

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahlab Blida 1



Faculté des Sciences
Département de chimie

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Chimie.

Option : Chimie des produits naturels

Thème

Evaluation des activités biologiques des huiles
essentielles extraites d'une plante locale de
différentes zones

Présenté Par
HAMANI Chahrazed.

Soutenu le 08/07/2024, devant le jury composé de :

| | | | |
|----------------------|-----|-----------------------|-----------|
| Mr. MEZRAG.A | MCB | Université de Blida 1 | Président |
| Mr. CHINI . Z | MAA | Université de Blida 1 | Examineur |
| Mr. ABDALLAHELHADJ.A | Pr | Université de Blida 1 | Promoteur |

2023/2024

A vant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Je remercie mon encadreur Mr. Abdallah el hadj. A Professeur à l'université de Blida 1 qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance tant pour m'avoir accordé sa confiance que pour m'avoir guidé dans mon travail.

Je remercie tous les techniciens de laboratoire de pédagogie au de pavillon 5.

Une partie de notre travail est réalisée dans le Centre de recherche scientifique et technique en analyse physicochimique (CRAPC) et je remercie l'ingénieur de laboratoire de LAIDI. K.

Je remercie les membres du jury, monsieur MEZRAG. A, pour avoir accepté d'assurer au jury l'évaluation de mon présent mémoire. Et je remercie monsieur CHINI.Z qui accepte d'examiner notre modeste travail.

Enfin je veux dire merci à tous les enseignants du Département de Chimie l'Université de Blida 1 pour l'aide pendant ma formation d'étude.

Je dédie le fruit de mes humbles efforts à ceux qui m'ont donné la vie et l'espoir, et qui ont grandi avec une passion pour l'apprentissage et la connaissance, et à ceux qui m'ont appris à gravir les échelons de la vie avec sagesse et patience, droiture, gentillesse et loyauté. À eux : mon cher père et ma chère mère. Et à celles à qui Allah m'a donné la bénédiction de leur présence dans ma vie, au contrat solide, à celles qui m'ont aidée dans mon cheminement de recherche : Mes sœurs Et enfin, à toutes celles qui m'ont aidée et ont eu un rôle, de près ou de loin, en complétant cette étude, demandant à Dieu Tout-Puissant de récompenser chacun avec la meilleure récompense de ce monde et de l'au-delà. Puis à tout chercheur de savoir qui s'efforce avec ses connaissances de faire bénéficier l'Islam et les musulmans de toutes les connaissances et connaissances que Dieu lui a données.

H. Chahrazed

L'objectif de cette étude est d'extraire l'huile essentielle de romarin provenant de trois régions d'Algérie (humide, semi-humide et sèche) en utilisant la méthode Clevenger. Les rendements obtenus ont montré que la région de Béchar a le rendement le plus élevé à 7,26 %, suivie par HE de zone de Médéa à 6,38 %, et enfin celle de la région de Tipaza avec le rendement le plus faible à 2,31 %.

L'évaluation de l'activité antioxydante a été évaluée à du test DPPH, révélant est effectuée en utilisant la méthode de teste de DPPH que les huiles essentielles des régions de Tipaza, Médéa, et Bachar ont des capacités antioxydantes distinctes, avec IC₅₀ égale 0,00135 , 0,0022 et 0,0020 respectivement en comparaison avec l'acide ascorbique vitamine C (0,0001) .

Des tests photochimiques ont également été réalisés, identifiant divers composés dans les échantillons de romarin des trois régions.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été testée contre plusieurs souches bactériennes, montrant des résultats comparables aux échantillons de référence avec des diamètres de zones inhibitrices mesurés.

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée à l'aide du test BSA (albumine de sérum bovin) est comparée à une solution de Diclofenac. Les huiles essentielles de Médéa et Bachar ont démontré une meilleure efficacité anti-inflammatoire que celles de Tipaza, avec des variations selon la concentration.

Mots Clé : Activités biologiques, Huile Essentielle, DPPH, IC₅₀, Extraction.

The objective of this study is to extract rosemary essential oil from three regions of Algeria (wet, semi-wet and dry) using the Clevenger method. The yields obtained showed that the Bachar region had the highest yield at 7.26%, followed by Oil of Medea zone at 6.38%, and finally that of the Tipaza region with the lowest yield at 2.31%. The evaluation of the antioxidant activity was evaluated with the DPPH test, revealing is carried out using the DPPH test method that the essential oils of the Tipaza, Medea, and Bachar regions have distinct antioxidant capacities, with IC₅₀ equal to 0.00135, 0.0022 and 0.0020 respectively in comparison with ascorbic acid vitamin C (0.0001).

Phytochemical tests were also carried out, identifying various compounds in the rosemary samples from the three regions.

The antibacterial activity of the essential oils was tested against several bacterial strains, showing results comparable to the reference samples with measured diameters of inhibitory zones.

The anti-inflammatory activity was evaluated using the BSA test (bovine serum albumin) and compared to a Diclofenac solution. The essential oils of Médéa and Bachar demonstrated a better anti-inflammatory efficacy than those of Tipaza, with variations according to the concentration.

Key words: Biological Activities, Essential Oil, DPPH, IC₅₀, Extraction.

كان الهدف من هذه الدراسة هو استخلاص زيت إكليل الجبل العطري من ثلاث مناطق في الجزائر (الرطبة، وشبه الرطبة، والجافة) باستخدام طريقة كليفنجر. أظهرت المردودات التي تم الحصول عليها أن منطقة بشار كان لها أعلى مردود بنسبة 7.26%، تليها منطقة المدية بنسبة 6.38%، وأخيراً منطقة تيبازة بأقل مردود بنسبة 2.31%. وقد تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طريقة اختبار DPPH، وكشف أن الزيوت العطرية من مناطق تيبازة وميديا وبشار لها قدرات مميزة مضادة للأكسدة، حيث بلغت قيم IC_{50} 0.00135 و 0.0022 و 0.0020 على التوالي بالمقارنة مع حمض الأسكوربيك (0.0001).

كما أُجريت اختبارات كيميائية ضوئية لتحديد المركبات المختلفة في عينات إكليل الجبل من المناطق الثلاث. تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت العطرية ضد العديد من السلالات البكتيرية، وأظهرت نتائج مماثلة للعينات المرجعية بأقطار المنطقة المثبطة المقاسة.

تم تقييم النشاط المضاد للالتهابات باستخدام اختبار BSA (زال مصّل البقر) ومقارنته بمحلول ديكلوفيناك. أظهرت الزيوت العطرية من ميديا وبشار فعالية مضادة للالتهابات أفضل من تلك المستخلصة من تيبازة، مع وجود اختلافات مع وجود اختلافات وفقاً للتركيز.

الكلمات المفتاحية الأنشطة البيولوجية استخراج DPPH IC_{50} .

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale

CHAPITRE I : La plante médicinale *Romarin* .

| | |
|--|----|
| Introduction | 3. |
| I.1 Les plantes aromatiques et médicinales | 3. |
| I.1.1 Définition | 3. |
| I.1.2 Importance des plantes aromatiques et médicinales | 4. |
| I.1.3 Source des plantes médicinales | 4. |
| I.2 Etude La plante médicinale Romarin | 4. |
| I.2.1 Définition | 4. |
| I.2.2 Etymologie | 4. |
| I.2.3 L'origine | 5. |
| I.2.4 Caractéristiques botaniques | 5. |
| I.2.4.1 Répartition géographique dans le monde et en Algérie | 5. |
| ➤ Monde | 5. |
| ➤ Algérie | 6. |
| I.2.4.2 La description botanique | 6. |
| I.2.5. Classification | 7. |
| I.2.6. La reproduction | 7. |
| I.2.7. La composition chimique | 8. |
| I.2..71 Métabolisme primaire | 8. |
| I.2.7.2 Métabolisme secondaire | 8. |
| I.2.8. Composition chimique | 8. |
| I.2.9. Récolte du Romarin | 9. |
| I.2.10. Les activités biologiques | 9. |
| I.2.11. Les Applications | 9. |
| I.2.12. Utilisation du Romarin | 9. |
| I.2.12.1 Usages traditionnels | 9. |

| | |
|--|------|
| I.2.12.2 Utilisations cosmétiques | 10. |
| I.2.13. Autres utilisations avec d'autres herbes | 10. |
| I. 3 Étude phytochimie | 10. |
| I.3.1. Définition du L'huile essentielle | 11. |
| I.3.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante | 11. |
| I.3.3. Domaines d'utilisation des huiles essentielles | 11. |
| I.3.4. Composition chimique des huiles essentielles | 11. |
| I.3.5. Méthodes d'Extraction des huiles essentielles | 12. |
| I.3.5.1 Principe général | 12. |
| A. La distillation | 12. |
| ✓ L'hydro distillation | 12. |
| ✓ L'entraînement à la vapeur ou distillation à la vapeur d'eau | 12. |
| ✓ L'hydro diffusion (la percolation) | 13. |
| B. L'expression | 13. |
| C. L'extraction aux solvants organiques volatils | 13. |
| D. L'enfleurage | 13. |
| E. Extraction par micro-ondes sous vide | 13. |
| F. Extraction par CO ₂ supercritique | 14. |
| I.3.6. Les applications d'huile essentielles | 15. |
| I.3.7. Toxicité des HEs | 15. |
| I.3.8. Criblage photochimiques | 16. |
| Conclusion | 16. |
| CAPITER II : Les Activités biologiques. | |
| Introduction | 17. |
| II.1 L'activité antioxydante | 17. |
| II.1.1 Définition d'un radical libre | 17. |
| II.1.2 La production des radicaux libre | 17 . |
| II.1.3 Différents types des radicaux libres | 18. |
| II.1.4 Le stress oxydant | 18. |
| II.1.5 Les anti oxydants | 19. |
| II.1.5.1 Définition | 19. |
| II.1.5.2 Principe d'actions des antioxydants | 19. |
| II.1.6 Les types des antioxydants | 19. |
| II.1.6.1 Antioxydants synthétiques | 19. |

| | |
|---|-----|
| II.1.6.2 Antioxydant d'origine naturelle | 19. |
| II.1.7 Méthodes Évaluation de l'activité antioxydants | 20. |
| • <i>Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH)</i> | 20. |
| • <i>Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS</i> | 20. |
| • <i>Test d'inhibition du blanchiment du β-carotène</i> | 20. |
| • <i>Test de réduction du cuivre (Copper Reducing Antioxidant Capacity)</i> | 20. |
| • <i>Test de réduction le fer (Ferric Reducing Antioxidant Power)</i> | 21. |
| II.1.8 Evaluation l'activité anti oxydante d'HE | 21. |
| II.1.8.1 Test au DPPH | 21. |
| ➤ Définition | 21. |
| ➤ Le principe | 21. |
| ➤ L'expression des résultats | 21. |
| II.2 L'activité antimicrobienne | 22. |
| II.2.1 Définition d'une bactérie | 22. |
| II.2.2 Définition de l'activité antibactérienne | 22. |
| II.2.3 Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice) | 22. |
| II.2.4 Les techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne | 22. |
| A. Méthode de diffusion en milieu gélose | 22. |
| B. Méthode de dilution en milieu liquide En milieu liquide | 23. |
| C. Méthode E-test | 23. |
| II.3 L'activité anti-inflammatoire | 23. |
| II .3.1. Inflammation | 23. |
| II .3.2. Définition de l'activité anti-inflammatoire | 24. |
| II.3.3. Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro | 24. |
| II.3.3.1 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (Albumine sérique bovine BSA) | 24. |
| II.3.3.2 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (Activité anti-hémolytique) | 24. |
| II .3.4 Chromatographie en phase gazeuse / Spectrométrie de masse (GC / SM) | 24 |
| Conclusion | 25. |
| CHAPITER III : Matériels et Méthodes. | |
| Introduction | 26. |
| III. Préparation de la matière végétale | 26. |

| | |
|--|-----|
| III.1 Nettoyage et séchage | 26. |
| III.2 Broyage | 29. |
| III.3 Les Méthodes d'extractions | 27. |
| A. Par méthode Clevenger | 27. |
| Matériel et produits chimique | 27. |
| Protocole de méthode Clevenger | 28. |
| B. par l'entraînement à la vapeur | 31. |
| Matériel et produits chimique | 29. |
| Protocole de l'entraînement à la vapeur | 29. |
| III.4 Rendement des extractions | 29. |
| III.5 Screening photochimique | 29. |
| III.5.1 Matériel | 29. |
| III.5.2 Préparation des extraits du screening | 30. |
| III.5.3 Différentes classes recherchées | 31. |
| III.6 Les activités biologiques | 36. |
| III.6.1 Étude de l'Activité anti oxydante des Huiles Essentielles de Romarin | 33. |
| III.6.2 Étude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Essentielles de Romarin | 34. |
| III.6.3 Étude de l'Activité inflammatoire des Huiles Essentielles de Romarin | 35. |
| Conclusion | 37. |
| CHAPITER IV : Résultats et discussions. | |
| IV.1 Rendement d'extraction | 38. |
| IV..2 Screening phytochimique | 39. |
| IV.3 L'analyse CG SM de plante Rosmarinus Officinalis L de déférente région 42. | |
| ➤ L'analyse de CG SM de région humide (Tipaza) | 42. |
| ➤ L'analyse de CG SM de région semi humide (Médéa) | 42. |
| ➤ L'analyse de CG SM de région sèche (Bâcher) | 42. |
| IV.4 Comparaison des huiles essentielles de trois régions différentes d'Algérie avec l'huile essentielle de la région du Maroc | 43. |
| IV. 5 Résulta de l'activité anti oxydante | 44. |
| IV.6 Résulta de l'activité Antibactérienne | 51. |
| IV.7 Résulta de l'activité antiinflammatoire | 55. |
| Conclusion | 55. |
| Conclusion générale et des perspective | 56. |
| Références bibliographiques | |

| | |
|---|-----|
| Tableau I.1 Constituants chimiques de romarin | 8. |
| Tableau I.2 Différentes méthodes d'extraction du romarin avec avantages Et inconvénients | 15. |
| Tableau II.1 Les principales sources de radicaux libres | 18. |
| Tableau IV.1 Histogramme des rendements d'extractions des différentes régions d'Algérie | 39. |
| Tableau IV.2 Les résultats du criblage phytochimique de la plante romarin provenant de trois régions différentes d'Algérie | 39. |
| Tableau IV.3 La comparaison de la composition de l'huile essentielle de <i>romarin</i> de trois régions algériennes distinctes avec la composition du Maroc | 44. |
| Tableau IV.4 L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Tipaza | 44. |
| Tableau IV.5 Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de <i>romarin</i> (RT) | 45. |
| Tableau IV.6 : L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Médéa | 46. |
| Tableau IV.7 : Le tableau montre les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de <i>romarin</i> (RM) | 46. |
| Tableau IV.8 L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Béchar | 47. |
| Tableau IV.9 Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de romarin (RB) | 47. |
| Tableau IV.10 Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique | 48. |
| Tableau IV.11 Les concentrations et les pourcentages d'inhibitions de l'huile essentielle de <i>romarin</i> de trois régions différentes | 49. |
| Tableau IV.12 Les résultats d'activité antioxydante de ce travail | 50. |
| Tableaux IV.13 Les résultats des tests antimicrobiens | 51. |

| | |
|--|-----|
| Figure I.1 Répartition géographique de romarin | 6. |
| Figure I.2 Les feuilles de romarin | 6. |
| Figure I.3 Les fleurs romarin | 6. |
| Figure I.4 Organigramme de classification de romarin | 7. |
| Figure II.1 La formation des radicaux libres dans l'organisme | 17. |
| Figure II.2 Mécanisme réactionnel intervenant entre le radical DPPH et un anti oxydant (AH) | 21. |
| Figure II.3 Schéma d'une bactérie | 22. |
| Figure II.4 Schéma général d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme | 25. |
| Figure III.1 La plante a/fraîche, b/ sèche | 27. |
| Figure III.2 La plante a/- broyée et b/- conserve | 27. |
| Figure III.3 a/- Extraction par Montage de Clevenger,b/-huile essentielle | 28. |
| Figure III.4 Huile essentielle l'entendement à la vapeur | 28. |
| Figure III.5 l'activité anti oxydante de trois régions différentes | 34. |
| Figure III.6 Les solutions d'acide ascorbique | 34. |
| Figure III.7 Les solutions qui présentent l'activité antiinflammatoire de trois régions différent | 36. |
| Figure III.8 Les solutions Diclofenac (référence) | 37. |
| Figure IV.1 Histogramme des rendements d'extractions des différentes régions d'Algérie. | 39. |
| Figure IV.2 Moyenne de pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du <i>romarin</i> de la région de Tipasa en fonction de la concentration | 45. |
| Figure IV.3 Moyenne de pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du <i>romarin</i> de la région de Médéa en fonction de la concentration | 46. |
| Figure IV.4 Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du romarin de la région de Béchar en fonction de la concentration | 48. |
| Figure IV.5 Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique en fonction de la concentration | 49. |
| Figure IV.6 La courbe illustre les taux d'inhibition en fonction de la concentration Pour trois régions distinctes, en comparaison avec la vitamine C | 49. |

| | | |
|---------------------|--|-------------------|
| A | Absorbons | |
| MgSO ₄ : | Acide Sulfurique | |
| HCL: | Acide chloridrique | |
| ADN : | Acide désoxyribonucléique | |
| ARN : | Acide ribonucléique | |
| BSA : | Albumine sérique bovine | |
| AINS : | Anti inflammatoire non stéroïdiens | |
| AIS : | Anti inflammatoire stéroïdiens | |
| AA : | Anti oxydant | |
| BHA : | Bulylhydroxanisole | |
| BHT : | Butyldroxytoleueneb | |
| CMI : | Concentration minimale inhibitrice | |
| COX : | Cycle -oxygénases | |
| CG/MS : | Chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse | |
| DMSO: | Dimethyl Sulfoxide | |
| DPPH: | 2,2-diphenyl-1-picryldrazyl | |
| DPPH : | 2,2-diphenyl -1-picrylhrazine | |
| EtOH: | Ethanol | |
| ERO : | Espèces réactives de l'oxygène | |
| FSC : | Fluides supercritiques | |
| HE : | Huile essentiel | |
| Cu ²⁺ : | Ion Cuivre | |
| λ | Longueur d'onde | (nm) |
| m | Masse | (g ou mg) |
| Nc : | neocuproine | |
| OMS | Organisme mondiale de la sante | |
| I | Pourcentage inhibition | (%) |
| Pc : | Pression critiqué | |
| RT | Romarin de la zone de Tipaza | |
| RM | Romarin de la zone de Médéa | |
| RB: | Romarin de la zone de Bechar | |
| R | Rendement | (%) |
| C | Température | Degré Celsius (C) |
| Tc : | Température critique | |

| | | |
|--------|--------------------------------|------------|
| TBHQ : | 2-tertiobutyl-4-hydroxyquinone | |
| L | Volume | (ul ou ml) |
| ZI | Zone d'initiation | (mm) |



Introduction général

Les plantes ont toujours occupé une place centrale dans la médecine traditionnelle et les industries pharmaceutiques [2] modernes en raison de leurs propriétés thérapeutiques [1] diversifiées. Elles constituent une source inépuisable de composés bioactifs, utilisés depuis des millénaires pour traiter une multitude de maladies. Dans le domaine pharmaceutique, les extraits de plantes sont souvent explorés pour découvrir de nouveaux médicaments, tandis que dans la médecine traditionnelle, elles sont employées pour leurs vertus curatives naturelles.

Les plantes médicinales offrent ainsi des alternatives prometteuses aux médicaments synthétiques, souvent associées à moins d'effets secondaires et à une meilleure tolérance par l'organisme humain.

Parmi ces plantes, le *romarin*, communément appelé romarin, est particulièrement intéressant. Cette plante, endémique à la région méditerranéenne [1], est largement reconnue pour ses propriétés aromatiques et médicinales. Le *romarin* est utilisé depuis l'Antiquité pour ses multiples bienfaits, notamment en tant qu'agent conservateur naturel grâce à ses puissantes propriétés anti oxydantes. Il contient une variété de composés bioactifs, tels que les phénols et les terpènes, qui lui confèrent des activités biologiques notables, y compris des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, et antimicrobiennes [1].

Dans notre travail, l'huile essentielle de *romarin* est extraite par hydro distillation, en utilisant un appareil de type Clevenger [1]. Cette méthode permet de séparer et de recueillir les composés volatils [2] de la plante, qui constituent l'huile essentielle.

Après l'extraction, l'analyse de la composition chimique [2] de l'huile essentielle a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse [1]. Cette technique analytique permet de séparer, identifier et quantifier les différents composés présents dans l'huile essentielle [1].

De plus, nous avons étudié les propriétés biologiques de l'huile essentielle, telles que ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antipathiques. Il est essentiel d'effectuer ces analyses afin de mesurer le potentiel de l'huile essentielle de romarin en tant qu'ingrédient actif dans les produits cosmétiques, notamment pour son utilisation dans une crème.

Le but de cette étude concerne l'étude de toutes les propriétés biologiques[2] de la plante médicinale *romarin*, telles que ses activités antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires. L'échantillon d'huiles essentielles provenant de la plante endémique [1] *romarin* de la famille des Lamiacées est collecté dans diverses régions de l'Algérie, qu'il soit humide, semi-humide ou sèche (Tipaza, Médéa et Béchar).

Le chapitre initial présente une perspective globale sur la plante médicinale [2] *romarin*. Il est divisé en trois parties, expliquant leur principe et leur toxicité. Finalement, une recherche sur l'analyse phytochimique.

