

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA (1)  
**DOMAINE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
FILIERE DES SCIENCES AGRONOMIQUES  
MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLÔME DE  
**MASTER**  
OPTION : BIOTECHNOLOGIE VEGETALE

---

# Etude comparative des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de deux provenances (Blida et Djelfa).

---

Soutenue le : 07-12-2013

**Présentée par :**

**Mme EZZIAT Hasna épouse BENCHERCHALI**

Devant les membres du jury :

Mr RAMDANE S.	MAA	USDB	Président
Mr BOUTAHRAOUI S.A.	MAA	USDB	Examineur
Mme BENREBIHA F.Z.	Pr	USDB	Promotrice

# REMERCIEMENTS

*Louange à dieu le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et qui m'a guidé vers le savoir.*

Je souhaite remercier tout particulièrement ma promotrice Madame BENREBIHA F. pour son aide, sa disponibilité et ses bons conseils pendant cette courte période.

## **A mon jury :**

Je remercie Monsieur le Professeur RAMDANE S. pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse.

Je veux faire part aussi de toute ma gratitude à Monsieur BOUTAHRAOUI S.A. de faire partie de mon Jury.

Mes vifs remerciements vont aussi à Madame OUDJEDI responsable de laboratoire au Centre de Recherche et de Développement CRD «Sonatrach» à Boumerdes d'avoir eu l'amabilité d'accepter de m'aider et pour sa gentillesse;

Un remerciement particulier à Monsieur HOUARI, chef de département de chimie organique université de Blida pour son soutien et sa gentillesse.

Mes sincères remerciements s'adressent également à Mr Raouf technicien au département de chimie organique pour ses aides précieuses ;

Mes remerciements vont aussi à Mme GUNNAR Gania responsable de laboratoire au département d'agronomie.

Enfin, je remercie toute personne qui m'a soutenue de près ou de loin pour réaliser ce travail.

-A M<sup>elle</sup> Siham ingénieur de laboratoire de chimie et sa collègue au département de chimie organique université de Blida;

-A M<sup>elle</sup> Nassiba, doctorante au département de chimie organique université de Blida;

-A M<sup>r</sup> Boudjemaa étudiant en 5<sup>ème</sup> année au département d'agronomie ;

-A M<sup>me</sup> MOUASSE A. doctorante au département d'agronomie université de Blida;

# DÉDICACES

À *mes parents* : d'être très proches dans mon cœur, de toujours croire en moi et pour ce qu'ils fassent au quotidien pour moi ;

À *mes frères et sœur* : Hamza, Houda, Abdelhadi de partager tous ces bons moments ensemble ;

À *mon très cher mari Hassen* : pour son soutien, sa présence et surtout à notre très cher bébé Djawed ;

À *toute ma belle-famille* et particulièrement à mes beaux-parents ;

À *toutes mes amies* : Amina, Imène, Hadjer, Souad, Nesrine, Khadidja, Nassima, Amina, Meriem...

**MERCI**

## ***RÉSUMÉ***

Les huiles essentielles obtenue par hydrodistillation de la partie aérienne du romarin (*Rosmarinus Officinalis* L.) provenant de deux régions géographiquement différentes en Algérie (Blida et Djelfa) ont été étudié comparativement.

Les résultats des rendements et des caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles du romarin des deux régions (Djelfa et Blida) sont différentes.

Par la suite, la composition chimique de l'huile essentielle du romarin de la région de Blida a été identifiée par CG/MS. Plus de 80% des composants sont détectés. Les résultats de l'analyse par CG/MS ont montré que le composé majoritaire est l' $\alpha$ -Pinène suivi de l'Eucalyptol, le Camphor, le Caryophyllène, le Borneol. Les autres composés étaient présents en teneurs inférieures à (5)%. Nos résultats sont conformes à ceux publiés dans la littérature où nous avons rencontré presque tous les composés cités à des taux différents.

**Mots clés :** romarin (*Rosmarinus Officinalis* L.), huile essentielle,  $\alpha$ -Pinène, Eucalyptol, Camphor, Caryophyllène, Borneol.

## ***ABSTRACT***

The present work is the comparative study of the essentials oils of *Rosmarinus officinalis* L. from two regions (Blida, Djelfa).

The essentials oils of the aerial parts of *Rosmarinus officinalis* L., obtained by hydrodistillation, collected from two different geographical regions in Algeria (Blida and Djelfa) were comparatively studied. These results present a difference in the yields and in the physico-chemicals characteristics of the essentials oils of *Rosmarinus officinalis* L. from two regions (Blida, Djelfa).

The compounds of the oil of *Rosmarinus Officinalis* L. collected from Blida were identified by CG/MS. More than 80% of compounds were detected. The profiles of the analysis by CG/MS showed that majority compound is  $\alpha$ -Pinene, follow-up to Eucalyptol, Camphor, Caryophyllene, Borneol. The others compounds were present in contents lower than (5) %. Our results are in conformity with those published in the literature where we almost found all the compounds quoted at different rates.

**Key words:** *Rosmarinus Officinalis* L., essential oil,  $\alpha$ -Pinene, Eucalyptol, Camphor, Caryophyllene, Borneol.

## ملخص

تهتم هذه الدراسة بوصف نبتة الإكليل (*Rosmarinus Officinalis L.*) المقطوفة من منطقتان مختلفتان من الجزائر (البليدة و الجلفة) و قد تم استخراج الزيوت الأساسية لهذه النبتة بعملية التقطير ببخار الماء.

تبن النتائج اختلافا في المردود و في الخصائص الفيزيائية والكيميائية للزيوتين الاساسيين لنبتة الاكليل المقطوفة من منطقتين مختلفتين (البليدة و الجلفة)

ثم تم ضبط المحتوى الكيميائي لهذه الزيوت المستخرجة بواسطة التحليل الكيميائي في الطور الغازي المقرون بالتحليل الطيفي للكتل و قد تم الكشف عن أكثر من 80 % من المكونات و قد تبين ان المكون الاساسي لهذه الزيت هو الالفابينان و يتبع بالووكلبتول الكافور كاريوفيلان البورنيول و الكونفان .

اما المكونات الاخرى كانت نسبتها اقل من (5)%. النتائج التي تحصلنا عليها كانت متناسبة مع النتائج المتحصل عليها في بحوث سابقة حيث وجدنا اكثرية المكونات مع نسب مختلفة.

### الكلمات الجوهرية

الاكليل. الزيت الأساسي. الالفابينان. الكافور. كاريوفيلان. البورنيول.

## **GLOSSAIRE**

- **Akène** : fruit sec à une seule graine et qui ne s'ouvre pas à maturité.
- **Alambic** : appareil servant à distiller.
- **Analgsiques** : sont des médicaments utilisés en médecine dans le traitement de la douleur (antalgie ou analgsie) d'un patient.
- **Antalgique** : qui calme la douleur.
- **Antibactérienne** : qui détruit les bactéries, prévenant ou combattant les bactéries.
- **Antibiotiques** : sont des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes.
- **Antifongique** : qui détruit les champignons parasites.
- **Anti-infectieux** : substance permettant de lutter contre l'infection.
- **Anti-inflammatoire** : qui combat des processus inflammatoire (lié à une infection, à des rhumatismes).
- **Antimicrobien** : prévenant ou combattant l'infection microbienne.
- **Antimutagène** : produit s'opposant aux substances susceptibles d'introduire des mutations.
- **Antioxydant** : ralentisseur de l'action de l'oxydation.
- **Antiparasitaire** : sont les médicaments utilisés pour traiter les maladies dues aux parasites.
- **Antiproliférateur** : qualifie un produit qui empêche la prolifération d'un phénomène.
- **Antiseptique** : substance qui tue ou prévient la croissance de bactéries et des virus.
- **Antispasmodique** : destiné à éviter ou réduire les contractions spasmodiques.
- **Antiulcéreuse** : combattant les ulcères de l'estomac et de l'intestin.
- **Antivirale** : combattant les virus.
- **Anxiolytique** : relatif à une substance réduisant l'anxiété.
- **Apothicaire** : pharmacien.
- **Aromathérapie** : est la pratique qui consiste à utiliser des arômes pour traiter certaines pathologies.
- **Astéracée** : composée.
- **Bioclimat** : ensemble des conditions climatiques influençant les êtres vivants.
- **Calcimagnésique** : qualifie un sol constitué principalement de carbonate de magnésium et de calcium.
- **Chaméphyte** : plantes basses dont les bourgeons dormants aériens se situent pour la plupart à moins de 50 cm.
- **Chemotype** : préfixe référant à la chimie.
- **Cicatrisante** : favorisant la cicatrisation, la fermeture d'une plaie.
- **Citral** : aldéhyde à odeur de citron.
- **Concrète** : condensé, épais.
- **Conductivité électrique** : grandeur physique, caractérisant la capacité de conduction d'une substance, égale au rapport de la densité de courant électrique traversant la substance au champ électrique appliqué
- **Courbature** : douleur musculaire résultant d'un effort physique, de la fatigue ou de la fièvre.
- **Diéthyle-éther** : est un liquide incolore et très inflammable, avec une point d'ébullition bas et une odeur typique a formule chimique est  $C_4H_{10}O$ .
- **Digestive** : liée à la respiration et à la digestion.
- **Ethyliques** : alcoolisme.
- **Expectoration** : crachement; expulsion par la bouche de sécrétions des voies respiratoires.

- **Flaveur** : les sensations gustatives, olfactives, etc., que l'on éprouve en goûtant un aliment.
- **Fluidifiante** : remède facilitant l'élimination
- **Furocoumarines** : diurétique qui a une action puissante et rapide.
- **Hépatoprotectrices** : affection du foie et des reins.
- **Herbicide** : produit qui détruit les mauvaises herbes.
- **Hexane** : hydrocarbure saturé, explosif avec l'air.
- **Hydrolyse** : rupture d'un composé chimique par l'eau.
- **Indélébile** : qui ne peut être effacé.
- **Inhibition** : c'est le ralentissement ou l'arrêt d'un mécanisme.
- **Insaturation** : Les composés insaturés sont, en chimie organique, des composés dont le nombre total d'atomes est inférieur à celui que l'on peut déduire de la valence maximale de chacun des atomes constitutifs prise individuellement.
- **Insecticide** : produit qui détruit les insectes.
- **Irritante** : qui cause des inflammations.
- **Isohumique** incorporation profonde, par voie biologique, de matière organique stabilisée par un processus de maturation climatique prolongée, dominance d'argiles 2/1 (illites, montmorillonites).
- **Labié** : se dit d'une fleur dont la corolle est formée de deux lobes.
- **Mésoméditerranéenne** : originaire ou habitante des régions qui bordent la Méditerranée.
- **Micro-organismes** : sont des organismes vivants microscopiques (invisible à l'œil nu) et qui ne peuvent donc être observés qu'à l'aide d'un microscope.
- **Nanophanirophyte** : type de plante sous-ligneuse comme la bruyère ou le saule de haute montagne.
- **Officinale** : se dit d'un remède préparé et conservé dans l'officine du pharmacien.
- **Onguent** : médicament à base de résine, de corps gras et de divers principes actifs, destiné à être appliqué sur la peau.
- **Pesticide** : désigne un produit chimique destructeur de parasites animaux ou végétaux nuisibles.
- **Pierres ponce** : sont des roches volcaniques très poreuses et d'une densité faible, fréquemment inférieure à 1, ce qui leur permet dans ce cas de pouvoir flotter à la surface de l'eau.
- **Pulvérisée** : réduire en poudre, en minuscules particules.
- **Racémisation** : mélange équimoléculaire des deux antipodes optiques d'un composé actif sur la lumière polarisée
- **Réhabilitation** : rétablir quelqu'un dans une situation, remettre en état, rénover.
- **Revitalisante** : redonner la vie, de l'énergie du dynamisme, de la vitalité.
- **Sempervirente** :
- **Stimulante** : augmente l'activité physique ou psychique, fortifiant, dopant.
- **Stomachique** : facilite la digestion.
- **Subspontané** : presque spontané
- **Tonique** : qui fortifie (physiquement ou moralement).
- **Topiaire** : relatif à la taille des arbres.
- **Toxine** : substance toxique produite par un organisme vivant.
- **Toxinogénèse** : production de toxines.
- **Toxi-infection** : infection qui s'accompagne d'une intoxication, produite par les toxines des germes pathogènes.
- **Tribu** : subdivision de la sous famille.
- **Troubadours** : poète occitan du XIIe et XIIIe siècle.

## ***LISTE DES ABRÉVIATIONS***

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- °C : degré Celsius.
- **cm** : centimètre
- **C/N** : rapport carbone sur azote est un indicateur qui permet de juger du degré d'évolution de la matière organique.
- **CO<sub>2</sub>** : dioxyde de carbone.
- **Commission E**; comité scientifique ayant siégé en Allemagne de 1978-1994 et ayant évalué et approuvé l'usage thérapeutique de 254 plantes ou combinaison de plante.
- **C.P.G** : Chromatographie en Phase Gazeuse.
- **CPG/SM** : Chromatographie en Phase Gazeuse couplée par Spectrométrie de Masse.
- **d**: densité.
- **DDT** : dichlorodiphényltrichloroéthane ; c'est un produit chimique dont il possède des propriétés insecticides et acaricides.
- **ESCOP**: European Scientific Cooperative on Phytotherapy.
- **g** : gramme.
- **g / l** : gramme par litre.
- **H.E** : Huile Essentielle.
- **H.E.C.T.** : Huile Essentielle ChémoTypée
- **HCl** : acide chlorhydrique.
- **I<sub>A</sub>** : Indice d'Acide.
- **I<sub>E</sub>** : Indice d'Ester.
- **INFO-CLIMA** : L'association Infoclimat, la météo en temps réel - créée le 15 Octobre 2003 par les co-auteurs du site internet [www.infoclimat.fr](http://www.infoclimat.fr)
- **I<sub>R</sub>** : Indice de Réfraction.
- **kg** : kilogramme.
- **km<sup>2</sup>** : kilomètre carré
- **KOH** : hydroxyde de potassium.
- **meq** : milliéquivalent
- **M<sub>HE</sub>** : Masse de l'Huile Essentielle.
- **mg / ml** : milligramme par millilitre.
- **mn** : minute.
- **mg** : milligramme.
- **ml** : millilitre.
- **mm** : millimètre.
- **M<sub>mv</sub>** : Masse de la matière végétale
- **mol/l** : mole par litre.
- **MV** : Matière Végétale.
- **Na<sub>2</sub> So<sub>4</sub>** : sulfate de sodium.
- **pH** : potentiel d'hydrogène.
- **R<sub>HE</sub>** : Rendement en Huiles Essentielles.
- **V<sub>HE</sub>** : Volume de l'Huile Essentielle.
- % : pour-cent.
- ° : degré.



