



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1
Faculté Des Sciences De La Nature Et De La Vie
Département de Biotechnologie et Agro-Ecologie



**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention
du diplôme d'un master académique
en biotechnologie**

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des plantes

**Valorisation d'une espèce médicinale *Rosmarinus
officinalis L.* poussant à l'état spontané en Algérie**

Réalisé par : **YOUS SIHAM**
METMATI JIHANE

Devant le jury composé de :

Mr BENDALI A.	MAA	U.BLIDA 1.	Président
Mme MOUAS Y.	MCA	U.BLIDA 1.	Promotrice
Mme OUKARA F/Z.	M. Recherche	INRF	Co-promotrice
Mme TADJINE N.	MCB	U.BLIDA 1.	Examinatrice

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions **ALLAH**, tout puissant, notre créateur de nous avoir donné la force, la volonté, la patience et la persistance afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements et gratitude à notre Promotrice Dr **MOUAS YAMINA**, qui nous a accordé l'honneur de diriger ce travail, de nous avoir guidé et fait confiance tout en nous laissant libre dans notre choix. Un grand merci pour ses compétences, sa disponibilité, son inestimable aide et soutien.

Nous remercions aussi à notre Co-promotrice Dr **OUKARA F.Z**, pour ses orientations et ses conseils.

Nos vives remerciements vont aussi aux membres de jury, Mr **BENDALI A.** pour l'honneur d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire et Mme **TADJINE N.** d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous tenons à remercier Dr **CASSASNI L.** pour sa disponibilité, ses conseils et son aide pour réaliser ce travail.

Dédicace

À l'aide de **Dieu** tout puissant , qui m'a tracé le chemin de ma vie et m'a donné le courage et la patience, j'ai pu réaliser ce modeste travail , le fruit de mes efforts que je dédie :

À la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, ma vie et bonheur , À ma très chère Maman **FATIMA** pour ses encouragements et sacrifices .

Qui me donne toujours l'espoir de vivre et Qui n'a jamais cessé de prier pour moi , À mon très cher Papa **LARBI** , Pour sa confiance en moi et ses encouragements .

À mes chères sœurs **AYA** , **KAOUTHAR** , **SALSABIL** et **ISRAA** pour leurs présences a mes côté a tous moment et leurs soutien , je vous aime très fort .

À ma chère tante **HAFIDA** pour ses encouragements , son mari **MANSOUR** et leur enfants **MAROUA** et **ILYES** .

À ma moitié , mon cher et unique **ABDESSLAM LAZ** pour son soutien et son amour .

À mes cousins et cousines spécialement **AYMANE** , **M'HAMMED** et **AMEL** .

À la famille **YOUS** spécialement et la famille **ADIL** , et toute ma famille Paternelle et Maternelle .

À chères fidèles copines **ZOLA SEN** et **RANIA CH** je vous aime .

À ma chère binôme qui m'a trop aidé et donné le courage **JIHANE** et sa petite fille **ILYANE**

À toute la promotion de Master 2 **BVP** 2023 .

YOUS SIHAM

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mon très chère père

Mon amour Je suis très fière d'être ta fille et de pouvoir enfin réaliser, ce que tu as tant espéré et attendu de moi. Votre patience, tes conseils précieux ainsi Que votre confiance en moi ont été pour beaucoup dans ma réussite. Cher père, veuillez trouver, dans ce modeste travail, le fruit de Vos sacrifices Que Dieu te protège pour nous , je t'aime.

A ma Chère Maman

Si Dieu a mis le paradis sous les pieds des mères, ce n'est pas pour rien. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous tes sacrifices, Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. je te souhaite une longue vie et bonheur.

A mon chère mari Housseem

Pour tout l'encouragement, le respect et l'amour que tu m'as offert, Je te dédis ce travail, qui n'aurait pas pu être achevé sans ton éternel soutien et optimisme.

A ma fille Ilyane

Le jour où tu es venu dans ce monde était le jour où ma vie a changé pour toujours. Un regard sur ton beau visage et je me suis senti folle de joie, incroyablement, bénie, soulagée, épuisée et totalement terrifiée. Être ta mère est un tel cadeau. Toi, ma fille, tu es un si merveilleux cadeau. Je t'aime pour toujours.

A mes frères Ghanou et Nadir

A tous les moments d'enfance passés avec vous mes frères, en gage de ma profonde estime pour l'aide que vous m'avez apporté. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus .

A ma belle famille

Merci pour votre encouragement et votre soutien puisse dieu vous donne santé, bonheur courage et surtout réussite

A ma grande famille

Je remercie tout la famille Metmati et la famille Harchaoui et surtout mes oncles , mes taties d'amour mes cousines pour votre encouragement je vous aime.

A ma chère binôme Siham

Mille merci pour ton soutien, pour ton encouragement , merci pour tous ma chérie

METMATI JIHANE

RESUME :

Le romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) est une plante aromatique utilisée depuis l'antiquité en médecine traditionnelle grâce à ses effets thérapeutiques et leur variété d'activités biologiques.

Notre étude a porté sur la valorisation de cette espèce très répandue et poussant à l'état spontané en Algérie.

Le matériel végétal a été récolté dans deux localités : Sidi Rached et Aghbal, dans la région de Tipaza.

L'objectif de notre étude, consiste à évaluer l'activité anti-oxydante des huiles essentielles de *R. officinalis L.* par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les résultats ont été très significatifs et ont montré que l'activité anti-oxydante la plus élevée revient à l'HE de Sidi Rached avec une IC_{50} de $5,4 \pm 0,27$ mg/ml.

Les résultats obtenus nous ont permis d'affirmer que quelque soit la concentration des échantillons testés, l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) est nettement supérieure à celle de l'HE.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis L.*, Huile essentielle, activité anti-oxydante, localités.

ABSTRACT :

The rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*) is an aromatic plant used since ancient times in traditional medicine for its therapeutic effects and the diversity of its biological activities. Our study focused on the valorization of this very popular species growing spontaneously in Algeria.

The plant material was collected in two localities: Sidi Rached and Aghbal, in the Tipaza region.

The objective of our study is to evaluate the antioxidant activity of the essential oils of *R. officinalis L.* by the DPPH free radical trapping method. The results were very significant and showed that the highest antioxidant activity was due to the essential oil of Sidi Rached with an IC₅₀ of 5.4 ± 0.27 mg / ml.

The results obtained enabled us to confirm that whatever the concentration of the samples tested, the antioxidant activity of ascorbic acid (vitamin C) is clearly higher than that of essential oils.

Key words : *Rosmarinus officinalis L.* (rosemary), essential oil , antioxidant activity, Localities.

ملخص :

رُسياري (إكهم انجيم) ، بَباث عطزي ، طُخخزو يُذ انقدو فف انطب انخقهذي بفضم آثار انعلاجت حُجبع أ شطخأشطخ انب ن جت

ركشت دراطخُا عهي حثتُ ذَا انُ ع انشاع جدا انذي ُُُ حهايِ ا فف انجشانز .

حي جع اناباد ان باحِيت يي طقخيطفخِ : طذي راشذ اغبال ، فف لأت حِباسة .

انذف يي دراطخُا اُ حق يي يظاط يضادات الاكظذة نهشُت الاطاطِيت ل *R. officinalis L.* باططت

DPPH كَاج انُ خانج ييئتُ جدا اظرت اُ اعهي شاط يضاد نلاكظذة ععبد نهشُج الاطاطالاطاط نطذي

راشذ يع IC₅₀ قدر 0.7 ± 5.4 بهغ / يم .

يكُ خُا انُ خانج انخانحُ حي انحصل عهعها يي انخالِكِ اذ عهي اُ بيأا كأ حركِيش انعُاث انخانحُ حي اخبازا ،

فايفاشاط يضادات الاكظذة نحض الاطك ربِك (ف خايفخايِ C) اعهي بشكم اُصح يي شاط انشُت

الاطاطِيت .

انكهات ان فخانجافخاجتت : رُس ياريارُ اُ حصص اف ط انافظُ انيض) اكهِم انجيم (، انشُت الاطاطِيت

، انشاط انضاد نلاكظذة ، يي طقخيطفخِ .

REMERCIEMENTS.....	
DEDICACES.....	
RÉSUMÉ	
TABLES DES MATIERES.....	
LISTE DES ILLUSTRATIONS,GRAPHIQUES ET TABLEAUX	
INTRODUCTION.....	01
CHAPITRE 1: DESCRIPTION DE LA PLANTE ÉTUDIÉE	03
1-1-Historique.....	03
1-2-Distribution géographique.....	03
1-3-Position systématique de la plante.....	04
1-4-Étude botanique de la plante.....	04
1-5-Composition chimique.....	08
1-6-Utilisation de romarin.....	09
CHAPITRE 2: LES EXTRAITS DES PLANTES MÉDICINALES.....	11
1-1-Utilisation des plantes médicinales et aromatiques.....	11
2-2-Les huiles essentielles	11
2-3-Métabolites secondaires des plantes médicinales.....	16
2-4-Groupes des principes actifs	16
CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	19
3-1-Présentation des régions d'étude.....	19
3-2-Matériel végétale.....	21
3-4-Matériel biologique.....	22
3-4-Extraction de l'huile essentielle de <i>R. Officinalis L.</i>	23
3-5-Paramètres étudiés.....	25
CHAPITRE 4 : RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	28
4-1 Rendement en huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	28
4-2-Evaluation de l'activité anti-oxydante des HEs.....	29
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	37
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	38

