camphène (2,7 ; 6,5%), ( <i>E</i> )-caryophyllène (5,2 ; 5,0%), $\alpha$ -terpinéol (2,6 ; 1,6%), limonène (0,0 ; 2,5%).	Seliana	<b>Ben kaab <i>et al.</i>, 2019</b>
Feuilles et fleurs	- 1,8-cinéole (47,2 ; 37,6%), camphre (13,3 ; 7,1%), $\alpha$ -pinène (7,0 ; 19,4%), bornéol (5,4 ; 4,4%), $\beta$ -pinène (4,6 ; 3,6%), camphène (2,7 ; 6,5%), ( <i>E</i> )-caryophyllène (5,2 ; 5,0%), $\alpha$ -terpinéol (2,6 ; 1,6%), limonène (0,0 ; 2,5%).	Sbikha	<b>Moumni <i>et al.</i>, 2020</b>

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En Afrique du Nord, divers articles font état de romarins poussant à l'état spontané ou cultivé.

En ce qui concerne l'Algérie, les données de la littérature traitant la composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* montrent une variabilité chimique importante. Peu d'échantillons correspondent au chémotype 1,8-cinéole majoritaire. L'association  $\alpha$ -pinène/1,8-cinéole/camphre semble la plus fréquemment retrouvée. Le camphène ou le bornéol peuvent être ponctuellement importants. La verbénone est très souvent absente mais peut atteindre jusqu'à 23% (Tableau 1).

En ce qui concerne les travaux antérieurs réalisés sur la caractérisation chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* récoltés dans différentes régions du Maroc, le 1,8-cinéole est le composé majoritaire, associé au camphre, à l' $\alpha$ -pinène et dans certains cas, au bornéol, à l' $\alpha$ -terpinéol, au  $\beta$ -pinène et au camphène. Cependant, certains auteurs rapportent des compositions différentes (Elamrani *et al.*, 2003 ; Fadel *et al.*, 2011 ; Ismaili *et al.*, 2017 ; Aitboulahsen *et al.*, 2018 ; El Kamli *et al.*, 2019) (Tableau 1).

De même, dans la majorité des travaux antérieurs, l'huile essentielle du romarin de Tunisie est caractérisée par 1,8-cinéole très majoritaire ou bien associé au camphre, à l' $\alpha$ -pinène et/ou au bornéol et dans de rares cas au camphène (Tableau 1).

### II.5.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

De nombreuses études ont évalué l'activité antimicrobienne qui a montré différents degrés d'activité.

En 2015, Outaleb *et al.* ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis de huit bactéries et sept champignons. Ils avancent une très faible activité l'huile essentielle de deux échantillons de *Rosmarinus officinalis* avec des CMI variant entre 4 et 20  $\mu$ l/ml.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* récolté à Tébessa vis-à-vis de trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter* sp.) par la technique d'aromatogramme montre que le pouvoir antimicrobien est modéré avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 14,0 et 18,1 mm (Boutabia *et al.*, 2016).

De même, Ouibrahim *et al.* (2013) ont testé l'activité antibactérienne d'échantillon de l'huile essentielle *R. officinalis*, vis-à-vis de 20 souches bactériennes. Ils avancent un pouvoir antibactérien faible voir modérée avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 8,7 et 16,4 mm.

Hendel *et al.* (2019) ont testé l'activité antibactérienne de 15 échantillons, récoltés dans plusieurs régions d'Algérie, vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ils

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

avancent également un pouvoir antibactérien faible voir modérée contre ces deux souches bactériennes avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 10,0 et 14,6 mm.

En revanche, **Lakehal et al.**, en **2018**, ont étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de romarin collecté à Djelfa, vis-à-vis de cinq souches microbiennes : *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Elles se sont révélées sensibles à l'huile essentielle étudiée, avec des zones d'inhibition de l'ordre de : 13,0 ; 17,0 ; 22,0 et 28,0 mm, respectivement). Par contre, *Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée résistante.

De même, **Mouas et al.**, en **2017**, ont déterminé l'activité antimicrobienne de d'huile essentielle du romarin de deux régions : Blida et Djelfa. Les données indiquent que les souches les plus sensibles aux huiles essentielles des deux écotypes, sont : *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec respectivement un diamètre de 23,75 mm et 22,75 mm, respectivement pour Blida et 16,75 mm et 14,25 mm, respectivement pour Djelfa.

En **2005**, **Kabouche et al.** ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis de huit souches microbiennes : *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* et *S. aureus*. Seules *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* se sont avérés sensibles, avec une CMI de l'ordre de 0,625 et 2,5 µg/ml, respectivement.

En revanche, l'étude réalisée par **Djeddi et al. (2007)** sur l'huile essentielle du romarin, a montré une forte activité contre *S. aureus*, *S. epidermis*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *E. coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 19,3 et 34,1 mm, une faible activité contre *Salmonella bruneii* et aucune sensibilité vis-à-vis de *C. albicans*.

**Hendel et al.** en **2019** rapportent aussi un pouvoir antioxydant important de certains échantillons de l'huile essentielle *R. officinalis* récoltés dans plusieurs régions en Algérie. En effet, ils avancent des  $CI_{50}$ , pour six échantillons sur quinze, variant entre  $120,4 \pm 2,21$  et  $176,8 \pm 15,92$  µl/ml, plus faibles que celle du trolox ( $185,21 \pm 7,23$  µl/ml) qui est utilisé comme composé de référence.



### Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles

#### I. Définition

Il s'agit de mélange de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Elles sont extraites de la plante aromatique grâce à des procédés physiques. Les huiles essentielles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plante (**Teuscher *et al.*, 2005**).

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation (**Raynaud, 2006**).

#### II. Localisation

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Elles sont alors soit stockées dans une cellule transformée en cellule à essence, ou dans des poils glandulaires, des poches sécrétrices, des canaux sécréteurs voire des papilles. Elles peuvent être transportées dans l'espace intercellulaire lorsque les poches à essence sont localisées dans les tissus internes (**Teuscher *et al.*, 2005**).

Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante :

- Les feuilles, exemples : eucalyptus, menthe, thym, laurier, sauge, aiguilles de pin.
- Les organes souterrains, exemples : racines (vétiver), rhizomes (gingembre).
- Les fruits, exemples : noix de muscade.
- Les fleurs, exemples : orange, rose, lavande,
- Le bois et les écorces, exemples : cannelle, santal, bois de rose (**Raynaud, 2006**).

Plus de 2 000 espèces de plantes sont riches en huiles essentielles. Elles sont réparties sur 60 familles dont les principaux sont : Lauracées, Labiées, Ombellifères, Rutacées, Composées, Myrtacées et les Pinacées.

#### III. Propriétés physiques

Les huiles essentielles doivent répondre à des critères physiques imposés par des normes :

- Ce sont généralement des liquides à température ambiante, d'odeur aromatique très prononcée ;
- Leur consistance est huileuse mais non grasse ;

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- Elles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes ;
- Leur coloration varie de l'incolore au brun clair, à l'exception de celle d'azulène qui est bleue, celle de la cannelle qui est rougeâtre et de l'absinthe qui est verte ;
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (de 0,850 à 0,950). Cependant, il existe des exceptions telles que l'huile essentielle de cannelle et de clou de girofle dont la densité est comprise entre 1,025 - 1,070 et 1,044 - 1,057, respectivement ;
- Leur point d'ébullition varie de 160 ° à 240 °C ;
- Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau ; elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (eau aromatique) ;
- Elles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques ;
- Elles s'oxydent facilement à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène ;
- Leur indice de réfraction est assez élevé, par exemple : coriandre : 1,4620 - 1,4700 et vétiver bourbon : 1,5220 - 1,5300. Elles sont donc douées de pouvoir rotatoire (**Bouhaddouda, 2016**).

La conservation des huiles essentielles nécessite de l'obscurité. De ce fait, l'utilisation de flacons en verre opaque est conseillée (**Couic-Marinier et Lobstein, 2003**).

### IV. Composition chimique

Jusqu'à présent, plus de 3 000 constituants ont été isolés à partir des huiles essentielles (**Teuscher *et al.*, 2005**).

On distingue deux classes, en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes (**Buchanan *et al.*, 2000**).

**IV.1. Terpénoïdes :** Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène (**Bakkali *et al.*, 2008**).

**IV.2. Phénylpropanoïdes :** Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les composés terpéniques.

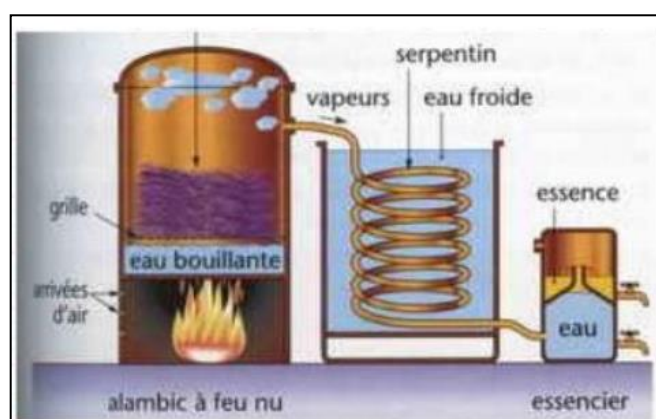
### V. Méthodes d'extraction

La préparation des huiles essentielles se fait généralement par entraînement à la vapeur d'eau, plus rarement par extraction fractionnée au CO<sub>2</sub> supercritique. Il est alors évident que les profils chimiques des deux produits obtenus sont complètement différents (**Teuscher *et al.*, 2005**).

