



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة البليدة 1

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

## MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique

**Filière :** Biotechnologie et Agroécologie

**Spécialité :** Biotechnologie et Valorisation des Plantes

## THEME

**Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile  
essentielle de Romarin : *Rosmarinus officinalis L***

**Présenté par :**

- Brahmi Ouissem
- Srier El Herts Meriem

**Membre de jury :**

Mr Bendali A	MAA	USDB	Président
Mme Allal L	Prof	USDB	Examinatrice
Mme Ghanai R	MCB	USDB	Promotrice

2021/2022



# Dédicace



*Je dédie ce modestes travail*

*A la lumière de mes jours, la flamme de mon coeur, la source de mes efforts, ma vie  
et bonheur*

*Ma Mère*

*Qui me donne toujours l'espoire de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi*

*A mon très chère*

*Mon Père*

*Pour ces encouragements et son soutien*

*Mes chères soeurs*

*Mes chers frères*

*A mes très chers Amis pour leur aide et encouragement pendant cette période de  
thèse*

*A toute la promotion Biotechnologie et valorisation des plantes 2022*

*A tous ceux que j'aime et que je respecte*

*Meriem*



# Dédicace



*Je dédie ce travail à :*

*Ceux qui ont consacré leur vie et souffert pour veiller à mon bien être, à la source de ma réussite, à mes chères parents. Que dieu les gardes.*

*Mon cher frère : Salah el dine*

*Mes sœurs : Aya, Amina*

*Mes chers ami : Maroua, Raya*

*Je tiens particulièrement à remercier énormément :*

*Ma grand-mère omi, Mes tantes Razika, Chahrazad et Mahdiya*

*Mes oncles Bilal, Nabil*

*A toute personne dont elle a une place dans mon cœur, que je connais, que j'estime et que j'aime.*

*Ouissam*

## ***Remerciements***

*Nous exprimons nos plus grandes gratitudees à notre promotrice Mme Ghanai R pour son aide précieuse et pour nous avoir guider tout au long de notre travail.*

*Nous remercions tous les membres de jury :*

*Mr Bendali qui a accepté de présider le jury*

*Mme Alal pour l'intérêt qu'elle donne pour examiner notre travail*

*Nous tenant à remercier profondément Mr Hamid Chikhi et Mr Brahma Mohammed de l'entreprise d'extraction des huiles essentielles Bio.Extrapamal de leur grand soutien*

*Nos remercions également les membres du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques de l'université de Blida pour l'aide et pour leurs conseils*

*Merci à tous les amis avec qui on a passé d'agréables moments tout au long de notre cursus universitaire*

*En fin nous remercions toutes les personnes qui ont participé dans notre travail que dieux vous bénissent*

*Et on espère de tous nos coeurs d'être à la hauteur de vos attentes*

## Table de Matières

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
ملخص	
Abstract	
Introduction .....	01

### Synthèse bibliographique

#### Chapitre I : Le Romarin (*Rosmarinus officinalis L*)

1- Historique .....	05
2- Origine et habitat .....	06
3- Systématique .....	06
4- Description botanique .....	07
4.1. La racine .....	07
4.2. La tige .....	08
4.3 . La feuille .....	08
4.4. Les fleurs .....	09
4.5. Le Fruit .....	09
5- Composition chimique .....	10
6- Utilisation .....	11
6.1. Utilisation en phytothérapie .....	11
6.2. Utilisation en alimentaire .....	11
6.3. Industrie agro-alimentaire .....	12

6.4. Utilisation en cosmétique .....	12
--------------------------------------	----

## **Chapitre II : Les huiles essentielles**

1- Définition .....	14
2- Répartition et localisation .....	14
3- Méthodes d'extraction .....	14
3.1. Extraction par Hydrodistillation .....	15
3.2. Expression à froid .....	16
3.3. Entraînement à la vapeur .....	16
3.4. Hydrodiffusion .....	16
3.5. L'enfleurage .....	17
3.6. Extraction assistée par micro-ondes .....	17
4- Propriété physico-chimique .....	17
5- Composition chimique .....	18
5.1. Les terpènes .....	18
5.2. Les phénols .....	19
6- Conservation .....	19
7- Rôle .....	20
Toxicité .....	20
8- Activités biologique .....	21
9.1. Activité Antioxydante .....	21
9.2. Activités antibactériennes .....	21

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : matériels et méthodes**

1- Matériel .....	25
1.1. Matériel biologique .....	25
1.2. Caractéristiques de la localité de récolte .....	26
1.3. Matériel non biologique .....	26
2- Méthode d'étude .....	26
2.1 La teneur en eau .....	26
2.2. Extraction des huiles essentielles.....	27
3- Activité Antibactérienne .....	28
4- Activité Antioxydante .....	30

### **Chapitre II : Résultats et discussions**

1- La Tenure en eau .....	32
2- Rendement en huile essentielle .....	33
3- Activité antibactérienne d'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	34
4- Evaluation de l'activité antioxydante .....	35
Détermination d'IC50 .....	36
Conclusion .....	39

Références bibliographiques

Annexes

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Souches microbiennes testées.....	25
Tableau 02 : caractéristique de localité de récolte de la plante étudiée.....	26
Tableau 03 : la teneur en eau des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis L</i> masse.....	32
Tableau04 : Diammètre des zones d'inhibitios d'huile essentielle de la plante Rosmarinus officinalis L sur la croissance des trois souches bactérinnes.....	43
Tableau 05 : Matériel non biologique et produit de laboratoire .....	annex 1
Tableau 06 : Pourcentage d'inhibitions de Vitamine C et de l'huile essentielle.....	annex 2

## LISTE DES FIGURES

Figure01 : Racine de <i>Rosmarinus officinalis</i> L .....	07
Figure02 : Tige de <i>Rosmarinus officinalis</i> L .....	08
Figure03 : Feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	08
Figure04 : Les fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	09
Figure05 : Aspect morphologique du fruit de romarin.....	09
Figure06 : Structure de base des flavonoïdes .....	11
Figure07 : Montage d'extraction par hydrodistillation .....	15
Figure08 : Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau .....	16
Figure09 : Monoterpène acyclique.....	18
Figure10 : Monoterpène monocyclique .....	18
Figure 11 : Alambic d'hydrodistillation.....	27
Figure 12 : Teneur en eau et parentage de la matière sèche de Romarin.....	32
Figure 13 : Rendement en huiles essentielles par rapport à la matière sèche.....	33
Figure 14 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles et de la vitamine C.....	35
Figure16 : Diagramme des valeurs de l'IC50 de l'HE et Vit C.....	36
Figure 17 : L'effet antibactérien de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	Annex 3

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**µl** : *Microlitre.*

**A** : Absorbance.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

**APGIII** : Angiosperme Phylogeny Group III.

**DPPH** : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazole.

**E.coli** : *Escherichia coli.*

**HA** : Hydrolat aromatique.

**HE** : Huile Essentielle.

**IC50** : inhibitrice Concentration médiane.

**OMS** : L'organisation mondiale De la santé.

**VitC** : Vitamine C.

**MH** : Muller Hinton .

**P. aeruginosa** : *Pseudomonas aeruginosa.*

**S. aureus** : *Staphylococcus aureus.*

## **Abstract**

### **Evaluation of antibacterial and antioxidant activities of Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*)**

In this work, we were interested in valorizing the Rosemary plant which is a very well-known plant in the world and in Algeria by its therapeutic and medicinal properties.

The extraction of essential oils was carried out by hydrodistillation, according to the results obtained, the percentage of essential oil is low (0.33%).

The antibacterial activity of the essential oil was tested by diffusion method on nutrient agar in the order to determine the zones of inhibition. Through the results obtained, it was found that the essential oil has an important antibacterial activity against the bacterial strain *Escherichia coli* ( $9.8 \pm 0.92$  mm), and weak antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* ( $6.65 \pm 4.13$  mm) and *Pseudomonas aeruginosa* ( $5.86 \pm 3.63$  mm).

Antioxidant potency was evaluated by the free radical reduction method (DPPH). The results obtained showed that the essential oil of Rosemary has an important anti-radical potency ( $IC_{50} = 260 \mu\text{g/ml}$ ) compared to that of the ascorbic acid.

**Keyword :** *Rosmarinus officinalis L.*, antibacterial activity, antioxidant activity, essential oil.

## Résumé

### Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de Romarin (*Rosmarinus officinalis* L).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressée à valoriser le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L) qui est une arbuste très connu dans le monde et en Algérie grâce à ces propriétés thérapeutiques et médicinales.

L'extraction de l'huile essentielle, de la partie aérienne de la plante, a été réalisée par hydrodistillation. D'après les résultats obtenus, le rendement en huile essentielle est faible (0.33%).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été testée par la méthode de diffusion sur gélose nutritive afin de déterminer les zones d'inhibition. A travers les résultats obtenus, il a été constaté que l'huile essentielle du romarin possède une activité antibactérienne importante vis-à-vis la souche bactérienne *Escherichia coli* ( $9.8 \pm 0.92$ mm), et une activité antibactérienne faible vis-à-vis les souches bactérienne *Staphylococcus aureus* ( $6.65 \pm 4.13$ mm), et *Pseudomonas aeruginosa* ( $5.86 \pm 3.63$ mm).