Au cours du chapitre suivant, nous examinons les propriétés biologiques de [1], la plante médicinale *romarin*, en expliquant en détail les principes et les techniques d'évaluation employées. Les huiles essentielles extraites de cette plante ont été étudiées en détail à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse. L'essentiel du *romarin* est abordé dans le troisième chapitre. L'extrait des huiles essentielles se fait par hydro distillation de type Clevenger [1]. L'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles obtenues est également abordée dans ce chapitre, en incluant des tests sur leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antibactériennes. Les résultats obtenus mettent en évidence l'intérêt de ces huiles essentielles pour des utilisations dans les secteurs de la beauté et de la santé [1].



***Chapitre I : la plante médicinale
Romarin.***

Le *romarin* est une plante aromatique et médicinale de la famille des Lamiacées, originaire de la région méditerranéenne. C'est un arbuste à feuilles persistantes, étroites et axillaires, avec des fleurs blanches à bleu pâle. Il est très utilisé dans les domaines pharmaceutique, alimentaire, cosmétique et agroalimentaire. Ses feuilles contiennent des composés comme les huiles essentielles, les flavonoïdes et les acides phénoliques qui lui confèrent des propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires et stimulantes. Bien qu'originaire du bassin méditerranéen, il est aujourd'hui cultivé dans diverses régions du monde, aussi bien à l'état sauvage que domestiqué.

Son parfum piquant et son goût distinctif font de lui un ingrédient incontournable de la cuisine méditerranéenne. De plus, les extraits de ses feuilles possèdent des propriétés conservatrices naturelles pour préserver la fraîcheur des aliments [1].

Cette recherche porte sur une espèce particulière de *romarin*, le *romarin*, provenant de trois zones géographiques distinctes en Algérie : les régions arides, semi-arides et humides. Le but est d'examiner comment les différences environnementales entre ces régions influencent la composition chimique ainsi que les propriétés médicinales des huiles essentielles extraites de ces divers écotypes de romarin. En étudiant ces variantes locales d'une même plante soumise à des conditions climatiques contrastées, on cherche à comprendre les liens entre les facteurs environnementaux, la production d'huiles essentielles et leurs potentielles vertus thérapeutiques.

I.1. Les plantes aromatiques et médicinales

I.1.1 Définition :

Selon la pharmacopée européenne, une plante aromatique et médicinale est considérée comme une drogue végétale utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés thérapeutiques. Cela implique qu'au moins une partie de cette plante possède des vertus curatives. Les effets thérapeutiques de ces plantes proviennent de leurs principes actifs, c'est-à-dire des composés bioactifs présents dans la plante [2].

Depuis longtemps, les plantes médicinales sont étroitement liées aux connaissances et aux pratiques traditionnelles. Selon les statistiques de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) datant de 2003, 80 % de la population mondiale utilise la médecine traditionnelle, qui inclut l'usage de plantes médicinales, pour répondre à leurs besoins de soins de santé primaires [3].

Il existe plus de 20 000 espèces végétales dans le monde qui sont utilisées comme condiments, plantes médicinales ou ingrédients cosmétiques. Parmi ces espèces, 50 % sont exploitées par l'industrie pharmaceutique pour leurs propriétés [4].

I.1.2. Importance des plantes aromatiques et médicinales :

La majorité des espèces végétales à travers le monde renferment des propriétés thérapeutiques grâce à la présence de principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. Ces plantes médicinales sont utilisées aussi bien dans la médecine conventionnelle que dans la phytothérapie. Elles offrent des avantages que les médicaments n'ont généralement pas [5].

La phytothérapie : La phytothérapie ou « la thérapie par les plantes » connaît une croissance fulgurante. Au fil des siècles, les sociétés ont su étendre leur compréhension et leur utilisation des plantes médicinales. Les utilisateurs sont préoccupés par les effets secondaires causés par les médicaments et se tournent vers des traitements moins agressifs pour l'organisme. Il est estimé que les effets secondaires des médicaments chimiques sont responsables de 10 à 20 % des hospitalisations. C'est la raison pour laquelle la phytothérapie, qui offre des remèdes naturels et bien accueillis par l'organisme, est fréquemment associée aux traitements traditionnels [5].

I.1.3. Source des plantes médicinales :

En pharmacie, les plantes utilisées peuvent être soit des plantes sauvages (spontanées) appelées plantes de cueillette, soit des plantes cultivées [6].

I.2. Etude de La plante médicinale *Romarin* :

I.2.1. Définition :

Le *romarin* est un petit arbuste de la famille des Lamiacées. Originaire des régions méditerranéennes, il pousse naturellement dans les zones arides et rocailleuses aux sols calcaires, comme les garrigues. Ses feuilles fraîches ou séchées sont couramment utilisées comme aromate dans la cuisine méditerranéenne. Certaines variétés améliorées sont également cultivées pour l'ornementation des jardins.

Le *romarin* est une plante mellifère très appréciée des apiculteurs. Son miel, connu sous l'appellation miel de Narbonne, jouit d'une excellente réputation [7].

I.2.2. Étymologie :

Bien que le *romarin* se développe loin de la mer, d'après la légende, le *romarin* est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer, au petit jour [8]. De ce fait, le nom « *romarin* » viendrait du latin *ros marinus* (rosée de mer) [9] *Rosa marina* qui a donné son nom au genre [10].

Rhus marina est un sucre de mer. Le mot grec « *Rhopsmyrinos* » signifie « buisson aromatique » [11].

- Noms français : *Romarin*, Encensier, Herbe aux couronnes, Herbe des troubadours [12].
- Nom anglais : Rosemary.
- Le *romarin* comporte aussi plusieurs noms vernaculaires : Iklil Al Jabal, Klil, Hatssa Louban, Hassalban, Azir, Aklil, Iklil.
- Nom tergui ou berbère : Lazir, Ouzbir, Touzala, Azir [13].

I.2.3. L'origine :

Romarin, plus communément connu sous le nom de *Romarin*, appartient à la famille des Lamiacées et est originaire de la région méditerranéenne. Toutefois, on peut le trouver à travers le monde entier. Cette plante vivace et aromatique se présente sous la forme d'un arbuste aux branches garnies de feuilles, pouvant atteindre une hauteur de deux mètres. Ses feuilles vertes dégagent un parfum caractéristique.

Le nom latin est *Romarin*. Néanmoins, il existe deux autres variétés de *romarin* : *Rosmarinus eriocalyx* et *Rosmarinus tomentosus*, qui ne présentent qu'un intérêt mineur en matière de thérapie [14].

Romarin peut être utilisé comme épice en cuisine, comme conservateur naturel pour les aliments industriels et comme plante ornementale et médicinale [15,16].

I.2.4. Caractéristiques botaniques :

I.2.4.1 Répartition géographique dans le monde et en Algérie :

➤ Monde :

Le *romarin*, plante vivace, trouve son origine sur les côtes méditerranéennes et dans le Sud-Ouest de l'Asie. Cette espèce végétale a ensuite été introduite en Chine au cours de la dynastie Jin. Aujourd'hui, elle est cultivée dans le monde entier, principalement comme plante ornementale servant de clôture dans les jardins [17].

La culture du *romarin* à grande échelle est répandue en Espagne, Tunisie, Maroc, Algérie, Italie, France et Portugal, principalement dans le but d'en extraire l'huile essentielle. En Inde, la production de cette plante aromatique a débuté vers la fin des années 1980 et s'est développée davantage au cours de la décennie suivante [18].



Figure I.1 : Répartition géographique de *Romarin* [19].

➤ **Algérie :**

En Algérie, différentes espèces de *romarin* sont réparties dans les zones côtières et les plateaux. Il est présent aussi dans la steppe. Selon les couches bioclimatique, on peut le rencontrer à différentes altitudes [20].

I.2.4.2 La description botanique :

Le romarin, un petit arbuste méditerranéen de la famille des Lamiacées, possède des propriétés phytothérapeutiques et est également utilisé comme herbe condimentaire, plante mellifère et ingrédient en parfumerie. Atteignant une hauteur maximale de 1,50 mètre, il se caractérise par des feuilles persistantes coriaces, sans pétiole, et une odeur camphrée distincte. Ses fleurs varient du bleu pâle au violet [21].



Figure I.2 : Les feuilles de *Romarin* [22].

Figure I.3 : Les fleurs de *Romarin* [22].

I.2.5. Classification :

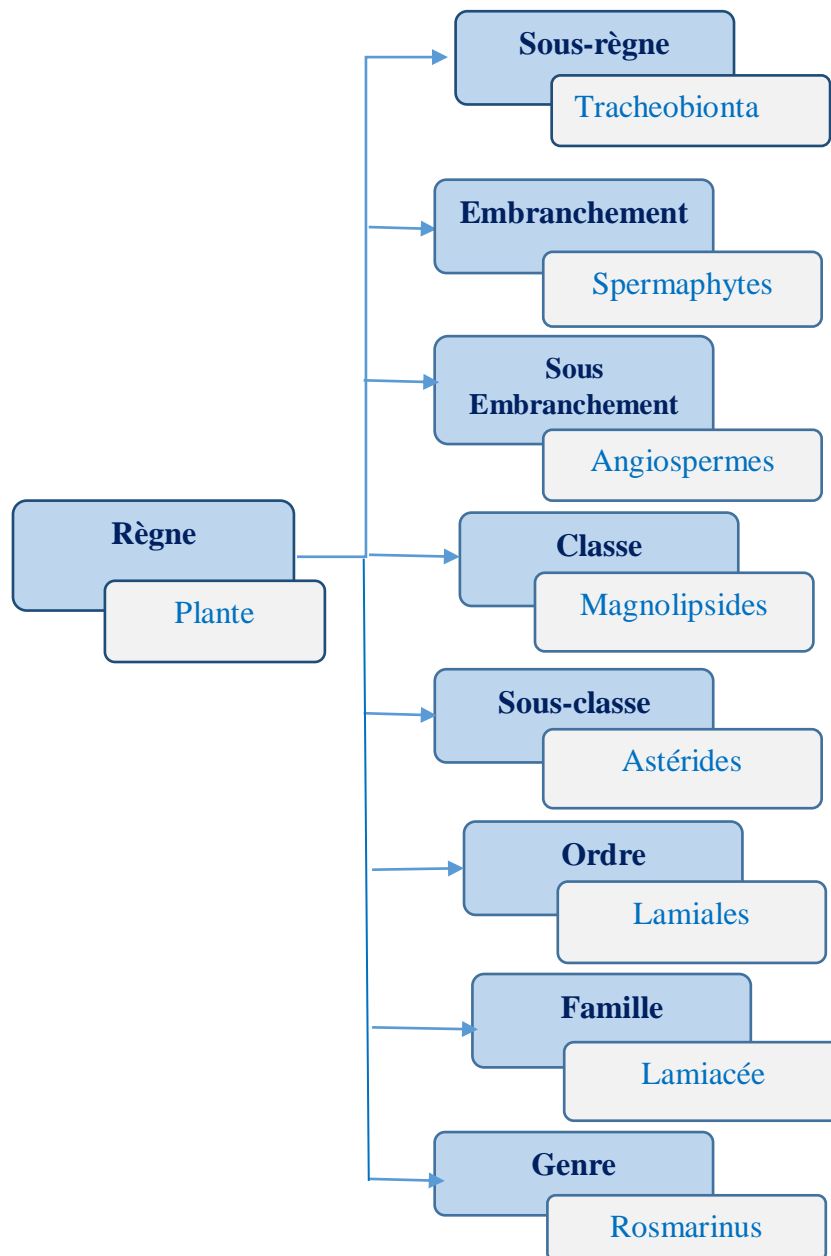


Figure I.4 : organigramme de Classification de *Rosmarinus* [23].

I.2.6. La reproduction :

La reproduction peut s'effectuer de manière sexuée, par le biais de graines, et de manière asexuée, à travers des méthodes telles que la bouture et la division de touffes. Les mécanismes de dissémination propres à cette reproduction incluent la gravité, le vent, l'eau et les animaux.

Le *romarin* est fréquemment présent à l'état sauvage dans des zones arides et sèches, principalement sur des collines et des montagnes de faible altitude. Cette plante thermophile

Prospère dans des bioclimats semi-arides et subhumides, caractérisés par des variations de température allant de chaudes à fraîches [24].

I.2.7 La composition chimique :

Les réactions chimiques qui se produisent au niveau du protoplasme vivant des cellules végétales engendrent deux types de métabolismes :

I.2.7.1 Métabolisme primaire : chaque organisme vivant possède un métabolisme primaire qui génère les molécules fondamentales, telles que :

Les acides nucléiques (ARN, ADN), les lipides, les protéines, les acides aminés et les glucides. Les plantes, en particulier, produisent ces métabolites primaires en quantités significatives.

I.2.7.2 Métabolisme secondaire : Les métabolites secondaires, spécifiques aux plantes, constituent une particularité propre au règne végétal. Ces substances ne semblent pas essentielles à la survie de la plante, étant synthétisées en quantités très limitées et ayant pour fonction principale d'assurer l'autoprotection et l'auto-soin de la plante elle-même [25].

La capacité des végétaux à produire une variété de substances naturelles est l'une de leurs caractéristiques les plus distinctives. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, Protides, lipides), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires », dont la fonction physiologique n'est pas toujours claire, mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi variés que la pharmacologie ou l'agroalimentaire [26]. Les métabolites secondaires sont classés en trois catégories principales : les composés phénoliques, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les stéroïdes [27].

I.2.8. Composition chimique :

Le tableau suivant présente une synthèse des différents composés chimiques que l'on retrouve dans l'espèce végétale *romarin*.

Tableau I.1 : Constituants chimiques de *romarin* [28].

| Familles de constituants | Constituants |
|---|--|
| Huile essentielle (1 à 2,5 %) | Camphre, 1,8-cinéole, α -pinène, bornéol, acétate de bornyle, camphène, α -terpinéol, β -pinène, β -caryophyllène, myrcène.... |
| Di terpènes phénoliques tricycliques | Acide carnosolique, carnosol, rosmanol, rosmadial.... |
| Flavonoïdes | Hétérosides de la lutéoline, de la diosmétine. Flavones méthoxylées : genkwanine et dérivés, cirsimaritrine, scutellaréine. |
| Acides phénols (3,5 %) = « tanins des Labiées » | Acides caféique ,chlorogénique ,rosmarinique. |
| Tri terpènes, stéroïdes | Acide oléanolique (10 %), dérivés de l'acide ursolique et α - et β -amyrine (5 %). |
| Lipides (cuticule cireuse des jeunes feuilles) | n-alcanes, isoalcanes, alcènes. |
| Constituants divers | Polysaccharides acides (6 %), traces de salicylate. |

I.2.9. Récolte du Romarin :

De manière générale, la récolte d'une plante est réalisée lorsque ses principes actifs sont à leur niveau maximal, garantissant ainsi des effets bénéfiques et constants.

Les feuilles et les tiges herbacées sont cueillies au stade initial de floraison, typiquement entre 12 et 18 mois après la plantation [29]. Bien que les feuilles puissent être récoltées tout au long de l'année, c'est durant l'été qu'elles développent leur parfum le plus intense. Il est donc recommandé de les récolter pendant cette saison. La cueillette est de préférence effectuée par temps chaud et sec, environ deux à trois heures après le lever du soleil, une fois que la rosée s'est évaporée [29-31].

I.2.10. Les activités biologiques :

- Activité antibactérienne.
- Activité antifongique.
- Activité antivirale.
- Activité anticancéreuse.
- Activité anti-inflammatoire [32].
- Activité sur l'obésité et le diabète [33].
- Activité anti-hypotensive [34]
- Activité antioxydante [35].
- Activité neuroprotectrice.

I.2.11 Les Applications :

Cette plante trouve diverses applications, allant de son utilisation dans la pharmacopée traditionnelle aux secteurs industriels, tels que la fabrication de produits pharmaceutiques, d'aliments, de cosmétiques, et bien d'autres. En médecine traditionnelle, elle est souvent recommandée sous forme d'infusions de feuilles ou de sommités fleuries, agissant comme cholagogue et cholérétique. De plus, les feuilles sont utilisées en application externe pour traiter les gonflements articulaires et les rhumatismes.

Dans le domaine agroalimentaire, les matrices lipidiques sont utilisées pour maintenir la stabilité des composés lipidiques. Quant à l'industrie cosmétique, elle les exploite en tant que principes actifs anti-âge. En nutraceutique, ces matrices jouent un rôle crucial en tant qu'agents anticancéreux, anti-inflammatoires et anti-adipogéniques [36].

I.2.12. Utilisation du *Romarin* :

I.2.12.1 Usages traditionnels :

Au Mexique, *romarin* est employé en application cutanée pour atténuer la douleur rhumatismale, stimuler la circulation sanguine et prodiguer des soins cutanés. Le thé de

romarin peut être utilisé pour soulager les maux de tête et guérir les rhumes, tout en agissant comme un diurétique efficace et un régulateur de l'humeur. Dans la Grèce antique, le *romarin* était réputé pour renforcer la mémoire [37].

I.2.12.2 Utilisations cosmétiques :

Le *romarin* est une épice ancienne en raison de ses origines méditerranéennes, et il est largement répandu dans les cuisines de cette région. Les extraits dérivés des feuilles de romarin peuvent également être intégrés à la production alimentaire pour prévenir la détérioration des aliments en raison de ses propriétés antioxydantes. Son efficacité dans la préservation est observable dans divers types d'aliments, tels que le bœuf réfrigéré et les galettes de porc congelées [38].

I.2.13. Autres utilisations avec d'autres herbes :

- Au cours de la Seconde Guerre mondiale, on a brûlé un mélange de feuilles de *romarin* et de baies de genièvre dans les hôpitaux de toute la France pour éradiquer les germes.
- Utilisation Chimie et pharmacologie : le *romarin* démontre son efficacité en relaxant les muscles lisses de la trachée et de l'intestin, et il présente des propriétés cholérétiques, hépato protectrices et anti cancérigènes. En particulier, trois acides présents dans le *romarin*, à savoir l'acide carnosique, l'acide caféique et l'acide rosmarinique, suscitent un vif intérêt chez les scientifiques en raison de leurs effets antioxydants.
- L'acide carnosique contenu dans le romarin a été identifié comme favorisant la perte de poids.
- L'acide caféique, un composé naturel présent dans la plupart des plantes, peut contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires [45].

I.3 Étude phytochimie.

I.3.1. Définition de L'huile essentielle :

Les huiles essentielles (HE) sont des extraits naturels concentrés provenant de plantes aromatiques. Ces substances, aussi appelées « essences végétales » ou « huiles volatiles », constituent la partie odorante de la plante. Leur composition est complexe, regroupant diverses molécules aromatiques volatiles.

Le terme « huile » fait référence à leur consistance visqueuse et à leur caractère hydrophobe, tandis que « essentielle » souligne leur importance vitale pour la plante. Ces composés odorants se trouvent en quantités variables dans plus de 2000 espèces végétales,

réparties sur 60 familles botaniques. Les Lamiacées, Rutacées, Myrtacées, Apiacées et Pinacées figurent parmi les familles les plus riches en huiles essentielles [40].

I.3.2. Localisation des huiles essentielles dans la plante :

Les huiles essentielles peuvent être présentes dans toutes les parties d'une plante : des bourgeons aux racines, en passant par les fleurs, les graines, les tiges, les feuilles, les fruits, le bois et l'écorce. La plante stocke ces huiles dans des structures spécialisées comme les cellules sécrétrices, les cavités, les canaux, les trichomes glandulaires ou les cellules épidermiques. Bien que la quantité et la localisation des huiles essentielles varient selon les organes, chaque partie de la plante, qu'elle soit végétative ou reproductive, en contient à un certain degré [41].

I.3.3. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles trouvent des applications variées dans plusieurs secteurs :

1. Aromathérapie : exploitation de leurs vertus thérapeutiques
2. Pharmacologie : utilisation de leurs effets médicinaux
3. Parfumerie : intégration de leurs arômes naturels
4. Cosmétique : mise à profit de leurs bienfaits pour la peau et les cheveux
5. Industrie alimentaire : emploi de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques pour la conservation des aliments [42].

I.3.4. Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes contenant plus de 300 composants différents, classés en diverses familles chimiques organiques comme les hydrocarbures, les alcools, les acides et les esters. Leur composition se divise en deux grandes catégories :

1. Les terpénoïdes : molécules formées par l'assemblage d'unités isopréniques à 5 atomes de carbone.
2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane : structures basées sur un noyau benzénique lié à une chaîne propylée.

Cette diversité chimique, malgré leur origine végétale commune, explique la large gamme de propriétés biologiques et d'applications potentielles des huiles essentielles [43,44].

I.3.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

I.3.5.1 Principe général :

Les huiles essentielles sont des éléments aromatiques extraits de plantes spécifiques, identifiées sur le plan botanique, par le biais d'un processus d'extraction solide-liquide. Cette technique implique un transfert de matière entre deux phases distinctes : une phase solide renfermant les composés à extraire, appelée « solution riche », et une phase liquide agissant en tant que « solvant d'extraction » [45].

A. La distillation.

La distillation à la vapeur d'eau demeure la méthode prédominante, tant sur le plan traditionnel que commercial, pour l'extraction des huiles essentielles, considérées comme de véritables bijoux aromatiques, à partir des matières végétales. Cette technique repose sur l'utilisation de trois principaux groupes de procédés.

✓ L'hydro distillation :

Ce processus implique l'extraction des composés volatils du matériel végétal à l'aide de vapeur d'eau. Une fois cette étape réalisée, une condensation dans un système clos permet de récupérer ces précieuses essences. Le matériel végétal est placé directement dans un récipient appelé "alambic », qui est rempli d'eau et chauffé. Lorsque l'eau bout, les vapeurs issues de la plante entrent en contact avec une surface froide, ce qui les condense et les transforme en liquide. Ce liquide est composé d'un mélange d'eau et d'huile essentielle. L'huile essentielle se sépare ensuite de l'eau, car elle est moins dense et non miscible avec cette dernière.