## V.1. Techniques conventionnelles d'extraction

### V.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

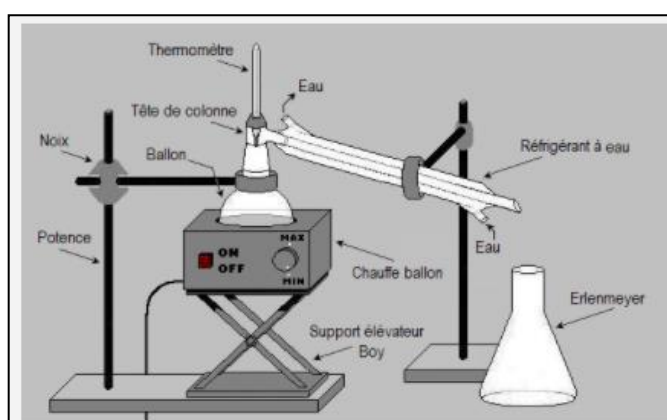
C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. Dans ce système d'extraction (Figure 1), le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique (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 (**Boukhatem et al., 2019**).



**Figure 1 : Schéma du montage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (Issaadi-Hamitouche, 2016)**

### V.1.2. Hydrodistillation

C'est la technique (Figure 2) la plus simple et la plus répandue. Elle consiste à immerger la matière première directement dans l'eau, puis l'ensemble est porté à ébullition. L'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. Les vapeurs formées sont condensées par un système de réfrigération par courant d'eau (**Ouis, 2015**).



**Figure 2 : Montage de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation (Anonyme I)**

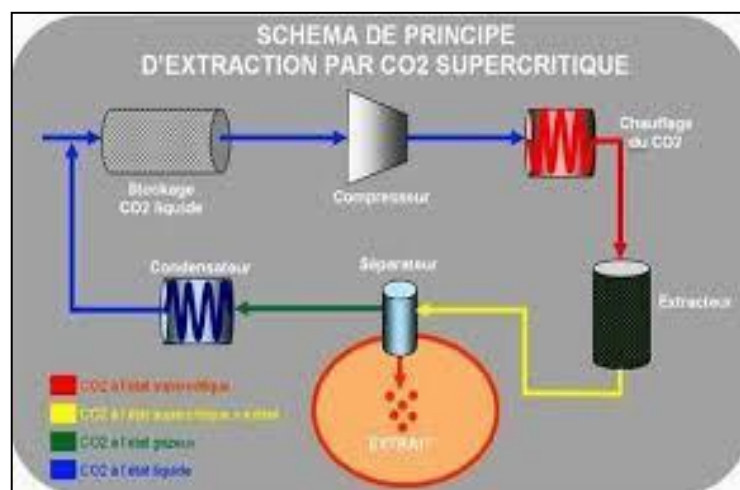
### V.1.3. Extraction par solvant organique

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances (Boukhatem *et al.*, 2019).

### V.2. Extraction par des techniques innovantes

#### V.2.1. Extraction par du CO<sub>2</sub> supercritique

La technique (Figure 3) est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (El Haib, 2011).



**Figure 3 : Schéma du principe d'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique (Anonyme II)**

#### V.2.2. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes (Figure 4) appelée consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante. Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de la matière végétale fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivants : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (**Bencheikh, 2017**).

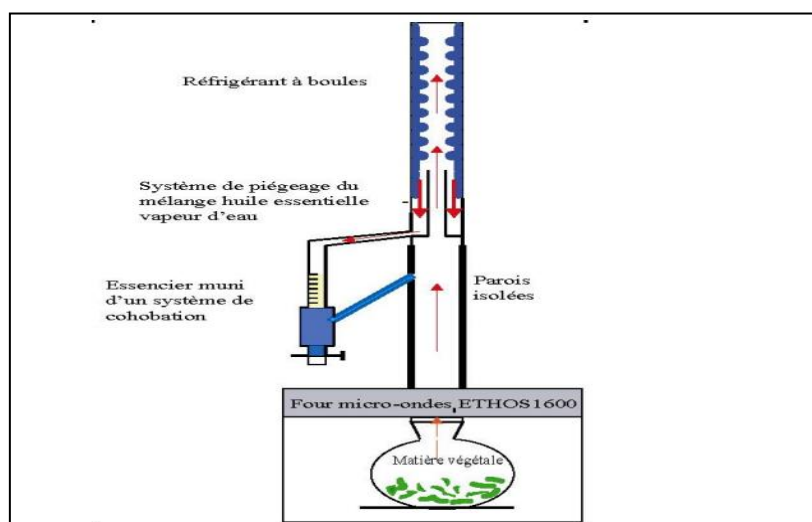


Figure 4 : Extraction par micro-onde sans solvant (Bousbia, 2011)

## VI. Activités biologiques des huiles essentielles

### VI.1. Activité antimicrobienne

Les vertus antimicrobiennes des huiles essentielles sont bien connues. En Effet, de nombreux travaux de recherche ont mis en évidence leur puissante activité antiseptique agissant aussi bien sur les bactéries, les champignons pathogènes que sur les virus leur conférant ainsi diverses indications thérapeutiques (**Lakhdar, 2015**).

La plupart des drogues à huiles essentielles, ainsi que les huiles essentielles elles-mêmes, possèdent des propriétés antimicrobiennes plus ou moins prononcées. En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des micro-organismes. Ils inhibent notamment les échanges des électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives et à la dénaturation des protéines cytoplasmiques (**Teuscher et al., 2005**).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été la plus étudiée. On distingue deux sortes d'effets des huiles essentielles sur ces micro-organismes (**Lakhdar, 2015**) :

- Effet bactéricide : exerçant une activité létale ;
- Effet bactériostatique : entraînant une inhibition de la croissance.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

L'activité bactériostatique est souvent plus assimilable aux huiles essentielles que l'activité bactéricide. Cependant, il a été démontré que certains constituants chimiques des huiles essentielles ont des propriétés bactéricides. En effet, des dommages au niveau des cellules de différents micro-organismes ont été rapportés, illustrés par microscopie électronique. Citons, l'effet bactéricide des huiles essentielles riches en monoterpénols et en phénols sur *Staphylococcus aureus*, ou encore celui de l'*Origanum compactum* sur *Escherichia coli* (**Lakhdar, 2015**).

Toutefois, cette action bactéricide des huiles essentielles sur la cellule bactérienne demeure encore insuffisamment élucidée. Plusieurs mécanismes seraient mis en jeu (**Lakhdar, 2015**) :

- Précipitation des protéines et des acides nucléiques ;
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (AND, ARN, protéines et peptidoglycanes) ;
- Inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration membranaire ;
- Inhibition de la glycolyse ;
- Absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne avec inhibition des processus de respiration, d'absorption et d'excrétion.

### VI.1.1. Facteurs influençant l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles dépend de deux principaux paramètres : l'huile essentielle et sa composition chimique d'une part, et le micro-organisme (type, structure...) d'autre part (**Lakhdar, 2015**).

#### -a- Activité liée à la composition chimique

L'activité des huiles essentielles est souvent réduite à l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. Toutefois, les composés minoritaires pourraient agir de manière synergique (**Lakhdar, 2015**).

De nombreuses études ont mis en évidence une activité antimicrobienne qualitativement similaire entre les huiles essentielles et leurs composés chimiques testés isolément. Cependant, il existe des différences quantitatives. En effet, il a été prouvé que l'effet antimicrobien des huiles essentielles est supérieur à celui de ses composés majoritaires testés séparément. Et selon l'étude de Lambert *et al.* (2001), l'association des principaux composés actifs agirait de façon synergique (**Lakhdar, 2015**).

Les composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, ( $\alpha$ -terpinéol, terpinéol-4, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures (**Lakhdar, 2015**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent. Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane. Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles ; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte (**Lakhdar, 2015**). Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules, en dénaturant les protéines. Les aldéhydes sont de puissants agents antimicrobiens en réagissant avec les composés nitrés vitaux (protéines et acides nucléiques) des bactéries (**Lakhdar, 2015**).

### **-b- Activité liée aux micro-organismes**

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, biostatique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de micro-organisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en biofilm, à son métabolisme et à sa résistance. En effet, les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram positif. Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffère selon que la bactérie croît en forme planctonique ou au sein d'un biofilm bactérien (**Lakhdar, 2015**).

### **VI.1.2. Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne**

#### **-a- Méthode de diffusion sur disque**

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles. Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier de 6 mm sur lequel, on dépose une quantité donnée d'huile essentielle. Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition (**Lakhdar, 2015**).

### **VI.2. Activité antioxydante**

Les cellules et les tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène (**Toure, 2015**).

### VI.2.1. Différents types de radicaux libres

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et/ou, un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe (Toure, 2015).

Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2\bullet$ ), le radical hydroxyle ( $OH\bullet$ ), le monoxyde d'azote ( $NO\bullet$ ), le radical peroxyde ( $ROO\bullet$ ) et le radical alkoxy ( $RO\bullet$ ). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule (Toure, 2015).

