

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen

Faculté des Sciences de la nature et de la vie.

Sciences de la terre et de l'Univers

Département des Sciences  
Agronomiques et Forestières

Mémoire présenté pour

Pour l'Obtention du Diplôme de master en Agronomie

Option : Amélioration de la Production Végétale

*Thème*

Comparaissant entre les huiles essentielles et leurs  
effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de  
la région de Bechar et Ouargla

Réalisé par :  
Benikhlef Abouseyf



Soutenu le:30.06.2014 devant la commission de jury composé de:

Mr. TAFIANI. C

maitre assistant A

Président

BENYOUB.N

maitre assistant B

Examineur

Mr.MEBARKA.S

maitre assistant A

Promoteur

Promotion : Juin 2013-2014

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

Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen

Faculté des Sciences de la nature et de la vie.

Sciences de la terre et de l'Univers

Département des Sciences  
Agronomiques et Forestières

Mémoire présenté pour

Pour l'Obtention du Diplôme de master en Agronomie

Option : Amélioration de la Production Végétale

*Thème*

Comparaissant entre les huiles essentielles et leurs  
effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de  
la région de Bechar et Ouargla

Réalisé par :  
Benikhlef Abouseyf



Soutenu le: 30.06.2014 devant la commission de jury composé de:

Mr. TAFIANI. C

maitre assistant A

Président

BENYOUB.N

maitre assistant B

Examinateur

Mr.MEBARKA.S

maitre assistant A

Promoteur

Promotion : Juin 2013-2014

## REMERCIEMENT

Au début nous remercierons ALLAH de nous avoir aidé pour accomplir notre travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire, Faculté des Sciences, Université Abou Bakr Bel Kaid, sous l'aide et la direction de Monsieur **Mebarka Salih** maître assistant à l'université, que nous remercierons pour sa gentillesse, ses conseils précieux et sa patience qu'ont donné vie à ce travail.

On remercie monsieur le président **Tefiani Choukri** et aussi les membres du jury qu'ont accepté d'examiner notre mémoire.

Nous exprimons toute reconnaissance à nos amis et nos collègues de la promotion et nous leur souhaitons la réussite et une bonne continuation.

Nous remercions enfin à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



## Résumé

Les huiles essentielles possèdent des activités antibactériennes importantes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants .ce qui nous a conduits à effectuer l'étude de l'activité antibactériennes d'huile essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis* et d'évaluer leurs propriétés physicochimiques.

Mon travaille est s'intéresse sur une comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla

**Mots clés :** huile essentielle, activité antibactériennes, *Rosmarinus officinalis*.

ה'תשס"ג - ה'תשס"ד - ה'תשס"ה - ה'תשס"ו - ה'תשס"ז

ה'תשס"ח - ה'תשס"ט

ה'תשס"א - ה'תשס"ב - ה'תשס"ג - ה'תשס"ד - ה'תשס"ה - ה'תשס"ו - ה'תשס"ז - ה'תשס"ח - ה'תשס"ט - ה'תשס"א - ה'תשס"ב - ה'תשס"ג - ה'תשס"ד - ה'תשס"ה - ה'תשס"ו - ה'תשס"ז - ה'תשס"ח - ה'תשס"ט

ה'תשס"א

ה'תשס"א - ה'תשס"ב - ה'תשס"ג - ה'תשס"ד - ה'תשס"ה - ה'תשס"ו - ה'תשס"ז - ה'תשס"ח - ה'תשס"ט - ה'תשס"א - ה'תשס"ב - ה'תשס"ג - ה'תשס"ד - ה'תשס"ה - ה'תשס"ו - ה'תשס"ז - ה'תשס"ח - ה'תשס"ט

## **Abstract**

Essential oils have important antimicrobial activities and can replace with success antibiotics which show their inefficiency against resistant microorganisms. In this study we have tested the antimicrobial activities of *Romarinus* and study the propriety physicochemical of essential oil extract.

My work focuses on is appearing between essential oils and their antibacterial effects on *Rosmarinus officinalis* area Bechar and Ouargla

**Key Words:**, essential oil, antimicrobial activit, *Romarinus*

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin.....	10
<b>Tableau 2</b> : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de Rosmarinus Officinalis.....	15
<b>Tableau 3</b> : Tableau récapitulatif des caractéristiques de l'huile essentielle de Romarin.....	16
<b>Tableau 4</b> : Les caractéristiques physico-chimiques de H.E R.officinalis L.....	17
<b>Tableau 5</b> : Diamètres (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de Rosmarinus officinalis.....	18
<b>Tableau 6</b> : Diamètres (mm) des zones d'inhibition des dilutions pour E coli.....	19
<b>Tableau 7</b> : Diamètres (mm) des zones d'inhibition des dilutions pour S aureus.....	20