## ***LISTE DES FIGURES***

Figure 1 : Une touffe de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	04
Figure 2 : Diagramme ombrothermique des moyennes de Blida des campagnes (1995/2004).....	21
Figure 03 : Diagramme ombrothermique des moyennes de la région de Djelfa (2012).....	23
Figure 4 : Histogramme d'évolution régionale des rendements .....	29
Figure 5 : Huile essentielle du romarin de la région de Blida.....	30
Figure 6 : Huile essentielle du romarin de la région de Djelfa.....	30
Figure 7 : Chromatogramme de CG/MS de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. de la région de Blida .....	32

## ***LISTE DES TABLEAUX***

Tableau 01 : Les constituants chimiques du romarin .....	06
Tableau 02 : La valeur nutritive du romarin .....	07
Tableau 03 : Les composés majoritaires des deux échantillons de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. ....	09
Tableau 04 : Paramètres climatiques de la région de Djelfa.....	21
Tableau 05 : Paramètres climatiques de la région de Djelfa étude réalisée en 2012 .....	22
Tableau 06 : Variation du rendement en fonction des régions.....	29
Tableau 07 : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du romarin .....	31
Tableau 08 : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin .....	31
Tableau 09 : Composition chimique de l'huile essentielle du romarin de Blida .....	33

# SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. ETUDE DU ROSMARINUS OFFICINALIS L .....	3
I.2. LES HUILES ESSENTIELLES.....	10

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. LOCALISATION DU LIEU D'EXPERIMENTATION.....	19
II.2. MATERIEL.....	19
II.3. LA ZONE DE PRELEVEMENT.....	19
II.4. METHODES.....	23
II.4.1. Méthode d'extraction.....	23
II.4.2. Le rendement en huiles essentielles.....	24
II.4.3. Les caractéristiques organoleptiques.....	25
II.4.4. Les caractéristiques physico-chimiques .....	25
II.4.5. Méthode d'identification chimique de l'huile essentielle .....	27

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. RESULTATS ET DISCUSSION .....	29
III.1. LE RENDEMENT .....	29
III.2. L'ETUDE ANALYTIQUE .....	30
III.2.1. Tests organoleptiques de l'huile essentielle du romarin .....	30
III.2.2. Analyse physico-chimique .....	31
III.2.3. L'analyse par CG/MS .....	32
III.3. DISCUSSION GENERALE .....	34
CONCLUSION.....	38

# INTRODUCTION

# INTRODUCTION

Depuis l'antiquité et certainement bien avant, les plantes ont servi de pharmacothèque naturelle et pragmatique pour l'Homme. Personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté et qui paraissait magique. En effet, il est étonnant qu'une feuille, une fleur ou une racine puisse guérir ou tout au moins soulager un état pathologique ou des troubles organiques (**MAYER, 2012**).

Ainsi, par nécessité, l'homme serait obligé d'explorer puis d'exploiter ce patrimoine, qui lui rend un grand service durant sa vie.

L'exploitation d'une chose, c'est lui donner une valeur, donc exploiter les plantes dites médicinales c'est les valoriser. Une valeur n'est attribuée à telle ou telle plante médicinale que par leur effet thérapeutique, en effet, la connaissance de l'utilisation curative de ces plantes est très importante pour qu'elles puissent prendre une place dans la vie humaine (**BENZIANE et YOUSFI, 2001**). A cet effet et dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des Lamiacées. La majorité des plantes qui appartiennent à cette famille sont des plantes aromatiques (**SENER, 2008**) produisant des huiles essentielles et qui ont des propriétés médicinales (**SAMBAMURTY, 2005**).

La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce de romarin ; *Rosmarinus officinalis* L. (**ATIK et al., 2007**), c'est un arbrisseau poussant à l'état sauvage dans les régions ayant un bioclimat semi-aride et sub-humide (**ELOUTASSI et al., 2013**), est, sans doute, l'une des espèces les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (**ATIK et al., 2007**). Le romarin est connu aussi comme l'**Eklil** (Arabe) (**GOETZ et GHEDIRA, 2012**).

Toute la plante dégage une agréable odeur d'encens et de miel. Par distillation à la vapeur d'eau des rameaux et des sommités fleuries, on obtient une huile essentielle.

Les travaux scientifiques modernes ont permis de mieux connaître les essences et de définir précisément leurs différents constituants, leurs caractéristiques physico-chimiques, révélant le principe de leur action thérapeutique depuis longtemps connue (**BARDEAU, 2009**).

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une étude comparative des huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) provenant de deux régions différentes ; Blida et Djelfa.

A cet effet, nous avons déterminé les rendements et les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques des huiles essentielles obtenues par extraction à la vapeur d'eau.

Par la suite, nous avons réalisé une analyse chromatographique par CG/MS pour caractériser la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. cueillie de la région de Blida

# **CHAPITRE I**

**ETUDE**

**BIBLIOGRAPHIQUE**

## I.1 ETUDE DU *Rosmarinus officinalis* L.

### I.1.1. HISTORIQUE

Le romarin est connu depuis la plus lointaine Antiquité et l'on a trouvé des rameaux de cette plante dans les tombes égyptiennes des premières dynasties. A Athènes, comme à Rome, le romarin passait pour une plante sacrée et Horace (65-8 av. J.-C), poète et tribun célèbre, lui consacre quelques vers, eu égard à ses très estimables qualités magiques. (BARDEAU, 2009).

D'abord cultivé pour ses propriétés thérapeutiques, le romarin est apparu dans les livres des recettes à partir du XV<sup>e</sup> siècle. (WILSON et GUYLAINE, 2008)

Dans l'arsenal arabe (de Najm, Cohen el Attar, Gerber, Mesué, Avicenne), figurait l'encensier. Ce sont les arabes qui, les premiers, extraient l'essence d'encensier, mais c'est Arnaud de Villeneuve qui, en 1330, trouva le moyen de la conserver en solution alcoolique (LAMENDIN, 2007). Puis Raymond Lulle continua les recherches de son professeur (Arnaud de Villeneuve) et donna des indications sérieuses sur la distillation du romarin. L'huile essentielle a été employée au Moyen Age et elle figure dans quantité de formules diverses.

Le romarin acquit une grande célébrité et on le retrouve dans de multiples compositions préparées chez les apothicaires, du XVI<sup>e</sup> jusqu'au XVIII<sup>e</sup> siècle (BARDEAU, 2009).

### I.1.2. LA NOMENCLATURE

Le romarin, ou encensier (*Rosmarinus officinalis* L.) est aussi dit « romarin des troubadours », « rose marine », « herbe aux couronnes » et « roumaniéou ». (LAMENDIN, 2007) Le nom latin du romarin *rhus* signifie Sumac, *marinus* : de la mer (croît sur les coteaux en bord de mer), et *officinalis* : officinal (RAMEAU et al., 2008) .

Le romarin est connu aussi comme l'Eklil (Arabe), Rosemary (Anglais), Rosmarin (Allemand), Romaní, Romero, Rosmario (Espagnol), Osmarino, Ramerino, Usmarino (Italien) (GOETZ et GHEDIRA, 2012).

### I.1.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE

La classification botanique place le *Rosmarinus officinalis* dans :

Règne : végétal.

Sous-règne : Trachéophytes.

Embranchement: Spermaphytes ou Phanérogames.

Sous-embranchement: Angiospermes.

Classe: Dicotylédones.

Sous-classe: Asteridae.

Ordre: Lamiales.

Famille: Lamiaceae.

Genre: *Rosmarinus*.

Espèce: *Rosmarinus officinalis* L.

(GOETZ et GHEDIRA, 2012).

#### I.1.4. DESCRIPTION BOTANIQUE

Plante aromatique, très rameuse, très feuillée. Un arbrisseau nanophanérophyte, sempervirente et pouvant vivre jusqu'à 30 ans (RAMEAU et al., 2008).

En général, la plante mesure de 60 cm à 1,5m. Les feuilles persistantes ressemblent à de fines aiguilles; leur face supérieure est vert foncé et leur face inférieure blanchâtre.

Tige à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœuds distancés de 0,5 à 2 mm (BESOMBES, 2008).

De minuscules fleurs bleues pâle, lavande ou parfois blanches regroupés en petits bouquets attirent les abeilles, qui en tirent un miel exquis (ANONYME, 1996). Le calice en cloche, bilabié, poudré, blanchâtre, corolle en entonnoir, stigmate entier, 2 étamine fertiles. Akènes bruns groupés par 4.

C'est une plante hermaphrodite ; floraison 4 fois par an : janvier, avril, juillet et octobre, pollinisée par les insectes, dispersée par gravité (RAMEAU et al., 2008).

Le romarin a une odeur légèrement camphrée et une saveur piquante. Contrairement aux autres fines herbes, la récolte se fait pendant et après la floraison, moment où les feuilles sont le plus aromatiques (ANONYME, 1996).



**Figure 01** : Une touffe de *Rosmarinus officinalis* L. (originale)



### I.1.5. REPARTITION GEOGRAPHIQUE

Commune en région méditerranéenne (au sens large) et en Corse, jusqu'à la Drôme, l'Ardèche, le sud du plateau central et les Pyrénées.

Jusqu'à 650 m : étage mésoméditerranéenne (peut se retrouver au-delà à l'état subspontané) (RAMEAU *et al.*, 2008).

De l'autre côté de Gibraltar on le retrouve au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye; mais qu'il est abondant, il devient rare et ne se manifeste que dans quelques stations isolées en Egypte, en Palestine, Liban et à Chypre, il réapparaît en Turquie, en Grèce et en Italie (HELAL, 2010)

Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., est, sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on le trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (BEKKARA, 2007), et fait partie des espèces végétales qui se présentent même au Sahara (HELAL, 2010).

### I.1.6. HABITAT ET CULTURE

Le romarin se cultive dans un endroit ensoleillé, dans un sol calcaire et bien drainé (RENE, 2008), et les lieux secs et arides, surtout au voisinage du littoral (GOETZ et GHEDIRA, 2012). Bien que ce soit une plante aimant les climats chauds, il supporte les gelées si le sol ne conserve pas l'humidité. Idéalement, ce dernier doit avoir un pH compris entre 6.5 et 7.

Une légère taille au printemps après sa floraison a essentiellement pour but pour lui conserver une forme harmonieuse. Il ne doit pas être rabattu trop court ; une branche de bois mort sans bourgeons ni feuilles ne formera pas de nouveaux. Son feuillage persistant et sa tenue rend propice l'utilisation de certaines variétés touffues à une utilisation topiaire.

Il se multiplie facilement à l'automne par bouturage ou marcottage ; plus facilement en été par semis car sa germination est lente (MASSAOUDI, 2005).

### I.1.7. CONSTITUANTS CHIMIQUES

Les constituants rencontrés dans le *Rosmarinus officinalis* L. sont noté (tableau 01).

**Tableau 01 : Les constituants chimiques du romarin  
(GOETZ et GHEDIRA, 2012).**

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

## I.1.8. DIVERS USAGES ET PROPRIETES DU ROMARIN

### I.1.8.1. EN AGRO-ALIMENTAIRE

Les plantes aromatiques, les épices et leurs huiles essentielles sont utilisées depuis des siècles dans la préparation alimentaire non seulement pour la saveur qu'elles apportent, mais aussi comme conservateurs, pour empêcher le développement des contaminants alimentaires (MEBARKI, 2010). Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles de genévrier, de cannelle, de romarin, de clou de girofle et d'autres plantes aromatiques ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires. (VALERO et FRANCES, 2006 ; MEBARKI, 2010).

Le romarin est cultivé dans les jardins comme plante aromatique pour la cuisine (RAMEAU et al., 2008). Il a une saveur piquante et parfumer assez prononcée. Il est utilisé à petites doses afin de ne pas masquer la saveur des aliments (ANONYME, 1996).

Les abeilles qui le fréquentent élaborent un excellent miel au goût exquis, le fameux miel de Narbonne (SELL, BENEZRA et GUERIN, 2002)

**Tableau 02:** La valeur nutritive de romarin (ANONYME, 1996).

	Séché
Calcium	15mg
Potassium	11mg
Vitamine A	4mg
Magnésium	3mg
Vitamine C	1mg
Fer	0,3mg
	<b>Par 5ml (2g)</b>

### I.1.8.2. EN COSMETIQUE

Le romarin est utilisé en parfumerie. Il sert d'élément de base dans la composition d'onguents, de savons (ANONYME, 1996) (produit d'hygiène pour ses propriétés antiseptiques et parfumant), et de shampoings et lotions pour cuir chevelu gras (SOFOWORA, 2010). Il aide à diminuer la perte des cheveux et à traiter les pellicules (WILSON et GUYLAINE, 2008).

Le romarin est utilisé en bains stimulant et toniques, en dilution à 10% dans un produit pour bain.

L'essence de romarin entre dans la composition de l'eau de la reine de Hongrie. Cette eau admirable lui permet de retrouver miraculeusement la fraîcheur et la beauté, au point d'être demandée en mariage par le roi de Pologne (BARDEAU, 2009).

### I.1.8.3. EN PHYTOTHERAPIE

La Commission E et l'ESCOP reconnaissent l'usage interne du romarin pour soulager les troubles gastriques et son usage externe, comme adjuvant, pour soulager les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine périphérique (mains, pieds, jambes). L'ESCOP recommande aussi le romarin pour améliorer les fonctions biliaires et hépatiques (foie) (ANONYME, 1994 et ANONYME, 1997).