### VI.2.2. Origine et production des espèces réactives oxygénées

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ERO. Selon certains auteurs, environ 1 à 3% de l'oxygène utilisé par la mitochondrie sont incomplètement réduit et produisent des anions superoxydes, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux hydroxyles (Toure, 2015).

A cela, s'ajoute d'autres facteurs qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres. On peut citer entre autres, les rayonnements UV capables de générer des anions superoxydes ou de l'oxygène singulet. Les rayons X ou  $\gamma$  sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo-sensibilisants. Les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ERO. Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter. Des infections bactériennes ou virales provoquent, elles aussi selon Aourousseau (2002), des phénomènes radicalaires à caractère exponentiel après augmentation de la population des macrophages impliqués dans leur élimination (Toure, 2015).

### VI.2.3. Dommages oxydatifs des radicaux libres

Les phénomènes radicalaires de base sont utiles au bon fonctionnement de l'organisme. L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité de ces phénomènes augmente anormalement et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif ». Tous les tissus et leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN. Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies. Parmi lesquelles, maladies : d'Alzheimer, Parkinson, Creutzfeldt Jacob



et méningo-céphalites, les maladies cardiovasculaires et déficience cardiaque, les œdèmes, le vieillissement prématuré de la peau et le cancer (Toure, 2015).

#### VI.2.4. Propriétés antioxydantes des huiles essentielles

Les plantes aromatiques élaborent, comme d'ailleurs la plupart des substances d'origine végétale, des molécules capables de piéger les radicaux libres, d'où leur effet antioxydant (Teuscher *et al.*, 2005).

Parmi les plantes aromatiques douées d'activité antioxydante : la sarriette, la marjolaine, le clou de girofle, le piment, le gingembre, le curcuma, la marjolaine, la noix de muscade, le poivre, le romarin, la sauge, le thym et l'oignon (Teuscher *et al.*, 2005).

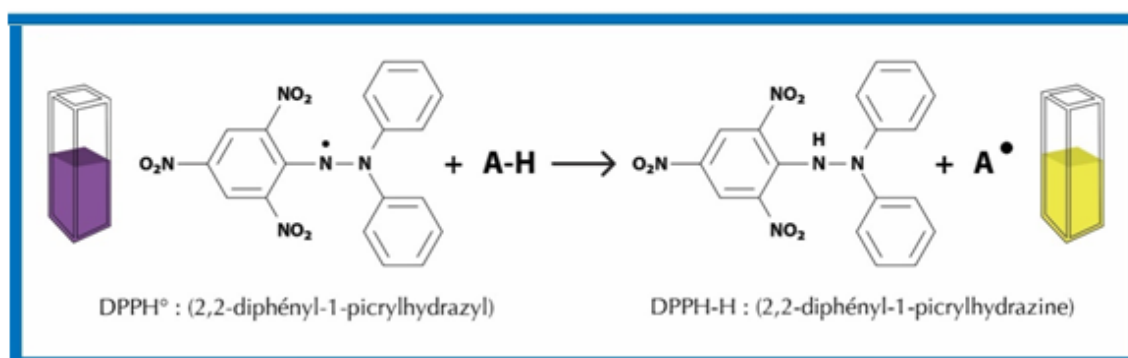
Les activités antioxydantes et anti-radicalaires des épices et des aromates se conservent généralement même après la cuisson, comme cela a été démontré *in vitro*. Ainsi, de nombreuses épices peuvent freiner la formation dans les aliments et dans l'estomac de composés cancérigènes, comme la nitrosamine et inhiber ainsi le développement tumoral. Les constituants des plantes aromatiques qui captent les radicaux libres sont en partie résorbés et parviennent dans la circulation sanguine (Teuscher *et al.*, 2005).

#### VI.2.5. Méthode d'étude de l'activité antioxydante

L'examen des données bibliographiques fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante. Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons celui couramment cités et qui est utilisé au cours de notre étude :

➤ **Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)**

Ce dosage spectrophotométrique est basé sur la réduction du radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée en DPPH réduit (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune (Figure 5), facilement mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515 à 520 nm. Cette réduction est due à l'aptitude des composés antioxydants à céder des protons ou des électrons (Gazi *et al.*, 2004).



**Figure 5 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH**

# **Partie Expérimentale**

## **I. Matériel végétal et extraction des huiles essentielles**

Afin de valoriser la flore médicinale algérienne, nous nous sommes proposés d'étudier la composition chimique et les activités biologiques de l'huile essentielle de l'espèce végétale : *Rosmarinus officinalis* (Photo 1 et 2) appartenant à la famille des Lamiacées.



**Photo 1 : Vue d'ensemble d'un pied de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Daïra d'Adrar, le 11/06/2020)**



**Photo 2 : Feuilles de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Daïra d'Adrar, le 11/06/2020)**

La récolte du matériel végétal a été effectuée dans trois stations de la wilaya d'Adrar (Figure 6) qui se situe à 1500 km d'Alger, à l'extrême sud du pays.

Les prélèvements ont été réalisés sur quatre périodes différentes : Daïra d'Adrar (Station 1 : 4 échantillons (E1-E4) en juillet 2019, 5 échantillons (E5-E9) en octobre 2019 à partir de pieds individuels et un échantillon collectif (E10) en novembre 2019, Station 2 : un échantillon collectif (E11) en décembre 2019 ; Daïra de Timimoun (un échantillon collectif (E12) en décembre 2019).

Après la récolte, les feuilles de *R. officinalis* ont été séchées à l'air libre et dans un endroit aéré pendant 10 jours.



**Figure 6 : Situation géographique des lieux de prélèvements de *Rosmarinus officinalis***

## **II. Extraction des huiles essentielles**

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au laboratoire des «Produits Naturels» par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger en mélangeant les matières végétales avec de l'eau dans un ballon de 2 litres. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2 heures. Le chauffage permet l'éclatement des glandes contenant l'huile essentielle dans la structure végétale puis la libération des molécules volatiles. Les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide conduisant à une phase organique (huile essentielle) qui est séparée de l'hydrolat par décantation.

Pour éviter leur dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, les huiles essentielles étaient conservées dans des piluliers en verre à  $4 \pm 1^\circ \text{C}$  à l'abri de la lumière.

## **III. Détermination des rendements en huiles essentielles**

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétal sèche à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt}\% = M/M_0 * 100$$

**Rdt%** : Rendement en huile essentielle

**M** : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

**M<sub>0</sub>** : Masse de matière végétale à traiter (g)

## **IV. Analyse des huiles essentielles**

L'analyse des échantillons a été réalisée par les techniques chromatographique et spectrométriques (CPG(Ir) et CPG/SM) au niveau du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS.

### **IV.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer Clarus 500, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur et de deux colonnes capillaires de dimensions (50 m x 0,22 mm ; épaisseur du film : 0,25  $\mu\text{m}$ ), apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane) et polaire (BP-20, polyéthylène glycol).

## PARTIE EXPERIMENTALE

### IV.1.1. Conditions opératoires

Le gaz vecteur est l'hydrogène (0,8 ml/min), avec une pression en tête de colonne de 25 psi ; la température de l'injecteur et du détecteur est de 250 °C ; la température est programmée depuis 60 °C jusqu'à 220 °C, à raison de 2 °C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220 °C ; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/60.

### IV.1.2. Identification des constituants

Les constituants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (Ir) calculés par rapport à une série d'alcane (C<sub>8</sub>-C<sub>28</sub>) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence contenus dans la bibliothèque du laboratoire.

### IV.2. Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG/SM)

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer TurboMass doté d'un injecteur automatique et d'une colonne capillaire de silice fondue (50 m x 0,22 mm, épaisseur du film 0,25 µm), BP-1 (diméthylpolysiloxane), couplé à un détecteur de masse Perkin-Elmer TurboMASS.

#### IV.2.1. Conditions opératoires

Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV, la détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de section cylindrique. La température de la source est de 250 °C. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 40 - 400 Da.

Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 ml/min), exerçant une pression en tête de colonne de 43 psi ; la température linéaire est programmée depuis 60 °C jusqu'à 220 °C, à raison de 2 °C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220 °C ; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/75.

#### IV.2.2. Identification des constituants

L'identification est basée sur la comparaison du spectre de masse, obtenu pour chacun des composés de l'huile essentielle lors de la fragmentation de nos solutés, avec une banque de spectres de produits de référence (**National Institute of Standards and Technology, 1999 ; König et al., 2001 ; Adams, 2007 ; National Institute of Standards and Technology, 2014**).

### V. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE) connues depuis

## PARTIE EXPERIMENTALE

longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire. Ces substances naturelles sont riches en composés antioxydants et antimicrobiens.

*Rosmarinus officinalis* est l'une des plantes aromatiques les plus utilisées à travers le monde. Les huiles essentielles des feuilles de cette plante sont largement utilisées dans la médecine traditionnelle depuis des siècles vis-à-vis d'une multitude de maux et notamment comme antioxydant, anti-inflammatoire et antimicrobien.

Dans ce contexte, nous avons voulu étudier le pouvoir antimicrobien, antioxydant et anti-inflammatoire des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*. Ainsi, pour avoir une quantité suffisante afin de pouvoir réaliser les activités biologiques, nous avons mélangé les huiles essentielles des différents échantillons.

### V.1. Activité antioxydante des huiles essentielles

Pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles des feuilles de *Rosmarinus officinalis*, nous avons choisi le test du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).

