

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE de BLIDA 1

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Biotechnologie et agro-écologie.



Mémoire

En vue de l'obtention de diplôme de master en sciences agronomiques

Spécialité : Système de production Agro-écologique.

Thème

Valorisation d'une espèce médicinale le romarin *Rosmarinus officinalis* poussant à l'état spontané en Algérie récoltée dans deux régions Blida et Tipaza.

Présenté par :

- Mr.Sellam Mohamed Amine.
- Mr.BenAmeur Mohamed.
- Mr.Bensadoun Younes.

Devant le jury:

| | | |
|--------------|-----------------------------|---------------|
| Hamidi Y. | MCB U.Blida | Président |
| Mouas Y. | MCA U.Blida | Promotrice |
| Degaichia H. | Maitre de recherche CRAPast | Examineur |
| Oukara F.Z | M. Recherche INRF Médéa | Co-promotrice |

Année universitaire 2021-2022

RESUME

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) est une plante médicinale. Afin de valoriser cette plante riche en molécules bioactives à des vertus thérapeutiques et qui peuvent remplacer les produits synthétiques, nous nous sommes intéressés à examiner les huiles essentielles de cette plante, récoltée dans deux sites différents appartenant à deux régions différentes Blida et Tipaza. L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydro distillation en utilisant deux appareils différents Clevenger et l'Alambic.

Les résultats obtenus ont montré que le rendement en chiffre en huile essentielle le plus important a été enregistré avec l'échantillon récolté dans la région de Blida, en utilisant l'appareil Clevenger.

Nous pouvons conclure à l'issue de ce travail que le facteur région et le facteur méthode d'extraction peuvent influencer le rendement en HE.

Mots clés : *Rosmarinus Officinalis L.*, région, techniques d'extraction.

ABSTRACT

Valorization of a medicinal species *Rosmarinus officinalis* growing spontaneously in Algeria harvested in two regions Blida and Tipaza.

Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) is a medicinal plant. In order to enhance this plant rich in bioactive molecules with therapeutic virtues and which can replace synthetic products, we were interested in examining the essential oils of this plant, harvested in two different sites belonging to two different regions Blida and Tipaza. The extraction of the essential oil was carried out by hydro distillation using two different Clevenger apparatus and the Still.

The results obtained showed that the highest essential oil yield was recorded with the sample collected in the Blida region, using the Clevenger.

We can conclude from this work that the region factor and the extraction method factor can influence the yield.

Keywords: *Rosmarinus Officinalis L.*, region, extraction techniques.

ملخص

تتمين نوع طبي **Rosmarinus officinalis** ينمو تلقائيا في الجزائر ويتم حصاده في منطقتين البلدية و تيبازة

اكليل الجبل (**Rosmarinus officinalis**) هو نبات ذبي و من اجل تعزيز هذا النبات الغني بالجزئيات النشطة بيولوجيا

بالفضائل العلاجية والتي يمكن ان تحل محل المنتجات الاصطناعية, فقد كنا مهتمين بفحص الزيوت الأساسية لهذا النبات , التي يتم حصادها في موقعين مختلفين ينتميان الي منطقتين مختلفتين البلدية و تيبازة . تم استخراج الزيت العطري عن طريق التقطير المائي باستخدام جهازين مختلفين من **Alambic** و **Clevenger**

اظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أنه تم تسجيل أعلى إنتاجية من الزيت العطري في العينة التي تم جمعها في منطقة البلدية باستخدام جهاز **Clevenger**

يمكننا أن نستنتج من هذا العمل أن عامل المنطقة و عامل طريقة الاستخراج يمكن أن يؤثر على محصول الزيت الأساسي

الكلمات المفتاحية : المنطقة ، تقنيات الاستخراج ، **HE** ، **Rosmarinus Officinalis L**

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant, de m'avoir donné la force, le courage et la patience sans lesquels ce travail n'aurait jamais vu le jour.

Je remercie notre promotrice Docteur Mouas de nous avoir orientés et encadrés tout au long de ce projet de fin d'étude, pour sa disponibilité, sa confiance, et ses précieux conseils. Nous adressons nos sincères remerciements à nos enseignants en particulier ceux de la licence et master 2 SPAE. Nous remercions monsieur Hamidi Y d'avoir accepté de présider le jury. Nos remerciements s'adressent aussi à monsieur Degaichia.H, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent aussi à Monsieur Chikhi H. (Bio extrapamal) et Dr. Oukara pour leur aide précieuse et l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Nous remercions le service des forêts de la W.de Blida et de Tipaza.

Nous remercions également Monsieur Walid ingénieur responsable du laboratoire d'amélioration des plantes aux seins du département de Biotechnologie, pour son aide et sa disponibilité.

DEDICACES

*Je dédie ce travail avec amour et reconnaissance à ceux qui m'ont donné la vie,
ma chère Maman et mon cher Papa.*

A mon frère et à mes sœurs.

A ma chère Yasmine,

A tous mes amis.

Sellam Mohamed Amine.

DEDICACES

Je dédie ce travail avec reconnaissance à mes parents qui m'ont accompagnés durant tout mon cursus scolaire, que dieu les protège et les garde.

A mes sœurs Khadidja et IHCEN.

A mes amis.

Que dieu vous protège et vous offre le bonheur.

Ben Ameer Mohamed.

DEDICACES

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont
chers,

A LA MEMOIRE DE MON PERE

Ce travail est dédié à mon père, que Dieu lui accorde son vaste
paradis.

A MA CHERE MERE

A toute ma famille

A mes amis

Bensadoune Younes

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAU

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE.

| | |
|--|----|
| I. DESCRIPTION DE LA PLANTE ETUDIEE | 16 |
| 1. Historique | 17 |
| 2. Répartition géographique | 17 |
| 3. Etude botanique de la plante | 17 |
| 4. Exigences écologiques et pédologiques de la plante..... | 18 |
| 5. Composition chimique | 19 |
| 6. Classification du genre <i>Rosmarinus officinalis</i> dans le règne végétal | 20 |
| 7. Utilisation de romarin..... | 21 |
| 8. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles | 21 |
| 9. Groupes des principes actifs..... | 22 |

CHAPITRE II : LES EXTRAITS DES PLANTES MEDICINALE

| | |
|---|----|
| 1. Utilisation des plantes médicinales et aromatiques... .. | 24 |
| 2. Huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques... .. | 24 |
| 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles | 25 |
| 4. Utilisation des huiles essentielles | 27 |
| 5. Méthodes de caractérisation des HE | 28 |
| 6. l'hydrolat aromatique | 29 |

CHAPITRE III : MATERIEL ET METHODES

| | |
|--|----|
| 1. Matériel végétal..... | 31 |
| 2. Climagramme d'Emberger des deux régions | 35 |
| 3. Préparation du matériel végétal..... | 36 |

| | |
|--|-----------|
| 4. Extraction de l'huile essentielle de R. officinalis L | 37 |
| 5. Identification chimique de l'huile essentielle..... | 41 |
| CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSION..... | |
| 1. Climagramme d'EMBERGER..... | 43 |
| 2. Effet du facteur région sur les paramètres étudiés | 44 |
| 3. Rendement en huiles essentielles du Romarin | 45 |
| 4. Les caractéristiques organoleptiques..... | 46 |
| | |
| CONCLUSION ET PERSPECTIVES | 47 |
| Références | |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1.1 : Aspect morphologique du Rosmarinus officinalis L | 18 |
| Figure 2 : Principe de la technique d'hydro distillation... .. | 26 |
| Figure 2.1 Distillation à la vapeur d'eau | 27 |
| Figure 3.1 : Localisation de la région de Tipaza | 31 |
| Figure 3.2 Localisation de la région de Blida..... | 33 |
| Figure 3.3 : Etages bioclimatiques des régions d'étude (Climagramme d'Emberger)... | 35 |
| Figure 3.4 : feuilles séchées de R. Officinalis | 36 |
| Figure 3.5: Montage utilisé Clevenger | 37 |
| Figure 3.6 : HE du romarin | 38 |
| Figure 3.7 Schéma d'un Alambic | 39 |
| Figure 3.8 Extrait de l'huile essentielle de Romarin obtenu | 39 |
| Figure 4.1 : Climagramme d'EMBERGER | 42 |
| Figure 5.1 : Rendement en HE de R. officinalis L | 44 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1.1: Composition chimique de Rosmarinus officinalis L..... | 19 |
| Tableau 3.1 : Température mensuelle | 32 |
| Tableau 3.2 : Précipitations mensuelle et annuelle | 33 |
| Tableau 3.3 : Température mensuelle | 34 |
| Tableau 3.5 Etages bioclimatiques des régions d'étude..... | 34 |
| Tableau 4.1 : tableau récapitulatif des rendements en HE | 43 |
| Tableau 4.2: Composition chimique des HE de R .officinalis Composés | 45 |
| Tableau 4.3 : Les caractéristiques organoleptiques..... | 46 |