Le pouvoir antioxydant a été évalué par la méthode de réduction du radical libre (DPPH). Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle du Romarin possède un pouvoir anti radicalaire important ( $IC_{50} = 260 \mu\text{g/ml}$ ) comparativement à celui de l'acide ascorbique ( $IC_{50} = 543 \mu\text{g/ml}$ ).

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, activité antibactérienne, activité antioxydante, huile essentielle.

## ملخص

تقييم النشاط المضاد للبكتيريا و النشاط المضاد للأكسدة للزيت الأساسي لنبات اكليل الجبل

### (*Rosmarinus officinalis L*)

في هذا العمل نحن مهتمون بتقييم نبات اكليل الجبل الذي يعتبر نبات معروف في العالم و في الجزائر بفضل خصائصه العلاجية و الطبية.

تم استخلاص الزيت الاساسي عن طريق التقطير المائي, وفقا للنتائج التي تم الحصول عليها فان نسبة الزيت الأساسي منخفضة (0.33%).

تم اختبار النشا المضاد للبكتيريا لمستخلصات الميثانول بطريقة الانتشار على اجار لتحديد مناطق التثبيط , من خلال النتائج التي تم الحصول عليها وجد ان الزيت الأساسي لنبات اكليل الجبل له

نشاط مضاد للبكتيريا فعال ضد السلالة *Escherichia coli* ( $9.8 \pm 0.92$ mm), و نشاط

مضاد للبكتيريا منخفض مقابل *Staphylococcus aureus* ( $6.65 \pm 4.13$ mm). و

*Pseudomonas aeruginosa* ( $5.86 \pm 3.63$ mm).

تم تقييم الفعالية المضادة للأكسدة من خلال طريقة الحد من الجذور الحرة (DPPH). تظهر النتائج

ان الزيت الأساسي لنبات اكليل الجبل له فعالية مضادة للأكسدة مهمة ( $IC_{50}=260 \mu g/ml$ )

مقارنة بحمض الاسكوربيك ( $IC_{50}=542 \mu g/ml$ ).

**الكلمات المفتاحية:** *Rosmarinus officinalis L*, النشاط المضاد للبكتيريا, النشاط المضاد

للأكسدة, الزيت الأساسي .

# Introduction

### Introduction

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter toutes sortes de maladies. L'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux Préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire. (Lhuillier, 2007).

Les plantes médicinales constituent des ressources précieuses pour la majorité des populations rurales et urbaines en Afrique et représentent le principal moyen par lequel les individus se soignent (Badiaga, 2011). Malgré les progrès de la pharmacologie, l'usage thérapeutique des plantes médicinales est très présent dans certains pays du monde et surtout les pays en voie de développement (Tabuti et al, 2003).

L'Algérie est le plus grand pays riverain de la Méditerranée. Il est reconnu par sa diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques, ainsi que leurs diverses utilisations populaires dans l'ensemble des terroirs du pays. Ce sont des savoir-faire ancestraux transmis de génération en génération chez les populations, le plus souvent rurales. C'est un héritage familial oral, dominant en particulier chez les femmes âgées et illettrées (Mokkadem, 2004).

La famille de lamiaceae est une famille importante de 250 genres et 6700 espèces, cosmopolite mais surtout centrée de la méditerranée à l'Asie Centrale. Ce sont des plantes herbacées ou des arbustes plus rarement des arbres. C'est une famille importante pour les composés aromatiques, huiles essentielles, parfums, plantes médicinales etc. C'est le cas de la Menthe (*Mentha*), la Lavande (*Lavandula*), la Mélisse (*Melissa officinalis*), l'Hysope (*Hyssopus officinalis*) ou le Patchouli (*Pogostemon*). Herbes et condiments comme le Thym (*Thymus vulgaris*), le Romarin (*Rosmarinus officinalis L*), le Basilic (*Ocimum basilicum*), la Sariette (*Satureja hortensis*), l'Origan (*Origanum vulgare*), la Saugie (*Salvia officinalis*) ou la Marjolaine (*Origanum majorana*) etc. (Lachmann, 1907).

Le romarin (*Rosmarinus Officinalis L*) une herbe aromatique de la famille des Labiées, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydants, antimicrobiennes, antispasmodiques, emménagogues et anti-tumorales et largement utilisée en médecine traditionnelle. Elle fait l'objet de récentes recherches dans les domaines pharmaceutiques, Cosmétiques et agro-alimentaires (Atik et al., 2007).

## Introduction

---

Cette plante contient un grand nombre de substances qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie, en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie, Parmi ces composés On retrouve, les alcaloïdes, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes (Bahorun, 1997).

L'oxydation des produit industriel et les produits alimentaires est l'un des problèmes majeurs en industrie agroalimentaire, à cause de la formation des produits d'oxydation, qui sont responsables des odeurs indésirables et de la diminution des qualités organoleptique, nutritionnelle, et microbiologique des aliments (Paradiso et al, (2006).

Pour cela de nombreuse études s'orientent vers la recherche d'antioxydant naturels, à la fois surs et efficaces. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales qui ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments (Viuda et al .2011).

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est l'évaluation des activités antibactériennes et antioxydants des huiles essentielles des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* Récolté à Blida.

Notre travail comprend deux parties la première partie est divisée en deux chapitres un premier chapitre qui comporte une présentation bibliographique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L, sa localisation géographique et son utilisation. Le deuxième chapitre présente des généralités sur les huiles essentielles, leurs compositions, activité biologique, ainsi que les méthodes d'extraction, La deuxième partie correspond à l'étude expérimentale dans laquelle nous envisageons le matériel utilisé et les procédés méthodologiques suivent par la présentation des résultats obtenus et la discussion.

Ce travail est terminé par une conclusion générale qui portera une lecture attentive sur les différents résultats obtenus.

**Synthèse**

**Bibliographique**

# Chapitre I

## Le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.)

## 1. Historique

Le romarin est un arbuste d'origine méditerranéenne, que l'on faisait autrefois brûler pour purifier l'air des malades. Il fut rendu célèbre au XVI<sup>e</sup> siècle par la légende selon laquelle la reine Isabelle de Hongrie, malade et âgée, retrouva santé et jeunesse grâce aux vertus d'un mélange de solution alcoolique contenant du romarin.

Le romarin fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires. Les anciens lui vouaient une grande vénération. Si la merveilleuse cure de Donna Izabella a «lancé» le romarin, celui-ci n'était pourtant pas un inconnu. Pour les Romains, il était une herbe sacrée qui portait bonheur aux vivants et assurait aux morts un séjour paisible dans l'au-delà. Ils en tressaient donc des couronnes qu'ils coiffaient pour certaines fêtes, qu'il s'agisse de cérémonies nuptiales, funéraires ou de célébrations profanes. Les mariées portaient des couronnes de romarin, symboles de fidélité, tandis que les invités recevaient des branches enjolivées de rubans de soie multicolores.

Les Égyptiens plaçaient des rameaux de romarin dans la tombe des pharaons afin de fortifier leur âme. Le romarin est un symbole du souvenir et de l'amitié. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire.

Durant les épidémies de peste, le romarin était très populaire : on en faisait brûler des rameaux pour purifier l'air et on portait des sachets sur soi, que l'on respirait lorsqu'on passait dans les endroits touchés par cette terrible maladie. L'histoire veut aussi que la reine de Hongrie, qui souffrait de rhumatismes chroniques, ait été délivrée de ses problèmes grâce à un remède à base de romarin lorsqu'elle était âgée de 72 ans.

Dans certaines régions rurales, on fait tremper du romarin dans du vin rouge pour obtenir une boisson fortifiante. On utilise aussi le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour les plaies et sous forme d'onguent ou de baume pour soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux (Anonyme).

## 2. Origine et habitat

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L*, est une plante aromatique et médicinale, c'est une plante aride qui se trouve dans les lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (Moussaoui, 2014).

L'Algérie fait partie des pays méditerranéens, elle se caractérise par sa diversité climatique (climat méditerranéen humide, semi-aride, et aride) et sa richesse en couvert végétal. Le romarin fait partie des espèces végétales qui se présentent à l'état sauvage dans les zones littorales pas trop loin de la mer, les lieux sec et arides (Aurès) même au Sahara (Beniston, 1982). Les différentes espèces de romarin en Algérie occupe une superficie excédent 100 000 hectares (Bensebia et al ; 2009) se trouve sur les hauts plateaux et la bande littorale, sous le nom « klil » ou « M'zir » dans les régions Berbérophones.

## 3. Systématique

Le nom (*Rosamarinus*) dérive du latin (*Rosmarinus*) qui se compose de Ros : rose et marinus ; marin, qui signifie (rose de la mer) (Marion ; 2015).

L'épithète spécifique « *officinalis* » rappelle que le romarin est une plante médicinale

Nom en arabe : الإكليل, الإكليل, الجبل اكليل

Nom anglais: Rosemary

Classification de *R. officinalis* selon **APGIII** (Angiosperme Phylogeny Group III)

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Décotylédone

Ordre : Lamiales

Famille : lamiaceae (labiées)

Sous-famille : nepetoideae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis L*

#### 4. Description botanique

Le romarin est l'une des plantes les plus populaires en Algérie, connu à l'état sauvage, se trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (Zenman, 2010), c'est un arbrisseau de la famille des labiées (Zeghad, 2009).