Le romarin peut être utilisé comme antiseptique léger et cicatrisant par voie locale (à éviter sur les blessures ouvertes et les lésions étendues) (GOETZ et GHEDIRA, 2012)

Des essais *in vitro* et menés sur des animaux ont effectivement permis de démontrer que le romarin avait des propriétés hépatoprotectrices (GUTIERREZ *et al.*, 2009 et AMIN, HAMZA, 2005), antiulcéreuses (DIAS *et al.*, 2000), antispasmodiques (AL-SEREITI *et al.*, 1999) et antimicrobiennes (KLANCNIK *et al.*, 2009). Des chercheurs indiens ont notamment constaté, en laboratoire, que l'huile essentielle de romarin est active contre des souches d'*Escherichia coli* et *Candida albicans* résistantes aux médicaments (LUQMAN *et al.*, 2007).

Deux essais préliminaires sans placebo tendent à confirmer l'usage traditionnel du romarin pour soulager les douleurs arthritiques (LUKACZER *et al.*, 2005 et MINICH, *et al.*, 2007). On a aussi observé, *in vitro*, que l'acide rosmarinique, dont le romarin est riche, pouvait agir

sur le métabolisme des prostaglandines, ce qui expliquerait ses effets anti-inflammatoires (AL-SEREITI MR *et al.*, 1999 et MINICH *et al.*, 2007). Ces effets pourraient également être attribuables à plusieurs composants aux propriétés antioxydantes (ZENG *et al.*, 2001 et MORENO *et al.*, 2006) que la plante renferme.

Des résultats d'études *in vitro* et sur des animaux indiquent que le romarin pourrait inhiber la prolifération des cellules cancéreuses (FAHIM *et al.*, 1999, SANCHETI et GOYAL, 2006 et . AMIN, HAMZA, 2005).

### **I.1.9. COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DU ROMARIN**

Toute la plante dégage une agréable odeur d'encens et de miel.

Par distillation à la vapeur d'eau des rameaux et des sommités fleuries, on obtient une huile essentielle. L'essence la plus fine et la meilleure est celle qui distille pendant la première heure.

L'essence de romarin est un liquide incolore ou légèrement jaune verdâtre, d'odeur pénétrante, camphrée et de saveur amère et aromatique.

Les principaux constituants sont le pinène, le camphène, le bornéol, l'acétate de bornyle, le cinéol et le camphre (BARDEAU F. 2009).

Au cours des dernières décennies, l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis L.* a fait l'objet de nombreuses études. Diverses compositions ont été décrites en fonction des constituants majoritaires, à savoir :

Les romarins marocains présentent une teneur importante en l'un des 3 composés :  $\alpha$ -pinène (37,0-40,0%, Rabat), cinéole (58,7-63,7%, El Ateuf), camphre (41,7-53,8%, Taforhalt) (ELAMRANI, 2000).

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du romarin de Tunisie selon MATHLOUTHI, *et al.* 2009 est le cinéole (50 %) suivi du camphre (12 %), de l' $\alpha$ -pinène (10 %) et du bicyclo-3.1.1-heptane (6,5%).

Le Romarin cultivé dans le Nord Est d'Espagne présente une huile essentielle parmi lesquels le camphre et l' $\alpha$ -pinène sont les constituants majoritaires (GUILLEN *et al.*, 1995).

Par contre, en Egypte, on trouve deux compositions, l'une dominée classiquement par le camphre, l' $\alpha$ -pinène et le cinéole, l'autre riche en verbénone et en camphre (SOLIMAN *et al.*, 1994).

Le romarin de Corse et de Sardaigne contient une huile essentielle riche en verbénone, acétate de bornyle et  $\alpha$ -pinène (PINTORE *et al.*, 2002).

L'huile essentielle du romarin d'Algérie a également fait l'objet de plusieurs études. Dans la région des Bibans (Bordj Bou Arreridj), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) (BOUTEKEDJIRET *et al.* 1998) alors qu'un autre échantillon

montre une grande variabilité quantitative en fonction de l'état de la plante (1,8-cinéole = 41.7-16.0%, camphre = 26.0-9.3%,  $\alpha$ -pinène = 16.9-2.5%). La composition de ce romarin varie manifestement en fonction du cycle végétatif de la plante (**BOUTEKEDJIRET et al., 1999**).

Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Argeridj ne contient que 7,5% de cinéole à côté du camphre (12,1%), du bornéol (10,1%), de l' $\alpha$ -terpinéol (9,5%) et surtout du (E)- $\beta$ -caryophyllène (13,9%) (**BENHABILES et AÏT-AMAR, 2001**).

L'étude réalisée par ATIK BEKKARA et al., 2007 sur les compositions des deux échantillons de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. (sauvage et cultivé) provenant de la région de Tlemcen, a permis d'identifier 31 composés au total. Nous constatons que la nature des constituants est la même pour les deux échantillons; cependant, les teneurs des composés diffèrent selon la station (Honaine et Tlemcen) et donc l'origine de la plante (sauvage ou cultivée).

Le composé majoritaire chez le Romarin spontané est l' $\alpha$ -pinène (23.1%), suivi par le camphre (15.3%) et le  $\beta$ -pinène (12.2%). Chez le Romarin cultivé, le composé principal est le camphre (13.8%), suivi de l' $\alpha$ -pinène (12.6%), du cinéole (11.8%) et du bornéol (10.8%).

Les composés majoritaires des deux échantillons de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. sont décrits dans le tableau 03.

**Tableau 03** : Les composés majoritaires des deux échantillons de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. (**ATIK BEKKARA et al., 2007**).

Constituants	Indices de rétention		Romarin cultivé (%)	Romarin sauvage (%)
	BP-1	BP-20		
$\alpha$ -pinène	932	1026	12,6	23,1
$\beta$ -pinène	971	1113	1,0	12,2
Cinéole	1022	1214	11,8	5,0
Linalol	1084	1548	5,9	1,2
Camphre	1123	1520	13,8	14,5
Bornéol	1152	1701	10,1	1,4
Verbénone	1183	1709	5,9	–

## I.2. LES HUILES ESSENTIELLES

### I.2.1. DEFINITION DE L'HUILE ESSENTIELLE

L'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir de matière première végétale botaniquement défini par des procédés physiques : soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

La matière végétale utilisée peut être fraîche, flétrie, sèche, entière ou pulvérisée (pulvérisée grossièrement), à l'exception des fruits du genre *Citrus* qui sont traités à l'état frais (KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU, 2013).

Les huiles essentielles ne sont pas présentes dans toutes les plantes: parmi les 800 000 espèces recensées, seules 10% sont capables de synthétiser une essence. Ces plantes sont alors dites « aromatiques» (DEGRYSE et al., 2008).

### I.2.2. PARTIE DE LA PLANTE UTILISEE

L'huile essentielle se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. Ce sont des structures histologiques spécialisées servant à leur synthèse et à leur stockage. Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiacées, Composées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes excréteurs de la plante.

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple, la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit par ce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante.

Nous présentons quelques exemples de parties de plantes, utilisées en vue de l'obtention d'huiles essentielles : fleurs (oranger, lavande, rose), feuilles (eucalyptus, citronnelle, menthe), écorces (cannelier), bois (rose, camphrier, santal), rhizomes (curcuma, gingembre), fruits secs (badiane, anis, persil), graines (muscade) (KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU, 2013).

### I.2.3. CONDITIONS OPTIMALES DE CUEILLETTE

Les différents paramètres suivants doit être considérés :

- La période de l'année. Par exemple pour les labiées, le plus souvent, pendant la période de floraison. Les sommités fleuries (feuilles et fleurs en début de floraison) du thym (*thymus vulgaris*) sont cueillies à la fin du printemps ou au début de l'été car elles sont riches en thymol et en carvacrol (phénols) doués d'une activité antiseptique ;
- La plante doit contenir le moins d'impureté possible. Par exemple, la terre, la poussière, les pesticides et les herbicides doivent être éliminés. Le DDT et le lindane

sont entraînés avec l'huile essentielle lors de la distillation de la plante. D'autres contaminants sont observés : déjection animales, souillures diverses, infections fongiques ;

- Il faut éviter les proliférations et fongiques au cours de la conservation et ainsi éviter, les activités enzymatiques non souhaitées. Souvent, la plante fraîche est distillée dès la cueillette ;
- Enfin les conditions climatiques, géographiques et agronomiques pourront intervenir sur la composition chimique de l'huile essentielle (**KALOUSTIAN et HADJIMINAGLOU, 2013**).

## **I.2.4. LES TECHNIQUES D'EXTRACTION**

Il existe plusieurs principes de fabrication qui dépendent du végétal utilisé. Les deux méthodes les plus courantes sont : l'hydro-distillation et l'extraction à froid.

### **I.2.4.1. L'ENFLEURAGE**

L'enfleurage est l'un des plus anciens procédés. Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses et concerne les plantes qui conservent leur parfum après avoir été cueillies (comme le jasmin ou la tubéreuse).

#### **Principe :**

- Les fleurs sont étalées sur des châssis enduits de graisses inodores.
- Le parfum des fleurs est absorbé par les graisses jusqu'à saturation.
- Les fleurs sont renouvelées régulièrement (toutes les 24 heures pour les jasmins ou toutes les 72 heures pour la tubéreuse).
- L'opération est terminée quand un kilo de la matière grasse est saturée par deux à trois kilos de fleurs. Elle peut durer environ un mois.
- On fait alors fondre la pommade qui sera décantée.
- Elle sera ensuite traitée à l'alcool et à froid. L'alcool entrainera le parfum seul sans se charger des graisses.

Cette technique d'extraction est pratiquement en voie de disparition en raison de son coût élevé. Elle nécessite en effet une main d'œuvre importante (**BENETEAUD, 2011**).

### **I.4.2. L'HYDRO-DISTILLATION OU ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU**

**L'hydro-distillation** est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau. L'appareil utilisé est un alambic.

#### **Principe:**

- La masse végétale est mélangée à plusieurs fois son volume d'eau ;
- Ce mélange est chauffé dans l'alambic jusqu'à ébullition ;
- Les vapeurs se concentrent au niveau du col de cygne de l'alambic puis s'acheminent par un serpentin refroidi dans un circuit d'eau ;

- Les vapeurs d'eau et les huiles essentielles se condensent et sont recueillies dans un vase florentin (ou essencier) ;
- La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle (**BENETEAUD, 2011**).

#### **I.2.4.3. L'ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR SECHE**

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, les techniciens ont mis au point le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche.

##### **Principe :**

- Dans la cuve, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée.
- Les cellules se distendent et les particules d'essences se libèrent.
- Ces dernières sont alors vaporisées et recondensées dans le serpentin réfrigéré.
- La récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydro-distillation (**BENETEAUD, 2011**).

#### **I.2.4.4. L'EXTRACTION PAR SOLVANTS VOLATILS**

Les solvants utilisés (hexane) ont un très grand pouvoir de solubilisation et seront facilement éliminés grâce à leur volatilité.

##### **Principe :**

- La matière végétale est chargée dans l'extracteur.
- Elle est ensuite épuisée par lavages successifs par le solvant approprié, pendant une durée déterminée.
- Après passage dans un décanteur puis un concentrateur, s'effectue une distillation partielle.
- On obtient : les molécules odorantes, les cires et les pigments (**BENETEAUD, 2011**).

#### **I.2.4.5. L'EXTRACTION AU CO<sub>2</sub> SUPERCRITIQUE**

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO<sub>2</sub>.

Sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO<sub>2</sub> présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques.

Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes pour la parfumerie. Par cette application, l'extraction au CO<sub>2</sub> supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine (**BENETEAUD, 2011**).



## I.4.6. L'EXPRESSION

Cette technique d'extraction est utilisée pour l'obtention des essences d'agrumes ou hespéridés : bergamote, citron, mandarine, etc. L'huile essentielle est contenue dans le zeste, partie superficielle de l'écorce de ces fruits. Autrefois, la méthode dite « à l'écuelle » consistait à frotter le fruit, manuellement, dans un bol en bois dont l'intérieur était garni de picots (BENETEAUD, 2011).

## I.2.5. IDENTIFICATION DES HUILES ESSENTIELLES

### I.2.5.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

En chromatographie en phase gazeuse, CPG (CG, pour *gas chromatography*), on sépare le mélange en ses constituants en faisant passer une phase gazeuse mobile sur une phase stationnaire absorbante ou adsorbante, qui ne peut être que solide ou liquide. Les mécanismes de séparation sont donc limités à l'adsorption et au partage, tous deux largement utilisés dans ce type de chromatographie. On en distinguait à l'origine deux variantes : la chromatographie gaz-liquide, CGL (*GLC*, pour *gas-liquid chromatography*) et la chromatographie gaz-solide, CGS (*GLC*, pour *gas-solid chromatography*), mais cette terminologie a été abandonnée (MENDHAM, 2005).

### I.2.5.2. Le chromatographe en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG-SM)

Le système couplé (CPG-SM) est l'un des premiers exemples de technique couplée et il est encore l'un des plus largement utilisés et des plus puissants. Les premiers systèmes avaient beaucoup de mal à concilier les différentes contraintes à des deux techniques : la spectrométrie de masse exige l'admission d'une faible quantité d'échantillon, en une seule fois, sous haute tension et dans un vide poussé, alors que la chromatographie en phase gazeuse se fait à la pression atmosphérique et en continu. Il fallait donc les interfaces complexes entre les deux systèmes, mais, dans les appareils modernes, ses problèmes sont en grande partie résolus et des systèmes couplés très efficaces sont disponibles dans le commerce pour de travaux de routine au laboratoire (MENDHAM, 2005).

## I.2.6. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles sont composées de trois types de composants : les terpènes, les composés aromatiques et des composés d'origines divers.