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs : Absorbance

ARP : Puissance anti-radicalaire

C : Concentration

Ch : Chlorophylle

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse

d : densité

EPH : Etablissement public hospitalier

HE : Huile essentielle

INGC : Institut national de gendarmerie de criminologie

M : Masse

OMS : Organisation mondiale de la santé

INTRODUCTION

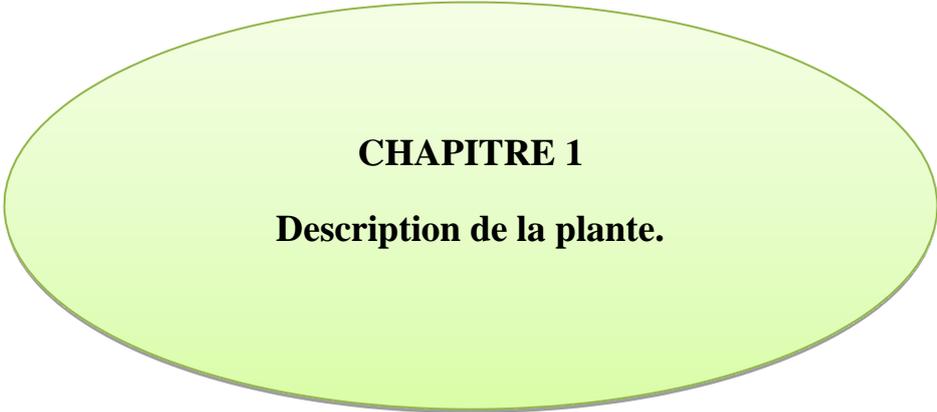
Les grandes civilisations (chinoise, égyptienne, babylonienne, grecque, et romaine) ont eu recours aux plantes médicinales pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques, chimiques, diététiques, pharmaceutiques, agroalimentaires et industrielles. Actuellement, cette médication, par les plantes, connaît un regain d'intérêt notable (LAHSISSENE et al. 2009). LHUILIER (2007), signale que les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) mentionnent que 80 % de la population mondiale sont dépendants des plantes médicinales. Importantes sur le plan médical et culturel, les plantes médicinales sont aussi un facteur économique majeur pour les pays en voie de développement.

L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une diversité variétale en plantes médicinales et aromatiques dont la plupart existent à l'état spontané (QUEZEL et MEDAIL, 1995). En Algérie la flore médicinale naturelle est relativement abondante et compte plus de 3000 espèces utilisées en médecine traditionnelle (ABED, 1997). Avec ses espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% sont endémiques, la flore reste peu exploitée sur le plan phyto-chimique comme sur le plan pharmacologique (BOUZID et al. 2017).

Dans le but de valoriser les espèces spontanées médicinales connues pour leurs tolérances à la sécheresse et à la salinité et dans le but d'élaborer de nouveaux produits bioactifs exploités par l'homme dans l'agro-alimentaire, l'industrie pharmaceutique et dans l'agriculture biologique comme bio-pesticide, nous nous sommes intéressés à une espèce très convoitée le romarin. Le *Rosmarinus officinalis* L. est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état spontané. Il a une affinité aux terrains calcaires et s'accommode très bien des contrées arides et rocailleuses. On le reconnaît aisément, toute l'année. Les feuilles, les sommités fleuries et l'huile essentielle sont utilisées en phytothérapie. Le romarin est une herbe stimulante, à odeur forte et reconnaissable, qui a une vertu antispasmodique et qui est prescrite, encore de nos jours, pour les bronchites. En médecine homéopathique traditionnelle, on l'utilise dans plusieurs diagnostics : asthme, palpitations, vomissements, grippe et fièvre.

Le travail consiste à récolter le Romarin spontané dans deux sites différents, appartenant à deux régions Blida et Tipaza. L'étude à portée sur :

1. L'extraction des HE du romarin récolté avec deux appareils différents.



CHAPITRE 1

Description de la plante.

I. DESCRIPTION DE LA PLANTE ETUDIEE :

1. Historique :

Le romarin, ou *rosmarinus officinalis* de son nom en latin, trouve son origine en Europe du Sud, où il est depuis longtemps utilisé comme aromate et plante médicinale. Dans l'Antiquité, les Grecs le dédiaient à la déesse Aphrodite et les Romains le faisaient brûler pour son effet bienfaisant (BARDEAU, 2009). Il est aujourd'hui principalement cultivé aux Pays-Bas et dans les pays des Balkans. Une partie de la récolte est destinée à l'industrie, où le romarin sert notamment d'ingrédient aromatique pour la production de savons.

2. Répartition géographique :

Le romarin est originaire du bassin méditerranéen. On le trouve principalement dans les terrains arides et ensoleillés, comme les garrigues, les maquis et les rocailles. (JEAN-CLAUDE RAMEAU ET al, 2008).

En Algérie cette plante est bien présente dans différentes régions. Elle est retrouvée dans la steppe à Sid Djilali dans la région de Sid El Makhfi, on peut aussi la voir dans le littoral de Béni Saf dans la zone de Sidi Safi. Nous pouvons la rencontrer à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques. (ATIK-BEKKARA et al, 2007).

3. Etude botanique de la plante :

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes de la famille des Lamiacées originaires du bassin méditerranéen (BESOMBES, 2008) Ses caractères sont les suivants :

- arbuste toujours vert, de 60cm à 2m de haut et pouvant vivre jusqu'à 30ans,
- tige, à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœuds distancés de 0,5 à 2mm,
- feuilles opposées, coriaces, sessiles, linéaires, entières, de 1.5 à 4.5cm de long, aux bords enroulés vers le bas; face supérieure vert sombre et glabre, face inférieure blanche, tomenteuse, parcourue par une nervure saillante, et portant des poils articulés ramifiés et poils glandulaires fortement serrés,
- inflorescence spiciforme, à fleurs subsessiles, qui s'épanouissent toute l'année.



Figure 1.1 : Aspect morphologique du **Rosmarinus officinalis L**

- calice gamosépale, poudré-blanchâtre, tube en forme de cloche, à 3 lobes, le plus large est la lèvre supérieure et les deux autres forment la lèvre inférieure,
- 2 étamines, et des anthères allongées uniloculaires,
- le fruit est un tétrakène, de couleur brune,
- fleurs bleu pâle, lilas ou blanchâtres, maculées de petites taches violettes à l'intérieur.(MOUAS, 2018).

4. Exigences écologiques et pédologiques de la plante :

Le romarin est une plante thermophile mais le jeune plant peut craindre les gelées. Si l'espèce se rencontre souvent en terre calcaire, on peut aussi le rencontrer sur sol acide quand la pinède est peu favorable à d'autres espèces (GUY, 2005). Les sols argilo-calcaires à pH 7-8 sont les plus favorables (PERON, 2006).

5. Composition chimique :

Le Romarin étant polymorphe, de nombreux botanistes préfèrent s'appuyer sur la composition chimique de l'huile essentielle pour lister quatre chémotypes, suivant le composé dominant : romarin à cinéole, romarin à verbénone, romarin à camphre/ bornéol, et parfois, romarin à myrcène.

Les composés rencontrés dans *Rosmarinus officinalis* sont classés dans le tableau 1.1

Tableau 1.1: Composition chimique de *Rosmarinus officinalis L.*

[MOUAS; (2018)]

| | |
|-------------------------------------|--|
| Huile essentielle | 1,8-cinéole Camphre a-pinène Autres monoterpènes(bornéol, limonène, camphène, a-terpinéol). |
| Diterpènes phénoliques tricycliques | Acide Carnosolique Carnosol Rosmanol Épirosmanol |
| Triterpènes et stéroïdes | Acide oléanolique Dérivés d'acide ursolique α - et β -amyrines |
| Acides phénols | Acides caféique Chlorogénique Rosmarinique |
| Flavonesméthylées | Genkwanine Lutéoléine Diosmétine |
| Autres constituants | Polysaccharides acides Traces de salicylates |

6. Classification du genre *Rosmarinus officinalis* dans le règne végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous-Embranchement : Angiospermes

Classe: Dicotylédones

Sous-Classe : Gamopétales

Ordre: Tubiflorales

Sous-Ordre : Lamiales

Famille : Lamiacées

Genre : Rosmarinus

Espèce : officinalis

7. Utilisation du romarin :

a. Dans l'agriculture :

Le romarin préfère les sols argilo-calcaires, de pH 7 à 8. Poussant naturellement dans la garrigue, le romarin peut valoriser des terrains pauvres, il se développe mieux en terrain profond, léger et perméable (QUEZEL et MEDAIL, 1995).

b. Phytothérapie :

La phytothérapie repose sur des remèdes naturels, elle est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle est de nouveau utilisée dans l'occident spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite et autres. (ISERIN et al. 2001).