## Liste des figures

<b>Fig. 1</b> : Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle.....	6
<b>Fig.2</b> : Aspects morphologiques du <i>Romarin</i> .....	9
<b>Fig.3</b> : Zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle.....	19

## Liste des photos

<b>Photos1</b> : H.E de <i>R. officinalis</i> L. obtenue par hydrodistillation.....	15
---	----



## Table des matières

Introduction générale.....	2
Chapitre I : les huiles essentielles.....	4
I.Généralité sur les huiles essentielles.....	4
I.1.Définition.....	4
I.2.Classification.....	4
I.3.Répartition et localisation.....	4
I.3.1.Répartition.....	4
I.3.2.Localisation.....	5
I.4.Méthodes d'extraction.....	5
I.4.1.Hydro distillation.....	6
I.5.Caractéristiques des huiles essentielles.....	7
I.6.Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	7
I.7.La composition des huiles essentielles.....	8
I.7.1.Composition chimiques.....	8
Chapitre II : Présentation de l'espèce étudiée.....	9
II.Présentation de l'espèce étudiée : <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	9
II.1.Définition.....	9
II.2.Caractéristiques botanique.....	9
II.3.Habitat.....	10
II.4.Utilisation.....	10
II.5.Propriétés du <i>Romarin</i> .....	11
II.6.Composition biochimique du <i>Romarin</i> .....	13
Chapitre III: Résultats et discussion.....	15
III.1.Caractéristiques organoleptiques (station d'ourgla).....	15
III.2. Caractéristiques organoleptiques (station de bacher).....	15
III.3.Les analyses de l'huile essentielle.....	16
III.3.1.Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de <i>R.officinalis</i> L(station d'ourgla)..	16
III.3.2Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de <i>R.officinalis</i> L(station de Béchar).	17
III.3.3.L'activité antimicrobienne de l'extrait et ces dilutions (station d'ourgla).....	18

## Introduction

Depuis longtemps l'homme reconnaît et utilise les plantes pour se nourrir et pour traiter diverses maladies. Les vertus thérapeutiques des plantes ont été expérimentées depuis lors et leurs précieuses caractéristiques se sont transmises oralement de génération en génération ou consignés dans les vieux écrits. Les remèdes de bonne réputation ont prévalu malgré le développement de la médecine moderne qui est venue marginaliser le recours aux techniques médicales naturelles (GOEB, 1999). Selon HOSTETTMANN(1997), connaître une plante ayant des vertus médicinales suppose pouvoir décrire sa morphologie et son anatomie, connaître son origine et son mode d'action, apprécier l'incidence de ceux-ci sur sa qualité, analyser sa composition chimique et les facteurs qui peuvent la faire varier, connaître la structure et les propriétés des principes actifs aussi bien que leur activité pharmacologique, savoir apprécier la qualité par des éléments objectifs et mettre en œuvre des méthodes pour la contrôler et enfin d'appréhender tous les problèmes liés à l'utilisation des plantes et des produits qui sont issus: indication, contre -indication, effets secondaires, interactions médicamenteuses.

*Rosmarinus officinalis* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde. Les extraits des huiles essentielles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, le *Romarin* est entré dans la médecine moderne (HOSTETTMANN ,1997)

L'objectif de notre travail est d'étudier les propriétés Physico-chimiques et l'activité biologique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne de plante *Rosmarinus officinalis* pour d'éventuelles utilisations en lutte biologique.

# *Partie bibliographique*



## Chapitre I : Les huiles essentielles

### I-Généralité sur les huiles essentielles

#### I-1-Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances organiques aromatiques liquides qu'on trouve naturellement dans diverse partie des végétaux. Elles sont concentrées, volatiles, non huileuses et sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur. Actuellement, leurs utilisations en parfumerie et en alimentation est considérables c'est pour cette raison que l'organisme de normalisation AFNOUR NF et ISO ont donné une définition plus précise des huiles essentielles ; ces dernières sont des produits obtenus à partir d'une hydro distillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (BELHADI, 2010).

#### I-2-Classification

Selon le pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique obtenu par des aromatogramme, les huiles essentielles sont classées en groupes.

- Les huiles majeures
- Les huiles médiums
- Les huiles terrains (CHAKOU et BASSOU, 2007).

#### I-3- Répartition et localisation

On rencontre les huiles essentielles dans divers familles botaniques elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme de cellules spécialisées (DEGRYSE et al ., 2008).

##### I-3-1- Répartition

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques.

Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Exemple : *Myrtaceae* (*Girofle*), *Lauraceae* (*laurier*), *Rutaceae* (*citron*), *Lamiaceae* (*Menthe*), *Apiaceae* (*Coriandre*), *Zingiberaceae* (*Gingembre*)..... etc. (BELLAKHDAR, J1997).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries (*Menthe*, *Lavande*) les feuilles (*Eucalyptus*, *Laurier*) les rhizomes (*Gingembre*) les fruits (*agrumes*, *badiane*, *anis*), les racines (*Vétiver*), les graines (*Muscades*), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (*Cannelier*) (BELLAKHDAR, J1997).