✓ L'entraînement ou la distillation à la vapeur d'eau :

La méthode d'entraînement à la vapeur d'eau a été développée dans le but de réduire les altérations subies par les huiles essentielles dues à divers processus de dégradation des composés présents dans les plantes, tels que l'hydrolyse des esters. Cette approche vise à améliorer la qualité des huiles essentielles obtenues. Pour ce faire, la matière végétale est disposée sur des plaques perforées situées à une certaine distance au-dessus d'un fond rempli d'eau. Ainsi, la végétation est directement exposée à la vapeur d'eau saturée, tout en évitant tout contact avec l'eau liquide.

✓ L'hydro diffusion (la percolation) :

Cette méthode, également connue sous le nom de « distillation à la vapeur directe », constitue une variation de l'entraînement à la vapeur, mais avec une absence d'eau dans le fond de l'alambic. La vapeur d'eau est introduite par le haut par rapport au matériau végétal, où elle s'infiltre à travers la charge végétale. Par la suite, le mélange de vapeur, composé à la fois de vapeur d'eau et de vapeurs d'huile, est condensé et collecté [46,47].

B. L'expression.

Cette méthode, également connue sous le nom de « pression à froid », est une technique principalement utilisée pour extraire les essences des écorces d'agrumes telles que la mandarine, le citron et l'orange amère. Elle repose sur un processus purement physique, sans recours à la chaleur, visant à rompre les parois des sacs oléifères contenant les huiles essentielles, évitant ainsi les phénomènes d'hydrolyse. Le résultat est une huile libérée présentant une odeur très similaire à celle de la plante fraîche, d'où son appellation essence [48].

C. L'extraction aux solvants organiques volatils.

Cette méthode est particulièrement adaptée à l'extraction des composés odorants volatils à partir d'organes végétaux fragiles et sensibles à la chaleur, tels que les substances thermolabiles. Elle implique l'utilisation d'un solvant approprié pour épuiser la matière végétale sur une période définie. Après décantation et concentration, le solvant est éliminé par distillation partielle, laissant place à un résidu pâteux et odorant appelé « concrète ». Ce produit final ne renferme pas uniquement des molécules volatiles, mais également des composés tels que les cires et les acides gras [49].

D. L'enfleurage.

Cette méthode d'extraction est spécifiquement conçue pour les parties délicates des plantes, telles que les fleurs du jasmin, et de la tubéreuse, etc. Elle repose sur l'affinité naturelle des composés odorants avec les matières grasses. L'idée est d'immerger les tissus végétaux dans une substance grasse pour qu'elle se sature des arômes végétaux. Le mélange résultant, composé de matière grasse et d'extrait végétal, est ensuite traité à l'alcool pour ne conserver que l'essence pure, appelée « absolue ».

E. Extraction par micro-ondes sous vide.

Ce processus, appelé extraction assistée par micro-ondes, implique le placement de la matière végétale fraîche dans un réacteur micro-ondes sans l'ajout de solvant. Le chauffage de l'eau intrinsèque des plantes provoque la rupture des glandes sécrétrices d'huiles essentielles, libérant ainsi les métabolites secondaires qui sont ensuite entraînés dans le mélange avec la vapeur d'eau propre de la plante. Ces métabolites secondaires sont récupérés à travers des étapes de condensation, de refroidissement et de décantation. Cette méthode est extrêmement rapide, permettant de réduire la consommation d'énergie tout en obtenant des substances présentant une meilleure qualité olfactive et un rendement plus élevé, avec une moindre utilisation de solvants [52].

F. Extraction par CO₂ supercritique.

L'extraction par fluides supercritiques, en particulier au CO₂ supercritique, est une technique innovante apparue à la fin des années 1970. Initialement développée pour le traitement d'essences aromatiques fragiles, elle trouve aujourd'hui de nombreuses applications dans les industries agroalimentaire, chimique, biochimique, pharmaceutique, ainsi que pour l'extraction d'arômes et de parfums naturels. Cette méthode d'extraction utilise les propriétés particulières des fluides comme le CO₂ à l'état supercritique, offrant un large spectre de potentialités dans divers secteurs industriels.

Un fluide atteint l'état supercritique lorsque sa température et sa pression dépassent son point critique, c'est-à-dire le couple de valeurs critiques de pression et de température (P_c, T_c). Dans cet état, il présente des propriétés intermédiaires entre celles d'un gaz et d'un liquide. Différents fluides supercritiques (FSC) comme l'eau, l'éthane ou le propane peuvent être utilisés, mais le dioxyde de carbone (CO₂) reste le solvant supercritique le plus courant.

Il constitue une alternative intéressante pour l'extraction de composés actifs à partir de plantes, permettant d'obtenir des produits très concentrés avec un arôme proche de la plante d'origine, sans résidu de solvant. Le choix du CO₂ supercritique est justifié par ses coordonnées critiques modérées (31,1 °C, 73,8 bar). C'est un solvant vert, chimiquement inerte, non polluant, inodore, peu coûteux, de haute pureté et naturellement abondant. À l'état supercritique, il possède un bon pouvoir de solubilisation pour les molécules apolaires ou faiblement polaires de petite taille.

Le flux de CO₂ à l'état supercritique est acheminé vers un extracteur contenant la matière végétale préalablement broyée. L'ensemble est maintenu pendant plusieurs heures afin d'atteindre les conditions opératoires souhaitées. Au cours de ce processus, le fluide supercritique se charge des principes aromatiques présents dans la plante. À la sortie de l'extracteur, le CO₂ est détendu, repasse à l'état gazeux et se sépare alors des composés actifs végétaux extraits. Cette détente entraîne, au niveau des séparateurs, la récupération des composés odorants spécifiques sous forme liquide ou pâteuse, dépourvus de résidus de solvant. [53-55].

Tableau I.2 : Différentes méthodes d'extraction du *romarin* avec avantages et inconvénients :

| Méthodes | Avantages | Inconvénients | Extrait |
|--|---|---|--|
| Hydrodistillation / distillation à la vapeur | Pas besoin de solvant organique, rendement en huile plus élevé, et peu coûteux. | Décomposition thermique des produits qui prend du temps, Extraction incomplète, chaleur difficile à contrôler, hydrolyse de certaines huiles essentielles, non rentable | Composés volatils [56,57]. |
| Extraction de Soxhlet | Température simple, peu coûteuse et contrôlable. | Forte consommation de solvant, longue durée. décomposition des extraits. | Polyphénols et alcaloïdes [58,59]. |
| Extraction assistée par micro-ondes | Recyclage du solvant, extraction pure, moins de temps requis, applicable à l'échelle du laboratoire et de l'industrie | Moins efficace pour les solvants non polaires et visqueux, coûteux et difficiles à utiliser. | Antioxydants polyphénoliques et composés photochimiques [60,61]. |

I.3.6. Les applications d'huile essentielles :

Les huiles essentielles sont utilisées dans la formulation de parfums, shampoings et produits insecticides. Le *romarin* présente des propriétés stimulantes pour la vésicule biliaire, favorisant son bon fonctionnement. Par ailleurs, il exerce une action spasmolytique spécifique, apaisant les spasmes d'origine digestive au niveau des intestins et de l'estomac [62].

Les huiles essentielles sont utilisées dans divers domaines, notamment en aromathérapie, pharmacologie, parfumerie, cosmétique et conservation des aliments. Leurs nombreuses activités biologiques connues justifient leur utilisation [63].

I.3.7. Toxicité des HEs :

La toxicité des huiles essentielles est sujette à des variations en fonction de leur composition, laquelle dépend à son tour de la plante source, qui peut être influencée par le terrain de culture. À titre illustratif, l'huile essentielle de feuille de *slavia rosmarinus*. est plus concentrée en thynone toxique en Estonie que dans le reste de l'Europe.

Il est crucial de maintenir un équilibre délicat entre la dose administrée de composés naturels et le risque potentiel de toxicité qu'ils représentent. L'ingestion de quantités importantes de ces substances peut engendrer des problèmes sérieux de santé. Ainsi, il est impératif de faire preuve de prudence et de discernement dans l'utilisation des huiles essentielles, en veillant à respecter les doses recommandées pour minimiser les risques de toxicité [64,65].

Dans les pays de l'Union européenne (UE), certains composés chimiques comme le carvacrol, le carvone, le cinnamaldéhyde, le citral, le p-cymène, l'eugénol, le limonène, le menthol et le thymol, présents dans les huiles essentielles, sont officiellement homologués et considérés comme sûrs. Cependant, il est à noter que l'estragole et le méthyl eugenol ont été retirés de la liste des composants autorisés en raison de préoccupations concernant leur sécurité [66].

I.3.8. Criblage photochimique :

Les évaluations photochimiques se révèlent être une exploration minutieuse des diverses familles de composés présents dans la plante, s'appuyant sur des réactions qualitatives pour les caractériser. Ces réactions reposent sur des phénomènes de précipitation ou de coloration, déclenchés par l'introduction de réactifs spécifiques.

Les méthodes de détection employées pour un dépistage des substances actives doivent répondre à plusieurs critères : rapidité, simplicité, reproductibilité et sensibilité. Ces exigences permettent de minimiser l'utilisation de matière végétale. Toutefois, ces méthodes se restreignent souvent à la détection de quelques groupes chimiques spécifiques, garantissant ainsi une efficacité ciblée [67,68].

Le *romarin* joue un rôle crucial dans de nombreux domaines, car il renferme de nombreux composants essentiels tels que l'huile essentielle 1,8-cinéole, le camphre, l'alpha-pinène, le bornéol, le camphène, ainsi que des acides phénoliques, des diterpènes, des flavonoïdes et des tanins. De plus, elle possède des propriétés médicinales en raison de sa diversité de composés chimiques.



***Chapitre II : les Activistes
biologiques.***

Le *romarin* est une plante aromatique et médicinale originaire de la région Méditerranéenne, connue pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques. Cette plante renferme plusieurs composés bioactifs tels que les acides phénoliques (dont l'acide rosmarinique), les flavonoïdes, ainsi que des huiles essentielles riches en terpènes comme le camphre, le cinéole et le bornéol. Le romarin possède diverses propriétés antimicrobiennes et activités biologiques, notamment une activité antioxydante, une activité antimicrobienne, une activité antibactérienne et une activité antifongique. Son huile essentielle a été largement utilisée en aromathérapie pour ses différentes propriétés, ainsi que dans les industries pharmaceutique et thérapeutique.

II.1 L'activité antioxydante :

II.1.1 Définition d'un radical libre :

Un radical libre est une molécule qui contient un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui la rend très instable. En quête de stabilité, elle réagit rapidement avec d'autres composés en tentant de capturer l'électron manquant. Une réaction en chaîne s'amorce lorsqu'un radical libre arrache un électron à la molécule stable la plus proche. Cette molécule attaquée devient alors elle-même un nouveau radical libre, perpétuant ainsi le cycle d'instabilité et de réactions.

Les molécules biologiques peuvent voir leurs électrons perturbés par divers facteurs environnementaux. Par exemple, certains types de lumière (en particulier les rayons ultraviolets), les rayonnements ionisants (comme les rayons X), ainsi que de nombreuses substances chimiques, dont la fumée de cigarette, sont capables de produire des radicaux libres [69,70].

II.1.2 La production des radicaux libre :

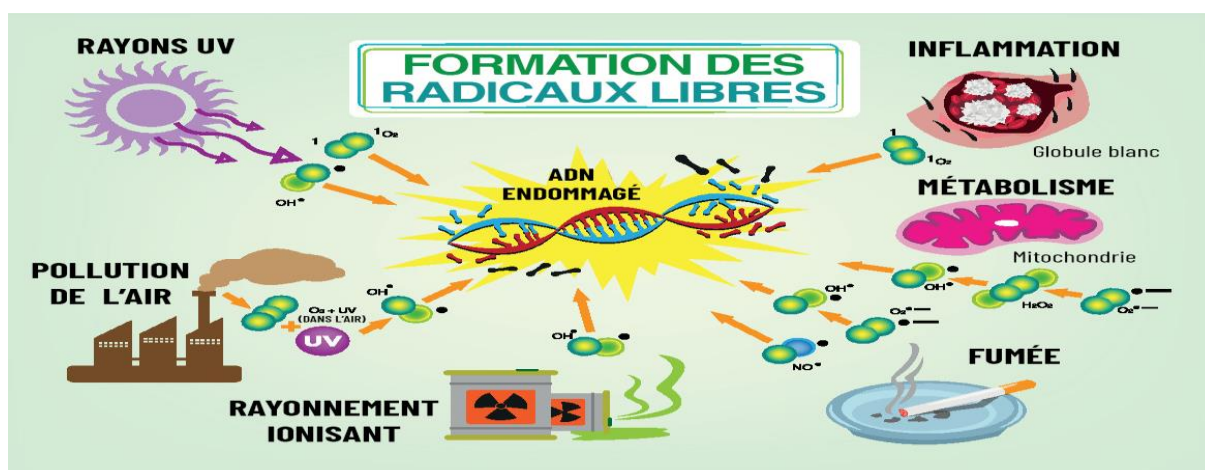


Figure II.1 : La formation des radicaux libres dans l'organisme [71].

Le tableau suivant présente les principales sources de radicaux libres, qu'elles soient endogènes (produites à l'intérieur de l'organisme) ou exogènes (provenant de l'environnement extérieur)[72].

Tableaux II.1: les principales sources de radicaux libres.

| Sources des radicaux libres | |
|---|---|
| Endogènes | Exogènes |
| <ul style="list-style-type: none"> - NADPH oxydase - Chaîne respiratoire mitochondriale - Peroxysomes - Cytochromes P450 - Xanthine oxydase - Cyclo-oxygénases - Lipo-oxygénases | <ul style="list-style-type: none"> - Toxiques environnementaux - Radiations ionisantes - Radiations UV - Champ électrique - Xénobiotiques pro-oxydants - Cytokines pro-inflammatoires |

II.1.3 Différents types des radicaux libres :

Dans la catégorie des espèces réactives oxygénées (ERO), on identifie deux groupes distincts. Le premier, appelé radicaux primaires, joue un rôle physiologique unique. Il comprend cinq composés : l'anion superoxyde (O_2^{*-}), le radical hydroxyle (OH), le monoxyde d'azote (NO), ainsi que les radicaux peroxyde (ROO^*) et alkoxyde (RO^*).

Le second groupe, nommé radicaux secondaires, se forme lorsque les radicaux primaires réagissent avec les composants biochimiques cellulaires. Ce groupe inclut l'oxygène singulet ($1 O_2$), le peroxyde d'hydrogène ($H_2 O_2$) et le nitroperoxyde ($ONOOH$) [73].

II.1.4 Le stress oxydant :

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont naturellement présentes dans les cellules à des niveaux raisonnables. Leur concentration est maintenue par un équilibre entre leur production et leur élimination par les systèmes antioxydants. Dans des conditions normales, on peut dire que la balance entre antioxydants et pro-oxydants (balance rédox) est en équilibre. Cependant, cet équilibre homéostatique peut être rompu, soit par une production excessive d'ERO, soit par une diminution des capacités antioxydantes de la cellule. On parle alors de stress oxydant [74].

Le stress oxydant, causé par un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et les capacités antioxydantes de la cellule, entraîne des conséquences biologiques variables selon son intensité et le type cellulaire affecté. Un stress léger stimule la prolifération et l'adhésion cellulaires. Un stress modéré déclenche l'apoptose. Un stress intense provoque la nécrose et la lyse cellulaire. Le stress oxydant est également impliqué dans de nombreux dysfonctionnements comme les mutations, la cancérogenèse, les

Malformations fœtales, les dépôts protéiques anormaux, la fibrose, la formation d'auto-anticorps, les dépôts de lipides oxydés et l'immunosuppression [75].

II.1.5 Les antioxydants.

II.1.5.1 Définition :

Un antioxydant se définit comme toute substance capable de retarder, prévenir ou inhiber la production d'agents oxydants toxiques, ainsi que d'arrêter ceux qui ont déjà été générés et de les neutraliser. Ce faisant, ils bloquent la réaction en chaîne de propagation provoquée par ces agents oxydants [76].

II.1.5.2 Principe d'actions des antioxydants :

Les antioxydants peuvent agir par différents mécanismes pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène. Cela inclut la capacité à capter l'oxygène singulet, à désactiver les radicaux libres par addition d'une liaison covalente, à réduire chimiquement les radicaux ou les peroxydes, ainsi qu'à chélater (fixer) les métaux de transition qui catalysent les réactions d'oxydation [77].

II.1.6 Les typés des antioxydants.

II.1.6.1 Antioxydants synthétiques :

Les antioxydants synthétiques les plus couramment employés dans l'industrie agroalimentaire sont le butylhydroxyanisole (BHA) (E 320) et le butylhydroxytoluène (BHT) (E 321). Leur avantage réside dans leur solubilité dans les milieux lipidiques. Cependant, à forte dose, ils présentent une toxicité et/ou des propriétés cancérigènes avérées. En conséquence, leur utilisation est en déclin progressif.

Le 2-tertiobutyl-4-hydroxyquinone (TBHQ) est un antioxydant efficace, particulièrement soluble dans les matières grasses et stable à hautes températures, ce qui le rend utile dans les huiles végétales. Cependant, en raison de sa génotoxicité, son utilisation est interdite en Europe.

Les gallates de propyle (E 310), d'octyle (E 311) et de dodécyle (E 312) sont des antioxydants obtenus par estérification de l'acide gallique. Leur solubilité dans les matières grasses est limitée et ils sont sensibles à la chaleur. Pour améliorer leur performance, ils sont généralement utilisés en association avec des agents complexant, comme l'acide citrique [78-80].

II.1.6.2 Antioxydant d'origine naturelle :

Notre organisme compte sur les antioxydants comme de véritables boucliers protecteurs, que nous pouvons principalement trouver dans notre alimentation. Parmi les principaux

antioxydants naturels figurent les bioflavonoïdes, les caroténoïdes, les vitamines C et E, ainsi que le sélénium. Ils jouent un rôle crucial dans la défense de notre corps.

Nos sources d'antioxydants naturels sont très diverses :

La vitamine C se trouve abondamment dans le poivron, la goyave, l'oseille, le citron, l'orange, le kiwi, les choux, la papaye et les fraises. Quant à la vitamine E, on la retrouve dans l'huile de tournesol, de soja, de maïs, le beurre, la margarine et les œufs. Pour la vitamine A, les principales sources sont le foie, le beurre et les œufs. Le sélénium est présent dans les poissons, les œufs et les viandes. Le zinc est apporté par les fruits de mer, les viandes, le pain complet et les légumes verts. Enfin, les polyphénols tels que les flavonoïdes et les tanins se trouvent en abondance dans les fruits, les légumes et le thé [81].

II.1.7 Méthodes d'évaluation de l'activité anti oxydantes :

Pour évaluer l'activité antioxydante (AA) des extraits, différentes méthodes ont été utilisées, chacune reposant sur un mécanisme antioxydant distinct. Les tests DPPH et ABTS impliquent un mécanisme mixte combinant transfert d'électrons et transfert d'hydrogène. En revanche, le test du β -carotène est principalement basé sur un transfert unique d'hydrogène, tandis que la réduction des ions métalliques fait généralement intervenir un simple transfert d'électrons [82].

- **Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) :**

L'évaluation de la capacité à piéger le radical DPPH• a été réalisée en suivant la méthode décrite par Benguedouar et al [83].

- **Mesure de l'effet inhibiteur sur le radical ABTS :**

Cette méthode permet d'évaluer la capacité d'une molécule à neutraliser le radical ABTS^{•+}, en la comparant à une molécule de référence [84].

- **Test d'inhibition du blanchiment du β -carotène :**

L'activité antioxydante (AA) a été évaluée par la méthode du β -carotène/acide linoléique, qui consiste à mesurer l'inhibition du blanchissement du β -carotène provoqué par les peroxydes formés lors de l'oxydation de l'acide linoléique. Cette méthode permet d'estimer la capacité des échantillons à piéger les radicaux peroxydes [85,86].

- **Test de réduction du cuivre (Copper Reducing Antioxidant Capacity) :**

La méthode CUPRAC (capacité antioxydante réductrice des ions cuivriques) repose sur la mesure de la réduction du complexe coloré formé par la néocuproïne (Nc) et les ions cuivre II (Cu^{2+}). En présence d'un composé antioxydant, ce complexe $[\text{Nc}_2\text{-Cu}^{2+}]$ est réduit. La quantité du complexe réduit est proportionnelle à la capacité antioxydante. Elle est déterminée par mesure de l'absorbance à 450 nm au moyen d'un lecteur de microplaques [87].

- **Test de réduction du fer (Ferric Reducing Antioxidant Power) :**

Les extraits végétaux contenant des composés réducteurs (agents antioxydants) sont capables de réduire le complexe ferrique (Fe^{3+}) ferricyanure en sa forme ferreuse (Fe^{2+}) [88].

II.1.8 Évaluation de l'activité antioxydante d'HE :

II.1.8.1 Test au DPPH :

- **Définition :**

La capacité de neutralisation des radicaux libres a été évaluée en utilisant le radical libre stable DPPH (C₁₈ H₁₂ N₅ O₆), l'un des tests les plus couramment utilisés pour étudier l'efficacité des extraits de plantes en tant qu'antioxydants. Cette méthode permet de déterminer la capacité des extraits à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs, offrant ainsi un aperçu précieux de leur potentiel en tant qu'agents de protection contre le stress oxydatif et le vieillissement cellulaire.

- **Le principe :**

Lorsqu'il est exposé à des agents piègeurs de radicaux libres, tel que le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl), illustré à la figure II. 1 Sa teinte violette originale se transforme en une nuance jaune, indiquant la réduction du DPPH en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine.