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1 : Feuille de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	05
Figure 1.2 : L'organisation de la fleur de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	06
Figure 1.3 : La fleur de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	06
Figure 1.4 : Fruit de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	07
Figure 1.5 : Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du romarin.	07
Figure 1.6 : Racine de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (papricaetchocolat.wordpress.com)...	08
Figure 2.7 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes	12
Figure 3.8 : Localisation de la région d'étude Tipaza	19
Figure 3.9 : Carte géographique de la localité de Aghbal.....	20
Figure 3.10 : Carte géographique de la localité de Sidi Rached	20
Figure 3.11 : Matériel végétale utilisé : <i>Rosmarinus officinalis</i> L	22
Figure 3.12 : les feuille du <i>Rosmarinus officinalis</i> L. à L'état frais.....	23
Figure 3.13 : dispositif d'extraction des HEs par hydro-distillation (Alambic).....	24
Figure 3.14 : Extraction d'huile de R. <i>Officinalis</i> L.	25
Figure 3.15 : Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH.....	27
Figure 4.16 : Histogramme Représente le rendement des huiles essentielles du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	28
Figure 4.17 : Passage de la couleur violette à la couleur jaune del'extrait.....	30
Figure 4.18 : Courbe d'étalonnage (acide ascorbique).....	30
Figure 4.19 : Taux d'inhibition du radical libre DPPH selon les concentrations de l'HE de (Aghbal).....	31
Figure 4.20 : Taux d'inhibition du radical libre DPPH selon les concentrations de l'HE de (Sidi Rached).....	31
Figure 4.21 : Taux d'inhibition des deux HE comparées à l'acide ascorbique.....	32
Figure 4.22 : Concentration inhibition 50 % de la réaction.....	34
Tableau 1.1: Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	09
Tableau 3.2 : Cordonnées géographiques des sites étudiés dans notre travail.....	21
Tableau 4.3 : Rendement de l'huile essentielle obtenue.....	28
Tableau 4.4 : Caractéristiques Organoleptiques de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	29
Tableau 4.5 : Pouvoir anti-radicalaire de l'HE de R. <i>officinalis</i> L.	33

LISTE DES ABREVIATIONS

OMS	: Organisation mondiale de la santé
AFNOR	: Association française de normalisation
ISO	: Organisation internationale de normalisation
SM	: Métabolites secondaires
HE	: Huile essentielle
DPPH	: 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle
R_{HE}	: Rendement en huile essentielle
M_{HE}	: Masse d'huile essentielle
M_{mv}	: Masse de la matière végétale
nm	: nanomètre
Abs	: Absorbance du contrôle.
AbsE	: Absorbance de l'échantillon testé.
MeOH	: Méthanol
IC₅₀	: Concentration initiale (50%)
ARP	: Puissance anti radicalaire.
As	: Acide ascorbique
ANOVA	: Analyse de la variance à 1 seul facteur
HPLC	: Chromatographie en phase liquide à haute performance
CG/MS	: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

INTRODUCTION

Depuis l'antiquité, l'homme a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter toutes sortes de maladies. Actuellement, 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 (LHUILIER, 2007). Les plantes médicinales restent encore le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (MAURICE N, 1997).

Les plantes médicinales constituent une source infinie de substances à activités biologiques et pharmacologiques très variées .

La plupart de leurs propriétés sont dues aux huiles essentielles produites par leur métabolisme secondaire (RASHID et *al.*, 2010). Ces huiles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique , en raison de leurs activités antioxydante, antibactérienne et antifongique (DUNG et *al.*, 2008) .

Les composants des huiles essentielles commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives [DAMYEH et NIAKOUSARI (2016) ; BARAKAT et LAIB (2011)] .

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).

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

La plupart des recherches sur cette plante médicinale et aromatique romarin (*Rosmarinus Officinalis L.*) ont été appliqués sur leur extrait d'huile essentielle (HE).

Dans ce contexte s'inscrit notre travail de recherche où nous nous sommes intéressés à la valorisation d'une espèce médicinale *Rosmarinus officinalis L.* Poussant à l'état spontané en Algérie ; Nous avons choisi deux localités différentes dans la wilaya de Tipaza pour faire la récolte : Sidi Rached et Aghbal .

L'étude a porté sur :

- Extraction de l'huile essentielle par hydro distillation .
- Évaluation de l'activité anti-oxydante de l'HE par le test du radical libre DPPH .

CHAPITRE 1:

DESCRIPTION DE LA PLANTE ÉTUDIÉE

1-1-Historique:

Rosmarinus officinalis L. est une espèce qui appartient à la famille des lamiacées qui sont des gamopétales super ovaires tétra cyclique appartenant à l'ordre des lamiales (MESSAILL.,1995).

Le romarin possède de nombreuses vertus phytothérapeutiques et est aussi une herbe condimentaire, ainsi qu'un produit utilisé en parfumerie (AKROUM, 2006).

1-2-Distribution géographique :

Dans le monde :

Le Romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs et arides, exposés au soleil, à l'état sauvage il se trouve sur des solscallcaires (ZEGHAD, 2008).

Se trouve aussi dans quelques stations isolées en Égypte, en Liban, a chypre, il réa parait en Turquie, en grèce et en Italie (GRANGER, 1976).

Le romarin est une plante des coteaux arides, garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens (BOULLARD, 2001).

Il remonte le long de la vallée du Rhône, sur les contreforts* sud du Massif central (*LanguedocL, Roussillon*) et parfois sur les causses* de la région Midi-Pyrénées.

En Algérie :

C'est l'une des familles les plus répandues dans le bassin méditerranéen et spécialement en Algérie. Elle comprend plus de 3300 espèces et environ 200 genres (BRUNETON, 1993).

Le romarin est un aromate culinaire et fournit une huile essentielle encore recherchée par l'industrie des parfums (GUY, 2005).

Plante indigène poussant spontanément dans toute l'Algérie (QUEZEL et SANTA, 1963). Elle est retrouvée dans la steppe à Sid Djilali dans la région de Sid El Makhfi, ainsi on peut la voir dans le littoral à Béni Saf dans la zone de Sidi Safi.

Nous pouvons la rencontrer à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques, elle est retrouvé à Tlemcen à lala Setti à 1025 mètres (ATIK-BEKKARA et al., 2007).

1-3-Position systématique de la plante :

La classification des lamiacées selon QUEZEL et SANTA :

-Règne : Plantae .

-Embranchement : Spermaphytes .

-sous embranchement : Angiospermes.

-Classe : Dicotylédones .

-Ordre : Lamiales (labiales) .

-Sous ordre : Lamiales .

-Familles : Lamiaceae .

-Genre : Rosmarinus .

-Espèce : *Rosmarinus officinalis* L. (QUEZEL et SANTA, 1963).

1-4-Étude botanique de la plante :

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes de la famille des Lamiacées originaires du bassin méditerranéen le *Rosmarinus eriocalyx* et le *Rosmarinus officinalis* L. (BESOMBES, 2008).

1-4-1-Les feuilles :

Les feuilles sont généralement coriacées, persistantes, sessiles, linéaires, levées, vertes, ponctuées et rugueuses sur la page supérieure, blanches et tomenteuses sur la page inférieure d'extrémité révoluée (MÉRTOLA, 2018) .

La structure de la feuille est adaptée à la sécheresse par sa cuticule épaisse sur la face supérieure et sa forme à bords enroulés vers l'intérieur. L'épiderme inférieur est peu cutinisée, et riche en stomates. La présence de poils tecteurs sur la face inférieure limite la

perte d'eau par évaporation. La feuille possède des poils sécrétants glanduleux sur les 2 épidermes. Un hypoderme est présent sous l'épiderme supérieur. La nervure médiane est saillante sur la face inférieure (HOEFLER, 1994).



Figure 1.1 : Feuille de *Rosmarinus officinalis* L. Source : (ACADEMIC, 2000-2014)

1-4-2-Les fleurs :

Les fleurs sont des pentamères, en général Hermaphrodites. Le calice est plus ou moins bilabié persistant et la corolle bilabée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes subégaux ou à une seule lèvre inférieure trilobée, la supérieure est bilobée.

L'androcée est formé de 4 étamines, la cinquième étant très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée forme 2 carpelles biovulés subdivisés chacun par une fausse cloison en 2 logettes uniovulées (MADADORI, 1982).

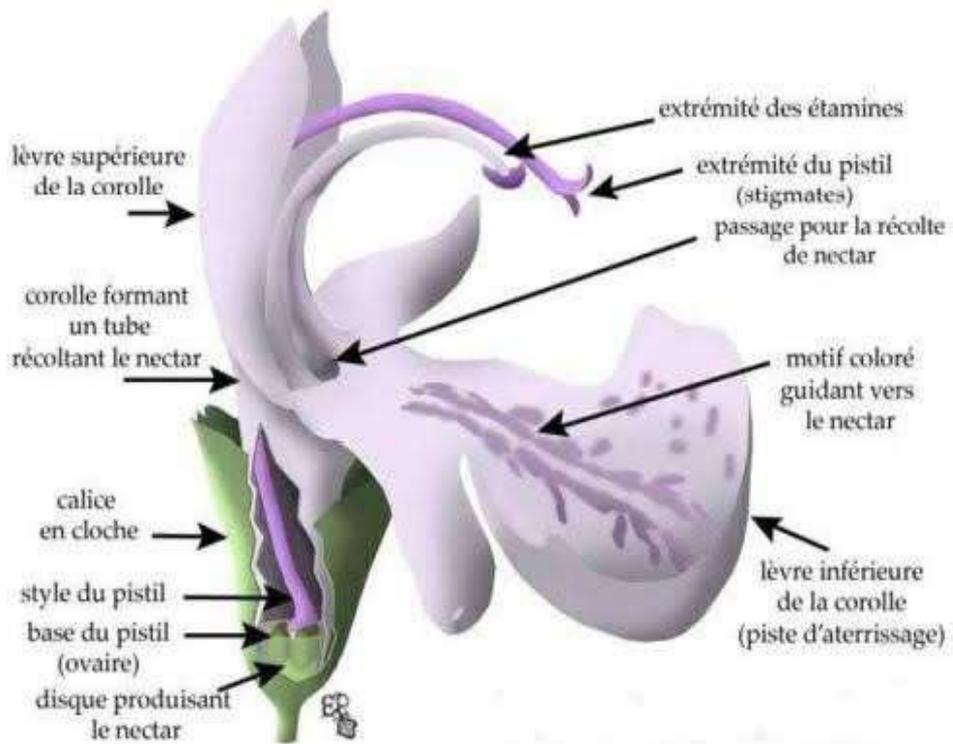


Figure 1.2 :L'organisation de la fleur de *Rosmarinus officinalis* L. (Source :ULLMANN, 2005).



Figure 1.3 :La fleur de *Rosmarinus officinalis* L. Source : photo prise par (VALTER JACINTO, 2015).

1-4-3-Les fruits :

Le fruit est un tétrakène sèche et lisse de forme ovale située au fond du calice, dont chaque partie renferme un seul embryon sans albumen .