### **I-3-2- Localisation**

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles (**GONZALEZ-TRUJANO et al ., 2007**).

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de *Lauraceae*, les poils sécréteurs des *laminaceaes*, poches sécrétrices des *Myrtaceaes*, des *Rutaceaes*, et les *Laminaceaes*, et les canaux sécréteurs qui existent dans des nombreuses familles. Il est intéressant de remarquer que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante (**DEGRYSE et al ., 2008**).

### **I-4-Méthodes d'extraction**

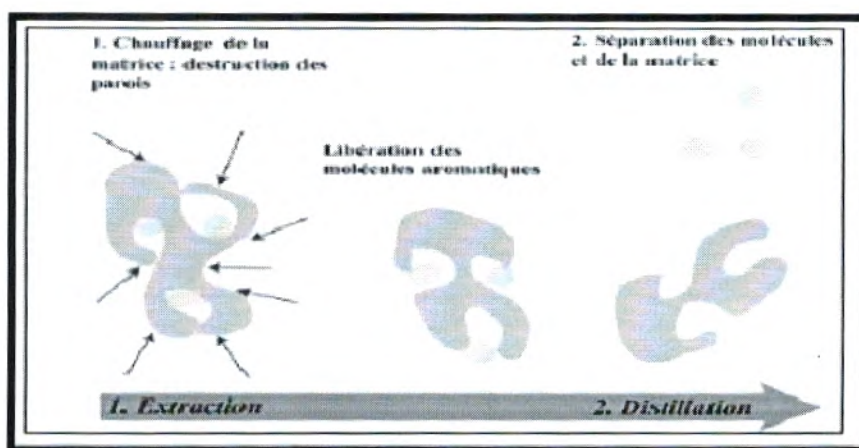
Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction de essences végétales.

En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composes (par exemple, les l'huile essentielles, huiles lourdes...). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées ; Les principales méthodes d'extraction sont :

1. Distillation à vapeur saturée
2. Entraînement à la vapeur d'eau
3. Hydro

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la figure 2 (**MARIE ELISABETH et LUCCHESI, 2005**).





**Fig. 1 :** Les étapes de l’obtention d’une huile essentielle (MARIE ELISABETH et LUCCHESI, 2005).

#### **I-4-1- Hydro distillation**

L’hydro distillation proprement dite est la méthode normée pour l’extraction d’une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité (MARIE ELISABETH et LUCCHESI, 2005).

Le principe de l’hydro distillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d’eau. L’ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique ((MARIE ELISABETH et LUCCHESI, 2005).

La température d’ébullition du mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d’évaporation. Elle est donc inférieure à chacun des points d’ébullition des substances pures. Ainsi le mélange (eau + huile essentielle) distille à une température inférieure à 100°C à pression atmosphérique (Normes AFNOR, 1992). Par contre, les températures d’ébullition des composés aromatiques sont la plupart très élevés (MARIE ELISABETH LUCCHESI ,2005) et (LUICITA.LAGUMEZ RIVERA, 2006).

La durée d’une hydro distillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures (L.RAUL. H. OCHOA, 2005). Selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l’extrait (LUICITA. LAGUMEZ RIVER, 2006).

Les principales raisons de cette préférence sont liées à la facilité de mise en oeuvre du procédé,



son sélectivité et donc la qualité des produits obtenus.

Cependant l'hydro distillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques.

C'est ainsi que pour certains végétaux fragiles, comme par exemple les pétales de fleurs, une technique d'extraction plus appropriée est utilisée. Il s'agit de la (distillation dite sèche). Cette technique ancestrale, utilisée autrefois par les alchimistes arabes (**MARIE ELISABETH LUCCHESI, FARID CHEMAT, et al., 2004**).

### **I-5-Caractéristiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales.

Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offrent une véritable alternative (**JEAN BOTTON A, 1999**).

Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours de leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais. (**ZABEIROU ; HACHIMOU, 2005**).

### **I-6-Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles**

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène (**BRUNETON, 1993**), Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorées.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse

- Solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau.
- Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques
- Très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (ZABEIROU et HACHIMOU, 2005).

## I-7-La composition des huiles essentielles

### I-7-1-Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- ✚ le groupe de terpénoïdes .
- ✚ le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après (GUENTER, 1975). La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés.

Selon (BRUNETON, 1999). Cette structure varie en fonction :

Du nombre d'atomes de carbone qui les constitue :

- ✚ Les monoterpènes.
- ✚ Les sesquiterpènes.
- ✚ Rarement les diterpènes.
- ✚ Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- ✚ De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- ✚ De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...)