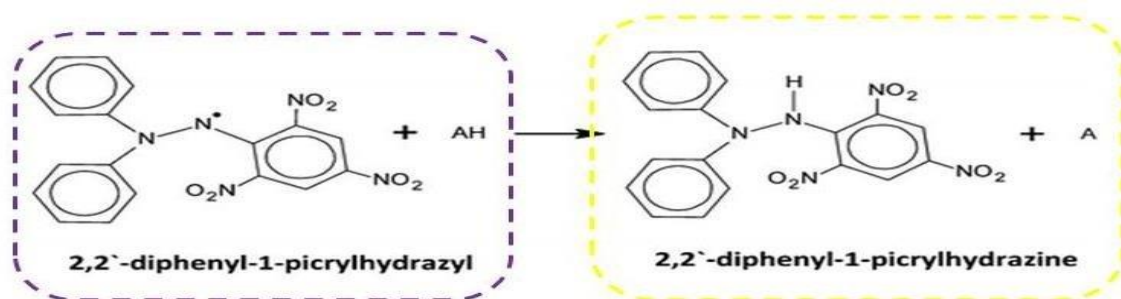


Figure II.2 : Mécanisme réactionnel intervenant entre le radical DPPH et un anti oxydant (AH) [89].

- **L'expression des résultats :**

En présence d'un antioxydant, la force d'absorption diminue, entraînant une décoloration correspondant stœchiométriquement au nombre d'électrons captés.

Les résultats peuvent être quantifiés en termes d'activité antiradicale, exprimée en pourcentage d'inhibition des radicaux libres (I %), en utilisant la formule suivante :

$$I(\%) = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Controlnegatif}} \right) \right] \times 100$$

% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs Echantillon : Absorbance de l'échantillon.

Abs Control négatif : Absorbance du contrôle négatif [90].

II.2 L'activité antimicrobienne.

II.2.1 Définition d'une bactérie :

Une bactérie est un organisme unicellulaire minuscule appartenant au règne des procaryotes. Bien que leur morphologie puisse varier, ces êtres vivants possèdent des caractéristiques distinctives. Leur taille oscille généralement entre 1 et 10 micromètres, et leur poids avoisine les 10–12 grammes. Composées à 70 % d'eau, les bactéries sont essentiellement constituées de protéines (55 % de leur poids sec), de lipides (10 %), de lipopolysaccharides (3 %), de peptidoglycane (3 %), de ribosomes (40 %), d'ARN (20 %) et d'ADN (3 %). Ces infimes créatures unicellulaires présentent donc une structure et une composition remarquablement complexes malgré leur petite taille [91].

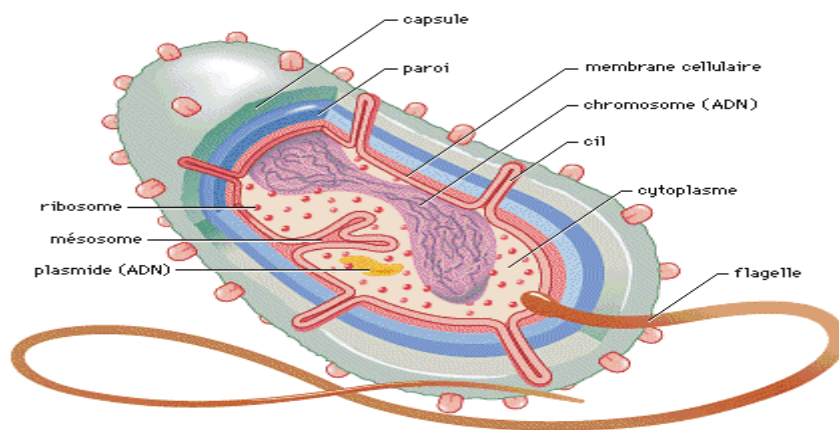


Figure II.3 : schéma d'une bactérie [92].

II.2.2 Définition de l'activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne correspond à l'action d'une molécule ou d'un composé présent en très faible concentration dans un végétal, capable d'inhiber la croissance d'une bactérie ou de la détruire. La sensibilité d'une bactérie à un agent antibactérien varie en fonction de la nature de cet agent. Pour un antibactérien spécifique, la réponse bactérienne peut considérablement différer selon la souche bactérienne concernée.

II.2.3 Définition de la CMI (concentration minimale inhibitrice) :

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un composé pour une bactérie spécifique est la plus faible dose de ce composé capable de stopper totalement la croissance de cette bactérie [93].

II.2.4 Les techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne :

A. Méthode de diffusion en milieu gélose :

Des géloses de Mueller-Hinton contenant différentes concentrations d'antibiotique sont préparées dans des boîtes de Pétri. Sur la surface de chaque gélose, une suspension bactérienne est étalée par stries. Ainsi, une seule boîte permet de tester la sensibilité d'une dizaine de souches bactériennes vis-à-vis d'une concentration particulière d'antibiotique.

La méthode de diffusion sur milieu gélosé permet d'évaluer qualitativement l'activité antibactérienne « in vitro » d'un extrait méthanolique. Elle donne ainsi une indication préliminaire sur son efficacité potentielle. Cependant, pour obtenir une appréciation quantitative, il est nécessaire de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait.

L'interprétation des résultats se fait en fonction du diamètre de la zone d'inhibition observée autour du disque d'antibiotique. Si ce diamètre est inférieur ou égal à 8 mm, le germe est considéré comme résistant. Entre 8 et 14 mm, sa sensibilité est limitée. Un diamètre compris entre 14 et 20 mm indique une sensibilité moyenne. Enfin, lorsque le diamètre est supérieur ou égal à 20 mm, le germe est jugé très sensible à l'antibiotique testé [94].

B. Méthode de dilution en milieu liquide :

Pour observer la croissance bactérienne, on recherche la présence d'un trouble ou d'un culot au fond des tubes. Afin de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique, on prépare une série de dilutions avec des concentrations décroissantes de cet antibiotique.

C. Méthode E-test :

La détermination de la CMI peut aussi se faire à l'aide d'une bandelette imprégnée de concentrations croissantes d'antibiotique. Cette bandelette est déposée sur une géloseensemencée avec la souche bactérienne à tester. L'antibiotique diffuse alors dans la gélose en créant un gradient de concentration. La zone d'inhibition prend alors une forme elliptique. Au point d'intersection entre le bord de cette zone et la bandelette, on peut lire directement la valeur de la CMI pour la souche testée. En effet, la concentration en antibiotique à ce niveau correspond à la concentration minimale capable d'inhiber la croissance de cette souche [95].

II.3 L'activité anti-inflammatoire.

II .3.1. Inflammation :

L'inflammation représente un mécanisme de défense naturel des organismes complexes contre diverses agressions extérieures. Celles-ci peuvent être d'origine physicochimique (irradiations, brûlures, traumatismes), infectieuse (bactérienne, virale ou parasitaire), ou

encore liées à des composés endogènes issus de la réponse immunitaire (complexes immuns, anticorps cytotoxiques, cytokines). Le processus inflammatoire vise à éliminer l'agent pathogène en cause et à réparer les dommages tissulaires occasionnés [96].

II .3.2. Définition de l'activité anti-inflammatoire :

Un anti-inflammatoire est un médicament destiné à atténuer les effets physiopathologiques de l'inflammation, indépendamment de sa cause [97]. On distingue principalement deux types : les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) et les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS). Les AINS agissent en inhibant des enzymes spécifiques impliquées dans l'inflammation, telles que les cyclo-oxygénases (COX), tandis que les AIS, dérivés du cortisol, interfèrent avec les mécanismes de transcription génétique pour diminuer l'inflammation. Ces deux catégories ciblent des mécanismes pharmacodynamiques distincts [98].

II.3.3 Méthodes de l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro :

II.3.3.1 Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro par inhibition de la dénaturation thermique des protéines (albumine sérique bovine BSA) :

Afin de déterminer l'activité anti-inflammatoire des extraits de plantes, nous avons employé le test d'inhibition de la dénaturation thermique des protéines. Ce test repose sur la capacité des extraits de plantes à inhiber la dénaturation de l'albumine de sérum bovin (BSA) induite par une exposition à une température de 72 °C.

II.3.3.2 Évaluation de l'activité antiinflammatoire in vitro par la méthode de stabilisation des membranes (activité antihémolytique) :

L'activité antiinflammatoire des extraits de plantes peut être étudiée in vitro en utilisant des membranes de globules rouges, qui sont similaires aux membranes lysosomales.

Cette analogie permet de considérer la stabilisation des membranes de globules rouges par les extraits comme un indicateur de l'activité antiinflammatoire in vitro. Ainsi, la capacité d'un échantillon à stabiliser ces membranes peut être interprétée comme une preuve de son potentiel anti-inflammatoire [99].

II .3. 4 Chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/SM) :

➤ Définition et principe :

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) est une technique d'analyse puissante combinant deux étapes clés. Premièrement, les composés d'un mélange complexe sont séparés par chromatographie gazeuse. Ensuite, ces analytes individualisés sont transférés dans le spectromètre de masse via le gaz vecteur.

Dans le spectromètre, ils subissent une fragmentation produisant des ions de masses variables, qui sont alors triés selon leur rapport m/z .

L'identification des composés s'effectue par comparaison de deux types de données : les indices de rétention chromatographique d'une part, et les spectres de masse d'autre part. Ces données expérimentales sont confrontées à celles de composés de référence contenus dans des bibliothèques spectrales, construites en interne ou commerciales.

Ainsi, le couplage CPG-SM permet une caractérisation fine des mélanges en associant les performances séparatives de la CPG et l'apport structural de la spectrométrie de masse pour l'identification [100].

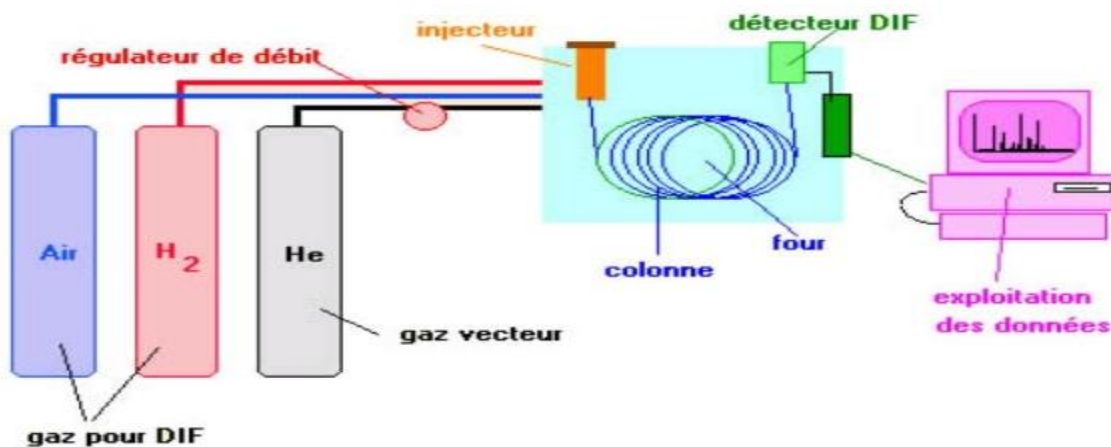


Figure II.4: schéma général d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme [101].

Le romarin se distingue comme une plante aux multiples vertus médicinales. Ses propriétés englobent des effets antioxydants, anti-inflammatoires et antibactériens, entre autres. Cette herbe polyvalente apporte des bienfaits notables pour la digestion, la circulation sanguine et les fonctions cognitives, notamment la mémoire. De plus, le romarin est apprécié pour ses qualités apaisantes.



Chapitre III : Matériels et Méthode.

Cette étude a été menée de mars à juillet au laboratoire pédagogique de la faculté de chimie, situé dans le pavillon 5 de l'université Saad Dahleb de Blida 1. Les matériaux et produits de base, notamment les solvants comme l'éthanol et l'eau, ont été fournis par ce laboratoire. D'autres produits spécifiques tels que la Bovine Serum Albumin (BSA), le DMSO et le diclofénac ont été obtenus auprès du Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyse Physico-Chimique (CRAPC) de Bou-Ismaïl. Des essais complémentaires ont été effectués dans un laboratoire à Médéa.

L'étude s'est concentrée sur les huiles essentielles extraites du romarin, en analysant des échantillons provenant de trois régions algériennes aux climats distincts : Tipaza (climat humide), Médéa (climat semi-aride) et Béchar (climat aride). Cette sélection de sites géographiquement éloignés avait pour objectif d'évaluer l'influence des conditions climatiques sur la composition et les propriétés des huiles essentielles de cette plante aromatique.

III. Préparation de la matière végétale :

III.1. Nettoyage et séchage :

Les parties aériennes du *romarin* ont été récoltées sur une période de fin février à avril. Ce processus est lié à l'étude de trois régions différentes de l'Algérie, à savoir humide, semi-humide et sèche (Tipaza, Médéa et Béchar). Les zones d'échantillonnage ont été sélectionnées de manière à représenter différentes conditions climatiques, allant d'un climat humide à un climat aride, en passant par un climat semi-aride. Cette approche vise à étudier l'influence du facteur climatique sur la plante et ses composants. Après la cueillette, nous avons séparé les feuilles, les fleurs et les tiges. Ensuite, nous nettoyons ce matériel végétal avec de l'eau.

Plusieurs éléments affectent le temps de séchage, tels que la température, l'épaisseur des feuilles, l'humidité initiale et l'humidité de l'environnement. Pour le séchage, deux méthodes ont été utilisées : La première façon : elle consiste à laisser sécher la matière à l'air libre et à température ambiante, ce qui favorise une bonne circulation de l'air. Cette méthode nécessite une période de 10 à 15 jours.

La deuxième méthode implique de placer le matériel végétal dans une étuve, à une température comprise entre 35 et 45 °C, température idéale pour le séchage du romarin. Ce processus dure plusieurs semaines.



(a) (b)
Figure III.1 : la plante a/ fraîche, b/ sèche

III.2 Broyage :

Les feuilles et les fleurs séchées sont broyées à l'aide d'un moulin électrique. Ensuite, les échantillons sont tamisés à l'aide d'un tamis (0.1) mm pour avoir une poudre fine.

Une fois le séchage et le broyage effectués, le matériel végétal est conservé dans des sacs opaques en papier. Cette opacité des sacs vise à bloquer le passage de la lumière afin de préserver au mieux les propriétés du matériel végétal.



(a) (b)
Figure III.2 : la plante a/- broyée et b/- conserve.

III.3 Les Méthodes d'extractions :

A. Par méthode Clevenger :

Matériel :

- Elévateur
- Chouffe ballon.
- Ballon rodée de 1L.
- Clevenger .
- Broyeur.
- Balance.
- Les piluliers.
- Les seringues.

produits chimiques :

- Eaux distillée.
- Pierre ponce.
- $MgSO_4$.

➤ *protocole de méthode Clevenger :*

Préparez le montage de l'appareil de Clevenger. Placez 100 g de romarin dans le ballon et ajoutez de l'eau distillée jusqu'aux deux tiers du niveau recommandé. Fixez le ballon à l'appareil et chauffez-le pour faire bouillir le mélange. La vapeur d'eau se formera alors, entraînant avec elle les composants volatils du *romarin*. Cette vapeur montera jusqu'à atteindre le réfrigérant.

Les vapeurs d'eau et l'huile essentielle de *romarin* se condenseront pour former un mélange hétérogène que nous récupérerons dans la partie de Clevenger. On observera alors deux phases non miscibles de densités différentes : l'hydrolat et la phase organique.

La phase organique, plus légère, se situera au-dessus, tandis que la phase aqueuse (hydrolat) sera en-dessous. Récupérez la phase organique, qui constitue l'huile essentielle du *romarin*. Ajoutez alors un desséchant comme du $MgSO_4$. À l'aide d'une seringue, séparez l'huile essentielle du desséchant.

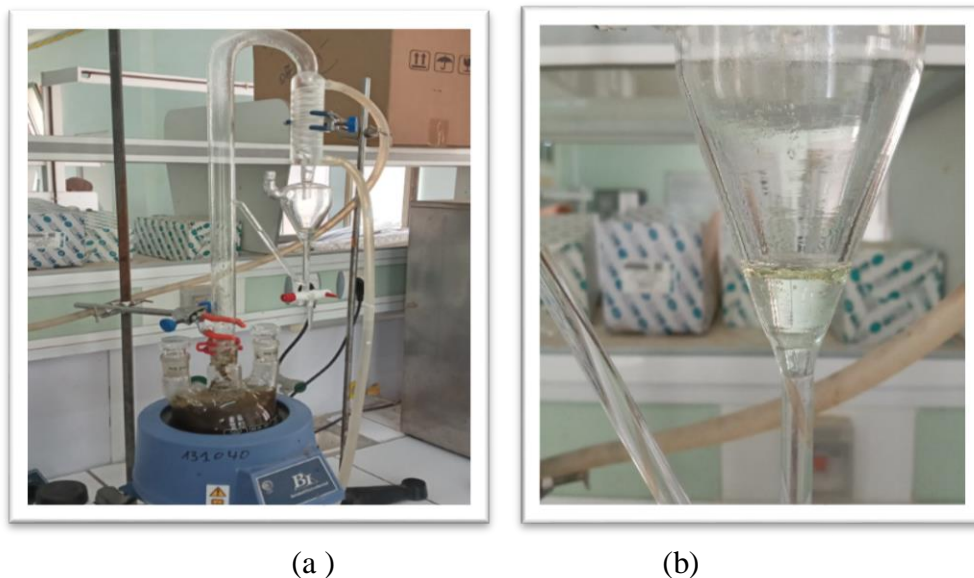


Figure III.3 : a/- Extraction par Montage de Clevenger, b/-huile essentielle.
B. par l'entraînement à la vapeur :



Figure III.4 : Huile essentielle l'entendement à la vapeur.

Matériel

produits chimiques

- Elévateur.
 - Chauffe ballon.
 - Ballon rode de 1L.
 - Ampoule à décarter 500ml.
 - Réfrigérant.
 - Ampoule a décanté 50ml.
 - Becher.
 - Les piluliers.
 - Les seringues.
- MgSO₄.
 - Eaux distillée.
 - Pierre ponce.

➤ **Protocole de l'entraînement à la vapeur :**

Après leur prélèvement (feuilles, fleurs, tiges), les échantillons subissent un processus de préparation. Premièrement, ils sont soigneusement rincés et séchés dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière directe. Cette étape initiale s'étale sur une période de deux semaines. Ensuite, les échantillons déshydratés sont broyés mécaniquement à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtenir une fine poudre.

Le matériel végétal est stocké dans des sacs en papier afin de le protéger de toute exposition à la lumière.

III.4 Rendement des extractions :

Le rendement des extraits est exprimé en pourcentage massique. Il représente la masse de l'extrait obtenu rapportée à la masse initiale de matière végétale sèche (100 g) provenant de la partie aérienne (tiges, feuilles, etc.) de la plante romarin *Salvia rosmarinus*. La formule pour calculer ce rendement d'extraction est la suivante :

$$R(\%) = \left(\frac{Me}{Mv}\right) * 100$$

R : Rendement (%).

Me : Masse de l'extrait obtenu (g).

Mv : Masse initiale de matière végétale sèche (g).

III.5 Screening photochimique :

Les tests phytochimiques permettent d'identifier qualitativement les différents composés présents dans une plante. Ces analyses sont basées sur des réactions provoquant des changements de couleur ou la formation de précipités lorsque la plante entre en contact avec certains réactifs spécifiques.

III.5.1 Matériel :

- 100 g matériel végétal.
- 150 ml éthanol, 150 ml éther de pétrole, 150 ml chloroforme, 5 ml FeCl₃ en solution méthanoïque Fragments de magnésium 5 ml HCl concentré, 10 ml gélatine à 1 %, 5 ml NaOH 10 %, 5 ml KOH 10 %, 15 ml acide sulfurique, 5 ml NH₄OH 25 %.
- Réactif de Dragendroff, Réactif de Mayer, Erlenmeyer Tubes à essai.

III.5.2 Préparation des extraits du screening :

Le screening phytochimique a été réalisé en effectuant une extraction solide-liquide sur les parties aériennes de la plante *romarin*. Provenant de trois régions différentes d'Algérie : Tipaza, Médéa et Béchar. Plusieurs solvants polaires et apolaires ont été utilisés pour cette extraction. Au final, quatre extraits ont été obtenus : l'extrait hydro-éthanolique (HE), l'extrait chloroformique (C), l'extrait étherique (E) et l'extrait sulfurique (S).

L'extrait végétal hydroalcoolique (HA) :

- Dans un erlenmeyer, introduire le végétal et laisser macérer à température ambiante pendant 24 h.
- 10 g de matériel végétal dans 100 ml de mélange éthanol-eau (70/30).
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

L'extrait étherique (E) :

- Introduire 10 g de matériel végétal dans un erlenmeyer et ajouter 100 ml d'éther de pétrole. Laisser reposer pendant 10 minutes.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

L'extrait chloroformique (C) :

- Introduire 10 g de matériel végétal dans un Erlenmeyer et ajouter 100 ml de chloroforme. Laisser reposer pendant 10 minutes.
- Filtrer le mélange à l'aide d'un papier Whatman et récupérer le filtrat.

L'extrait végétal de l'acide sulfurique :

- On met dans un Erlenmeyer.
- 0,2 g de matériel végétal (broyé).
- 10 ml de l'acide sulfurique.

Agitation pendant 2 minutes.

Préparation de Réactif de Mayer :

- ✓ Chlorure de mercure.....1,36 g.
- ✓ Iodure de potassium.....5 g.
- ✓ Eau distillée..... 100 ml.

III.5.3 Différentes classes recherchées :

➤ **Flavonoïdes et leuco-anthocyanes :**

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait hydroalcoolique (A) dont :

- Le 1 tube (Témoin).
- Le 2 tube, on met 0,5 ml de HCl concentré. On ajoute tout doucement quelques fragments de magnésium, on laisse agir sous la hotte.