Les parties aériennes du romarin sont utilisées pour traiter des problèmes rénaux, hypertension artérielle et elles sont employées comme antispasmodique (GONZALESTRUJANO et al.,2007 ; TAHRAOUI et al., 2007). GONZALES-TRUJANO et al., (2007), souligne que les parties aériennes possèdent un effet anti-inflammatoire et anti-nociceptive très remarquable. Les feuilles peuvent être utilisées pour traiter le diabète, leur décoction permet de faciliter la digestion et soulage l'estomac. L'huile essentielle augmente la circulation sanguine au niveau des membres, elle traite le désordre nerveux, les menstruations douloureuses et elle est aussi antirhumatismale (Almela et al. 2006 ; Miresmailli et al. 2006 ; Gonzales-Trujano et al.,2007 ; Bakirel et al., 2008). Selon, Gachkar et al. (2007)

c. Industrie alimentaire :

Le romarin est utilisé comme alternative aux additifs chimiques pour la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et salades. (BOUSBIA, 2011).

d. Industrie de parfumerie :

La faculté des extraits de romarin a protégé la peau des lésions cutanées. Ils ont montré la validité réelle de la biotechnologie des antioxydants naturels dans la gestion de l'antivieillessement de la peau (BOUSBIA , 2011).

8. Pouvoir antioxydant des huiles essentielles :

Les HE constituant une source potentielle de molécules naturelles bioactives, font l'objet de nombreuses études concernant leurs éventuelles utilisations en tant qu'antioxydants (FERNADEZ et CHEMAT, 2012). Les relations entre le pouvoir oxydant et les antioxydants sont très souvent expliquées d'une façon très simple. Les espèces réactives de l'oxygène réagissent ensemble en tant qu'une entité fonctionnelle produisant des composés de destruction tels que les produits secondaires de peroxydation de lipide. Cependant, il y a beaucoup de différentes espèces réactives de l'oxygène qui ont des rôles distincts et essentiels en physiologie normale et exigé pour un grand choix de processus normaux.

9. Groupes des principes actifs :

a. Huiles essentielles

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances végétales, obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine. On retrouve majoritairement de terpénoïdes et des molécules aromatiques, ils possèdent un caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (ISERIN et al. 2001). Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et ont donné naissance d'une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie (SANON et al. 2002).

b. Polyphénols

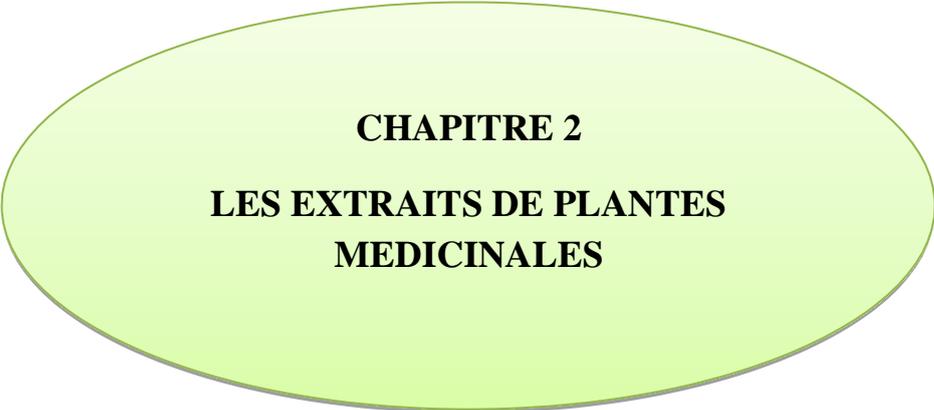
Les polyphénols ou composés phénoliques sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux (LUGASI et al. 2003).

c. Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides (WICHTL et ANTON, 2009).

d. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des pigments quasi universels des végétaux, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et des caroténoïdes (WICHTL et ANTON, 2009). Ils se sont révélés être des substances antimicrobiennes actives in vitro contre un large spectre de microorganismes. Cette activité serait due à leur capacité à former un complexe avec les protéines extracellulaires solubles et à la paroi bactérienne (COWAN, 1999). Ils sont aussi connus pour leur activité anti-oxydante (BRENETON, 1999).



CHAPITRE 2
LES EXTRAITS DE PLANTES
MEDICINALES

1. Utilisation des plantes médicinales et aromatiques :

Les plantes médicinales sont utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents (Sanago, 2006).

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. La phytothérapie à la différence de la médecine classique, recommande d'utiliser la plante entière, appelée aussi « totum » plutôt que des extraits obtenus en laboratoire. Une plante entière est plus efficace que la somme de ses composants, les plantes contiennent des centaines voire des milliers de substances chimiques actives (ISERIN et al, 2001).

2. Huiles essentielles des plantes médicinales et aromatiques :

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés lipophiles, volatiles et souvent liquides stockées dans des tissus végétaux spécialisés et extrait des plantes grâce à des procédés physiques (BRUNETON, 1993).

a. Localisation :

Les huiles essentielles sont sécrétées dans différentes parties, variant selon la plante aromatique. Elles peuvent être de minuscules cellules épidermiques dans les pétales de la rose ou des poils sécréteurs disposés à la périphérie des calices floraux, des feuilles et des tiges chez les labiées (thym, sauge) ou de grosses cellules disposées au sein même des tissus végétaux : tiges, écorces, racines, feuilles et semences. (SCIMECA et TETAU, 2005).

- Dans les feuilles comme le basilic
- Dans les fleurs comme la rose
- Dans les fruits comme le citron
- Dans les graines comme la coriandre
- Dans l'écorce comme la cannelle
- Dans les racines pour certaines plantes. (BRUNETON, J. (1993).

b. Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles :

Les HE communément appelées essences, sont des constituants de consistance huileuse, plus ou moins fluide, très odorantes, volatiles, souvent colorées et plus légères que l'eau (densité de l'ordre de 0,750 à 0,990). Elles se volatilisent sous l'action de l'air et de la chaleur et se dissipent au bout de quelques instants. Les HE sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais sont insolubles dans l'eau.

3. Méthodes d'extractions des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction d'huile essentielle, En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter, de la nature des composés, le rendement en l'huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées.

1. Distillation :

Selon PIOCHON (2008), il existe trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydro distillation, l'hydro diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau.

➤ Hydro-distillation :

Il s'agit de la méthode la plus simple et, de ce fait la plus anciennement utilisée. La matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau, placé sur une source de chaleur, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'H.E se sépare de l'hydrolysat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, elle surnage au-dessus de l'hydrolysat (figure 2.1).

En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (LUCCHESI, 2005).

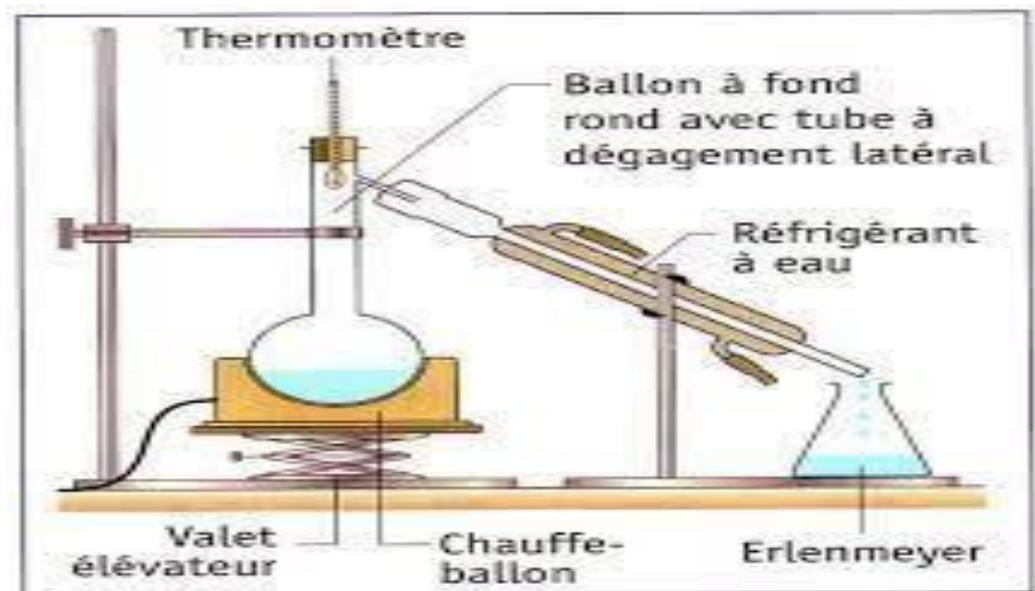


Figure 2.1 : Principe de la technique d'hydro distillation (Distillation simple) (LUCCHESI, 2005).