De la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- ✚ Terpènes :  $R_1-HC=CH-R_2$ .
- ✚ Alcools terpéniques :  $R-OH$ .
- ✚ Cétones:  $R_1-CO-R_2$ .
- ✚ Phénols :  $C_6H_6-OH$ .
- ✚ Aldéhydes :  $R-CHO$ .
- ✚ Esters :  $R_1-COO-R_2$ .
- ✚ Ethers :  $R_1-O-R_2$ .



## Chapitre II : Présentation de l'espèce étudiée

### II-*Rosmarinus officinalis*

#### II-1-Définition

Le *Romarin* est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (BOULLARD, 2010).

#### II-2-Caractéristique botanique

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent presque tout au long de l'année (GONZALEZ-TRUJANO et al. 2007et ATIK BEKKARA et al . 2007).

Règne : plantes



Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales (labiales)

Famille :Lamiaceae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinusofficinalis* L.(QUEZEL et SANTA, 1963).

Fig.2 : Aspects morphologiques du *Romarin* (QUEZEL et SANTA, 1963).

### Principaux constituants

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin varie d'une région à l'autre (tableau 01). On trouve le 1-8 cinéole, le camphre, le pinène, le linalool, le limonène.

**Tableau 01 : Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de Romarin**

Composé majoritaire	%	Origine	Référence
$\alpha$ -pinène	23,1	Algérie (Tlemcen)	(Atik Bekkara et al., 2007)
Camphre	14,5		
$\beta$ -pinène	12,2		
$\alpha$ -pinène	14,9	IRAN(Tehran)	(Gachkar et al., 2007).
Linalool	14,9		
Pipéritone	23,7		
$\alpha$ -pinène	10,2	TURQUIE(Izmir)	(Yesil Celiktas et al., 2007)
1,8-cinéole	61,4		
$\alpha$ -pinène	11,4	MAROC	(Ouraini et al., 2005)
1,8-cinéole	50,2		
Camphre	9,1		
$\alpha$ -pinène	13,5	SERBIE(Vojvodina)	(Bozin et al., 2007)
Limonène	21,7		
Camphre	21,6		

### II-3-Habitat

Originaire des régions méditerranéennes, le *Rosmarin* pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre (HEINRICH et al. 2006).

### II-4-Utilisation

Le *Rosmarin* est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considérée utile pour contrôler l'érosion du sol (HEINRICH et al., 2006). L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (ARNOLD et al., 1997).



## II-5-Propriétés du *Romarin*.

### ✓ **Activité antibactérienne**

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du *Romarin*, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés par les résultats ont suggéré que les extraits du *Romarin* peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase (TSAI et al, 2007).

Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée par examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques.

L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) supercritique du *Romarin*, a présenté un large spectre antimicrobien. la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique (WECKESSER et al. 2007).

### ✓ **Activité antifongique**

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du *Romarin* à une concentration de 450 ppm. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que préservatif naturel contre l'*Aspergillus parasiticus* (RASOOLI et al., 2008).

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du *Romarin*, les résultats ont montré que de ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialypolitica*) examinées (SACCHETTI et al., 2005).

### ✓ **Activité antivirale**

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du *Romarin* a indiqué qu'il ya une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basses. Cependant, le carnosol a montré une activité (anti-HIV) à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique (ARUOMA et al., 1996).

### ✓ **Activité ovicide**

L'huile essentielle du *Romarin* s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*) (GILLIJ et al., 2007), de même (GILLIJ et al). Ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques (*Aedes aegypti*) (PRAJAPATI et al., 2005).



✓ **Activité anti-oxydante**

L'activité anti-oxydante du *Romarin* est connue depuis environ 30 années.

En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le *Romarin* est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité anti-oxydante la plus élevée (WANG et al.,2008).

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du *Romarin* comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande (BALENTINE et al.,2006; FERNANDEZ-LOPEZ et al.,2005;SEBROTYNEK et al.,2005) .

✓ **Effet anti-cancérogène**

Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le *Romarin* est considéré comme une thérapie contre le cancer (ATIK BEKKARA et al.2007).

✓ **Effet anti-acétylcholinestérase**

Des extraits aqueux et méthanoliques de 11 plantes utilisés dans la médecine traditionnelle chinoise pour l'amélioration de la mémoire ont été examinées pour évaluer leurs activités inhibitrices d'acétylcholinestérase en utilisant la méthode colorimétrique d'Ellman. L'extrait méthanolique du *Romarin* a montré une inhibition modérée (17%) de l'enzyme à une concentration de 0.1%. (ADSERSEN et al.2006).

✓ **Effet hypoglycémiant**

L'observation après l'administration oral de différentes dose de l'extrait éthanolique du *Romarin* à 3groupes de lapins (lapins ayant une glycémienormal, lapins ayant une hyperglycémie provoquée par l'administration oral du glucose, lapins diabétiques d'alloxaneont clairement montré que cet extrait exerce une activité hypoglycémiant remarquable à une dose de200 mg /kg (BAKIREL et al .2008).