L'apparition d'une couleur qui vire vers *le rouge pourpre (Flavonols)* ou le *rouge violacé (Flavonones et Flavonols)* confirme l'existence *des flavonoïdes* [102].

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait hydroalcoolique (A) dont :

- Le 1 tube témoin.
- Le 2 tube, additionner 0,5 ml de HCl concentré.
- Porter au bain-marie pendant 30 minutes.

L'apparition d'une coloration *rouge dénote* la présence de *leuco anthocyanes* qui sont des dérivés des *flavan-3,4-diols* [102].

➤ **Tannins :**

On met dans 4 tubes 2 ml de l'extrait hydroalcoolique (A) dont :

- Le 1 tube (Témoin).
- Le 2 tube, additionner 4 à 5 gouttes de gélatine à 1 %.
- Le 3 tube (témoin).
- Dans le 4, additionner 4 à 5 gouttes de FeCl₃ (en solution méthanolique).

La couleur vire au *bleu noir* en présence de *tanins galliques* et au *brun verdâtre* en présence de *tanins catéchiques avec précipitation* dans les tests de gélatine [103].

➤ **Anthraquinones :**

On met dans deux tubes 2 ml de l'extrait chloroformique (C) dont :

- Le 1 tube (Témoin).
- Le 2 tube On ajoute KOH 10 %.

Après agitation, la présence des *Anthraquinones* est confirmée par un virage de la phase aqueuse en *rouge* [104].

➤ **Quinones :**

On met dans 2 tubes 2 ml de l'extrait (E) dont :

- Le 1 tube (Témoin).
- Dans le 2 tube, on ajoute NaOH 10 %.

Après agitation, l'apparition d'une coloration qui vire *au jaune, rouge* ou *violet* de la phase aqueuse confirme la présence *des quinones* [105].

➤ **Alcaloïdes :**

On met dans les 4 tubes 2 ml de l'extrait de l'acide sulfurique dont :

- Le 1 tube (Témoin).
- Le 2 tube, on ajoute 5 gouttes de réactif de Mayer.

La présence des alcaloïdes est constatée par des réactions de *précipitation* avec les révélateurs généraux : *Blanc jaunâtre* dans le deuxième tube [106].

➤ **Saponines :**

Pour chercher la présence de saponines, une préparation a été réalisée en décoction.

- 5 g de plante finement broyée ont été mélangés à 50 ml d'eau distillée. Le mélange a bouilli pendant 30 minutes.
- Après refroidissement, la solution a été filtrée. 5 ml du filtrat ont été prélevés et transvasés dans un tube à essai. Ce dernier a subi une agitation verticale vigoureuse pendant 15 secondes, puis a été laissé au repos pendant 15 minutes.
- La formation d'une mousse stable de 1 à 2 cm d'épaisseur à la surface du liquide est un indice de la présence de saponines dans l'échantillon végétal [107].

➤ **Les Stérols et terpènes :**

La mise en évidence des stérols et terpènes est réalisée en suivant les étapes suivantes :

- Un mélange EtOH/H₂O est ajouté à une petite quantité de poudre végétale.
- Après agitation, filtration et évaporation non à sec, 50 ml d'éther de pétrole sont ajoutés à la solution.
- Une fois les deux phases séparées, l'évaporation à sec de la phase étherée est réalisée, l'extrait résultant est ajouté aux 15 ml de chloroforme.

4 ml de la solution chloroformique sont répartis en deux tubes à essai, 3 ml d'anhydride acétique est ajouté dans l'un des tubes et 3 gouttes d'acide acétique dans l'autre. Avec l'ajout de 3 gouttes d'acide sulfurique dans les deux tubes. L'observation d'une *couleur rouge* indique la présence des *terpènes* alors que l'apparition d'une *couleur bleu-vert* indique la présence des *stéroïdes* [108].

III.6 Les Activités biologiques :

III.6.1 Étude de l'Activité anti oxydante des Huiles Essentielles de Romarin :

Tout d'abord, nous testons l'huile essentielle pour savoir si elle a une activité antioxydante ou non : le test : 20 µl d'HE + 180 µl de l'éthanol + 1000 µl de DPPH. Ensuite, nous suivons les étapes suivantes :

➤ **La première étape, nous préparons une solution de DPPH :**

Une fiole jaugée de 100 ml a été utilisée, recouverte d'une feuille d'aluminium afin de la protéger de la lumière. 2,4 mg de DPPH ont été pesés puis dissous dans 100 ml d'éthanol. Cette dissolution s'est effectuée sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante. Une fois la solution préparée, son absorbance initiale à 517 nm a été mesurée.

➤ **La deuxième étape, nous préparons une solution :**

Dans un bécher, 25 µL de l'huile essentielle à tester ont été mélangés avec 975 µL d'éthanol.

➤ **La troisième étape de préparation des solutions filles :**

À partir de la solution mère, différentes solutions diluées ont été préparées à diverses concentrations.

Des volumes de la solution mère ont été prélevés. Chacun de ces volumes a ensuite été complété avec de l'éthanol jusqu'à atteindre 1000 µL. Puis, 1000 µL de la solution de DPPH ont été ajoutés à chacune de ces dilutions. Les différentes solutions ont été recouvertes de papier aluminium. Après un temps de repos de 30 minutes, l'absorbance de chaque solution a été mesurée à 517 nm.

Au terme de l'interaction, nous traçons une courbe représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en antioxydant (mol/L). Cette courbe permet de déterminer la valeur de l'IC50, qui correspond à la concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale en DPPH. Le pourcentage d'activité antioxydante (I %) est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = \left[\frac{(\text{Abs blanc} - \text{Abs ech})}{\text{Abs blanc}} \right] \times 100$$

I(%) : pourcentage d'inhibition d'huile essentielle.

Abs blanc : l'absorbance du DPPH avant l'addition de l'échantillon.

Abs éch : l'absorbance de l'échantillon après 30min d'incubation.

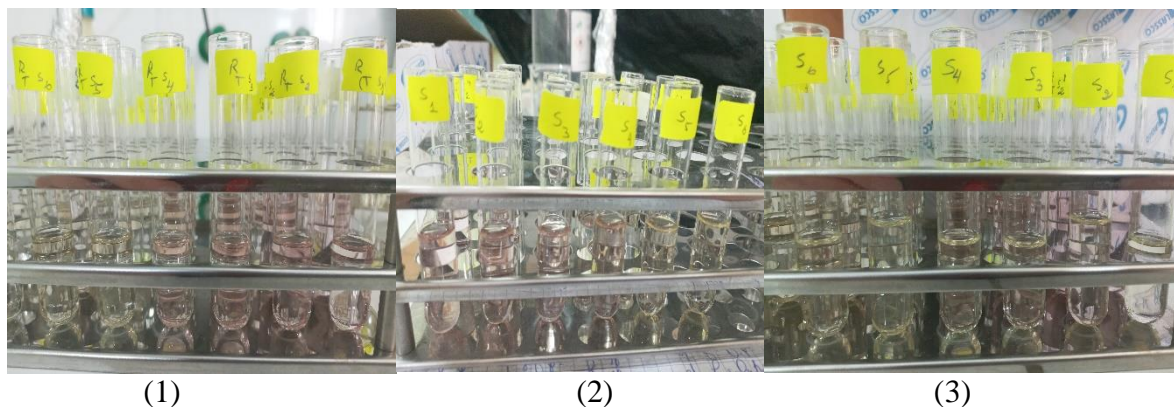


Figure III.5 : l'activité anti oxydante de trois régions différentes.

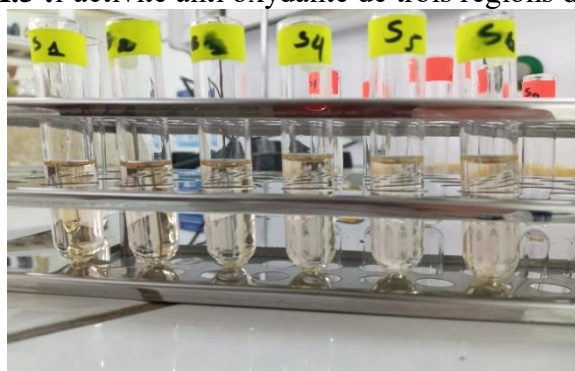


Figure III.6 : les solutions d'acide ascorbique.

III.6.2 Étude de l'Activité Antibactérienne des Huiles Essentielles de Romarin :

Méthode de l'aromatogramme :

Le principe :

L'évaluation de l'activité antibactérienne est réalisée par la méthode de l'aromatogramme, qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes à une huile essentielle donnée. Cette méthode consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé approprié, préalablement solidifié et inoculé avec la souche bactérienne à tester.

Des disques en papier buvard de 6 mm de diamètre, imprégnés d'une quantité connue d'huile essentielle sont alors déposés à la surface de la gélose. Généralement, les microorganismes sont classés comme sensibles, intermédiaires ou résistants en fonction du diamètre de la zone d'inhibition observée autour des disques. Une zone d'inhibition plus large indique une plus grande sensibilité à l'huile essentielle testée.

Si ce diamètre est inférieur ou égal à 8 mm le germe est considéré comme résistant.

Entre 8 et 14 mm, sa sensibilité est limitée.

Entre 14 et 20 mm indique une sensibilité moyenne.

Supérieur ou égal à 20 mm, le germe est jugé très sensible.

Pour cette étude, nous avons sélectionné diverses souches bactériennes sensibles à des fins d'identification et de test à l'aide de l'aromatogramme, une méthode de diffusion sur milieu

gélose utilisant des disques stériles en cellulose. Cette méthode permet de déterminer l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne par les huiles essentielles.

Les souches bactériennes ont été testées avec des huiles essentielles de romarin provenant de trois régions différentes d'Algérie : humide, semi-humide et sèche (Tipasa, Médéa, et Béchar). Les souches microbiennes suivantes ont été utilisées pour ces tests :

- Staphylococcus Epidermidis ATCC 12228.
- Escherichia Coli ATCC 8739.
- Staphylococcus Aureus ATCC 6538.
- BacillusSubtilis ATCC 6633.

Protocole :

➤ **Préparation des Souches Bactériennes :**

Culture des bactéries jusqu'à obtention d'une densité de 0,5 McFarland.

➤ **Préparation des Plaques de Gélose :**

Ensemencement de 100 µL de suspension bactérienne sur des plaques de gélose Muller-Hinton.

➤ **Application des Huiles Essentielles :**

Disques de papier stériles imprégnés de 10 µL d'huile essentielle de chaque région défèrent sont placés sur les plaques ensemencées.

➤ **Incubation et Observation :**

Incubation des plaques à 37°C pendant 24 heures, Observation et mesure des zones d'inhibition autour des disques pour déterminer l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles.

III.6.3 Étude de l'Activité anti-inflammatoire des Huiles Essentielles de Romarin :

Pour l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de romarin extraites de différentes régions d'Algérie (Tipasa, Médéa et Bachar), on utilise la méthode de la dénaturation des protéines de sérum bovin (Bovine Serum Albumin, BSA).

➤ **Préparation des solutions :**

Préparation de tampon phosphate à pH 6,6.

Préparation de la solution de BSA à 0,2 %.

Préparation de la solution mère.

➤ **Préparation des solutions filles :**

Tout d'abord, nous testons la BSA à 0,2 % préparée dans le tampon à pH 6.6. Le mélange est ensuite incubé à 37 C pendant 15 min puis à 72 C pendant 5 min à la fin de

L'incubation, et après l'avoir vortex, le mélange est refroidi rapidement, est mesurée à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La même méthode que teste l'huile essentielle de *romarin* de la région d'Alger pour vérifier la présence de l'activité anti-inflammatoire ou pas.

➤ **Le Protocole :**

Tout d'abord, nous testons que le BSA, et testons à ce que l'huile essentielle de *romarin* de la région d'Alger contienne une activité anti-inflammatoire ou pas.

Ensuite, nous suivons les étapes suivantes :

La première étape, nous préparons une solution de et préparons la solution mère.

À partir de la solution mère, différentes solutions diluées ont été préparées à diverses concentrations. Des volumes de la solution mère ont été prélevés. Chacun de ces volumes a ensuite été complété avec de l'éthanol jusqu'à atteindre 1000 µL. Puis, 1000 µL de la solution de BSA ont été ajoutés à chacune de ces dilutions. Nous fermons les tubes à essai avec un papier aluminium et nous les avons mis dans un tube à température 37 C pendant 15 min, et après on augmente la température jusqu'à 72 C pendant 5 min, Après refroidissement, la turbidité est mesurée à 660 nm.

➤ **Expression des résultats :**

Calcul du pourcentage d'inhibition de l'activité anti-inflammatoire :

$$I(\%) = \left[\frac{(AC - Ae)}{AC} \right] \times 100$$

AC : Absorbance de control.

Ae : Absorbance d'échantillon.

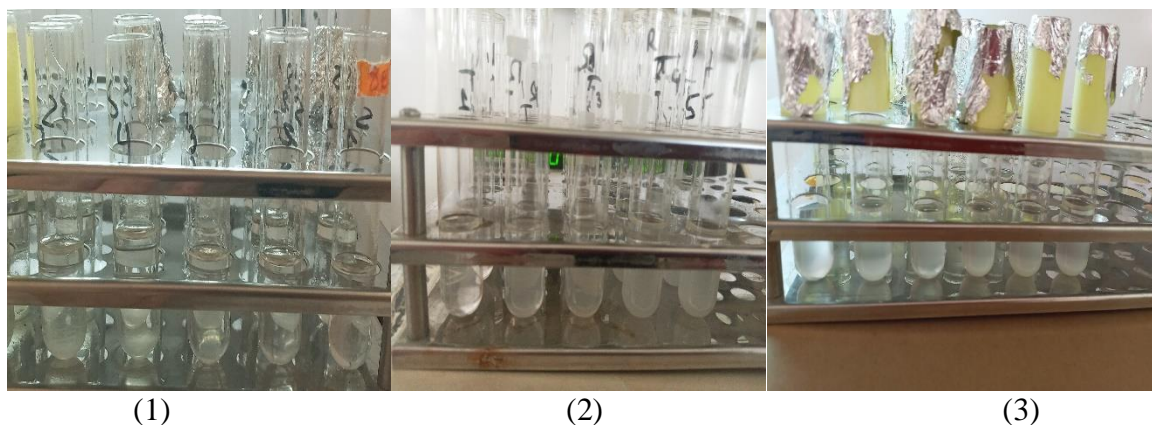


Figure III.7 : Les solutions qui présentent l'activité antiinflammatoire de trois régions différentes.



Figure III.8 : les solutions Diclofenac (référence).

L'huile essentielle de romarin extraite et analysée dans trois régions d'Algérie : Tipaza (climat humide), Médéa (climat semi-aride) et Bechar (climat aride), Différentes techniques d'extraction de la matière végétale sont utilisées (Clevenger, entraînement à la vapeur).

Un examen phytochimique est effectué afin de détecter de manière qualitative les composés présents dans la plante. La chromatographie en phase gazeuse combinée à la spectrométrie de masse (GC/MS) est utilisée pour analyser la chimie des huiles essentielles, Et l'analyse de diverses fonctions biologiques : Activités antioxydantes, antibactériennes et antiinflammatoires



Chapitre IV : Résultats et discussion.

IV.1 Rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle de *romarin* provenant de trois régions algériennes distinctes, chacune présentant des conditions climatiques spécifiques. Les régions concernées sont Tipaza (climat humide), Médéa (climat semi-aride) et Béchar (climat aride). Pour déterminer les rendements d'extraction associés à chaque provenance, la relation suivante peut être appliquée :

$$\text{Rendement (\%)} = \left(\frac{\text{Masse de l'extrait obtenu}}{\text{Masse initiale de matière végétale sèche}} \right) \times 100.$$

– Une comparaison du rendement d'extraction de l'huile essentielle de *romarin* provenant de la région de Tipaza a été effectuée en utilisant deux méthodes différentes : l'hydro distillation par l'appareil de Clevenger et l'entraînement à la vapeur d'eau. Les résultats obtenus montrent une grande différence entre les deux rendements.

– Le rendement le plus élevé a été observé avec l'appareil de Clevenger, atteignant 0,21 %, tandis que le rendement par entraînement à la vapeur d'eau était nettement plus faible, 0,05 %. Ainsi, le rendement obtenu avec l'appareil de Clevenger est très satisfaisant en comparaison avec le rendement médiocre de l'entraînement à la vapeur d'eau pour l'extraction de l'huile essentielle de *romarin* de la région de Tipaza.

– Une étude comparative des rendements en extrait de *romarin* a été menée dans trois régions d'Algérie aux conditions climatiques distinctes : la région humide de Tipaza, la région semi-aride de Médéa et la région aride de Béchar.

L'objectif était d'évaluer et de comparer les rendements obtenus dans chacune de ces zones géographiques algériennes, caractérisées par des niveaux d'humidité et d'aridité différents. Cette analyse visait à déterminer l'influence des conditions environnementales, en particulier du taux d'humidité et de la sécheresse, sur les rendements en extrait issus de la plante de *romarin*.

– Des écarts notables ont été observés. Dans la wilaya de Tipaza, le rendement atteignait 2,31 %. La région montagneuse de Médéa a permis d'obtenir un meilleur rendement de 6,38 %. Enfin, c'est dans la région d'Algérie, wilaya de Bechar, que le rendement maximal de 7,26 % a été enregistré.

– Cette disparité des résultats d'une région à l'autre s'explique par la conjonction de plusieurs facteurs ayant un impact sur l'extraction des composés du *romarin*.

Tableau IV.1 : Les rendements d'extraction en pourcentages des trois régions distinctes d'Algérie sont illustrés dans le tableau.

| Les régions | Les rendements |
|-------------|----------------|
| Tipaza (RT) | 2.31% |
| Médéa (RM) | 6.38% |
| Bechar (RB) | 7.26% |

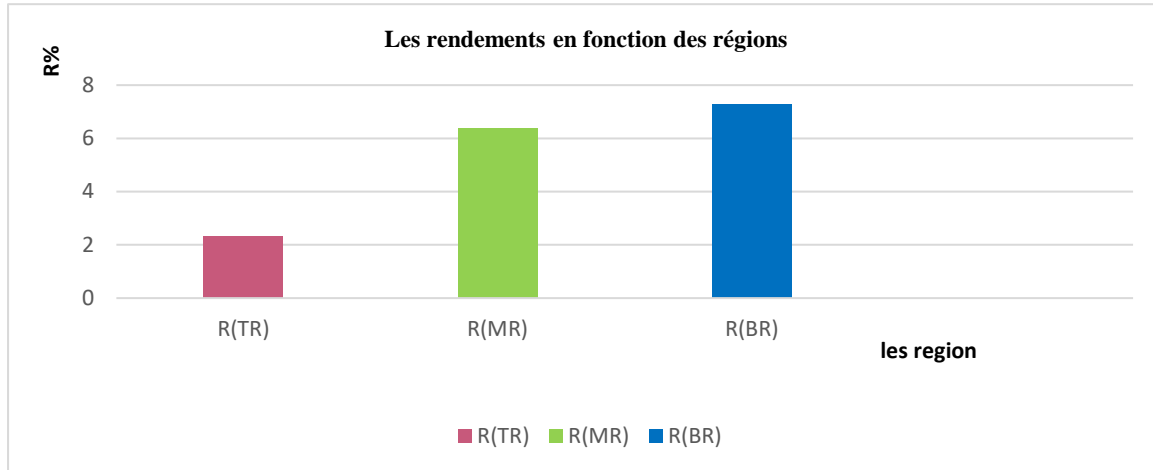
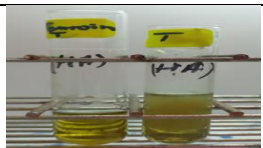
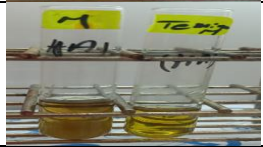



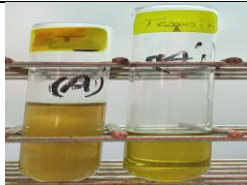
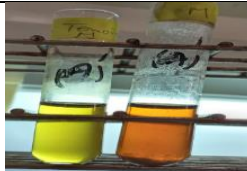
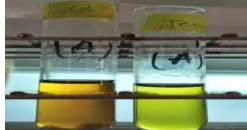






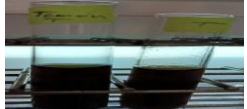
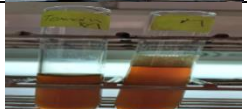

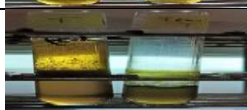
Figure IV .1 : Histogramme des rendements d'extractions des différentes régions d'Algérie.

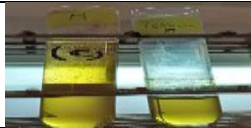



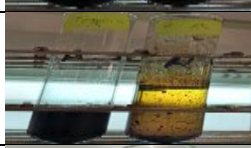

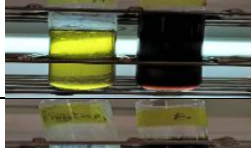

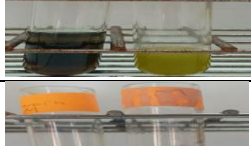



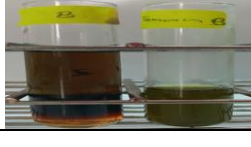
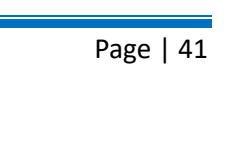
IV.2 Screening phytochimique :

Les tests phytochimiques réalisés sur des échantillons de *romarin* provenant de trois régions algériennes distinctes, à savoir Tipaza, Médéa et Béchar , ont permis d'identifier les composés chimiques présents dans cette plante. Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus, mettant ainsi en évidence la composition phytochimique du romarin cultivé dans ces zones géographiques.

