



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**



**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE SAAD DAHLEB de BLIDA

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de Biotechnologie

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master II en Biotechnologie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie et valorisation des Plantes

THEME

**Evaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat
de Romarin ; *Rosmarinus officinalis***

Présenté par :

Abeddou Selma
Haddad Rahma

Devant le jury :

Belguendouz. R	MCA	Univ. Blida 1	Présidente
Ghanai. R	MCB	Univ. Blida 1	Promotrice
Moumene. S	MCA	Univ. Blida 1	Examinatrice

Année universitaire 2020/2021

Dédicace

Je dédie ce travail : Aux deux être les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence, en m'offrant une éducation digne de confiance qui m'ont soutenu nuit et jours durant tout mon parcours. Ma chère mère Hassina Bentriddi et mon cher père Djamel .

Ma grand-mère Hafida.

Mes frères Amine et Abderrahmane.

Ma jolie sœur et première amie Ihcene.

Mes oncles Rabeh, Mouloud et Mostapha.

Mes cousins et cousines Fatima , Hafida, Amina , Nour , Imene ,Hamida , Ikram , Yousra ,Abir.....

A les enfants de la famille : Kamer , Ritad jet Wassim.

A ma chère binôme Rahma et sa famille.

Mes copines Hadjer, Ferial , Nouria, Narimane , Khaoula, Chahrazed .

Selma

Dédicace

A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.

A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime.

A ceux qui m'ont aidé et m'ont donné joie et bonheur : Mes sœurs : Karima, Mounira, Bouchra, Chahira Et Soumai.

Mes Frères : Farid, Abdou et Tahar A toute la famille Haddad

A mes nièces : Djana, Ayoub, Khadija et Ritadj.

A toutes mes amies : Chourouk, Narimane, Khaoula, Khoula, Nouria, Amel, Sarah, Fella ,Manel, Khadidja Chahrazed....

A ma chère binôme Selma et sa famille.

A toute la promo de Biotechnologies et Valorisation des Plantes

Rahma

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné courage, force et volonté pour réaliser ce travail.

Nos remercions nos parents qui nous ont aidés, soutenus et suivis tout au long de notre vie.

Nos remercions notre promotrice Mme Ghanai. R.

Nos remercions l'ensemble des membres du jury : Mme Belguendouz R d'avoir accepté de présider le jury et Mme Moumene. S d'avoir voulu examiner ce travail.

Nos remercions tous les enseignants qui nous ont aidé dès le début de notre étude jusqu'à présent.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent aux Mme Bouchereb Djamila du laboratoire BIO-LERA (Ouled aich) Blida, pour le bon accueil et pour l'aide fournie pour l'extraction des huiles essentielles.

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

En fin nous remercions tous les étudiantes de notre promotion « Biotechnologie et Valorisation des Plantes » 2020 /2021

Liste des abréviations

Liste des abréviations :

A : Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

D : Densité

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazile

HA : Hydrolat aromatique

HE : Huile essentielle

I : Inhibition

IC50 : inhibitrice Concentration médiane

Rd : Rendement

TE : Teneur En Eau

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1 : Planche botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i>	06
Figure 2 : les fleurs, feuilles et tiges de Romarin.....	07
Figure 3 : Acide rosmarinique.....	09
Figure 4 : Entraînement à la vapeur.....	16
Figure 5 : Localités de récolte des plantes étudiées.....	27
Figure 6 : Teneur en eau et en matière sèche de <i>Rosmarinus officinalis</i> de Blida	34
Figure 7 : Teneur en eau et en matière sèche de <i>Rosmarinus officinalis</i> de Ain Defla.....	34
Figure 8 : Rendement en huiles essentielles par rapport à la matière sèche.....	35
Figure 9 : pourcentage d'inhibition des huiles essentielles et de la vitamine C.....	38
Figure 10 : pourcentage d'inhibition des hydrolats et de la vitamine C.....	39
Figure 11 : valeurs d'IC50 de la vitamine C, des huiles essentielles et de l'hydrolat des plants provenant des deux régions.....	40

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques des localités de récolte de la plante étudiée**28**

Tableau 2 : Propriétés des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis***36**

Sommaire

Sommaire

Introduction.....	1
--------------------------	----------

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1: Le Romarin

1.1. La famille des Lamiacées :	5
1.2. Le Romarin :	5
1.2.1. Classification :	5
1.2.2. Description botanique :	7
1.2.3. Distribution géographique :	7
1.2.4. Environnement de culture :	8
1.2.5. Composition chimique :	9
1.2.6. Utilisation :	9
En phytothérapie :	10
En cosmétique	10
En alimentaire :	11

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

Sommaire

2.1.Définition :	13
2.2.Répartition et localisation :	13
2.3.Composition chimique des huiles essentielles :	13
<u>2.3.1. Les terpènes :</u>	14
2.3.2. Les phénols :	14
2.3.3. Groupe des lipides issus de la dégradation d'acide gras et de terpènes :	15
2.4.Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :	15
2.5.Les méthodes d'extractions :	16
2.5.1. La distillation par entrainement à la vapeur :	16
2.5.2. L'hydrodistillation :	17
2.5.3. Extraction à froid :	17
2.5.4. Hydro diffusion :	17
2.5.5. Extraction aux solvants organiques :	18
2.5.6. La percolation :	18
2.5.7. Extraction par solvant fixe :	18
2.5.8. La macération.....	18
2.5.10. L'extraction assistée par micro-ondes :	19

Sommaire

2.6.Conservation :	19
2.7.Rôle et propriétés des huiles essentielles :	20
2.8.Toxicité des huiles essentielles :	20
2.9.Activités biologiques des huiles essentielles	21
2.9.1. Activité antioxydante :	21
2.9.2. Les types des antioxydants :.....	22
2.9.3. Le radical libre :	23
3.L'hydrolat ou l'hydrolat aromatique (HA):	24

Partie expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

1.Matériel	27
1.1. Matériel végétal :	27
1.1.1. Caractéristiques des localités de récolte	28
1.2. Matériel non biologique :	28
2.Méthodes d'étude :	28
2.1. Séchage et conservation des échantillons de la plante :	28
2.2. Détermination de la teneur en eau :	29
2.3. Extraction des huiles essentielles :	29

Sommaire

2.3.1. Rendement des huiles essentielles :.....	30
2.4. Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles :.....	30
2.4.1. Indice de réfraction :.....	30
2.4.2. Densité relative à 20°C :.....	31
2.4.3. Potentiel d'hydrogène (pH) :.....	31
2.5. Activité antioxydante :	31
2.6. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :	32

Chapitre 2: Résultats et discussions

2.1. La teneur en eau :.....	34
2.2.Rendements en huiles essentielles :.....	35
2.3.Détermination des caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles.....	36
2.3.1. Indice de réfraction :.....	36
2.3.2. Densité relative :.....	37
2.3.3. Potentielle d'hydrogène (ph) :.....	37
2.4.Evaluation de l'activité antioxydante :.....	37
2.4.1. Détermination d'IC50 :.....	39
Conclusion.....	42

Sommaire

Résumé :

Cette étude vise l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de hydrolat d'une plante aromatique *Rosmarinus officinalis* L. prélevée au niveau de deux régions différentes d'Algérie : Blida et Aïn Defla.. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu pour les échantillons prélevés à Aïn defla est de 0,8%, celui des plantes prélevées dans la région de Blida est légèrement plus important (1,1%). Les résultats des analyses physicochimiques montrent que les huiles essentielles de nos échantillons sont conformes aux normes (AFNOR). L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de hydrolat a été évaluée par la technique de piégeage du radical libre (DPPH), les résultats obtenus montrent l'existence d'une forte activité antioxydante pour les huiles et les hydrolats des deux échantillons avec des valeurs de IC50 variant entre 128,141 (huile essentielle des plantes de Blida) et 104,262 (huiles essentielles des échantillons prélevées à Aïn Defla)

Mots clés : Huile essentielle, Activités antioxydante, *Rosmarinus officinalis*, propriétés physicochimiques, hydrolat.

Abstract :

This study aims to evaluate the antioxidant activity of the essential oil and hydrolate of an aromatic plant *Rosmarinus officinalis* L. taken from two different regions of Algeria: Blida and Aïn Defla .. The extraction of oils essential was carried out by hydrodistillation. The yield obtained for the samples taken in Aïn defla is 0.8%, that of the plants taken in the region of Blida is slightly higher (1.1%). The results of the physicochemical analyzes show that the essential oils in our samples comply with standards (AFNOR). The antioxidant activity of the essential oil and hydrosol was evaluated by the free radical scavenging technique (DPPH), the results obtained show the existence of a strong antioxidant activity for the oils and hydrosols of the two samples with IC50 values varying between 128.141 (essential oil from Blida plants) and 104, 262 (essential oils from samples taken at Ain Defla)

Key words: Essential oil, Antioxidant activities, *Rosmarinus officinalis*, physicochemical properties, hydrosol.

الملخص :

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري وهيدروولات نبات عطري *Rosmarinus officinalis*. مأخوذ من منطقتين مختلفتين من الجزائر: البلدية وعين الدفلة.. تم استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي. بلغ المحصول من العينات المأخوذة في عين الدفلة 0.8% ، وأعلى قليلاً (1.1%) من النباتات المأخوذة في منطقة البلدية. تظهر نتائج التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن الزيوت الأساسية في عيناتنا تتوافق مع المعايير (AFNOR). تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيت العطري والهيدروسول من خلال تقنية إزالة الجذور الحرة (DPPH) ، وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود نشاط مضاد للأكسدة قوي للزيوت والهيدروسول للعينتين بقيم IC50 تتراوح بين 128.141 (زيت عطري من نبات البلدية) و 104 ، 262 (زيوت عطرية من عينات مأخوذة من عين الدفلة)

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية ، الأنشطة المضادة للأكسدة ، إكليل الجبل ، الخواص الفيزيائية والكيميائية ، الهيدروسول.