➤ Distillation par entrainement à la vapeur d'eau :

Dans ce type de distillation, le matériel végétal n'est pas macéré directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'H.E en minimisant les altérations hydrolytiques.

➤ Hydro-diffusion : Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite la vapeur d'eau au travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide et n'altère pas les composés volatils.

2. L'extraction à froid :

Elle constitue le plus simple des procédés, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce des fruits comporte des poches sécrétrices d'essences. Ce procédé consiste à broyer, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu est appelé essence, car il n'a subi aucune modification chimique (ROUX, 2008).

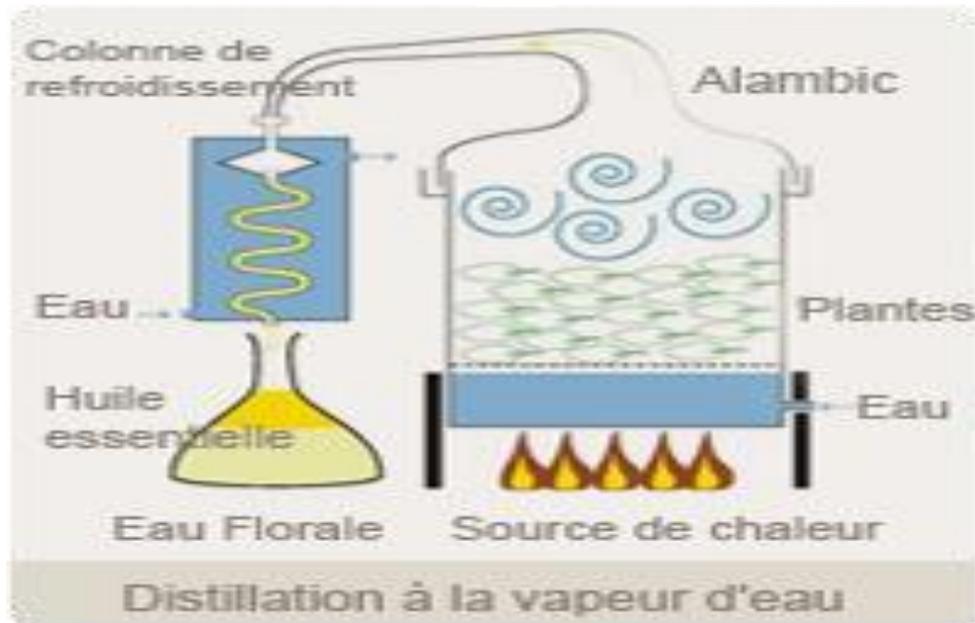


Figure 2.1 Distillation à la vapeur d'eau.

4. Utilisation des huiles essentielles :

Les HE sont de plus en plus utilisés et reconnus dans le domaine de la santé et de la beauté.

Les huiles essentielles ont de nombreuses propriétés, dont les suivantes :

- Propriétés médicinales et thérapeutiques, d'où leur utilisation dans la phytothérapie, en générale cela se fait par l'isolation du principe actif.
- Propriétés odorantes d'où leur utilisation dans le domaine de la parfumerie et des produits cosmétiques. (BESOMBES, 2008).

Cependant, l'utilisation des huiles essentielles peut être dangereuse lorsqu'elles sont appliquées sur la peau.

5. Méthode de caractérisation des huiles essentielles :

Afin de déterminer la composition chimique des huiles essentielles, il est inévitable de passer par différentes méthodes de caractérisation, cette étape est importante malgré les progrès réalisés en matière de séparation et d'identification.

Parmi les différentes méthodes de caractérisation, il y a :

- **La chromatographie à phase gazeuse (CPG).**

C'est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs ont contribué à rendre la CPG incontournable pour la caractérisation des huiles essentielles. Cette technique permet de séparer un mélange gazeux complexe par succession continue d'équilibre entre phase mobile gazeuse et phase stationnaire (BESOMBES, 2008)

Le développement des phases stationnaires et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés dans les huiles essentielles. Ainsi, la CPG bidimensionnelles (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant co-combiner avec les composés plus abondants. L'échantillon est injecté dans la première colonne, puis les composés sont transférés dans une deuxième colonne pour être séparés (PAOLINI, 2005).

- **La spectrométrie de masse (SM) :**

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des composés. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse; renfermant une source, un analyseur et un détecteur. La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. Dans le spectromètre de masse, les ions sont séparés selon leur ration « masse/charge », à l'aide d'un champ magnétique ou électrique (BESOMBES, 2008). Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse est détecté et transformé en un signal utilisable.

- **Couplage CPG/SM :**

Le couplage chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse est aujourd'hui une des techniques les plus utilisées de la chimie analytique. L'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement plus performant. La principale difficulté rencontrée lors de ce couplage est due à la grande différence de pression. En effet, la spectrométrie de masse requiert un niveau de pression très bas, alors que la chromatographie en phase gazeuse se déroule à un niveau de pression plus

élevé. Ainsi le couplage CPG/SM en mode impact électronique (SM – IE) est la technique la plus utilisée dans le domaine des HE (CAVALLI, 2002).

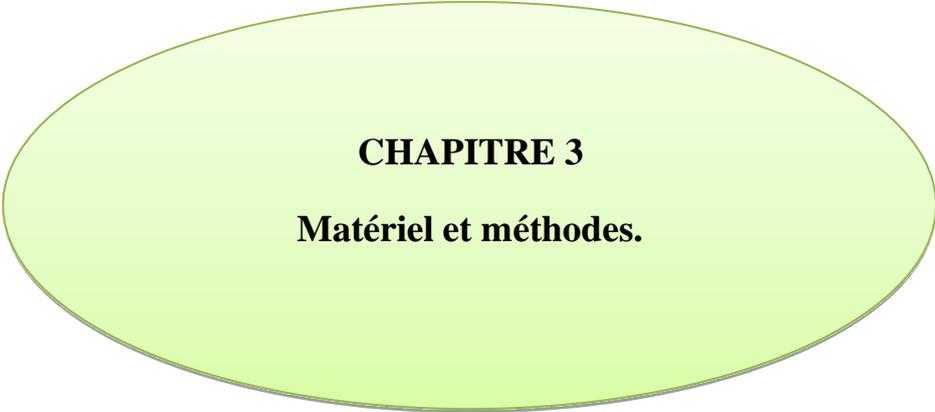
Discussion et valorisation :

Des travaux similaires ont été réalisés par MOMAMMEDI (2006) sur l'huile essentielle de *Cistusladaniferus* contre sept moisissures : *Rhizopus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Trichoderma* et *Aspergillus*. OMIDBEYGI et al. (2007), ont démontré que les HE de thym, de la sarriette et du clou de girofle présentent une activité antifongique « in vitro » contre *Aspergillus flavus*. Les Huiles essentielles d'*Eucalyptus saligna* et d'*Eucalyptus camalduensis* ont montré un effet fongistatique vis-à-vis de *Phaeoramulariaangolensis* (JASET-DONGMO et al, 2008).

6. L'hydrolat aromatique :

Définition : L'hydrolat est l'eau chargée de principes volatils hydrophiles recueillis lors d'une distillation par entraînement à la vapeur d'eau de la matière végétale. Il s'agit de l'eau distillée séparée de l'huile essentielle à la sortie de l'alambic, et qui s'est chargée de molécules aromatiques au cours de la distillation. Elle est incolore d'une odeur puissante, aromatique, fraîche et herbacée et d'une saveur rafraichissante (BOUISSY, 2004).

L'hydrolathérapie ou thérapie par les eaux florales, est une branche de l'aromathérapie, issue d'un l'ensemble plus vaste de la phytothérapie. Au cours de la distillation d'une plante, deux produits très précieux émergent : d'une part l'huile essentielle et d'autre part l'hydrolat à savoir l'eau imprégnée de molécules aromatique. En l'espace d'une décennie, les HEs ont fait un chemin remarquable dans la conscience collective. En revanche, il n'en va pas de même des hydrolats qui restent bien souvent peu exploiter. Ces eaux ont pourtant, elles aussi, des vertus thérapeutiques hors pair, issues de la plante, mais aussi de la faculté purificatrice de l'eau (BEAUDOUX, 2000).



CHAPITRE 3

Matériel et méthodes.

1. Matériel végétal :

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est composé des rameaux de sommités de romarin : *Rosmarinus officinalis L.* Récolté dans deux régions différentes : Tipaza(Nadhor), et Blida (Oued djer) (figure 3). Durant la campagne printanière MAI 2022.