##### 4.1. La racine

Le Romarin possède un système racinaire dense et profond ce qui lui permet de puiser l'eau en profondeur pendant les épisodes de sécheresse (Comas et al, 2013 ; Zwicke et al, 2015).  
(fig01)



**Figure01** : Racine de *Rosmarinus officinalis L* (Tite, 2013).

#### 4.2. La tige

La tige est un arbuste ou sous arbrisseau de 0,5 à 2 mètres, cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile (sanon, 1992). (fig02)



**Figure 02** : Tige de *Rosmarinus officinalis* L .

#### 4.3 . La feuille

D'après Mértola (2018), les feuilles sont généralement croisées, persistantes, sessiles, linéaires, levées, vertes, ponctuées et rugueuses sur la face supérieure, blanches et tomenteuses sur la face inférieure, d'extrémité révolutée. La structure de la feuille est adaptée à la sécheresse par la présence d'une cuticule épaisse sur la face supérieure et sa forme à bords enroulés vers l'intérieur (Hoefler, 1994). (fig03)



**Figure03** : Feuille de *Rosmarinus officinalis* L. (Academic, 2000-2014).

#### 4.4 . Les fleurs

Les fleurs sont réunies au sommet des rameaux, bleus pale à blanchâtre pratiquement sessile, disposées en petites grappes axillaires et terminales, (Rameau et al. 2008) la fleur est tétra cyclique. Généralement la floraison a lieu en janvier et février .(fig04)



**Figure04** : Les fleurs de *Rosmarinus officinalis L* .

#### 4.5. Le Fruit

Le fruit est un tétrakène brun foncée, lisse et globuleux de 2 à 3mm de long (Teuscher et al ; 2005). Chaque akène renferme un embryon sans albumen. (fig05)

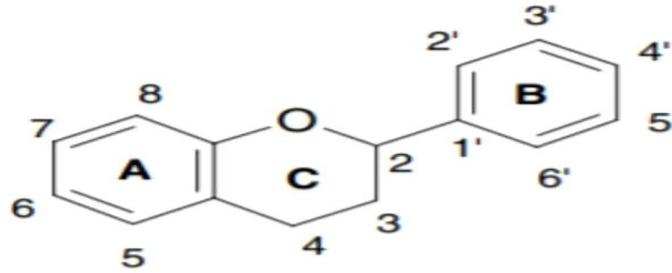


**Figure05** : Aspect morphologique du fruit de romarin (Debuigne et couplan, 2009).

## 5. Composition chimique

*Rosmarinus Officinalis L* est très riche en différents composés utiles. Les propriétés du romarin reviennent à ses principaux constituants qui sont :

- Les Polyphénols : ils sont représentés par des acides-phénols, dérivés de l'acide cinnamique, principalement l'acide rosmarinique et des dérivés caféiques ainsi que par des flavonoïdes. Treize hétérosides dont les génines sont très majoritairement flavoniques, ont été identifiés. La plupart d'entre eux sont des dérivés méthylés : 4'-méthoxy- (diosmine = 7-O-rutinosyl- diosmétol, hespéridoside = 7-O-rutinosyl- diosmétol, hespéridoside = 7-O-rutinosyl-hespéretol), 6-méthoxy-(homoplantagine, népitrine = 7-O-glucosyl-eupafoline) ou 7- méthoxy (genkwanine), 6,7-diméthoxy (cisimarine) ; d'autres génines ont été caractérisées.
- Dérivés terpéniques : ce sont principalement des diterpènes tricycliques, rosmarinique diphérol et dérivés aromatique de l'abiétane carnosol (=picrosalvine) et acide carnosolique, rosmanol et 7-méthoxy-rosmanol, rosmadial, rosmariquinones aux structures très proches des quinones diterpéniques présentes dans les racines (MaxRombi, 2007).
- Les éléments minéraux : concernant les éléments minéraux, la spectrométrie d'émission atomique a pu identifier 18 éléments tel que l'Aluminium avec 146.48 mg/kg, le calcium est de 7791.80 mg/kg, et de 330.16 mg/kg de fer, sachant que la quantité du Magnésium est 1634.55 mg/kg ; Phosphore : 1474.60 mg/kg (Arslan et al, 2007).
- Les flavonoïdes : les flavonoïdes sont des composés à faible poids moléculaires constitués de quinze atomes de carbone, disposés en C6-C3-C6 (Balasundram et al, 2006). Elles sont largement distribuées dans les feuilles, les graines, les écorces et les fleurs des plantes. Ils protègent la plante contre les rayonnements ultraviolets et les microorganismes pathogènes (Heim et al, 2002).



**Figure06** : structure de base des flavonoïdes (balasundram et al, 2006).

## 6. Utilisation

*Rosmarinus officinalis L* est une herbe médicinale largement utilisée par le monde pour ses propriétés : aromatique, antimicrobienne, antioxydants, antifongique, anti-inflammatoire, antispasmodique, stimulant circulatoire, stomachique, tonique nerveux, carminatif, cette plante est utilisée dans différents domaines :

### 6.1. Utilisation en phytothérapie

L'huile essentielle de romarin soulage les troubles circulatoires et les rhumatismes. Ainsi, il cicatrise les plaies, soulage les maux de tête améliore la mémoire, combat les effets du stress de la fatigue et soigne les infections respiratoire, le romarin est un tonique, antispasmodique, cholagogue, en cas de dyspepsie, fermentation intestinale, asthénie fatigue, état fébriles, grippe, c'est aussi un emménagogue, un diurétique, un anti-VIH et un anticancéreux (Bousbia, 2011).

### 6.3. Industrie agro-alimentaire

Le romarin est très utilisé en tant que condiment dans le bassin méditerranéen pour aromatiser les viandes (poulet, canard, lapin , veau, agneau), les poissons , les soupes et les légumes (pommes de terre, aubergines,...) (Duke, 1985). Il existe du miel spécialement produit à partir du nectar des fleurs de romarin. Ce miel très parfumé est appelé "Miel de Narbonne" ou miel de romarin (Bonnier, 1934).

Le romarin est utilisé en infusions, sous forme de poudre, extrait sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac (Zoubiedi, 2004).

Le romarin possède des vertus anti oxydantes important qui lui permettent de conserver les aliments et les huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acides poly phénolique (rosmarinique, caféique), l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuter, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses (Anton et al ; 2005 et Wichtl et al; 2003).

Le *Rosmarinus officinalis* est riche en flavonoïde et di terpènes qui lui confèrent des propriétés antioxydants ce qui permet de réduire l'action des radicaux libres (Debuigne, 2009).

### **6.4. Utilisation en cosmétique**

L'extrait des feuilles est très utilisée en cosmétique, il entre dans les compositions de nombreux produits comme les savons, les détergents et les parfumes.

Le niveau d'utilisation maximale signalé est de 1 % (Khan et abourashed, 2010).

# Chapitre II

## Les huiles essentielles

### 1. Définition

L'huile essentielle est un extrait naturel pur, résultat de la distillation des parties aromatiques d'une plante ou d'un arbre aromatique par entraînement à la vapeur. C'est une essence distillée. Selon AFNOR (association française de normalisation) c'est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

Selon la pharmacopée française (X Edition) l'huile essentielle est considérée comme une substance fluide, volatile, odorante, de composition complexe produite par un appareil sécréteur (Faucon, 2017).

### 2. Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, il y'aurait selon Lawrence(S.D), 17500 espèces aromatiques, les genres capable d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de famille exemple : apiaceae, asteraceae, cupressaceae, poaceae ...etc. (Bruneton, 2009).

Les HE peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : fleurs ( bergamotier), feuilles ( citronnelle , eucalyptus) et bien que cela soit moins habituel , dans des écorces , des bios , des racines , des rhizomes , des fruits , des graines (Bruneton, 2009).

La synthèse et l'accumulation des HE sont généralement associées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur ou à proximité de la surface de la plante : cellules à huiles essentielles, poils sécréteur de Lamiaceae, poches sécrétrices (Myrtaceae, Rutaceae), canaux sécréteurs des Apiaceae ou des Asteraceae (Bruneton, 2009).

### 3. Méthodes d'extraction

Il existe différentes techniques d'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques, les plus connues sont la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid, l'extraction par les solvants et les graisses (Robert, 2000 ; Proust, 2006). Le choix du procédé d'extraction influe directement sur la qualité des produits et le rendement de l'extraction, il est

orienté par la localisation histologique et la composition chimique de ses essences. À l'échelle industrielle, le procédé le plus employé reste la distillation à la vapeur d'eau.