Introduction

Introduction

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

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

La richesse de la flore algérienne est donc incontestable, elle recèle un grand nombre d'espèces classées en fonction de leur degré de rareté : 289 espèces assez rares, 647 espèces rares, 640 espèces très rares, 35 espèces rarissimes et 168 espèces endémiques (FAO, 2012).

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

Rosmarinus officinalis est une plante utilisée depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies. Elle est utilisée en compresse pour l'eczéma et pour cicatrisation (Anton et Wichtl, 1999). Elle est aussi utilisée en cas de nez bouché, de rhume et de bains de l'oppression, l'insomnie, la nervosité et les troubles intestinaux. La plante est très utilisée en agroalimentaire comme conservateur et antioxydant, pour la conservation de la

Introduction

viande et des graisses, (Perrot et Paris,1971). Cependant l'utilisation des huiles essentielles comme antioxydants nécessite la production d'une grande quantité de plantes vu le faible rendement de ces extraits. Par ailleurs les hydrolats qui sont obtenus après l'extraction des huiles essentielles peuvent présenter aussi des activités vu leur accumulation de quelques principes actifs au moment de l'extraction.

Plusieurs étude était faite sur les huiles essentielles et ces activités mais pas l'hydrolat. Est-ce que l'hydrolat de romarin a une activité antioxydante comme l'huile essentielle, et qui a une activité antioxydante la plus forte ?

Dans ce contexte nous nous sommes intéressées à l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et de l'hydrolat de plantes spontanées et cultivées de *Rosmarinus officinalis* récoltées dans deux régions d'Algérie (Ain Defla et Blida).

Nos traçons comme objectifs :

- Evaluation des rendements des huiles essentielles extraites par hydrodistillation
- Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des hydrolats

Notre travail débutera par une étude bibliographique sur la plante, les huiles essentielles et les hydrolats. Nous envisagerons par la suite le matériel d'étude et les méthodes utilisées. Les résultats et les discussions seront traités dans un autre chapitre, nous terminerons par une conclusion.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre 1 :

Le Romarin

Chapitre 1 : Le Romarin

1.1. La famille des Lamiacées :

La famille des Lamiacées est très homogène, elle comprend l'environ 7000 espèces. C'est une famille dont l'aire de répartition est vaste avec une prépondérance dans les régions méditerranéennes. Thym, Lavande, Romarin sont des Lamiacées caractéristiques de la flore des garrigues. Les Lamiacées sont rares dans les montagnes et les régions arctiques. (Dupont , 2007 ; Botineau ,2010)

Elles sont utilisées en herboristerie, en pharmacie et parfumerie ; dans l'alimentation en tant qu'aromates. Les Lamiacées sont très proches des Verbénacées. (Dupont,2007)

1.2. Le Romarin :

Le Romarin, *Rosmarinus officinalis*, est une plante aromatique et médicinale, c'est une plante aride qui se trouve dans les lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens. Le romarin était utilisé en médecine depuis l'antiquité particulièrement par les égyptiens ; les grecs et les romains (Moussaoui ; 2005), plante commune à l'état sauvage, et sans doute, l'une des plantes les plus populaires en Algérie, puisqu'on la trouve dans tous les jardins et les parcs en bordure odorante (Akik Bekkara et al.,2007). Traditionnellement elle est utilisée pour renforcer la mémoire et combattre le surnage intellectuelle.

1.2.1. Classification :

Le nom (*Rosmarinus*) dérive du latin (*Rosmarinus*) qui se compose de Ros : rose et marinus : marin, donc qui signifie (rose de la mer) (Marion ;2015). L'épithète spécifique "officinalis" rappelle que le Romarin est une plante médicinale. Noms communs : Romarin, rose de mer, arbre de Marie

Nom en arabe : الإكليل, اكليل الجبل, الإكليل

Nom anglais: Rosemary

Nom Tamazight: Azir, yazir

Chapitre 1 : Le Romarin

Classification de *R. officinalis* selon APGIII

Règne : Plantae

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae (Labiées)

Sous-famille : Nepetoideae

Genre : *Rosmarinus*

Espèce : *Rosmarinus officinalis*



Figure 1 : Planche botanique de *Rosmarinus officinalis* (Wikipédia)

Chapitre 1 : Le Romarin



Figure 2 : La photo des fleurs pris par (Valter,2015) feuilles et tiges de Romarin (paprikaetchocolat.com)

1.2.2. Description botanique :

Le romarin est un arbrisseau vivace de 1 à 2 mètres de hauteur, touffu et très rameux, à feuilles opposées et subsessiles, coriaces, repliées en dessous, avec des bords incurvés ; elles possèdent une longueur de 1 à 4 cm et une largeur de 2 à 4 mm (figure 1), sa face supérieure est vert sombre, glabre, chagrinée, sa face inférieure vert gris est fortement tomenteuse, avec une nervure médiane saillante. (figure2) Les inflorescences sont des épis de fleurs zygomorphes qui varient du bleu pâle au blanc lilas et tachetés de violet groupées en grappes denses axillaire ou terminales(Figure2), avec une odeur fortement aromatique. (Rombi,2007) La période de floraison est variable. La floraison a lieu principalement au printemps et parfois toute l'année quand les conditions sont idéales pour le Romarin.

1.2.3. Distribution géographique :

Originnaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs (Iseran, 2001) Le romarin est commun dans toutes les régions méditerranéennes.

Chapitre 1 : Le Romarin

Au Maghreb où il est très fréquent, commun dans toute l'Algérie. (Kaddem, 1990).

En Algérie, *Rosmarinus officinalis*. L'est une espèce des régions du nord essentiellement dans l'ouest de l'Oranie. Cette plante participe d'une façon dominante à des groupements, s'organisant le plus souvent dans les zones sèches avec très peu de pluviométrie, elle domine largement l'étage semi-aride voir même aride.

Elle apprécie les climats chauds, modérément secs ; les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'abri de la lumière (Heinrich et al., 2006).

1.2.4. Environnement de culture :

Le romarin réussit parfaitement dans tous les sols, mêmes très acides. La tradition populaire voudrait que l'on cultive la plante dans un sol calcaire, sec, léger et humifère, correspondant à son biotope naturel. Un sol caillouteux lui convient. Le Romarin peut être cultivé ou servir de haie. Il restera en place pendant au moins six ans Un apport en fumier et matières organiques n'est pas pour lui déplaire. Un amendement calcaire peut être bénéfique selon les sols. Avec une exposition en plein soleil (Allegret, SD).

La multiplication se fait par trois types : bouturage, semis et le marcottage. La multiplication par bouture est très délicate. Il existe des variations en fonction de la date du prélèvement de la bouture, du lieu géographique et de l'altitude, du type de bouture.

Le semis se fait au plus tard début de mars, en hors-sol-sable avec repiquages successifs ou en plein air - pleine terre ou en sac-pépinière (dans ce cas, le repiquage au champ se fera deux ans plus tard).

Le marcottage permet de reproduire le Romarin dans les jardins. Pour cela, il faut éloigner une branche un peu longue de la plante mère et grâce à une pince à linge l'enterrer dans le sol un peu plus loin. Des racines se forment au bout de deux mois ce qui permet de séparer le nouveau plant et de le mettre en terre.

La plante fleurit presque toute l'année, mais essentiellement entre le mois de janvier et mai. Les feuilles se récoltent toute l'année mais sont plus parfumées l'été. Il faut donc les cueillir à cette période. La récolte se fait par temps chaud et sec soit deux ou trois heures après le lever du soleil quand la rosée s'est dissipée. (Leplat ,2017)

Chapitre 1 : Le Romarin

1.2.5. Composition chimique :

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

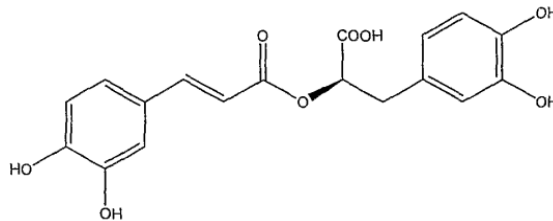


Figure 3 : Acide rosmarinique

- Polyphénols : Ils sont représentés par des acides-phénols, dérivés de l'acide cinnamique, principalement l'acide rosmarinique et des dérivés caféiques ainsi que par des flavonoïdes. Treize hétérosides dont les génines sont très majoritairement flavoniques, ont été identifiés. La plupart d'entre eux sont des dérivés méthylés : 4'-méthoxy- (diosmine = 7-O-rutinosyl- diosmétel, hespéridoside = 7-O-rutinosyl- diosmétel, hespéridoside =7-O-rutinosyl-hespéretol),6-méthoxy-(homoplantagine, népitrine= 7-0-glucosyl-eupafoline) ou 7- méthoxy (genkwanine), 6,7-diméthoxy (cisimarine) ; d'autres génines ont été caractérisées.
- Dérivés terpéniques : ce sont principalement des diterpènes tricycliques, rosmarinique diphérol et dérivés aromatique de l'abiétane carnosol (=picrosalvine) et acide carnosolique, rosmanol et 7-méthoxy-rosmanol, rosmadial, rosmariquinones aux structures très proches des quinones diterpéniques présentes dans les racines. (Max Rombi.2007)
- Les huiles essentielles : la teneur dans la plante et de 1 à 3%. Les constituants majeurs sont : l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. (Bellakhdar ; 1997).