#### V.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl)

Pour étudier l'activité antioxydante des huiles essentielles, nous avons opté pour la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable. Dans ce test, les antioxydants réduisent le radical libre relativement stable DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Talbi *et al.*, 2014).

Le protocole utilisé repose sur la méthode expérimentale rapportée par Kouame *et al.* en (2017). 2,5 ml de diverses concentrations (32, 16, 8, 4, 2 et 1 mg/ml) d'huiles essentielles préparées dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés à 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH à 0,03 mg/ml. Pour chaque concentration, un blanc a été préparé. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 2,5 ml d'éthanol absolu avec 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'activité de l'huile essentielle a été comparée à l'acide ascorbique en tant que contrôle positif.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH en pourcentage (%) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

## PARTIE EXPERIMENTALE

Avec :  $A_{\text{contrôle}}$  : Absorbance du contrôle (nm) ;  $A_{\text{test}}$  : Absorbance du test effectué (nm)

La concentration de l'huile essentielle nécessaire pour la réduction de 50% de la concentration initiale du DPPH\* ( $CI_{50}$ ), a été calculée à partir du graphique tracé en pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle.

### V.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Dans ce travail, nous avons déterminé le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de six bactéries et trois champignons filamenteux, en appliquant la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).

#### V.2.1. Provenance des germes

Les souches pathogènes (**Tableau 2**) utilisées ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires, leurs résistances courantes à différents antibiotiques et pour leur pathogénicité.

**Tableau 2 : Origine des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles**

	Micro-organismes	Gram	Code	Origine
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739	LAPRONA
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	Négatif	IBMC Strasbourg	MNHN
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	Négatif	ATCC 700603	LAPRONA
	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	LAPRONA
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
	<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC 25921	LAPRONA
Champignons	<i>Aspergillus flavus</i>		MNHN 994294	MNHN
	<i>Aspergillus fumigatus</i>		MNHN 566	MNHN
	<i>Fusarium oxysporum</i>		MNHN 963917	MNHN

**MNHN** : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris) ; **LAPRONA** : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen) ; **ATCC** : American Type Culture Collection ; **IBMC** : Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

#### V.2.2. Mise en culture des souches

Une préculture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée avec un spectrophotomètre, à  $1-2 \times 10^8$  UFC/ml pour les bactéries ( $DO = 0,08$  à  $0,1$  /  $\lambda = 625$  nm) (**NCCLS, 2001**). Pour les moisissures, les suspensions (préparées à partir d'une culture de 7 jours ayant atteint le stade

## PARTIE EXPERIMENTALE

de sporulation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sont ajustées à  $10^6$  spores/ml, ce qui correspond à une transmittance de 68-82% ( $\lambda = 530$  nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

### V.2.3. Méthode d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (Fernandez et Chemat, 2012).

#### -a- Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode qualitative teste la sensibilité ou la résistance des micro-organismes par contact direct avec les huiles essentielles. C'est une méthode qui est généralement utilisée pour la présélection de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, car le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité des huiles essentielles mais une indication qualitative de la sensibilité ou de la résistance des germes.

Un disque de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné de 15  $\mu$ l d'huile essentielle et de 5  $\mu$ l de DMSO est déposé sur la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (3 disques par boîte) préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension microbienne ( $10^6$  UFC/ml pour les souches bactériennes sauf *Staphylococcus aureus* qui a été ensemencée à  $10^7$  UFC/ml et  $10^4$  spores/ml pour les moisissures) pendant 10 à 15 min. L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration.

Les milieux de culture utilisés sont : i) gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et ii) milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour les moisissures.

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 37 °C pendant 18-24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 3 à 5 jours pour les moisissures.

Les germes se développent sous forme de colonies visibles à l'œil nu pendant l'incubation de sorte qu'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance microbienne, dont le diamètre de ce dernier dépend de la sensibilité aux huiles essentielles et est mesuré en mm, disque inclus.

En parallèle, la sensibilité des souches microbiennes, vis-à-vis de : ciprofloxacine (CIP. 5  $\mu$ g/disque) contre les bactéries ; nystatine (NY. 30  $\mu$ g/disque) et fluconazole (FLU. 25



## **PARTIE EXPERIMENTALE**

$\mu\text{g}/\text{disque}$ ) contre les moisissures, a été testée comme contrôle positif et du DMSO ( $20 \mu\text{l}/\text{disque}$ ) comme contrôle négatif.

# **Résultats et discussion**

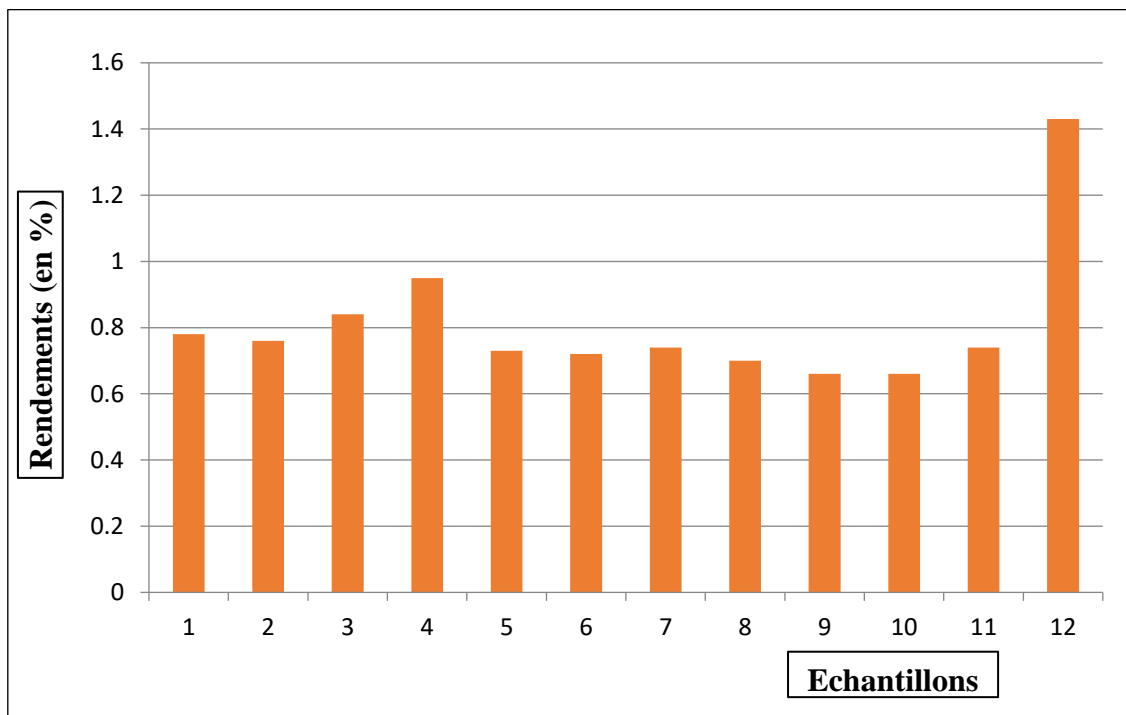
## RESULTATS ET DISCUSSION

### I. Rendements en huile essentielle des différents échantillons

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *Rosmarinus officinalis* a été réalisé par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. Les huiles essentielles obtenues sont de couleur jaune clair, presque incolore avec aspect liquide et caractérisé par une forte odeur.

Nous avons prélevé 12 échantillons sur quatre périodes différentes : Daïra d'Adrar (Station 1 : 4 échantillons (E1-E4) en juillet 2019, 5 échantillons (E5-E9) en octobre 2019 à partir de pieds individuels et un échantillon collectif (E10) en novembre 2019, Station 2 : un échantillon collectif (E11) en décembre 2019 ; Daïra de Timimoun (un échantillon collectif (E12) en décembre 2019).

Nous avons calculé les rendements par rapport à la matière végétale sèche et sont représentés dans la figure ci-dessous.



**Figure 7 : Rendements (%) en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya d'Adrar**

Dans la daïra d'Adrar, les rendements en huiles essentielles sont très proches variant entre 0,66 à 0,95%. Cependant, on peut avancer que la période de récolte n'a pas d'influence sur la teneur en huile essentielle. En revanche, l'échantillon récolté à Timimoun est très riche en huile essentielle avec une teneur de l'ordre de 1,43%.

Par comparaison de nos résultats avec ceux des travaux antérieurs, nous avons constaté que le rendement obtenu pour la station de Timimoun est comparable à ceux rapportés par **Boutekdjiret et al** en 1998 et en 2003 de l'ordre de 1,5% pour un échantillon de *Rosmarinus*

## RESULTATS ET DISCUSSION

*officinalis* collecté à Bordj Bou Arreridj. De même, une étude rapportée par Lakehal *et al.* en 2018 montre que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltées dans la Wilaya de Djelfa ont fourni un rendement de l'ordre de 1,2%.

En revanche, Atik-Bekkara *et al.*, (2007) rapportent des pourcentages de rendement semblables à ceux obtenus pour la daïra d'Adrar, de l'ordre de 0,6%, et 0,8% pour deux échantillons de romarin spontané et cultivé récoltés à Honaine et à Tlemcen, respectivement.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les rendements en huiles essentielles varient selon diverses conditions à savoir : l'environnement, l'origine géographique et la période de récolte.

