



REPULIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE



Mémoire de fin d'Etude en vue de l'obtention du
diplôme de Master en Sciences agronomique.
Spécialité : Système de Production Agro-Ecologique

**EFFET DE LA PROVENANCE SUR LA QUALITE
CHIMIQUE ET MICROBIOLOGIQUE DES EXTRAITS
DU ROMARIN (*Rosmarinus officinalis L*)**

Présenté par : BOUGUESTOUR Maroua

Devant le jury composé de :

M ^{me} MOUAS Y.	MCB	Présidente	U. Blida 1
M ^{me} CHAOUIA C.	Professeur	Promotrice	U. Blida 1
M ^r HAMIDI Y.	MAB	Co-promoteur	CUBBAT
M ^{me} KEBOUR D.	Professeur	Examinatrice	U. Blida 1

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019/2020

Remerciements

Nous remercions notre créateur Allah, Grand et Miséricordieux, le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener à bien ce travail à terme.

Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à Mme CHAOUIA C. et Mr HAMIDI Y. qui nous ont honoré en acceptant de diriger ce travail, pour leurs encouragements, leurs conseils, leurs disponibilités et surtout pour leurs patiences dans la correction de ce mémoire. Nous avons été satisfait de votre qualité exceptionnelle de bons enseignants, merci de m'avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit ; Je ne peux, Madame et Monsieur, que sincèrement vous exprimer mon respect et ma gratitude.

Je tiens mon remerciement à Mme HAMIDI pour son accueil au niveau de laboratoire ADE.

Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect aux membres du jury (Mme MOUAS Y. et Mme KEBOUR D.) pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes sentiments de reconnaissance et mes remerciements vont également à l'encontre de toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Je remercie mes collègues et mes amies pour les moments sympathiques qu'on a passé ensemble.

Dédicaces

*Toutes les lettres ne sauraient pas trouver les mots qu'il faut ...
Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance
...Aussi c'est tout simplement que je dédie ce travail ...*

A mon cher Papa LOUARDI

Que le bon Dieu le tout puissant t'accorde sa sainte miséricorde et t'accueille dans son vaste paradis et vous accorde Jannat el firdaws .

A ma chère Maman SOUAD

Aucune dédicace ne sauraient être assez éloquente pour exprimer la profondeur des sentiments d'affection , d'estime et de respect que je vous porte , pour l'amour dont vous m'avez toujours comblé , l'éducation et le bien être que vous m'assurez , pour votre soutien , vos sacrifices et vos prières . Aussi fière d'y appartenir, aussi déterminé à en être digne. Vous êtes l'exemple de la bonté par excellence

A ma chère petite sœur NADA

Votre encouragement et votre soutien était la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude, et de souffrance .Merci d'être toujours à mes côtés par votre présence, pour votre amour dévoué et votre tendresse, pour donner le goût et du sens à notre vie de famille. En témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande affection, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement, je prie Dieu le tout puissant pour qu'il vous donne bonheur et prospérité.

A mes grands-parents ALI-KHADIDJA , à mes oncles KHIREDDINE-NABIL-ABDOU-ISMAIL et à mes tantes SOUHILA ET FADWA

Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées. Vous êtes pour moi une source de joie laquelle je peux compter.

A mes chers cousins et amies

Youcef-Racha-Chahla-Lina-Rama-AbdRaouf-Amir Madina-Fella-Rahma-Manel-Sara-Khadidja-Fatiha-Lamya-Romaissa-Sousou-Amel-Latifa-Nawel-Dounia-Nesrine-rayane

Qui font parties de ces personnes rares par leurs gentillesse, leurs tendresses et leurs grands cœurs. Qu'ils trouvent ici, le témoignage de tout mon amour et toute ma reconnaissance pour leur inlassable soutien et pour tous les merveilleux moments que nous avons passé ensemble.

A tous les membres de la famille, sans citer des noms, afin de n'oublier personnes.

Et tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation du mémoire.

MAROUA

Résumé

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une espèce très abondante en Algérie, il est utilisé en médecine populaire, cosmétique et phytopharmacie.

Les substances du romarin (*Rosmarinus officinalis*) issues de deux régions d'Algérie (Blida et Djelfa), ont été extraites par entraînement à la vapeur pour les huiles essentielles et par l'utilisation d'un solvant (méthanol) pour les extraits méthanoliques.

Le rendement en huile essentielle le plus élevé a été obtenu pour le romarin de Mont Hawas de la région de Djelfa avec une valeur de 0,65%. L'activité des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sur quatre souches microbiennes pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus cremoris* et *Aspergillus fumigatus*) par la technique d'aromatogramme montre que le pouvoir antimicrobien de ces huiles est très important et se caractérise par une action bactéricide contre les germes suscités.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, Blida , Djelfa , huiles essentielles, extrait méthanolique, pouvoir antimicrobien .

Abstract

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is a very abundant species in Algeria ; it is used in folk medicine, cosmetics and phytopharmacy.

The substances of the essential oil from rosemary of two regions (Blida and Djelfa) were extracted by stripping with steam, and by the use of a solvent (methanol) for the methanolic extracts.

The highest essential oil yield was obtained from rosemary of Mont Hawas (region of Djelfa) with a value of 0.65 %. The activity of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* on four pathogenic microbial strains (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus cremoris* and *Aspergillus fumigates*) by the technique of aromatogram shows that the antimicrobial potency of these oils is very important and is characterized by a bactericidal action against the germs aroused.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*, Blida ,Djelfa , essential oil, methanolic extraction ,antimicrobial power .

ملخص

إكليل الجبل (*Romarinus officinalis*) هو صنف متوفر بكثرة في الجزائر، يستخدم في الطب الشعبي ومستحضرات التجميل والصيدلة النباتية.

تم استخراج مواد الأساسية لإكليل الجبل (*Romarinus officinalis*) من منطقتين بالجزائر (البليدة و الجلفة) عن طريق التقطير المائي (البخار) بالنسبة للزيوت الأساسية و باستخدام مذيب (الميثانول) للمستخلصات الميثانولية .

تم الحصول على أعلى إنتاج للزيوت الأساسية لإكليل الجبل المقطوف من جبل حواس من منطقة الجلفة بقيمة 0.65%. يوضح نشاط الزيوت الأساسية لنبات (*Romarinus officinalis*) على أربع سلالات جرثومية ممرضة *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus cremoris* و *Aspergillus fumigatus* باستخدام تقنية الأروماتوغرام، على أن القوة المضادة للميكروبات لهذه الزيوت مهمة جدا و تتميز بتأثير فعال ضد الجراثيم.

الكلمات المفتاحية: *Romarinus officinalis* ، البليدة ، الجلفة ، الزيوت الأساسية ، مستخلص الميثانول، مضادات الميكروبات.

Table de matières

Résumé	
Table de matières	
Liste des tableaux	
Listes des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	1

Partie bibliographique :

CHAPITRE I : Historique, Ethnobotanique et préparation galénique

1. Historique	Error! Bookmark not defined.
2. Plante médicinale	4
2.1 Plantes à huiles essentielles	4
2.2 Ethnobotanique	4
2.3 Phytothérapie	4
3. Préparation des plantes médicinales	4
3.1 Cueillette:	5
3.2 Séchage des plantes	7
3.3 Conservation de la plantes	7
4. Modalités de préparation des remèdes à base de plantes médicinales	7
4.1 Décoction	7
4.2 Infusion	7
4.3 Macération	8
4.4 Cataplasmes	8
4.5 Huile essentielle	8
4.6 Shampooing	8
4.7 Poudres	8

5.	Les modes d'usage des plants médicinales	8
5.1	Usage interne.....	8
5.2	Usage externe	8
6.	Principaux groupes de principes actifs	9
6.1	Vitamines	9
6.2	Tanins.....	11
6.3	Alcaloïdes	11
6.4	Flavonoïdes	11
6.5	Coumarines.....	12
6.6	Saponines	12
6.7	Polysaccharides	12
6.8	Substances amères	12

CHAPITRE II: Généralités sur le Romarin

1.	Présentation botanique et géographique de la famille des Lamiaceae	Error!
Bookmark not defined.		
2.	Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel	14
3.	Présentation géographique du genre <i>Rosmarinus</i>	15
3.1	Historique.....	15
3.2	Origine et aire géographique	15
4.	Description de la plante.....	15
5.	Classification du Romarin	16
5.1	Variété.....	16
6.	Appellation	17
7.	Culture.....	17
8.	Diverses utilisations du Romarin.....	18
8.1	Cuisine	18
8.2	Au jardin.....	18
8.3	Parfumerie	18

8.4	Intérêt apicole	18
8.5	Cosmétique	18
9.	Propriétés thérapeutique (Médicinales)	19
9.1	Usage Interne	19
9.2	Usage Externe.....	19
9.3	Toxicité	19
10.	Composition chimique du <i>Rosmarinus L.</i>	20
10.1	Constituants actifs	20

CHAPITRE III: Extraction des plantes médicinales

1.	Extraits des plantes médicinales	Error! Bookmark not defined.
1.1	Tisanes	22
	• Infusion	22
	• Décoctions	22
	• Macération	22
1.2	Extraits par solvants éthanoliques ou hydroalcooliques	22
1.3	Huile végétale	22
1.4	Huile essentielle.....	23
	1) Localisation des huiles essentielles	23
2.	Méthodes d'extraction des HEs	24
2.1	Hydrodistillation.....	24
	1) Méthode de Moritz	24
	2) Méthode de Parnas-Wagner	25
2.2	Hydro-diffusion	26
2.3	Extraction au CO ² supercritique	26
2.4	Extraction sans solvant assistée par micro-ondes :.....	27
2.5	Extraction par solvants volatils	28
3.	Conservation des HE.....	28
4.	Molécules bioactives des plantes médicinales	29
4.1	Phénols.....	29

4.2	Tanins.....	29
4.3	Flavonoïdes	30
4.4	Acides phénoliques.....	30
5.	Activités biologiques des extraits.....	30
5.1	Activité anti-inflammatoire.....	30
5.2	Activité anti-oxydante.....	30
5.3	Activité antimicrobienne	31
1)	Activité antivirale.....	31
2)	Activité antibactérienne	31

Partie expérimentale

CHAPITRE IV : Matériel et méthodes

1.	Site d'expérimentation	Error! Bookmark not defined.
2.	Présentation de la région d'étude.....	34
2.1	La région de Djelfa.....	34
1)	Contexte géographique	35
2.2	La région de Blida :	36
2.3	Mode d'échantillonnage.....	36
2.4	Préparation du matériel végétal	37
3.	Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalisL.</i>	37
4.	Préparation de l'extrait méthanolique	38
5.	Détermination du rendement :	39
6.	Evaluation de l'activité antimicrobienne du romarin	39
7.	Description des souches microbiennes testées	39
7.1	<i>Escherichia coli</i>	Error! Bookmark not defined.
7.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	Error! Bookmark not defined.
7.3	<i>Streptococcus cremoris</i>	Error! Bookmark not defined.
7.4	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Error! Bookmark not defined.
8.	Conservation des souches.....	40

9. Milieux de culture.....	40
10. Principe de l'aromatogramme (antibiogramme).....	40
11. Test d'activité antibactérienne.....	41
11.1 Application.....	41
11.2 Dilution des huiles essentielles.....	43
12. Analyse statistique des données	43

CHAPITRE V : Résultats et discussion

1. Rendement de l'HE.....	Error! Bookmark not defined.
2. Activité de l'extrait brut de <i>R. officinalis</i> sur les souches microbiennes testées.....	47
3. Test de l'activité antimicrobienne par la technique de la concentration moyenne inhibitrice (CMI)	48
Conclusion	52
Références bibliographique	53
Annexes	64

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Les principes vitamines

Tableau n°2 : les souches microbiennes utilisées

Tableau n°3 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés d'huiles essentielles

Tableau n°4 : Rendement en huiles essentielles de *R. officinalis*

Liste des figures

Figure n°1 : Schéma descriptif de la fleur de *Rosmarinus officinalis* L

Figure n°2 : Schéma du dispositif d'hydrodistillation en montage Clevenger

Figure n°3 : Schéma du montage d'extraction par distillation à vapeur saturée

Figure n°4 : Schéma du procédé d'hydrodiffusion

Figure n°5 : Schéma du procédé d'extraction par CO₂ supercritique

Figure n°6 : photographie et schéma du procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-onde

Figure n°7 : Schéma du procédé d'extraction par solvant

Figure n°8 : Localisation géographique du site pilote de Djelfa

Figure n°9 : Carte géographique du site pilote de Blida

Figure n°10 : Mode d'échantillonnage aléatoire

Figure n°11 : Photo des feuilles séchées et découpées de Romarin

Figure n°12 : montage de l'hydrodistillation

Figure n°13 : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri

Figure n°14 : Préparation des disques imprégnés et incubation à l'étuve.