✓ **Effet anti-hépatotoxique**

De nombreuses études ont été réalisées pour étudier l'effet anti hépatotoxique du *Romarin*, le travail a été concentré pour l'évaluation de l'efficacité de l'extrait méthanolique du *Romarin* pour normaliser certains paramètres histologiques et biochimiques du foie, après l'ingestion d'un hépatotoxine le tétrachlorure de carbone(CCL<sub>4</sub>). les résultats ont indiqué que cet extrait a empêché la peroxydation lipidique, (l'information, la nécrose, normalisé les taux de la bilirubine, la glycogène et l'activité du l'alanine aminotransférase) et enfin il augmenté l'activité du glutathion-S-transférase (GST)(MARIE et al., 2004).



## **II-6-Composition biochimique du *Romarin***

L'huile essentielle du *Romarin* (1 à 2% dans la plante) contient : de l' $\alpha$ -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. En plus de l'huile essentielle on trouve dans le *Romarin*: 2 à 4 % de dérivés triterpéniques tels que : l'acide ursolique , l'acide oléanolique ,l'acétate de germanicol ; des lactones diterpéniques : picrosalvine, dérivés de l'acide canosolique, romanol,romadial,des acides phénolique, des acides gras hydroxylés surtout des dérivés de l'acide décanoïque, des acides gras organiques : l'acide citrique, glycolique, et glycérique, des stérols, de la choline , du mucilage (BELLAKHDAR J ,1997) et de la résine (BELOUED A ,1998).

# *Résulta et Discussion*

### Chapitre III : Résultats et discussion

#### III-1 Caractéristiques organoleptiques (station d'Ouargla) :

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est extraite par la technique d'hydrodistillation, elle est liquide mobile, d'une coloration jaune clair et à odeur camphrée, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 01.

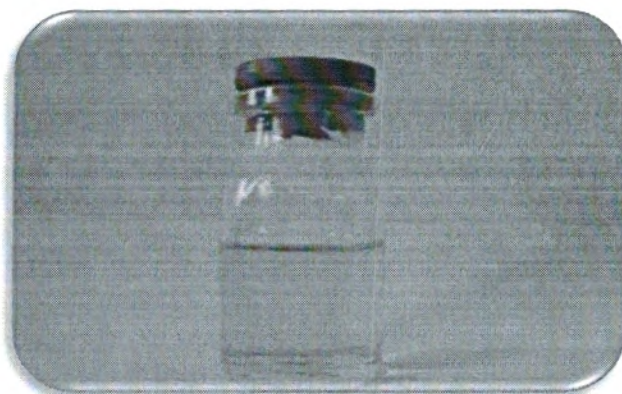
**Tableau 02 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis***

	Aspect	Couleur	Odeur
<b>L'AFNOR</b>	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine
<b>Huile essentielle</b>	Liquide mobile	Jaune clair	Camphrée

Notre huile essentielle est obtenus par hydrodistillation est la méthode normé pour l'extraction d'une huile essentielle (MARIE ELISABETH L ,2005). les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont en accord avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR.(AFNOR ,1999).

#### III-2 Caractéristiques organoleptiques des H.E de *R. officinalis L* :

L'H.E de *R. officinalis L.* est limpide, jaune foncé avec une odeur caractéristique fraîche (photo 1).



**Photos1 : H.E de *R. officinalis L.* obtenue par hydrodistillation.( MAKHLOUFLA 2011)**



### III-3. Les analyses de l'huile essentielle

#### III-3.1. Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de *R. officinalis L.* (station d'Ouargla)

Nous avons obtenu un rendement d'huile essentielle de 0.76% et à une densité de 0,9117, et un pH de 6,054, indice de réfraction de 1,5026 et un indice d'acide de 1,823, les résultats sont représentés dans le tableau 02.

**Tableau 03 : Tableau récapitulatif des caractéristiques de l'huile essentielle de Romarin**

Propriétés	Valeur pratique	Référence
<b>Rendement (%)</b>	<b>0.76</b>	0.5 - 2
<b>Densité (g/cm<sup>3</sup>)</b>	<b>0.9117</b>	0.905-0.921
<b>pH</b>	<b>6.054</b>	6 - 7
<b>Indice de réfraction</b>	<b>1.5026</b>	1.3356 -1.3500
<b>Indice d'acide</b>	<b>1,823</b>	0.5 -2,0

Le rendement 0,76 est conforme avec les normes AFNOR.(0,5-2), Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction. La densité est faible puisque il contient plus des monoterpènes (ZABEIROU et HACHIMOU,2005) ., et un pH acide l'huile contient beaucoup plus des acides (BELLKHDAR,1997) .,et un indice de réfraction de 1,5026 élevé un peu que le valeur d' AFNOR l'indice de réfraction élevé c'est-à-dire un teneur en monoterpènes forte .les résultats obtenues sont conformes aux normes internationales(AFNOR,1999).