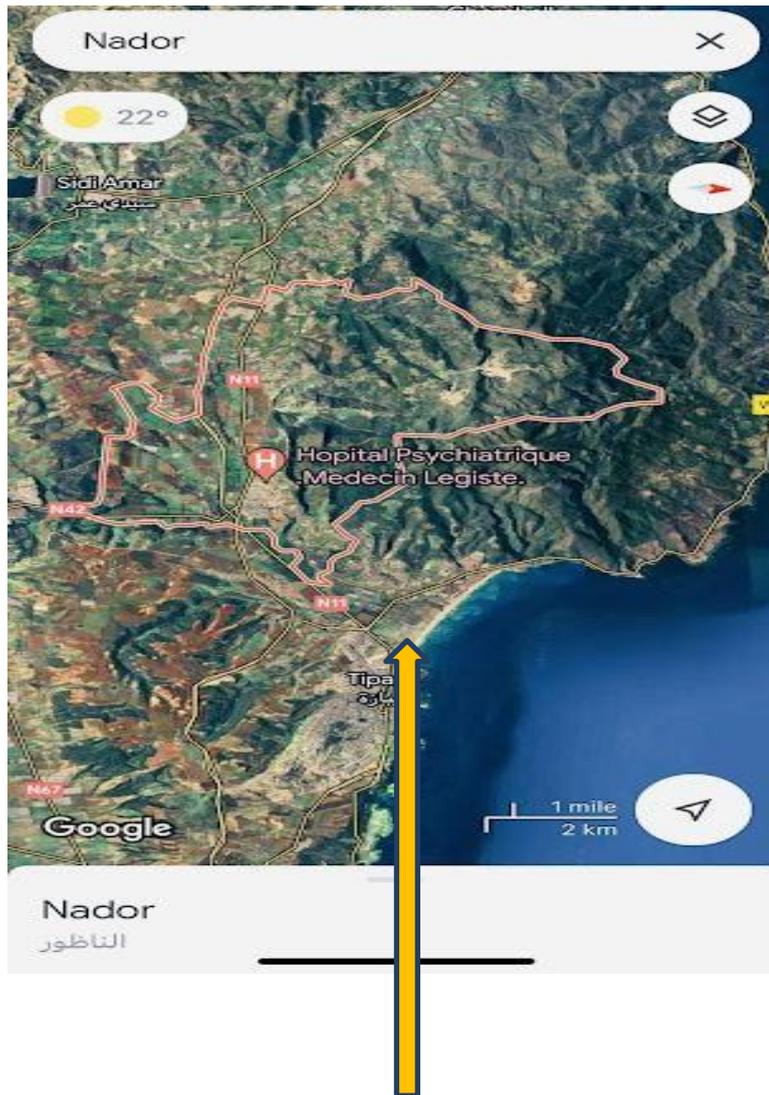


Figure (3.1) : Matériel végétal utilisé.

2. Présentation des régions et lieu de récolte :

- Région de Tipaza :

La Wilaya de Tipaza se situe au nord du Tell central, elle couvre une superficie de 1'707 km² qui se répartit en :



Nadhor

Figure 3.1 : Localisation de la région de Nadhor dans la wilaya de Tipaza.

- Le climat de la zone d'étude est de type méditerranéen entre sub-aride et humide, avec deux tendances bioclimatiques avec une pluviométrie moyenne 675 mm par an et une température minimal 9.3°C liées à la topographie, à la mer et à la végétation.
- L'aire de l'étude est une zone côtière, la température mensuelle moyenne est variée entre 13,07 °C et 27,13°C. Les mois les plus chauds correspondant à juillet et août, les températures moyennes varient de 25°C à 27°C, les mois les plus froids sont enregistrés de décembre à février, la moyenne inférieure à 15°C. La répartition mensuelle des températures est donnée dans le tableau suivant :

Tableau 3.1 : Température mensuelle.

| Mois | JAN | FEV | MAR | AVR | MAI | JUI | JUIL | AOU | SEP | OCT | NOV | DEC |
|------|-------|------|-------|------|------|------|------|------|-------|-----|------|------|
| T° C | 13,07 | 13,0 | 14,08 | 16,9 | 19,0 | 22,7 | 25,9 | 27,1 | 24,13 | 22 | 16,9 | 14,4 |

La pluie annuelle moyenne dans la région est comprise entre 400 et 800 mm, nous prenons en considération la valeur de P moy = 675 mm.(KHOUALDI, 2012)

Tableau 3.2 : Précipitations mensuelle et annuelle.

| Année | 1993 | 1994 | 1996 | 2003 | 2004 | 2005 |
|------------|------|------|------|------|------|------|
| P anu (mm) | 391 | 508 | 808 | 760 | 848 | 738 |

- le mois le plus pluvieux est celui de Mars avec une précipitation moyenne de 45,7 mm.
- le mois le plus sec est celui de Juillet avec une précipitation moyenne de 4,7 mm.

Nous remarquons deux périodes distinctes, une saison sèche et une autre relativement humide. Ainsi que la période pluviale s'étale du mois de Septembre jusqu'au mois de Mai avec une précipitation moyenne mensuelle de 37,3 mm.

- Région de Oudjer Blida :

La Wilaya de Blida se situe au nord du Tell central, elle couvre une superficie de 53,26 km² qui se répartit en :

- Altitude : 260 m.



Figure 3.2 localisation de la région de Oudjer

Tableau 3.3 : Température mensuelle.

| Mois | JAN | FEV | MAR | AVR | MAI | JUI | JUIL | AOU | SEP | OCT | NOV | DEC |
|------|-----|-----|------|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|
| T° C | 9,5 | 9,8 | 12,4 | 14,8 | 18,1 | 22,4 | 25,8 | 26 | 22,7 | 19,3 | 13,7 | 10,7 |

Tableau 3.4 : Température mensuelle.

| Mois | JAN | FEV | MAR | AVR | MAI | JUI | JUIL | AOU | SEP | OCT | NOV | DEC |
|--------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|
| P (mm) | 85 | 71 | 73 | 72 | 60 | 12 | 3 | 11 | 35 | 58 | 83 | 78 |

3. Climagramme d'Emberger des deux régions :

Le climagramme d'EMBERGER permet de déterminer l'étage bioclimatique d'une station donnée. Il est déterminé à partir de la formule: $Q2 = 2000P/ M2 - m$, dont

- P: précipitation annuelle (mm)
- M: la température maximale du mois le plus chaud en °C
- m: la température minimale du mois le plus froid en °C.

En Algérie, nous appliquons la formule de (STEWART, 1968), soit :

$$Q2 = 3.43 (P/M-m)$$

Q2 : quotient pluviométrique.

P : pluviosité moyenne annuelle en mm.

M : moyenne des maximas.

m : moyenne des minimas.

Le tableau suivant résumera les paramètres qui permettront de définir l'étage bioclimatique des deux zones.

Tableau 3.5 Etages bioclimatiques des régions d'étude.

| Régions | M (°C) | m (°C) | P(mm) | Q2 | Bioclimat |
|---------|--------|--------|--------|-------|-------------------|
| Blida | 34.65 | 4.64 | 704,08 | 80.47 | Subhumide tempéré |
| Tipaza | 33 | 5,7 | 642.4 | 80,71 | Subhumide |

Le climagramme démontre que :

- La région de Blida appartient à l'étage bioclimatique subhumide à hiver tempéré appelé aussi climat méditerranéen moyen. (MOUAS, Y 2018).
- La région de Tipaza appartient à l'étage bioclimatique subdivisé en deux variantes :

Etage sub-humide caractérisé par un hiver doux dans sa partie Nord et chaud dans sa partie Sud.