Figure n°15 : Rendement des huiles essentielles de *R. officinalis L* des deux régions

Figure n°16 : L'HE des deux régions

Figure n°17 : Evaluation de la sensibilité des souches microbiennes aux extraits bruts

Figure n°18 : Evaluation de la concentration moyenne inhibitrice de l'HE de *R. officinalis*

Liste des abréviations

- AFNOR : Association Française de Normalisation.
- H.E : Huile Essentielle.
- IR : Indice de Réfraction.
- MHE : Masse de l'Huile Essentielle.
- Mmv : Masse de la matière végétale
- DMSO : Diméthylsulfoxyde
- mol/l : mole par litre.
- MV : Matière Végétale.
- RHE : Rendement en Huiles Essentielles.
- VHE : Volume de l'Huile Essentielle.
- LSD : Test de Fisher .
- CMI : Concentration moyenne inhibitrice .

Introduction

La médecine par les plantes est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner sans créer de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la médecine par les plantes n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours ces deux types de médication se retrouvent intimement liés puisque le modèle moléculaire de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante [1].

Plusieurs médicaments anticancéreux sont constitutifs uniquement de molécules d'origine végétale [2]. Grâce à leurs propriétés biologiques, les huiles essentielles ainsi que les extraits de plantes médicinales et aromatiques constituent l'une de ces merveilles. Ces plantes représentent donc une source inépuisable de substances ayant des activités biologiques très variées et dont la connaissance constituerait une raison de plus pour la préservation et la valorisation du riche patrimoine floristique Algérien [3].

Les effets bioactifs des huiles essentielles et des extraits se sont largement avérés être liés à leurs grande richesse en composés terpéniques et aromatiques (phénoliques) dont les structures chimiques sont très diversifiées [4]. Ainsi, le fort pouvoir antioxydant et antimicrobien des plantes de la famille des lamiacées, à laquelle le romarin appartient, en fait l'une des familles botaniques les plus fréquemment utilisées au niveau mondial [5].

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*L.) est un arbrisseau de la famille des Labiées, répandu sur toutes les rives de la méditerranée [3]. Il est dominant dans les communautés arbustives post-feu, principalement dans les sols calcaires.

L'huile essentielle de romarin est largement utilisée comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques (savons, parfums, crèmes, etc.), mais aussi dans l'industrie alimentaire (boissons alcoolisées, desserts, bonbons, conservation des lipides, etc.).

Le présent travail s'inscrit dans le cadre d'une meilleure connaissance du romarin d'Algérie du point de vue, de la composition chimique par l'étude de sa variabilité en composés métaboliques secondaires influencée par le facteur environnement (région), et de l'évaluation de l'activité biologique par l'étude in vitro de l'activité antimicrobienne des extraits organiques de la plante.

CHAPITRE I :

Généralités sur les plante médicinales

1. Historique

Le premier texte sur la médecine par les plantes a été gravé sur des plaques d'argile par les Sumériens, environ 3 000 ans avant Jésus-Christ. Ils utilisaient des plantes telles le myrte, le chanvre et le thym [4] .

L'histoire de la phytothérapie est liée à celle de l'humanité, car dans toutes les cultures on a toujours compté sur les valeurs curatives des plantes pour soigner et guérir les hommes.

Certaines cultures –notamment en Chine et en Inde – perpétuent depuis des siècles une longue tradition d'herboristerie, tandis qu'en Europe et Amérique du Nord, sa popularité fut plus fluctuante face à la médecine conventionnelle. Il est vraisemblable que la première médecine par les plantes, hormis une utilisation presque instinctive des propriétés thérapeutiques des plantes qui existe depuis la nuit des temps et est toujours pratiquée dans certaines tribus, soit née en Inde, il y a plus de 4000 ans .Ce savoir se propagea également vers l'ouest, au Moyen-Orient, et la tradition égyptienne eut une influence significative sur l'herboristerie européenne. Des papyrus datant de 3500 ans indiquent que les Egyptiens employaient plusieurs centaines de plantes tant pour leurs valeurs culinaires que thérapeutiques. Ces deux usages demeurèrent inextricablement liés pendant des siècles, comme l'écrivait un médecin grec : «que votre nourriture soit votre médecine, et votre médecine votre nourriture». Lorsque les Romains leur succédèrent, leurs médecins militaires propagèrent plantes et herboristerie dans le monde entier. Mais en générale les plantes méditerranéennes furent ainsi transplanter dans toute l'Europe et en Angleterre [4] .

Grâce l'invention de l'imprimerie, la diffusion des anciens textes romains et grecs s'élargit à un public plus vaste. Une découverte qui coïncida avec la rapide expansion des villes ; pendant les deux siècles qui suivirent, la connaissance des plantes s'accrut considérablement dans tous les domaines [4] .

Au seizième siècle, les ouvrages d'herboristerie furent essentiellement publiés en langues nationales, et non plus en latin. Au 18e siècle, c'est le botaniste suédois Linné qui recense les classifications des végétaux et les premières descriptions .Cependant, vers la fin du XIXe siècle, elle a connu un rapide déclin en Occident avec l'avènement de la et l'apparition des médicaments modernes. La plus grande trouvaille a été faite au XVIIIe siècle, avec la découverte par le botaniste Jussieu du quinquina [4] .

2. Plante médicinale

Une plante médicinale est une plante que l'on cultive ou que l'on cueille dans son milieu naturel pour ses propriétés médicinales. L'être humain utilise des plantes depuis des milliers d'années pour traiter divers maux, le monde végétale est à l'origine d'un grand nombre de médicaments. Récemment, des chercheurs ont estimé qu'il existe environ 400 000 espèces de plantes dans le monde, dont environ le quart ou le tiers ont été utilisées par les sociétés à des fins médicinales [5] .

2.1 Plantes à huiles essentielles

Sont des plantes qui possèdent des huiles essentielles (parfois appelées essences) sont des mélanges complexe de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certains végétaux, mais certaines définition est restrictives, elle exclut d'un part les produits odorants d'origine animale, et d'autre part les essences obtenues selon d'autre procédés d'extraction [6] .

2.2 Ethnobotanique

C'est l'étude des réactions des sociétés non industrielles avec leur environnement , donc c'est les relations internes entre l'homme et les plantes dans un écosystème donné [7,8] .

2.3 Phytothérapie

La phytothérapie est l'ensemble des soins thérapeutiques faisant directement appel aux drogues d'origine végétale. Les matériaux peuvent être employés sous leur forme la plus simple (infusion simple ou composées) ou sous la forme de préparation galénique (teinture , pommade , extraits) [9] .

3. Préparation des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont cueillies pour être utilisées comme médicament afin de soulager le patient . Elles sont sensibles à toute action mal entretenue, soit physique ou chimique, qui peut entraîner des dommages aux vertus végétales. Pour cela il faut respecter certaines règles au cours de processus de préparation de ces plantes. Elles se présentent généralisées car elles se diffèrent souvent, selon les régions et les coutumes ou superstitions locales (croyances, religion...etc.)

3.1 Cueillette:

Certaines plantes peuvent être cueillies toute l'année, mais la plupart doivent être récoltées à un moment précis de leur croissance pour être utilisées immédiatement ou conservées, les plantes doivent être préparées sitôt récoltées afin de conserver leurs principes actifs.

Récolter les plantes par temps sec plutôt par une matinée bien conseillée, lorsque la rosée s'est évaporée, les plantes cueillies dans de bonnes conditions climatiques et au moment de leur pleine maturité ont une teneur très élevée en composants actifs. Il est préférable de cueillir les feuilles en printemps ou en été, les fleurs lorsqu'elles commencent à s'ouvrir, les fruits et les baies dès qu'ils sont murs, et les racines en automne, l'écorce généralement prélevée au printemps ou en automne doit être détachée avec précaution si l'on veut préserver la survie de l'arbuste [10].

L'usage des plantes médicinales est diversifié soit d'utiliser chaque partie à part c'est-à-dire (les fleurs ou les feuilles...) soit d'utiliser la plante entière [10].

Généralement, la récolte de ce matériel est liée avec des périodes bien déterminées de jours de l'année et saisons, et avec des conditions déterminées telles que la partie récoltée doit atteindre son extrême vitalité, tout cela avec précaution pour que le matériel végétal ne perde plus ses propriétés bénéfiques [11].

Pour la récolte, il faut prendre les mesures et les règles suivantes :

- La récolte doit s'effectuer dans un cadre régulier et non aléatoire, pendant une sortie spécifique pour le procédé.
- Il ne faut jamais éliminer toute la plante dans le cas de besoin d'une plante entière, pour qu'elle puisse se régénérer.
- Pour les fleurs et les feuilles, il faut les cueillir avec soin et elles doivent être mises dans des paniers aérés sans les tasser, pour éviter leur fermentation et la perte de leurs propriétés bénéfiques.
- La cueillette des fleurs s'effectue le matin ; après le dessèchement des gouttes de la rosée, en pleine maturité. Et dans le cas des plantes à inflorescence prolongée il faut les cueillir au début de leur apparition car elles vont perdre leur efficacité plus tard.
- Le temps idéal pour cueillir les feuilles et les tiges est juste après le midi, car la concentration des principes actifs augmente dans cette période de la journée ;

et il ne faut absolument pas les cueillir humides parce qu'elles vont être sujettes à la fermentation.

- Ainsi, il ne faut jamais les laver pour la même raison en plus il faut prendre uniquement les feuilles saines.
- La cueillette des racines s'effectue au début du printemps ou durant l'automne car elles seront riches en principes actifs. On doit les laver et les bien nettoyer avant le séchage. Les racines récoltées au début de printemps, on peut les épilucher, par contre celles d'automne, on ne peut pas car leurs écorces contiennent des principes actifs comme les racines [11] .

Les périodes convenables de la cueillette de chaque partie végétale :

- Plante entière : on ne doit cueillir que les plantes fleuries (en floraison) c'est-à-dire les plantes qui arrivent au stade adulte.
- Les feuilles : les cueillir quand elles sont jeunes et saines et juste avant la floraison de la plante.
- Les fleurs : cueillir les fleurs justes avant l'épanouissement.
- Bourgeons : cueillir les bourgeons au début du printemps et avant leur ouverture.
- Les fruits : cueillir les fruits mûres pour la consommation directe, et les fruits non mûres, si on veut les faire sèche.
- Ecorce : la cueillette se fait lorsque l'écorce possède une épaisseur, et se sépare facilement de l'organe (les résineux au printemps, les arbres en hiver, les arbrisseaux en automne).
- Les parties souterraines ou enterrées : la cueillette se fait au moment de repos végétatif, alors l'automne est la saison la plus propice et surtout qu'elle succède l'été, la saison sèche . Pour les plantes bisannuelles c'est-à-dire les plantes qui ne fleurissent et fructifient que la deuxième année, les racines seront cueillies en automne ou en printemps de la 2^{ème} année et pour les plantes herbacées elles seront cueillies en automne de la 1^{ère} année, et pour les plantes vivaces, on laisse les parties souterraines se développent pendant des années et surtout avant leur lignification.