1.2.6. Utilisation :

Rosmarinus officinalis est une herbe médicinale largement utilisée par le monde pour ses propriétés : aromatique, antimicrobienne, antioxydant, antifongique, anti-inflammatoire,

Chapitre 1 : Le Romarin

Antispasmodique, stimulant circulatoire, stomachique, tonique nerveux, carminatif. Cette plante est utilisée dans différents domaines :

En phytothérapie :

- La tisane de romarin était employée en médecine populaire pour stimuler le cœur, soulager les maux de tête, faciliter le sommeil et traiter toute une gamme de maux, dont l'asthme, la calvitie, la bronchite, les ecchymoses, le cancer, les frissonnements, le rhume, la toux ; les pellicules, la fièvre, le rhumatisme, et les entorses (Small et Deutsch, 2001). La drogue est également employée en traitement complémentaire dans les troubles circulatoires (Anton, Wichil 1999)
- L'infusion de feuilles de romarin, calme les nerfs, surtout au moment de la ménopause (Volak et Stodola 1983). Grace à certains composants (Carnosol, Rosmaridiphénol, Rosmanol et l'acide rosmarinique), le *Romarin* est considéré comme une thérapie contre le cancer (Atik bekkara et al., 2007).
- L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL (Dias et al., 2000)
- On utilise aussi le romarin sous forme d'extrait à base d'alcool pour les plaies et sous forme d'onguent ou de baume pour soulager les rhumatismes et les névralgies, tant chez les humains que chez les animaux. Ajouté à l'eau d'un bain, le romarin stimule la circulation sanguine. (Weerakkody et al., 2010).

En cosmétique :

- Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), ainsi que dans la formulation des pommades dermiques. (Calabres et al. 2000). Son huile essentielle possède de propriétés antibactériennes. Elle est employée commercialement dans divers produits de toilette, parfums, shampoings pour cheveux gras et les conditionneurs servant à faire ressortir les reflets des chevelures foncées (Small et Deutsch, 2001).
- Le romarin est un cicatrisant des plaies et des brûlures. C'est un antiseptique, et une excitant du cuir chevelu (arrête la chute des cheveux) (Piozzi, 1996)

Chapitre 1 : Le Romarin

- Le romarin présente aussi un effet anti pelliculaire et renforce la qualité des cheveux

En alimentaire :

- Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments.
- Le romarin est utilisé pour assaisonner les plats culinaires.

Chapitre 2

Les huiles essentielles

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.1. Définition :

L'Huile essentielle est un extrait pur, naturel et total, résultat de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau de la partie odoriférante des plantes ou arbres aromatiques. L'HE est l'essence distillée.

Selo la Pharmacopée Française VIII^e édition (1965) « produit de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux, plus ou moins modifiés au cours de la préparation »

Selo la Pharmacopée Française (X^e édition) l'huile essentielle est considérée comme « une substance fluide, volatile, odorante, de composition complexe produite par un appareil sécréteur » (Faucon, 2017).

2.2. Répartition et localisation :

L'huile essentielle se trouve dans des cellules sécrétrices spécifiques. 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 les plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante.

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour la question de rendement (par exemple, la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige) soit parce que la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante. (Jacques et Francis ,2012).

2.3. Composition chimique des huiles essentielles :

Il est généralement admis que les constituants des huiles essentielles sont répartis en 3 groupes :

le groupe des trapézoïdes, le groupe des phénylpropanoïdes, le groupe des lipides, issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes. (Jacques et Francis ,2012)

2.3.1. Les terpènes :

Les huiles essentielles sont constituées d'un certain nombre de composés terpéniques, généralement les plus volatiles dont la masse moléculaire n'est pas élevée. Ces constituants

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

proviennent de l'isoprène répondant à la formule générale $(C_5H_8)_n$, ils sont également nommés isoprénoides ou terpénoides. Le terme « terpénoides » définit l'ensemble des terpènes oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène (Baser et Buchbauer.,2010). Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone : les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C15), et moins fréquemment les diterpènes (C20), les triterpènes (C30) et les tétra terpènes (C40). Certains composés terpéniques peuvent être toxiques, répulsives ou attractifs pour d'autres organismes, d'où leurs rôles dans les interactions entre les plantes et animaux.

a- Les Monoterpènes :

On y rencontre des monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques ou bicycliques (pinènes, 3-carène, camphène, sabinène). Grâce à la réactivité des cations intermédiaires de ces terpènes, elles peuvent se rattacher à un certain nombre de molécules (Bruneton., 2008)

b- Les Sesquiterpènes :

L'allongement de la chaîne des sesquiterpènes amplifie le nombre des cyclisations possible, plus d'une centaine de squelettes différents ont été décrits. On trouvera également des sesquiterpènes avec des fonctions chimiques caractéristiques : alcool (farnésol, carotol), carbures (β -caryophyllène), cétones, ester.

2.3.2. Les phénols :

Les dérivés du phénylpropane (C6-C3), ou composés phénoliques s'agissant le plus fréquemment d'allyl ou propénylphénols, et ou aldéhydes. La biosynthèse par voie phénylpropanoïdes débute par des aromatiques qui sont la phénylalanine et la tyrosine, ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle. Également, la synthèse de ces constituants nécessite une série d'acides dont l'acide shikimique et l'acide cinnamique.

Les phénylpropanoïdes sont moins représentés dans l'HEs que les terpènes, néanmoins elles sont caractéristiques dans certaines huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, cannelles (eugénol, myristicine, asarones, cinnamaldéhyde) (Bruneton.,1999).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.3.3. Groupe des lipides issus de la dégradation d'acide gras et de terpènes :

Ces composés proviennent le plus souvent de la dégradation de molécule peu ou pas volatiles par exemple: l'oxydation des acides linoléique et linoléique conduit à des peroxydes instables qui, à leur tour, après dégradation, vont donner des alcools, des aldéhydes et des acides de masse moléculaire plus petite, Les acides organiques sont rarement présents dans les huiles essentielles, ils réagissent avec les alcools pour former des esters (Jacques et Francis, 2012).

2.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles :

Selon Bernard et al., (1988) et Bruneton (1999), on peut résumer les propriétés physicochimiques des HE comme suit :

- Elles sont généralement liquides à température ambiante.
- Elles sont volatiles et très rarement colorées.
- Elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau.
- L'indice de réfraction dépend essentiellement de la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés.
- Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Elles sont solubles dans les alcools à titre alcoométrique élevé, dans la plupart des solvants organiques et les lipides, mais peu soluble dans l'eau.
- Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.
- Les HE sont stables à température ambiante si elles sont conservées de manière adéquate à l'abri de l'oxydation et de la polymérisation provoquée par l'air, par la lumière et par les variations de température.
- Leur point d'ébullition varie de 160 à 240°C.

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.5. Les méthodes d'extractions :

La diversité et la complexité des huiles essentielles rendent le choix des processus d'obtention délicat. La méthode choisie ne doit pas conduire à la discrimination entre les composés polaires et apolaires, ni induire de réactions biochimiques, de dégradations thermiques, d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de changement de pH ou entraîner une perte de composés volatils. Pour cela, différents paramètres et propriétés sont à prendre en compte (Fernandez et Cabrol-Bass, 2007).

Il y a plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles d'après la matière végétale voici les principales méthodes :

2.5.1. La distillation par entrainement à la vapeur :

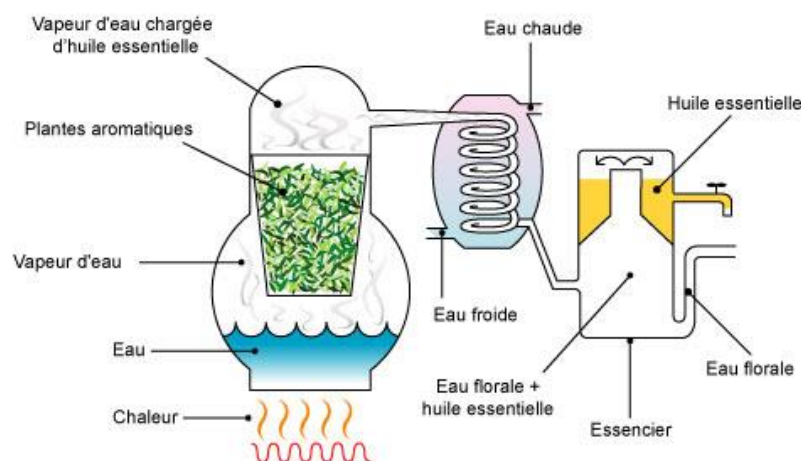


Figure 4 : Entrainement à la vapeur
(mémoireenline.com)

Il consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau dans une cuve contenant les plantes. Sous l'action de l'humidité et de la chaleur les huiles essentielles volatiles se libèrent. Ensuite cette vapeur d'eau et d'huile essentielle passe dans un serpentin refroidi par de l'eau. La vapeur se condense alors dans le serpentin, et retourne à l'état liquide. Ce liquide, mélange d'eau et d'huile essentielle est recueilli dans un essencier qui sépare les deux éléments. En effet, l'huile essentielle est non miscible à l'eau et plus légère donc elle se retrouve dans la partie supérieure de l'essencier. L'ensemble du dispositif utilisé pour l'hydrodistillation est l'alambic :

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

Ce dispositif est composé d'une cuve dans laquelle on place les plantes à distiller. Les plantes sont dissociées de l'eau dans la même cuve. La cuve est chauffée et recouverte par un chapiteau qui est prolongé par un col de cygne, celui-ci est raccordé à un serpentin de refroidissement. Pour cela, celui-ci est plongé dans une cuve d'eau froide. Le serpentin débouche sur l'essencier,

Muni de deux robinets. Celui du bas permet de recueillir l'hydrolat ou eau florale et celui du haut l'huile essentielle. (Arnaud et al SD).

2.5.2. L'hydrodistillation :

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. -La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage (cohobage) de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. -La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. (Benouali,2016)

2.5.3. Extraction à froid :

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes ont une très grande importance dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois. (Benouali,2016)

2.5.4. Hydro diffusion :

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à faible pression « 0.02-0.15 bar » à travers la masse végétale, de haut vers le bas. La composition des produits obtenus est qualitativement différente de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (Bruneton, 1999).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.5.5. Extraction aux solvants organiques :

Consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatique, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit obtenu est appelé « concrète ». Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales et obtiendra une « absolue ».