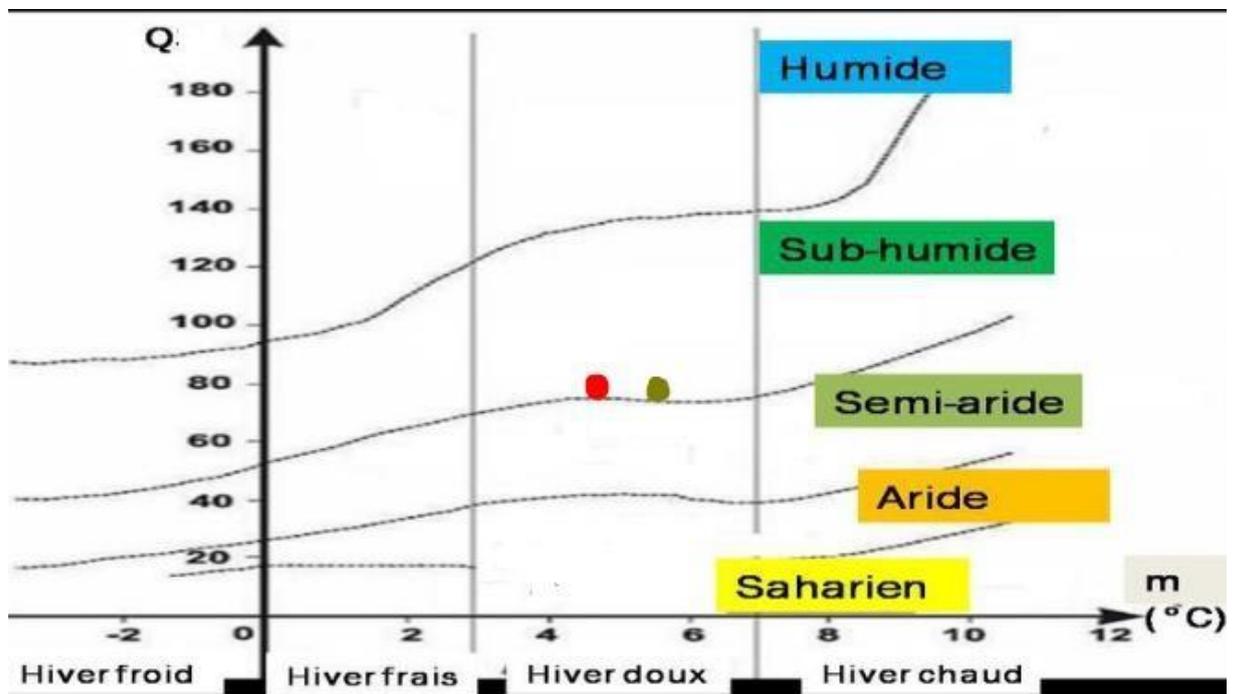


Figure 3.3: Etages bioclimatiques des régions d'étude (Climagramme d'Emberger).

- Blida
- Tipaza

4. Préparation du matériel végétal :

Nous avons tout d'abord commencé par la récolte du matériel végétal au niveau des deux régions de Blida et Tipaza sur des individus prélevés au hasard. Les arbustes retenus pour la récolte doivent être homogènes et présentant un bon état végétatif et se situent en dehors des bordures de routes, cette opération a été réalisée sous le contrôle de notre promotrice ainsi que les agents de la direction des forêts.

Pour garantir l'intégrité des échantillons, il faut :

- Eviter de cueillir les échantillons par temps humide.

- Garder les échantillons dans un endroit sec et frais.
 - Eviter toute source de contamination et veiller à ce que les échantillons soient séchés.
- (Justin MANA Daoudou,2009)

La récolte a été séchée à l'air libre, à l'ombre jusqu'à la dessiccation complète (7 jours) (AYADI et al. 2011). Nous avons séparé les feuilles des rameaux et nous les avons conservés dans des sacs en papier kraft afin de les utiliser pour l'extraction de l'huile essentielle.



Figure 3.4 : feuilles séchées de *R. Officinalis*.

5. Extraction de l'huile essentielle de *R. officinalis* L :

- Nous avons d'abord opté pour l'extraction des huiles essentielles la technique de l'hydro-distillation, c'est la méthode la plus utilisée en Batch car elle est simple d'application et l'eau utilisée comme solvant capte les produits les plus subtiles et les plus fragiles élaborés par le végétal. Ce
- procédé n'altère pas la qualité et la composition chimique de l'HE, il est intéressant car les températures et la pression pendant la manipulation sont maîtrisées (PONCE et al. 2003).

L'appareillage utilisé pour l'hydro distillation est de type Clevenger.

Il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur, un ballon en verre pyrex où l'on place le mélange des feuilles séchées et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon et un collecteur en verre pyrex qui reçoit les extraits de la distillation comme illustré dans la (figure 3.4)



Figure 3.5 : Montage utilisé Clevenger.

➤ **Protocole expérimental :**

Cette méthode consiste à immerger directement 100 g du matériel végétal à traiter dans un ballon de 1 litre, rempli d'environ 600 ml d'eau distillée, qui est ensuite porté à ébullition pendant 1 heure. Les vapeurs formées dans le serpentin sont condensées sur une surface froide qui est celle du réfrigérant, ainsi la séparation eau-essence s'effectue par une simple différence de densité. L'huile est conservée à $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

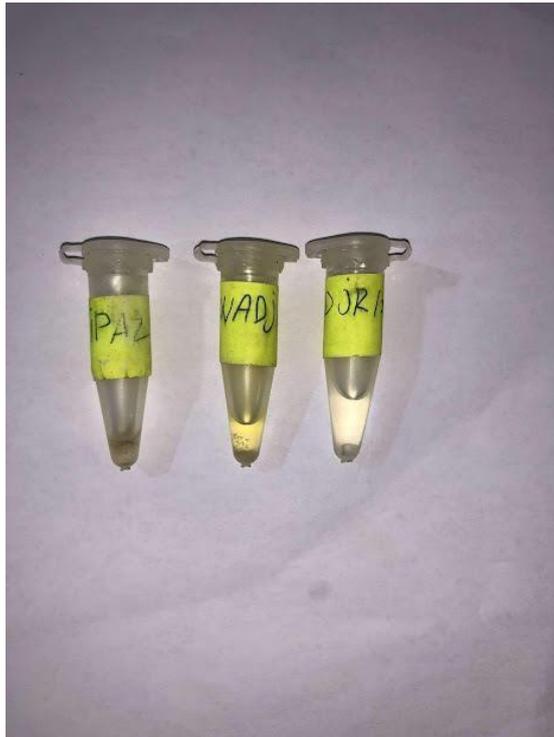


Figure3.6 : Huile Essentielle du romarin

➤ **Protocole expérimental de l' extraction en utilisant un Alambic:**

Dans un second lieu, nous avons réalisé comme illustré dans la figure (3.6)



Figure 3.7Schéma d'un Alambic.

Cette méthode consiste à remplir une cuve avec un volume de 15l d'eau afin d'obtenir de la vapeur d'eau. Cette vapeur est envoyée dans le corps de l'Alambic en traversant la masse de végétal soit $m = 12\text{Kg}$, ce qui va faire éclater les sacs aromatique de la plante, qui contiennent l'essence. Ces molécules plus légères que l'eau vont être entraînées vers le haut de l'alambic par la vapeur.

La vapeur chargée d'essence va maintenant traverser le serpent, qui baigne dans l'eau froide, ce qui va pousser à une condensation et vers un état liquide.

A la sortie du serpent, le liquide est recueilli dans un vase de décantation, ou nous récupérons l'huile essentielle et nous avons obtenus 15l d'hydrolat qui peut être réutilisé dans un autre cycle.



Figure 3.8 Extrait de l'huile essentielle de Romarin obtenu par Alambic.

6. Détermination du rendement en huiles essentielles :

Le matériel végétal *R. officinalis L.* utilisé dans cette partie est récolté durant le printemps de l'année 2022. Selon les normes d'AFNOR (2000), le rendement en huile essentielle est défini comme le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (MH) et la masse de la matière végétale utilisée (Mmv). (MOUAS.Y, 2018). Le rendement est exprimé en pourcentage et donné par l'expression suivante :

$$\mathbf{R (\%) = MHE / Mmv}$$

- MHE : Masse d'HE en gramme.
- Mmv : Masse de la matière végétale utilisée en gramme.
- RHE : Rendement en HE.

CHAPITRE 4

Résultats et discussions.

1. **Effet du facteur région sur les paramètres étudiés :**

Cette partie de résultats démontre que la région de récolte est un paramètre important, à prendre en considération car ce dernier influe sur les paramètres physiologiques et biochimiques, la composition chimique et l'activité antimicrobienne du romarin.

2. **Climagramme d'EMBERGER :**

Le tableau suivant résumera les paramètres qui permettront de définir l'étage bioclimatique des deux zones.