- Les graines : on coupe les sommets fructifères, puis on les met dans des sacs en papier . Après la maturité complète, les graines tombent dans le sac, puis on les récupère.

Choix des plantes

Les principes de choix des plantes:

- La plante spontanée doit toujours l'emporter sur la plante cultivée.
- On doit choisir les plantes et toutes les parties des végétales qui croissent éloignées les uns des autres parce qu'ils sont mieux nourris, plus gros.
- On choisit les plantes qui ont plus d'odeur, de saveur et de couleur [11] .

3.2 Séchage des plantes

Il existe actuellement différents procédés de séchage tels que:

- Séchage à l'air libre et au soleil;
- Séchage à l'air chaud et sec;
- Séchage par infrarouge...etc [13] .

3.3 Conservation de la plantes

Pour conserver les plantes, les débarrasser de la partie morte puis les faire sécher dans un lieu aéré (les racines séchées à l'air et conservées à l'abri de l'humidité).

Les fleurs, feuilles semences doivent être séchées étendues sur des claies ou suspendues en petits paquets isolés les conserve dans des boîtes en métal par exemple [14] .

4. Modalités de préparation des remèdes à base de plantes médicinales

Une plante médicinale peut être utilisée en décoction, infusion, macération ou cataplasmes...

4.1 Décoction

Se pratique en bouillant la plante de 3 à 20 minutes. Elle est utilisée pour les parties les plus dures des plantes: racines, écorces, feuilles dures, graines, fruits secs [15] .

4.2 Infusion

Mise en contact de la plante avec de l'eau bouillant pendant plusieurs minutes. Elle se pratique pour les feuilles, les fleurs, les petites graines...En créole, on entend souvent les termes de « fè fusé » ou « met'afugé » [15] .

4.3 Macération

Action de faire tremper la plante dans de l'eau, de l'alcool, du vin ou de l'huile pendant plus ou moins longtemps. Ce terme se dit en créole en « fé macéré» ou « fé trempé » [15] .

4.4 Cataplasmes

Préparation de plante en pâte pouvant être appliquée sur la peau dans un but thérapeutique. On peut également utiliser des bandes ou des compresses imbibées de préparation à base de plantes sur la peau [15] .

4.5 Huile essentielle

Liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante. Il est obtenu par distillation ou extraction chimique par solvants (eau, alcool...) [15] .

4.6 Shampooing

Produit cosmétique présenté généralement sous forme de liquide, crème, solide ou poudre, formulé à partir de substances tensioactive (lipophile et hydrophile) permettant de nettoyer la chevelure et éventuellement de traiter le cheveu [15] .

4.7 Poudres

Les poudres végétales sont utilisées dans le traitement des plaies, en plaçant la plante sur une surface bien propre et l'écraser à fond avec un couteau émoussé ; appliquer la masse obtenue sur la plaie [16] .

5. Les modes d'usage des plants médicinales

Pour un meilleur résultat d'un traitement aux plantes médicinales, on doit prendre en considération la manière dont on se sert, c'est-à-dire le mode d'usage.

5.1 Usage interne

Comme toute préparation qui peut être prise soit:

- Par voie buccal ;
- Par injection (nécessite une préparation stérile) [9] .

5.2 Usage externe

Les plantes médicinales sont destinées :

- A être appliqué sur l'épiderme (solutions, crèmes, pates, poudre, compresses, savon , enveloppement,... etc.).

- A être introduit dans les orifices corporels (nez, oreille, cavité buccale, sac lacrymal, tube urinaire).
- A être inspiré (inhalation) [9] .

6. Principaux groupes de principes actifs

Ce sont des produits des plantes médicinales qui se divisent en deux types:

- Les produits du métabolisme primaire (essentiellement des saccharides);
- Le second type de substances, se compose des produits du métabolisme secondaire, c'est à-dire des processus résultant essentiellement de l'assimilation de l'azote. Ces produits apparaissent souvent comme inutiles à la plante, mais leurs effets thérapeutiques sont par contre remarquables. Il s'agit notamment des huiles essentielles (ou essences naturelles), des résines, des alcaloïdes comme ceux de l'ergot ou de l'opium. La substance active n'est pas uniquement un composé chimique mais elle présente un équilibre physiologique, elle est mieux assimilable par l'organisme et ne présente pas d'effets nocifs, et c'est l'avantage de la médecine naturelle. Nous présentons ci-dessus les principes actifs suivant leur origine chimique [9] .

6.1 Vitamines

Sont présentes dans de nombreux fruits et organes, sont des biocatalyseurs qui déclenchent ou qui dirigent des réactions chimiques importantes. Notre corps ne peut pas les synthétiser, et qu'on les trouve en mélanges équilibrés dans des fruits et les légumes frais [17,18] .

Le tableau (n° 1) présente les principales vitamines existantes dans la nature et dont le corps humain en a besoin.

Tableau n°1 : les principales vitamines .

	Structure	Sources	Rôle physiologique	Carence
Vitamine A	Axérophtol, métabolisé à partir de la β – carotène	Carotte, tomate, cresson, ortie ,épinard, fruits... (source de la β - carotène)	Croissance, yeux	Perte de la vision nocturne, ulcération de la cornée.
Vitamine B	Thiamine (B1), Riboflavine (B2), Amide de l'acide nicotinique (B3)...	Blé (son), châtaignier (feuilles), églantier (fruit), orange	Equilibre nerveux, le sang, l'appareil digestif	Anémie, lésions nerveuses, troubles digestifs, troubles nerveux...
Vitamine C	Acide ascorbique	Légumes et fruits frais, citron,orange...	Intervient dans la respiration cellulaire en tant que transporteur d'hydrogène	Scorbut
Vitamine D	Cholécalciférol, métabolisé à partir d'un phytostérol	Graine de caca, les levures (à l'état de traces)	Intervient dans le métabolisme phosphocalcique	Rachitisme
Vitamine E	Tocophérol	Huile d'arachide, germe de blé, laitue,	Intervient d'une manière spécifique dans l'évolution fœtale	Troubles de la reproduction
Vitamine F	Acides gras insaturés(i.e.: Acide linoléique)	Huile végétales, surtout l'huile de lin	Intervient dans le métabolisme lipidique	Troubles de la croissance, lésions rénal
Vitamine K	Phyllo quinone	Légumes verts	Intervient dans la synthèse hépatique de la prothrombine	Troubles de la coagulation
Vitamine P	Citroflavonoïdes, rutine , esculoside	Oranger ,citron ,raisin, prune	Inconnu	Troubles mineurs de la circulation

[19]

6.2 Tanins

Ce sont les composés responsables de la coloration en brun-rouge des organes qui en contiennent [5] .

On entend par les tanins, les composés ayant un caractère astringent: leur propriété de coaguler les albumines des muqueuses et des tissus en créant ainsi une couche de coagulation isolante et protectrice, ayant pour effet de réduire l'irritabilité et la douleur, d'arrêter les petits saignements. Doté d'un usage externe contre les inflammations de la cavité buccale, les catarrhes, la bronchite, les hémorragies locales, sur les brûlures et les engelures, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive. D'autre part, d'un usage interne en cas de catarrhe intestinal, de diarrhée, d'affection de la vésicule, ainsi que comme antidote (contre poison) lors d'empoisonnement par des alcaloïdes végétaux [9] .

Les tanins ont un pouvoir de former des complexes avec les macromolécules, en particulier. Leur usage externe découle de ces propriétés d'imperméabiliser les couches les plus externes de peau des muqueuses, protégeant les couches sous-jacentes, elles ont également un effet vasoconstricteur sur les petits vaisseaux superficiels, aussi ils ont un effet antiseptique (antibactérien et antifongique) ils sont aussi des inhibiteurs enzymatiques [17] .

6.3 Alcaloïdes

Des substances azotées d'origine végétale, aux propriétés thérapeutiques ou toxique.

Les alcaloïdes sont souvent des bases puissantes combinées à des acides, tirées diverses plantes (belladone, pavot, les pervenche, etc.) ou obtenu par synthèse. Les alcaloïdes en plusieurs groupes selon leur composition chimique et structure moléculaire : des phénylalanines, des alcaloïdes iso quinoléique, les alcaloïdes indoliques, des alcaloïdes prédiquent et pipéridiques, des alcaloïdes dérivés trépane, des alcaloïdes stéroïdes [6] .

6.4 Flavonoïdes

Les flavonoïdes présents dans la plupart, sont des segments polyphénoliques entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc, ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants, ils sont particulièrement, actifs dans le maintien d'une bonne circulation sanguine, certaines flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales et des effets protecteurs sur le foie...ils renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration des tissus voisins [20] .

6.5 Coumarines

Les coumarines, de différents types, se trouvent dans de nombreuses espèces végétales et possèdent des propriétés très diverses, ils contribuent à fluidifier le sang., et soignent les affections cutanées [20] .

6.6 Saponines

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau, les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les tri-terpéniques. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone) [20] .

6.7 Polysaccharides

Ce sont des unités complexes de molécules de sucre liées ensemble que l'on trouve dans toutes les plantes. Du point de vue de la phytothérapie, les plus importants sont les mucilages «visqueux» et les gommes présentes dans les racines, les feuilles et les graines. Les mucilages et les gommes absorbent de grandes quantités d'eau produisant une masse gélatineuse qui peut être utilisée pour calmer et protéger les tissus enflammés [20] .

6.8 Substances amères

Les substances amères forment un groupe très diversifié de composants dont le point commun est l'amertume de leur goût. Cette amertume stimule les sécrétions des glandes salivaires et des organes digestifs. Ces sécrétions augmentent l'appétit et améliorent la digestion avec une meilleure digestion, et l'absorption des éléments nutritifs adaptés, le corps est mieux nourri et entretenu de nombreuses plantes ont des constituants amers [20] .

CHAPITRE II:
Description d'espèce

1. Présentation botanique et géographique de la famille des Lamiaceae

La famille des Lamiacées (*Lamiaceae*) ou Labiées (*Labiatae*) est une importante famille des plantes Dicotylédones qui comprend environ 6900 espèces, et près de 258 genres, répandus dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne [21] .

Elles sont réparties en sept sous-familles (*Ajugoïdeae*, *Chloanthoïdeae*, *Lamioïdeae*, *Nepetoïdeae*, *Scutellarioïdeae*, *Teucrioïdeae*, *Viticoïdeae*, *Pogostemoïdeae*) [21] .

L'ancien nom des Lamiaceae : Labiées dérive du nom latin "labium" qui signifie lèvre, en raison de la forme particulière des corolles [23] .

Les labiées sont surtout des plantes méditerranéens, qui au Sahara ne se rencontrent guère que dans la région présaharienne et dans l'étage supérieur de Hoggar, sauf les trois espèces : *Marrubium deserti*, *Salvia aegyptiaca* et *Teucrium polium* qui sont plus largement répandues, surtout les deux premières [24] .

Les plantes de cette famille sont rarement ligneuses, souvent velues, herbacées, buissons ou des lianes. Elles ont une utilisation médicinale grâce aux 'huiles essentielles, alimentaire, aromates, ornementale , à tiges généralement quadrangulaires. Les feuilles sont opposées et décussées (disposées en paire se croisant d'un nœud à l'autre), sans stipule et à limbe généralement denté. Les fleurs sont généralement hermaphrodites, à symétrie bilatérale ou parfois presque radiaire. Les sépales (calice) et les pétales (corolle) sont soudés en tubes comportant habituellement quatre ou cinq lobes, ou lèvres, de forme irrégulière (symétrie bilatérale). Les deux, quatre ou cinq étamines sont attachées à l'intérieur du tube corollaire. L'ovaire est supère, libre et possède deux carpelles. Le fruit est un tétrakène et la graine est exalbuminée [21, 23, 25,24] .