### II. Analyse des huiles essentielles

L'analyse de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* a été réalisée par les techniques chromatographique et spectrométrique (CPG(Ir) et CPG/M) au niveau du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS.

Pour la réalisation des activités biologiques, nous avons regroupé les huiles ayant le même profil chromatographique, afin de disposer de quantités suffisantes pour pouvoir effectuer la totalité des tests.

Les deux échantillons « communelle » obtenus ont été soumis à des analyses combinant une technique chromatographique sur deux colonnes de polarité différente (CPG(Ir)) et une technique spectroscopique (CPG/SM). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 3.

**Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis***

Composés <sup>a</sup>	Ir <sub>a</sub> <sup>b</sup>	Ir <sub>p</sub> <sup>c</sup>	EC 1	EC 2
Tricyclène	921	-	0,2	0,2
<b>α-Pinène</b>	<b>931</b>	<b>1019</b>	<b>15,0</b>	<b>9,8</b>
<b>Camphène</b>	<b>944</b>	<b>1070</b>	<b>5,2</b>	<b>4,0</b>
Thuja-2,4(10)-diène	947	1131	0,4	0,5
1-Octen-3 ol	962	1451	0,1	0,5
3-Octanone	965	1259	0,1	0,1
β-Pinène	971	1115	0,8	0,2
Myrcène	981	1164	0,8	0,7
3-δ-Carène	1005	1152	0,3	0,4
α-Terpinène	1009	1185	0,3	0,2
p-Cymène	1012	1276	1,0	1,9
<b>Limonène*</b>	<b>1023</b>	<b>1205</b>	<b>3,3</b>	<b>3,6</b>
<b>1,8-Cinéole*</b>	<b>1023</b>	<b>1216</b>	<b>7,9</b>	<b>14,0</b>

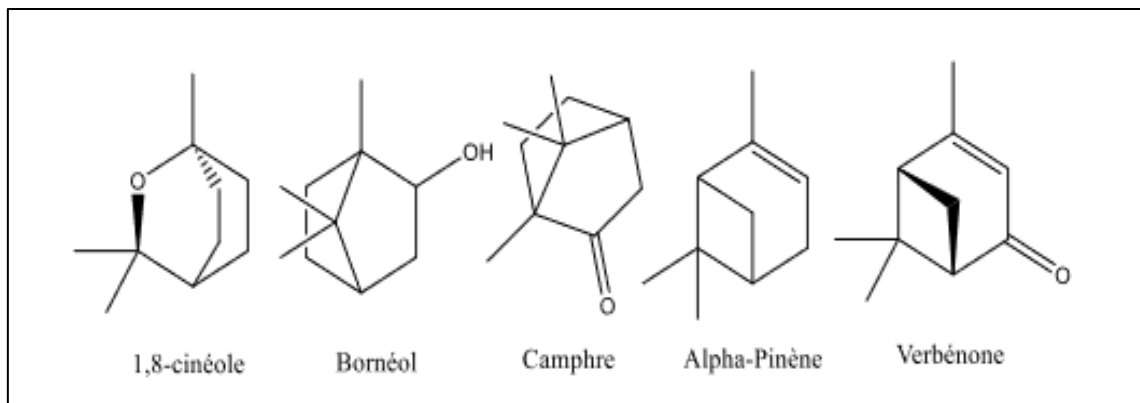
## RESULTATS ET DISCUSSION

$\gamma$ -Terpinène	1048	1249	0,3	0,1
Terpinolène	1079	1287	0,5	0,1
<b>Linalol</b>	<b>1086</b>	<b>1550</b>	<b>2,2</b>	<b>4,1</b>
Fenchol	1101	1584	0,4	0,5
$\alpha$ -Campholénal	1106	1492	0,2	0,2
<b>Camphre</b>	<b>1123</b>	<b>1523</b>	<b>36,4</b>	<b>21,4</b>
<i>trans</i> -Pinocarvéol	1128	1659	0,3	0,2
<i>trans</i> -Verbénol	1132	1682	0,4	0,3
Hydrate de camphène	1136	1599	0,1	0,2
<i>trans</i> -Pinocamphone	1141	1514	0,3	0,4
Pinocarvone	1141	1574	0,3	0,3
<b>Bornéol*</b>	<b>1152</b>	<b>1704</b>	<b>5,8</b>	<b>9,0</b>
Pinocamphone iso*	1152	1550	0,9	1,1
<i>p</i> -Cymène-8-ol	1161	1849	0,1	0,4
Terpinéol-4	1164	1605	0,8	1,0
<b><math>\alpha</math>-Terpinéol</b>	<b>1175</b>	<b>1700</b>	<b>1,7</b>	<b>2,6</b>
<b>Verbénone</b>	<b>1185</b>	<b>1712</b>	<b>5,6</b>	<b>10,3</b>
$\alpha$ -Campholénol	1188	1795	1,1	1,3
Carvone	1217	1739	0,1	0,2
Géranol	1237	1838	0,3	0,2
Pipériténone iso	1243	1858	0,1	0,2
Acétate de bornyle	1272	1584	<b>1,4</b>	0,9
Pipériténone	1312	1925	0,1	0,5
Méthyleugénol	1372	2016	0,2	0,2
( <i>E</i> )- $\beta$ -Caryophyllène	1420	1599	<b>0,7</b>	0,2
Oxyde de caryophyllène	1572	1983	0,1	Tr
<b>Total (%)</b>			<b>95,5</b>	<b>91,2</b>

<sup>a</sup>: L'ordre d'élution et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). <sup>b</sup>Ir<sub>a</sub> : Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. <sup>c</sup>Ir<sub>p</sub> : Indices de rétention mesurés sur colonne polaire.

La complémentarité des deux techniques d'analyse, nous a permis d'identifier 39 composés représentant 95,5 et 91,2% de la composition totale. Ces huiles essentielles sont riches en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés. En effet, les huiles essentielles de feuilles de *Rosmarinus officinalis* de la région d'Adrar est caractérisée par la présence majoritaire du camphre, de l' $\alpha$ -pinène, le 1,8-cinéole et la verbénone (Figure 8).

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 8 : Structure des composés majoritaires dans l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* d'Adrar**

L'échantillon EC 1 est riche en camphre (36,4%), suivi d' $\alpha$ -pinène (18,0%). D'autres composés sont présents en quantités appréciables, il s'agit de : 1,8-cinéole (7,9%), bornéol (5,8%), verbénone (5,6%), camphène (5,2%), limonène (3,3%), et linalol (2,2%). Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en camphre (21,4%) mais, il contient une quantité plus importante en 1,8-cinéole (14,0%), verbénone (10,3%), bornéol (9,0%) et en linalol (4,1%). De même, l' $\alpha$ -terpinéol est le monoterpène oxygéné présent en une teneur plus importante. Les deux composés oléfiniques, l' $\alpha$ -pinène (9,8%) et le camphène (4,0%) sont présents en quantités moins importantes par rapport à l'échantillon EC 1.

Enfin, deux sesquiterpènes sont mis en évidence dans les deux échantillons, à savoir : le (*E*)- $\beta$ -caryophyllène et l'oxyde de caryophyllène qui sont présents en faibles teneurs.

En confrontant, nos résultats avec ceux décrits dans les travaux réalisés en Algérie, nous constatons que l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* cultivé à Adrar présente une composition assez classique. Elle est dominée par une association camphre/ $\alpha$ -pinène/1,8-cinéole (Boutekedjiret *et al.*, 2005 ; Sahraoui *et al.*, 2007 ; Djeddi *et al.*, 2007 ; Atik-Bekkara *et al.*, 2007 ; Giordani *et al.*, 2008 ; Zoubiri et Baaliouamer, 2011 ; Lograda *et al.*, 2013 ; Outaleb *et al.*, 2015 ; Lakehal *et al.*, 2018) associés à des teneurs appréciables en camphène, bornéol et verbénone. Il est à noter que la verbénone est présente dans tous les échantillons d'Adrar. La plupart des travaux décrits dans la littérature ne rapporte pas de la verbénone. En effet, elle est absente dans une majorité d'échantillons puisque seuls 14 sur 46 échantillons contiennent celle-ci. Lorsqu'elle est trouvée, elle peut atteindre 10% et est décrite à 23% dans un échantillon proposant une composition atypique (Belkhodja *et al.*, 2016).

### III. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

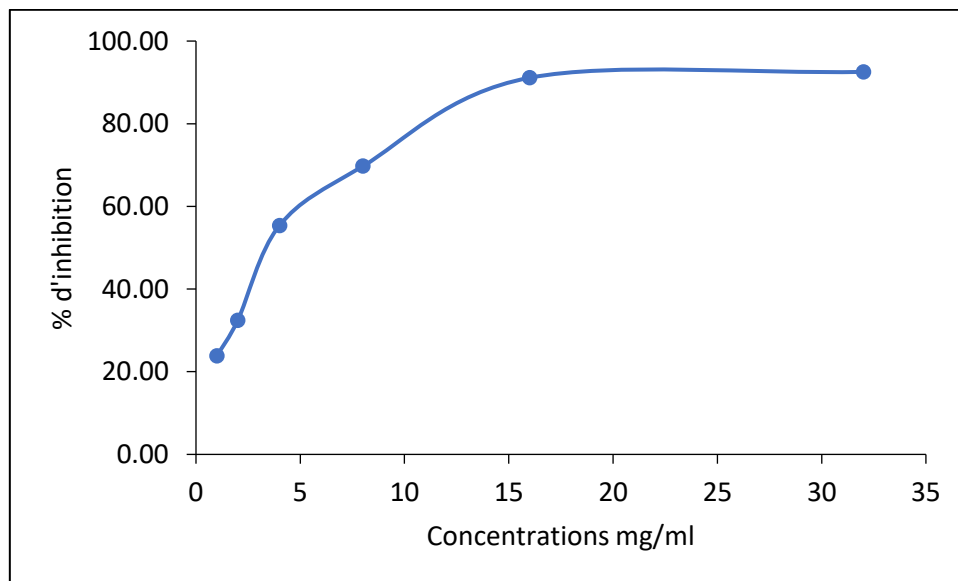
Cette partie est divisée en 2 axes : le premier est consacré à l'activité antioxydante des huiles essentielles de romarin. Dans le deuxième axe, nous avons déterminé l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles.