### ✓ Les terpènes

Pour les huiles essentielles, il s'agit des terpènes les plus volatils : monoterpènes et terpènes sesquiterpéniques. Porteurs de fonctions dont le degré d'oxydation est variable, les substances possibles sont nombreuses :

- Les monoterpènes C<sub>10</sub> H<sub>16</sub> (n=2) peuvent être acycliques (myrcène par exemple), monocycliques (thymol par exemple) ou bicycliques. Ils peuvent constituer 90% de l'huile essentielle (térébenthine par exemple). Ils sont les principaux constituants des

huiles essentielles et, comme ils constituent le premier maillon dans la biosynthèse, ils sont présents dans de nombreux végétaux.

- Les sesquiterpènes ( $n = 3$ ) sont l'objet de nombreuses cyclisations, de réarrangements, d'oxydation conduisant à un très grand nombre de structures. Celles-ci peuvent se présenter sous forme de lactones facilement allergisantes.

#### ✓ **Les composés aromatiques**

Les composés aromatiques biosynthétisés à partir de l'acide shikimique, qui donnent des dérivés du phénylpropane (C6-C3), sont moins fréquents : un noyau aromatique est couplé à une chaîne de 3 carbones. Les terpènes agissent aussi sur la pénétration percutanée des phénylpropanoïdes. Certains phénylpropanoïdes sont bien connus : alcool cinnamique, coumarine, estragol.

#### ✓ **Les composés divers**

- Lors de la distillation, certains composés aliphatiques (carbures, acides, alcools, aldéhydes, esters) sont entraînés.
- Des composés non souhaitables, pesticides ou autres ayant été utilisés lors de la culture, peuvent également se retrouver dans l'huile essentielle (**MILPIED, 2009**).

### **I.2.7. CARACTERES PHYSIQUES**

Les huiles essentielles sont généralement liquides et volatiles à température ambiante. La volatilité dépendra de la composition chimique. Une huile essentielle riche en monoterpènes sera plus volatile qu'une huile essentielle riche en sesquiterpènes. Si l'on dépose une goutte d'huile végétale (par exemple de tournesol) sur une feuille de papier, la tache de gras reste indélébile ; on parle dans ce cas d'huile « fixe ». Dans les mêmes conditions, pour une huile essentielle, riche en monoterpènes, la tache disparaîtra plus ou moins lentement.

Elles sont plus ou moins colorées. Elles peuvent être incolores lors de leur obtention (ou légèrement colorées en jaune) pour la majorité d'entre elles, et foncent au cours de la conservation à l'air et à la lumière (**KALOUSTIAN et HADJI-MINAGLOU, 2013**).

### **I.2.8. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES**

Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans).

Les huiles essentielles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons. Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque vingt degrés.

Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HE (norme NF 75-002, 1996) (**MAYER F., 2012**).

### **I.2.9. VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES**

Une même plante aromatique présentera une composition différente en huile essentielle (ISERIN, 2001).

La composition et le rendement des huiles essentielles peuvent varier selon l'âge, le cycle végétatif de l'organe, et le mode d'extraction, les facteurs climatiques, la nature du sol (BENZAZZEDDINE, 2010) et même selon les parties de la plante utilisées (ISERIN, 2001).

Une huile essentielle est très fluctuante dans sa composition, sur laquelle intervient un grand nombre de paramètres, d'origine intrinsèque (génétique, stade végétatif), d'origine extrinsèque (sol, climat, latitude) ou d'ordre technologique c'est-à-dire lié aux techniques d'exploitation du matériel végétal.

En effet, de profondes modifications s'opèrent lors du séchage, du stockage, de l'extraction et du conditionnement (BENZAZZEDDINE, 2010).

C'est la notion de chemotype qui présente de grandes variabilités, quantitatives et qualitatives et qui explique les divergences des résultats rapportés pour une plante donnée (GARRETA, 2007).

### **I.2.10. DOMAINES D'APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES**

Les huiles essentielles, par leurs propriétés nombreuses et variées sont utilisées dans différents secteurs : en parfumerie, en cosmétologie, en conserverie et dans les industries pharmaceutiques (DORMAN et DEANS, 2000 ; LAHLOU, 2004 ; PRABUSEENIVASAN et al., 2006 ; ROTA et al., 2008)

Les huiles essentielles entrent dans la composition de parfums, de cosmétiques (shampooings, gel-douches, crèmes, laits, déodorants corporels), de produits d'entretien (savons, détergents, lessives, assouplissants de textile) et de tout autre produit, comme par exemple désodorisants d'ambiance, diffuseurs, bougies.

Grâce à leur pouvoir antiseptique, les huiles essentielles peuvent permettre d'assainir l'air ambiant ou du système de ventilation, notamment dans le milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air et limitant aussi la propagation des germes microbiens (BILLERBECK, 2007).

Elles sont aussi utilisées comme arômes pour ajouter aux aliments des odeurs et/ou des saveurs (CHARBEL, 2010).

Les huiles essentielles permettent, entre autres, à la plante de se défendre contre les agressions extérieures. Elles ont des propriétés répulsives ou attractives vis-à-vis des insectes. La pollinisation des fleurs est, économiquement, très importante pour les arbres fruitiers. Elles présentent aussi des propriétés antiseptiques dirigées contre les parasites du sol et des propriétés inhibitrices sur la germination des grains sur le sol (KALOUSTIAN et HADJIMINAGLOU, 2013).

Enfin, elles ont certaines propriétés thérapeutiques et des applications en aromathérapie.

Parmi ses principales propriétés on peut citer.

✓ **Anti-infectieuses**

- Antibactériennes : Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle.

-Antivirales : Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Nous pouvons citer l'huile essentielle de la Cannelle du Ceylan.

-Antifongiques : Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les huiles essentielles de la Cannelle, du Clou de girofle.

- Antiparasitaires : Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires.

- Antiseptiques : Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

- Insecticides : Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle.

✓ **Anti-inflammatoires** : Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre.

✓ **Régulatrices du système nerveux**

-Antispasmodiques : Les huiles essentielles possédant des esters ou des éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés comme l'huile essentielle d'Hélichryse.

-Calmantes, anxiolytiques : Les aldéhydes type citrals contenus par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de la Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil.

- Analgésiques, antalgiques : Les huiles essentielles les plus connues pour leur action antalgique sont les huiles essentielles d'Eucalyptus citronné, de Gingembre, de Lavande.

✓ **Drainantes respiratoires**

- Expectorantes : Les huiles essentielles riches en oxyde (1, 8 cinéole) comme l'huile essentielle de Romarin agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique.
- Fluidifiantes : Les huiles essentielles possédant des cétones (comme la verbénone contenu dans l'huile essentielle de Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse.
- ✓ **Digestives** : Les huiles essentielles de cumin (avec la molécule de cuminal), d'anis étoilé ont une action digestive et apéritive. L'huile essentielle de menthe poivrée atténue les nausées.
- ✓ **Cicatrisantes** : Les huiles essentielles cicatrisantes sont les huiles essentielles de Ciste (Cistus ladaniferus), de Lavande vraie (Lavandula vera ), d'Immortelle (Helichrysum italicum), de Myrrhe (Commiphora myrrha) (**MAYER F., 2012**).

### I.2.1.1. PRECAUTIONS D'UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES

- Chaque huile essentielle possède ses propres critères d'utilisation, notamment quant à la voie d'absorption à privilégier. Il est donc déconseillé d'utiliser des huiles essentielles sans avis médical ;
- Pas d'automédication chez les sujets allergiques, lors d'affection grave, lors d'insuffisance rénale, etc. ;
- Proscrire l'automédication avec des huiles essentielles toxiques ;
- Jamais par les voies intramusculaire et intraveineuse ;
- Tenir hors de portée des enfants ;
- Toujours mélanger les huiles essentielles dans de l'huile végétale pour les applications cutanées ;
- Jamais d'huiles essentielles pures dans les oreilles, le nez et les zones génito-anales ;
- Attention aux paupières, contours des yeux, visage en général, dessus du crâne, aisselles, plis des aines ;
- Certaines huiles essentielles possèdent des furocoumarines, elles sont photosensibilisantes, ne les utilisez pas avant une exposition solaire. Il s'agit notamment des essences de zestes d'agrumes (citron, mandarine, orange, ...) ;
- Respecter une période de repos allant de dix jours à deux semaines après chaque utilisation de 2 semaines maximum dans les doses physiologiques ;
- Les huiles essentielles ne sont pas solubles dans l'eau, il est impératif de les mélanger dans un excipient avant de les verser dans le bain ;
- Respecter les dates de péremption ;
- Tenir les flacons debout afin d'éviter la destruction du bouchon;
- Les huiles essentielles sont très volatiles, bien fermer les bouchons (**ENGLEBIN, 2011**)

# **CHAPITRE II**

## **MATERIEL ET METHODES**

## II.1. LOCALISATION DU LIEU D'EXPERIMENTATION

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de chimie organique département de chimie industrielle situé au département de Blida (1) et au Centre de Recherche et de Développement CRD « Sonatrach » à Boumerdes, durant la période allant du mois d'Avril à la fin du mois de Juin 2013.

## II.2. MATERIEL

### II.2.1. Matériel biologique

- **Matériel végétal**

L'identification de notre espèce a été effectuée à l'Institut de Blida, au niveau du département d'agronomie avec l'aide d'un ingénieur responsable de laboratoire.

La matière végétale a été récoltée durant le mois d'Avril 2013 dans deux régions différentes Blida et Djelfa.

- **Traitement du matériel végétal**

Les échantillons cueillis ont été séchés à l'air libre et à l'ombre au niveau du laboratoire. Ils ont été étendus en une seule couche sur les paillasses et tournés de temps en temps afin d'éviter tout risque de fermentation qui pourrait altérer la qualité des huiles essentielles.

Les feuilles ont été récupérées du reste de l'échantillon et conservées dans des sacs propres à l'abri de la lumière jusqu'au moment de l'utilisation.

La quantité utilisée est de 650g pour la région de Blida et 380g pour la région de Djelfa.

### II.2.2. Matériel non biologique

Le matériel utilisé durant notre expérimentation : Verrerie, Réactifs et préparations, Les appareils (Annexe I), (Annexe II).

## II.3. LA ZONE DE PRELEVEMENT

### II.3.1. La région de Blida

La zone de prélèvement des échantillons se situe dans la station expérimentale de la faculté des sciences agronomiques vétérinaires et biologiques de l'université de SAAD DAHLEB de BLIDA.

Notre station se situe au bas du piedmont de l'atlas blidéen. Elle fait partie des plaines de la Mitidja comme étant la plus vaste plaine sublittoral de l'Algérie, elle s'étend sur une longueur de 100 km et une largeur de 5 à 20km, sa superficie est de 140000 hectares.

- **Caractéristiques édaphiques**

D'après les travaux qui ont été réalisés par (Ait Ourabe, 2000) sur les paramètres physiques, chimiques et physico-chimiques de différentes parcelles de la station expérimentale.

Il ressort ce qui suit :

- Texture : équilibrée à limoneuse.
- Structure : polyédrique moyennement développée et dépourvue de calcaire.

- La teneur en matière organique et en moyenne avec rapport C/N compris entre 4,3 et 23,8.
- Un sol poreux et perméable.
- Un pH neutre entre 6,5 et 7,5.
- Le complexe absorbant est saturé dans tous les horizons.
- Une capacité d'échange cationique (C.E.C) comprise entre 11 et 26.7meq /100g de sol.
- Le sol renferme des bonnes réserves minérales notamment en phosphore assimilable et en potassium assimilable.
- La teneur en azote est faible.

### ● **Caractéristiques climatiques**

L'Atlas tellien protège la ville des vents secs du sud en provenance des Hauts Plateaux. Cette protection permet à la région de bénéficier d'un climat méditerranéen propice à l'agriculture (BABO D., 2010).

#### - **La température**

Par rapport aux données du tableau 03 on remarque que le maximum du mois le plus chaud se situe au mois d'août, avec une moyenne de 26.5°C. Le minimum du mois le plus froid caractérise le mois de février, avec une moyenne de 11.7°C.

Les mois d'Avril et Mai sont caractérisés par des températures douces dont les moyennes se varient entre 20 et 25°C, favorables au développement végétal.

#### - **Les précipitations**

L'eau est un facteur dominant pour la croissance et le développement des végétaux. Du point de vue développement, (Halimi, 1984), a remarqué que dans l'Atlas blideen, il existe une relation étroite entre la période végétative et les précipitations, c'est à dire que les phases de développement des plantes se déroulent en même temps que les régimes pluviaux.

Nous pouvons constater que les précipitations moyennes annuelles sont de 596.50 mm. Les mois qui reçoivent une pluviométrie minimale sont : juin, juillet, août et septembre, tandis que la pluviométrie maximale est constatée durant les mois de novembre, décembre, Janvier, février.

Le mois le plus sec de l'année est juillet avec une pluviosité de 2,00 mm, par contre le mois le plus arrosé est novembre avec une hauteur moyenne de précipitation égale à 93,1 mm.

Les mois d'Avril et Mai ont reçus des précipitations moyennes situant entre 40 et 70 mm.