Les lamiacées sont typiquement des fleurs butinées par les abeilles à langue longue. Elles possèdent des glandes au niveau de l'épiderme renfermant des huiles essentielles à propriétés excitantes, sudorifique...etc [26,27] .

2. Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y trouve aussi des plantes ornementales (sauge, lavande, etc..) [22] .

3. Présentation géographique du genre *Rosmarinus*

3.1 Historique

Selon une légende, le Romarin était à l'origine une plante à fleurs blanches. Avant de donner naissance à l'enfant Jésus, Marie aurait déposé sa cape de couleur bleue sur un Romarin planté devant l'étable. La cape aurait déteint sur l'arbrisseau et c'est ainsi que, depuis, le romarin fleurit bleu. Certains voient dans cette légende une autre origine possible au nom Romarin à savoir « Rose de Marie ».

L'eau de Hongrie, alcoolat à base de Romarin pour se parfumer ou à boire, viendrait d'Elisabeth de Pologne, reine de Hongrie. Elle l'aurait utilisée en 1378 à l'âge de 72 ans [28] .

Nommé rose marine (Romarin vient du latin ros = rosée et marinus = marin), herbes aux couronnes, encensier, plante méditerranéenne sauvage ou cultivée [29] .

3.2 Origine et aire géographique

Le Romarin spontané qui pousse sur les côtes méditerranéennes, et le sud-ouest de l'Asie, et souvent cultivé dans les jardins comme clôture..Il pousse aussi spontanément dans le sud de l'Europe, elle est assez répandue dans les montagnes. Sur les pentes montagneuses arides et ensoleillées, notamment en Espagne, en Dalmatie, en Tunisie, au Maroc et dans le sud de la France [30, 31,32] .

Le Romarin affectionne particulièrement les terrains calcaires .c'est pourquoi on les trouve essentiellement dans les garrigues maquis non-loin de mer. Il est bien caractérisé des collines sèches .maquis, sur sol argileux, c'est une espèce méditerranéenne, buisson aromatique haut [33] .

En Algérie, Le Romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national [30] .

4. Description de la plante

Le Romarin est un Arbustes ou sous-arbrisseaux ligneux très odorants, de 1.5 m de longueur environ. Feuilles linéaires à marge révoletée, gaufrées, verdâtres en dessus, hispides blanchâtres en dessous. Calice en cloche, bilabié [34,36] .

Le Romarin porte des verticilles de fleurs Mauves .Le bord supérieur de la corolle a deux lobes et le bord inférieur trois : seule la paire d'étamines antérieure se développe [32] .

La floraison commence dès le mois de février (parfois en janvier) et se poursuit jusqu'en avril mai. La couleur des fleurs, qui se présentent en grappes assez semblables à des épis, varie du bleu pâle au violet (on trouve plus rarement la variété à fleurs blanches *R.officinalis albiflorus*). Leur calice qui joue le rôle de protecteur de la fleur est velu, à dents bordées de blanc. Elles portent deux étamines (l'organe mâle) ayant une petite dent vers leur base. La lèvre inférieure de la corolle est profondément divisée, faisant penser au labelle de certaines orchidées. Comme pour la plupart des lamiacées, le fruit est un tétrakène (de couleur brune) [34] .

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes de la famille des originaires du bassin méditerranéen le *Rosmarinus eriocalyx (tounefortii)* Jordan et Fourr, et le *Rosmarinus officinalis L* [25] .



Figure n°1 : Descriptif de la fleur de *Rosmarinus officinalis L* [35] .

5. Classification du Romarin

5.1 Variété

On dénombre plus de 150 variétés de Romarin. Elles se différencient par leur taille maximale (d'une dizaine de centimètres à 2 mètres), leur tenue (vertical ou rampant), la

couleur de leurs fleurs (violette, bleues, blanches, roses) et de leurs feuilles, leur rusticité...etc [21] .

Règne	Plantae
Embranchement	phanérogames
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (labiées)
Sous-famille	nepetoideae
Tribu	mentheae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>

[38]

6. Appellation

- Nom vernaculaire en arabe : Iazir, klil, Hassalhan, Yazir.
- Nom français : Romarin, rose marine, encensier, romarin des troubadours, herbes aux couronnes, etc.
- Nom anglais : Common Rosemary
- Nom targui ou berbère : Ouzghir-touzala.

7. Culture

Du fait que le Romarin présente un très faible taux de germination des graines, la méthode la plus facile pour sa propagation est le bouturage ou marcottage en automne et au printemps. Cette forme de propagation végétative consiste à cultiver un fragment d'organe végétal dans des conditions de milieu favorable. La bouture peut éventuellement se transformer en un organisme entier capable de mener une vie indépendante et possédant les caractères fondamentaux de l'individu souche [37] .

8. Diverses utilisations du Romarin

8.1 Cuisine

Il est relativement employé en cuisine en Afrique du nord, au Portugal et en Espagne, mais les cuisines britanniques et italiennes en font un usage abondant. Il sert à aromatiser les viandes ; y compris les saucisses et la viande d'agneau, ainsi que les sauces, les plats à base de légumes la volaille, les fruits de mer, les ragouts [38] . ajouter aux salades de fruits, l'agneau, le porc ou le poulet. Aromatisez de cette herbe le poisson grillé ainsi que les plats de légumes à base de tomates, d'épinards, de pois, de champignons, de courges et de pommes de terre , utilisé aussi à la tisane et au vinaigre [38,39] .

8.2 Au jardin

La forte odeur du Romarin éloigne plusieurs insectes ravageurs du jardin. Le petit arbuste se cultive bien en contenant, et certaines variétés rampantes conviennent aux jardinières. Il fleurit plus souvent au début de l'hiver dans la maison. Il est considéré Comme répulsif contre les fourmis [39] .

Il est considéré comme étant un moyen de défense de la plante contre divers organismes dépréciateurs. L'utilisation de ces substances végétales en tant que biopesticides dans la protection des graines de légumineuses ou céréales stockées contre les insectes [39] .

8.3 Parfumerie

L'utilisation du Romarin en parfumerie est très ancienne. Cette plante est surtout utilisée dans la composition des parfums masculins [40] .

8.4 Intérêt apicole

Le Romarin sécrète un nectar très abondant au niveau d'un nectaire en forme de disque situé à la base de l'ovaire, au fond du calice. La sécrétion de nectar s'effectue même par températures relativement basses, dans les fleurs épanouies en hiver. De plus, le nectar de romarin est très concentré (plus de 50 % de saccharose) ; pour cette raison il est activement collecté par les abeilles [41] .

8.5 Cosmétique

L'huile du Romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, parfums, désodorisants [42] .

Le Romarin est considéré comme un antioxydant naturel par l'extrait de son huiles essentielles [43] .

9. Propriétés thérapeutique (Médicinales)

On utilise principalement les feuilles, les fleurs, et l'huile essentielle.

9.1 Usage Interne

En usage interne, le Romarin est utilisé pour soigner l'asthénie, le surmenage physique et intellectuel, l'asthme, les bronchites chroniques, la coqueluche, et la grippe. On l'utilise aussi pour traiter les infections intestinales, les colites, les diarrhées, les flatulences, l'hépatisme, les cholécystites, les ictères par hépatite et par obstruction, les cirrhoses, la lithiase biliaire, les douleurs gastriques. Enfin on l'utilise aussi contre les rhumatismes, la goutte, les dysménorrhées, les leucorrhées, les affections du système nerveux [44].

Carnosol du romarin possède une activité antivirale contre le virus du SIDA (HIV) alors que l'acide carnosique a un effet inhibiteur très puissant contre la protéase de HIV-1, D'autres études montrent que les composants du romarin inhibent les phases d'initiation et de promotion de cancérogénèse. Il est utilisé en Italie comme un régime du corps [45,46].

9.2 Usage Externe

En usage externe, le Romarin est utilisé pour soigner les plaies, les brûlures, les rhumatismes, les douleurs musculaires, les pertes blanches, la pédiculose, la gale, la fatigue générale, la débilité des enfants. Dans la région de Béchar, Le romarin est traditionnellement destiné à la conservation des pâtes des dattes et comme un emménagogue. Les compresses des feuilles cuites sont employées avec succès pour réduire les gonflements articulaires [44, 31,47].

9.3 Toxicité

- Le Romarin peut s'avérer extrêmement toxique à certaines doses, provoquer des irritations et des hémorragies gastro-intestinales, attaquer le foie et les reins (la néphrite), provoquer l'épilepsie...
- L'huile essentielle est neurotoxique vu la présence du *camphre*, elle ne devrait donc pas être utilisée par voie orale
- Il est également déconseillé d'utiliser les préparations à base de feuilles de romarin au cours de la grossesse et en cas d'hypertension ou d'épilepsie [48].

10. Composition chimique du *Rosmarinus L.*

10.1 Constituants actifs

La constitution de l'huile essentielle varie selon la phase de développement et l'origine des feuilles utilisées pour l'extraction [40, 34,49] .

- Huile essentielle : 1,8 cinéole, alpha-pinène, camphre de romarin.
- Diterpènes : acide carnosolique, rosmadial.
- Triterpènes et stéroïdes : acide aléanolique, acide ursotique.
- Lipides : n-alkanes, isolalkanes, alkènes.
- Rosmaricine
- Acide rosmarinique
- Tanin.

CHAPITRE III: Extraction des plantes médicinales

11. Extraits des plantes médicinales

Les extraits sont des préparations liquides (extraits fluides et teintures), de consistance semi-solide (extraits mous ou fermes) ou solide (extraits secs), obtenues à partir de drogues végétales généralement à l'état sec. Les extraits titrés sont ajustés au moyen d'une substance inerte ou en mélangeant des lots d'extraits, avec une tolérance acceptable à une teneur donnée en constituants ayant une activité thérapeutique connue [50] .

Les extraits des plantes médicinales peuvent être utilisés sous plusieurs formes.

11.1 Tisanes

Regroupent les infusions , les décoctions et la macération .

- **Infusion**

Consiste à verser l'eau tiède ou bouillante sur les organes de plantes (fleurs, feuilles...) et à laisser reposer en couvrant hermétiquement, de 1 à 30 minutes. Après cette opération, on filtre le produit obtenu [51] .

- **Décoctions**

Consiste à placer la plante dans l'eau froide, la porter à ébullition durant 10 à 15 minutes, puis laisser tirer un quart d'heure [51] .

- **Macération**

Cette technique permet d'extraire lentement tous les principes actifs, surtout ceux qu'à des températures élevées risqueraient d'altérer ; Elle consiste à mettre une certaine quantité d'herbe sèche ou fraîche dans un liquide (eau, vin, alcool à froid)

11.2 Extraits par solvants éthanoliques ou hydroalcooliques

L'extraction est réalisé par un solvant approprié (généralement de l'éthanol, méthanol) à partir d'un ou plusieurs lots de drogues, qui peuvent avoir subi préalablement différents traitements comme l'inactivation des enzymes présents, un broyage ou encore un dégraissage [52] .

11.3 Huile végétale

Une huile végétale est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les

solvants organique sapolaires ou peu polaires, non volatiles : on parle alors d' « huile fixe ou grasse » [52] .

Les huiles végétales s'extraient naturellement par compression de la matière qui les contient, préalablement concassée. La compression est exercée à froid ou à chaud.

11.4 Huile essentielle

Le mot huile est attribué à son caractère hydrophobe et à ses propriétés de solubilisation dans les graisses, alors que le mot essentiel reflète l'odeur distinctive dégagée par la plante productrice [53,54] .