Tableau 4.1 Etages bioclimatiques des régions d'étude.

| Régions | M (°C) | m (°C) | P(mm) | Q2 | Bioclimat |
|---------|--------|--------|--------|-------|-------------------|
| Blida | 34.65 | 4.64 | 704,08 | 80,47 | Subhumide tempéré |
| Tipaza | 33 | 5,7 | 642.4 | 80,71 | Subhumide |

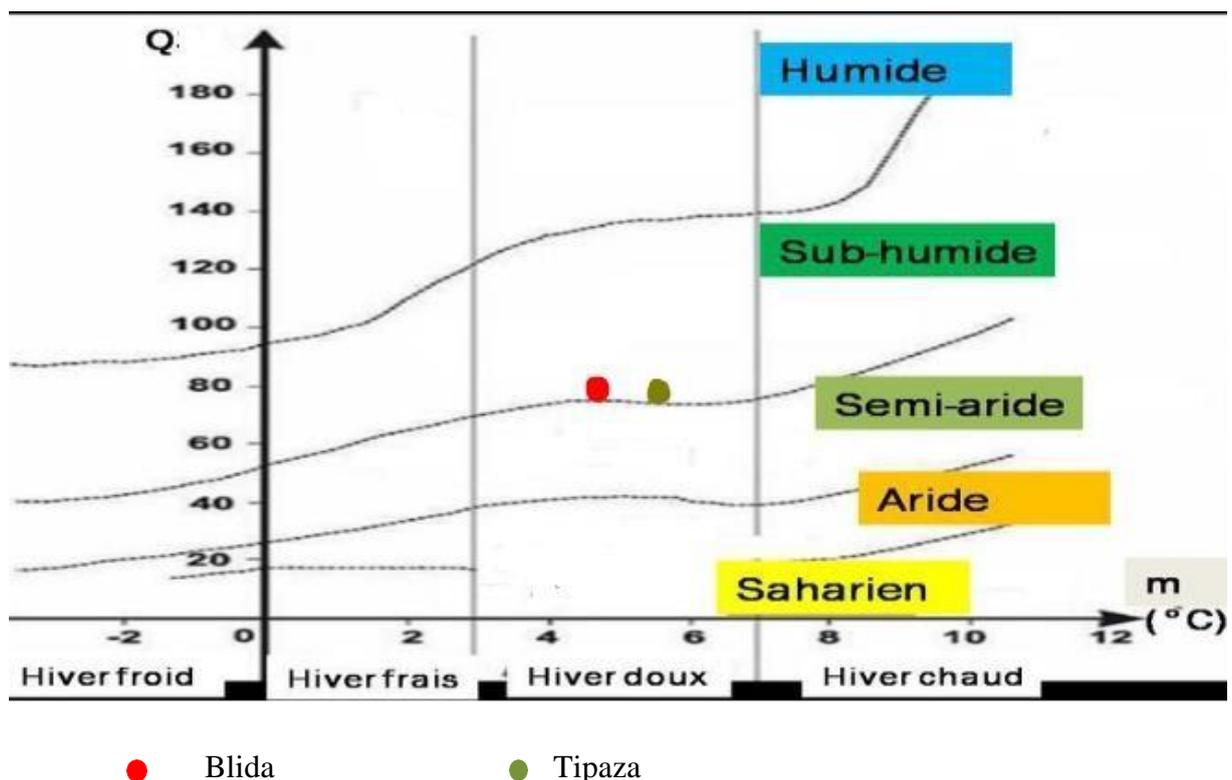


Figure 4.1 : Climagramme d'EMBERGER.

3. Rendement en huiles essentielles du Romarin :

Les rendements en huile essentielle du romarin récolté dans les deux régions sont représentés dans le tableau ci-dessous :

N.B : Nous avons réalisé 3 essais pour chaque échantillon.

Tableau 4.1 : tableau récapitulatif des rendements en HE.

| Espèces | méthode | Essai n° | Masse HE obtenue en g | Rendements |
|-------------------------------|-----------|----------|--------------------------|------------|
| Romarin (Région de Blida | Clevenger | 1 | 1.4356 | 0,014356 % |
| Romarin (Région de Tipaza) | Clevenger | 2 | 0,94 | 0.0094 |
| | Alambic | 3 | 35 | 0,00291% |
| Norme AFNOR | | | | 0.5 à 2 |

- La quantité d'huile extraite dans la région de Blida par Clevenger est égale à 1,4356 g d'HE. D'où le RHE (%) = $1,4356 / 100 \text{ g} = 0,014356 \%$.
- La quantité d'huile extraite dans la région de Tipaza par Clevenger est égale à 0,94 g d'HE. D'où le RHE (%) = $0,94 / 100 \text{ g} = 0,0094 \%$.
- La quantité d'huile extraite dans la région de Tipaza par Alambic est égale à 35 g d'HE. D'où le RHE (%) = $35 / 12000\text{g} = 0,0029 \%$.

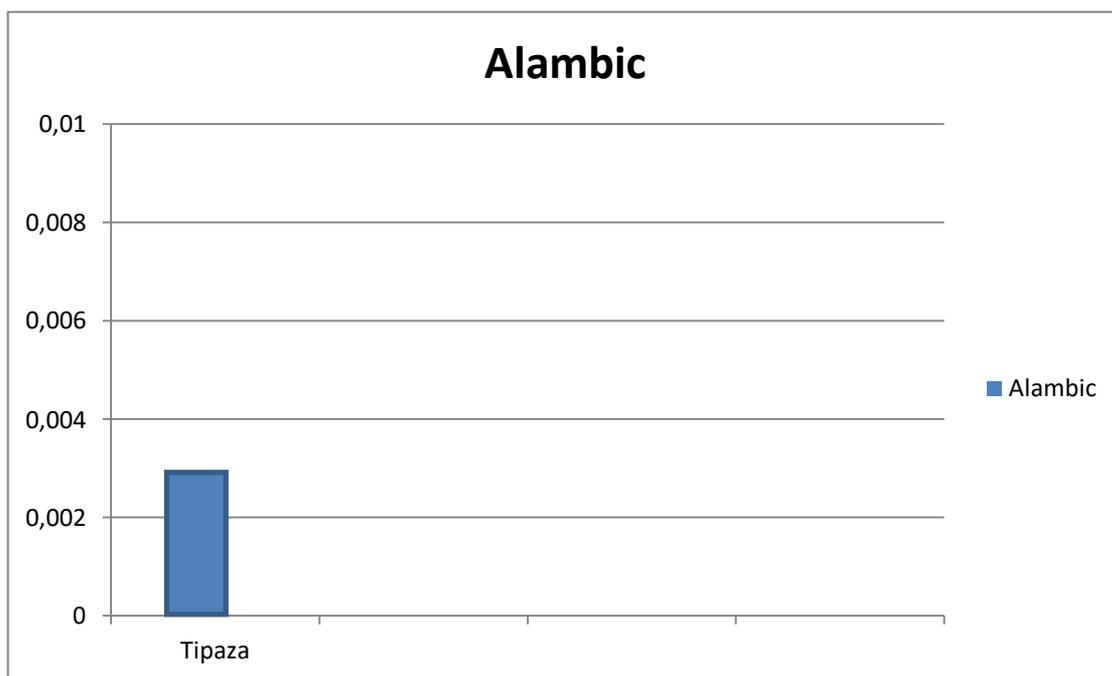
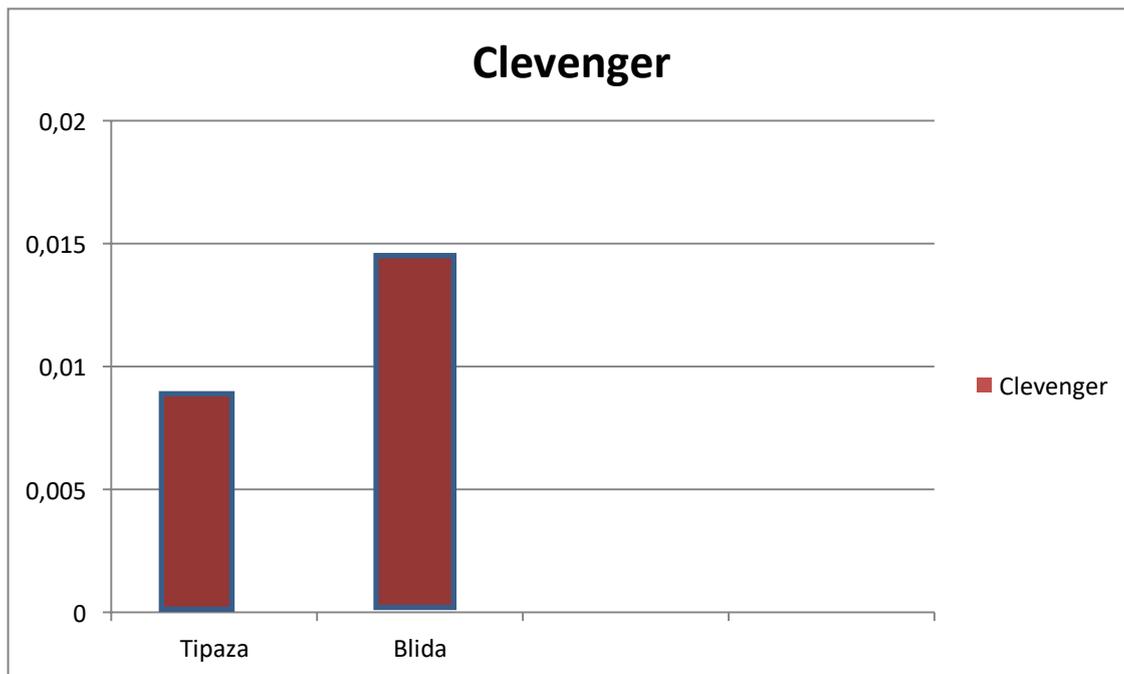


Figure 5.1 : Rendement en HE de *R. officinalis* L

Discussions :

Nous remarquons aussi que l'extraction par Clevenger donne des résultats plus satisfaisants que l'extraction par Alambic.