Le solvant choisi, en plus l'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'O₂, sa température sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait.

Parmi les solvants utilisés, sont le méthanol, l'éthanol et l'éther de pétrole (Lucchesi, 2005)

2.5.6. La percolation :

Cette méthode consiste à propulser la vapeur de haut en bas. Ce processus est rapide et donne une excellente qualité de substances aromatiques, mais charge les H.E. en substance non volatile. On parle alors d'essence de percolation.

2.5.7. Extraction par solvant fixe :

Les solvants utilisés sont principalement des matières grasses. L'extraction peut être effectuée à froid (enfleurage) ou à chaud (macération).

2.5.8. La macération :

Qui consiste à tremper les éléments végétaux dans de l'huile chaude pour provoquer une rupture des membranes cellulaires. Lorsque l'huile a rempli sa fonction d'éclatement, elle est clarifiée et décantée

2.5.9. L'enfleurage :

Une méthode longue et complexe qui utilise une matière grasse végétale ou animale purifiée sur laquelle est placé un lit de pétales de fleurs. Au bout de quelques jours de contact corps gras/pétales de fleurs, on procède à un pressage du mélange, ce qui produit une matière huileuse très aromatique, puis à un « rinçage » de la pommade d'enfleurage (composée de gras et de

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

parfum) avec de l'alcool. Lorsque l'alcool s'est évaporé du mélange, il ne reste que l'huile essentielle. Les H.E. se dissolvent dans l'alcool sans la graisse.

Cette méthode d'extraction est à l'origine de la fabrication des grands parfums qui ont fait la renommée de la parfumerie française et ses fragrances de renommée olfactive mondiale. (Rodet ;2016)

2.5.10. L'extraction assistée par micro-ondes :

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

2.6. Conservation :

Du fait de la présence de fonctions chimique réactives, les terpènes peuvent s'oxyder, lorsque l'huile essentielle est abandonnée assez long temps, à la lumière, à l'air et à la température ambiante, ou mieux à une température élevée. Les réactions radicalaires mises en jeu favorisent l'oxydation :

- Des hydrocarbures éthyléniques.
- Des hydrocarbures saturés contenant des atomes d'hydrogène portés par des carbones tertiaires.
- Des alcools en α -des doubles liaisons $C=C$.
- Des aldéhydes.

Pour éviter la formation des produits d'oxydation, notamment les peroxydes, il est nécessaire de conserver les huiles essentielles :

- A l'abri de l'air en présence d'un gaz inerte tel que l'azote.
- A l'abri de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydable) ou en verre teinté.
- A froid, de préférence à +4 °C.

Il faut éviter, d'une part, de mettre très peu d'huile essentielle dans le flacon et d'autre part d'utiliser des emballages et des bouchons en matière plastique qui peuvent être sensibles au contenu. (Jacques.K et Francis H.2012).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.7. Rôle et propriétés des huiles essentielles :

Le rôle des HEs dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Toutefois, les parfums émis jouent un rôle attractif pour les insectes pollinisateurs (Deroin ,1988). De plus, en règle générale les HEs constituent un moyen de défense naturel contre les insectes prédateurs et les microorganismes. Les substances émises sont dans ce dernier cas appelées « phytoalexines ». Ce type de toxine n'est produit qu'en cas d'infection et n'entre donc pas dans la composition d'une huile essentielle provenant d'une plante saine (Mann ,1987).

Traditionnellement, les HEs sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Ainsi, elles sont utilisées dans l'agroalimentaire (gâteaux, biscuits, soupe, sauce, chewing-gum, chocolats, bonbons...). Pour aromatiser la nourriture. Elles sont également utilisées dans l'industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la savonnerie. On les utilise aussi dans la fabrication des adhésifs (colle, scotch ...) et celle de la nourriture pour animaux, dans l'industrie automobile, dans la préparation des sprays insecticides. L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (Bakkali, 2007).

2.8. Toxicité des huiles essentielles :

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

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

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

l'on nomme une néphrotoxicité (Cuic Marinier et al., 2013). De plus l'usage des HEs en application locale, en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des irritations, allergies voire photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (Bakkali et al., 2008).

2.9. Activités biologiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possèdent plusieurs activités biologiques selon la famille de la plante et la partie utilisée de la plante ; on a l'activité antifongique, antiseptique, antibactérienne, anti-inflammatoire... Parmi les activités biologiques on a l'activité antioxydante.

2.9.1. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante peut être primaire ou préventive (indirecte), cette dernière est capable de retarder l'oxydation par des mécanismes indirects tels que la réduction d'oxygène (Madhavi et al., 1996).

Les antioxydants sont des substances capables de protéger l'organisme contre les effets du stress oxydatif (Beirao & Bernardo-Gil, 2006).

Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Notre organisme réagit donc de façon constante à cette production permanente de radicaux libres et on distingue au niveau des cellules deux lignes de défense inégalement puissantes pour détoxifier la cellule (Favier, 2003).

Depuis quelques années, les chimistes développent des analogues d'antioxydants naturels en les modifiant chimiquement afin d'augmenter leurs propriétés de piégeage des radicaux libres. Ils s'intéressent à la mise au point de pièges plus spécifiques basés sur la réactivité particulière de certains groupements chimiques vis-à-vis des espèces radicalaires (Novelli, 1997).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

2.9.2. Les types des antioxydants :

a) Les antioxydants naturels :

Les antioxydants naturels sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures. Ce sont pour la plupart des composés polyphénoliques, parmi ces composés, les plus importants sont les flavonoïdes, les tocophérols et les acides phénoliques (Pokorny et al., 2000).

✓ Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes, pigments rouges (lycopène de la tomate), oranges (β -carotène des carottes) ou jaune (lutéine et zéaxanthine du maïs) d'origine végétale, sont particulièrement efficaces dans la neutralisation de l'oxygène singulet et joue le rôle de bouclier contre la photo initiation de réactions radicalaires par les rayonnements UV. Le β -carotène (provitamine A), diffusant mieux que les tocophérols dans les lipides, protège les graisses profondes (Cohen, 2002).

✓ Vitamine C (acide ascorbique) :

La vitamine C est un micronutriment qui n'est pas synthétisé par l'organisme humain et doit être apporté dans les aliments, on le trouve en grande quantité dans les agrumes, le kiwi, le persil. Selon le pH et la présence de métaux de transition, la vitamine C peut prendre une forme réduite ou oxydée. Le passage de l'une à l'autre se fait par l'intermédiaire d'un radical libre, radical ascorbyle, et en présence de glutathion/glutathion-réductase. La vitamine C forme donc un couple redox avec une forme intermédiaire radicalaire capable de capter l'oxygène singulet et certaines espèces radicalaires (Pokorny et al., 2000).

✓ Vitamine E (α -tocophérol) :

C'est une molécule liposoluble protège les graisses circulantes contre l'oxydation, ce qui constitue la première défense contre l'athérosclérose et en fait un protecteur cardiovasculaire.

Elle limite également la formation d'aldéhydes génotoxiques. Elle est présente dans les huiles végétales tels que l'huile de colza ainsi que les noix, les amandes, les graines, le lait, les œufs, et les légumes à feuilles vertes (Cohen, 2002).

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

✓ Les huiles essentielles :

Les huiles essentielles de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, romarin, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants (Edris, 2007). Le thymol et le carvacrol sont encore une fois les composés les plus actifs. Leur activité est en relation avec leur structure phénolique car les composés de ce type ont des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important en neutralisant les radicaux libres et en décomposant les peroxydes (Braga et al., 2006).

✓ Les composés phénoliques :

Les composés phénoliques regroupent une grande variété de composés comprenant entre autres les flavonoïdes, les anthocyanes et les tanins qui peuvent agir comme des antioxydants par piégeage des radicaux libres.

Parmi les extraits naturels qui sont susceptibles d'être utilisés industriellement, les extraits de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) possèdent une activité antioxydante caractérisée par la capacité à inhiber les radicaux libres (Vareltzis et al., 1997). Les molécules responsables de cette activité sont des molécules phénoliques et les acides carnosique, romarinique et carnosol.

b) Les antioxydants de synthèse :

Les antioxydants de synthèse habituellement utilisés sont les composés phénoliques comme le Butyl Hydroxy Anisole (BHA), Butyl Hydroxy Toluène (BHT) et le Ter-Butyl Hydroxy-Quinone (TBHQ), et les esters de l'acide gallique.

✓ Les enzymes comme antioxydants

Ce sont des enzymes qui participent à la neutralisation excédentaire en radicaux libres tel l'enzyme superoxyde dismutase (SOD), le glutathion peroxydase, certaines protéines de transport comme la ferritine et la ceruloplasmine.

1.9.3. Le radical libre :

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui le rend extrêmement réactif (Vansant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003). L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H₂O₂. En raison de l'implication des radicaux libres dans diverses pathologies, les recherches de nouvelles molécules pouvant pallier un déficit du système de protection naturelle antiradicalaire sont largement intensifiées (Novelli, 1997).

3. L'hydrolat ou l'hydrolat aromatique (HA):

Le mot hydrolat vient de latin ((hydro)) qui signifie l'eau et de français ((lat)) qui signifie lait. En effet la substance obtenue juste au sortir de l'alambic présente un aspect laiteux.

HA est l'eau distillée (vapeur d'eau condensée) que l'on sépare de l'HE à la sortie de l'alambic après décantation. HA est chargé des molécules aromatiques hydrosolubles du végétal, et contient une très faible quantité d'huile essentielle (0.05% à 0.1%) des mêmes molécules aromatiques que l'HE.