Une huile essentielle, ou parfois essence végétale (latin : *essentia*, « nature d'une chose ») est un liquide concentré en substances et molécules issues du métabolisme végétal (terpénoïdes et molécules aromatiques). Elle est obtenue par un procédé d'extraction mécanique, par entraînement à la vapeur d'eau ou par distillation à sec [55] .

Les HE sont des liquides, volatils, limpides et colorés, elles sont solubles dans les lipides et les solvants organiques qui ont une densité inférieure à l'eau [53] .

Ces liquides sont fabriqués à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré. L'huile essentielle est un extrait pur et naturel de la partie odoriférante des plantes aromatiques [56,57] .

1) Localisation des huiles essentielles

Les H.E n'existent quasiment, que dans les végétaux supérieurs. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme produits du métabolisme secondaire . Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graine . [58,59] .

12. Méthodes d'extraction des HEs

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes.

Les méthodes d'extraction sont adaptées aux propriétés physiques les plus importantes des huiles essentielles:

- Leur volatilité dans l'air et dans la vapeur d'eau :
- Leur solubilité dans les solvants organiques.

L'extraction des huiles essentielles se fait par des procédés divers.

12.1 Hydrodistillation

Deux méthodes sont décrites ci-dessous :

1) Méthode de Moritz

il s'agit d'une hydrodistillation simple qui consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau. L'ensemble est, ensuite, porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile se sépare par différence de densité [62] .

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (figure n°2). Son intérêt majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon [62] .

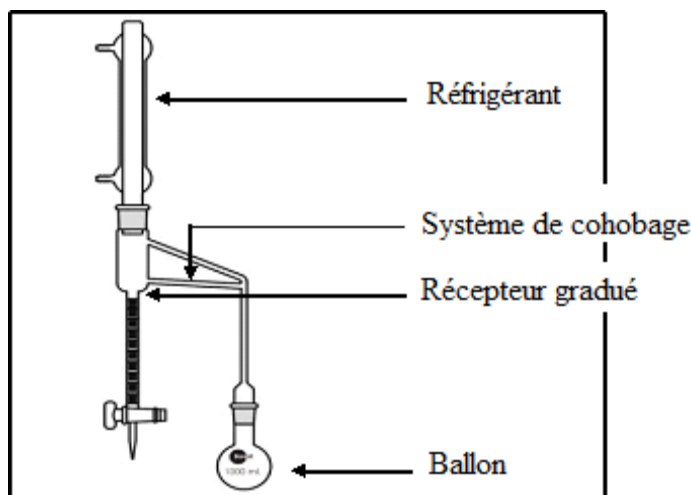


Figure n°2 : Dispositif d'hydrodistillation en montage Clevenger [62] .

2) Méthode de Parnas-Wagner

Dans la distillation à vapeur saturée, la matière végétale est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic et n'est pas en contact avec l'eau (figure 3). Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation [63] .

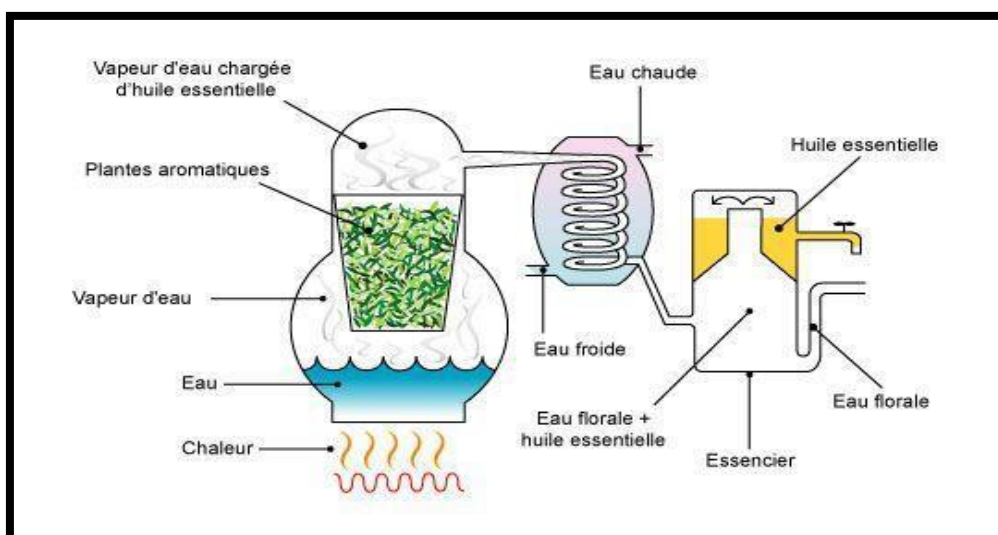


Figure n°3 : Montage d'extraction par distillation à vapeur saturée [63] .

12.2 Hydro-diffusion

Le terme hydrodiffusion est attribué au type de transport contrôlé par la polarité des constituants. Elle serait responsable de la vitesse relative de la distillation des différents composants aromatique dépendants d'avantage de leurs solubilités dans l'eau que de leur point d'ébullition. Si l'hydrodiffusion constituait l'étape limitant de l'hydrodistillation, alors l'ordre de sortie des composés serait dicté par leurs polarités et non par volatilités [64] .

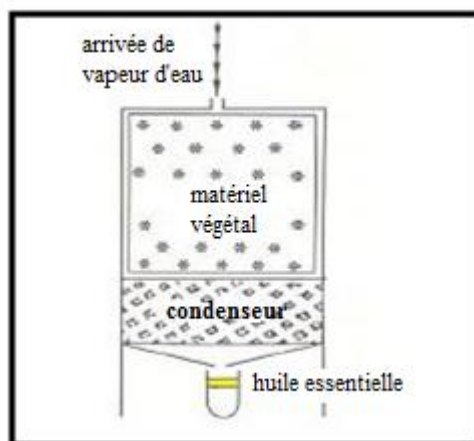


Figure n°4 : Procédé d'hydrodiffusion [62] .

12.3 Extraction au CO² supercritique

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Dans cette technique, un courant de CO₂ à forte pression fait éclater les poches à essence, et entraîne les H.E qui seront, ensuite, récupérées [62] .

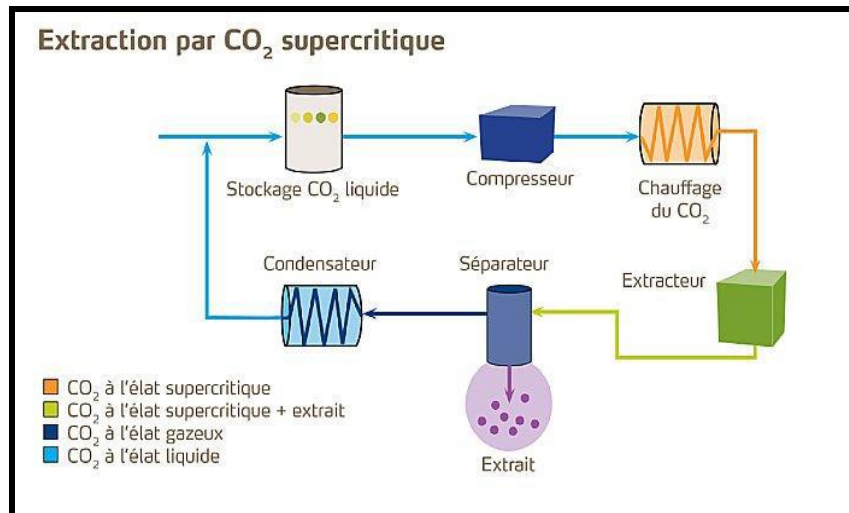


Figure n°5 : Procédé d'extraction par CO₂ supercritique [62] .

12.4 Extraction sans solvant assistée par micro-ondes :

Cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale. Le montage obtenu se rapproche sensiblement d'un montage d'hydrodistillation classique (figure n° 6). Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Les graines sont en permanence humides, ce qui ne laisse aucune chance à la réalisation d'éventuelles réactions secondaires, néfastes à la qualité du produit obtenu [62] .

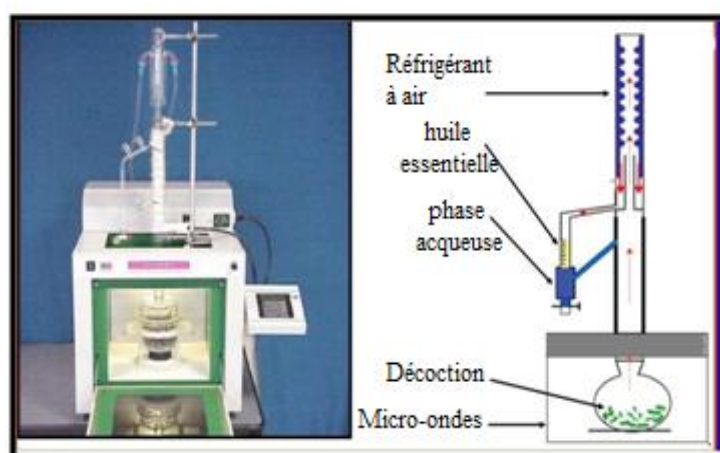


Figure n°6 : Procédé d'extraction sans solvant assistée par micro-onde [62] .

12.5 Extraction par solvants volatils

La technique d'extraction « classique » par solvant, 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 aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont : l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet ou un appareil de Lickens-Nickerson (figure n°7) [65] .

Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances [62] .

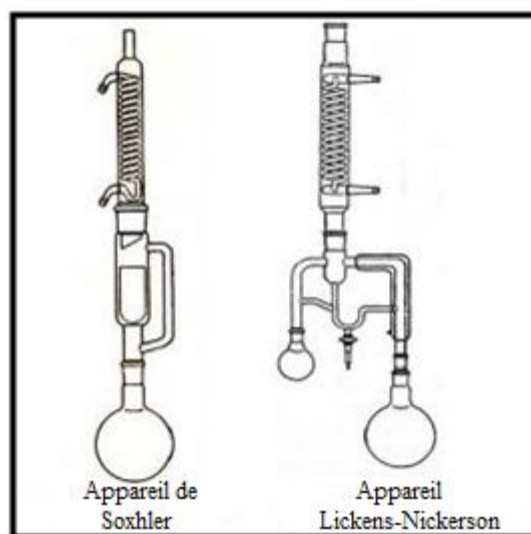


Figure n°7 : Procédé d'extraction par solvant [62] .

13. Conservation des HE

Si elles sont entreposées correctement, les HE distillées de bonne qualité peuvent être conservées au moins cinq ans, voire plus, et celles provenant d'agrumes exprimés, au moins trois ans [63] . Les HE ne rancissent pas, contrairement aux huiles végétales, mais elles peuvent s'oxyder et donc former des résidus résineux.

Idéalement, il est conseillé de conserver les HE dans leur conditionnement d'origine, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Il est important de bien visser le bouchon, car elles sont très volatiles et risquent de s'évaporer rapidement [67] .

14. Molécules bioactives des plantes médicinales

Les plantes fabriquent des hydrates de carbone et émettent de l'oxygène par la photosynthèse, créant au fil de ce processus des voies métaboliques fournissant les substances nécessaires à la production d'une pléthore de composants. Au niveau des plantes médicinales, cela inclut les minéraux, les vitamines, les oligoéléments et un large assortissement de substances à action thérapeutique spécifique dans le corps. Les plus connues sont présentées ci-dessous.