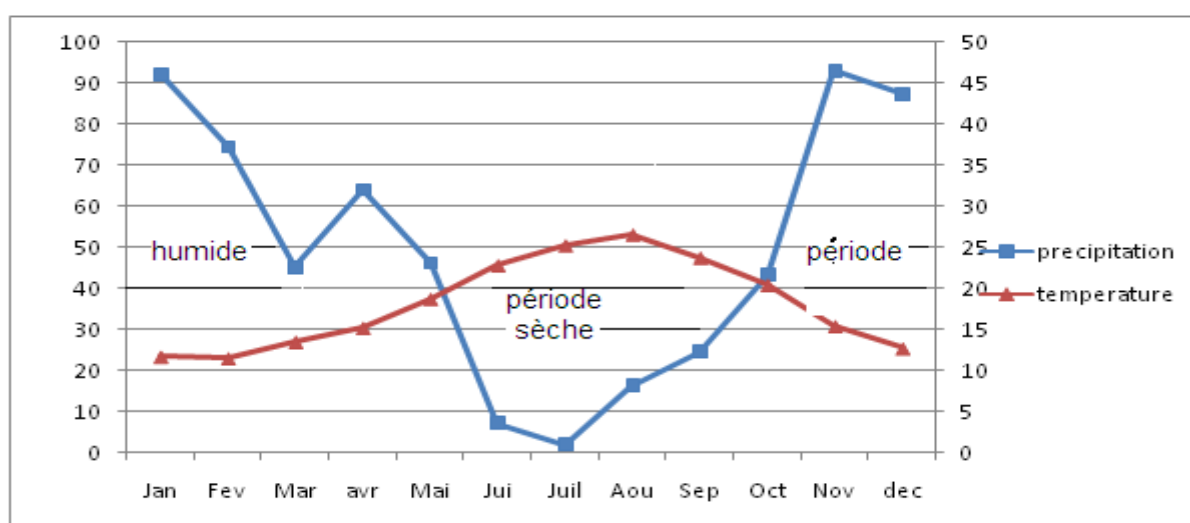
**Tableau 04** : Paramètres climatiques de la région de Blida ; étude réalisée en (1995-2004)  
Source : Office National de Météorologie.

les mois \ paramètres	Température moyenne (°C)	Précipitation moyenne (mm)
<b>Janvier</b>	11,7	92.2
<b>Février</b>	11,5	74.5
<b>Mars</b>	13,5	45.2
<b>Avril</b>	15,2	64.1
<b>Mai</b>	18,7	46.3
<b>Juin</b>	22,8	7.3
<b>Juillet</b>	25,2	2.0
<b>Août</b>	26,5	16.5
<b>Septembre</b>	23,7	24.7
<b>Octobre</b>	20,4	43.3
<b>Novembre</b>	15,4	93.1
<b>Décembre</b>	12,7	87.4
<b>Annuelle</b>	18,1	596.5

- **Diagramme ombrothermique :**

Selon BAGNOULS et GAUSSEN (1953) sera considéré comme sec, un moi ou le total des précipitations (P) exprimées est égale ou inférieur au double de la température moyenne (T) du mois, exprimée en degré centigrade ( $P \geq 2T$ ).

Le diagramme de Blida (figure 02) montre une période sèche s'étale de mi-mai jusqu'à fin Septembre.



**Figure 02** : Diagramme ombrothermique des moyennes de Blida des campagnes (1995/2004).

D'après le diagramme ombrothermique on constate que la période sèche s'étale de fin-mai à mi-octobre avec un minimum à mi-juillet. la période humide s'étale de mi-octobre à fin-mai avec un maximum en novembre.

### II.3.2. La région de Djelfa

La wilaya de Djelfa faisant partie de la région des hauts plateaux, est considérée comme une porte du grand Sahara. Elle s'étend sur une superficie totale de 32.280,41km<sup>2</sup>. La wilaya est caractérisée par le point culminant qui se situe à l'Est de la wilaya avec une altitude de 1613m et le point le plus bas à l'extrême sud, avec une altitude de 150m (**KHADRAOUI et al., 2001**).

#### • **Caractéristiques pédologiques**

selon **Khadraoui et al., 2001**, les sols sont en général peu évolués pauvres et fragiles, trop riches en calcaire. Les sols calcimagnésiques sont les plus répandus dans toute la région. La présence du calcaire est souvent sous forme de croûte à une profondeur de moins de 50cm constituant un véritable obstacle pour la pénétration du système racinaire des végétaux ligneux.

Les sols iso-humiques, selon la classification française, présentent relativement par rapport aux autres sols du milieu, une certaine richesse en matière organique. Sont utilisés à des fins agricoles.

#### • **Caractéristiques climatiques**

##### - **La température**

Par rapport aux données du tableau 05 on remarque que les températures accusent au mois de février un minimum de 2,10°C est un maximum de 28,10°C au mois de juillet.

##### - **Les précipitations**

Les précipitations ne tombent pas en grande quantité.

A travers les données du tableau 05 la majeure partie des précipitations tombe de Septembre à Novembre et de Mars et Avril (90 à 93%). Le reste 8 à 10% concerne celle de la période de Mai à Septembre cette période se caractérise par la sécheresse surtout de Juin à Août et même la période de Décembre à Février.

Les pluies souvent sont de courtes durées et tombent sous forme d'averses ; parfois il neige de Janvier à Mars avec une moyenne de 10 jours par an.

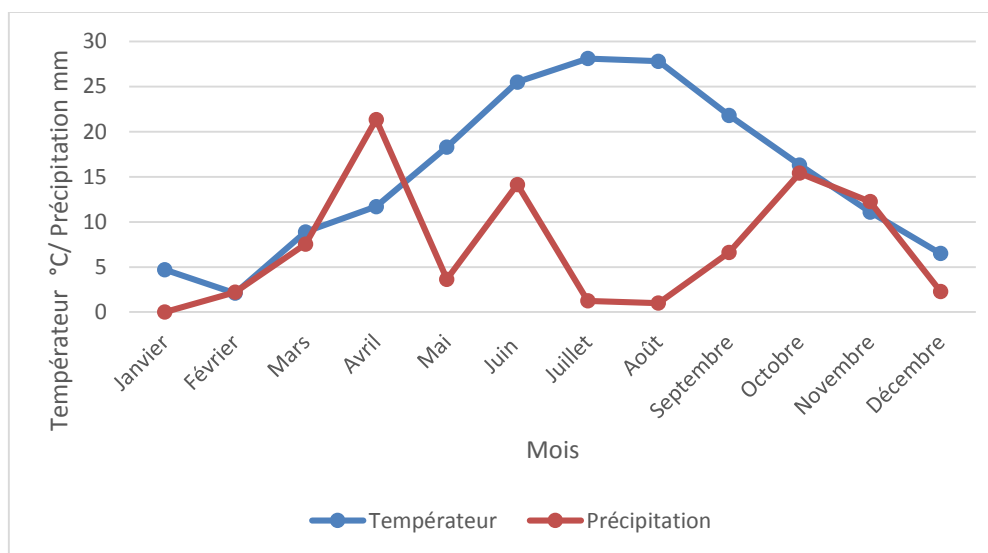
Selon Smail, (1991) ; la variation saisonnière indique que le maximum de pluie se situe en automne ou au printemps pour la station de Djelfa, cependant le minimum se localisant toujours en été. La durée d'enneigement est de l'ordre de 8 à 10 jours avec des années exceptionnelles où elle atteint une vingtaine de jours. (Djelfa : 16 jours en 1979).

**Tableau 05** : Paramètres climatiques de la région de Djelfa ; étude réalisée en 2012 par l'association INFO-CLIMA.

les mois \ paramètres	Température moyenne (°C)	Précipitation moyenne (mm)
<b>Janvier</b>	04.70	00,00
<b>Février</b>	02.10	2,20
<b>Mars</b>	08.90	7,55
<b>Avril</b>	11.7	21,35
<b>Mai</b>	18.30	3,65
<b>Juin</b>	25.50	14.15
<b>Juillet</b>	28.1	1.25
<b>Août</b>	27.8	1.00
<b>Septembre</b>	21.8	6,60
<b>Octobre</b>	16.3	15.40
<b>Novembre</b>	11.1	12,25
<b>Décembre</b>	6.50	2,3
<b>Annuelle</b>	15,23	87.7

- **Diagramme ombrothermique :**

Le diagramme ombrothermique de Djelfa (figure 03) est représenté comme suit :



**Figure 03** : Diagramme ombrothermique des moyennes de la région de Djelfa (2012).

D'après le diagramme ombrothermique on constate que la période sèche s'étale de mi-Avril à fin-Octobre avec un minimum de Juillet à Août. La période humide s'étale de début Octobre à mi-Avril avec un maximum en Avril.

## II.4. METHODES

### II.4.1. Méthode d'extraction

Parmi les différentes techniques d'exploitation des plantes aromatiques, on a opté pour l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau ; les principales raisons de cette référence sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé et pour la qualité des huiles essentielles obtenues lors de cette méthode.

Cette technique est simple, peu coûteuse et n'a pas une influence sur l'environnement puisqu'elle ne requiert aucun produit toxique.

#### II.4.1.1. Préparation d'échantillon de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*

La récupération d'échantillon de l'huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau a été effectuée au laboratoire. A cet effet, nous avons utilisé une matière végétale sèche.

- **Présentation du dispositif**

Le dispositif expérimental comprend principalement :

- Une chaudière de 5 litres remplie au 2/3 d'eau ;
- Une ampoule à décanter (ampoule de sécurité), reliée à la chaudière ;
- Un ballon contenant la matière végétale ;
- Un réfrigérant alimenté par un système de refroidissement ;
- Une ampoule à décanter pour récupérer l'hydrolat (eau+ huile essentielle)

(Annexe II).

- **Mode opératoire (Annexe III)**

#### 1<sup>er</sup> étape : l'extraction

La matière végétale est placée dans le ballon pour être entraînée par la vapeur parvenant du générateur, cette vapeur transporte l'huile essentielle de la matière végétale vers le réfrigérant puis elle est récupérée à la sortie du condenseur dans une ampoule.

**2<sup>ème</sup> étape : séparation liquide-liquide :** on ajoute au distillat obtenu, un solvant organique (di éthyle-éther), puis on agite et après décantation, la phase aqueuse se sépare de la phase huileuse (quelques vingtaine de minutes).

**3<sup>ème</sup> étape : Séchage par sulfate de sodium anhydride :** Après séparation des phases, on ajoute le Na<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>, pour éliminer toutes traces d'eau puis on filtre.

**4<sup>ème</sup> étape : Évaporation de l'éther di-éthylique :** La phase obtenue est évaporée sous pression réduite à 50°C par le rota vapeur, puis on récupère l'huile essentielle.

**Remarque 01:** cette procédure est utilisée quand la phase huileuse est complètement dissoute dans la phase aqueuse.

**Remarque 02:** Pour l'analyse Chromatographique en phase Gazeuse Couplée par Spectrométrie de Masse (CG/MS) de l'huile essentielle du romarin de la région de Blida on a récupéré l'échantillon de l'huile essentielle par la procédure suivante :

Après décantation du distillat dans une burette (quelques dizaine de minutes) la phase huileuse se sépare de la phase aqueuse et on récupère l'huile essentielle.

Les huiles essentielles obtenues sont conditionnée dans un tube en verre fumé hermétiquement fermé pour éviter tout risque d'altération des huiles essentielles par la lumière et l'oxygène de l'air.

Les tubes sont conservés dans un réfrigérateur à une température comprise entre 0°C et 4°C jusqu'à l'utilisation de l'huile essentielle pour les différentes analyses.

## II.4.2. Le rendement en huiles essentielles

Selon les normes d'AFNOR, le Rendement en Huiles Essentielles ( $R_{HE}$ ) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $M_H$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M_{mv}$ ) sèche ou fraîche.

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

$$R_{HE} (\%) = (M_H / M_{mv}) \times 100$$

Où :  $M_H$  : La Masse d'Huile Essentielle en gramme.

$M_{mv}$  : la masse de la matière végétale (sèche ou fraîche) utilisée en gramme.

$R_{HE}$  : Rendement en Huiles Essentielles.

## II.4.3. Les caractéristiques organoleptiques

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles consiste à évaluer l'aspect, l'odeur, la couleur et la flaveur ; en utilisant les sens.

## II.4.4. Les caractéristiques physico-chimiques

### II.4.4.1. Calcul de la densité

La densité d'une huile essentielle est définie comme étant le rapport de la masse de l'huile essentielle et le volume de celui-ci :

$$d = M_{HE} / V_{HE}$$

d : densité

$M_{HE}$  : Masse de l'Huile Essentielle (g)

$V_{HE}$  : Volume de l'Huile Essentielle (ml)

### II.4.4.2. Détermination de l'indice de réfraction ( $I_R$ )

- **Définition**

L'indice de réfraction d'une substance, est le rapport de vitesse de la lumière (à une longueur d'onde définie) dans le vide à sa vitesse dans la substance.

La mesure de l'indice de réfraction d'une huile, se fait à l'aide du réfractomètre (**Annexe II**) à une température constante (**AUDIGIE et al., 1983**).

- **Mode opératoire**

- L'instrument est réglé à une température ambiante;
- Verser une goutte d'H.E sur la surface du prisme ;
- Fermer le couvercle du prisme, assurer que le film d'H.E ne contient pas de bulles d'air, puis pointer le réfractomètre en direction d'une source lumineuse;
- Quand il y a du liquide sur le prisme, le champ est divisé en une partie claire et une partie sombre. Le point auquel la ligne de démarcation entre ces deux parties traverse l'échelle verticale donne la mesure. On peut ajuster la ligne sur l'échelle verticale à l'aide de vis située au-dessus ou au-dessous de la boîte contenant le prisme ;
- Lire avec précision la valeur affichée.

#### II.4.4.3. Détermination de l'indice d'acide

- **Définition**

L'indice d'acide d'un corps gras est la masse d'hydroxydes de potassium exprimée en milligramme nécessaire pour neutraliser l'acidité libre (acides gras libres), contenue dans un gramme de corps gras ( $I_A$  est sans unité) (COUTOULY *et al.*, 2006).

- **Mode opératoire**

- Introduire dans un erlenmeyer 0.5 g/l d'huile essentielle, 25 ml d'éthanol ;
- Ajouter 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur ;
- Neutraliser la solution avec l'hydroxyde de potassium contenu dans la burette jusqu'à ce que la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes (Annexe IV).

- **Calcul**

L'indice d'acide est donné par la formule suivante:

$$I_A = 5.61 \frac{v}{m}$$

Où:  $v$  : est le volume en millilitre de solution d'hydroxyde de potassium utilisée.

$m$  : est la masse en gramme de la prise d'essai

#### II.4.4.4. Détermination de l'indice d'ester

- **Définition**

L'indice d'ester d'un corps gras est la quantité de potasse exprimée en milligramme nécessaire pour saponifier des acides gras combinés présents dans 1g de corps gras (GAVRILOVIC *et al.*, 1996).

- **Principe**

Hydrolyse des esters par chauffage dans des conditions définies, en présence d'une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium et dosage de l'excès d'alcali par une solution titrée d'acide chlorhydrique.

- **Réactifs**

Ethanol à 95% volumique.