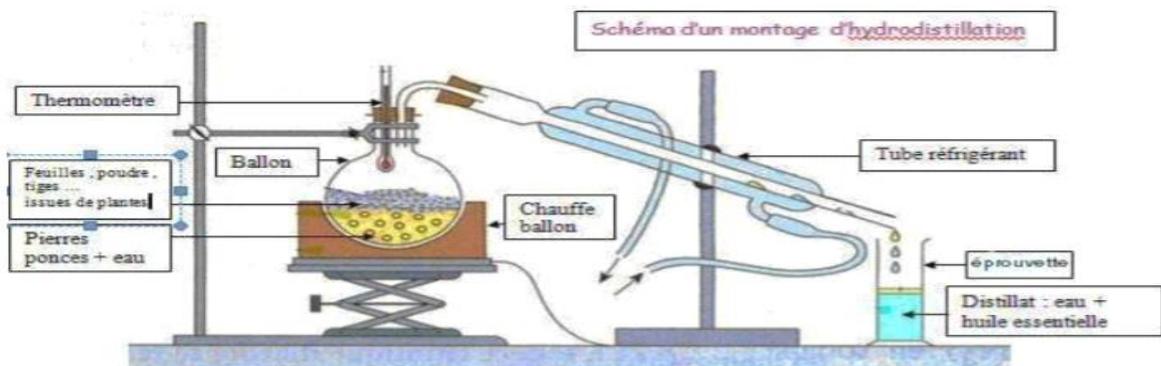
### 3.1. Extraction par Hydrodistillation

L'Hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien. En effet, il fut importé en Europe par les Arabes entre le VIII<sup>ème</sup> et le X<sup>ème</sup> siècle mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès le IV<sup>ème</sup> siècle avant J.C. Il est aussi le plus utilisé, le plus rentable et convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique (Willem, 2002).

Le principe de cette méthode consiste à immerger la matière végétale à traiter dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques, passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans une ampoule à décanter où il est possible de distinguer deux phases: l'huile essentielle et l'hydrolat chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée (Bachelot et al., 2006).

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, et peut atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. Cette durée de distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'huile (Lucchesi, 2005).

(Fig07)



**Figure07** : Montage d'extraction par hydrodistillation (Bruneton, 1993).

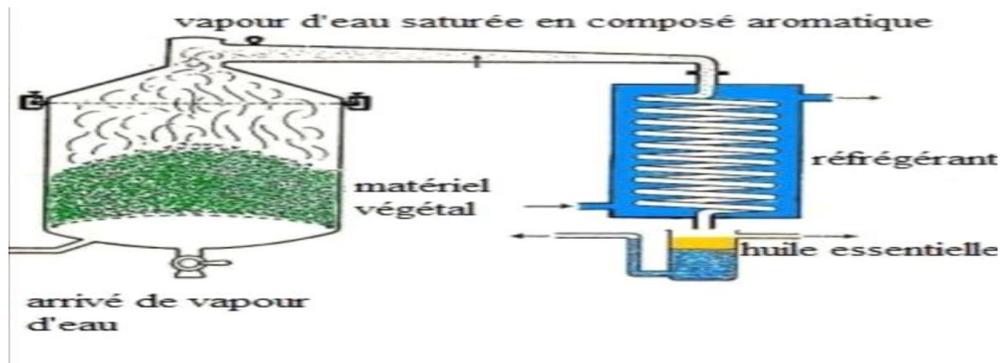
### 3.2. Expression à froid

C'est une technique d'extraction des essences végétales. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en essences. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau formée d'une émulsion constituée d'eau et d'essence. Cette dernière est alors isolée de l'eau grâce par décantation (Bruneton, 1993).

### 3.3. Entraînement à la vapeur

Cette technique qui ne met pas en contact directe l'eau et la matière végétale, contrairement à l'hydro distillation, est basée sur l'utilisation d'une source de vapeur externe pour extraire et libérer les huiles essentielles du corps végétal. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel végétal, les cellules éclatent et libèrent les huiles essentielles qui seront vaporisées sous l'action de la chaleur pour formation d'un mélange (eau avec huiles essentielles).

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en deux phases bien distinctes, une phase aqueuse (l'eau aromatique) et une phase organique l'huile essentielle (figure) (Bruneton, 1993). (Fig08)



**Figure08** : Montage pour l'entraînement à la vapeur d'eau (Lakhdar, 2015).

### 3.4. Hydrodiffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression « 0.02-0.15 bar » à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement

différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999).

### 3.5. L'enfleurage

Une méthode longue et complexe qui utilise une matière grasse végétale ou animale purifiée sur laquelle est placé un lit de pétales de fleurs. Au bout de quelques jours de contact corps gras/pétales de fleurs, on procède à un pressage du mélange, ce qui produit une matière huileuse très aromatique, puis à un « rinçage » de la pommade d'en enfleurage (composée de gras et de parfum) avec de l'alcool. Lorsque l'alcool s'est évaporé du mélange, il ne reste que l'huile essentielle. Les H.E. se dissolvent dans l'alcool sans la graisse. Cette méthode d'extraction est à l'origine de la fabrication des grands parfums qui ont fait la renommée de la parfumerie française et ses fragrances de renommée olfactive mondiale (Rodet, 2016).

### 3.6. Extraction assistée par micro-ondes

Dans ce procédé la plante est chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle : l'huile essentielle est entraînée dans le mélange iso tropique formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. (Sans ajouter l'eau pour les produits traités en frais). Ce procédé est très rapide et peu consommateur d'énergie (Zlotorzynki, 1995 cité par Bekhechiet, 2014).

## 4. Propriété physico-chimique

Les huiles essentielles sont Liquide à une température ambiante, insoluble dans l'eau et soluble dans les alcools, A la température ordinaire on trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide. Ils sont altérables et sensibles à l'oxydation, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (Bayala, 2014). Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau. Leur point d'ébullition varie de 160 à 240°C (Bernard et al, 1988).

### 5. Composition chimique

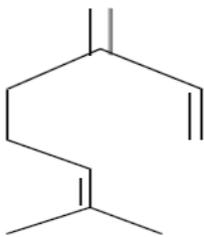
Les huiles essentielles sont composées de 3 groupe : le groupe des trapézoïdes, le groupe des phénylpropanoïdes, le groupe des lipides, issus de la dégradation d'acide gras et de terpènes (jacques et francis, 2012).

#### 5.1. Les terpènes

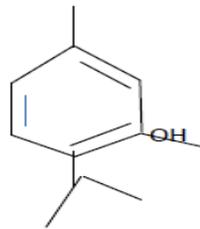
Les terpènes appartiennent à la grande famille des isoprénoides et constituent les métabolites secondaires les plus répandus. La plupart des substances de cette catégorie ne sont généralement pas soluble dans l'eau. Subdivisé par le nombre d'entités isoprènes : mono-terpènes formé à partir de deux isoprènes ( $C_{10}H_{16}$ ) et sesquiterpènes formé à partir de trois isoprènes ( $C_{15}H_{24}$ ), diterpènes formé à partir de quatre isoprènes conduisant aux caroténoïdes et aux poly terpènes ( $C_{5}H_8$ ), (bayala, 2014).

##### 5.1.1. Les mono-terpènes

On y trouve des monoterpènes acycliques (Myrcènes) (Fig09). Monocycliques (thymol) (Fig10), ou bicycliques du fait de la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, il peuvent se fixer sur un certain nombre de moléculaire (Bruneton, 2008).



**Figure09:** Acyclique : Myrcène



**Figure10:** Monocyclique : Thymol

### 5.1.2. Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> (assemblage de trois unités isoprènes). C'est le terpénoïdes la plus diversifié et il est divisé en plusieurs classes structural, acyclique, monocyclique, bi cyclique, tricyclique, ils existent sous forme d'hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (Bayala, 2014).

### 5.2. Les phénols

Dérivés de phénylpropane (C<sub>5</sub>-C<sub>3</sub>) ou composés phénolique, les phénols allyliques ou propényliques ou les aldéhydes sont plus courants, la biosynthèse par la voie phénylpropanoïde commence par des aromatiques phénylalanines et tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. De plus, la synthèse de ces composants nécessite une série d'acide dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique. Cependant, la phénylpropane ne réagit pas aussi bien que les terpènes dans l'huile essentielle. Néanmoins elles sont caractéristique dans certain huiles essentielles d'apiaceae (Cannelles, fenouil) (Bruneton,1999).

## 6. Conservation

D'après Jacques. et Francis (2012), Du fait de la présence de fonctions chimique réactives, les terpènes peuvent s'oxyder, lorsque l'huile essentielle est abandonnée assez longtemps, à la lumière, à l'air et à la température ambiante, ou à une température élevée. Les réactions radicalaires mises en jeu favorisent l'oxydation Des hydrocarbures éthyléniques, Des hydrocarbures saturés contenant des atomes d'hydrogène portes par des carbones tertiaires, Des alcools en  $\alpha$ -des doubles liaisons C=C, Des aldéhydes.

Pour éviter la formation des produits d'oxydation, notamment les peroxydes, il est nécessaire de conserver les huiles essentielles a l'abri de l'air en présence d'un gaz inerte tel que l'azote, et aussi a l'abri de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydable) ou en verre teinté, et les conserver a froid, de préférence à +4 °C.

Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et d'autre part d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu.