Figure 1.4 : Fruit de *Rosmarinus officinalis* L.(Source: VALTER JACINTO, 2015).

1-4-4-La tige :

Arbuste ou sous arbrisseau, rameau de 0.5 à 2 mètres cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile. L'écorce est linéaire à cyme axillaire plus ou moins simulant des épis (SANON, 1992).

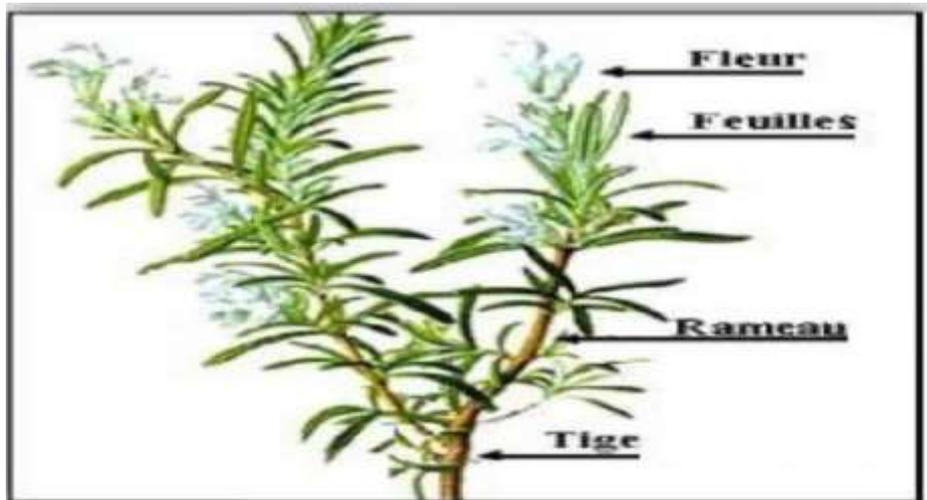


Figure 1.5 : Tige principale et rameau Feuillé à fleurs du romarin (Source : SANON , 1992).

1-4-5-La racine :

Les racines du *Rosmarinus officinalis* L. sont ramifiées, fines avec un diamètre de quelques millimètres et une longueur qui ne dépasse pas les 10 centimètres avec couleur blanchâtre. La racine principale est plus épaisse avec une couleur marronne ce qui la permet de bien tenir la plante dans le sol .



Figure 1.6 : Racine de *Rosmarinus officinalis* L. (papricaetchocolat.wordpress.com).

1-5-Composition chimique :

Cette espèce très polymorphe, présente plusieurs variétés. Mais, à cette différenciation morphologique très aléatoire, 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 (MOUAS , 2018).

Les composés rencontrés dans *Rosmarinus officinalis L.* peuvent être classés dans le tableau 1.1.

Tableau 1.1: Composition chimique de *Rosmarinus officinalis L.* BRUNETON (1999) ; GAMET-PAYRASTRE et al., (1999)

Huile essentielle	1,8-cinéole, Camphre, α -pinène, Autres monoterpènes (bornéol, limonène, camphène, α -terpinéol).
Acides phénols	Acides caféique , Chlorogénique, Rosmarinique
Flavones méthylés	Genkwanine , Lutéoline, Diosmétine
Triterpènes et stéroïdes	Acide oléanolique, Dérivés d'acide ursolique, α - et β -amyrines
	Polysaccharides acides, Traces de salicylates

1-6 Utilisation du romarin :

Plante très connue et très appréciée, utilisée depuis l'Antiquité dans la cuisine et en médecine populaire traditionnelle, le romarin est considéré comme une plante tonique, revigorante et stimulante qui reflète sa saveur aromatique bien particulière (ISERIN, 2001).

Il stimule la circulation cérébrale, améliore la concentration et la mémoire et soulage également les céphalées et les migraines. (ISERIN, 2001)

Il est utilisé en usage externe pour soigner les rhumatismes et les troubles circulatoires (TEUSCHER, 2005). C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires (BNOUHAMET *al.*, 2002) et utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnérable et diurétique (KOUBISSI, 2002).

Dû à ses vertus, le romarin est une plante médicinale aromatique très exploitée à cause de sa teneur en huiles essentielles qui sont très recherchées (ELOUTASSI *et al.*, 2013). L'huile du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (ARNOLD *et al.*, 1997).

Anti spasmolytiques, diurétiques, hépato protectrices, soulagement des désordres respiratoires (LEMONICA *et al.*, 1996).

Inhibition de la genèse des tumeurs mammaires (SINGLETARY *et NELSHOPPEN* ,1991) et la prolifération des tumeurs cutanées (HUANG *et al.* , 1994).

Le romarin c'est un aromate apprécié, aux utilisations culinaires diverses , dans les soupes , les marinades, ,sur les grillades sous forme de feuilles séchées. Aussi pour parfumer les flans et les confitures (AKROUM, 2006). Les extraits du romarin présentent un pouvoir antioxydant et peuvent être appliqués à la conservation des aliments (ZOUBEIDI, 2004).

CHAPITRE 2: LES EXTRAITS DES PLANTES MÉDICINALES

2-1-Utilisation des Plantes médicinales et aromatiques :

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie. (MOSTAFA.,2010 ; COLLECTIF., 2001).

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques décroît. Les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus (COLLECTIF., 2001).

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, elles sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux, donc sont des dragues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (MACHEIX et *al.*, 2005).

2-2-Les huiles essentielles:

Les huiles essentielles sont des substances huileuses , volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation (ISERIN et *al.* , 2007) , par pressage ou incision des végétaux qui les contiennent . Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (GUY, 1997) .

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie , en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments . Leur utilisation simple est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (AMARTI , 2009) .

2-2-1-Localisation :

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécréteurs, dans des poches sécrétrices ou dans des canaux sécréteurs (BRUNETON, 1999; HAZZIT, 2002; BOZ et *al.*, 2009). Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes, les fruits, le bois et ou les graines (BRUNETON, 1993; ANTON et LOBSTEIN, 2005).



Figure 2.7 : Exemples d'huiles essentielles issues de différentes parties de plantes (DESCHEPPER, 1990).

2-2-2-Caractéristiques physico-chimique :

Les huiles essentielles sont des liquides très peu colorés, volatils à température ambiante. Elles dégagent une odeur caractéristique et sont, en général plus légères que l'eau tout en possédant des caractéristiques hydrophobes (TAPAS *et al.*, 2008).

2-2-3-Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles mais, selon la définition de l'AFNOR et l'ISO, les méthodes utilisées pour extraire les huiles essentielles sont: l'hydrodistillation « water distillation » où le matériel végétal à extraire est en contact direct avec l'eau en ébullition, la vapeur d'eau produite entraîne avec elle les essences de la plante (BELLEAU, 1990; PINGOT, 1998; BRUNETON, 1999; BASER et BUCHBAUER, 2010), entraînement à la vapeur « steam distillation » à la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (LESLEY, 1996;

MARRIOTT *et al.*, 2001; LAHLOU, 2004; LUCCHESI, 2005) et l'expression à froid, ce procédé est réservé surtout aux agrumes (LESLEY, 1996; AFNOR, 1996).

La distillation est la méthode la plus ancienne et, également, la plus utilisée (BRUNETON, 1999). En revanche, une remarque s'impose dès à présent, la distillation ne permet pas d'extraire la totalité des principes actifs lourds d'un végétal mais seulement les composés volatils entraînés. De plus, ces procédés présentent des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition, certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation (GARNÉRO, 1996).

Des techniques plus récentes, d'un emploi très limité, pourraient résoudre tous ces problèmes, comme l'enfleurage, les fluides subcritiques ou supercritiques, les micro-ondes, les fluides sous pression, etc. (KAUFMANN et CHRISTEN, 2002; LUCCHESI *et al.*, 2004; LUCCHESI, 2005 ; PIOCHON, 2008). Par exemple la distillation assistée par microonde fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : technologie verte, économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées (CHIASSON *et al.*, 2001; KAUFMANN et CHRISTEN, 2002; LAHLOU, 2004; LUCCHESI *et al.*, 2004; OLIVERO-VERBEL *et al.*, 2010).

2-2-4-Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles peuvent contenir une centaine de composés différents, appartenant à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques spécifiques les terpènes et les dérivés des phénylpropane biosynthèses essentiellement à partir de l'acide shikimique (BRUNETON., 1993).

2-2-4-1-Les composés terpéniques :

Ils ont pour formule générale $(C_5H_8)_n$, cyclique. Ils sont constitués du polymère de l'isoprène parmi lesquels on distingue les monoterpènes et les sesquiterpènes.

• Les monoterpènes :

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8), selon le mode de couplage « tête-queue ». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (PADUA, 1999).

• Les sesquiterpènes :

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques.

Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature (PADUA, 1999).

2-2-4-2-Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane :

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente (PARIS et HURABIELLE, 1981).

2-2-4-Utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles interviennent dans la fabrication des produits alimentaires (jus de fruits, crèmes glacées, bonbons, etc...), des produits d'hygiène et de beauté, des parfums et autres produits de désinfection. Les huiles essentielles sont utilisées également pour leurs différentes propriétés et effets thérapeutiques divers (DESCHEPPER, 2017) :

- a) Les effets anti-infectieux ; notamment sur les souches résistantes à des antibiotiques récents. Parmi ces molécules antibactériennes les plus puissantes, nous pouvons citer : le carvacrol, le thymol, l'eugénol, le géraniol, le linalol, le terpéneol, le menthol, etc.
- b) Des effets calmants et antispasmodiques ; les aldéhydes (citral de la verveine,...), les esters (salicylate de méthyle,...) .
- c) Des effets antiparasitaires ; surtout les phénols.
- d) Des effets anti-inflammatoires ; selon le type de douleurs, on peut utiliser des esters, des alcools (menthol) ou des aldéhydes (cuminal).
- e) Les huiles essentielles possèdent aussi des propriétés antioxydantes, expectorantes, diurétiques, et antifongiques.
- f) Elles possèdent également des propriétés insecticides et insectifuges.

Propriétés Biologiques :

2-2-5-Activité anti-oxydante :

On désigne par antioxydant toute substance qui, lorsqu'elle est présente en faible concentration comparée à celle du substrat oxydable, retarde ou prévient de manière significative l'oxydation de ce substrat (DIALLO, 2005).