C (KOH)= 0.5 mol/l

C (HCl)= 0.5 mol/l

- **Mode opératoire**

- Introduire dans un ballon 0.5 g d'huile essentielle, ajouter à l'aide d'une burette 25ml de la solution d'hydroxyde de potassium KOH ainsi que des fragments de pierre de ponce ;
- Adapter un tube en verre au réfrigérant puis placer le ballon sur le bain d'eau bouillante pendant une heure ;
- Laisser le ballon refroidir, démonter le tube, ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur et enfin titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique. (**Annexe IV**)

- **Calcul**

L'indice d'ester est donné par la formule suivante:

$$I_E = 28.05/m (V_0 - V) - I_A$$

Ou :

$V_0$  : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique dans le test blanc.

$V$  : le volume en millilitre de la solution d'acide chlorhydrique utilisée.

$m$  : la masse en gramme de prise d'essai.

$I_A$  : la valeur d'indice d'acide, déterminée selon NFT 75-103.

## II.4.5. Méthode d'identification chimique de l'huile essentielle

### II.4.5.1. Analyse par Chromatographie en phase Gazeuse Couplée par Spectrométrie de Masse (CG/MS)

- **Condition de l'analyse de CG/MS**

L'analyse chimique des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse HP GC 6890, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme.

- **Les conditions opératoires:**

Chromatographe: Agilent 6890

Mass Selective Détecteur : Agilent 5973

Colonne HP-5 (5% phényle et 95% méthylpolysiloxane).

Programme du four : T° initiale 35 isotherme 5mn rate 6°C/mn jusqu'à 250°C

Température injecteur Splitter : 250°C

Température source : 230°C

Température interface : 280°C

Energie de fragmentation : 70év

Gaz vecteur : hélium à un débit de 1.5 ml/mn

# **CHAPITRE III**

## **RESULTATS ET DISCUSSION**



### III. RESULTATS ET DISCUSSION

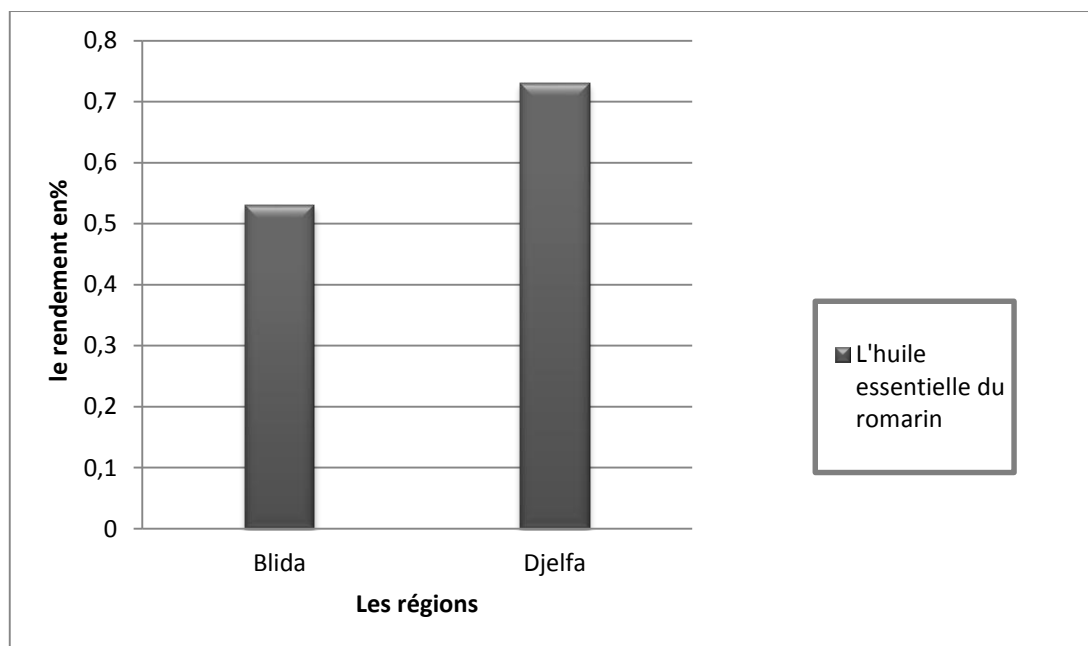
#### III.1. LE RENDEMENT

Les résultats du rendement en huile essentielle du romarin des deux régions (Blida et Djelfa) sont présentés dans le tableau 06 et traduit par l'histogramme figure 02.

**Tableau 06:** Variation du rendement en fonction des régions

	Rendement en %
Romarin de la région de Blida	0.53
Romarin de la région de Djelfa	0.73

Le rendement obtenu de la région de Blida est de 0.53% et celui de la région de Djelfa est de 0.73%.



**Figure 04 :** Histogramme d'évolution régionale des rendements.

\*Le rendement des deux provenances est variable.

Le rendement en huile essentielle du romarin de la région de Djelfa est de 0,73% parait plus important par rapport à celui obtenu de la région de Blida qui est de 0,53%.

Le rendement en huile essentielle des deux provenances est faible

## III.2. L'ETUDE ANALYTIQUE

### III.2.1. Tests organoleptiques de l'huile essentielle du romarin

L'huile essentielle du romarin obtenue par entraînement à la vapeur d'eau est représentée par la figure 03 et la figure 04.



**Figure 05:** Huile essentielle du romarin de la région de Blida.



**Figure 06:** Huile essentielle du romarin de la région de Djelfa.

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du romarin obtenue par entraînement à la vapeur d'eau sont résumées dans le tableau 07.

**Tableau 07:** Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du romarin.

<b>Origine</b>	<b>Aspect</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur et saveur</b>
<b>Huile essentielle du romarin (région de Djelfa)</b>	Liquide	Vert-jaunâtre	<b>Odeur caractéristique de l'espèce</b>
<b>Huile essentielle du romarin (région de Blida)</b>	Liquide	Jaune claire	<b>Odeur caractéristique de l'espèce</b>
<b>Huile essentielle du romarin (norme d'AFNOR)</b>	<b>Liquide mobile</b>	<b>Presque incolore à jaune pâle</b>	<b>Odeur caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée.</b>

### III.2.2. Analyse physico-chimique

Les résultats des constantes physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin sont regroupés dans le tableau 08.

**Tableau 08:** Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle du romarin.

<b>Paramètres physico-chimiques</b>	<b>La valeur de l'HE du romarin (région Djelfa)</b>	<b>La valeur de l'HE du romarin (région Blida)</b>	<b>Normes selon AFNOR</b>
<b>Densité</b>	0,908	0.897	<b>0,894 - 0,912</b>
<b>Indice de réfraction</b>	1,453	1.472	<b>1.464 - 1.476</b>
<b>Indice d'acide</b>	2,80	9,96	<b>Nd</b>
<b>Indice d'ester</b>	<b>654,22</b>	<b>947,61</b>	<b>Nd</b>

La densité de l'huile essentielle de la région de Djelfa égale à 0.908 g/ml, elle représente un résultat conforme aux normes d'AFNOR.

La densité de l'huile essentielle de la région de Blida égale à 0.897 g/ml, elle représente un résultat conforme aux normes d'AFNOR.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle de la région de Djelfa est de 1,453. Ce résultat obtenu est conforme aux normes AFNOR.

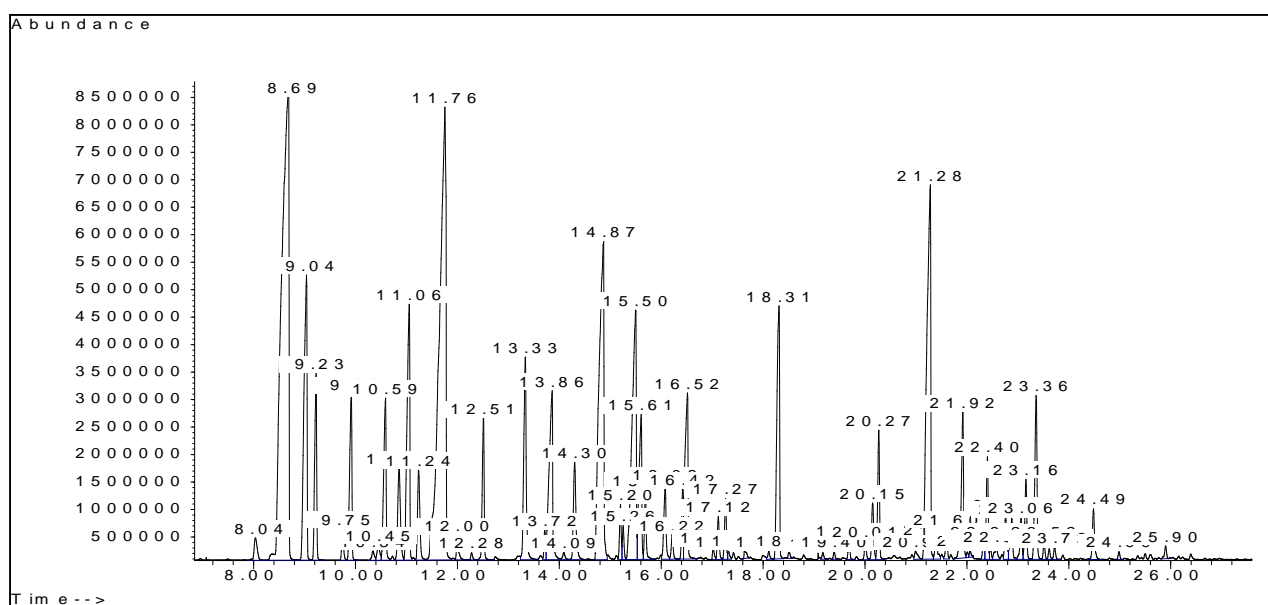
L'indice de réfraction de l'huile essentielle du romarin de la région de Blida est de 1.472. Ce résultat obtenu est conforme aux normes AFNOR.

L'indice d'acide du romarin de la région de Djelfa est de 2,80 et celui de la région de Blida est de 9,96. On remarque qu'il y a une grande différence de l'indice d'acide des huiles essentielles des deux provenances.

L'indice d'ester du romarin de la région de Djelfa est de 654,22 et celui de la région de Blida est de 947,61. On remarque qu'il y a une différence significative de l'indice d'ester des huiles essentielles des deux provenances.

### III.2.3. L'analyse par CG/MS

Les résultats de l'analyse par CG/MS sont montrés dans le chromatogramme (**Figure 05**).



**Figure 07** : Chromatogramme de CG/MS de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Blida.

Le tableau 09 représente les principaux composés identifiés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la région de Blida :

**Tableau 09** : Composition chimique de l'huile essentielle du romarin de Blida.

<b>Composés</b>	<b>Proportion (%)</b>	<b>Temps de rétention (mn)</b>
<b><math>\alpha</math>-Pinène</b>	16.783%	8,672
<b>Camphene</b>	4.192%	9,025
<b><math>\beta</math>-Thujene</b>	1.807%	9,22
<b><math>\beta</math>-Cymene</b>	0.293%	9,743
<b>Bicyclo(3.1.1)hepta, 6,6-dimethyl-2-</b>	1.821%	9.914
<b><math>\beta</math>-Pinene</b>	1.913%	10.578
<b><math>\alpha</math>-Phellandrène</b>	1.205%	10.858
<b>Cyclofenchene</b>	3.412%	11.040
<b><math>\alpha</math> -Terpinene</b>	1.031%	11.235
<b>Eucalyptol</b>	14.403%	11.735
<b><math>\gamma</math> -Terpinene</b>	1.297%	12.508
<b>Terpinolene</b>	2.449%	13.324
<b><math>\beta</math>- Linalool</b>	2.936%	13.847
<b>Camphor</b>	7.382%	14.840
<b>Borneol</b>	5.105%	15.467
<b>3-Pinanone</b>	1.928%	15.595
<b>L-bornyl acetate</b>	3.345%	18.304
<b>Copaene</b>	1.187%	20.271
<b>Caryophyllene</b>	7.000%	21.252
<b><math>\alpha</math> -Caryophyllene</b>	1.551%	21.927
<b><math>\gamma</math> -Muurolene</b>	0.921%	22.402
<b><math>\delta</math> -Cadinene</b>	1.767%	23.358
<b>Caryiphyllene oxide</b>	0.538%	24.485
<b>Total</b>	<b>84,266%</b>	

L'identification du spectre a permis de faire ressortir 69 pics. 23 composés ont été identifiés et qui représentent 84,266% de la totalité des composés de notre huile essentielle dont 15,734% sont à l'état de trace.

Comme le montre le tableau 09, l'huile essentielle obtenue est très riche en termes de composés. On note une différence relativement importante entre les teneurs de ses composés.

En effet, les composés majoritaires dans notre cas sont l' $\alpha$ -Pinène (16.783%) et qui représente le composé majoritaire, suivi de l'Eucalyptol (14.403%), le Camphor (7.382%), le Caryophyllène (7.000%), le Borneol (5.105%), le Camphène (4.192%), le Cyclofenchène (3.412%) et le L-bornyl acetate (3.345%). Les autres composés étaient présents en teneurs inférieures à (3)%.

### III.3. DISCUSSION GENERALE

- Le rendement est variable selon la localisation géographique. En effet, le rendement total de *Rosmarinus Officinalis* L. cueilli dans la région de Djelfa (R = 0,73%) est largement supérieur à celui de Blida (R = 0,53%).

Par rapport aux résultats obtenus, il nous semble que la nature du sol et les facteurs climatiques du milieu présentent un effet direct sur le rendement de l'huile essentielle.

Dans notre cas, la différence des rendements entre les différentes régions confirme les travaux de **BENAZZEDDINE, 2010** qui signale que le rendement des huiles essentielles peut varier selon l'âge, le cycle végétatif de l'organe, le mode d'extraction, les facteurs climatiques et la nature du sol.

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

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

L'odeur camphrée de cette huile essentielle est liée à la présence d'une quantité assez importante de camphre.

- Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles des deux régions sont différentes. En effet, l'indice de réfraction obtenu est : Blida ; 1,472 et Djelfa ; 1,453. L'indice de réfraction est inversement lié au degré d'insaturation de l'huile essentielle (**GACEM et al., 1995**). L'indice de réfraction de l'huile essentielle du romarin des deux régions Blida et Djelfa est supérieur à celui de l'eau (1.335), ceci montre la richesse de notre huile en composés qui devient la lumière polarisée.

Des différences ont été également notées de la mesure de la densité. Cependant, malgré toutes ces différences, nous remarquerons que les paramètres physico-chimiques des huiles

essentielles de *Rosmarinus Officinalis* L. des deux localités sont en accord avec ceux donnés par l'AFNOR.

La détermination des propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide et indice d'ester) est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques GC/MS, cette dernière technique, souvent utilisée comme moyens analytiques complémentaires pour l'analyse structurale des substances volatiles (**AYADI, JERRIBI et ABDERRABBA, 2011**), a été employée pour identifier les huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* L.

- l'analyse par CG/MS a permis de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. cueillie de la région de Blida.

Par rapport aux résultats obtenus, nous constatons que notre huile essentielle paraît très riche en termes de composés. On note une différence relativement importante entre les teneurs de ses composés.

En effet, les composés majoritaires dans notre huile essentielle sont l' $\alpha$ -Pinène (16.783%) et qui représente le composé majoritaire, suivi de l'Eucalyptol (14.403%), le Camphor (7.382%), le Caryophyllène (7.000%), le Borneol (5.105%), le Camphène (4.192%), le Cyclofenchène (3.412%) et le L-bornyl acetate (3.345%). Les autres composés étaient présents en teneurs inférieures à (3)%.

Nous avons par la suite comparé la composition chimique de notre huile essentielle à celles issues principalement de l'Italie, la Turquie, le Portugal et la Tunisie.

Les études réalisées sur le *Rosmarinus Officinalis* L. cueillie en Italie, Turquie, Portugal et la Tunisie, montrent une importante variation dans la composition chimique de l'huile essentielle de romarin comparée à notre résultat. En effet, l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* cueillie en Italie selon PINTORE et *al.* est constituée essentiellement de verbanone (20,3%) ; l' $\alpha$ -pinène (13,7%) ; 1,8-cinéole (3,4%) et camphre (2,9%) alors que celle de *Rosmarinus Officinalis* cueillie en Turquie selon YESIL CELIKTAS et *al.*, 2007 est composée principalement de 1,8-cinéole (60,9%) l' $\alpha$ -pinène (7,8%) et camphre (7,1%). Par contre l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* cueillie au Portugal (**MATA et al., 2007**) est constituée essentiellement de verbanone (35,4%) ; camphre (5,5%) et 1,8-cinéole (3,1%). Alors que le composé majoritaire de l'huile essentielle du romarin de Tunisie selon MATHLOUTHI, et *al.* 2009 est le cinéole (50 %) suivi du camphre (12 %), de l' $\alpha$ -pinène (10%) et du bicyclo-3.1.1-heptane (6,5%).

La variation détectée dans la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. issue de différents pays est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur environnemental, les conditions climatiques et géographiques qui changent d'un pays à un autre, et à la période de la cueillette. La méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition de l'huile essentielle, et les procédés, qui utilisent l'eau, peuvent induire l'hydrolyse des esters et aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations,...etc. (**AYADI, JERRIBI et ABDERRABBA, 2011**)

Entre autre, nous avons comparés la composition chimique de notre huile essentielle à certains travaux qui sont réalisés sur la composition de l'huile essentielle de romarin cueilli de différentes localités de l'Algérie. Nous constatons que la composition chimique des huiles essentielles du romarin diffère selon la localité.

En effet, dans la région des Bibans (Bordj-Bou-Argeridj), le composé majoritaire est le 1,8-cinéole (52.4%), suivi du camphre (12.6%) (**BOUTEKEDJIRET et al. 1998**)

Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Argeridj contient surtout du (E)- $\beta$ -caryophyllène (13,9%) à côté du camphre (12,1%), du bornéol (10,1%), de l' $\alpha$ -terpinéol (9,5%) et 7,5% de cinéole (**BENHABLES et AÏT-AMAR, 2001**).

L'étude réalisé par ATIK BEKKARA1 et al., 2007 sur les compositions des deux échantillons de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. (sauvage et cultivé) provenant de la région de Tlemcen montre que le composé majoritaire chez le Romarin spontané est l' $\alpha$ -pinène (23.1%), suivi par le camphre (15.3%) et le  $\beta$ -pinène (12.2%). Chez le Romarin cultivé, le composé principal est le camphre (13.8%), suivi de l' $\alpha$ -pinène (12.6%), du cinéole (11.8%) et du bornéol (10.8%).

Les variations, rencontrées dans la composition chimique du point de vue qualitatif et quantitatif de notre huile essentielle comparé à certains travaux antérieurs sur les compositions chimiques des échantillons de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. provenant de différentes localités de l'Algérie, peuvent être dues à certains facteurs écologiques, à la partie de la plante utilisée, à l'âge de la plante et la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (**BEKKARA, 2007**).

Ces résultats expliquent bien les fluctuations dans les valeurs des propriétés physicochimiques des différentes huiles essentielles obtenues.



# CONCLUSION

## CONCLUSION

Les huiles essentielles du romarin, *Rosmarinus Officinalis* L., cultivé dans deux régions géographiquement différentes en Algérie ont été obtenues par entraînement à la vapeur d'eau. L'étude de ces huiles essentielles, extraites d'une plante de romarin de deux provenances Blida et celles de la région de Djelfa, montre que :

- Le rendement en huile essentielle est variable selon la localisation géographique. En effet, cette variabilité peut être due aux facteurs climatiques, la nature du sol, le cycle végétatif de l'organe, le mode d'extraction ou même selon l'âge.
- L'huile essentielle des deux échantillons présente des caractéristiques organoleptiques conformes aux normes AFNOR avec une légère différence au niveau de la couleur, qui est due à la variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.
- Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles des deux régions sont différentes. Les fluctuations dans les valeurs des propriétés physicochimiques des différentes huiles essentielles obtenues sont dues principalement à la variation de la composition chimique de l'huile essentielle.
- L'analyse par CG/MS a permis de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* L. cueillie de la région de Blida.

Par rapport aux résultats obtenus, nous constatons que l'huile essentielle paraît très riche en termes de composés. On note une différence relativement importante entre les teneurs de ces composés.

En effet, les composés majoritaires dans notre huile essentielle sont l' $\alpha$ -Pinène (16.783%) et qui représente le composé majoritaire, suivi de l'Eucalyptol (14.403%), le Camphor (7.382%), le Caryophyllène (7.000%), le Borneol (5.105%), le Camphène (4.192%), le Cyclofenchène (3.412%) et le L-bornyl acetate (3.345%). Les autres composés étaient présents en teneurs inférieures à (3)%.

Nos résultats sont conformes à ceux publiés dans la littérature où nous avons rencontré presque tous les composés cités. Ainsi, nous pouvons dire que la différence de composition entre les différentes huiles essentielles du romarin est due à : l'origine géographique, le facteur environnemental, les conditions climatiques, la méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition chimique de l'huile essentielle, la méthode de séchage des feuilles, une erreur d'identification des plantes par les collecteurs et les procédés, qui utilisent l'eau, peuvent induire l'hydrolyse des esters et aussi des réarrangements, des isomérisations, des racémisations, des oxydations,...etc..

Comme perspective et en vue de poursuivre et d'approfondir ce travail, il serait nécessaire également :

- \* de compléter cette étude par l'identification des composés qui possèdent un pouvoir antimicrobien ;
- \* d'étudier la variation de la composition en huiles essentielles selon les saisons ou les mois ;
- \* d'étudier les différentes activités thérapeutiques que peut contenir le *Rosmarinus officinalis* L. ;
- \* d'exploiter la richesse de la flore algérienne pour créer de nouveaux espaces d'études et donner naissance à plusieurs idées dans le domaine de la biotechnologie pour améliorer les secteurs sanitaires et agroalimentaires.

**REFERENCES**

**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**AL-SEREITI MR., ABU-AMER et al., 1999:** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. Indian Journal of Experimental Biology Vol. 37.124-130pp.

**AMIN A, HAMZA AA., 2005:** Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. Life Sciences. Volume 77, Issue 3. 266-278pp.

**ANONYME, 1994: Commission E;** comité scientifique ayant siégé en Allemagne de 1978-1994 et ayant évalué et approuvé l'usage thérapeutique de 254 plantes ou combinaison de plante.

**ANONYME, 1996 : QA International Collectif :** L'Encyclopédie visuelle des aliments. Ed Québec Amérique.

**ANONYME, 1997: ESCOP;** European Scientific Cooperative on Phytotherapy (Ed). Rosmarini folium cum flore, ESCOP Monographs on the Medicinal Uses of Plants Drugs, Centre for Complementary Health Studies, Université d'Exeter, Grande-Bretagne, 1997.

**ATIK BEKKARA F., L. BOUSMAHA, S.A. TALEB BENDIAB, J.B. BOTI, J. CASANOVA, 2007 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie et Santé vol. 7, n° 1.

**AUDIGIE Cl., DUPONT G.et ZONZAIN F., 1983:** Principe des méthodes d'analyse biochimique Tome1. Ed. Doin.

**AYADI S., JERRIBI C. et ABDERRABBA M., 2011 :** Extraction et étude des huiles essentielles de *rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. la Marsa, Tunisie.

**BABO D., 2010 :** Algérie, « Des hommes et des lieux ». Éditions le Sureau, coll, Algérie. p. 30

**BARDEAU F., 2009 :** les Huiles Essentielles. Santé pratique. Ed. Fernand Lanore. 315p.

**BAUMANN LS. DERMATOL T., 2007 :** Less-known botanical cosmeceuticals. 20(5):330-42. Review.

**BEKKARA F. A., 2007 :** Biologie et santé. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontanée et cultivée de la région de Tlemcen. Vol.7. n° 1.

**BENZAZZEDDINE S., 2010 :** Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à-vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera;

Tenebrionidae) Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach Algérie - Ingénieur d'état en sciences agronomiques.

**BENETEAUD E., 2011 :** Les techniques d'extraction. Ed Comité français du Parfum. pp 1-7.

**BENHABILES N.E.H., AÏT-AMAR H., 2001 :** Comparative study of Algeria's *Rosmarinus eriocalys* and *R. officinalis*. *Perfumer & Flavorist*. vol. 26, no5, pp. 40-48.

**BENZIANE A. et YOUSFI I., 2001 :** Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Djelfa. Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia atlantica* Desf. Mémoire de fin d'étude. Centre Universitaire ZIANE ACHOUR Djelfa.

**BESOMBES, COLETTE, 2008 :** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermo-mécanique d'herbes aromatiques. Thèse doctorat, université de la ROCHELLE.

**BOUTEKEDJIRET C., BENTAHAR F., BELABBES R., BESSIERE J.M., 1998 :** The essential oils from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria, *J. Essent. Oil Res.* pp. 680-682.

**BOUTEKEDJIRET C., BELABBES R., BENTAHAR F., BESSIERE J.M., 1999 :** Study of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and composition as a function of the plant life cycle, *J. Essent. Oil Res.* pp. 238-240.

**CHARBEL A., 2010 :** méthode d'extraction des huiles essentielles. *Health & Medicine*.

**COUTOULY.G, KLEINE.E, BARBIERIE et KRIAT.M 2006 :** Travaux dirigés de biochimie, biologie moléculaire et bioinformatique Biosciences et techniques Editions Doin, 346 pages.

**De Billerbeck V.G. (2007).** HE et bacteria résistantes aux Antibiotique. *Phytotherapie*.pp:249-253.

**DEGRYSE A.c, DELPLA.I et VOINIER M.A 2008 :** Atelier santé environnement risques et bénéfices possibles de huiles essentielles. Article 94 p.

**DEL BANO MJ, CASTILLO J, BENAVENTE-GARCÍA O., LORENTE J., MARTÍN-GIL R., ACEVEDO C. ET ALCARAZ M., 2006 :** Radioprotective-antimutagenic effects of rosemary phenolics against chromosomal damage induced in human lymphocytes by gamma-rays. *J Agric Food Chem.* pp: 2064-2068.

**DIAS PC, FOGLIO MA., et al., 2000 :** Antiulcerogenic activity of crude hydroalcoholic extract of *Rosmarinus officinalis* L. *J Ethnopharmacol.* pp : 57-62.

**DORMAN H.J.D., DEANS S.G. (2000) :** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. - *J. Appl. Microbiol.* pp: 308-316.

**ELAMRANI, A., ZSIRA S., BENJILALI B., BERRADA M., 2000** : A study of Moroccan Rosemary oils. J.Essent. Oil Res. pp : 487-495.

**ELOUTASSI N., LOUASTE B., BOUDINE L. et REMMAL A., 2013** : Contribution au développement des régions rurales: Conservation de *Rosmarinus officinalis*. Ed. Mersenne, Maroqne.

**ENGLEBIN M., 2011** : Essences et huiles essentielles : précautions d'emplois et conseils d'utilisations

**FAHIM FA, ESMAT AY, et al., 1999** : Allied studies on the effect of *Rosmarinus officinalis* L. on experimental hepatotoxicity and mutagenesis. Int J Food Sci Nutr. pp :413-427.

**GACEM D., CHERIF D. et MEKHTOUI K. 1995**: Evaluation de la qualité de l'huile d'olive à travers la wilaya de Tizi-ouzou.

**GARNERO J.,** : Technique de l'ingénieur

**GARRETA R., 2007** : Des simples à l'essentiel : De l'herboriste à l'aromathérapie. Edition les Anthropologiques, Toulouse. 367 pages.

**GAVRILOVIC M., MAGINOT M.J. et WALLACH J., 1996**: Manipulations d'analyse biochimique *Biosciences et techniques* Édition3 Doin.453 pages

**GOETZ P. et GHEDIRA K., 2012** : Phytothérapie anti-infectieuse. Ed. springer-Verlag, France, Paris. p p 341-347.

**GUILLEN MARIA D., CABO N.J., 1995**: Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. J. Sci. Food Agric. pp: 359-363.