Tableau IV.2 : les résultats du criblage phytochimique de la plante *romarin* provenant de trois régions différentes d'Algérie.

| Les compose | Régions | Colorations | Présence /Absence | Observation | Observation |
|-------------------|---------|-------------|-------------------|------------------|---|
| leuco-anthocyanes | Tipaza | Rouge | + | Faible présence |  |
| | Médéa | Rouge | ++ | Présence moyenne |  |
| | Béchar | Rouge | + | Faible présence |  |

| | | | | | |
|--|--------|----------------------------------|----------|--|---|
| Flavonoïdes | Tipaza | Rouge pourpre Rouge violacé | + - | Présence moyenne de flavonols Absence des flavonoïdes |  |
| | Médéa | Rouge pourpre Rouge violacées | ++ - | Présence moyanne Absence des flavonoïdes |  |
| | Béchar | Rouge pourpre Rouge violacées | +++ - | Fort présence Absence des flavonoïdes |  |
| <i>Tannins catéchiques</i> | Tipaza | Brun verdâtre | ++ | Présence moyenne |  |
| | Médéa | Brun verdâtre | +++ | Fort présence |  |
| | Béchar | Brun verdâtre | +++ | Fort présence |  |
| <i>tanins galliques</i> | Tipaza | Bleu | +++ | Fort présence |  |
| | Médéa | Bleu noir | +++ | Fort présence |  |
| | Béchar | Bleu noir | +++ | Fort présence |  |
| <i>Screening phytochimique des Saponines</i> | Tipaza | | + | Présence fable |  |
| | Médéa | | ++ | Présence moyenne |  |
| | Béchar | | +++ | Fort présence |  |
| <i>Anthraquinones</i> | Tipaza | Rouge | +++ | Fort présence |  |

| | | | | | |
|---|--------|--|-----|-------------------|---|
| | Médéa | Rouge | ++ | Présence moyenne |  |
| | Béchar | Rouge | +++ | Fort présence |  |
| Screening phytochimique des Alcaloïdes | Tipaza | Blanc jaunâtre | +++ | Fort présence |  |
| | Médéa | Blanc jaunâtre | +++ | Fort présence |  |
| | Béchar | Blanc jaunâtre | +++ | Fort présence |  |
| Quinones | Tipaza | La couleur vire au jaune, rouge ou violet. | +++ | Fort présence. |  |
| | Médéa | La couleur vire au jaune, rouge ou violet. | +++ | Fort présence. |  |
| | Béchar | La couleur vire au jaune, rouge ou violet. | +++ | Fort présence. |  |
| Stéroïls et terpènes | Tipaza | La couleur bleu-vert | +++ | Fort présence. |  |
| | Médéa | Couleur bleu-vert | +++ | Fort présence. |  |
| | Béchar | Couleur bleu-vert | +++ | Fort présence. |  |
| les terpènes | Tipaza | La couleur rouge | ++ | Présence moyenne. |  |
| | Médéa | La couleur rouge. | +++ | Fort présence. |  |
| | Béchar | La couleur rouge | +++ | Fort présence. |  |

IV.3 L'analyse CG SM de plante *Romarin* de différentes régions :

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles de *romarin*, provenant de trois régions distinctes (Tipaza, Médéa et Bechar), a permis d'identifier les composés majoritaires de ces huiles. Cette étude comparative a mis en évidence les principaux constituants chimiques caractérisant les huiles essentielles de romarin issues de ces différentes zones géographiques.

➤ L'analyse de CG SM de région humide (Tipaza) :

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *romarin*, extraite de la région humide de Tipaza, a révélé la présence de 72 composés, représentant au total 99,462% de l'huile. Les composés majoritaires identifiés sont :

1. Camphre .
2. 1,8-cinéole .
3. Verbenone .
4. α -pinène .
5. Bornéol (iso-bornéol).

Cette étude a mis en évidence des variations quantitatives significatives entre ces principaux constituants, offrant ainsi un profil détaillé de la composition de l'huile essentielle de *romarin* de cette région.

➤ L'analyse de CG SM de région semi humide (Médéa) :

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *romarin*, provenant de la région semi-humide de Médéa, a identifié 83 composés, représentant un total de 98,996 % de l'huile. Les composés majoritaires détectés sont :

1. Camphre.
2. 1,8-Cinéole.
3. 1,4-Cyclohexanediméthanol.
4. Bornéol.
5. α -pinène.

Cette étude a révélé des différences quantitatives significatives entre ces constituants principaux, fournissant ainsi un profil chimique détaillé de l'huile essentielle de *romarin* spécifique à cette région semi-humide.

➤ L'analyse de CG SM de région sèche (Béchar) :

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle de *romarin*, extraite de la région sèche de Béchar, a révélé la présence de 81 composés, représentant un total de 99,998 % de l'huile. Les composés majoritaires identifiés sont :

1. Camphre .
2. 1,8-Cinéole .
3. Nopol.
4. α -pinène .
5. Bornéol .

Cette étude a mis en évidence des variations quantitatives significatives entre ces principaux constituants, offrant ainsi un profil détaillé de la composition de l'huile essentielle de *romarin* spécifique à cette région sèche.

L'analyse chimique de l'huile de *romarin* provenant de différentes zones (humide, semi-humide et sèche) révèle des variations dans le pourcentage de trois composés principaux :

1. α -pinène : le pourcentage est le plus élevé dans la région de Béchar (11,24 %), suivie de Tipaza (10,33 %), et le plus faible à Médéa (7,55 %).
2. 1,8-cinéole : ce composé est le plus élevé à Tipaza (15,51 %), suivi de Béchar (12,90 %), et enfin de la zone de Médéa (12,52 %).
3. Camphre : son pourcentage est également le plus élevé à Tipaza (15,80 %), suivi de près par Béchar (15,36 %), et le plus faible dans la zone de Médéa (14,69 %).
4. Bornéol : son pourcentage est le plus élevé dans la zone de Médéa (11,16 %), suivi de Tipaza (10,10 %), et le plus faible à Béchar (8,95 %).

Variation régionale de la composition de l'huile de *romarin* : Deux composés supplémentaires montrent des différences, le cinquième composé varie selon la région.

IV.4 Comparaison des huiles essentielles de trois régions différentes d'Algérie avec l'huile essentielle de la région du Maroc :

Nous comparons la composition des huiles essentielles de *romarin* de notre étude avec celle de la région du Maroc. Les résultats montrent que :

α -Pinène : le pourcentage dans l'HE marocaine est de 13,83 %, ce qui est plus élevé que dans les trois HE de notre étude.

1,8-cinéole : Son pourcentage dans l'HE du Maroc atteint 42,73 %, nettement supérieur à celui des HE de notre étude.

Camphre : l'HE du Maroc contient 11,94 %, ce qui est inférieur aux pourcentages trouvés dans nos HE.

Ces différences soulignent que la composition des huiles essentielles de *romarin* varie significativement selon la région géographique. D'autres facteurs environnementaux peuvent également influencer cette composition.

Tableau IV.3 : La comparaison de la composition de l'huile essentielle de *romarin* de trois régions algériennes distinctes avec la composition du Maroc.

| Les régions | RT(%) | RM(%) | RB(%) | Aknoul (%) |
|-----------------------------------|-------|-------|-------|------------|
| α-pinène | 10.33 | 7.55 | 11.24 | 13.83 |
| 1,8-cinéole | 15.51 | 12.52 | 12.90 | 42.73 |
| Camphre | 15.80 | 14.69 | 15.36 | 11.94 |
| Broneol | 10.10 | 11.16 | 8.95 | / |

IV.5 Résultats de l'activité anti oxydante :

Dans cette étude, nous avons évalué l'activité antioxydante de la plante du *romarin* cultivée dans trois zones géographiques distinctes en Algérie, à savoir une région humide (Tipaza), une région semi-humide (Médéa) et une région sèche (Béchar).

Pour chaque région, nous avons mesuré le pourcentage d'inhibition (I %) lors de trois essais distincts. Ensuite, nous avons calculé la moyenne des pourcentages d'inhibition obtenus pour chaque région. Enfin, nous avons comparé ces résultats à ceux de l'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence.

Préparation de la solution DPPH .

Préparation de la solution mère .

Préparation de la solution fille.

1)- HE de romarin de région de Tipasa :

Tableau IV.4 : L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Tipaza.

| Les solutions | Les volumes (ul) | Les abcerbonces | | | Moyenne |
|-----------------|------------------|-----------------|-----------|-----------|---------|
| | | Essaie (1) | Essaie(2) | Essaie(3) | |
| Le blanc | 2000 | 0.595 | 0.591 | 0.576 | 0.587 |
| S1 | 10 | 0.349 | 0.379 | 0.339 | 0.355 |
| S2 | 30 | 0.270 | 0.344 | 0.266 | 0.293 |
| S3 | 40 | 0.267 | 0.325 | 0.254 | 0.282 |
| S4 | 70 | 0.263 | 0.314 | 0.244 | 0.273 |
| S5 | 150 | 0.215 | 0.320 | 0.278 | 0.271 |
| S6 | 200 | 0.222 | 0.350 | 0.226 | 0.266 |

Tableau IV.5 : les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *romarin* (RT).

| Les solutions | L'absorbance moyenne | Les concentrations (mol/ml) | Pourcentage Inhibition I%. |
|---------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Blanc | 0.587 | | |
| S1 | 0.355 | 9.47×10^{-3} | 39.52 |
| S2 | 0.293 | 3.15×10^{-3} | 50.08 |
| S3 | 0.282 | 2.36×10^{-3} | 51.95 |
| S4 | 0.273 | 1.35×10^{-3} | 53.49 |
| S5 | 0.271 | 6.31×10^{-4} | 53.83 |
| S6 | 0.266 | 4.73×10^{-4} | 54.68 |

Remarquez à travers la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile essentielle de *romarin* de la région de Tipaza (RT).

On constate une augmentation progressive du pourcentage d'inhibition lorsque la concentration passe de 1 à 4 mol/ml, atteignant un taux de 52 %. Au-delà de 4 mol/ml jusqu'à 6 mol/ml, la croissance se poursuit, mais de manière plus lente, le pourcentage d'inhibition culminant à 55 %. Cette tendance linéaire suggère qu'une concentration plus élevée en huile essentielle de *romarin* entraîne un pourcentage d'inhibition supérieur.

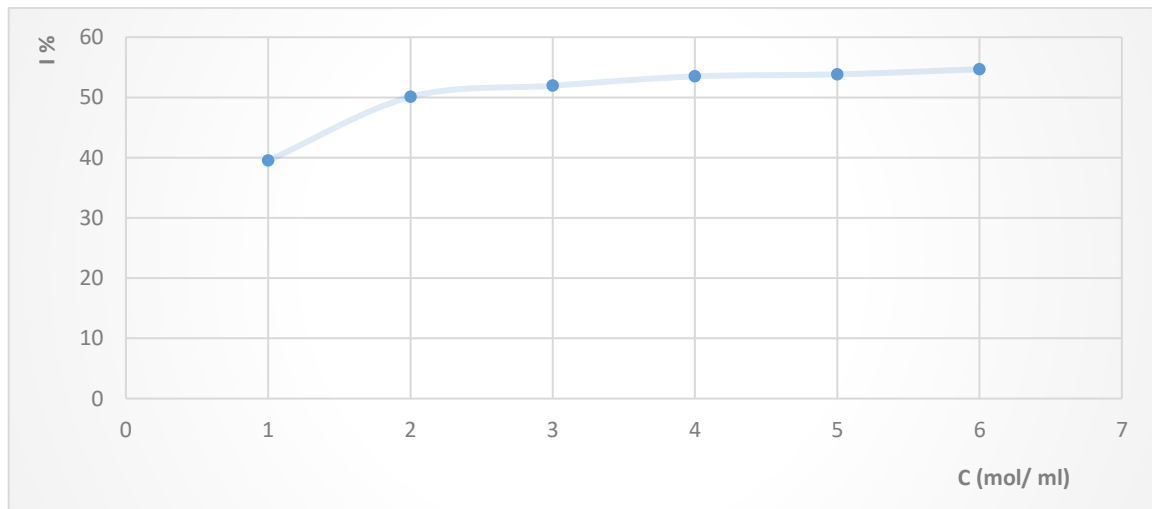


Figure IV.2 : Moyenne de pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du *romarin* de la région de Tipasa en fonction de la concentration.

2)- HE de romarin de région de Médéa :

Tableau IV.6 : L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Médéa.

| Les solutions | Les volumes (ul) | Les abcerbonce | | | Moyenne |
|---------------|------------------|----------------|-----------|-----------|---------|
| | | Essaie (1) | Essaie(2) | Essaie(3) | |
| Le blanc | 2000 | 0.506 | 0.504 | 0.502 | 0.504 |
| S1 | 10 | 0.250 | 0.253 | 0.295 | 0.266 |
| S2 | 30 | 0.230 | 0.250 | 0.290 | 0.256 |
| S3 | 40 | 0.225 | 0.226 | 0.273 | 0.241 |
| S4 | 70 | 0.210 | 0.262 | 0.252 | 0.241 |
| S5 | 150 | 0.238 | 0.184 | 0.274 | 0.232 |
| S6 | 200 | 0.245 | 0.191 | 0.229 | 0.221 |

Tableau IV.7 : Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de *romarin* (RM).

| Les solutions | L'absorbance moyenne | Les concentrations (mol/ml) | Pourcentage Inhibition I%. |
|---------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Blanc | 0.504 | | |
| S1 | 0.266 | 8.93×10^{-3} | 47.22 |
| S2 | 0.269 | 2.978×10^{-3} | 49.20 |
| S3 | 0.241 | 2.23×10^{-3} | 52.18 |
| S4 | 0.221 | 4.46×10^{-4} | 56.15 |

Remarquez à travers la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration d'huile essentielle de *romarin* de la région de Médéa (RM).

À mesure que la concentration en huile essentielle de *romarin* s'élève de 1 à 4 mol/ml, on observe une augmentation linéaire du pourcentage d'inhibition. Ce dernier atteint son maximum de 56,15% à la concentration la plus élevée.

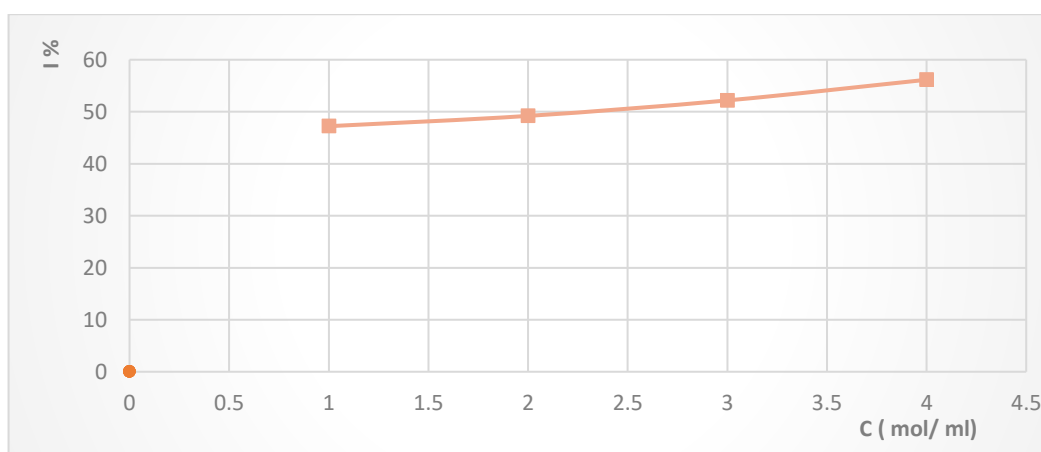


Figure IV.3 : Moyenne de pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du *romarin* de la région de Médéa en fonction de la concentration.

3)- HE de romarin de région de Béchar :

Tableau IV.8 : L'absorption moyenne de l'huile essentielle dans la région de Béchar.

| Les solutions | Les volumes (ul) | Les abcerbonce | | | Moyenne |
|---------------|------------------|----------------|-----------|-----------|---------|
| | | Essaie (1) | Essaie(2) | Essaie(3) | |
| Le blanc | 2000 | 0.658 | 0.674 | 0.671 | 0.667 |
| S1 | 10 | 0.408 | 0.400 | 0.288 | 0.365 |
| S2 | 30 | 0.383 | 0.375 | 0.262 | 0.34 |
| S3 | 40 | 0.388 | 0.402 | 0.298 | 0.362 |
| S4 | 70 | 0.380 | 0.330 | 0.220 | 0.031 |
| S5 | 150 | 0.346 | 0.336 | 0.172 | 0.284 |
| S6 | 200 | 0.340 | 0.214 | 0.180 | 0.244 |

Tableau IV.9 : Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle de romarin (RB).

| Les solutions | L'absorbance moyenne | Les concentrations (mol/ml) | Les Pourcentages Inhibitions I%. |
|---------------|----------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| Blanc | 0.667 | | |
| S1 | 0.365 | 0.0135 | 45.277 |
| S2 | 0.34 | 4.5×10^{-3} | 49.025 |
| S3 | 0.362 | 3.375×10^{-3} | 51.72 |
| S4 | 0.31 | 1.928×10^{-3} | 53.52 |
| S5 | 0.284 | 9×10^{-4} | 57.42 |
| S6 | 0.244 | 6.75×10^{-4} | 63.41 |

Remarquez à travers la courbe qui représente le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle de romarin de la région de Béchar (RB).

Entre 1 et 3 mol/ml, la concentration en huile essentielle de romarin s'accroît de façon modérée, entraînant une hausse minime du pourcentage d'inhibition qui atteint 51 %. Cependant, au-delà de 3 mol/ml jusqu'à 6 mol/ml, l'augmentation de la concentration s'accroît de manière significative, induisant une forte progression du pourcentage d'inhibition, lequel culmine à 62 %.

Ainsi, on observe deux phases distinctes. Dans un premier temps, de 1 à 3 mol/ml, la concentration et le pourcentage d'inhibition croissent lentement. Puis, au-delà de 3 mol/ml Jusqu'à 6 mol/ml, l'augmentation de la concentration s'accroît, engendrant un bond conséquent du pourcentage d'inhibition.

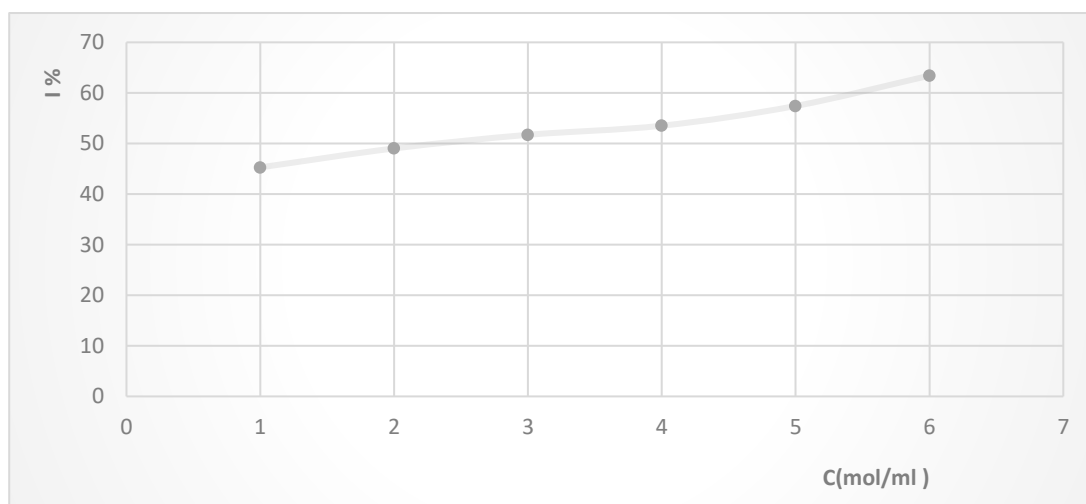


Figure IV.4 : Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle du romarin de la région de Béchar en fonction de la concentration.

4)- Préparation de solution d'acide ascorbique (vit C) :

➤ Préparation de la solution acide ascorbique :

Prendre 1 mg d'acide ascorbique (vitamine C) et le placer dans un bécher. Ajouter 5 ml d'éthanol (alcool) dans le bécher. Sous agitation magnétique, mais sans chauffage, attendre que l'acide ascorbique se dissolve complètement dans l'éthanol.

➤ Préparation des solutions filles :

Nous préparons une gamme de solutions filles à partir de la solution mère. Nous prélevons des volumes de 10, 30, 40, 70, 150 et 200 μL de la solution mère, et nous complétons chacun de ces volumes à 1000 μL en ajoutant de l'éthanol.

Ensuite, nous ajoutons 1000 μL de solution de DPPH à chacune des solutions filles. Nous plaçons ces solutions à l'obscurité pendant 30 minutes. Après cette période, nous mesurons l'absorbance de chaque solution à une longueur d'onde de 517 nm.

Tableau IV.10 : Les concentrations et le pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique.

| Les solutions | L'absorbance | Les concentrations (mol/ml) | Pourcentage Inhibition I%. |
|---------------|--------------|-----------------------------|----------------------------|
| Blanc | 0.545 | | |
| S1 | 0.275 | 5.675×10^{-4} | 49.54 |
| S2 | 0.215 | 1.891×10^{-4} | 60.55 |
| S3 | 0.151 | 8.107×10^{-5} | 72.29 |
| S4 | 0.150 | 3.783×10^{-5} | 72.47 |
| S5 | 0.144 | 2.837×10^{-5} | 73.57 |

L'analyse de la courbe illustrant la relation entre le pourcentage d'inhibition et la concentration d'acide ascorbique révèle plusieurs tendances. Initialement, on constate une hausse significative du pourcentage d'inhibition, qui atteint 72% lorsque la concentration augmente de 1 à 3 mol/ml. Cette valeur se maintient ensuite constante sur l'intervalle de 3 à 4

mol/ml. Enfin, une légère progression est notée entre 4 et 5 mol/ml, où le pourcentage d'inhibition s'élève à 73%.