2-2-6-Pouvoir anti-oxydant des huiles essentielles :

Les HE constituant une source potentielle de molécules naturelles bio actives, font l'objet de nombreuses études concernant leur éventuelle utilisations au tant qu'antioxydant (FERNADEZ et CHEMAT,2012).

2-2-7-Mécanismes d'action des antioxydants :

Les mécanismes d'action des antioxydants sont divers, incluent le captage de l'oxygène singulier, la désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, la réduction de radicaux ou de peroxydes, la chélation des métaux de transition (FAVIER,2006).

2-3-Métabolites secondaires des plantes médicinales :

Les métabolites secondaires sont des composés phyto-chimiques biosynthétisés naturellement par les végétaux mais qui ne participent pas directement au métabolisme végétal (DOMINIQUE et ZOUBIDA, 2005).

Les métabolites secondaires (SM) sont présents dans toutes les plantes supérieures, et ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Dont plus de 200.000 structures ont été définies (HARTMANN, 2007) et sont d'une variété structurale extra ordinaire mais sont produits en faible quantité. Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plante et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique (YEZZA et BOUCHAMA, 2014).

2-4-Groupes des principes actifs :

2-4-1-Huile essentielle :

Les huiles essentielles extraites des plantes par distillation comptent parmi les plus importants principes actifs des plantes Elles sont largement employées en parfumerie Les huiles essentielles contenues telles quelles dans les plantes sont des composés oxygénés, parfois d'origine terpénoïde et possédant un noyau aromatique. (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).

2-4-2-Polyphénols :

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6

carbones. Ils subdivisent en sous classe principales; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins... (SARNI-MANCHADO et CHEYNIER, 2006).

2-4-3-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, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (WICHTL et ANTON, 2009). Les phénols possèdent des activités anti- inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (ISERIN et *al.*, 2001).

2-4-4-Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux ; ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (BRUNETON, 1999). Ils sont particulièrement présents dans l'épiderme des feuilles ainsi que dans la peau des fruits. Ils présentent une structure commune en C6-C3-C6 . Deux cycles aromatiques (A et B) sont liés par une chaîne de 3 carbones formant un hétérocycle oxygéné (C) (MACHEIX et *al.*, 2006).

Les flavonoïdes possèdent plusieurs effets phytothérapeutiques comme :

-Jouent un rôle important dans le système de défense comme antioxydants. (HARKATI, 2011).

-Ils sont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales Antioxydants, ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. (ISERIN et *al.*, 2001).

2-4-5-Tanins :

Les tanins sont des composés phénoliques solubles dans l'eau, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton, et ayant, outre les propriétés habituelles des phénols, la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et les protéines (PERONNY, 2005).

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes basés sur des différences structurales : les tanins hydrolysables et les tanins non hydrolysables (FIORUCCI, 2006).

2-4-6-Alcaloïdes :

Ce sont des substances toxiques et parfois à faibles doses et qui ont des effets thérapeutiques connues. C'est une substance organique azotée d'origine végétale, à caractère alcalin, de structure complexe. On trouve des alcaloïdes dans plusieurs familles de plantes et on en connaît plus de mille (SAMIA AOUDAHI, 2010).

2-4-7-coumarines :

Les coumarines, composés phénoliques hétérocycliques oxygène non volatils, sont très répandues chez les végétaux. Possèdent des fluorescences bleues ou bleu-vert en lumière ultraviolette. Les coumarines possèdent un tropisme nerveux et sanguin (anticoagulant). Les coumarines sont aussi un remède de choix pour traiter la fibrillation cardiaque (GARABETHET *al*, 2007).

CHAPITRE 3 : MATÉRIEL ET MÉTHODE

Objectif :

La récolte a été faite dans deux localités différentes : Sidi Rached et Aghbal de la wilaya de Tipaza durant la campagne printanière 2023, au mois de Mai.

L'étude a porté sur la valorisation d'une espèce médicinale *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané en Algérie. En étudiant son activité anti-oxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH.

3-1- Présentation des régions d'étude :

L'Algérie est caractérisée par plusieurs régions arides, semi-arides, et humides qui s'affectent par le climat et parfois par l'homme.

3-1-1-Localisation de la wilaya de Tipaza :

La wilaya de Tipaza se situe au nord du tell central, elle est limitée géographiquement par :

- La mer méditerranée au nord.
- La wilaya de Chlef à l'ouest.
- La wilaya de Ain-Defla au sud ouest.
- La wilaya de Blida au sud.
- La wilaya d'Alger à l'est.



Figure 3.8: Localisation de la région d'étude Tipaza, (Google Maps)

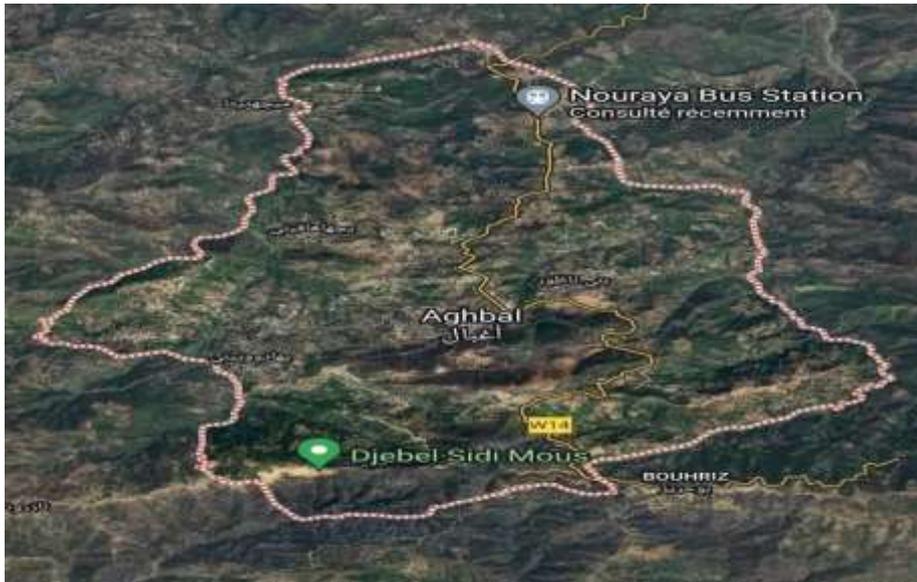


Figure 3.9 : Carte géographique de la localité de Aghbal,
(Google Maps)

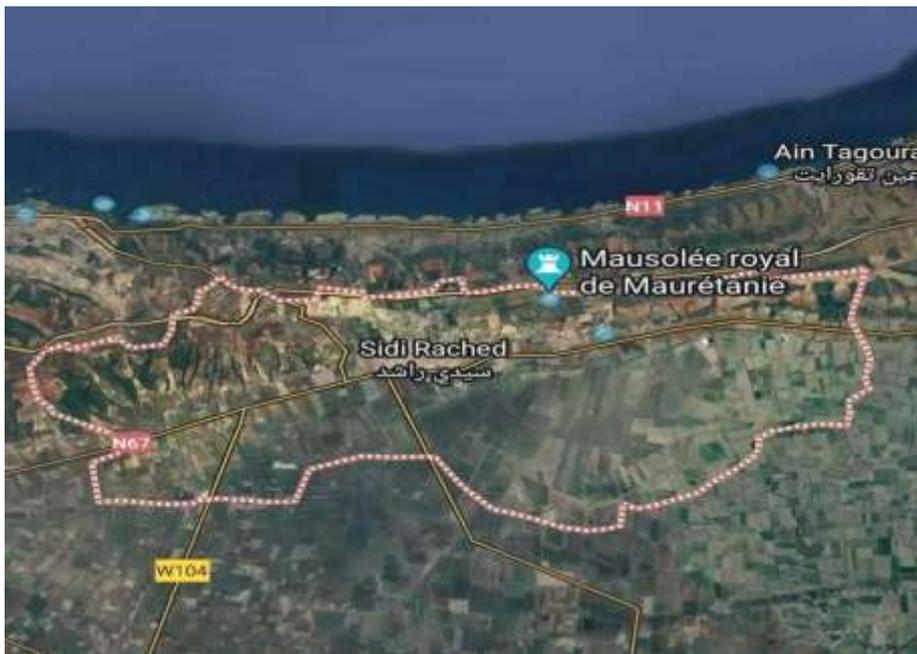


Figure 3.10 : Carte géographique de la localité de Sidi Rached,
(Google Maps)

3-1-2-L'étage bioclimatique:

La wilaya de Tipaza se situe dans un seul étage bioclimatique subdivisé en 02 variantes :

-L'étage sub-humide caractérisé par un hiver doux dans la partie nord.

-L'étage sub-humide caractérisé par un hiver chaud dans la partie sud.

-Les vents ont des fréquences différentes durant l'année, les plus dominants sont de direction sud et ouest, quand au sirocco il est rarement enregistré au cours de l'hiver par contre les gelées sont fortement influencées par l'altitude.

-Les précipitations moyennes enregistrée par la station de Merad font ressortir une pluviométrie moyenne annuelle de 600 mm durant la période 1978-2011.

-Les températures elles varient entre 33 C° pour les mois chauds de l'été (Juillet, Août) à 5,7 C° pour les mois plus froids (Décembre à Février).

3-1-3-Sites d'échantillonnage :

Pour répondre à notre objectif, deux sites d'échantillonnage ont été localisés. Les coordonnées géographiques des sites étudiés sont présentés dans le tableau 3.2 :

Tableau 3.2 : Coordonnées géographiques des sites étudiés dans notre travail.

Coordonnées géographiques	Tipaza (Aghbal)	Tipaza (Sidi Rached)
Latitude	36°33'41''N	36°30'10''N
Longitude	2°31'57''E	1°50'45''E
Altitude	700	122

3-2-Matériel végétal :

Le matériel végétal de notre étude est composé des feuilles de sommité de *Rosmarinus officinalis L.*.

L'extraction a été fait le 28 Mai 2023 au niveau de Bio-extrapamal à Oued Alleug -Blida.

Notre plante *Rosmarinus officinalis L.* a été identifiée au niveau de l'Institut National d'Agronomie à El Harrach (Alger).



Figure 3.11 : Matériel végétale utilisé : *Rosmarinus officinalis* L.(Photo originale).