**GUTIERREZ R., ALVARADO JL., et al., 2009**: Oxidative stress modulation by *Rosmarinus officinalis* in CCl(4)-induced liver cirrhosis. Phytother Res.

**HELAL Y., 2010** : Etude de biomasse du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) dans le massif des Beni-Imloul-Aures-Algerie. Université de la Foresterie, Sofia.

**INFO-CLIMA** : Cartes météo en temps réel, relevés - France, Europe.

**ISERIN P., 2001** : Encyclopédie des plantes médicinales. Ed : Larousse Bourdasse .Paris . p.335

**KALOUSTIAN J. ET HADJI-MINAGLOU F., 2013** : la connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Ed. Springer Science et Business. 226p.

**KHADRAOUI Z. et OUANOUI Y., 2001 :** Contribution à l'étude bio-écologique des peuplements d'Acridien (Orthoptera-caelifera) dans trois stations de la région de Moudjbara.W.Djelfa.

**KLANCNIK A., GUZEJ B. and KOLAR MH., 2009:** In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. J Food Prot. pp:1744-1752.

**LAHLOU M. (2004) :** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils/phytotherapy research. pp: 435-448.

**LAMENDIN H., 2007 :** Soignez votre bouche par les plantes. Ed. Le Harmattan. 216p.

**LUKACZER D., DARLAND G. et al., 2005 :** A pilot trial evaluating Meta050, a proprietary combination of reduced iso-alpha acids, rosemary extract and oleanolic acid in patients with arthritis and fibromyalgia. Phytother Res. pp:864-869.

**LUQMAN S., DWIVEDI GR., et al., 2007 :** Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections. Altern Ther Health Med. pp:54-59. Review.

**M MATA A.T., PROENÇA C., FERREIRA A.R., SERRALHEIRO M.L.M, NOGUEIRA J.M.F, ARAUJO M.E.M., 2007 :** Food Chemistry. pp:103, 778.

**MASSAOUDI S., 2005 :** 250 plantes médicinales. Tunisie. 163p- 164p.

**MATHLOUTHI N., BOUZAIËNNE T., OUESLATI I., RECOQUILLAY F., HAMDI**

**M. et BERGAOUI R., 2009 :** Effet de deux préparations d'huiles essentielles sur la croissance des bactéries *in vitro* et les performances du poulet de chair. Tunisie. 2016p-2020p.

**MAYER F., 2012 :** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse de Docteur. Université de Lorraine. 92p

**MEBARKI N., 2010 :** Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse- antimicrobienne. Thèse magister. Université de Boumerdes. pp 124.

**MENDHAM J., 2005 :** Analyse chimique quantitative de Vogel. Ed. De Boeck Supérieur. 889p.

**MILPIED H., 2009 :** Progrès en dermatologie-allergologie. Bordeaux. Ed. John Libbey Eurotext. 391p.

**MINICH DM., BLAND JS., KATKE J. et al., 2007:** Clinical safety and efficacy of NG440: a novel combination of rho iso-alpha acids from hops, rosemary, and oleanolic acid for inflammatory conditions. Can J Physiol Pharmacol. pp:872-883.

**MORENO S., SCHEYER T., et al., 2006:** Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radic Res. pp:223-231.



**PINTORE G., USAI M., BRADESI P., JULIANO C., BOATTO G., TOMI F., CHESSA M., CERRI R. et CASANOVA J., 2002 :** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance journal*. pp: 17, 15-19.

**PRABUSEENINIVASAN S., JAJACUMAR M. et IIGNACIMUTHUS S. (2006) :** In vitro antibacterial activity of some plant essential oil. *Biomed central complémentart and Alternative Medecine*. 39p.

**RAMEAU J.C. et MANSION D., DUME G., 2008 :** Flore forestière française : guide écologique illustré. Région méditerranéenne. Ed Foret privée française. 2426p.

**RENE A., 2008 :** Cultivez les plantes sauvages et comestibles. Paris. 45p.

**ROTA MC., HERREA A., MARTINEZ C. et al. (2008) :** Antibacterial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *T.zygis* and *T.lymolis* essential oils. *Food.control*.pp:681- 687.

**SAMBAMURTY A. V. S. S., 2005 :** Taxonomy of Angiospermes. Ed. New Delhi, I. K. International Pvt. Ltd. 908 p.

**SANCHETI G, GOYAL PK., 2006 :** Effect of *rosmarinus officinalis* in modulating 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced skin tumorigenesis in mice. *Phytother Res*. pp:981-986.

**SELL Y., BENEZRA C. et GUERIN B., 2002 :** Plantes et réactions cutanées. Ed., John Libbey Euritext. 157p.

**SENER B., 2008:** Innovation in Chemical Biology. Biomedical and Life Sciences. Ed. Illustrée. 472p.

**SMAIL M., 1991 :** Aspect de l'aménagement de la steppe algérienne Cas e la wilaya de Djelfa. Mémoire de doctorat. Université PAUL VALERY Montpellier III. Montpellier France. pp.1 – 45.

**SOFOWORA A., 2010 :** plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique. Ed. KARTHALA. 378p.

**SOLIMAN F.M., KASHOURY E.A., FATHYM.M., GONAIID M.H., 1994 :** Analysis and biological activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Egypt. *Flavour Fragr. J.* 9, 29-33pp.

**VALERO M., FRANCES E., 2006:** Synergistic bactericidal effect of carvacrol cinnamaldehyde or thymol and refrigeration to inhibit *Bacillus cereus* in carrot broth. *Food Microbiology* . pp: 68-73.

**VISANJI JM, THOMPSON DG et PADFIELD PJ., 2006:** Induction of G2/M phase cell cycle arrest by carnosol and carnosic acid is associated with alteration of cyclin A and cyclin B1 levels. *Cancer Lett.* pp:130-136.

**WILSON M., GUYLAINE G., 2008 :** Fleurs comestibles : Du jardin à la table. Ed Fides. 278p.

**YESIL CELIKTAS O., HAMES. KOCABAS E.E., BEDIR E., VARDAR SUKAN F., ORZEK T., BASER K. H. C, 2007:** *Food Chemistry.* 100, 553p.

**ZENG HH, TU PF. et al., 2001 :** Antioxidant properties of phenolic diterpenes from *Rosmarinus officinalis*. *Acta Pharmacol Sin.* pp:1094-1098.

# **TABLE DES MATIERES**

## TABLE DES MATIERES

### INTRODUCTION

### CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 ETUDE DU ROSMARINUS OFFICINALIS L .....	3
I.1.1. HISTORIQUE.....	3
I.1.2. LA NOMENCLATURE.....	3
I.1.3. CLASSIFICATION BOTANIQUE.....	3
I.1.4. DESCRIPTION BOTANIQUE.....	4
I.1.5. REPARTITION GEOGRAPHIQUE.....	5
I.1.6. HABITAT ET CULTURE.....	5
I.1.7. CONSTITUANTS CHIMIQUES.....	5
I.1.8. DIVERS USAGES ET PROPRIETES DU ROMARIN.....	6
I.1.8.1. EN AGRO-ALIMENTAIRE.....	6
I.1.8.2. EN COSMETIQUE.....	7
I.1.8.3. EN PHYTOTHERAPIE.....	7
I.1.9. COMPOSITION CHIMIQUE DE L’HUILE ESSENTIELLE DU ROMARIN.....	8
I.2. LES HUILES ESSENTIELLES.....	10
I.2.1. DEFINITION DE L’HUILE ESSENTIELLE.....	10
I.2.2. PARTIE DE LA PLANTE UTILISEE.....	10
I.2.3. CONDITIONS OPTIMALES DE CUEILLETTE.....	10
I.2.4. LES TECHNIQUES D’EXTRACTION.....	11
I.2.4.1. L’ENFLEURAGE.....	11
I.2.4.2. L’HYDRO-DISTILLATION OU ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D’EAU.....	11
I.2.4.3. L’ENTRAINEMENT A LA VAPEUR SECHE.....	11
I.2.4.4. L’EXTRACTION PAR SOLVANTS VOLATILS.....	12
I.2.4.5. L’EXTRACTION AU CO2 SUPERCRITIQUE.....	12
I.2.4.6. L’EXPRESSION.....	12
I.2.5. IDENTIFICATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	12
I.2.5.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	12
I.2.5.2. Le chromatographe en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CPG-SM).....	13

I.2.6. COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES.....	13
I.2.7. CARACTERES PHYSIQUES.....	14
I.2.8. CONSERVATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	14
I.2.9. VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES.....	14
I.2.10. DOMAINES D'APPLICATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	15
I.2.1.1. PRECAUTIONS D'UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES.....	17
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES	
II.1. LOCALISATION DU LIEU D'EXPERIMENTATION.....	19
II.2. MATERIEL.....	19
II.2.1. Matériel biologique.....	19
II.2.2. Matériel non biologique.....	19
II.3. LA ZONE DE PRELEVEMENT.....	19
II.3.1. La région de Blida.....	19
II.3.2. La région de Djelfa.....	22
II.4. METHODES.....	24
II.4.1. Méthode d'extraction.....	24
II.4.1.1. Préparation d'échantillon de l'huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	24
II.4.2. Le rendement en huiles essentielles.....	25
II.4.3. Les caractéristiques organoleptiques.....	25
II.4.4. Les caractéristiques physico-chimiques .....	25
II.4.4.1. Calcul de la densité .....	25
II.4.4.2. Détermination de l'indice de réfraction (IR) .....	25
II.4.4.3. Détermination de l'indice d'acide .....	26
II.4.4.4. Détermination de l'indice d'ester .....	26
II.4.5. Méthode d'identification chimique de l'huile essentielle .....	27
II.4.5.1. Analyse par Chromatographie en phase Gazeuse Couplée par Spectrométrie de Masse (CG/MS) .....	27
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III. RESULTATS ET DISCUSSION .....	29
III.1. LE RENDEMENT .....	29
III.2. L'ETUDE ANALYTIQUE .....	30
III.2.1. Tests organoleptiques de l'huile essentielle du romarin .....	30
III.2.2. Analyse physico-chimique .....	31
III.2.3. L'analyse par CG/MS .....	32
III.3. DISCUSSION GENERALE .....	34

# ANNEXES

## **ANNEXE I**

### **1- Le matériel utilisé lors de l'expérimentation :**

- Balance de précision.
- Etuve.
- Chauffe ballon.
- Hôte à flux laminaire
- Plaque chauffante

### **2- Verrerie**

- Papier aluminium.
- Tubes à essai en verre.
- Seringues stériles.
- Flacons.
- Béchers.
- Pince de laboratoire.
- Anse de platine stérile.
- Portoir pour tubes.
- Entonnoir.
- Etiquettes.
- Erlenmeyer.
- Pierre de ponce.
- Réfrigérant à reflux.
- Disque en papier.
- Ecouvillon stérile.
- Pipette pasteur.
- Ballon.
- Fioles.
- Burette
- Ampoule à décanter.
- Spatule.
- Pipettes graduées.

### **3-Réactifs et préparations :**

- Eau distillée
- Ether di-éthylique
- Solution de potasse 0.1 N
- Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium
- Phénophtaléine
- Acide chlorhydrique
- KOH
- Sulfate de Sodium Anhydride ( $\text{Na}_2 \text{SO}_4$ )
- Ethanol

## **ANNEXE II**

### **Les appareils utilisés**



**Le montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.**



**Retavapeur**





**Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/MS)**



**Etuve**



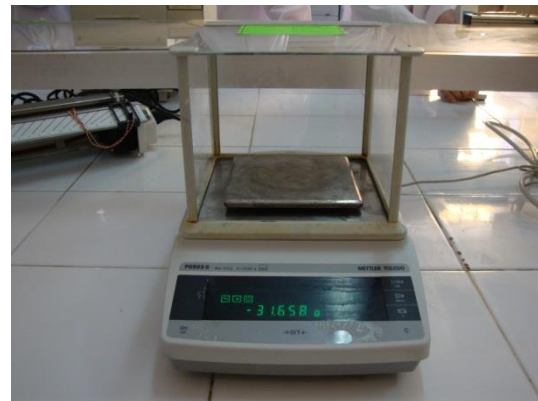
**Etuve**



**Hôte à flux laminaire.**



**Réfractomètre**



**Balance**

### **ANNEXE III**

#### **Préparation d'échantillon des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Blida**



**Entraînement par la vapeur  
de la matière végétale**



**L'huile essentielle obtenue après  
décantation**

#### **Préparation d'échantillon des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Djelfa**



**Entraînement par la vapeur  
de la matière végétale**



**Décantation**



**Séparation liquide-liquide**



**Le distillat obtenu**



**Évaporation de l'éther di-éthylique**



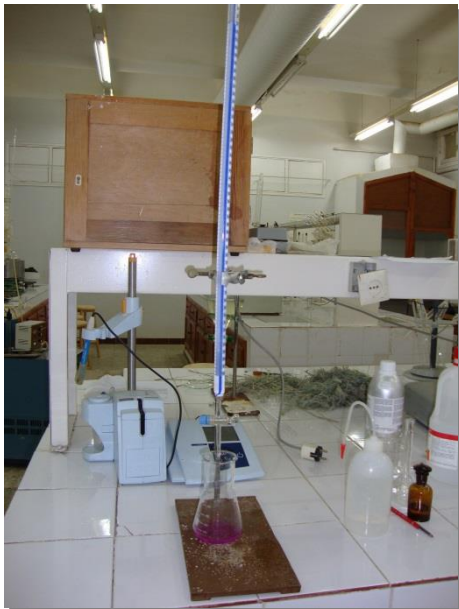
**L'huile essentielle obtenue après  
décantation**

## ANNEXE IV

### Détermination de l'indice d'acide



La solution à neutraliser



Neutralisation de la solution avec l'hydroxyde de potassium



L'apparition de la coloration rose persistante

## Détermination de l'indice d'ester



L'hydrolyse des esters par chauffage



Le titrage de l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique.



L'apparition de la coloration jaune persistante.



La solution titrée