14.1 Phénols

Les phénols, composés organiques aromatiques, sont présents dans beaucoup de végétaux. Ils ont généralement des action antiseptiques, antibactériennes et antihelminthiques. Le plus simple de cette classe est le phénol (C_6H_5OH) qui est un antimicrobien, un autre est l'acide salicylique (aspirine), qui forme les glucosides présente dans le saule, la viorne obier et la reine –des-près. Il a des propriétés antiseptiques, antalgiques et anti – inflammatoires , On est trouvé aussi les acides hydroxycinnamique ,dans les acides caféitique, férulique et sinapique formant la base des asters phénoliques, des coumarines, des glucosides et des lignanes, ainsi que la cyna-rine, principale composant de l'artichaut, aux actions Etude bibliographique 17 protectrices et hypocholestérolémiantes, et la curcumine , principale composant du curcuma, agent anti-inflammatoires, hypo-tensif et hépatoprotecteur [68] .

Dans cette classe entrent aussi les stibènes, présents dans la peau des raisins et le vin rouge, avec des actions antioxydants, anti –inflammatoires, anticoagulantes et antiallergique, et les quinones, dont les anthraquinones et les naphthoquinones [68] .

14.2 Tanins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire compris entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et

d'autres protéines. Les tanins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [69]. On distingue deux groupes de tanins différents par leur structure et par leur origine biogénétique :

- **Tannins hydrolysables**
- **Tannins condensés**

14.3 Flavonoïdes

Les flavonoïdes et les glucosides flavonoïdes, très présents dans la nature, confèrent une couleur jaune-orangée et rouge aux fruits et aux fleurs. Leur action antioxydante a un effet bénéfique sur le cœur et la circulation, fortifiant et réparant les parois des vaisseaux sanguins et accroissant la résistance au stress. Agissant en synergie avec l'acide ascorbique, renforcent la capacité du corps à les métaboliser. Ils sont anti-inflammatoires (quercétine), hépato-protecteurs (silymarin et quercitrine), anti-tumoraux, antiviraux et hypotenseurs. Les plantes riches en flavonoïdes comme le kaempférol, la myricétine et la quercétine protègent contre les affections cardiovasculaires et traitent les problèmes vasculaires tels que l'insuffisance veineuse, les ecchymoses, les hémorroïdes et le saignement nasal [68].

14.4 Acides phénoliques

Le terme d'acide phénolique peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'emploi de cette dénomination est réservé aux seuls dérivés des acides benzoïque et cinnamique [17].

15. Activités biologiques des extraits

15.1 Activité anti-inflammatoire

Un effet anti-inflammatoire a été décrit pour les HEs de *Protium strumosum*, *Protium lewellyni*, *Protium grandifolium*, ou plus récemment, pour celle des racines de *Carlina acanthifolia* [70].

15.2 Activité anti-oxydante

Le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept celui des antioxydants. Le terme " antioxydant " recouvre un ensemble d'activités diverses ou

plusieurs espèces sont habiles à ralentir ou à empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Ces molécules, occupent du point de vue biologique une place impressionnante parmi plusieurs recherches menées depuis une dizaine d'années [71].

Les polyphénols suscitent depuis une dizaine d'année une attention et un engouement considérable et plusieurs de leurs propriétés biologiques font l'objet de nombreuses études non exhaustives [82,83]. Une des raisons primordiales est la reconnaissance de leur propriété antioxydante, ainsi qu'à leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydatif [74].

Ils ont une valeur commerciale très importante surtout dans le domaine agroalimentaire et pharmaceutique en tant que puissants antioxydants naturels particulièrement les flavonoïdes qui sont des piègeurs efficaces de radicaux libres les plus prooxydants [75].

15.3 Activité antimicrobienne

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques, dont plus de 6000 sont d'origine végétale [76].

Plusieurs études ont été menées sur l'inhibition de la croissance des microorganismes par des composés phénoliques et ont montré que plusieurs classes de composés Etude bibliographique 19 phénoliques comme les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins interviennent dans le mécanisme de défense de la plante contre les microorganismes pathogènes [69,77,78].

3) Activité antivirale

La génistéine (Légumineuses {soja, haricots noirs et pois chiches verts}, pousses de luzerne et de trèfle et les graines de tournesol), ainsi que d'autres flavonoïdes sont actifs in vitro sur plusieurs souches virales, que ce soit des virus non- enveloppés (poliovirus, adénovirus) ou des virus enveloppés (Retroviridae comme VIH, Flaviviridae, Herpes virus...). Le flavonoïde le plus étudié est de loin la génistéine, néanmoins les mécanismes d'action ne sont pas clairement élucidés [79].

4) Activité antibactérienne

L'organisation mondiale de la santé « OMS » certifie que les plantes médicinales sont constituées d'une panoplie de molécules caractérisées par des

structures riches, complexes et variées par conséquent elles devraient être étudiées intensivement afin de mieux comprendre leurs propriétés et leurs efficacités [80] .

- La capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes, est souvent corrélée avec leur teneur en métabolites secondaires tels les polyphénols [81] . Plusieurs études épidémiologiques et cliniques attestent le rôle incontestable des composés phénoliques dans l'inhibition d'innombrables bactéries pathogènes voir même toxiques, fongicides et antibiotiques [75,82] . Ces métabolites secondaires peuvent conduire à la diminution de l'activité enzymatique ainsi qu'à la croissance microbienne [77] .

CHAPITRE IV : Matériel et méthodes

16. Site d'expérimentation

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est composé des rameaux de sommités de romarin : *Rosmarinus officinalis* L. spontané, récolté dans deux régions différentes : Djelfa et Blida en mois d'Avril 2019 .

L'extraction des échantillons a été réalisé au sein du laboratoire agro-alimentaire de la faculté Science de la nature et de la vie . La détermination de l'activité antimicrobienne des extraits du (*Rosmarinus officinalis*) a été réalisée au niveau de laboratoire de contrôle de qualité de l'eau de l'EPIC Algérien des Eaux (ADE) unité de Blida.

17. Présentation de la région d'étude



Figure n°8 : Situation géographique des zones d'études

17.1 Région de Djelfa

La wilaya de Djelfa est une wilaya steppique située dans la partie centrale des hauts plateaux. S'étalant sur une superficie de 32 256.35 km², la région est caractérisée par une activité pastorale dominante, ainsi que par l'arboriculture, la céréaliculture, les cultures maraichères et fourragères.

Les prélèvements ont été réalisés dans la région de Djelfa dans le site du MONT HAWAS.

Le site pilote Mont Hawas choisi pour sa composante « Optimiser la production de biens et services par les écosystèmes boisés méditerranéens dans un contexte de changements

globaux» regroupe les massifs forestiers de la région du MONT Hawas qui compte deux grandes zones forestières Senalba Chergui et Snalba Gharbi .



Figure n°8 : Localisation géographique du site pilote de Djelfa (MONT HAWAS)

5) Contexte géographique

La forêt domaniale du MONT Hawas fait partie du patrimoine forestier de la Wilaya de Djelfa située à 350 Km au sud de la capitale Alger sur les Monts des Ouled Nail, dans une zone à climat semi-aride caractérisé par des hivers froids et rigoureux et des étés chauds et secs. La situation géographique de cette zone considérée comme la porte du Grand Sahara fait d'elle une région à importance majeure dans la lutte contre la désertification et la protection des sols contre l'érosion éolienne.

Le versant Nord se présente sous forme de futaie dont les arbres peuvent atteindre une hauteur variant de 10 à 15 mètres et de circonférence variant entre 1,20 m et 1,60 m dans les conditions optimales de développement :

- La forêt de Pin d'Alep à Chêne vert
- La forêt de Pin d'Alep à Romarin
- La forêt de Pin d'Alep à Genévrier de Phénicie
- Le Matorral arboré
- La steppe (formation basse à graminées à chamaephytes ou à haloïha)

Le versant sud, différent sur le plan morphologique, bénéficie de meilleures conditions topographiques, la strate arborée est plus dense avec des arbres plus ou moins droits atteignant 10 à 12 mètres. La strate herbacée est pratiquement absente. Les peuplements sont constitués de futaies, la frange périphérique est dégradée : elle est souvent cultivée et

subit une forte pression (parcours, coupes de bois illicites). On y trouve aussi une steppe arborée à Genévrier de Phénicie dans les versants plus secs et plus exposés aux influences désertiques. L'alfa, plante typique de la steppe s'introduit partout et se régénère par semis dans la forêt, alors qu'en milieu steppique ce mode de régénération est rare.

17.2 Région de Blida :

La wilaya de Blida se situe dans la partie nord du pays, dans la zone géographique du tell central.

On a fait les prélèvements de la région Sidi el Kbir .



Figure n°9 : Carte géographique de site pilote de Blida

Matériel végétal

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est composé des rameaux de sommités de romarin : *Rosmarinus officinalis* L. spontané, récolté dans deux régions différentes : Djelfa, et Blida .

17.3 Mode d'échantillonnage

La méthode d'échantillonnage adoptée dans notre travail est l'échantillonnage aléatoire. Il consiste à récolter le matériel végétal sur des individus choisis au hasard. Les arbustes retenus pour la récolte doivent être homogènes et présentant un bon état végétatif et se situent au centre des forêts des régions d'études



Figure n°10 : Une générale d'une touffe de romarin (Avril 2019)

17.4 Préparation du matériel végétal

La matière végétal a été séchée à l'air libre, à l'ombre jusqu'à la dessiccation complète (14jours). Nous avons séparé les feuilles des rameaux et nous les avons conservés dans des sacs en papier afin de les utiliser pour l'extraction de l'huile essentielle et pour la préparation de l'extrait méthanolique.



Figure n°11 : Lot de feuilles séchées du Romarin .

18. Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*L.

L'appareil utilisé pour l'hydrodistillation est de type Clevenger, il est constitué d'un chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur, un ballon en verre où l'on place le mélange des feuilles séchées et l'eau distillée, un réfrigérant et un collecteur en verre qui reçoit les extraits de la distillation (Figure n°2).

❖ Principe

Il consiste à immerger directement 100 g du matériel végétal à traiter dans un ballon de 1 litre, rempli d'environ 700 ml d'eau distillée et porté à ébullition pendant 03 heures. Les vapeurs hétérogènes formées dans le serpentin sont condensées sur une surface froide qui est celle du réfrigérant, ainsi la séparation eau- essence s'effectue par une simple différence de densité. L'huile essentielle obtenue, moins dense que l'eau, est récupérée dans un petit flacon opaque et conservée à l'obscurité à $5 \pm 1^\circ\text{C}$.



Figure n°12 : Montage de l'hydrodistillation

19. Préparation de l'extrait méthanolique

Après la séparation des feuilles des rameaux. Les feuilles sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique, la poudre fine obtenue est conservée pour la préparation de l'extrait méthanolique.

La méthode d'extraction suivie est l'extraction par macération, Le principe de cette méthode est basé sur l'extraction sélective liquide-solide des composés phénolique et aqueux en utilisant un solvant : le méthanol.

L'extraction des composés phénoliques est réalisé par macération, une prise d'essai de 20 g de poudre végétale de (*Romarrinus officinalis.L*) des deux régions est mise en contact avec 200 ml de méthanol pour chaque région, le mélange est soumis à une agitation à l'aide de deux agitateurs magnétiques à une température ambiante pendant 24 heures.

Le filtrat obtenu est concentré à l'évaporateur rotatif et le résidu obtenu est pesé pour déterminer son rendement puis conservé au réfrigérateur, dans un flocon sombre bien fermé.

20. Détermination du rendement :

Calcul des rendements des extractions : Le rendement est la quantité d'extrait obtenue à partir d'une matière végétale [83,84] . Il est exprimé en pourcentage par rapport à la matière sèche (poudre végétale). Il a été calculé selon la formule :

$$R (\%) = M1 \times 100/M0$$

R : Rendement de l'extrait exprimé en pourcentage (%)

M1 : Masse de l'extrait (en g)

M0 : Masse de poudre végétale (en g)

21. Evaluation de l'activité antimicrobienne du romarin

Les souches microbiennes utilisées dans notre étude ont été choisies pour leurs fréquences élevées dans la contamination humaine Ce sont des souches de référence obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC) et proviennent du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida (Algérie). Ces bactéries font partie de deux groupes des microorganismes, qui sont des microorganismes pathogènes et des microorganismes contaminants.