3-3-Matériel biologique :

3-3-1-L'échantillonnage :

L'échantillonnage du matériel végétal a été fait par une méthode aléatoire , sur des arbustes au hasard. La récolte se fait dans les forêts loin de la ville , les arbustes retenus pour la récolte doivent être homogènes et présentant un bon état végétatif .

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.

Les échantillons sont mis dans des sacs en papier kraft ,et destiné directement au laboratoire pour l'utilisation.

3-3-2-Préparation de matériel végétal: les feuilles du romarin ont été séparées des rameaux et destinées directement à l'extraction à l'état frais (Figure 3.12).



Figure 3.12 : les feuille du *Rosmarinus officinalis L.* à L'état frais (Photo originale).

3-4-Extraction de l'huile essentielle de *R. Officinalis L.* :

L'extraction de l'HE de la plante *Rosmarinus officinalis L.* a été effectué par la méthode de l'hydro-distillation sous base pression à haute température par une alambic (une cuve en inox dans lequel on mets le matériel végétal à distiller avec l'eau sans aucune séparation) (Figure 3.13).

Nous avons mis une quantité de la matière végétale fraîche dans une cuve remplie d'eaux aux 2/3 de son volume. Puis l'ensemble à été chauffé pour que l'eau se transforme en vapeur qu'on vas le récupérer à refroidissement à l'aide d'un réfrigérateur qui est associé à l'alambic cette vapeur chargée d'essence va se condenser pour redevenir liquide. Le liquide est recueilli dans un vase de décantation , aussi appelé essencier là où l'EH est plus légère que l'eau , se séparer de l'eau de distillation (hydrolat) , en remontant à la surface du l'essencier .



Figure 3.13 : Dispositif d'extraction des HEs par hydro-distillation (Alambic),(photo originale).

• Principe :

Il consiste à immerger directement 6kg (Aghbal),16kg (Sidi Rached) du matériel végétal à traiter dans une alambic de 60 litres, rempli environ (12 litres, 32 litres) d'eau qui est ensuite porté à ébullition Pendant 3 heures (Figure 3.14).



Figure 3.14: Extraction d'huile de *R. Officinalis L.*(Photos originales).

3-5- Calcul du rendement :

3-4-1-Détermination du rendement en huiles essentielles :

Selon les normes d'AFNOR, le rendement en l'HE (R_{HE}) est défini comme le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M_{mv}).

Le rendement est exprimé en pourcentage et donnée par l'expression suivante :

$$R_{HE} (\%) = \frac{\text{La masse de l'huile essentielle}}{\text{la masse de la matière végétale utilisée } (M_{mv})} \times 100$$

M_{HE} : Masse d'HE en gramme.

$R_{HE} (\%) = M_{HE}/M_{mv}$.

M_{mv} : Masse de la matière végétale utilisée en gramme.

R_{HE} : Rendement en HE.

3-4-2-Évaluation de l'activité anti-oxydante du romarin (HE) :

Un antioxydant est défini comme toute substance ayant la capacité de retarder, prévenir ou réparer un dommage oxydatif d'une molécule cible (HALLIWELL et GUTTERIDGE, 2007). On a choisi le test de piégeage du radical libre DPPH Afin de évaluer notre activité antioxydante des HE.

3-4-2-1-Test de piégeage du radical libre DPPH :

L'activité anti-oxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* a été évaluée par la méthode du radical 2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle (DPPH). L'activité anti-oxydante des différents extraits est mesurée par la méthode décrite par BENHAMOU *et al.*, (2009). Pour chaque extrait, un volume de 1950 µl de la solution de DPPH (0.2mM) est mélangé avec 50 µl d'extrait ou des antioxydants standards (acide ascorbique). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 515 nm.

- Principe du test de piégeage :

Ce test est basé sur la mesure de l'aptitude d'un antioxydant à exercer un effet scavenger sur le radical libre DPPH* (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl). Le radical DPPH* est réduit en son hydrazine correspondant lorsqu'il réagit avec un donneur d'hydrogène. La réduction du DPPH s'accompagne par le passage de la solution d'une couleur violette à une couleur jaune, l'absorbance est mesurée par spectrophotomètre à 515 nm. Une faible absorbance indique une meilleure activité antiradicalaire (MILARDOVIC *et al.*, 2006).

Le pourcentage de réduction du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [(A_{b s C} - A_{b s E}) / A_{b s C}] \times 100.$$

Avec Absc : Absorbance du contrôle.

AbsE : Absorbance de l'échantillon testé.

Le mécanisme est récapitulé dans la Figure 3.15 :

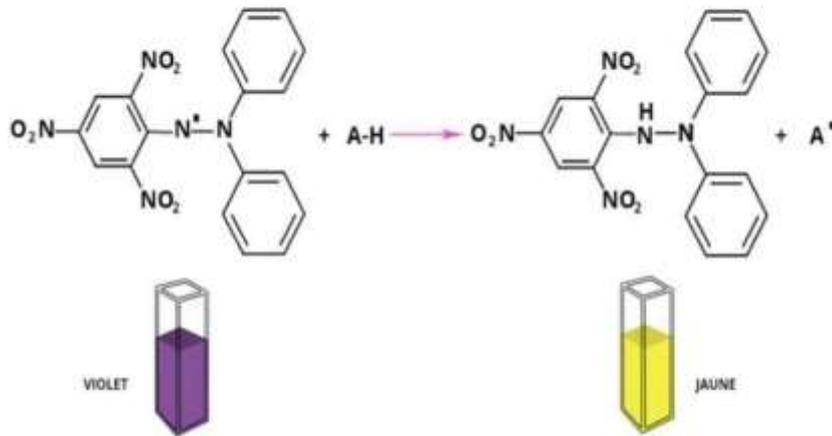


Figure 3.15 : Réaction d'un donneur d'hydrogène avec le radical DPPH (MAATAOUI et *al.*,2006).

• Les techniques :

1-Préparation du DPPH :

0,0025 mg de DPPH (2,2-diphényl-1 picrylhydrazyle) est dissoute dans 100 ml du méthanol (MeOH) pour obtenir une solution de DPPH.

2-Préparation des dilutions des extraits :

L'expérience a été effectuée sur 7 concentrations différentes diluées à 50% qui sont par ordre : (9 / 4,5 / 2,25 / 1,125 / 0,562 / 0,281 / 0,140) mg .

Pour chaque extrait, un volume de 1950 μ l de la solution de DPPH (0.2mM) est mélangé avec 50 μ l d'huile ou des antioxydants standards (acide ascorbique). Après 30 minutes d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance est lue à 515 nm.

CHAPITRE 4 : RÉSULTATS ET DISCUSSION

4-1 Rendement en huile essentielle du *Rosmarinus officinalis L.* :

Le rendement en huile essentielle est exprimé en pourcentage (tableau 4.3).

Tableau 4.3 : Rendement de l'huile essentielle obtenue.

	Masse de la matière végétale	HE	Rendement
Sidi Rached	16kg	10ml	1.6%
Aghbal	6kg	12ml	0.5%

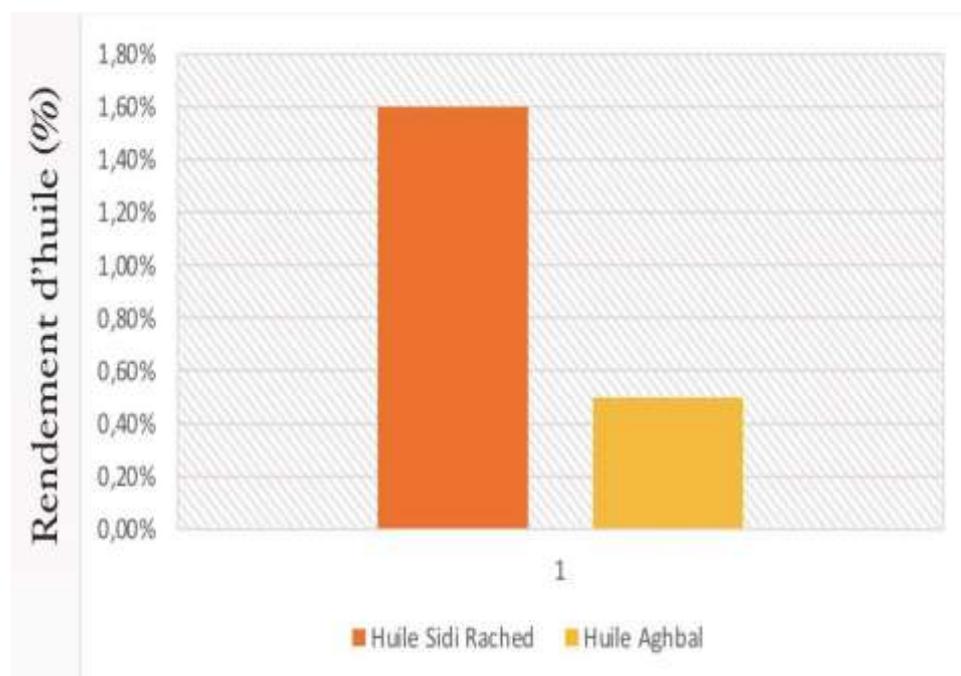


Figure 4.16 : Histogramme représente le rendement des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis L.*

Le rendement obtenue est conforme aux normes d'AFNOR .

D'après les résultats obtenus, HE du *R. Officinalis L.* récolté dans la région de Sidi Rached wilaya de Tipaza, est Supérieur à celui récolté à Aghbal (wilaya de Tipaza) avec 1,6 % et 0.5 % (Tableau 4.3 et Figure 4.17).

Cette variation des Rendements peut être dûe à la technique d'extraction, la période de la récolte, les conditions climatiques pour chaque région et même de la durée d'hydrodistillation.

4-1-1-Caractères Organoleptiques d'HE du *Rosmarinus officinalis L.* :

Les paramètres organoleptiques de notre huiles essentielles aspect, couleur, odeur sont résumés dans le tableau 4.4 :

Tableau 4.4 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du *R. officinalis L.*

Notre huile	Aspect	Couleur	Odeur
Huile de Sidi Rached	Liquide	Jaune	Fraîche
Huile de Aghbal	Liquide	Jaune foncé	Fraîche et épicée

4-2-Evaluation de l'activité anti-oxydante des HEs :

La capacité anti-oxydante de HE de *R. officinalis L.* des deux localités Sidi Rached et Aghbal sont mesurées en termes de capacité de piégeage des radicaux en suivant la réduction de l'absorbance d'une solution méthanolique de DPPH qui s'accompagne par un passage de la couleur violette à la couleur jaune (Figure 4.17).