### III-3.2. Les caractéristiques physico-chimiques des H.E de *R. officinalis* L. (station de Bechar)

**Tableau 04 : Les caractéristiques physico-chimiques de H.E *R. officinalis* L.**

<b>Pramètres</b>	<b>Indice d'acide</b>	<b>Indice d'ester</b>	<b>Indice de réfraction</b>	<b>Densité de relative à 20°C</b>	<b>Pouvoir rotatoire</b>
<b>Plantes R. officinalis L.</b>	<b>0.554</b>	<b>18.83</b>	<b>1.469</b>	<b>0.951</b>	<b>+11.75</b>

Les propriétés physico-chimique tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice d'ester,... etc, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle (Afsaps, 2008).

Les caractéristiques physico-chimiques d'huile essentielle analysée ont été déterminées selon les normes de l'association française de normalisation (Afnor, 1989).

Pour les paramètres chimiques, l'indice d'acide est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'H.E. Les acides libres sont neutralisés par une solution et OH titrée de d'hydroxyde de potassium. Alors que l'indice d'ester est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'H.E. L'hydrolyse des esters présents dans l'H.E se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée de KOH et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

Un indice d'acide inférieur à deux, est une preuve de bonne conservation de l'huile. En effet, une huile fraîche ne contient que très peu d'acides libres. C'est pendant la période de stockage que l'huile peut subir des dégradations telle l'hydrolyse des esters. (Lazouni et al.2007), constatent des variations des indices d'acide et d'ester au cours du temps et en fonction de la température.



Concernant les paramètres physiques, la densité d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. La densité des huiles essentielles est inférieure à celle d'eau.

L'indice de réfraction (IR) est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante.

Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé (Boukhatem et al., 2010). Le pouvoir rotatoire (PR) est l'angle en degrés, dont tourne le plan de polarisation d'une radiation lumineuse de longueur d'onde de 589.3 nm±0,3 nm, correspondant aux raies D du sodium, lorsque celle-ci traverse une épaisseur de 100 millimètres de l'huile essentielle.

### III-3.3. L'activité antimicrobienne de l'extrait et ces dilutions (station d'Ouargla)

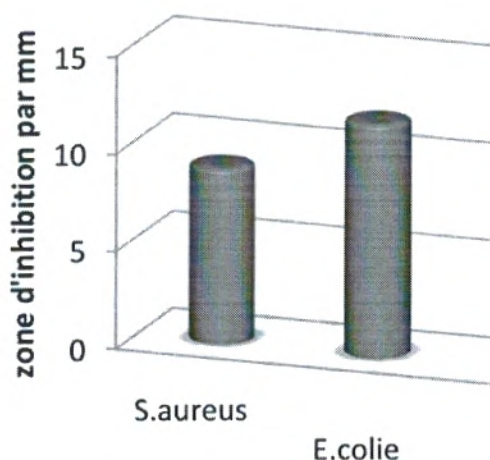
Le tableau 01 illustre les variations des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes apparues en présence de l'extrait de *Rosmarinus officinalis*

**Tableau 05 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis***

Souches bactériennes	Zone d'inhibition (mm)
<i>Staphylococcus aureus</i>	9
<i>Escherichia coli</i>	12

L'huile de *Rosmarinus officinalis* présent un effet positif sur les trois souches bactériennes étudiées avec des zones d'inhibition de 9 mm, 12mm respectivement pour *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*.





**Fig.3 : Zone d'inhibition (mm) de l'huile essentielle (FROUHAT.Z.et LAHCINI.B 2013)**

L'extrait de Romarin à une activité antimicrobienne importante contre l'*Escherichia coli* par sa zone d'inhibition de 12 mm et la zone d'inhibition de *staphylococcus aureus* est égal à 9mm, donc la souche E.coli Gram est sensible à l'huile essentielle et le *Staphylococcus aureus* est moins sensible. donc le composé majoritaire de l'huile essentielle du Romarin est le cinéole (50 %) suivi du camphre (12 %), de l' $\alpha$ -pinène (10 %) et du bicyclo-3.1.1-heptane (6,5%).l'HE de Romarin présente une activité antimicrobienne contre *E.coli*, *Staphylococcus* .(Skocibusic et al., 2006, Sharififar et al., 2007) note que l'activité antibactérienne des huiles essentielles est due à la présence des alcools à longues chaînes et des composés phénols qui inhibent la croissance des bactéries. Les résultats obtenus après la dilution de l'huile, sont présentés dans les tableaux ci-dessous.

**Tableau 06 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition des dilutions pour E coli.**

Dilution	100%	75%	50%	25%
zone d'inhibition	12mm	9mm	8mm	7mm

La souche *Escherichia coli* donnée un diamètre de 9 mm avec la dilution 75% et une zone de 8 mm avec la dilution 50% et un diamètre de 7 mm avec la dilution 25%, donc pour l'*Escherichia coli* est sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin.