### 7. Rôle

Les huiles essentielles émises par les plantes sous forme de vapeur ont un impact Écologique évident comme suit:

- Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons
- Elles empêchent la dessiccation de la plante par évaporation excessive et protègent la plante .
- contre la lumière soit par diminution ou par concentration et maintiennent une certaine humidité autour des plantes des régions arides.
- Elles protègent les parties reproductives de la plante contre les prédateurs (herbivores, Insectes).
- Elles interviennent lors de l'interaction végétal-animal et dans les communications plante plante.
- Elles attirent les insectes et favorisent la pollinisation par leurs odeurs caractéristiques.
- En outre, elles embaument l'atmosphère en exhalant différents parfums ; c'est pour cela
- beaucoup d'entre-elles sont utilisées en cuisine comme condiments (Henni ; 2016).

### 8. Toxicité

Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet. L'application cutanée, des HEs contenant des furs coumarines et pyrocoumarines (huile de Citrus) ou même leur prise par voie orale, peut provoquer sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse (Bakkali et al, 2008).

Aussi, l'absorption orale des HEs riches en monoterpènes sur de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que

L'on nomme une néphrotoxicité (Cuic et al, 2013). De plus l'usage des HEs en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photo sensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles

riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (Bakkali et al, 2008).

### **9. Activités biologique**

Les HEs sont employés, pour leur odeur et saveur, en industrie des parfumes et en industrie des produits naturels (Small, 2001). D'après Caillard (2003), elles ont des propriétés antiseptiques pour les poumons (Eucalyptus).

D'autre part, ces huiles agissent comme analgésique (origan, thym), dépuratives ou cicatrisantes (lavande),(Schwammle et al.,2001) ainsi que ces derniers possèdent une activité antimicrobienne et antiparasitaire: les terpènes ou terpénoides ont des effets contre les bactéries, les mycètes , les virus et les protozoaires (Cowan, 1999).

#### **9.1. Activité Antioxydante**

Selon Beiraol Bernardo-Gil(2006), les HEs possèdent une activité antioxydante, ce sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif.

On distingue trois types d'antioxydants, enzymatiques, les enzymes de réparation, et les antioxydants non enzymatiques, dont les huiles essentielles sont classées autant qu'antioxydants non enzymatiques.

L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), cette dernière est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction de l'oxygène (Mdhavi et al, 1996), ils sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

#### **9.2. Activités antibactériennes**

Les bactéries sont des organismes qui possèdent une très grande faculté d'adaptation et qui ont une croissance et une reproduction extrêmement rapide, et malheureusement les résistances bactériennes apparaissent plus rapidement que nous développons de nouveaux antibiotiques (Benikhlef, 2014).

## Chapitre II : Les huiles essentielles

---

Les HEs ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique). Plusieurs travaux montrent que les HE et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram négatif et à Gram positif (Carson et Riley, 1995). L'effet des composés quantitativement minoritaires n'est parfois pas négligeable (Tantaoui et al.1993).

**Partie**

**expérimentale**

# Chapitre I

## matériels et

## méthodes

Ce travail consiste à l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat de la partie aérienne du romarin (*Rosmarinus officinalis L*) provenant de la wilaya de Blida d'Algérie (au niveau de la faculté des sciences de la nature et de la vie).

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée au niveau du laboratoire de Bio-Extrapamal (oued Alleug à Blida).

L'étude de l'effet antioxydant de l'hydrolat aromatique et l'effet antibactérienne des HES sont réalisées au niveau du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie de l'université Blida1.

### 1. Matériel

#### 1.1. Matériel biologique

##### 1.1.1. Matériel végétal

Les échantillons (10kg du romarin frais) sont récoltés au niveau de l'université de Blida de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, la récolte de la partie jeune pousse est faite au début de juin 2022, la matinée (à 8h30).

##### 1.1.2. Les souches bactérienne

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* est testées contre trois souches bactériennes mentionnée dans le tableau suivant (Tableau01) :

**Tableau 01:** Souches bactérienne testées.

Souches utilisés			Référence
Bactérie	Gram positif	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
	Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8139
		<i>Pseudomonas auruginosa</i>	ATCC 9027

### 1.2. Caractéristiques de la localité de récolte

Les différentes caractéristiques de localité de récolte sont montrées dans le tableau suivant:

**Tableau 02:** caractéristique de la localité de récolte de la plante étudiée en 2022.

La région de récolte	Cordonnées géographiques	Situation	Altitude	Pluviosité
Blida	36° 37° 10'' Nord 3° 13° 20'' Est	Situé à 47 Km au sud du capital d'Alger	100 m	676.3 mm/an

### 1.3. Matériel non biologique

L'ensemble des appareillages des verreries, et les réactifs utilisés sont mentionné dans l'annexe 01.

## 2. Méthode d'étude

### 2.1. teneur en eau

La teneur en eau est évaluée par séchage d'un échantillon frais à l'étuve à 60C° pendant 48 heures. Cette teneur est calculée selon la formule suivante :

$$\text{TE (\%)} = [(m_0 - m_1) / m_0] \times 100$$

**m0** : masse de l'échantillon « à état frais en g ».

**m1** : masse de l'échantillon « après séchage en g ».

**TE (%)** : Teneur en eau est exprimé en pourcentage.

### 2.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction de l'HE est réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type distillateur (Fig 11). L'hydrodistillation consiste à mettre à chauffer dans un alambic la plante et l'eau, sans

aucune séparation, la quantité d'eau peut être de deux à six fois plus importante que la quantité de la plante. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'HE se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

### Mode opératoire

Un échantillon de 10 Kg de matière végétale fraîche est mis dans un alambic de 58 Litres d'eau. 20 litre ont été ajoutée. Chauffer le contenu avec une chaudière, la vapeur se charge de substances volatiles, puis condensé grâce à l'eau froide, cette opération dure de 3h à 4h pour extraire de toute l'HE, ces HEs sont récupérées directement dans un Eppendorf, après la lecture de rendement, les huiles essentielles obtenues sont mises dans des flacons opaques et conservées au réfrigération à +4C° jusqu'à leur utilisation pour les tests biologiques.



**Figure 11** : Alambic d'hydrodistillation (Chikhi, 2022) .

### 2.1.1. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle et la masse végétale sèche à traiter. il est déterminé par la formule suivante:

$$R=(Ph/Pp)\times 100$$

**R:** Rendement en huile essentielle.

**Ph:** Poids de l'huile essentielle extraite en g.

**Pp:** Poids de la plante en g.

### 4. Activité Antioxydante

#### Principe

L'évaluation de l'aptitude du composé (extrait) à piéger des radicaux libres consiste à mesurer sa capacité à piéger les radicaux libres et donc à ralentir ou inhiber la création de radicaux libres (Hemmami et Guezei, 2013). Les tests proposés pour la mise en évidence du pouvoir antioxydant et anti-radicalaire de nos extraits phénoliques ont été réalisés par le test DPPH. Le DPPH (1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit et change de couleur en virant au jaune (Parejo et al., 2002).

#### Mode opératoire

La solution du DPPH est préparée par solubilisation de 2.5mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Prépare un extrait qui contient 3mg d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* et 3ml de méthanol. Ajoutée 1ml d'extrait+1ml de méthanol dans un tube à essai (tube01). mélange 1ml de la solution du tube01 avec 1ml de méthanol (tube02).cette opération est répétée plusieurs fois jusqu'au cinquième tubes avec différentes concentrations (0.2µg/ml, 0.4µg/ml, 0.6µg/ml, 0.8µg/ml, 1µg/ml). Ajouté 1ml de la solution méthanolique de DPPH dans chaque'un des tubes. Après incubation à l'abri de la lumière et à température ambiante pendant 30 minutes, l'absorbance est mesurée à 517 nm.

#### Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé comme suit :

$$I\% = ([A \text{ Blanc} - A \text{ échantillon}] / A \text{ blanc}) * 100$$

**A blanc** : l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sans le produit à tester).

**A échantillon** : l'absorbance du test

La courbe de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'IC 50 correspondant à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydant de l'huile essentielle. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence.

### 3. Activité Antibactérienne

L'évolution de l'activité antibactérienne a été réalisée selon la méthode de diffusion de disques imbibés de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis L* dans un milieu nutritif.

#### 3.1. Préparation de milieu de culture

le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit :

dissoudre 14g de la gélose Muller-Hinton dans 368ml d'eau distillée faire bouillir avec agitation jusqu'à dissolution complète, puis auto-claver pendant 15 minutes à 121C°, et finalement couler le milieu dans les boites de pétri.

#### 3.2. Stérilisation du matériel

L'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essais utilisée dans la préparation des solutions bactérienne et les disques en papier wattman (6mm de diamètre) enrobés dans du papier aluminium ont été stérilisé à l'autoclave à 121C° pendant 15minutes.

#### 3.4. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes sont ensemencées dans la gélose nutritives et incubée à 37C° pendant 24h, pour optimiser leur croissance. On racle à l'aide d'une anse de platine quelque colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse

dans 10ml d'eau physiologique, la suspension bactérienne est bien homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 à 625nm, l'inoculum peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

### 3.5. Ensemencement et dépôt des disques

L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage sur boîte de pétri, un écouvillon est imbibé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélose. De haut en bas en stries.

L'opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois ; l'ensemencement est fini en passant l'écouvillon une dernière fois sur toute la surface gélosée, l'écouvillon est chargé à chaque fois qu'on ensemence plusieurs boîtes de pétri avec la même souche. Les disques imprégnés d'extrait sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile.