Les HA sont donc hydrosolubles ; ils présentent des principes actifs et des effets thérapeutiques à peu près similaires aux HE quoique non identique (Faucon, 2017)

Partie expérimentale

Chapitre 1

Matériel et méthodes

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

Notre travail consiste à l'étude de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat de la partie aérienne (feuilles + fleurs) du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) provenant de deux régions différentes de l'Algérie : Blida et Ain Defla. (Figure 5 et tableau 1). L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée au niveau du laboratoire de BIO-LERA. (Ouled aich à Blida).

Les analyses physico-chimiques et l'étude de l'effet antioxydant des huiles essentielles ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatiques du département de biotechnologie de l'université de Blida 1. Ce travail a duré 3 mois (avril- juin)

1. Matériel

1.1. Matériel végétal :

Les échantillons ont été récoltés au niveau de deux régions (figure 5) : Blida (pour la plante cultivée) et Ain Defla (pour la plante spontanée).

Pour la région de Blida : la récolte a été faite le 13 avril 2021 (en stade floraison) à 8 :15.

Pour la région d'Ain Defla (Tacheta Zougagha) : la récolte a été faite le 12 avril 2021 à 8 :30, au niveau de la Tachta.



Figure 5 : Localités de récolte des plantes étudiées

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

1.1.1. Caractéristiques des localités de récolte

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

Tableau 1 : Caractéristiques des localités de récolte de la plante étudiée

La région de récolte	Cordonnées géographie	Situation	L'altitude	Climat	Pluviosité
Blida	36°37' 10'' Nord 3° 13' 20'' Est	Situé à 47 km au sud-ouest de la capitale d'Alger	100 m	Climat méditerranéen caractérisé par un été très sec et doux, et un hiver pluvieux et frais	676.3mm/ an
Ain Defla (Tacheta Zougagha)	36° 21' 0'' Nord, 1° 39' 0'' Est	Située à 140 km au sud-ouest d'Alger,	471 m	Le climat de la wilaya d'Ain Defla est de type méditerranéen semi-aride avec un caractère de continentalité très marqué	Entre 500 et 600 mm / an

1.2. Matériel non biologique :

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

2. Méthodes d'étude :

2.1. Séchage et conservation des échantillons de la plante :

La plante fraîchement récoltée est laissée sécher sur des papiers à l'ombre dans un endroit sec et aéré, pendant 15 jours. Le matériel sec est conservé dans des sacs papiers dans un endroit sec à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

2.2. Détermination de la teneur en eau :

Pour la détermination de la teneur en eau de la plante, une prise d'essai de 145g de feuilles de *Rosmarinus officinalis* est disposée pour séchage à l'air libre. L'échantillon est pesé quotidiennement jusqu'à ce que sa masse m_1 devienne constante. La différence entre les deux masses représente la quantité d'eau contenue initialement dans l'échantillon utilisé.

La teneur en eau (TE) est estimée par la formule suivante :

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

m_0 : masse de l'échantillon « à état frais en g ».

m_1 : masse de l'échantillon « après séchage en g ».

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

2.3. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. (Figure 6). L'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité. (Bruneton, 1999).

Mode opératoire :

Un échantillon de 100 g de matière végétale sèche est mis dans un ballon de 1000 ml. 500 ml d'eau ont été ajoutées. Chauffer le contenu avec un chauffe ballon La vapeur se charge de substances volatiles, puis condensé grâce à un réfrigérant. Poursuivre la distillation jusqu'à extraction de toute l'huile essentielle. A la fin de chaque extraction, ces huiles essentielles ont été récupérées directement sur un Eppendorf, après la lecture du rendement. Les huiles obtenues sont mises dans des flacons opaques et conservées au réfrigérateur à + 4 °C jusqu'à leur utilisation pour les tests biologiques. La distillation est répétée plusieurs fois jusqu'à l'épuisement de toute la quantité de la plante.

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

2.3.1. Rendement des huiles essentielles :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse de la matière végétale utilisé. Le calcule se fait selon la formule suivante :

$$R(HE) = (m_{(HE)} / m_{(MV)}) \times 100$$

R(HE) : Le rendement en huile essentielle (%).

m(HE) : la masse d'huile essentielle en (g).

m(MV) : la masse de la matière végétale en (g).

2.4. Caractérisation physico-chimique des huiles essentielles :

L'observation à l'œil nu permet de définir les propriétés de notre HE telle que la : Couleur, l'odeur, l'aspect, et l'état.

2.4.1. Indice de réfraction :

Cette mesure indique le rapport entre l'angle d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de 589 nm passant de l'air dans l'HE tout variation de cet indice signifie que la molécule n'est pas pure ou qu'elle a été mélangée avec autre substance. (Zahalka,2015)

Mode opératoire :

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée.
- Placer 2 à 3 gouttes des huiles essentielles testée sur l'appareil.
- Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation.
- Lire la valeur de l'indice de réfractomètre sur le cercle gradué.

La calcule se fait selon la formule suivante :

$$n^{20} = n^T + 0.00045 * (T - 20)$$

n^{20} : indice à 20°C

n^T : indice à la température ambiante

T : température ambiante

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

2.4.2. Densité relative à 20°C :

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

Mode opératoire :

La densité relative est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un Eppendorf. Après nettoyage et séchage de l'Eppendorf, il a été pesé et rempli d'eau distillée.

L'Eppendorf a été retiré, essuyé extérieurement et pesé. La même procédure est suivie pour l'huile en remplissant l'Eppendorf par le même volume d'huile. Ensuite l'Eppendorf est essuyé et pesé.

La densité relative se détermine selon la formule suivante :

$$D = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

D : la densité relative

m0 : masse de l'Eppendorf vide

m1 : masse de l'Eppendorf rempli d'eau distillée,

m2 : masse de l'Eppendorf rempli d'huile,

2.4.3. Potentiel d'hydrogène (pH) :

PH l'abréviation de potentielle d'hydrogène, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H⁺) en solution. Plus couramment, le PH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre. Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un PH-mètre.

2.5. Activité antioxydante :

L'activité antioxydante in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par (Burits et Bucar, 2000).

Mode opératoire :

50 µl de chacune des solutions méthanolique de l'huile essentielle et hydrolat testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la

Chapitre 1 : Matériel et méthodes

température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour la vitamine C l'huile essentielle et pour l'hydrolat (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

2.6. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50 :

Selon (Sharififar et al., (2009) L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}}{A \text{ blanc}}$$

I% : pourcentage d'inhibition

A blanc : Absorbance du blanc (méthanol)

A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50%.

Chapitre 2

Résultats et discussions

Chapitre 2 : Résultats et discussions

2..1. La teneur en eau :

La teneur en eau de notre échantillon est exprimée en pourcentage. Le résultat obtenu est montré dans les 2 figures suivantes :