L'intensité de cette couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu fournisseur de protons (MAISUTHIASAKUI et *al.*, 2007).



Figure 4.17 : Passage de la couleur violette à la couleur jaune de l'extrait.

Afin de mettre en évidence l'activité anti-oxydante des extraits de *R. Officinalis L.* de Sidi Rached et Aghbal , une courbe d'étalonnage , réalisée par l'acide ascorbique a été tracée.

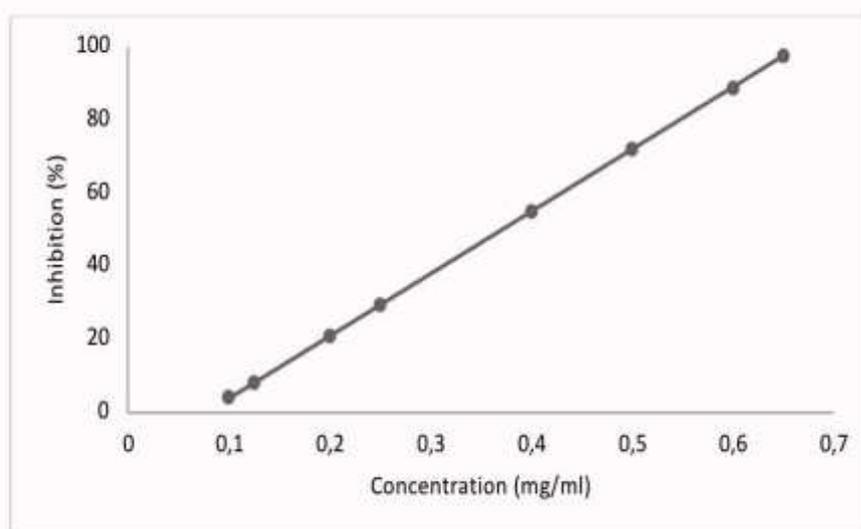


Figure 4.18 : Courbe d'étalonnage (acide ascorbique).

En général les deux extraits testés ont provoqué une diminution plus au moins importante de l'absorbance de DPPH selon leurs concentrations (Figures 4.19 / 4.20).

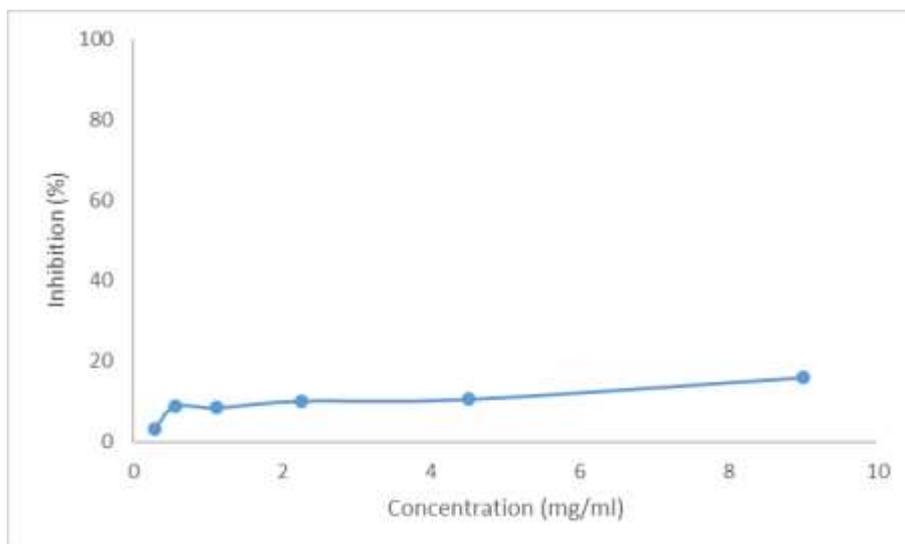


Figure 4.19 : Taux d'inhibition du radical libre DPPH selon les concentrations de l'HE (Aghbal).

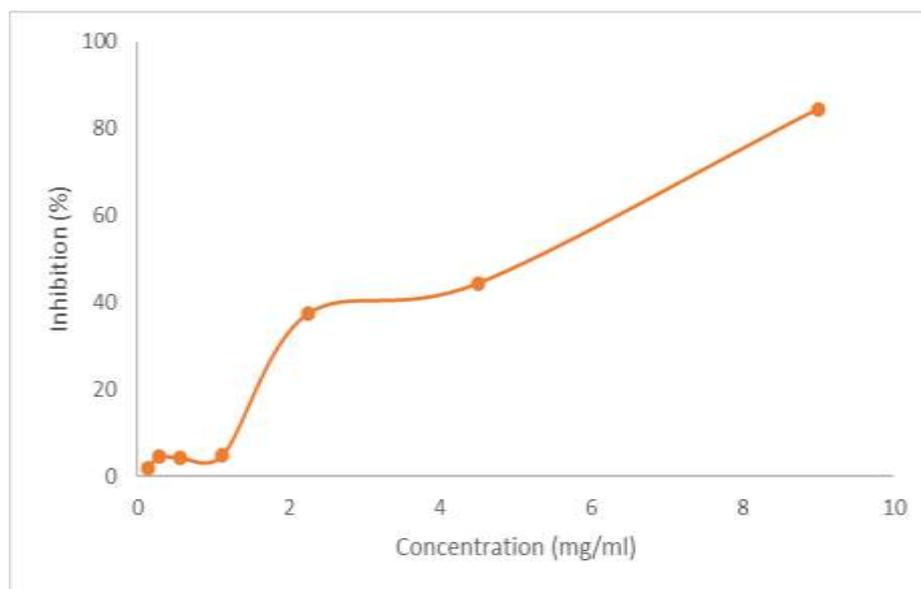


Figure 4.20 : Taux d'inhibition du radical libre DPPH selon les concentrations de l'HE (Sidi Rached).

L'augmentation de l'activité anti-oxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH est provoqué par l'augmentation de la concentration en HE , plus que la concentration augmente l'activité est plus élevée . L'HE de Sidi Rached présente un pourcentage d'inhibition supérieur à 90% à des concentrations de l'ordre de 9 mg/ml par contre pour l'EH de Aghbal présente des concentrations de l'ordre de 9 mg/ml dans un pourcentage d'inhibition 19% .

On remarque que l'activité anti-oxydante de L'HE de Sidi Rached est plus élevée par rapport à celle de Aghbal , On remarque aussi que quelques soit la concentration des

échantillons testés, l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) est nettement supérieure à celle de l'huile essentielle (Figure 4.21).

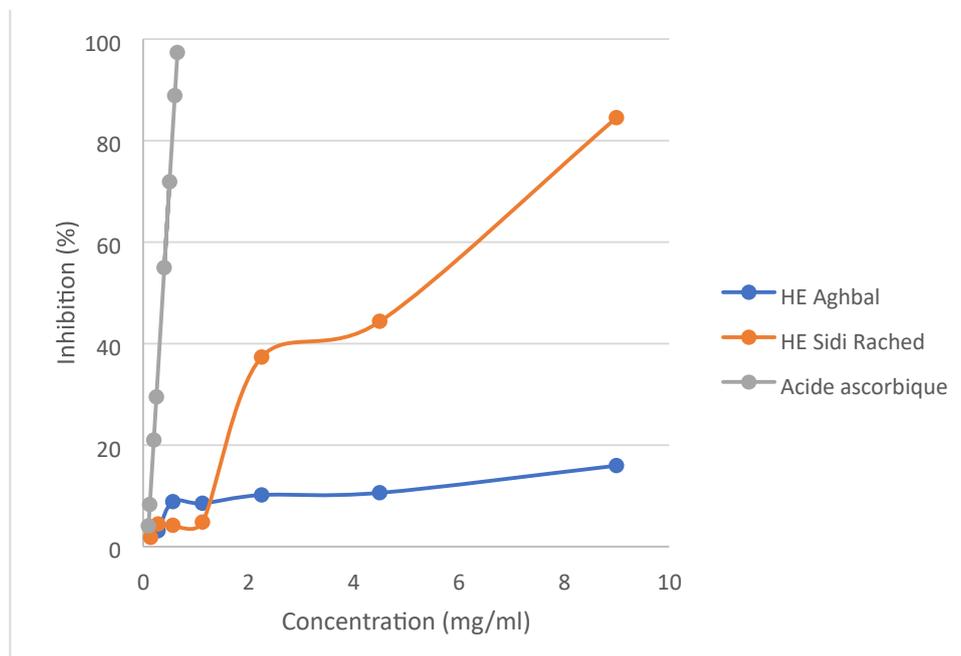


Figure 4.21 : Taux d'inhibition des deux HE comparées à l'acide ascorbique.

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons introduit deux paramètres :

- Calcul d'IC₅₀ :

Pour chaque extrait nous avons déterminé la valeur IC₅₀ qui est la concentration du substrat qui cause la perte de 50 % de l'activité du DPPH (SMARTH et *al.*, 2008) .

Une valeur faible d'IC₅₀ correspond à une activité anti- oxydante plus élevée de l'extrait (PRAKASH et *al.*, 2007).

IC₅₀ : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduire à 50 % la concentration initiale du radical DPPH .

- Calcul de Pouvoir anti radicalaire :

Les résultats peuvent aussi être exprimés en puissance anti- radicalaire (ARP) (BRANDWILLIAM et *al.*, 1995).

ARP= 1/ IC₅₀.

ARP : Puissance anti radicalaire.

Tableau 4.5 : Pouvoir anti-radicalaire de l'HE de *R. officinalis L.* (valeurs des IC₅₀)

	IC ₅₀ (mg/ml)	ARP
HE Aghbal	32,4 ± 3,98 a	0,031 ± 0,003 c
HE sidi Rached	5,4 ± 0,27 b	0,186 ± 0,009 b
Acide ascorbique	0,62 ± 0,067 c	1,62 ± 0,185 a

Les valeurs de IC₅₀ pour l'acide ascorbique et les deux extraits testés sont représentées dans (Figure 4.22).