#### III.1. Pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante de notre échantillon a été réalisée par le test de piégeage du radical libre DPPH. Cette activité a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune, mesurable à 517 nm.

Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires.

Pour ce test, une gamme de concentration a été préparée pour l'échantillon d'huile, les valeurs des densités optiques obtenues montrent une augmentation proportionnelle du pouvoir réducteur en fonction des concentrations. Les résultats du pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de l'échantillon EC 1 ont permis de tracer la courbe représentée sur la figure 9.



**Figure 9 : Pouvoir réducteur de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* d'Adrar testées par la méthode de DPPH**

Les données de graphe, indique que l'huile essentielle de feuilles du romarin de la région d'Adrar montre une activité antioxydante importante vis-à-vis de piégeage du radical libre DPPH, avec une valeur en pourcentage d'inhibition de l'ordre de 92,5% à une concentration de 32 mg/ml.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs des  $CI_{50}$ , présentées dans le tableau 4, nous permettent de comparer l'efficacité des huiles essentielles. Nous rappelons que plus la valeur de la  $CI_{50}$  est faible plus l'huile essentielle possède un potentiel pour le piégeage des radicaux libres.

**Tableau 4 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle de *R. officinalis* exprimée en  $CI_{50}$**

Echantillons	$CI_{50}$ (mg/ml)
EC 1	$3,46 \pm 0,29$
Acide ascorbique	$0,02 \pm 0,001$

D'après ces données, l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya d'Adrar présente une bonne activité antioxydante, avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de 3,46 mg/ml. Cependant, cette activité reste faible par rapport à l'antioxydant de référence utilisé (acide ascorbique) avec une valeur de  $CI_{50}$  de l'ordre de  $0,02 \pm 0,001$  mg/ml. Ce résultat montre que l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltées à Adrar a un fort pouvoir antioxydant par rapport à l'huile essentielle des deux échantillons de feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltées à Béchar ( $CI_{50}$  de l'ordre de : EC 1 [ $139,77 \pm 22,74$  mg/ml] ; EC 2 [ $21,33 \pm 0,51$  mg/ml]) (Chaïb Dra, 2020). Ceci est du probablement à la composition chimique de l'huile essentielle. En effet, notre échantillon est plus riche en camphre (36,4%) qui est probablement responsable de cette bonne activité, contre 1,5% dans EC 1 et 16,6% dans EC 2 (Chaïb Dra, 2020).

De même, Lakehal *et al.* (2018) ont étudié l'activité antioxydante de l'huile essentielle du romarin provenant de Djelfa. Les résultats de test de DPPH montre une bonne activité avec  $CI_{50}$  de l'ordre de  $3,48 \pm 0,42$  mg/ml, similaire à notre résultat mais qui reste très faible par rapport aux contrôles positifs utilisés (acide ascorbique :  $CI_{50} = 0,0046 \pm 0,0003$  mg/ml, BHA :  $CI_{50} = 0,006 \pm 0,0001$  mg/ml, BHT :  $CI_{50} = 0,0086 \pm 0,0005$  mg/ml).

Non résultats sont en accord avec ceux rapportés par Yeddes *et al.* en 2016 qui ont étudié le pouvoir réducteur du radical DPPH par l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltées dans treize régions tunisiennes. Les  $CI_{50}$  obtenues varient entre 2,98 et 5,48 mg/ml.

De même, Chraïbi *et al.* (2020), rapporte une  $CI_{50}$  de l'ordre de 2,77 mg/ml pour l'huile essentielle des parties aériennes du romarin récoltées au Maroc.



## RESULTATS ET DISCUSSION

### III.2. Pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des deux échantillons de *Rosmarinus officinalis* a été testé vis-à-vis de six bactéries en appliquant la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).

#### III.2.1. Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Les résultats de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* et l'antibio-résistance (Photo 3) de chaque souche vis-à-vis des contrôles positifs, sont donnés dans le tableau 5.

**Tableau 5 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (EC 1 et EC 2) de l'huile essentielle de *R. officinalis* relatives aux souches bactériennes selon la méthode de disque**

Souches bactériennes	Contrôle positif	Huile essentielle (15 µl/disque)		Contrôle négatif DMSO (20 µl/disque)
	CIP <sup>a</sup> (5 µl/disque)	Echantillon EC 1	Echantillon EC 2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31,0 ± 1,0	6,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	6,0
<i>Escherichia coli</i>	31,7 ± 0,6	7,7 ± 1,2	13,0 ± 2,6	6,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	30,3 ± 0,6	8,0 ± 0,0	9,0 ± 1,0	6,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	25,0 ± 0,0	6,0 ± 0,0	7,3 ± 0,6	6,0
<i>Bacillus cereus</i>	26,7 ± 0,6	12,3 ± 1,5	13,3 ± 1,5	6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,3 ± 0,6	13,0 ± 1,0	11,3 ± 0,6	6,0

<sup>a</sup> : Ciprofloxacine ; DMSO : Diméthylsulfoxyde

Comme il est indiqué dans la littérature, nous avons considéré qu'une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d'inhibition est supérieur à 13 mm (Rossi *et al.*, 2007).

Ainsi, selon le tableau 5, les deux échantillons de l'huile essentielle de *R. officinalis* testés possèdent une faible activité, voire une activité modérée avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 6,0 et 13,3 mm vis-à-vis des souches bactériennes testées. En revanche, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* sont montrés les plus sensibles à l'huile essentielle des deux échantillons, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 11,3 et 13,3 mm, alors que *Escherichia coli* s'est révélé le plus sensible uniquement à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 13,0 mm.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Nous avons constaté également que les deux souches bactériennes *Klebsiella pneumoniae* ainsi que *Pseudomonas aeruginosa* se sont avérées très résistantes aux deux échantillons de l'huile essentielle de *R. officinalis* testés, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 6,0 et 9,0 mm.

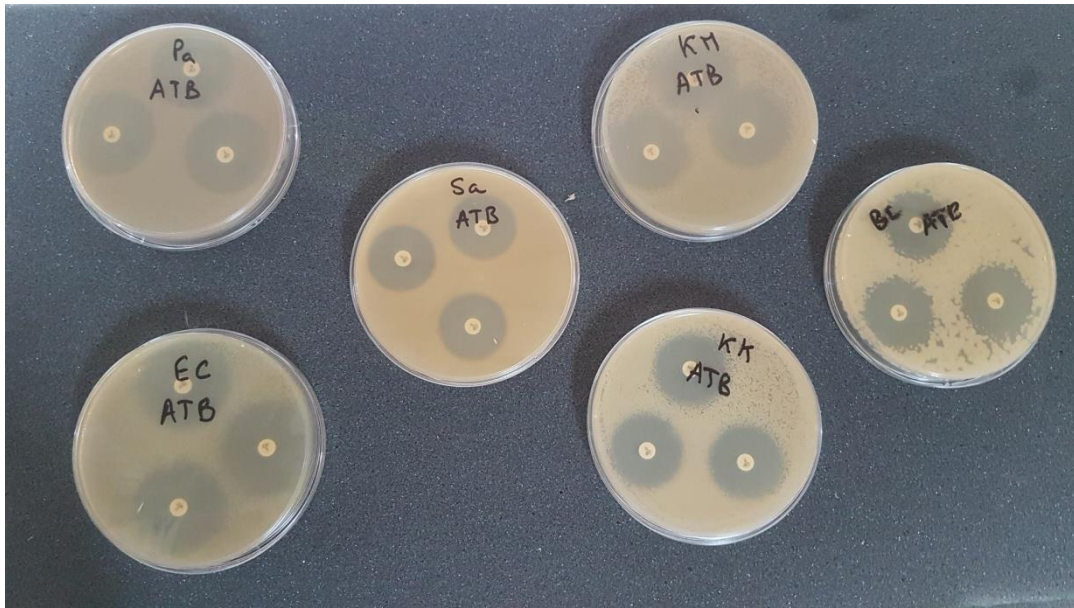
Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Hendel et al. (2019)** qui ont testé l'activité antibactérienne de 15 échantillons, récoltés dans plusieurs régions d'Algérie, vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ils avancent un pouvoir antibactérien faible voir modérée contre ces deux souches bactériennes avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 10,0 et 14,6 mm. De même, **Kabouche et al. en 2005** ont obtenu des diamètres des zones d'inhibition inférieures ou égales à 14 mm vis-à-vis des mêmes souches bactériennes que les nôtres. **Mathlouthi et al., en 2011**, ont montré que l'huile essentielle du romarin de provenance de Tunisie n'a présenté aucune activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition de l'ordre de 6, 0 et 8,0 mm, respectivement.