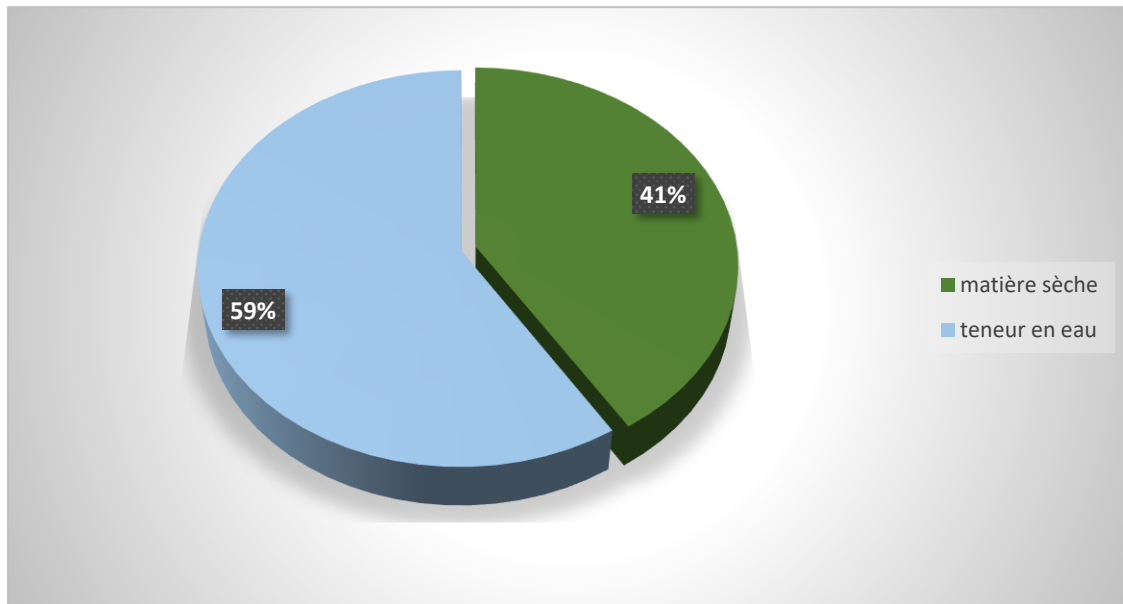


Figure 6 : Teneur en eau et de matière sèche de Romarin de la région de Blida

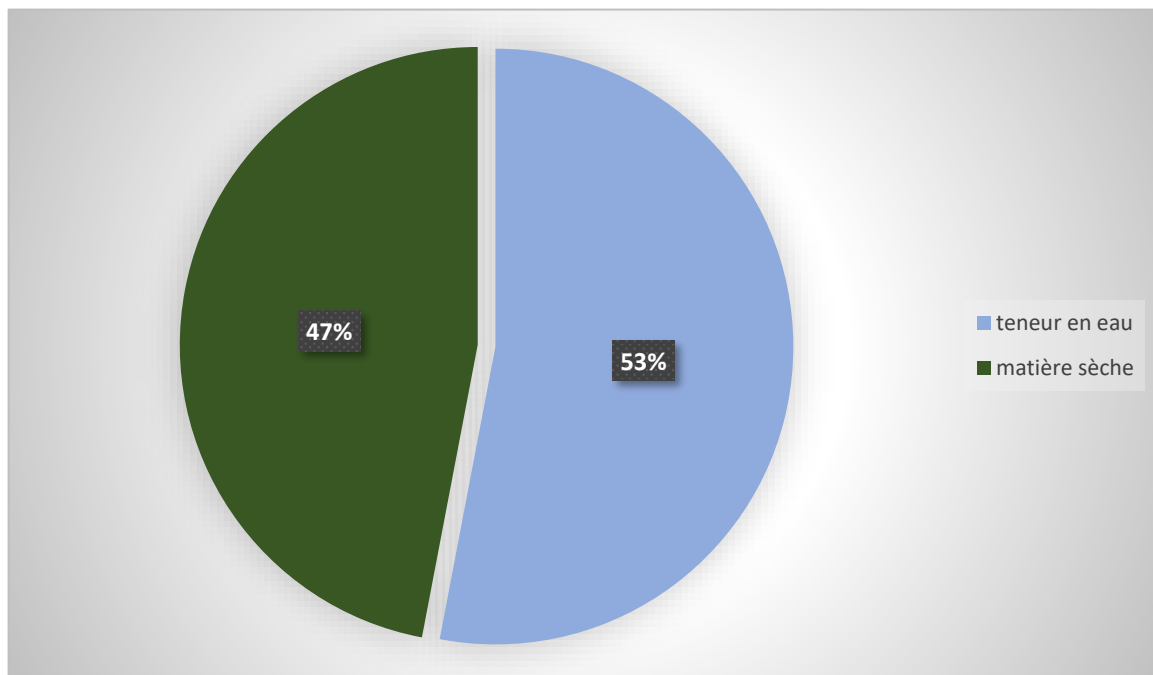


Figure 7 : teneur en eau de de matière sèche de Romarin de la région de Ain Defla

Chapitre 2 : Résultats et discussions

D'après les résultats montrés dans les deux figures, nous constatons que les teneurs en eau varient entre 53% à 59%. Ces résultats nous permettent de calculer les rendements en huiles essentielles dans la matière fraîche. Les teneurs en eau varient entre 53% à 59% (selon les deux régions Ain defla et Blida),

2.2. Rendements en huiles essentielles :

Les rendements en huiles essentielles obtenus sont exprimés en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche. Les résultats sont montrés dans la figure 9.

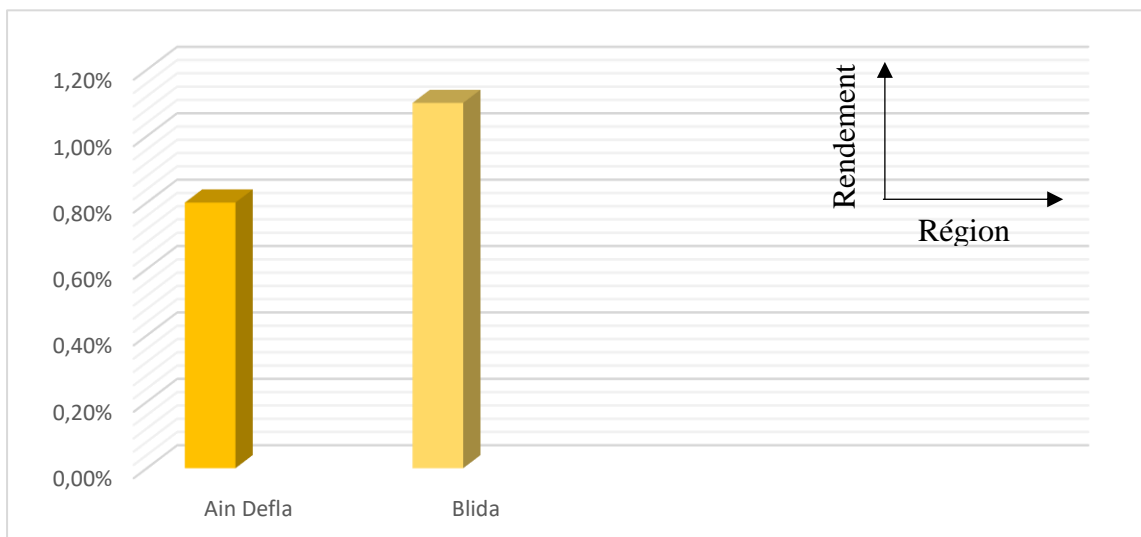


Figure 8 : Rendement en huiles essentielles par rapport à la matière sèche

Le rendement des huiles essentielles de la partie aérienne (feuilles + fleurs) des plantes récoltées à Blida est légèrement plus élevé (1.106%) que celui des échantillons provenant d'Ain Defla (0.805%).

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* de la région de Ain Defla ont fourni un taux relativement similaire (0,8%) par rapport à celui rapporté par (Bekkara Atik et al.2007, (0.8%) qui ont travaillé sur le romarin de Tlemcen.

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* des deux régions, Ain Defla et Blida, ont fourni un taux relativement supérieur par rapport à celui obtenu par Frouhatz et al. (2012) qui ont travaillé sur le romarin d'Ourgla. (0.76%)

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* de la région de Ain Defla et Blida ont fourni un taux relativement inférieur par rapport à celui rapporté par (Soufit et al.2013 (1,42%) qui ont travaillé sur le romarin Bejaia.

2.3. Détermination des caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles sont indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Propriétés de l'HE de *Rosmarinus officinalis* des deux régions.

Propriétés Région	Couleur	Mobilité	Odeur
Ain Defla	Jaune pale	Mobile	Forte caractéristique de l'espèce
Blida	Jaune pâle à transparent	Mobile	Caractéristique de l'espèce
Norme (AFNOR1999)	Presque incolore à jaune pale	Liquide mobile, limpide	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée

C'est à travers les propriétés physico-chimiques (aspect, couleur, odeurs) qu'il est possible de définir que l'huile est de qualité adéquate. Après comparaison avec les normes AFNOR, Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite sont en accord avec ceux obtenu par (Beloufa,2018) et (Thire,2018).

2.3.1. Indice de réfraction :

L'indice de réfraction est considéré comme un critère de pureté, également utilisé pour identifier les huiles. Cet indice a donné une valeur de + 1,354 et +1,334 respectivement pour les HEs de *R. officinalis* de Ain Defla et de Blida En effet, selon AFNOR l'indice de réfraction des huiles essentielles est compris entre 1,495 pour les huiles de haute qualité et 1,513 pour les huiles de moindre qualité.

Chapitre 2 : Résultats et discussions

L'Indice de réfraction de deux régions Ain Defla et de Blida a donné des valeurs de + 1,354 et +1,334 respectivement pour les HEs de *R. officinalis* inférieurs à celui trouvé par (Frouhatz et al. 2012) qui est de 1.5026, donc les huiles essentielles obtenus sont de bonne qualité.

2.3.2. Densité relative :

La densité relative de l'huile essentielle des échantillons d'Ain Defla et de Blida sont de 0,859 et 0.990 respectivement.

La norme AFNOR préconise une densité de 0,906 pour les huiles de basse qualité et de 0,990 pour les huiles de très haute qualité. Nous pouvons suggérer que l'huile des plantes de Blida est de très bonne qualité.

2.3.3. Potentielle d'hydrogène (ph) :

Le pH d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la région de Ain Defla est 6.4.

Le pH d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la région de Blida est 6.8.

Le résultat obtenu est supérieur par rapport celui de Frouhatz et al. (2012) qui est de 6.05.

2.4. Evaluation de l'activité antioxydante :

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

Chapitre 2 : Résultats et discussions

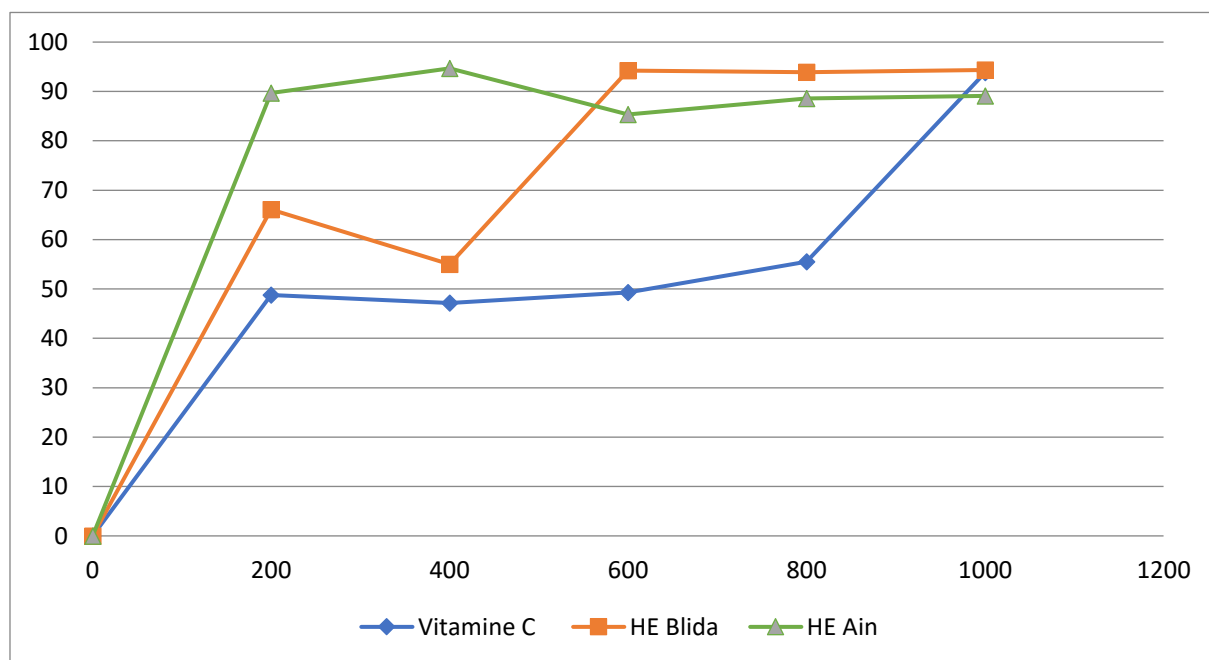


Figure 9 : Pourcentage d'inhibition des huiles essentielles et de la vitamine C

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

On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les deux huiles essentielles est supérieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées. Pour une concentration de 1000µg/ml, l'huile essentielle d'Ain Defla et Blida a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 89.11% et 94.35% respectivement tandis que la vitamine C est de 93.82 %.