Finalement, les boîtes de pétri sont incubées pendant 24 H à 37 C°.

### 3.6. Lecture

La lecture des antibiogrammes est faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour des disques.

Les résultats correspondent à la mesure du diamètre ( $\phi$ ) de la zone d'inhibition, ils sont exprimés par rapport à la sensibilité des bactéries (Ponce et al., 2003) et symbolisés par des signes (+) et (-) :

Non sensible ou résistante (-) =  $\phi < 8$  mm ; Sensible (+) =  $9$  mm  $< \phi < 14$  mm ; Très sensible (++) =  $15$ mm  $< \phi < 19$  mm ; Extrêmement sensible =  $\phi > 20$  mm.

# Chapitre II

Résultats et discussions

## 1. La teneur en eau

La teneur en eau de notre échantillon est montré dans la figure 12:

**Tableau 03** : la teneur en eau des feuilles de *Rosmarinus officinalis L.*

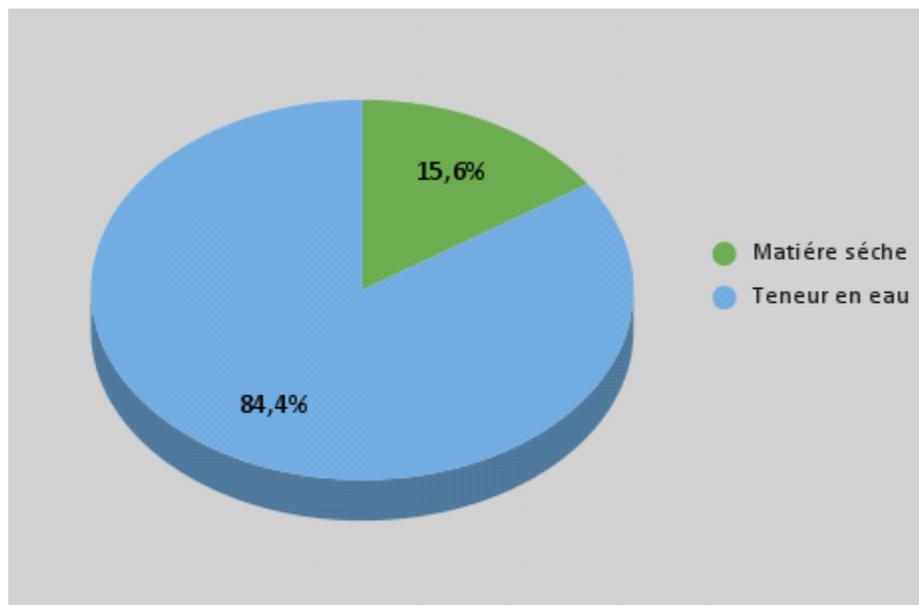
Échantillon	E(g)	S(g)	H%
<i>Rosmarinus officinalis L</i>	500	78	84.4%

**E(g)** : la matière végétale en gramme.

**S(g)** : creuset taré après séchage.

**H%** : le taux d'humidité en pourcentage.

Les analyses de notre échantillon ont révélé une teneur en eau élevé de 84.4% Cela signifie que tout le poids de la plante est sèche. (Fig12)

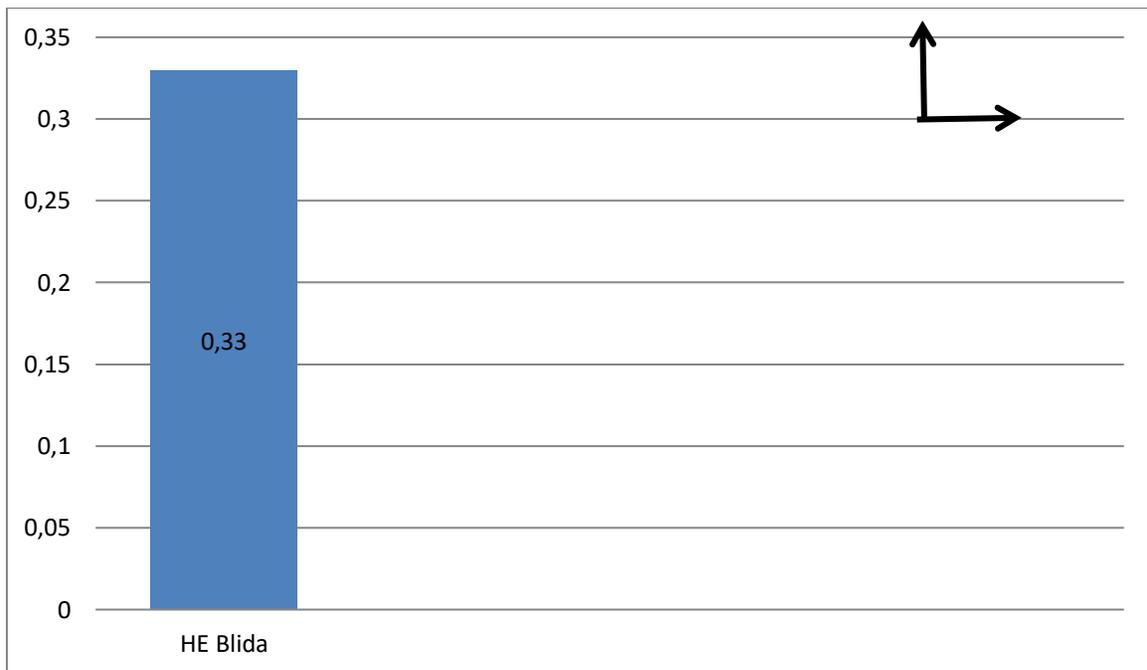


**Figure 12** : Teneur en eau et parentage de la matière sèche de Romarin.

D'après les résultats montrés dans la figure 13, nous constatons que la teneur en eau est de 84.4%. Ces résultats nous permettent de calculer les rendements en huiles essentielles dans la matière sèche.

### 2. Rendement en huile essentielle

Les rendements en huiles essentielles obtenus sont exprimés en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche. Les résultats sont montrés dans la figure 13.



**Figure 13 :** Rendement en huiles essentielles par rapport à la matière sèche.

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis L* ont fourni un taux relativement faible d'HE ( 0,33%). Ce rendement est faible par rapport à celui rapporté par Makhloufi, (2011) (1,52%) qui a travaillé sur le romarin de Bechar et qui a utilisé la même méthode d'extraction. Cette différence dans les résultats est probablement due à l'origine de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, et la méthode d'extraction est des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles.

Le faible rendement obtenu peut être lié à la méthode et les conditions d'extraction. En plus nous avons remarqué des résidus de l'huile essentielle au niveau du l'hydrolat aromatique qui correspond à des pertes.

### 3. Activité antibactérienne

Les résultats de l'activité antibactérienne sont montrés dans le tableau suivants :

**Tableau 04 :** Diamètre des zones d'inhibitions d'huile essentielle (moyen  $\pm$  écart type) en mm de la plante *Rosmarinus officinalis L* sur la croissance des trois souches bactériennes.

Les souches bactériennes	Densité	sensibilité
<i>Escherichia coli</i>	9,8 $\pm$ 0,92mm	(+)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,86 $\pm$ 3,63mm	(-)
<i>Staphylococcus aureus</i>	6,65 $\pm$ 4,13mm	(-)

Non sensible (résistante) (-).

Sensible (+).

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent qu'*Escherichia coli* apparaît légèrement sensible vis-à-vis de l'huile essentielle testée avec un diamètre de 9.8 $\pm$  0,92mm.

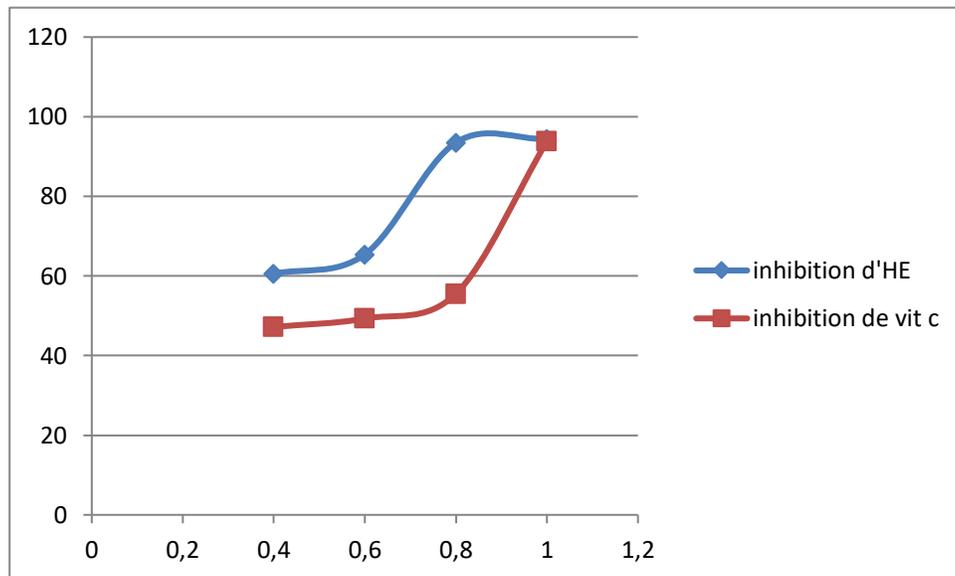
En ce qui concerne la souche *Pseudomonas aeruginosa* nous distinguons un diamètre de zone d'inhibition de 5,86  $\pm$  3,63mm. Le résultat obtenu indique que la souche *P. aeruginosa* montre une résistance vis-à-vis de l'huile essentielle de Romarin.