La région de Blida est celle qui a donné un taux en huile essentielle plus élevé par rapport à celle de Tipaza. La différence de rendement entre ces deux régions

d'études est assez importante. En comparant nos résultats à ceux de MOUAS (2018) portant sur l'effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis L.*, étudié sur trois régions : Blida, Djelfa et M'sila. Ses résultats d'études révèlent que, la région de Blida est celle ayant enregistré un rendement en huile essentielle plus élevé par rapport aux autres régions.

4. Caractéristiques organoleptiques :

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de romarin obtenue sont mentionnées dans le tableau 4.3 ci-dessous :

Tableau 4.3 Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de romarin obtenue.

| Régions | Couleur | Aspect | Odeur et saveur |
|----------------|--------------|---------|--|
| Blida | Jaune claire | Liquide | Odeur caractéristique de l'espèce plus ou moins camphrée saveur amère |
| Tipaza | Jaune claire | Liquide | Odeur caractéristique de l'espèce plus ou moins camphrée saveur amère |
| Normes d'AFNOR | Jaune claire | Liquide | Odeur caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine |

Les HEs extraites des deux régions Tipaza et Blida, possèdent les mêmes caractéristiques organoleptiques et sont conformes aux normes d'AFNOR.

CONCLUSION

Un grand nombre des plantes aromatiques et médicinales contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antimicrobiennes et anti-oxydantes. L'utilisation de ces molécules à base de plantes aromatiques et médicinales peut présenter de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèse actuels. Le facteur environnemental, les conditions climatiques et géographiques qui changent d'une région présentent un effet direct sur les paramètres que nous avons étudié.

Au cours de cette étude, nous avons signalé une différence dans le rendement en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* issue des deux régions (Blida, et Tipaza). Cette différence est probablement due à plusieurs facteurs, tels que la variation des conditions climatiques, les conditions de conservation des échantillons ainsi que la méthode d'extraction.

Les résultats obtenus montrent que le rendement en huile essentielle le plus important a été enregistré avec l'échantillon récolté dans la région de Blida, en utilisant le Clevenger.

Le rendement en huiles essentielles le plus important avec l'appareil clevenger, a été enregistré avec l'échantillon récolté dans la région de Blida.

Le rendement en HE extraite du romarin récolté à Tipaza durant la saison printanière Mai 2022 est égal à 0.002 % par méthode alambic et inférieur à celle récolté à Blida. Qui a un rendement égal à 0,014 % et 0,0094 extraite avec les deux méthodes confondues Alambic et Clevenger.

Nous pouvons conclure à l'issus de ce travail que le facteur région et le facteur méthode d'extraction peuvent influencer le rendement en HE.

L'utilisation des plantes aromatiques et médicinales tel que le *Rosmarinus officinalis* L. présente de nombreux avantages par rapport aux produits de synthèses actuels qu'elles offrent et qui sont beaucoup demandés sur le marché pharmaceutique, phytothérapie, cosmétique, agroalimentaire et autres. Aux vues de leur importance sur le marché, nous suggérons que

l'exploitation de ces plantes soit faite d'une manière modérée au risque d'un déséquilibre écologique.

A l'issu de ce travail de recherche, et en vue d'approfondir les résultats obtenus, il est souhaitable d'étudier d'autres provenances en utilisant des techniques plus performantes en vue de mettre en lumière d'autre effets thérapeutiques et biocides du romarin.

Références

1. BARDEAU, F., « la médecine par les fleurs ». Ed. Robert Laffont. Paris. (1978), 440p.
2. ATIK-BEKKARA, F., BOUSMAHA L., TALEB BENDIAB S.A., BOTI J.B., CASANOVA J. « Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen » *Biologie & Santé* vol. 7, n° 1 (2007). 11p.
3. BESOMBES, C., « Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques », Thèse doctorat université de la rochelle, (2008), 130p
4. GUY, G., « Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse ». S.l. : Harmattan, (2005), pp. 85-93.
5. PERON J.Y., « Références productions légumières », 2. S.l. : Lavoisier, (2006), 560-563.
6. .QUEZEL, P. et MEDAIL, F., « La région circumméditerranéen, Centre mondial majeur de biodiversité végétale. Institut Méditerranéen d'Ecologie et de la Paléoécologie ». France, (1995), 152-55.
7. .ISERIN, P., MASSON M., RESTELLINI, JP., YBERT, E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA Z., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O., VICAN P, « Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins », Larousse, (2001), 10-12.
8. .BOUSBIA, N. « Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires ». Thèse. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger.(2011). 128p.
9. .SANTOYO, S., LIORIA, R., JAIME, L., IBANEZ, E., SENORANS, FJ. ANDREGLERO, G., «Supercritical fluid extraction of antioxidant and antimicrobial compounds from *Laurus nobilis* L. Chemical and functional characterization». *European Food Res. Technol.*224: (2006),.75–81
10. .ISERIN, P., MASSON M., RESTELLINI, JP., YBERT, E., DE LAAGE DE MEUX A., MOULARD F., ZHA Z., DE LA ROQUE R., DE LA ROQUE O.,

- VICAN P, « Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins », Larousse, (2001), 10-12.
11. .BRUNETON, J., « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2 èmè Ed Dunod Paris, (1999), 274 p.
 12. SCIMECA, D., et TETAU, M., «Votre santé par les huiles essentielles» (2005), 55p.
 13. .LUCCHESI, M.E., «Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles ». Thèse de 120 Doctorat en Sciences, discipline: Chimie. Université de la Réunion, (2005), 143p.
 14. ROUX, D., « Conseil en aromathérapie ». 2ème édition, Pro-Officina, (2008), 187p
 15. .BESOMBES, C., « Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques », Thèse doctorat université de la rochelle, (2008), 130p.
 16. ISERIN, P., MASSON M., RESTELLINI,JP., YBERT , E., DE LAAGE DE MIEUX A., MOULARD F., ZHA Z., DE LA ROQUE O., VICAN P, < Larousse des plantes médicinales : identifications , préparation, soins > , Larousse, (2001), 10-12 .
 17. KASPAREK M. et AL-JANABI S., < Plantes médicinales. La diversité biologique au service de la santé >. 5-6 (Germany Technical Coopération GTZ) (2008).
 18. LHUILLIER, A., < contribution à l'étude phytochimique de quatre plante malgaches Agauriasalicifolia HOOK, AGAURIA polyphyllabaker(Ericaceae), Tambourissa , Trichophylla BAKER (MOnimiaceae) et Embeliaconcinna BAKER(Myrsinaceae)>. Thèse doctorat. L'institut National Polytechnique de Toulouse , (2007), 200p
 19. QUEZEL,P.SANTA, S.1963. In: Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, vols. 1-2. CNRS, Paris, pp.600-601.
 20. https://www.donnes_mondiales.com//_afrique/_algérie/_climat-_tipaza.php
 21. GUY, G., « Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse». S.l. : Harmattan, (2005), pp. 85-93.
 22. BAKIREL T., BAKIREL U., Keles O.U., ULGEN S.G.et YARDIBI H., (2008). In vivo assesement of antidiabetic and antioxydant activities of rosemary (Rosmarinusoffinalis in alloxandiabetic rabbits. Journal of Ethnopharmacology, 116, 64-73
 23. MOUAS,Y. EFFET COMPARATIF DES PARAMETRES PHYSIOLOGIQUES, BIOCHIMIQUES ET THERAPEUTIQUES DE ROMARIN Rosmarinus officinalis L.(2018).

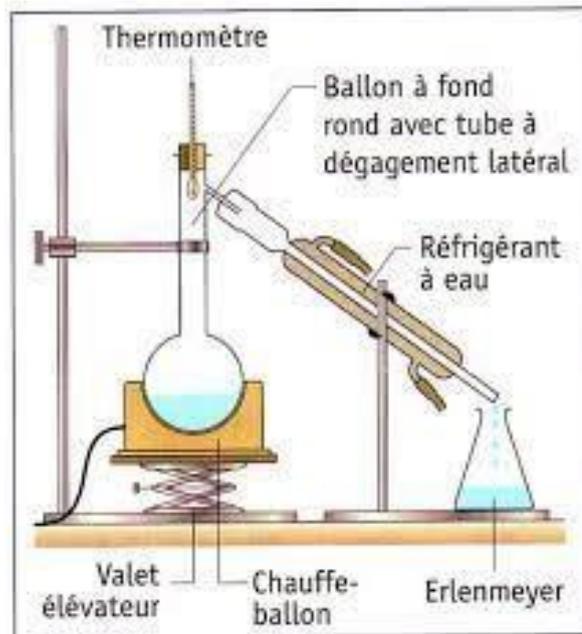
ANNEXE A



Figure 3.4 : feuilles séchées de *R. Officinalis*.











ANNEXE B