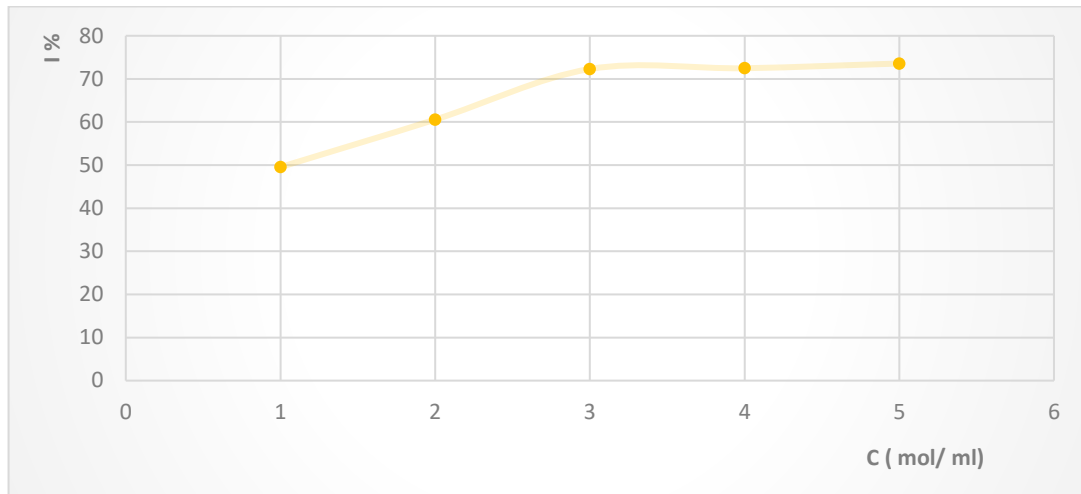


Figure IV.5 : Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique en fonction de la concentration.

Tableau IV.11 : Les concentrations et les pourcentages d'inhibitions de l'huile essentielle de romarin de trois régions différentes.

| Les solutions | Les concentrations (RT) | Les concentrations (RM) | Les concentrations (RB) | Les concentrations (C) | I%(RT) | I%(RM) | I%(RB) | I%(C) |
|---------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|--------|--------|--------|-------|
| S1 | $9,47 \times 10^{-3}$ | $8,93 \times 10^{-3}$ | 0,0135 | $5,675 \times 10^{-4}$ | 39,52 | 47,22 | 45,277 | 49,54 |
| S2 | $3,15 \times 10^{-3}$ | $2,978 \times 10^{-3}$ | $4,5 \times 10^{-3}$ | $1,891 \times 10^{-4}$ | 50,08 | 49,2 | 49,025 | 60,55 |
| S3 | $2,36 \times 10^{-3}$ | $5,95 \times 10^{-4}$ | $3,375 \times 10^{-3}$ | $8,107 \times 10^{-5}$ | 51,95 | 53,96 | 51,72 | 72,29 |
| S4 | $1,35 \times 10^{-3}$ | $4,46 \times 10^{-4}$ | $1,928 \times 10^{-3}$ | $3,783 \times 10^{-5}$ | 53,49 | 56,15 | 53,52 | 72,47 |
| S5 | $6,31 \times 10^{-4}$ | | 9×10^{-4} | $2,837 \times 10^{-5}$ | 53,83 | 56,16 | 57,42 | 73,57 |
| S6 | $4,73 \times 10^{-4}$ | | $6,75 \times 10^{-4}$ | | 54,68 | | 63,41 | 73,57 |

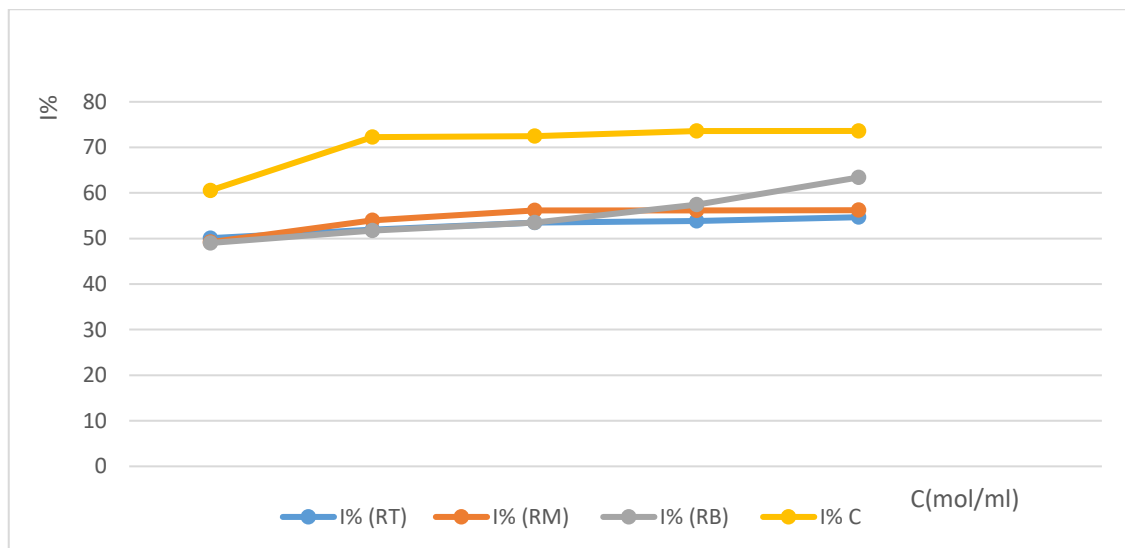


Figure IV.6 : La courbe illustre les taux d'inhibition en fonction de la concentration pour trois régions distinctes, en comparaison avec la vitamine C.

À partir de ces trois courbes, nous pouvons déduire qu'il existe une relation proportionnelle entre le pourcentage d'inhibition et la concentration. En effet, plus la concentration augmente, plus le pourcentage d'inhibition ne s'accroît.

➤ **Détermination d'IC₅₀ d'huile essentielle de Romarin :**

Tableau IV.12 : Les résultats d'activité antioxydante de ce travail.

| Romarin | Tipaza | Médéa | Béchar | Vitamine C |
|------------------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| Les valeurs d'IC 50 (mol/ml) | 2×10^{-3} | 2.2×10^{-3} | 2×10^{-3} | 1×10^{-4} |

Les résultats d'IC₅₀ de l'huile essentielle de *romarin* et la vitamine C.

Huile essentielle de Tipaza vs Vitamine C :

- LIC₅₀ de Tipaza (0.0020 mol/mL) est plus élevé que celui de la vitamine C (0.0001 mol/ml).
- Cela signifie que l'huile essentielle de Tipaza est moins efficace que la vitamine C en termes d'activité antioxydante.

Huile essentielle de Médéa vs Vitamine C :

- IC₅₀ de Médéa (0.0022 mol/mL) plus élevé que celui de la vitamine C (0.0001 mol/mL).
- Cela indique que l'huile essentielle de Médéa est encore moins efficace que celle de Tipaza et nettement moins que la vitamine C.

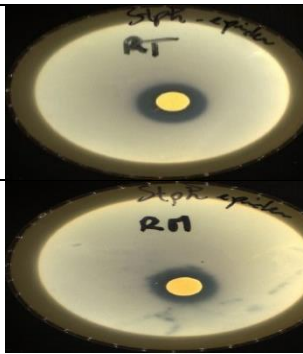
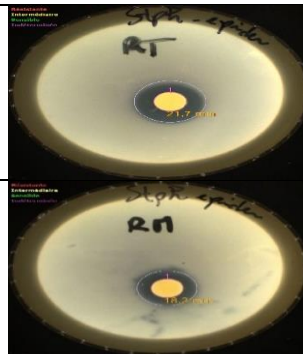
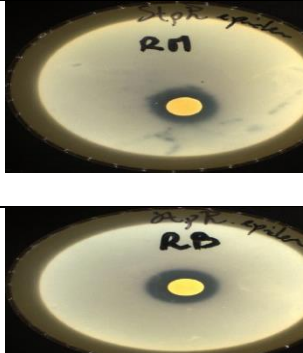
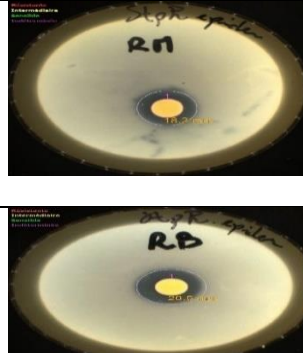
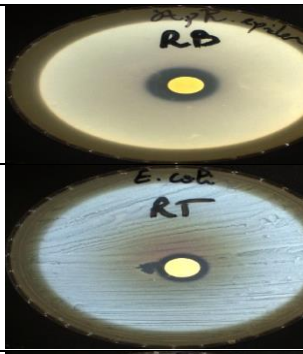
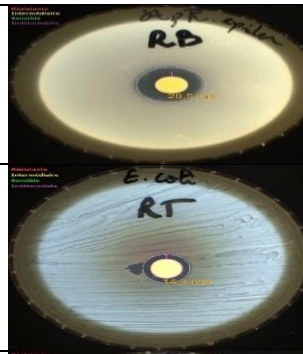
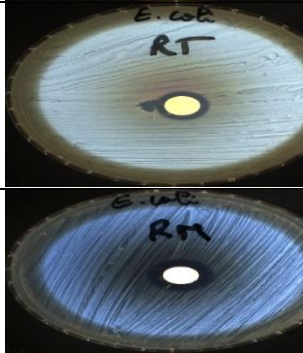
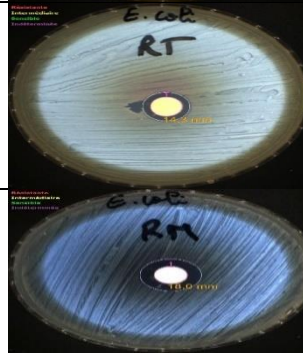
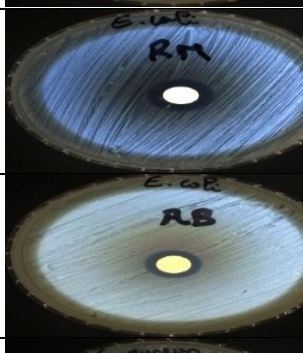
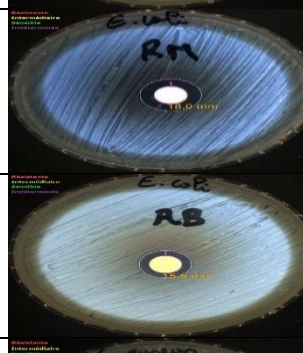
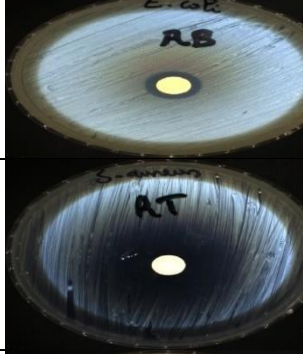
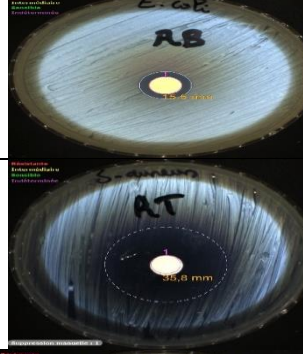
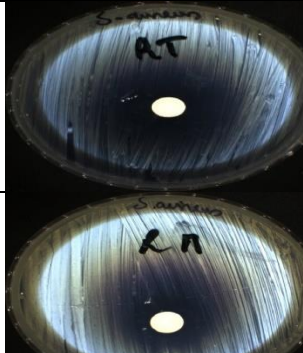
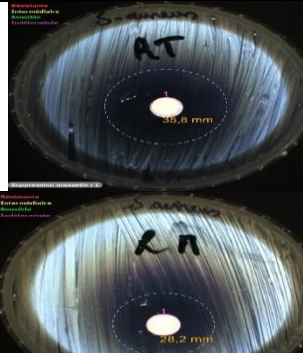
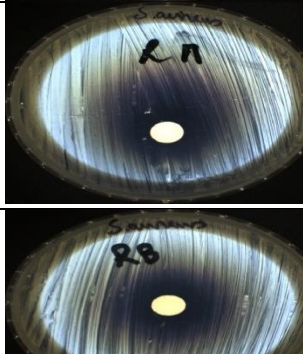
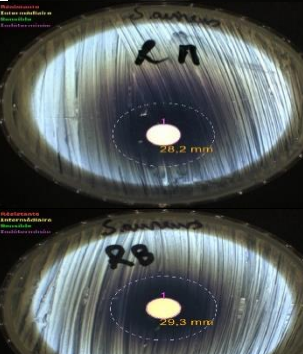
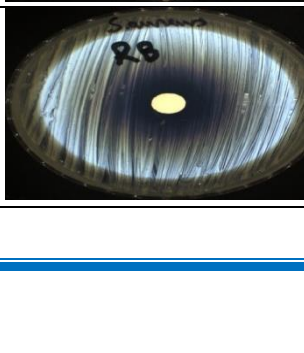
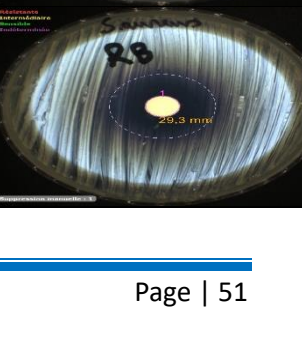
Huile essentielle de Béchar vs Vitamine C :

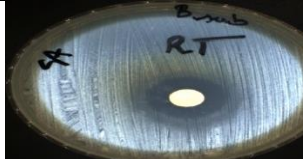





- IC₅₀ de Béchar (0.0020 mol/mL) plus élevé que celui de la vitamine C (0.0001 mol/mL).
- Comme pour Tipaza, l'huile essentielle de Béchar est moins efficace que la vitamine C.

En comparant les IC₅₀, il apparaît que l'huile essentielle de *Romarin*. des trois régions (Tipaza, Médéa, et Béchar) présente une activité antioxydante inférieure à celle de la vitamine C, avec des IC₅₀ beaucoup plus élevés. Parmi les trois régions, Tipaza et Béchar ont des IC₅₀ similaires et sont légèrement plus efficaces que Médéa, mais restent toutes beaucoup moins puissantes que la vitamine C en termes d'activité antioxydante.

IV.6 Résultats de l'activité Antibactérienne :

Tableaux IV.13 : Les résultats des tests antimicrobiens.

| Les souches | HEs | Diamètre (mm) | Echantillon | Echantillon analysé |
|---|-----|---------------|--|---|
| <i>Staphylococcus Epidermidis</i> ATCC 12228 | RT | 21.7mm |  |  |
| | RM | 18.2mm |  |  |
| | RB | 20.5mm |  |  |
| <i>Escherichia Coli</i> ATCC 8739 | RT | 14.3mm |  |  |
| | RM | 18.0mm |  |  |
| | RB | 15.5mm |  |  |
| <i>Staphylococcus Aureus</i> ATCC 6538 | RT | 35.8mm |  |  |
| | RM | 28.2 mm |  |  |
| | RB | 29.3mm |  |  |

| | | | | |
|--|----|--------|--|---|
| <i>Bacillus Subtilis</i> ATCC 6633. | RT | 24.0mm |  |  |
| | RM | 29.1mm |  |  |
| | RB | 28.0mm |  |  |

Il s'agit d'une série de tests d'activité antibactérienne réalisés sur 3 échantillons différents. Les tests ont été effectués sur quatre souches bactériennes différentes :

Staphylococcus Epidermidis, *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus* et *Bacillus subtilis*.

Pour chaque échantillon, on a mesuré le diamètre de la zone d'inhibition (en millimètres) autour d'un disque imprégné d'antibiotique.

➤ **Prendre une bactérie *Staphylococcus Epidermidis* :**

Zone de Tipaza ($\emptyset_{HE(RT)} = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de *romarin* provenant de Tipaza a démontré une forte activité antibactérienne, avec un diamètre de zone d'inhibition de 21,7 mm. Cette valeur, identique à celle des échantillons de référence, indique une efficacité antibactérienne significative.

Zone de Médéa ($\emptyset_{HE(RT)} = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle extraite du *romarin* de Médéa a présenté une activité antibactérienne modérée, avec un diamètre de zone d'inhibition de 18,2 mm. Cette mesure, équivalente à celle des échantillons standards, suggère une efficacité antibactérienne notable, mais légèrement inférieure à celle de Tipaza.

Zone de Béchar ($\emptyset_{HE(RT)} = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de *romarin* originaire de Béchar a montré une activité antibactérienne importante, avec un diamètre de zone d'inhibition de 20,5 mm. Ce résultat, similaire à celui des échantillons de référence, indique une forte efficacité antibactérienne, se situant entre celles de Tipaza et de Médéa.

Ces résultats mettent en évidence que les huiles essentielles de *romarin* des trois régions possèdent toutes une activité antibactérienne significative, avec des variations subtiles potentiellement liées aux différences climatiques entre ces zones.

➤ **Prendre une bactérie *Escherichia Coli* :**

Zone de Tipaza ($\emptyset_{HE(RT)} = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de *romarin* de la zone de Tipaza a montré une zone inhibitrice de 14,3 mm, identique à celle des échantillons de référence. Cela indique que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne similaire à celle des échantillons standards.

Zone de Médéa ($\emptyset_{HE(RM)} \geq \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* provenant de la zone de Médéa a présenté une zone inhibitrice de 18,0 mm, légèrement supérieure à celle des échantillons de référence. Cette mesure suggère une activité antibactérienne modérément plus élevée pour l'huile essentielle de cette région.

Zone de Béchar ($\emptyset_{HE(RB)} = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de *romarin* de la zone de Béchar a montré un diamètre de zone inhibitrice de 15,5 mm, identique à celui des échantillons de référence. Cela indique que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne comparable à celle des échantillons standards.

Les résultats montrent que les huiles essentielles de *romarin* des zones de Tipaza et Béchar possèdent une activité antibactérienne comparable à celle des échantillons de référence. L'huile essentielle de la zone de Médéa présente une activité antibactérienne légèrement supérieure.

➤ **Prendre une bactérie *Staphylococcus Aureus* :**

Zone de Tipaza ($\emptyset_{HE(RT)} \geq \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Tipaza présente une zone inhibitrice de 35,8 mm, largement supérieure à celle des échantillons de référence. Cela indique que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne significativement plus élevée.

Zone de Médéa ($\emptyset_{HE(RM)} \geq \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Médéa montre une zone inhibitrice de 28,2 mm, également supérieure à celle des échantillons de référence. Cela suggère que cette huile essentielle a une activité antibactérienne notablement plus élevée.

Zone de Béchar ($\emptyset_{HE}(RB) \geq \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Béchar présente une zone inhibitrice de 29,3 mm, ce qui est largement supérieur à celle des échantillons de référence. Cela démontre que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne significative.

Les résultats montrent que les huiles essentielles de *romarin* des zones de Tipaza, Médéa et Béchar possèdent toutes une activité antibactérienne supérieure à celle des échantillons de référence. L'huile essentielle de Tipaza est particulièrement remarquable avec une zone inhibitrice de 35,8 mm, indiquant une forte activité antibactérienne. Ces différences peuvent être attribuées aux conditions environnementales et climatiques spécifiques à chaque région, influençant la composition chimique et les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de *romarin*.

➤ **Prendre une bactérie *Bacillus subtilis* :**

Zone de Tipaza ($\emptyset_{HE}(RT) = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Tipaza présente un diamètre de zone inhibitrice de 24,0 mm, identique à celui des échantillons de référence. Cela indique que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne comparable à celle des échantillons de référence.

Zone de Médéa ($\emptyset_{HE}(RM) \geq \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Médéa montre une zone inhibitrice de 29,1 mm, largement supérieure à celle des échantillons de référence. Cela démontre que cette huile essentielle a une activité antibactérienne significativement plus élevée.

Zone de Béchar ($\emptyset_{HE}(RB) = \emptyset$ échantillon) :

L'huile essentielle de la plante de *romarin* de la zone de Béchar présente un diamètre de zone inhibitrice de 28,0 mm, identique à celui des échantillons de référence. Cela suggère que l'huile essentielle de cette région possède une activité antibactérienne comparable à celle des échantillons de référence.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *romarin* de la zone de Médéa possède une activité antibactérienne supérieure à celle des échantillons de référence, avec un diamètre de Zone inhibitrice de 29,1 mm. En revanche, les huiles essentielles des zones de Tipaza et de Béchar ont une activité antibactérienne comparable à celle des échantillons de référence, avec des diamètres de zones inhibitrices de 24,0 mm et 28,0 mm respectivement.

IV.7 Résultats de l'activité anti inflammatoire :

Cette étude se concentre sur l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire des huiles essentielles de *romarin* provenant de trois régions d'Algérie : Tipaza, Médéa et Béchar.

L'objectif est de comparer l'efficacité de ces huiles en utilisant des tests spécifiques et en les comparant à une solution de référence, le Diclofenac.

Les huiles essentielles de *romarin* des trois régions ont été testées pour leur activité anti-inflammatoire en utilisant le test BSA (albumine de sérum bovin). Nous avons observé que les solutions changeaient la couleur blanche trouble des huiles, indiquant une réaction positive.

Les solutions des huiles essentielles présentaient différentes concentrations, ce qui a entraîné un gradient de couleur blanche. Ce gradient est dû au changement de concentration des huiles, reflétant ainsi leur efficacité relative.

Pour comparer les résultats, nous avons utilisé une solution de diclofenac comme référence. Les observations ont montré que les huiles essentielles de *romarin* des trois régions avaient des activités anti-inflammatoires comparables à celles du diclofenac, avec des variations en fonction de la concentration.