La souche *Staphylococcus aureus* a montré un diamètre de zone d'inhibition de 6,65  $\pm$  4,13mm. Les résultats indiquent que *S.aureus* est résistante vis-à-vis de l'huile essentielle de Romarin.

Les résultats obtenus par les travaux réalisés sur la même espèce sont divergents. Boulzazen, (2017) a récolté de l'université d'El-oued noté avec une sensibilité des souches *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *pseudomonas aeruginosa* à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* avec des diamètres de 7mm.

#### 4. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'HE et de l'hydrolat de *Rosmarinus officinalis L* est évaluée par le test du piégeage du DPPH. Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans la figure suivante et le tableau de l'annex 2.



**Figure 14:** Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles et de la vitamine C.

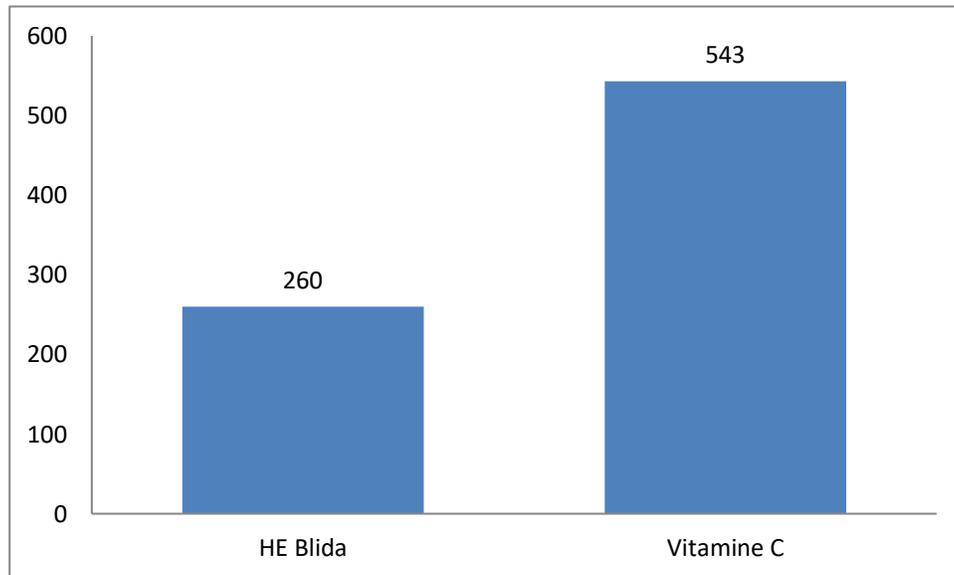
Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L*.

Nous remarquons que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour l'huile essentielle est supérieur à celui de la vitamine C pour les concentrations (0,4µg/ml, 0,6µg/ml et 0,8µg/ml).

Nous pouvons dire que notre huile essentielle est douée d'une activité antioxydante non négligeable .

### Détermination d'IC50

L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %, plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande, nos résultats sont présentés dans le figure15.



**Figure 15** : Diagramme des valeurs de l'IC50 de l'HE et Vit C.

D'après les valeurs de l'IC50 montrés dans le diagramme ci-dessus nous remarquons que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* présente une valeur d'IC50 plus faible (260µg/ml) que celle de la vitamine C (543µg/ml).

D'après ces résultats on peut conclure que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* est douée d'un pouvoir antioxydant plus important par apport à la vitamine C.

Les résultats obtenus par les travaux réalisés sur la même espèce sont divergents de Abeddou et al; (2021), ont trouve une valeur d'IC 50 de (104,26µg/ml) en étudiant l'effet antioxydante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* de la région de Ain Defla (Tacheta Zougagha) a cette valeur est inférieur a celle de l'huile essentielle de la région de Blida (260µg/ml).

## Chapitre II : Résultats et discussions

---

Mimouni ,(2016), noté une valeur d'IC50 de (711.5 $\mu$ g /ml) pour l'espace récolté à Mostaganem ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la région de Blida 260 $\mu$ g/ml.

Conclusion

Notre travail rentre dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie.

Dans la présente étude, nous avons visé comme objectif principal l'évaluation de l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de la partie aérienne d'une espèce de la famille de Lamiaceae, le *Rosmarinus officinalis L* provenant de région Blida est de 0.33%.

L'extraction des l'huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu pour les échantillons de la région Blida (0,33%).

L'activité antioxydante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée par le test du piégeage du DPPH . Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles ont une activité antioxydant plus forte (260µg/ml) que celle de la vitamine C (543µg/ml).

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'HE contre les souches bactérienne à montré une légère sensibilité de la souche *E.coli*. Les deux autres souches testés (*P.aeruginosa*,*S.a ureus*) Sont résistantes.

Il serait intéressant de compléter ce travail par une évaluation d'autres activités biologiques, notamment l'activité antifongique.

**Références**

**Bibliographiques**

### Références bibliographiques :

1. **acadimic 2000 .2014** . site web  
activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants." Food Control **22**(11):
2. **Aheren S.A., Kerry J.P and O'brien N.M.** Effects of plant extracts on antioxydant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. British Journal of Nutrition,2007;97;321-8.
3. **Anonyme:** tarot.amateur.free.fr/Pageverte/Romarin.pdf (consulter le : 28/02/2013).
4. anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat en pharmacognosie. Univ de METZ. p9-18.
5. **Anton R.,** Lobstein A. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huilesessentielles. Paris et Cachan : Tec&Doc, 2005, 522p
6. **Arslan D. and Musa Ozcan M. (2007).** Evaluation of drying methods with respect todryingkinetics, mineral content and colour characteristics of rosmariny leaves. EnergyConversion and Management.
7. **AtikBekkara, F; Bousmaha,L ;TalebBendiab S.A., J.B ;. Boti, J,b ; et Casanova, (2007).**Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'étatspontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé,7 (1),6-11.
8. **Bachelot C., Blaise A., Corbel T., Le Guernic A., 2006.** Les huiles essentielles. Licence 2 Biologie, Université Catholique de l'Ouest Bretagne Nord, France, 26 p.
9. **Badiaga M. (2011).**Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia (smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako, 137 p.
- 10.**Bahorun T. 1997.** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentiel. Food and agricultural resarch Council, Réduit, Mauritius. 83-94.
- 11.**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M.(2008),** Biological effects of
- 12.**Beirão ARB. et Bernardo-Gil MG., 2006.** Antioxidants from Lavandulaluisieri2nd Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal. 8p.
- 13.**Bellakhdar, J. (1997)** La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (Ed). Paris,764 p.
- 14.**Benikhlef A, 2014.** Comparaissant entre les huiles essentielles et leur effets antibactériens

## Références bibliographiques

---

- sur *ROSmarinusofficinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire Master. Université Abou BakrBelkaid, Telemcen, P27.
15. **Beniston (1984)**. Fleurs d'Algérie « *Rosmarinusofficinalis* ».E.N.L.Alger. p 47.
16. **Bensebia O., Banth D., Bensebia B., Dahmani A,2009**. Supercritical CO2 extraction of rosmariny: Effect of extraction parameters and modelling. The journal of super critical fluids, Vol.49 P.P.161-166
17. **Bernard.T., Perinau.f., Brav.o.,Delmas.M et Gaset.A:**(Extraction des huiles essentielles (chimie et technologie. Information chimie.,1988.
18. **Binet P et Brunel J.P, 1968**. "hysiologievégétalé", Doin, Paris, P.P.774-782.
19. **Bousbia N. 2011**.Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat, université d'Avignon et des Pays de Vaucluse et Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 127p.
20. **Caillard, J., 2003**. Les plantes des usines chimiques en miniature. Dossier de ressources documentaires. CRDP Midi-Pyrénées. 6 p.
21. **Carson C.F. & Riley T.V., 1995**. Antimicrobialactivity of the major components of The essential oil of *Melaleucaalternifolia*, J. ApplBacteriol, 78(3): 264-269.
22. **Cebuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D**. Petit Larousse des plantes médicinales.Paris : Larousse, 2009, 383p
23. **Comas L.H., Becker S.R., Cruz V.M.V., Byrne P.F., Dierig D.A.2013**. Root Traits contributing plant productivity under draght. Frontiers in plant science,(4),442.
24. **Couic-Marinier F., Lobstein A. (2013)**. Les huiles essentielles gagnent du terrain à
25. **Cowan M.M, 1999**. Plant products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews, Vol. 12, N°4, P.P.564-582.
26. **Debuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D**. Petit Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, 2009, 383p.
- 27.essential oils- A review. Food ChemToxicol. 2008; 46: 446-475.
28. **Faucon M,2012**. Traité d'aromathérapie scientifique et médicale: Fondements & aide à la prescription: monographies: huiles essentielles, huile végétales, hydrolats aromatique.Paris: sang de la terre et médical, P 879.
29. **Favier A, 2003**. Le stress oxydant: intérêt conceptuel et expérimental.