Chapitre 2 : Résultats et discussions

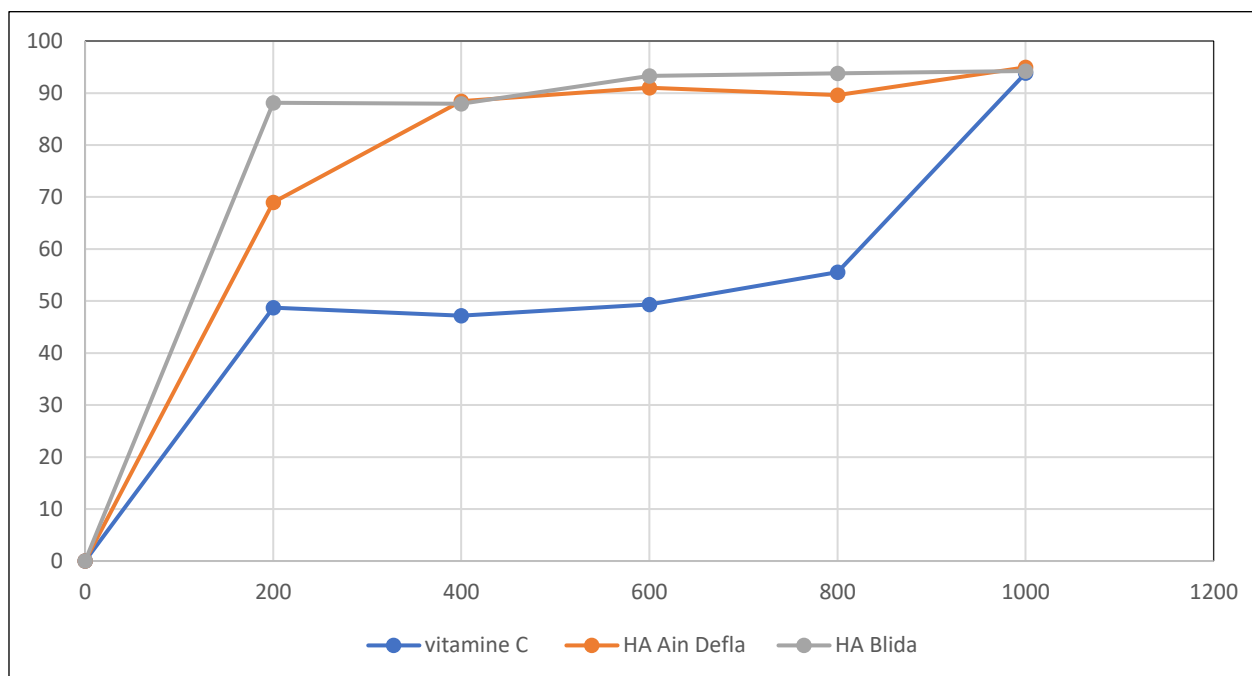


Figure 10 : Pourcentage d'inhibition des hydrolats et de la vitamine C

Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour la vitamine C ou l'hydrolats de *Rosmarinus officinalis* des deux régions.

Nous remarquons que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les deux hydrolats est supérieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations utilisées, donc ce résultat est d'importance scientifique et pratique et économique. Les hydrolats peuvent être utilisés à la place d'huile essentielle qui est très chère. Pour une concentration de 1000µg/ml, l'huile essentielle des échantillons d'Ain Defla et de Blida ont révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 94.94% et 94.23% respectivement tandis que la vitamine C est de 93.82 %.

2.4.1. Détermination d'IC50 :

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %.

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande, nos résultats sont présentés dans les Figures :

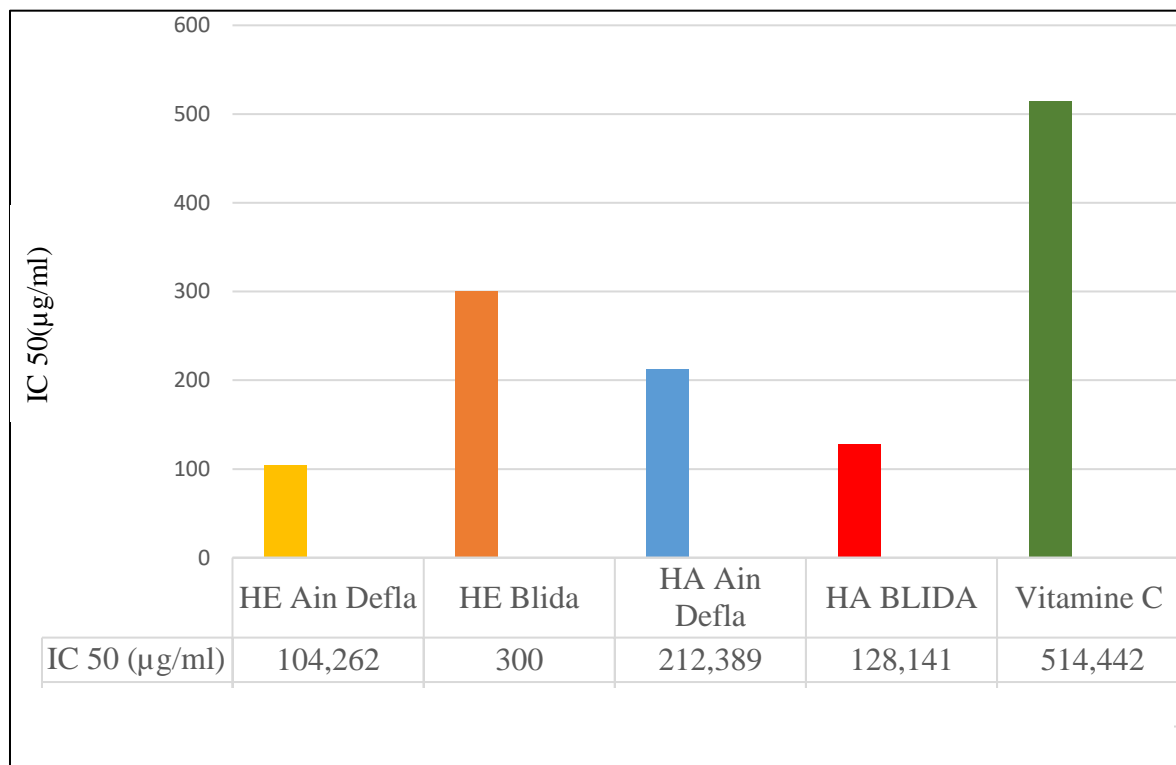


Figure 11 : Valeurs d'IC50 de la vitamine C, des huiles essentielles et des hydrolats du romarin des deux régions

D'après les valeurs des IC50 obtenues dans le tableau ci-dessus, nous remarquons que l'HE des échantillons de la région d'Ain Defla présente la valeur d'IC50 la plus faible (104.262 µg/ml), suivi par l'HA des échantillons de la région de Blida (128.141 µg/ml) ensuite l'HA des échantillons de la région d'Ain Defla (212.389 µg/ml) et l'HE des échantillons de la région de Blida. Cependant l'acide ascorbique ayant un IC50 le plus grand par rapport à tous les extraits, de (514.442 µg/ml), possède alors la plus faible activité antiradicalaire comparativement aux autres extraits testés.

Il semble d'après ces résultats que l'HE d'Ain Defla est l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 (104.262 µg/ml) par rapport à la vitamine C.

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Les résultats obtenus par les travaux réalisés sur les mêmes espèces sont divergents ceux de Dorman *et al.* (2003), ont trouvé une valeur d'IC50 de $236 \pm 0,1$ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) en étudiant l'effet antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la région d'Ain Defla $104.262 \mu\text{g}/\text{ml}$ et inférieur de l'huile essentielle de la région de Blida $300(\mu\text{g}/\text{ml})$.

Les résultats obtenus par les travaux réalisés sur le même espèce sont divergents ceux de (Mimouni ,2016), ont trouvé une valeur d'IC50 de $711.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ pour la région de Mostaganem ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la région d'Ain Defla $104.262 \mu\text{g}/\text{ml}$ et r de l'huile essentielle de la région de Blida $300(\mu\text{g}/\text{ml})$ d'autre part à comparer avec un autre région Relizane qui ont trouvé une valeur d'IC50 de $124.20 \mu\text{g}/\text{ml}$ ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la région d'Ain Defla $104.262 \mu\text{g}/\text{ml}$ et inférieur de l'huile essentielle de la région de Blida $300(\mu\text{g}/\text{ml})$.

Conclusion

Conclusion

Notre travail rentre dans le cadre de la valorisation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. Dans la présente étude, nous avons visé comme objectif principal l'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat extraits de la partie aérienne d'une espèce de la famille de Lamiaceae, le *Rosmarinus officinalis* provenant de deux régions différentes : Blida et Aïn defla.

L'extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement obtenu pour les échantillons de région de Aïn defla (0,8%) est inférieur par rapport au rendement des plantes de la région Blida (1,1%).