L'antioxydant standard (l'acide ascorbique) a montré une activité anti-radicalaire très puissante avec IC₅₀ de l'ordre de 0,62 mg/ml.

Les résultats présentés dans la figure 4.23 montrent un IC₅₀ égal à 5,4 mg/ml pour l'HE de Sidi Rached et 32,4 mg/ml pour l'HE de Aghbal.

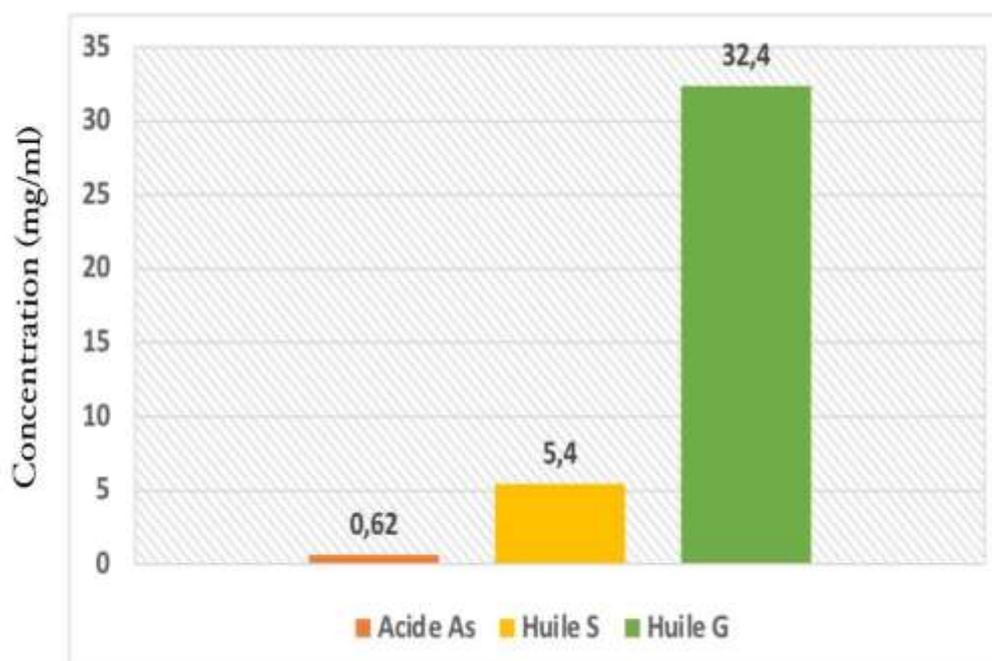


Figure 4.22 : Concentration inhibition 50 % de la réaction.

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit l'acide ascorbique (vitamine C) ou pour les deux HEs du romarin. On remarque que le taux d'inhibition du radical libre pour l'HE du romarin de Sidi Rached (Huile S) est le plus élevé par rapport à celui de Aghbal (Huile G) pour toutes les concentrations utilisées.

Les données relatives à chaque essai ont fait l'objet d'une analyse de variance à un seul facteur de classification (ANOVA) à l'aide du logiciel R studio , puis un classement des moyennes a été effectué à l'aide de test du Tukey à (0,05).

En ce qui concerne le IC_{50} , les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) a montré une différence très hautement significative entre l'acide ascorbique et les deux huiles essentielles ($p=5,65e-06 < 0,001$).

ARP : Les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) a montré une différence très hautement significative entre l'acide ascorbique et les deux huiles essentielles ($p=0,0005 < 0,001$).

Discussion

Nous constatons que L'acide ascorbique à montré une activité antioxydante Modeste ($0.7\pm 100\%$), théoriquement elle a dû avoir une activité importante pour qu'on puisse le comparer avec L'extrait étudié.

Nous remarquons aussi facilement que, contrairement aux résultats obtenus par le test du DPPH, l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis L.* Montre une activité antioxydante très intéressante au niveau de localité de Sidi Rached ($9\pm 90\%$) par rapport à celle de Aghbal ($9\pm 19\%$).

Le rendement de la localité de Aghbal est très faible par rapport au celui-ci de Sidi Rached. Cette différence du rendement de l'huile essentielle est toute à fait normale, puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir l'espèce, la géographie, la période de récolte, les pratiques culturelles, la technique d'extraction ... (SILANO & DELBÒ), 2008 ; MARZOUKIA et al., 2009 ; APROTOZOAIE et al., 2010 ; OLLÉ et BENDER, 2010).

L'huile essentielle des deux échantillons présente des caractéristiques Organoleptiques conformes aux normes d'AFNOR et qui est présente une légère différence au niveau de la couleur.

En ce qui concerne la couleur de l'huile essentielle de romarin de la localité de Aghbal qui est jaune et selon BARDEAU, 2009 l'essence de romarin est un liquide incolore ou légèrement jaune verdâtre, et selon l'AFNOR huile essentielle espagnole Possède une couleur qui va du jaune pâle au vert jaunâtre, Donc on peut dire que notre résultat est dans les normes.

Le romarin est une plante qui appartient à la famille des Lamiaceae, qui inclut un grand nombre de plantes qui sont bien connues pour leurs propriétés antioxydantes et que la plupart de leurs composants antioxydants ont été identifiés [KIVILOMPOLO, et HYOTYLAINEN (2007) ; TEPE et al., (2006)]. Le romarin fait partie des plantes ayants un pouvoir antioxydant naturel et le plus élevé (PENG et al. 2005).

Les résultats indiquent que le pourcentage du radical libre DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration des extraits des plantes étudiées.

On remarque que l'activité anti-oxydante en huile essentielle la plus élevée a été enregistré au niveau de localité de sidi Rached avec un taux d'inhibition de 90 % par rapport à la localité de Aghbal où le taux d'inhibition est très faible 19 %.

CONCLUSION ET PERSPECTIVE :

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels .

Dans le but de la valorisation de la flore Algérienne , une évaluation de l'activité antioxydante à été portée sur l'HE de *Rosmarinus officinalis L.* dans deux localités différentes dans la wilaya de Tipaza .

Au cours de cette étude , nous avons signalé une différence dans le rendement en HE de *Rosmarinus officinalis L.* récolté dans deux localités différentes (Sidi Rached , Aghbal). Cette différence est probablement due à plusieurs facteurs , tel que la variation des conditions climatiques et édaphiques , types de sols et méthode d'extraction .

L'étude de l'activité anti-oxydante de l'HE selon la méthode de test de piégeage du radical libre DPPH à montré que l'activité anti-oxydante de HE issue de Sidi Rached est plus élevé par rapport à celle de Aghbal .

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que nos huiles essentielles possèdent une activité antioxydante importante à différentes concentrations .

Le résultat du test de DPPH montrent aussi que quelque soit la concentration des échantillons testés , l'activité antioxydante de l'acide ascorbique (vitamine C) est nettement supérieure à celle de l'HE .

Sur l'ensemble des résultats obtenus , il est souhaitable de mener une étude plus approfondie en utilisant des techniques plus performante comme HPLC , l'analyse des huiles par CG/MS et d'autres activités biologiques .

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

ABED, L., « La plante médicinale de la tradition à la science » Ed. Michel Grancher, France (1997), pp120-140.

AFNOR, 1996. Huiles essentielles. Volume 1 : échantillonnage et methods d'analyse. AFNOR, Paris, 440p.

AKROUM S., 2006. « Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de *Rosmarinus officinalis* et *Vicia faba L.* ». Thèse de magistère, Université Mentouri de Constantine, 91 p.

AMARTI F., 2009. Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis Boiss.* Et Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ14(1), 141-148.

ANTON R., et LOBSTEIN A., 2005. Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Ed. Tec. Et Doc., Paris, 522p.

AOUADHI, 2010: mémoire de master en toxicologie : « atlas des risques de la phytothérapie rationnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes ». Par Samia Aouadhi faculté de médecine de Tunis – master spécialisé en toxicologie.

APROTOZOAIE ., 2010. The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits. FARMACIA, V. 58

ARNOLD N., VALENTINI G., BELLOMARIA B., LAOUER H., 1997. Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan et Fourr. From Algeria and *R. Officinallis L.* from other countries. J.essent.Oil Res. 9: 167-175.

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 et Santé vol. 7, n° 1 (2007). 11p.

B

BARAKAT, M., LAIB, I., «Composition chimique et activité anti-oxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*». Génie Industriel, 6., (2011), 46-54.

BARDEAU F (2009) les huiles essentielles : découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale. ED Fernande Lenore

BASER K.H.C. and BOUCHBAUER G., 2010. Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. Ed Taylor and Francis group, LLC. United States of America. 994p.

BELLEAU F., 1990. Analyses des huiles essentielles du *Ledum groenlandicum*. Thèse de doctorat, Université de Québec. pp. 13-16.

BENHAMMOU N, BEKKARA FA, PANOVSKA TK. 2009. Antioxidant activity of methanolic extracts and some bioactive compounds of *Atriplex halimus*. Comptes Rendus Chimie 12, 1259- 66.<http://dx.doi.org/10.1016/j.crci.2009.02.004>.

BESOMBES, C., 2008. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques. Thèse de doctorat. Université de la Rochelle. 130p.

BOULLARD B., 2001. Plantes médicinales du monde réalités et croyances. ESTEM (Ed)Paris. 660p.

BOZ I., BURZO I., ZAMFIRACHE M.M., TOMA, C. et PADURARIU C., (2009). Glandular trichomes and essential oil composition of *Thymus pannonicus* All. (Lamiaceae). Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Biologie, pp.36-39.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, ME., BERSET, C., «Use of free radical method to evaluate antioxidant activity». Lebensm Wiss Technology. V. (28), (1995), 25-30.

BRUNETON J. 1993. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Lavoisier TEC et DOC 1ème édition, Paris.

BRUNETON J., 1993, Pharmacognosie, Phytochimie des Plantes médicinales., 2e éd., Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris 268.

BRUNETON, J., « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales ». 2ème Ed Dunod Paris, (1999), 274 p.

BRUNETON, J. 1999. Pharmacognosie: Phytochimie, plantes médicinales; 3e éd.; Tech. et Doc./Lavoisier, P1120. pp. 1-484.