## Références bibliographiques

---

30. **Garnier G, Bezanger, Beauque SNE L, Debraux G, 1961.** Ressources médicinales de la flore française. Ed. Vigot frère. Tome 1, Paris, P 3.
31. **Hoefler C, 1994.** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de Rosmarinus
32. <https://paprikaetchocolat.wordpress.com/2013/08/17/bouture-de-romarin/>
33. **Khan I. A., Abourashed E. A. 2010.** Leung's encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs, and cosmetics. John Wiley & Sons, Inc P. 536- 537.
34. l'officine. Actualités pharmaceutiques; 52 (525) : 18-21.
35. **Lhuillier A. 2007.** Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauriasalicifolia* Hook. f ex Oliver, *Agauriapolyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissatrichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embeliaconcinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
36. **Lucchesi E.M., 2005.** Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes: Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat, Université de la Réunion. 143 p.
37. **Madhavi. DL, Deshpand SS & Salunkh DK, 1996.** Food Antioxydants Technological, Toxicological and health perspectives. Mariel Dekker, Inc. New York. P 65.
38. **Makhloufi A., (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. Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments.
39. **Marion L, 2015.** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L. Une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Université d'Aix-Marseille-Faculté de pharmacie, 229.
40. **Max Rombi. 2007** , 120 plantes médicinales. Alpen édition. 9, avenue Albert II –MC-98000 MONACO
41. **Mértola, 2018.** bonnes pratiques de domestication de plantes aromatique et médicinales: romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine de Mértola. P 12-13, 37-38.
42. **Mimouni Mansouria , 2016,** Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane unv Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.

## Références bibliographiques

---

43. **Mokkedem O. (2004).** Les plantes médicinales et aromatiques en Algérie : situation et perspectives. In : Actes du séminaire international sur le développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales dans le bassin méditerranéen, Djerba, 1-3 juin 2004. IRA-ICARDA, ARS-USDA. p. 28-36
44. **Moussaoui M., 2014.** Plantes médicinales de méditerranée et d'orient francesabil, P 137.
45. *officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques,
46. **Paradiso A., Cecchini C., DeGara L., et D'egididom ., G. 2006.** functional, antioxydant and
47. **Rameau J.C., Mansion D., Dumie. 2008.** Flore Forestière Française: guide écologique illustré. Région méditerranéenne. Institut pour le developpemenforestier, Paris, P 24-26
- rheological properties of meal from immature durum wheat. *Journal of Cereal Science*, Vol. 43, n
48. **Schwammle B., Winkelhausen E., Kuzmanova S. et Steiner W. 2001.** Isolation of carvacrol assimilating microorganisms. *Food Technology and Biotechnology*, 39(4), 341-346.
49. **Smallfield B., 2001.** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*. N°. 45, 4P.
50. **Tabuti J.R.S., Lye K.A., Dhillon S.S. (2003).** Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44.
51. **Tantaoui-Elaraki A., Ferhout H & Errifi A. 1993.** Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus*, *Broussonettii*, *T. zygis* and *T. satureioides*. *J. Essent. Oil. Res.* 5: 45-53.
52. **Tite F., 2013.** Site internet paprika et chocolat.
53. **Viuda-Martos M., Mohamady M., et al. 2011 "In vitro.** antioxidant and antibacterial
54. **Wichtl M., Anton R., Lassechere-Bernard M .,** Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. française (4e éd. allemande). Paris: Tec [et] Doc, 2003, 692p.
55. **Willem J.P., 2002.** Les huiles essentielles : médecine d'avenir. Ed. Dauphin, Paris, 311 p.
56. **Zaouali Y, Chokri M et Boussaid M, 2003.** Diversité génétique des populations

## Références bibliographiques

---

- naturelles de *Rosmarinus officinalis* L (Lamiaceae) en Tunisie. *Ecologia mediterranea: International Journal of Mediterranean Ecology*. Tome 29 n°2. ISSN1775-4100. P 202.
57. **Zeghade N, 2009.** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique ( *Thymus Vulgaris*, *rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne; Thèse de Magistère, Université de Mentouri; Constantine.
58. **Zermane A, 2010.** "de de l'extraction supercritique, Application aux système agroalimentaire"; Thèse de doctorat, université de Mentouri; Constantine.
59. **Zoubeidi.C, 2004.** « Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis.Labiatae*»; thèse de magistère ; université de Ouargla.
60. **Zwicke M., Picon-cochard., Morvan-Bertnard A., Prud'homme M.P., Volaire F. 2015.** What functional strategies drive drought and recovery of perennial species from upland grassland? *Annals of botany*, 6(116), 1001-101.

## Références bibliographiques

---

### Site web

1. <https://agronomie.info/fr/rosmarinus-officinalis-l/>
2. [https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FQHsPjfyPKKcJweZM9%3Ffbclid%3DIwAR3\\_sArjM7ZmVxPaJdmtfZ5pf9INhIGkniBHhgEo1O1Y\\_TRYGZPkzYE9tng&h=AT0uZKYVryKdZM1zRdICP\\_gEbUifLMQuDfCYCgMWHel3i8YUzSGRs3MdoYysRuEXQ2w5XWD7MBB55bzS1a8HvIMqogWRxnQaQW3vMRP2Pf0iK131K8qRmoRbb6opzwnulB9g](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Fimages.app.goo.gl%2FQHsPjfyPKKcJweZM9%3Ffbclid%3DIwAR3_sArjM7ZmVxPaJdmtfZ5pf9INhIGkniBHhgEo1O1Y_TRYGZPkzYE9tng&h=AT0uZKYVryKdZM1zRdICP_gEbUifLMQuDfCYCgMWHel3i8YUzSGRs3MdoYysRuEXQ2w5XWD7MBB55bzS1a8HvIMqogWRxnQaQW3vMRP2Pf0iK131K8qRmoRbb6opzwnulB9g)
3. [https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Flesdelicesdanais.net%2F2016%2F06%2F24%2Fces-fleurs-que-lon-peut-manger-le-romarin%2F%3Ffbclid%3DIwAR24K1KRfA5q5pLwB3gb-E4K8iUw7id30iES2l7LR-lBhbH3mQ8MuPRevug%23jp-carousel-20072&h=AT0uZKYVryKdZM1zRdICP\\_gEbUifLMQuDfCYCgMWHel3i8YUzSGRs3MdoYysRuEXQ2w5XWD7MBB55bzS1a8HvIMqogWRxnQaQW3vMRP2Pf0iK131K8qRmoRbb6opzwnulB9g](https://l.facebook.com/l.php?u=https%3A%2F%2Flesdelicesdanais.net%2F2016%2F06%2F24%2Fces-fleurs-que-lon-peut-manger-le-romarin%2F%3Ffbclid%3DIwAR24K1KRfA5q5pLwB3gb-E4K8iUw7id30iES2l7LR-lBhbH3mQ8MuPRevug%23jp-carousel-20072&h=AT0uZKYVryKdZM1zRdICP_gEbUifLMQuDfCYCgMWHel3i8YUzSGRs3MdoYysRuEXQ2w5XWD7MBB55bzS1a8HvIMqogWRxnQaQW3vMRP2Pf0iK131K8qRmoRbb6opzwnulB9g)

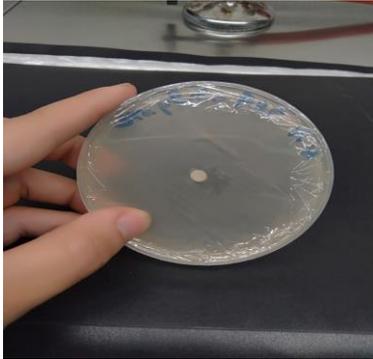
**Tableau 01:** Matériel non biologique et produit de laboratoire.

Appareillage	Verreries et autre	Réactifs et solutions
Agitateur magnétique	Béchers	DPPH
Agitateur Vortex	Boîtes de pétri	Eau distillée
Autoclave	Disques en papier	Eau physiologique
Bain marie	Epruvettes	Méthanol
Blance	Milieux de culture	
Bec bunsen	Papier filtre	
Etuve	Pipette	
Etuve d'incubation	Seringues	
Hotte	Spatule	
Spectrophotomètre	Tubes à essai stériles	

**Tableau 02 :** pourcentage d'inhibitions de vitamine C et l'Huile essentielle de Romarin.

	0.2 µg/ml		0.4 µg/ml		0.6 µg/ml		0.8 µg/ml		1 µg/ml	
	Do	I%	Do	I%	Do	I%	Do	I%	Do	I%
HE Blida	0.076	88.16	0.253	60.55	0.222	65.42	0.041	93.5	0.036	94.39
Vit C	1.017	48.78	1.044	47.19	1.002	49.31	0.879	55.53	0.12	93.82

**Figure 17** : L'effet antibactérien de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L.



**Boite 01**(*S. aureus*)



**Boite 02**(*E. coli*)



**Boite 03**(*P. aeruginosa*)