**Tableau 07 : Diamètres (mm) des zones d'inhibition des dilutions pour *Staphylococcus Aureus***

Dilution	100%	75%	50%	25%
zone d'inhibition	9.5mm	7mm	7mm	8mm

La souche *Staphylococcus aureus* donnée un diamètre de 7 mm avec la dilution 75% et un zone de 7 mm avec la dilution 50% et un diamètre de 8 mm avec la dilution 25% ,donc *Staphylococcus aureus* est moins sensible pour toutes les dilutions de l'huile de Romarin.

### III-3.4. Résultat d'activité antimicrobienne (station de Bechar)

On remarque que les H.E sont pourvues d'un effet inhibiteur très important sur toutes les souches testées notant que l'H.E de *R. officinalis* L. exerce une activité très importante. Cet effet est représenté par une activité contre *E. coli* avec des diamètres de 30,5 mm et 21mm respectivement

D'autre part, Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) (BOUZOUTA et al., 2008). Néanmoins, Certaines études révèlent aucune activité antimicrobienne sélective vis-à-vis les bactéries Gram (+) ou Gram (-) (GUESMI & BOUDABOUS, 2006).

L'essai antibactérien a été estimé aussi par la méthode de contact direct, qui consiste à additionner aseptiquement l'extrait dans le milieu de culture. Les dilutions sont réalisées dans une solution d'agar à 0,2%, car ce dernier permet d'obtenir une dispersion stable et homogène avec les H.E. De même, l'utilisation des détergents comme le tween 80, ou des solvants comme l'éthanol et le diméthylsulfoxyde (DMSO) exercerait une inhibition de l'activité antimicrobienne (REMMAL et al., 1993).

### III-3.5. Les extraits

Les diamètres exploités par l'application des extraits montrent clairement que les zones d'inhibition diminuent avec la diminution de la concentration d'extrait appliquée (62.5 ,125, 250, 500 mg/l). En revanche, l'aptitude des extraits de *R. officinalis* L. à inhiber la croissance bactérienne est tout à fait différente, cela est marqué par l'activité puissante d'extrait méthanolique par rapport à l'HE et l'extrait aqueux.



Pour l'extrait méthanolique du romarin, l'effet le plus élevé est ceci appliqué sur *E.coli* qui est traduit par un diamètre de 34 mm avec une concentration de 500mg/ml.

Les résultats sont très loin à ceux indiqués par (Celiktas et al 2005) qui sont trouvés que l'extrait méthanolique exerce une faible activité sur les souches testées. On peut céder cette divergence aux facteurs influençant la composition de la plante (**lieux et périodes de récolte**).

D'après tous les résultats exposés au paravent et les effets inhibiteurs remarquables des produits actifs étudiés sur les bactéries, ces valeurs restent moins importantes à ceux définis avec l'ampicilline à une concentration de 200mg/ml, prenant l'exception de l'action d'extrait méthanolique de *R. officinalis* L. sur *E. coli* qui donne une zone plus importante que

Cette divergence des résultats peut être attribuée aux constituants de la plante prenant en considération le lieu et la période de récolte. Parallèlement, l'extrait méthanolique de cette plante donne aussi des inhibitions sur les bactéries avec des concentrations de 1mg / ml pour *S. aureus* et *E.coli*. Par comparaison, on peut constater que l'extrait méthanolique est plus actif que celle de l'extrait aqueux. D'après ces résultats, on remarque que *R. officinalis* L. a des propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans les traitements traditionnels comme un remède antimicrobien.

# *Conclusion Générale*

### Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques.

L'objectif de notre travail consiste à faire une comparaissant d'huile essentielle de *Rosmarinu officinalis* de la région sud oust d'Algérie

La valeur du rendement en huile essentielle de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* était de 0.76%. Cette valeur est identique avec celles obtenus chez d'autres études de la même espèce

Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles de *Romarin* extrait par hydro distillation ont des propriétés physicochimiques (la densité, l'indice de réfraction, indice d'acide) sont conformes aux normes AFNOR.

De même que l'activité biologique de l'huile du *Romarina* donné un pouvoir antibactérien très important surtout sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* à la base de résultats trouvés on peut conclure prédire que nos huiles essentielles peuvent servir comme base de lutte biologique.

# *Référence bibliographique*



## Référence bibliographique

**ADSERSEN et al (2006)** : Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase incisory activity. *J Ethmopharmacol.* 104:418-422.

**AFNOR,( 1992)** : Recueil des normes françaises ; huiles essentielles

**AFSSAPS(MAI 2008)** : Définition présente dans l'introduction des recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles de [archive] [PDF] (18-1-2013).

**ATIK BEKKARA et al (2007)** : Composition chimique de L'huile essentielle de *Romarins officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & santé .7* :6-11.