C

COLLECTIF ; 2001 « Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins »; Edition Larousse .

D

DAMYEH, M., NIAKOUSARI, M., «Impact of ohmic-assisted hydrodistillation on kinetics data, physicochemical and biological properties of *Prangos ferulacea* Lindl. essential oil:

Comparison with conventional hydrodistillation». *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, (2016), 387-396.

DESCHEPPER, (1990) Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. En vue d'obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie.

DESCHEPPER, 2017. Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Univ aix marseille .,p(14-110).

DIALLO, A. (2005) Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense Willd.* (Myrtaceae). Thèse de Doctorat en Pharmacie Université de Bamako, Bamako, 100.

DOMINIQUE, G., ZOUBIDA, C. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). Cahiers Agricultures, pp 509-516.

DOUNIA B., WIDAD S., 2021. Enquête ethnobotanique et étude phytochimique de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Juniperus phoenicea*) dans la région d'Oued Souf. Mémoire de master. Université Echahid Hamma Lakdhar- EL OUED. 150p. 28-29.

DUNG, N.T., KIM, J.M. et KANG, S.C. (2008). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology* 46: pp.3632-3639.

E

ELOUTASSI N, LOUASTÉ B, BOUDINE L et REMMAL A, 2013. Contribution au développement des régions rurales : Conservation de *Rosmarinus officinalis*. ScienceLib. Ed Mersenne : Vol 5, n° 130409. p2.

F

FAVIER A. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.* 2006; 64: 390-396.

FERNANDEZ, X., CHEMAT, F., «La chimie des huiles essentielles : Tradition et innovation». Vuibert, (2012), 274p, France.

FIORUCCI S., 2006-Activités biologiques de composés de la famille de flavonoïdes: approches par des méthodes de chimie quantique et de dynamique moléculaire. Thèse de doctorat. Nice. 211p.

G

GARABETH F., BOUAOUN D., et ELYAFI-ELZAHRI G., 2007. Etude quantitative des coumarines d'une plante sauvage *Prangos asperula* Boissier. *Phytothérapie*, 5(5), 259-263.

Doi: 10.1007/s10298-007-0267-x.

GARNÉRO J., 1996. Huiles essentielles. Technique de l'Ingénieur, traité constantes physicochimiques ; K 345-1, 39p.

GRANGER R., J.PASSET, G. ARBOUSSET ; 1976 : Activité optique de l'essence de romarin – *Rosmarinus officinalis* L. La France et ces parfums n°67, 62.

GUY G, (1997). Les plantes à parfum et huiles essentielles à Grasse. Édition L'Harmattan paris.

GUY, G., « Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse». S.l. : HARMATTAN, (2005), pp. 85-93.

I

ISERIN P, MASSON M, et RESTELLINI J-P, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales :Identification, préparations, soins. Ed Larousse.

ISERIN P, MASSON M et RESTELLINI J P, 2007. Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, pp14.

K

KAUFMANN B., et CHRISTEN P., 2002. Recent extraction techniques for natural products : Microwave-assisted extraction et pressurised solvent extraction. *Phytochem. Anal.* 13,pp: 105-113.

KIVILOMPOLO M., HYOTYLAINEN T. Comprehensive two-dimensional liquid chromatography in analysis of Lamiaceae herbs: Characterisation and quantification of antioxidant phenolic acids. *J Chromatography A.* 1145: 155-164 (2007).

KOUBISSI H, 2002. Dictionnaire des herbes et des plantes médicinales. Édition Daar el kooub el Elmia Bierut, Liban, p82.

L

LAHLOU M., 2004. Methods to study photochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* 18 : pp. 435-448.

LEMONICA P., DAMASCENO D. C., DI-STASI L. C. 1996. Study of the embryo toxic effects of an extract of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*). Brazilian journal of medical and biological research. 29 (2): 223-227.

LESLEY B., 1996. Plantes médicinales et aromatiques, Ed. Lavoisier. Paris. pp. 58-61.

LHUILIER A. 2007. Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches: *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat : Toulouse.

LUCCHESI M.E., CHEMAT F., et SMADJA J., 2004. Solvent free microwave extraction of essential oils from aromatic herbs. Comparison with conventional hydro-distillation. J. Chromatogr. A 104(3): 323-327.

LUCCHESI M. E., 2005. Extraction sans solvant assistées par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat. Université de la Réunion, p72.

M

MAATAOUI, BS., HMYENE, A., HILALI, S., «Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*)».

Lebanese Science Journal. (1), (2006), 3-8.

MACHEIX J-J, FLEURIET A, JAY-ALLEMAND C. Les composés phénoliques des végétaux. Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Suisse : Lausanne ; Presses polytechniques et universitaires Romandes ; 2005.

MACHEIX, J.J., FLEURIET, A. et JAY-ALLEMAND, C. (2006). Les composés phénoliques des végétaux. Sciences des aliments, 26: 189-190.

MADADORI M.K. 1982. Les plantes médicinales .Guides vert .Salar.624p.

MADJOUR, S. (2014)" Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée *Rosmarinus officinalis*". these de Master Université Med Khider Biskra, p1.

MAISUTHISAKUL, P., PASUK, S., RITTHIRUANGDEJ, P., «Relationship between antioxidant properties and chemical composition of some Thai plants. J Food Composition and Analysis, (2008), 21: 229-240.

MARRIOTT P.J., SHELLIE R. and CORNWELL C., 2001. Review : Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. Journal of chromatography A, 936., pp. 1-22.

NMARZOUKIA.,H seasonal and geographical variation of *Laurus Nobilis L.* Essential oil from Tunisia. The open naturel products journal, Vol 2.

MAURICE N., 1997. De l'herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XXIème siècle. Ed.Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp.12- 14.

MÉRTOLA, 2018. Bonnes pratiques de domestication de plantes aromatiques et médicinales : romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine de Mértola. p 12-13, 37-38.

MESSAILI B. 1995 Systématique spermaphytes .Botanique. O.P.U. Alger. 63p.

MILARDOVIĆ STJEPAN, DAMIR IVEKOVIC et BOZIDAR S GRABARIĆ. (2006) A novel amperometric method for antioxidant activity determination using DPPH free radical Bioelectrochemistry 68(2):175-80.

MOSTAFA S. F; « Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, *Thymus vulgaris L.*, et étude de quelques activités pharmacologiques » ; thèse de magistère ; Blida ; 2011.

MOUAS Y. 2018. Effet comparatif des paramètres physiologie , biochimiques et thérapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis L.* Thèse de doctorat. Université Blida 1. 6p.

O

OLLÉ M ., (2010). The content of oils in umbelliferous ans its formation .Agronomy research 8 (3)

OLIVERO-VERBEL J., GONZÁLEZ-CERVERA T., GÜETTE-FERNANDEZ J., JARAMILLO-COLORADO B., et STASHENKO E., 2010. Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from colombien plants. Brazilian J. Pharmacognosy 20(4): 568-574.

P

PADUA L.S., BUNYAPRAPHATSARA N., R.H.M.J. LEMMENS. (1999) - Plant Resources of South-East Asia.12.

PARIS M. et HURABIELLE M., 1981 : Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome. Ed. Masson p.339.

PENG, Y., YUAN, J., LIU, F., YE, J., «Determination of active components in rosemary by capillaryelectrophoresis with electrochemical detection». J. Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 39, (2005), 431-437.

PERONNY S., 2005-La perception gustative et la consommation des tannins chez le maki (Lemur catta). Thèse de doctorat. Muséum national d'histoire naturelle, France. 151p.

PINGOT A., 1998. Les huiles essentielles. Ed. Tec. et Doc. Paris, pp. 230-236.

PIOCHON M., 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore autrentienne: composition chimique, activité pharmacologique et hémi-synthèse. Thèse de doctorat. Université du Quebec, pp: 5-9.

PRAKASH, D., SURI, S., UPADHYAY, G., AND SINGH, B.N., «Total phenol, antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants». International Journal of Food Sciences and Nutrition 58, (2007), 18-28.

Q

QUEZEL et SANTA, (1963), Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales Tome II. C.N.R.Sc. Paris.pp.781-783-793.

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.

R

RASHID, CH.A., QURESHI, M.Z., RAZA, S.A., William, J. et ARSHAD, M. (2010). Quantitative determination of antioxidant potential of *Artemisia persica*. Analele Universităţii din Bucureşti – Chimie (serie nouă). vol. 19 No1.pp. 23-30.

S

SANON E. 1992. Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686 Alger.p. 121.

SARNI-MANCHADO, P. et CHEYNIER, V. (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris, p. 3-4.

SILANOV. and DILBÒ M., 2008 Assessment report on *Foeniculum Vulgare* Miller .

EEMA, european medicines Agency. London.

SINGLETARY, K.W. et NELSHOPPEN, J. M. 1999. Inhibition of 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene (DMBA) induced mammary tumorigenesis and of in vivo formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. Cancer lettres. 60 (2), 169-175.

SMARTH, RM., PANWAR, M., SONI A., KUMAR, M., KUMAR A., «Evaluation of antioxidant and radical-scavenging activities of certain radioprotective plant extract». Food Chemistry, 106, (2008), 868-873.

T

TAPAS A-R SAKARKAT D-M, and KAKADE R-B. 2008. flavonnoïdes as nutraceuticals : a review . tropical journal of pharmaceutical research 7 (3) , p. 1089-1099.

TEPE, B., SOKMEN, M., AKPULAT, H.A., SOKMEN, A. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. Food Chem. 95: 200-204 (2006).

U

ULLMANN J.F., 2005. Botanica..

W

WICHTL, M, ANTON, R., «Plantes thérapeutiques: tradition, pratique officinale, science et thérapeutique». 2 ème édition française. Paris: éd. Tee et Doc; Cachan. Médicale Internationales : (2003), 692p.

Y

YEZZA S., et BOUCHAMA S., 2014: index des métabolites secondaires végétaux, université kasdi merbah, Ouargla faculté des sciences de la nature et de la vie département des sciences biologiques.47 pages.

Z

ZEGHAD N., 2008- Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne. Mémoire magister. Université Mentouri Constantine, 96p.

ZOUBEIDI C. 2004. Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis* .Labiataea .Thèse de magistère, université d'Ouargla, 45 p.

Sites web

<https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-romarin-7692/>.

Le 20/09/2023.