Pour comparer les résultats, nous avons utilisé une solution de diclofenac comme référence. Les observations ont montré que les huiles essentielles de romarin des trois régions avaient des activités anti-inflammatoires comparables à celles du diclofenac, avec des variations en fonction de la concentration.



Conclusion générale et perspective.

L'étude a révélé que les composés phytochimiques du *romarin* varient en fonction des conditions climatiques des trois régions algériennes étudiées (Tipaza, Médéa et Bechar). Le criblage phytochimique des échantillons de *romarin*, provenant des régions de Tipaza, Médéa et Béchar a révélé la présence de divers composés chimiques, tels que les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les anthraquinones, les alcaloïdes, les quinones, les polyphénols, les stérols et les terpènes. Voici un résumé des principaux résultats :

Flavonoïdes : Tipaza, présence de traces de leuco anthocyanes, flavonols, et absence de flavanones. Médéa : présence modérée de leuco-anthocyanes et de flavonols, absence de flavanones. Béchar : présence de traces de leuco anthocyanes, flavonols, et absence de flavanones.

Tanins : Tipaza, présence modérée de tanins catéchiques et confirmation de tanins galliques. Médéa, présence confirmée de tanins catéchiques et galliques Béchar : présence confirmée de tanins catéchiques et galliques. *Saponine*, Tipaza : présence en tant que traces. Médéa, présence modérée. Béchar, présence confirmée.

Anthraquinones : Tipaza, présence confirmée. Médéa : présence modérée. Béchar : présence confirmée. *Alcaloïdes*, présence confirmée dans les trois régions. *Quinones*, présence confirmée dans les trois régions. *Stérols et terpènes* : présence confirmée des stérols et terpènes dans les trois régions, avec une variation de la concentration.

Les rendements d'extraction de l'huile essentielle de *romarin* diffèrent significativement entre les trois régions étudiées : Tipaza (climat humide) 2,31 % Médéa (climat semi-aride) 6,38 %, Béchar (climat aride) 7,26 %.

L'activité antioxydante a été évaluée en utilisant le pourcentage d'inhibition de la solution DPPH. Les résultats montrent des variations selon les régions : Tipaza : Inhibition modérée, Médéa : Inhibition plus élevée, Béchar : Inhibition la plus élevée. Les huiles essentielles de *romarin* ont montré une activité antibactérienne contre plusieurs souches de bactéries, avec

Des variations d'efficacité entre les régions. Les huiles de Béchar ont montré une activité antibactérienne plus marquée.

Les tests d'activité anti-inflammatoire ont montré que les huiles essentielles de Médéa et Béchar ont une meilleure efficacité anti-inflammatoire comparée à celles de Tipaza.

Et enfin, je conclus que j'ai atteint l'objectif visé par cette étude perspective.



Les Références

- [1] Shen, Xiaojing et al , College of Science, Yunnan Agricultural University, Kunming, China. College of Tobacco Science, Yunnan Agricultural University, Kunming, China. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Plateau Characteristic Spice Plant Resources, Education Department of Yunnan Province, Kunming, China d Yunnan Characteristic Plant Extraction Laboratory, Kunming, 650106, China . "Chemical composition and antioxidant activity of petroleum ether fraction of *Rosmarinus officinalis*." *Heliyon* 9.11 2023.
- [2] Laouici, Nourelhouda, and Messaouda. Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait brut de l'espèce *Rosamrinus offcinalis* L. Diss. Université de Jijel, 2020.
-

- [1] Huang L., Ding B., Zhang H., Kong B., Xiong Y.L. Textural and sensorial quality protection in frozen dumplings through the inhibition of lipid and protein oxidation with clove and rosemary extracts. *J. Sci. Food Agric.* 2019; 99:4739–4747. 10.1002/jsfa.9716.
- [2] Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., & Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the world health organization*, 63(6), 965.
- [3] Bhar, H., & Balouk, A. (2011). Les plantes aromatiques et médicinales, Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur. *L'espace marocain*, 68(2), 20-27.
- [4] Bernness L., Larousse, 2005. *Plantes Aromatiques et Médicinales*.
- [5] Chevallier A, Larousse 2001. *Encyclopedia of Medicinal Plants* (2nd Edition).
- [6] Bouamra Imen Bourai Hafida Etude des propriétés d'une fraction retenue de la plante *Salvia rosmarinus* cultivée, Université larbi tebessi, tebessa 2022 la page (4).
- [7] Jean-Claude Rameau et al. *Flore forestière française : Région méditerranéenne*, 2008.
- [8] Escuder O. 2007. *Plantes médicinales mode d'emploi*. Paris : Ulm er P.255.
- [9] Auguste Scheler. 1836. *Dictionnaire d'étymologie française d'après les résultats de la science moderne*.
- [10] Escuder O. 2007. *Plantes médicinales mode d'emploi*. Paris: Ulm er P.255.
- [11] Helmut Genaust. 1996. *Etymologisches Wörterbuch der botanischen Pflanzennamen*.
- [12] Hugette Max. 2008. *La route des épices naturelles. Mélanges d'épices, aromates et condiments naturels*. Ed. Sang de la terre.
- [13] Damerdji A. 2012. Les Orthoptéroïdes sur différentes plantes dans la région de Tlemcen (Algérie) *Afrique SCIENCE*. P. 83-84.
- [14] Association Tela Botanica. *Botanique : se former, identifier des plantes sauvages* [en ligne]. Disponible sur : < <http://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-87128-synthese> > (consulté le 07/10/2015).
- [15] González-Trujano ME, Peña EI, Martínez AL, Moreno J, Guevara-Ferfer P, Déciga-Campos M, et al. Evaluation of the ant nociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* 2007;111:476–82.
- [16] Rašković A, Milanović I, Pavlova N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complement Altern Med.* 2014; 14:225.
- [17] Waggas et Balaw, i. 2010, Rosemary Leave Extract against Acrylamide-Induced Neurotoxicity in Brain of Albino Rats. *Egypt. J. Exp. Biol*, P.23.
-

- [18] Panda H. 2009. Aromatic Plants Cultivation, Processing And Use, National Institute of Industrial research.
- [19] [https://www.researchgate.net/figure/Geographic-distribution-of-Rosmarinus officinalis-according-to-the-Global-Biodiversity_fig1_344513670](https://www.researchgate.net/figure/Geographic-distribution-of-Rosmarinus-officinalis-according-to-the-Global-Biodiversity_fig1_344513670).
- [20] Rašković A, Milanović I, Pavlova N, Čebović T, Vukmirović S, Mikov M. Antioxidant activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil and its hepatoprotective potential. *BMC Complement Altern Med.* 2014;14:225.
- [21] Benbott Mourad Bouali Youcef Etude des activités biologiques de *Rosmarinus Officialise L* des régions Ouargla et Ain M'Lila UNIVERSITE L'ARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGHI.2017-2018 page (8).
- [22] <https://www.plantes-et-sante.fr/articles/jardin-medicinal/3164-le-tout-puissant-romarin>
- [23] HasnaouiFatenSahraDjihene Evaluation de la teneur en composés phénoliques dans différents types d'extraits de quelques plantes aromatiques (Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master) Université Echahid Cheikh Larbi Tebessi, TebessaAlgérieDate de soutenance : 11 Juin 2023 page (3) .
- [24] Mustapha Naggar, Khalid Iharchine. Pour une valorisation durable des produits forestiers non ligneux Cas des faciès à romarin de l'Oriental du Maroc. XIVeme CONGRES FORESTIER MONDIAL, FAO,Sep 2015, Durban, Afrique du Sud. hal-01208545.
- [25] BouamraImenBourai Hafida Etude des propriétés d'une fraction retenue dela plante *Salvia rosmarinus* cultivée UNIVERSITE LARBI TEBESSI TEBESSA – 2022/ 2021 page 6.
- [26] Macheix J-J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, pp 3
- [27] RAMAWAT K-J., MERILLON J-M. (2008). Bioactives molecules and medicinal plant. Edition Springer, Berlin Héidelberg. Verlag, ISBN 978-3-540-74603-4.
- [28] Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae): Romarin. In *Phytothérapie anti-infectieuse* (pp. 341-347). Springer, Paris.
- [29] Reclu M. Manuel de l'herboriste : comprenant la culture, la récolte, la conservation, les propriétés médicinales des plantes du commerce, et un dictionnaire des maladies et des remèdes. Nîmes : C. Lacour, 2004, 160p.
- [30] Scherf G. La culture et les vertus des plantes médicinales. Aartselaar (Belgique) : Chantecler, 2012, 95p.
- [31] Harding J. Bienfaits des herbes & des plantes : un guide pour la culture et l'utilisation des herbes aromatiques et des plantes médicinales. Bath : Parragon, 2011, 256p.
-

- [32] Marion Leplat. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale . Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01550355 page 85-103.
- [33] Fernández L.F., Palomino O.M., Frutos G. Effectiveness of *Rosmarinus officinalis* essential oil as antihypotensive agent in primary hypotensive patients and its influence on health-related quality of life. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014 ; 151 ; 509-16 p103
- [34] Marion Leplat. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale . Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01550355 page 109.
- [35] Laszczyk M.N. Pentacyclic triterpenes of the lupane, oleanane and ursane group as tools in cancer therapy. *Planta Medica*, 2009 ; 75 ; 1549-60.
- [36] Marion Leplat. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale . Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01550355 page 121 .
- [37] Mustapha Naggar, Khalid Iharchine. Pour une valorisation durable des produits forestiers non ligneux Cas des faciès à romarin de l'Oriental du Maroc. XIVeme CONGRES FORESTIER MONDIAL, FAO, Sep 2015, Durban, Afrique .
- [38] Margot Loussouarn-Yvon, l'acide carnosique et le carnosol, deux,super-antioxydants ,du,romarin,(*rosmarinus officinalis*) docteur d'aix-marseille universite en biologie vegetale, 2017, page 42
- [39] Benbottmourad et boualiyoucef , Etude des activités biologiques de *rosmarinus Officialise L* des régions Ouargla et Ain M'Lila , UNIVERSITE L'ARBI BEN MHIDI OUM EL BOUAGHI , 207-2018 p 10.
- [40] T. Ben Abdelkader, Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandulastoechas sensu lato*, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique, Thèse de l'Ecole Normale supérieure, KoubaAlger, 2012.
- [41] Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., ... & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 1-11.
- [42] FERNANDEZ, X. and D. CABROL-BASS, Analyse des arômes. 2007.
- [43] L.R. Hernandez Ochoa, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale, Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique, Toulouse, France, 2005.
- [44] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.
-

- [45] R. Poirot, *Méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale*, 2007, 8.
- [46] S. Djeddi, *Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires »*, 2012, 33-45.
- [47] Piochon, M. (2008). *Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse*. Université du Québec à Chicoutimi.
- [48] S. Djeddi, *Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires »*, 2012, 33-45.
- [49] L.R. Hernandez Ochoa, *Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale*, Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique, Toulouse, France, 2005.
- [50] Bruneton, J. (2009). *Menthe in: Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 4e éd., Tec & Doc, Paris (pp. 631-638). ISBN 978-2-7430-1188-8.
- [51] Figueredo, G. (2007). *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne* (Doctoral dissertation, Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II)
- [52] Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(2), 105-113.
- [53] Brunner, G. (2005). *Supercritical fluids: technology and application to food processing*. *Journal of food engineering*, 67(1-2), 21-33.
- [54] Hauthal, W. H. (2001). *Advances with supercritical fluids*. *Chemosphere*, 43(1), 123-135.
- [55] S.Djeddi, *Les huiles essentielles « des mystérieux métabolites secondaires »*, 2012, 33-45.
- [56] Verma SK, Goswami P, Verma RS, Padalia RC, Chauhan A, Singh VR, Darokar MP (2016) *Composition chimique et activité antimicrobienne de la bergamote-menthe (Menthacitrataehrh.) huiles essentielles isolées de l'herbe et du distillat aqueux selon différentes méthodes*. *Ind Produit des cultures* 91:152-160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.005>.
- [57] El-Kharrat S, El-Guendouz S, Abdellah F, El Hadrami EM, Machado AM, Tavares CS, Figueiredo AC, Miguel MG (2022) *Hydrodistillation et distillation à la vapeur d'eau non assistée et assistée au dioxyde de carbone: modélisation de la cinétique, de la consommation*
-

d'énergie et des activités chimiques et biologiques des huiles volatiles. *Produits pharmaceutiques* 15: 567. <https://doi.org/10.3390/ph15050567>.

[58] Mohamed SN, Mohamed SN, Mohamed SN, Mohamed SN, Mohamed SN, Yeddes W, Majdi H, Gadhomi H, AidiWannes W, Saidani-Tounsi M (2022) Optimisation de l'éthanol Extraction des feuilles de romarin et leurs évaluations biologiques. *J ExploratResPharm* 7:85-94.

[59] Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C (2018) Techniques d'extraction et l'isolement des produits naturels: un examen complet. *Menton Vers* 13h20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>.

[60] Calinescu I, Asofei I, Gavrilă AI, Trifan A, Ighigeanu D, Martin D, Matei C, Buleandra M (2017) Intégrant l'extraction assistée par micro-ondes des huiles essentielles et des polyphénols des feuilles de romarin et de thym. *Chem Eng Commun* 204:965-973. <https://doi.org/10.1080/00986445.2017.1328678>.

[61] Bagade SB, Patil M (2021) Avancées récentes dans l'extraction assistée par micro-ondes de composés bioactifs à partir d'échantillons d'herbes complexes: une revue. *Critique Rev Chem Anal* 51: 138-149. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966>.

[62] BOUNAB Souhila ,Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila) : étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. , Université Ferhat Abbas Sétif 26/10/2020 page 10.

[63] LOUKIL N, HOUACHEMI F, "Etude comparative d'extraction de l'huile essentielle de carvi, Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana, Mémoire Master, 2020 page 20.

[64] Milpied-Homsi, B. (2009). *Progrès en dermato-allergologie: Bordeaux 2009 (Vol. 15)*. John LibbeyEurotext.

[65] Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate polymers*, 82(2), 277-283

[66] Demyttenaere JCR, Recent EU: Legislation on flavors and fragrances and its impact on essential oils. In *Handbook of Essential Oils. Science, Technology, and Applications*. Edited by Baser KHC, Buchbauer G. Taylor & Francis Group; 2010: 917-947.

[67] BoumadjenRoufeida, Kimouche Sara, Etude photochimique et évaluation de l'activité antioxydant de Romarin (*Rosmarinus officinalis*), Université des Frères Mentouri Constantine 01/07/2018 page 40.

[68] BenbottM.Y, "Etuderomarnusofficinalise L des regionsouargla et ainmlil,UNIVERSITE L'ARBI BEN MHIDIOUM EL BOUAGHI, 2018 page 35.

- [69] Martinez-Cayuela, M. (1995). Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie*, 77(3), 147-161.
- [70] Leverage, X., (2009). Stress oxydant et antioxydants ? *Cahiers de nutrition et de diététique* 44, 219-224.
- [71] <https://www.julienvenesson.fr/oxydants-corps-humain/>.
- [72] Delattre, J., Beaudoux, J. L., & Bonnefont-Rousselot, D., 2005. Radicaux libres et stress oxydant (aspects biologiques et pathologiques). *Tac & doc*.
- [73] Favier, A., (2003). Le stress oxydant. *L'actualité chimique* 108.
- [74] Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.
- [75] Favier, A. (2003). Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108, 115.
- [76] Tang, S. Y., & Halliwell, B. (2010). Medicinal plants and antioxidants: what do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 394(1), 1-5.
- [77] Diallo A., 2005. Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (MYRTACEAE). Thèse de Doctorat. Mali.
- [78] Gordon, M., (1990). The mechanism of antioxidant action in vitro, *Food antioxidants*. Springer, pp. 1-18.
- [79] Coppen, P.P., (1989). The use of antioxidants. In: *Rancidity in foods*. Eds: Allen J. C. and Hamilton R. J. Elsevier, Amsterdam, 83-104.
- [80] Frankel, E., (1993). In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends in Food Science & Technology* 4, 220-225.
- [81] Elaerts, v., (2014). *Les alicaments naturels*. Lulu.com.
- [82] A. Boussadia, A. Beghidja, L. Gali, C. Beghidja, M. Elhabiri, P. Rabu, and G. Rogez, *Inorganica Chim. Acta* 508, (2020).
- [83] K. Benguedouar, S. Bencharif, B. Ramazan, E. Nusret, and G. Mesut, (2022).
- [84] M. G. Miguel, S. Nunes, S. A. Dandlen, A. M. Cavaco, and M. D. Antunes, *Food Chem. Toxicol.* 48, 3418 (2010).
- [85] I. I. Koleva, T. A. Van Beek, J. P. H. Linssen, A. de Groot, and L. N. Evstatieva, *Phytochem. Anal. An Int. J. Plant Chem. Biochem. Tech.* 13, 8 (2002).
- [86] C. Bensouici, T. Boudiar, I. Kashi, K. Bouhedjar, A. Boumechhour, L. Khatabi, and H. Larguet, *J. Food Meas. Charact.* 14, 632 (2020).
-

- [87] Y.-C. Chung, C.-T. Chang, W.-W. Chao, C.-F. Lin, and S.-T. Chou, *J. Agric. Food Chem.* 50, 2454 (2002).
- [88] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, and S. E. Karademir, *J. Agric. Food Chem.* 52, 7970 (2004).
- [89] https://www.researchgate.net/figure/Figure-n20-Mecanisme-reactionnel-intervenant-entre-le-radical-DPPH-et-un-antioxydant_fig4_350591793.
- [90] ATHAMENA. S, étude quantitative des flavonoides des graines de *cuminumcuminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique université el-hadj lakhdar-BATNA, 2009 pages 50.
- [91] UMVF, U.M.V.F., (2014). Structure et physiologie de la bactérie : Anatomie - Structure, Collégiale des enseignants de bactériologie-virologie-hygiène. Université Médicale Virtuelle Francophone.
- [92] <http://croissbact.free.fr/bacterie.php>, 2007.
- [93] Nicolas, M., et Daniel, C, (1998). Activités technologiques en microbiologie-1-Techniques de base et méthodologie. Editeurs CRDP D'Aquitaine-Bordeaux, 152.
- [94] Duraffourd C., D'Hervicourt L. et Lapraz J. C., 1990. Cahiers de phytothérapie clinique. 1. Examens de laboratoires galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.
- [95] HamdaneImene , Rahamna Amina, Evaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne «in vitro» de l'extrait méthanolique (feuilles) de *Crataegus monogyna* Jacq. Université des Frères Mentouri Constantine 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie 2018 – 2019 page 23.
- [96] Yougbaré-Ziébro, M. N., Ouédraogo, N., Lompo, M., Bationo, H., Yaro, B., Gnoula, C, et Guissou, I. P. (2016). Activités anti-inflammatoire, analgésique et antioxydante de l'extrait aqueux des tiges feuillées de *Saba senegalensis* Pichon (Apocynaceae), *Phytothérapie*, 1 :4,213- 219.
- [97] Muster, D, (2005). Médicaments de l'inflammation. EMC-Stomatologie, 21.
- [98] AdepoApie Annick, (2018). Présentée en vue de l'obtention du DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, Evaluation des activités anti-inflammatoire et antioxydant de l'extrait hydroéthanolique de l'écorce de racines de *Dichrostachys cinerea* L. Wight et Arn. (Fabaceae), ADMINISTRATION ET PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUE, 8-9, 13-15.
- [99] Nko'o Moise, H., NnangaNga, and MboleMvondo Jeanne. "Évaluation des Activités Analgésique et Anti-Inflammatoire de l'Extrait Aqueux de *Phyllostachysaurea* (Poacées):
-

Evaluation of the Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of the Aqueous Extract of *Phyllostachys aurea* (Poaceae)." *HEALTH SCIENCES AND DISEASE* 25.6 (2024).

[100] Bounab, Souhila. Biodiversité végétale de la région du Hodna (M'sila): étude phytochimique et activité biologique de quelques espèces médicinales. Diss. 2020.

[101] https://fr.linkedin.com/posts/abdeddeyem-mhamdi-5322551b8_la-chromatographie-en-phase-gazeuse-cpg-activity-6912875310107561984-clA_?trk=public_profile_like_view.

[102] Musci M., Yao S. "Optimization and validation of Folin–Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea." *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. V. 68, (2017), 913-918.

[103] Kroyer, G., and N. Hegedus. "Evaluation of Bioactive Properties of Pollen Extracts as Functional Dietary Food Supplement." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, V. 2, (2001), 171–174.

[104] Al-Hadhrami, Rehab Mohamed Said, and Mohammad Amzad Hossain. "Evaluation of Antioxidant, Antimicrobial and Cytotoxic Activities of Seed Crude Extracts of *Ammi Majus* Grown in Oman." *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, V. 3, (2016): 329–334.

[105] Falleh, Hanen, Riadh Ksouri, Faten Medini, Sylvain Guyot, Chedly Abdely, and Christian Magné. "Antioxidant Activity and Phenolic Composition of the Medicinal and Edible Halophyte *Mesembryanthemum Edule* L." *Industrial Crops and Products* V. 34, (2011): 1066–1071.

[106] Ismail, Amin Jr, and Siewhong Tan. "Antioxidant activity of selected commercial seaweeds." *Malaysian journal of nutrition* vol. 8 (2002): 167-177.

[107] Granger M., Eck, P. "Dietary Vitamin C in Human Health." *Advances in food and nutrition research*, V. 83, (2018), 281-310.

[108] Kontiza, I., Stavri, M., Zloh, M., Vagias, C., Gibbons, S& Roussis, V.. "New metabolites with antibacterial activity from the marine angiosperm *Cymodocea nodosa*." *Tetrahedron*, V. 64, (2008), 1696-1702.