22. Description des souches microbiennes testées

Tableau n°2 :les souches microbiennes utilisées

	Bactéries			Champignon
Nom	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Aspergillus fumagtus</i>
Gram	positif	Positif	négatif	
N° de référence (ADE)	ATTC ®6538	ATTC ®6633	ATTC ®8739™*	ATTC ®10230™*

23. Conservation des souches

Les souches ont été conservées à 5°C dans des tubes stériles contenant 10 ml de milieu de culture incliné (gélose nutritive).

24. Milieux de culture

Nous avons utilisé dans notre expérimentation, le milieu de Mueller Hinton (gélose riche en composés d'infusion de viande de bœuf, hydrolysate acide de caséine et amidon de maïs) pour les bactéries, et le milieu Sabouraud (milieu non sélectif et avec son pH acide de 5,2 – 5,6 favorise le développement des moisissures) pour le champignon.

Les milieux de culture sont stérilisés et coulés aseptiquement à une épaisseur de 4mm dans des boîtes de Pétri de 90mm de diamètre.

25. Principe de l'aromatogramme (antibiogramme)

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester. Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la souche microbienne étudiée. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de la gélose et y détermine un gradient de concentration. Les souches microbienne croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elles rencontrent une concentration d'antibiotique suffisante pour inhiber leur croissance. On observe ainsi autour des disques une zone circulaire indemne de colonies, appelée zone d'inhibition.

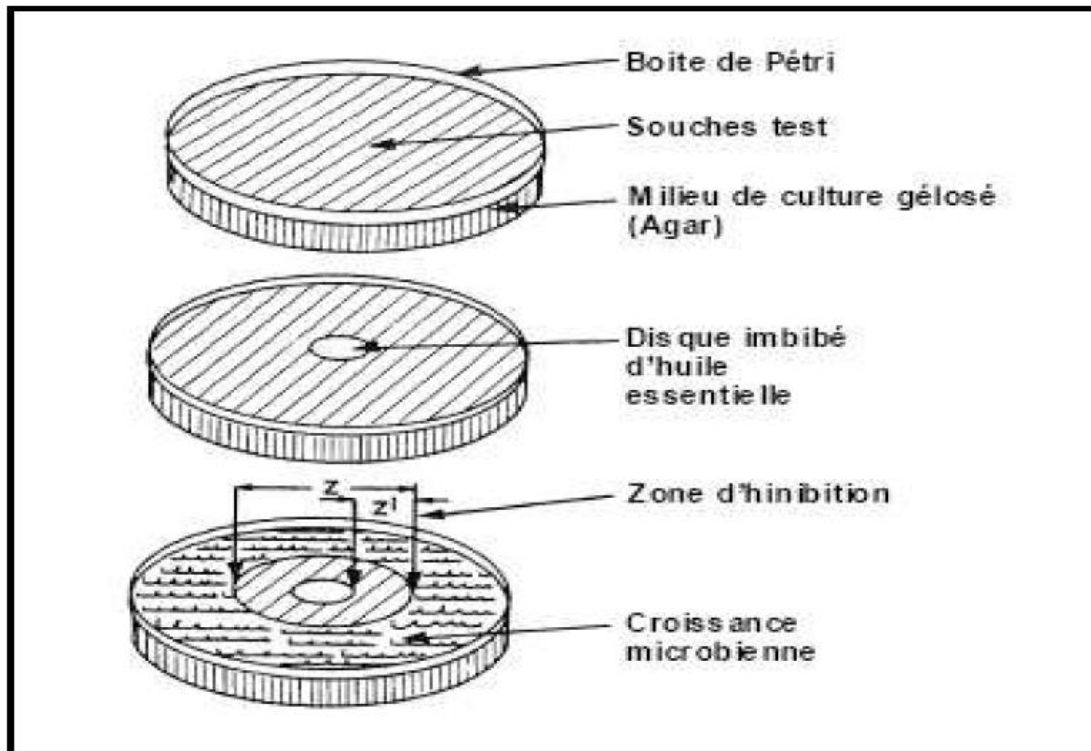


Figure n°13: Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri [89] .

26. Test d'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin est réalisée au laboratoire de contrôle de qualité de l'eau de l'EPIC Algérien Des Eaux (ADE) unité de Blida. La méthode utilisée dans notre étude est la méthode de diffusion des disques appelée aussi l'aromatogramme, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des différentes souches microbiennes.

26.1 Application

Des disques de papier filtres stériles Whatmann de 6 millimètres de diamètre sont imprégnés de différentes solutions des extraits préalablement dissouts dans le diméthylsulfoxy de (DMSO).



Figure n°14: Préparation des disques imprégnés et incubation à l'étuve.

La gélose appropriée est coulée dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre et inoculée avec une suspension microbienne pure fraîchement préparée. Trois boîtes sont utilisées pour chaque souche testée. Les disques de papier Whatman stérile de 6 mm de diamètre sont imbibés de 30µl d'extrait (reconstitué selon la concentration voulue) puis déposé à la surface de la gélose ensemencée, l'ensemble est incubé pendant 24 heures à 37°C. Dès l'application des disques imprégnés, l'extrait diffuse de manière uniforme et après 24 heures d'incubation, la présence autour des disques d'une zone d'inhibition circulaire dans laquelle il n'y a pas de croissance de micro-organismes dénote la sensibilité de ceux-ci à cet extrait. Plus la zone d'inhibition est grande, plus le germe est sensible

Tableau n°3 : Transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés d'huiles essentielles [90] .

Sensibilité	Transcription	Inhibition (mm)
Résistant	0	0
Peu sensible	+/-	05-09
Sensible	+	10-19
Assez sensible	++	20-30
Très sensible	+++	>à 30

26.2 Dilution des huiles essentielles

D'après la méthode rapportée par Billerbeck *et al.*, [88]. une solution-mère de chaque extrait (d'une concentration finale de 10 % = 0.1 g/ml) est obtenue en DMSO, puis une série de dilutions de raison géométrique 2 est réalisée extemporanément en DMSO, à partir de la solution-mère. La gamme de concentrations finales ainsi obtenue correspond à C0= 0.1, C1= 0.05, C2= 0.025, C3= 0.0125 g/ml.

27. Analyse statistique des données

Les résultats obtenus ont été traités par analyse de la variance avec le logiciel Statgraphics- Centurion XVI (version 16.1.18) et les moyennes significativement différentes ont été séparées par le test de Fisher (LSD) au seuil de probabilité de 5%.

CHAPITRE V : Résultats et discussion

28. Rendement de l'HE

Les résultats du rendement en HE du romarin mentionnés dans le tableau n°3 et la figure n°15, des deux régions Djelfa et Blida montrent une différence notable entre les deux écotypes étudiés.

Tableau n°3 :Rendement en huiles essentielles de *R. officinalis*

	Rendement en (ml)	Rendement en (%)
Djelfa	4.9	0.65
Blida	3.2	0.42
Norme AFNOR	0.5 à 2	

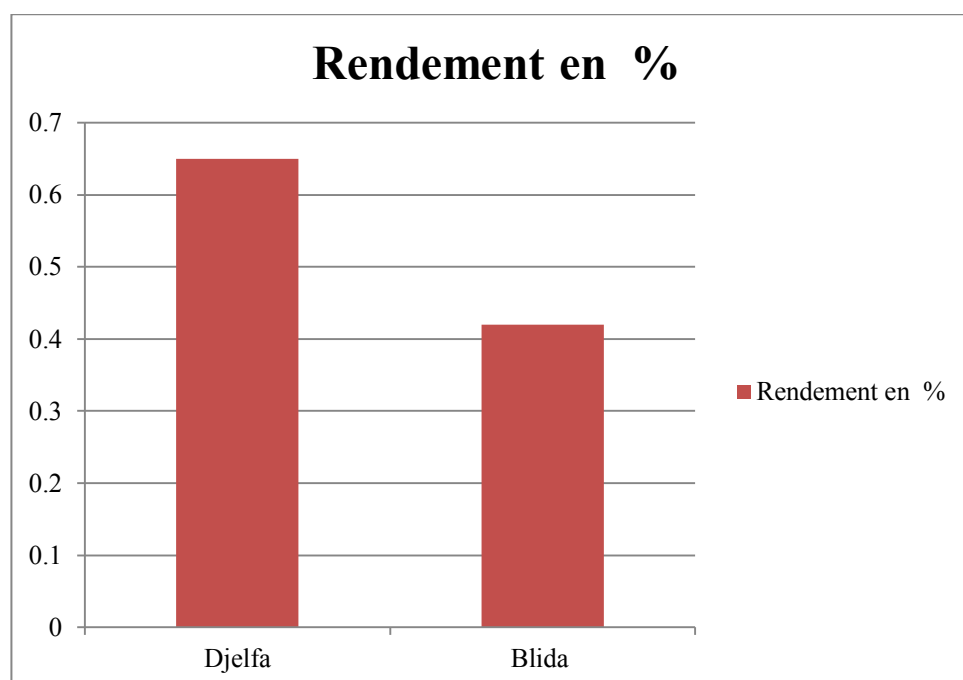


Figure n°15 : Rendement des huiles essentielles de *R. officinalis* L

Le rendement en huile essentielles le plus élevé est enregistré chez le romarin de la région de Djelfa (Mont Hawas) avec 0.65% suivi de celui de Blida avec 0.42%, avec respectivement un poids de 0,65g et 0,42g /750g de matière végétale .

Les travaux de Mouas , (2018) [98] , effectuées sur le romarin d'Ain Ouassara (Djelfa) et de Sidi Kebir (Blida), montrent des résultats inverses à ceux qu'on a obtenu , avec un rendement en huile essentielles plus élevé enregistré au niveau de l'écotype Blida (0.76%) suivi par celui de Djelfa (0.58%) .

Angioni *et al.*, (2004) [99] , obtiennent des rendements allant de 0,48 à 1,75g/100g de matière végétale, soit 0,48 à 1,75% pour les huiles essentielles issues du romarin de Sardaigne.

Cependant, les résultats obtenus par Boutekedjiret *et al.* (1998) [100] ; Sahraoui *et al.*(2007) [101] , pour le romarin provenant d'El-Harrach et celui des Bibans sont supérieurs à ceux que nous avons obtenus, avec des rendements respectifs de 1,2 et 1,5% pour les deux écotypes.

Les fluctuations et les variations constatées dans le rendement peuvent être attribuées non seulement à l'origine de la plante mais également à la plante elle-même (le stade phénologique, la période de la récolte et la partie utilisée) [102,103,104] .

Selon JORDÁN *et al.* , [105] , le meilleur rendement en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. est trouvé en été, coïncide avec la haute température et la plus photopériode. Ces mêmes auteurs révèlent que l'été est le meilleur moment pour exploiter les huiles de romarin.



Figure n°16 : Huile essentielle des deux régions .

29. Activité de l'extrait brut de *R.officinalis* sur les souches microbiennes testées

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits (aromatogrammes) sont présentés dans la figure n°17 . Les valeurs indiquées sont les moyennes de trois mesures . L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait brut étudié . Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un écotype à un autre.