**BALENTINE et al (2006)** : The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. *Meat Science.* 73, p.413-421.

**BELAKHDAR, J (1997)** : La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris, p. 764.

**BELOUED, A (1998)** : Plantes médicinales d'Algérie.2<sup>ème</sup>Edition .Office des publications.

**BOULLARD (2010)** : BOUDJEMAA Nour Elyakin et BEN GUEGUA Hadjer, L'effet antibactérien de *Nigella Sativa*. Université Kasdi Merbah Ouargla.

**BOUZOUITA, N et al. (2008)** : Composition chimique et activités antioxydants, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10, 119-125.

**BRUNETON, J (1999)** : Pharmacognsie ,phytochimie ,plantes médicinales.3<sup>ème</sup> Edition .Tec & Doc (Ed) .Paris,p.575.

**CAILLET S, LACROIX M ,(2007)** : Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire.Laboratoire de recherche en Sciences appliquées à l'alimentation (RESALA) INRS-Institut Armand-Frappier ,université de Laval (Québec) .

**FERNANDEZ-LOPEZ et al (2005)** : Antioxidant and antibacterial activites of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat scinence.*p.69:371-380.

**Gill J et al (2007)** : Mosquito repellent activity of essential oils of aromatic plants.

**GONZELEZ-TRUJANO, M .E. et al (2007)** : Evaluation of antinociceptive effect of *Rosmarin officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J theopharmacol.* 111:476-482.

**GUENTER E (1975)** : The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van Nostrand Ed. New York USA.

**HENRICH, et al (2006)** : Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile.

**HOSTETTMANN K(1997)** : Tout savoir sur le pouvoir des plantes. Ed. Favre. S.A. Lausanne. Suisse.

**JEAN BOTTON A (1999)** : Pharmacognosie « Photochimie plante « médicinales 3<sup>ème</sup> éd TEC.DOC Paris. P484-p540.

**QUEZEL P., SANTA S(1963)** : Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II, CNRS, Paris, (1963) : pp 600.

**L.RAUL. H. OCHOA(2005)** : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » D'origine végétale. Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse.

**MAKHLOUFLA (2011)** : Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru

**MARIE ELISABETH LUCCHESI (2005)** : Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles : p 17 ; 23, 52.

**MARIE ELISABETHI LUCCHESI, FARID CHEMAT, and JACQUELINE SMADJA(2004)** : Flavour And Fragrance Journal Flavour Fragr. J.; 19: 134–138.

**MEYER, WARNOD J (1984)** : Natural essential oils: extraction processes and applications to some major oils, Perfumer & Flavorist, 9, 93-103.

**PRAJAPATI et al (2005)** : Insecticide, repellent



**SACCHETTI, et ses Collaborateurs (2005) :** Growing in Argentina. Bioresource Technology . (In press).

**SEBROTYNEK et al (2005) :** Comparison of natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat science .69:289-296.

**SKOCIBUSIC M., Bezic, N.,Dunkic, V., (2006) :** Food Chem., (96), 20–28.

**TSAI et al (2007) :** In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of streptococcus sodrinus .Food chem. (in press).

**ZABEIROU ; HACHIMOU (2005) :** Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicata L*) et de la Poivree (*Mentha Piperita L*) dans la région d’Ouargla .Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah \_Ouargla .p16.

**WANG et al (2008) :** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil comared to its main components. Food Chem.108:1019-1022.

**WECKESSER et al (2007) :** Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. Phytomedicine. (In press).



## Résumé

Les huiles essentielles possèdent des activités antibactériennes importantes et peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants .ce qui nous a conduits à effectuer l'étude de l'activité antibactériennes d'huile essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis* et d'évaluer leurs propriétés physicochimiques.

Mon travaille est s'intéresse sur une comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla

**Mots clés :** huile essentielle, activité antibactériennes, *Rosmarinus officinalis*.

## Abstract

Essential oils have important antimicrobial activities and can replace with success antibiotics which show their inefficiency against resistant microorganisms. In this study we have tested the antimicrobial activities of *Rosmarinus* and study the propriety physicochemical of essential oil extract.

My work focuses on is appearing between essential oils and their antibacterial effects on *Rosmarinus officinalis* area Bechar and Ouargla

**Key Words:**, essential oil, antimicrobial activit, *Rosmarinus*

## ملخص

تملك الزيوت الأساسية النباتية فعالية ضد بكتيرية و تستطع إن تعوض بنجاح المضادات الحيوية التي أثبتت عدم نجا عنها ضد البكتيريا المقاومة الشئ الذي دراسة الفعالية ضد بكتيرية لنبته إكليل الجبل و دراسة الخصوصيات الفيزيوكميائة للزيت المستخلص

هذا العمل يحث على مقارنة بين الزيوت المستخلصة و تأثيرها على فعالية ضد بكتيرية إكليل الجبل لمنطقة بشار و ورقلة

الكلمات المفتاحيه

الزيوت الأساسية – الفعالية ضد بكتيرية – إكليل الجبل