Par contre, **Boutabia et al., 2016**, rapportent une activité antibactérienne modérée de l'huile essentielle du romarin de provenance de Tébessa (Algérie), avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 14,0 et 18,1 mm contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli*.

En revanche, **Lakehal et al., en 2018**, ont étudié l'activité antimicrobienne de huile essentielle de romarin collecté à Djelfa, vis-à-vis de cinq souches microbiennes : *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*. Elles se sont révélées sensibles à l'huile essentielle étudiée sauf *Pseudomonas aeruginosa* qui s'est avéré résistant, avec des zones d'inhibition de l'ordre de : 13,0 ; 6,0 ; 17,0 ; 22,0 et 28,0 mm ; respectivement).

De même, **Mouas et al., en 2017**, ont déterminé l'activité antimicrobienne de d'huile essentielle du romarin de deux régions : Blida et Djelfa. Les données indiquent que les souches les plus sensibles aux huiles essentielles des deux écotypes, sont : *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* avec respectivement un diamètre de 23,75 mm et 22,75 mm, respectivement pour Blida et 16,75 mm et 14,25 mm, respectivement pour Djelfa. **El kamli et al., en 2019**, ont rapporté une bonne activité antimicrobienne de l'huile essentielle du romarin d'origine du Maroc. Ils avancent des diamètres des zones d'inhibition variant entre 15 et 32 mm.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Photo 3 : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de la ciprofloxacine**

# Conclusion

## CONCLUSION

Sacrée dès l'antiquité pour ses vertus, l'utilisation du romarin a perduré à travers les âges en tant que plante aromatique et médicinale. Il s'inscrit aujourd'hui comme alternative intéressante dans les problématiques environnementales dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire, cosmétique, ...etc.

Le travail de recherche entrepris dans le cadre de la valorisation des plantes aromatiques et médicinales. Dans ce contexte, nous sommes intéressés à la valorisation d'une espèce végétale, à savoir : *Rosmarinus officinalis* cultivé dans la région d'Adrar ; en déterminant les teneurs en huiles essentielles des feuilles, la composition chimique ainsi que leur pouvoir antimicrobien et antioxydant.

Nous avons prélevé 12 échantillons des feuilles. Ensuite, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger.

Les rendements en huiles essentielles obtenus sont plus ou moins homogènes pour les deux stations de la Daïra d'Adrar, variant entre 0,66% et 0,95%. Nous avons constaté également que l'échantillon de romarin de provenance de la station de Timimoun est plus riche en huiles essentielles, avec une valeur de l'ordre de 1,43%.

Nous avons également déterminé la composition chimique des huiles essentielles par les techniques chromatographique et spectroscopique (CPG(Ir) et CPG/SM) dans le laboratoire « Chimie & Biomasse » de l'université de Corse. La complémentarité des deux techniques d'analyse, nous a permis d'identifier 39 composés représentant 95,5 et 91,2% de la composition totale dans les deux échantillons « communelle » (EC 1 et EC 2), respectivement. Ces huiles essentielles sont riches en monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés. L'échantillon EC 1 est riche en camphre (36,4%), suivi d' $\alpha$ -pinène (18,0%). D'autres composés sont présents en quantités appréciables, il s'agit de : 1,8-cinéole (7,9%), bornéol (5,8%), verbénone (5,6%), camphène (5,2%), limonène (3,3%), et linalol (2,2%). Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en camphre (21,4%) mais, il contient une quantité plus importante en 1,8-cinéole (14,0%), verbénone (10,3%), bornéol (9,0%) et en linalol (4,1%). Les deux composés oléfiniques, l' $\alpha$ -pinène (9,8%) et le camphène (4,0%) sont présents en quantités moins importantes par rapport à l'échantillon EC 1.

Dans un second temps, nous avons évalué les activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* : la capacité antioxydante par le test de DPPH<sup>\*</sup> et l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque. L'échantillon EC 2 s'est montré actif, avec une  $CI_{50}$  de l'ordre de  $3,46 \pm 0,29$  mg/ml, mais qui reste faible par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ( $CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$  mg/ml). Enfin, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux échantillons a été testée vis-à-vis de six souches bactériennes

## CONCLUSION

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*). *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus* se sont montrés les plus sensibles à l'huile essentielle des deux échantillons, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 11,3 et 13,3 mm, alors que *Escherichia coli* s'est révélé le plus sensible uniquement à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 13,0 mm.

Toutefois, il serait intéressant de compléter cette étude en testant d'autres activités biologiques qu'on n'a pas pu réaliser à cause de la crise sanitaire due au coronavirus (Covid-19) :

- Evaluer le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre le mycélium ;
- Tester les activités anti-inflammatoire et antidiabétique de l'huile essentielle de *R. officinalis*.

# **Références Bibliographiques**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Anonyme I** : <http://lessentieldeshuilesessentielles.e-monsite.com/pages/iii-notre-experience/hydrodistillation.html>

**Anonyme II** : <http://tpe-huile-essentielle.e-monsite.com/pages/i-les-differents-procedes-d-extraction-d-une-huile-essentielle/5-extraction-au-co2-supercritique.html>

**Adams R.P. (2007)** Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Carol Stream, Allured (4th edition).

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

**Aitboulahsen M., Zantar Z., Laglaoui A., Ezziyyani M., Arakrak A., Chairi H., Bakkali M., Zerrouk M.H. (2018)** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Against Pathogens Isolated from Food, Crops and Hospitals in Morocco. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21: 1450-1459.

**Alnamer R., Alaoui K., Boudida E., Benjouad A., Cherrah Y. (2011)** Toxicity and Psychotropic Activity of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula officinalis* from Morocco. Journal of Biologically Active Products from Nature, 1(4) : 262-272.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008)** Biological effects of essential oils – A review. Food Chem. Toxicol., 46 : 446-475.

**Belkhodja H., Meddah B., TirTouil A., Şekeroğlu N. (2016)** Chemical Composition And DNA Damage Protective Effect Of Essential Oil Of *Rosmarinus officinalis* And *Populus Alba*. International Journal of Phytopharmacology, 7(4) : 196-201.

**Ben Jemia M., Tundis R., Pugliese A., Menichinib F., Senatorecd F., Brunoe M., Elyes Kchouka M., Loizzob M.R., (2014)** Effect of bioclimatic area on the composition and bioactivity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils. Natural Product Research, <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2014.942305>

**Ben Kaab S., Rebey I.B.R., Hanafi M., Berhal C., Fauconnier M.L., De Clerck C., Ksouri R., Jijakli H. (2019)** *Rosmarinus officinalis* essential oil as an effective antifungal and herbicidal agent. Spanish Journal of Agricultural Research, 17(2), <https://doi.org/10.5424/sjar/2019172-14043>

**Bencheikh S.E. (2017)** Etude de l'activité des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp. Aurasianum Labiatae. Thèse de Doctorat en Génie des procédés et environnement. Université Kasdi Merbah – Ouargla, pp 121.

**Beniston N.T., Beniston W.S. (1984)** Fleurs d'Algérie. Entreprise Nationale du Livre, Alger, pp 359.

**Bouhaddouda N. (2016)** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université Badji Mokhtar – Annaba, pp 205.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Boukhatem M., Ferhat A., Kameli A. (2019)** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Agrobiologia*, 1653-1659.

**Bousbia N. (2011)** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires. Thèse de Doctorat en Chimie, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger, pp 175.

**Boutabia L., Salah T., Ismail B., Faouzi G., Azzedine C. (2016)** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85 : 174-189.

**Boutekedjiret C., Benhabiles N.E.H., Belabbes R., Bessiere JM. (1997)** Influence du mode d'extraction sur le rendement et la composition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. *Rivista Italiana EPPOS Ventiduesimo Numero- AGOSTO*, 33-35.

**Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessiere J M. (1998)** The Essential Oil from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6) : 680-682.

**Boutekedjiret C., Bentahar F., Belabbes R., Bessiere J.M. (2003)** Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour And Fragrance Journal*, 18 : 481-484.

**Boutekedjiret C., Buatois B., Bessiere J.M. (2005)** Characterization of Rosemary Essential Oil of Different Areas of Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 8(1) : 65-70.

**Buchanan B.B., Grisse W., Jones R.L., (2000)** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, pp 1367.

**Chalchat J-C., Garry R-P., Michet A., Benjlali B., Chabart J.L. (1993)** Essential Oils of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). The Chemical Composition of Oils of Various Origins (Morocco, Spain, France). *Journal of Essential Oil Research*, 5(6) : 613-618.

**Chaib Dra G. (2020)** Composition et activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Klil) de la région de Béchar. Mémoire de Master en Biologie, Université de Tlemcen, pp 64.

**Chraibi M., Farah A., Elamin O., Iraqui H.M., Fikri-Benbrahim K. (2020)** Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology Research*, 25-29.

**Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013)** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*, 52 (525) : 18-21.

**Djeddi S., Bouchenah N., Settar I., Skaltsa H.D. (2007)** Composition And Antimicrobial Activity Of The Essential Oil Of *Rosmarinus officinalis* From Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4) : 487-490.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**El Haib A. (2011)** Valorisation De Terpenes Naturels Issus De Plantes Marocaines Par Transformations Catalytiques. Thèse de Doctorat en Chimie organique et catalyse, Université de Toulouse, 195.