Les indices physico-chimiques de nos huiles essentielles sont conformes aux normes AFNOR. L'activité antioxydante de l'huile essentielle et de l'hydrolat de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée par le test du piégeage du DPPH. Les résultats obtenus montrent que les huiles essentielles et l'hydrolats ont une activité antioxydante plus forte que celle de la vitamine C.

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

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- Anton, Wichil.1999, Plantes thérapeutique (tradition, pratique officinale, science et thérapeutique). 3eme édition allemande sous la direction de MAX WICHTL.
- Allegret, SD. stephanie@biotop-aromatiques.com consulté le 11/06/2021
- Anton, R., Lobstein, A. 2005, Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles. Paris et Cachan : Tec&Doc, Applications. CRC Press. UK
- Arnaud. A, Rauch. À et Srinivasan ,G (SD).[Les huiles essentielles et effets thérapeutiques](http://tpehuilesessentielleetsante.e-monsite.com/) .disponible sur <http://tpehuilesessentielleetsante.e-monsite.com/> consulté le 13 /06/2021
- Atik Bekkara, F; Bousmaha,L ;Taleb Bendiab S.A., J.B ;. Boti, J,b ; et Casanova ,J 2007 ,Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis L poussant à l'étatspontané et cultivé de la région de Tlemcen. Biologie & Santé,7
- Badiaga, M.,Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de Nauclea latifolia (smith). Une plante médicinale africaine récoltée au Mali, Thèse de Doctorat, Université de Bamako : 2011
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. 2008. Biological effects of essential oils. Rev. Food Chem. Toxicol, 46: 446–475Couic
- Barrata T., Dorman D., Deans S., Figueiredo C., Barroso J. & Ruberto G, Deroin T., 1988, Biologie florale d'une Annonaceae introduite en Côte D'Ivoire Mann J., 1987, Secondary metabolism, Clarendon Press, Oxford.
- Baser KHC. et Buchbauer G. 2010,Handbook of Essential oils : Science, Technology
- Beirão, A, Bernardo-Gil MG.2006.Antioxidants from *Lavandula luisieri*. ^{2nd}Mercosur Congress on Chemical Engineering. Portugal.
- Bekhechi.C et Abdelouahid.D. 2014 ,les huiles essentielles .1.04.5145
- Belakhdar J.1997, La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris
- Benouali ,Djilali .extraction et identification des huiles essentielles .mémoire .d'Oran 2016
- Bernard.T., Perinau.f., Brav.o.,Delmas.M et Gaset.A.1988,Extraction des huiles essentielles chimie et technologie. Information chimie.

Référence bibliographique

- Botineau M. 2010 ,Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Paris : Ed. Tec&Doc.
- Braga P.C., Dal Sasso M., Culici M., GaSastri L., Marceca M.X., Guffanti E. 2006,Antioxidant potential of thymol determined by chemiluminescence inhibition in human neutrophils and cell-free systems. *Pharmacology*, Vol. 76 .
- Bruneton J.1999 :Pharmacognosie – photochimie ;plantes médicinales. 3 èmet édition Technique et documentation, Lavoisier, Paris
- Bruneton.J., 1999. Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. Tec. Et Doc.Lavoisier. 3eme édition.
- Bruneton.J.1993,Pharmacognosie. phytochimie. Plantes médicinales",2eme Edition, Tech &Doc Lavoisier, paris
- Bruneton.J.2008, Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales, 2eme Ed, Paris, Tec& Doc – Edition médicales internationales.
- Burits M., Bucar F.2000, Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14, 323-328.
- Calabrese V., Scapagnini G., Catalano C., Dinotta F., Geraci D. et Candida, Cryptococcus, and other yeasts of medical importance. *Manual of clinical*
- Dupont F., Guignard J.2007,Botanique systématique moléculaire. 14e édition révisée. Issy-les-Moulineaux : Elsevier Masson. (Collection des abrégés)
- Edris A.E. 2007, Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Reserch*, Vol. 21
- Faucon, M..2017, Traité d'aromathérapie scientifique et médicale les huiles essentielles.sang de la terre 3^{ème} edition.paris p34.35microbiology: Volume 2(Ed. 9)
- Favier A. 2003 .Le stress oxydant intérêt conceptuel et expérimental .
- Frouhaz , O Lahcini B .2013:Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire. Ouargla :2013
- Hazen, K., Howell, S., Murray, P., Baron, E., Jorgensen, J., Landry, M., et al. 2006,
- Heinrich et al.,2006, *Science* 312 (5776) .1021-1024
- Iserin, P.2001, encyclopédie des plantes médicinales. Larousse ,2éd paris.
- Jacques.K et Francis H.2012, La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie.Spinger.paris,ISBN :978-8178-0308-1.
- Kaddem.S.1990, les plantes médicinale en Algérie. édition le monde des pharmaciens,3ed.Alger.

Référence bibliographique

- Lachmann J.1907, a été professeur à l'université de Grenoble et créateur des jardins alpins de Chamrousse et du Lautaret.
- LEPLAT, M . Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L. une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. thèse de doctorat .Marseille : 2017
- Lucchesi, M E. Extraction Sans Solvant Assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, thèse doctorat .France :2012
- Madhavi,.DL., Deshpande,SS. & Salunkhe DK.1996,Food Antioxidants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives. Marcel Dekker, Inc. New York
- Marinier, F., and Lobstein, A. 2013,Composition chimique des huiles essentielles. Actual. Pharm,
- Mimouni , M ,Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux regions Mostaganem et Relizane .mémoire .Mostaganem :2016.
- Mokkedem O. 2004, Les plantes médicinales et aromatiques en Algérie : situation et
- Morganti P. 2000, Biochemical studies of a natural antioxidant isolated from national 3éd.Canada.
- Moussaoui M. .2014 ,Plantes médicinales de méditerranée et d'orient france sabil,
- Paprikaetchocolat.com
- Perrot E.1971, Les plantes médicinales, presses universitaires de France.Paris perspectives. In : Actes du séminaire international sur le développement du secteur des plantesaromatiques et médicinales dans le bassin méditerranéen, Djerba, 1-3 juin 2004. IRA-ICARDA,ARS-USDA.
- Piozzi F .1996, composition and antioiidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *stachys inflata* benth from iran Vol : 6, 146.
- Pokorny J., Yanishlieva N., Gordon M..2000,Antioxydants in food: practical applications. Ed. Woodhead, 388 p.*Rosmarins officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen.
- Rodet J J.2016 ,
[.https://www.biolineaires.com/dossier_les_huiles_essentiellees_processus_d_extraction_des_huiles_essentiellees_des_plantes/](https://www.biolineaires.com/dossier_les_huiles_essentiellees_processus_d_extraction_des_huiles_essentiellees_des_plantes/) consulté le 14/06/2021
- Rombi. M. 2007 ,120 plantes médicinales. Alpen édition.9, avenue Albert II –MC-98000 MONACO.

Référence bibliographique

rosemary and its application in cosmetic dermatology. Int. J. Tissue React., Vol. 22.pp : 5–13.

- Sahi L.2016, La dynamique des plantes aromatiques et médicinales en Algérie Trois ième partie
- Sharififar, F, Dehghn-Nudeh, G., Mirtajaldini, M..2009, Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L. *Food Chemistry*. 112: 885-888.
- Small, E ; Deutsch, G.2001, herbes culinaire pour nos jardin de pays froid. Le conseilnational, 3éd, Canada.
- Soufit, S, Bennacer, K .Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique et l'activité Antimicrobienne des huiles essentiellesde *Rosmarinus officinalis*. Mémoire . Bejaïa :2013
- Tabuti, J.R.S., Lye K.A., Dhillion S.2003, Traditional herbal drugs of Bulamogi Uganda : plants, use and administration, *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 19-44.
- Tahire, K .Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* :caractéristiques physico-chimiques et activité antioxydante, mémoire. Bouira :2018
- Talbetudert k .2015, Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantesaromatique provenant de la région de Kabylie(nord Algérien). Evaluation de leurre effets surla bruche du niébé *callosobruchu macuatus* (coleoptera :Bruchidea) .mémoire .tizi-ouzou1 :2015
- Vareltzis K., Koufidis D., Gavriilidou E., Papavergou E., Vasiliadou S.1997,Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Z Lebensm Unters Forsch A*, Vol. 205
- Volak S, Stodola J. 1983,Plantes médicinales. Illustrations de Frantisek seven.Ed. Gründ. Paris.
- Wikipedia.com
- Zahalka J. 2015 , les huiles essentielles dictionnaire complet d'aromathérapie. Edition Dauphin.

ANNEXE 01

ANNEXE 01 :

Matériels utilisés :

Appareillages :

Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger

Balance

Micropipette 10_1000 μ l

Ph mètre

Réfractomètre

Réfrigérateur

Spectrophotomètre

Les produits utilisés :

DPPH

Eau distillée

Ethanol

Méthanol

Vitamine C

Matériels utilisés :

Bouteilles

Cuve

Eppendorf

Eprouvette graduée

Flacon opaque

Pipette 1000 μ l

Pipette graduée

Portoire

Tubes à essai

ANNEXE 02

ANNEXE 02 :

Tableau : tableau représente les résultats d'inhibitions de vitamine C, des HEs et des hydrolats

	200 µg /ml		400 µg/ml		600 µg /ml		800 µg /ml		1000 µg /ml	
	Do	I%	Do	I%	Do	I%	Do	I%	Do	I%
HE Ain Defla	0.204	89.68	0.105	94.68	0.290	85.33	0.225	88.61		89.11
HE Blida	0.067	66.11	0.089	54.98	0.114	94.23	0.121	93.87		94.35
Hydrolat Ain Defla	0.613	68.99	0.229	88.41	0.178	90.99	0.205	89.63	0.100	94.94
Hydrolat Blida	0.235	88.11	0.239	87.91	0.133	93.27	0.123	93.77	0.114	94.23
Vit C	1.017	48.75	1.044	47.19	1.002	49.31	0.879	55.53	0.12	93.82