**El Kamli T., El Hamdani M., Eloutassi N., Errachidi F., Chabir F., Bour A. (2019)** Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil From Moroccan Middle Atlas. *Phytothérapie*, DOI 10.3166/phyto-2019-0128

**Elamrani A., Zrira S., Benaissa M. (2003)** Isolation of Moroccan *Rosmarinus eriocalix* Oil: Comparison Between Hydrodistillation and Microwave Extraction. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 6 : 1-8.

**Franchomme P., Jollois R., Pénéol D. (2001)** L'aromathérapie exactement. Edition Roger Jollois, pp 490.

**Fadel O., Ghazi Z., Mouni L., Benchat N., Ramdani M., Amhamdi H., Wathelet J., Asehrou A., Charof R. (2011)** Comparison of Microwave-Assisted Hydrodistillation and Traditional Hydrodistillation Methods for the *Rosmarinus eriocalyx* essential oils from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 2 (2) : 112-117.

**Fernandez X., Chemat F. (2012)** La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation, Vuibert, Paris, pp 288.

**Gazi M.R., Kanda K., Yasuda M., Kato F. (2004)** Optimization of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 13651370.

**Gilly G. (2005)** Les plantes aromatiques et les huiles essentielles à Grasse. Ed. L'Harmattan, pp 418.

**Giordani R., Hadeif Y., Kaloustian J. (2008)** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia* 79 : 199-203. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.11.004>

**Goetz P., Ghedira K. (2012)** *Phytothérapie anti-infectueuse*. Edition Springer-Verlage, Paris, France, pp 382.

**Hannour K., Boughdad A., Maataoui A., Bouchelta A. (2017)** Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) essential oils and evaluation of their toxicity against *Bruchus rufimanus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in Morocco. *International Journal of Tropical Insect Science*, doi:10.1017/S1742758418000012

**Hendel N., Napoli E., Sarri M., Saija A., Cristani M., Nostro O., Ginestra G., Ruberto G. (2019)** Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary: Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, DOI: 10.1080/0972060X.2019.1590246

**Ismaili M.R., Rahouti M., Kabouchi B., Ramzi H., Aberchane M., Fidah A., Famiri A., Lamzoudi O. (2017)** Improvement of Harvesting Practices for Sustainable Development

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

of Moroccan Rosemary Mediterranean's Scrublands. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, (5) : 1266-1274.

**Issaadi-Hamitouche T.** (2016) Etude de l'autovaporisation instantanée dans l'intensification de l'extraction de l'huile essentielle du bois de santal. Thèse de Doctorat en Génie des procédés, Université de la Rochelle, pp 224.

**Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ati-kaki Z., Benlabed K.** (2005) Comparative antibacterial activity of five lamiaceae essential oils from Algeria. *The International Journal of Aromatherapy*, 15, 129-133.

**König W.A., Hochmuth D.H., Joulain D.** (2001) Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils. Library of MassFinder 2.1', Institute of Organic Chemistry, Hamburg.

**Kouame C., Ouattara Z.A., Konan M.K., N'Gaman-Kouassi C.K.C., Tomi F., Mamyrbekova-Bekro J.A., Bekro Y.A.** (2017) Quantitative organic composition and antioxidant potential of the essential oil from *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae) acclimated in Cote d'Ivoire. *Int. J. Curr. Res.*, 10, 73602-73605.

**Lacoste S.** (2014) Ma bible de la phytothérapie. Éditions Leduc.S, pp 648.

**Lakehal S., Chaouia C., Benrebiha F.Z.** (2018) Antibacterial and Antioxidant Activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Essential Oil Growing in Djelfa (Algeria). *Advances in Science, Technology & Innovation*, 1253-1254.

**Lakhdar L.** (2015) Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetem comitans* : Etude *in vitro*. Thèse de Doctorat en Sciences Odontologiques. Faculté de Médecine dentaire de Rabat, pp 183.

**Lograda T., Ramdani M., Chalard P., Figueredo G.** (2013) Characteristics Of Essential Oils Of *Rosmarinus officinalis* From Eastern Algeria. *Global Journal of Research on Medicinal Plants Indigenous Medicine*, 2 : 794-807.

**Mathlouthi N., Bouzaienne T., Oueslati I., Recoquillay F., Hamdi M., Urdaci M., Bergaoui R.** (2011) Use of rosemary, oregano, and a commercial blend of essential oils in broiler chickens: *In vitro* antimicrobial activities and effects on growth performance. *Journal of Animal Science*, 26 : 813-823.

**Megzari A., Farah A., Houssaini M.I., EL Hadrami El-M.** (2015) Provenance effect on the yield, chemical composition and antibacterial activity of Moroccan rosemary essential oils. *Der Pharma Chemica*, 7(10) : 459-472.

**Mouas Y., Benrebiha F., Chaouia C.** (2017) Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *Rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1) : 363-370.

**Moumni S., Elaïssi A., Trabelsi A., Merghni A., Chraïef I., Jelassi B., Chemli R., Ferchichi S.** (2020) Correlation between chemical composition and antibacterial activity of some Lamiaceae species essential oils from Tunisia. *Complementary Medicine and Therapies*, 20 : <https://doi.org/10.1186/s12906-020-02888-6>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**National Institute of Standards and Technology (1999)** PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA.

**National Institute of Standards and Technology (2014)** PC version of the mass spectral library. Norwalk, CT, USA.

**NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2001)** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement. NCCLS document M100- S11. USA: Villanova, 21 (1).

**Ouibrahim A., Tlili-Ait-kaki Y., Bennadja S., Amrouni S., Djahoudi A.G., Djebar M.R. (2013)** Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. Global Journal of Medical Microbiology and Reviews, 1(1) : 065-070.

**Ouis N. (2015)** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1, pp 239.

**Outaleb Y., Hazzit M., Ferhat Z., Baaliouamer A., Yekkour A., Zitouni A., Sabaou N. (2015)** Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Algerian *Rosmarinus officinalis* L. Extracts. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(3) : 654-665.

**Pfaller M.A., Messer S.A., Karlsson Å., Bolmström A. (1998)** Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. Journal of Clinical Microbiology, 36(9), 2586-2589.

**Polese J-M., Devaux S. (2001)** Plantes aromatiques et condimentaires. Edition Artémis, pp 127.

**Quézel P, Santa S. (1963)** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Edition CNRS, Tome II, Paris, pp 1169.

**Raynaud J. (2006)** Prescription et conseil en aromathérapie. Ed. Lavoisier Tec& Doc, pp 247.

**Rossi P.G., Panighi J., Luciani A., Rocca-Serra D., Maury J., Gonny M., Muselli A., Bolla J.M., Berti L. (2007)** Antibacterial action of essential oils from Corsica. Journal of Essential Oil Research, 19, 176-182.

**Sahraoui N., Hellal A., Boutekedjiret C., Bentahar F., Bessière J.M. (2007)** Antimicrobial activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. International Journal of Essential Oil Therapeutics, 1, 83-90.

**Santich B., Geoff B. (2013)** 500 plantes comestibles - Histoire, botanique, alimentation. Edition Delachaux et Niestlé, pp 360.

**Schall S. (2008)** Plantes aromatiques. Editions Eugen Ulmer, pp 96.

**Talbi H., Boumaza A., El-mostafa K., Talbi J., Hilali A. (2014)** Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

*Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). Mater. Environ. Sci., 6(4) : 1111-1117.

**Teuscher E., Anton R., Lobstein A. (2005)** Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec & Doc, pp 521.

**Toure M.D. (2015)** Etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat en Biologie Humaine Tropicale. Université Félix Houphouët- Boigny, Côte d'Ivoire, pp 153.

**Yeddes M., AidiWannes W., Hammami M., Smida M., Chebbi A., Marzouk B., Tounsi M.S. (2018)** Effect of Environmental Conditions on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Rosmarinus officinalis* L. Growing Wild in Tunisia. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 21(4) : 972-986.

**Zaouali Y., Bouzarian T., Boussaid M. (2010)** Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. Food and chemical toxicology, 48 : 3144-3152.

**Zoubiri S., Baaliouamer A. (2011)** Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. Food Chemistry, 129(1), 179-182.

# **Annexes**

## ANNEXES

### Annexe 1 : Rendements (en %) en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de la wilaya d'Adrar

Echantillons	Poids d'échantillon (g)	Poids d'huile (g)	Rendement (%)
E1	168,58	1,31	0,78
E2	155,77	1,19	0,76
E3	151,81	1,28	0,84
E4	120,97	1,15	0,95
E5	187,96	1,38	0,73
E6	201,12	1,44	0,72
E7	136,21	1,01	0,74
E8	159,82	1,12	0,70
E9	142,00	0,94	0,66
E10	156,69	1,03	0,66
E11	147,76	1,10	0,74
E12	148,71	2,12	1,43

### Annexe 2 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle de *R. officinalis* de l'échantillon EC1

Concentrations (mg/ml)	% d'inhibition Test 1	% d'inhibition Test 2	% d'inhibition Moyenne
32	91,83	93,24	92,54
16	91,83	90,42	91,13
8	70,14	69,30	69,72
4	52,68	58,03	55,35
2	35,21	29,58	32,39
1	27,89	19,72	23,80