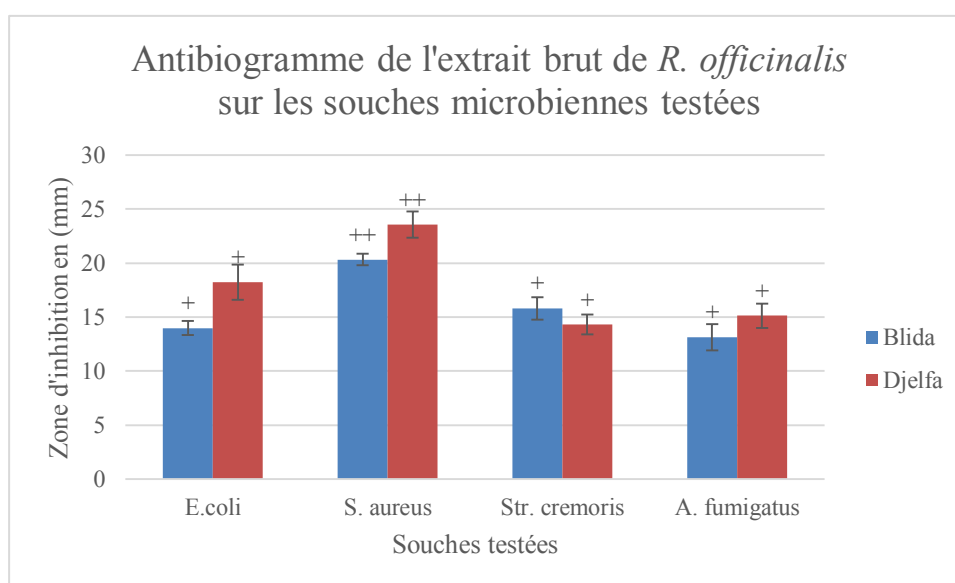


Figure n°17 : Evaluation de la sensibilité des souches microbiennes aux extraits bruts .

+ → Sensible

++ → Assez sensible

Les résultats obtenus ont montré que les huiles essentielles des deux provenances ont réagi positivement sur les quatre souches microbiennes testées . L'HE présente in vitro une activité inhibitrice sur les germes testés.

Cependant, ces germes n'ont pas manifesté de la même façon pour les deux écotypes étudiés. Les résultats obtenus dans notre étude montrent que les souches *E. coli*, *S. aureus* et *A.fumigatus* sont plus sensibles à l'HE du Mont Hawas.

La bactérie *S. aureus* manifeste une sensibilité plus importante à l'huile essentielle par rapport aux autres souches testées et cela pour les deux régions (Djelfa et Blida), avec une zone d'inhibition qui dépasse les 20mm.

Selon la transcription des valeurs des diamètres d'inhibition pour des disques imprégnés d'huiles essentielles présentée dans le tableau (n° 2), les souches *E. coli*, *Str. Cremoris* et *A.fumigatus* sont classées sensibles à l'huile essentielle de romarin et la bactérie *S. aureus* est classée très sensible.

Les plantes contiennent de nombreux composés doués d'une action antimicrobienne, ces constituants comprennent les composés phénoliques, les flavonoïdes, les huiles essentielles et les triterpénoïdes [106] , le pouvoir antimicrobien des extraits de plantes est tributaire de leurs compositions chimiques.

30. Test de l'activité antimicrobienne par la technique de la concentration moyenne inhibitrice (CMI)

La détermination de la zone d'inhibition permet une estimation du caractère de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne contre les extraits testés. Si aucune colonie n'est observée dans la zone d'inhibition l'extrait est considéré comme bactéricide ; si par contre, quelques colonies sont présentes (en densité faible), l'extrait est défini comme bactériostatique.

La détermination d'une valeur de concentration minimale bactéricide et concentration minimale inhibitrice est une étape très importante dans l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

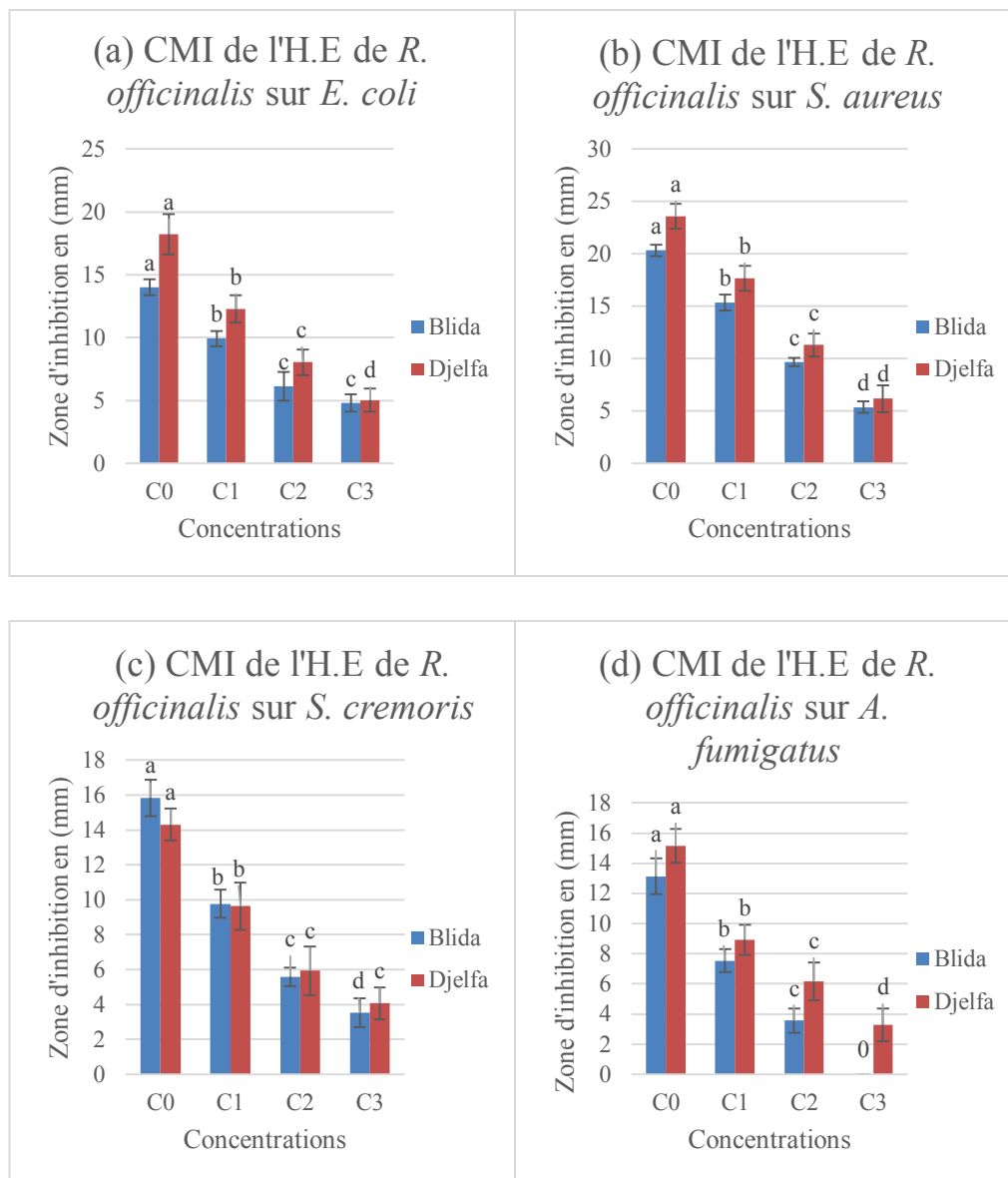


Figure n°18 : Evaluation de la concentration moyenne inhibitrice de l'HE de *R. officinalis* .

Selon les résultats obtenus, il est à noter que, l'effet bactéricide de l'huile essentielle de romarin du Mont Hawas (Djelfa) est plus remarqué chez souches *E.coli* , *S.aureus* et *A.fumigatus*.

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action bactéricide si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm [107] .

Pour l'*Escherichia coli*, les résultats indiquent que la concentration moyenne inhibitrice de l'HE des deux régions Blida et Djelfa est enregistrée chez la concentration C0 (0,1g/ml) et C1 (0,05 g/ml) respectivement. En revanche, l'effet bactériostatique est déclenché

à la concentration C1 (0,05 g/ml) pour l'écotype de Blida et C2 (0,025 g/ml) pour l'écotype de Djelfa.

Concernant le germe *S. aureus*, on a considéré C2 (0,025 g/ml) comme une concentration minimale inhibitrice pour le romarin de Djelfa et C1 (0,05 g/ml) pour le romarin de Blida, avec des diamètres d'inhibition de (\approx 12 mm et 15mm) respectivement. Alors que l'action bactériostatique est obtenue à la concentration C3 (0,0125 g/ml) et C2 (0,025 g/ml) pour les deux provenances Mont Hawas et Sidi El kebir respectivement.

Pour la bactérie *S. cremoris* (Gram positif), c'est la concentration initiale C0 (0,1g/ml) qui donne un effet bactéricide pour l'HE des deux régions Blida et Djelfa avec une zone d'inhibition supérieure à 15 et à 14mm respectivement .

Concernant le champignon *A. fumigatus*, l'activité antifongique est révélée par l'absence ou la présence de la croissance mycélienne. Le diamètre le plus important de l'activité antifongique d'huile essentielle de romarin est enregistré au niveau de la concentration C0 (0,01g/ml) pour les deux régions étudiées avec les valeurs de 15 et 13mm pour le romarin du Mont Hawas et Sidi El Kebir respectivement. Il est à noter aussi que, le développement de mycélienne était plus important après 48h d'incubation.

Les différentes valeurs de CMI obtenues nous permettent de constater que l'activité antibactérienne est en fonction de la souche microbienne, ce qui confirme que le type de microorganismes est un paramètre important déterminant l'activité antibactérienne.

Cette divergence des résultats peut être attribuée aux constituants de la plante prenant en considération le lieu et la période de récolte [108] . La Provence (la région) et la période de collecte (saison : hiver , printemps , été , automne) ont un rôle dans la variabilité des résultats , donc on constate que ses deux variables ont un effet sur la composition de l'huile essentielle et sur la concentration en substances actives et par conséquent sur le pouvoir antimicrobien .

Chaibi *et al.*, (1997) [109] , attribuent ces différences d'activités d'huiles essentielles à leurs différences de teneurs en composés actifs tels que les phénols, les aldéhydes et les cétones .

La teneur des principaux composés jouerait un rôle primordial dans la détermination du pouvoir antimicrobien d'une huile. La quasi-totalité des auteurs s'accordent à dire que les

huiles essentielles qui possèdent de fortes teneurs en composés phénoliques et terpénoïdes, sont celles qui manifestent la plus forte activité [110,111] .

Différents auteurs attribuent l'activité antimicrobienne des huiles essentielles à leurs degrés d'hydrophobicités (caractéristique lipophile) [112,113] .

Sikkema *et al.*, (1994) [114] ; Okoh *et al.*, (2010) [115] , expliquent que la caractéristique hydrophobe des huiles essentielles permet à ces dernières de se dissoudre dans les lipides des membranes cellulaires et mitochondriales, ce qui provoqueraient des perturbations de la structure cellulaire qui aboutiraient en définitif à la fuite du contenu intracellulaire du microorganisme .

Cushnie et Lamb [116] , Lahlou *et al.*, [117] ont attribué les fluctuations dans les résultats de la détermination de l'activité antimicrobienne à plusieurs paramètres notamment le type des micro-organismes ciblés, la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, la nature de milieux de culture, les conditions de culture (temps d'incubation, la température, l'oxygène), la concentration, le type de l'extrait et particulièrement la nature et la structure des molécules bioactives.

Suppakul *et al.*, [118] ont suggéré que l'activité antifongique des huiles essentielles, peut se faire selon deux mécanismes différents : certaines constituants provoquent la fuite des électrolytes et l'épuisement des acides aminés et des sucres, d'autres peuvent être insérés dans les lipides membranaires, par conséquent il y'a perte des fonctions membranaires.

En ce qui concerne les levures et les moisissures, la présence de stérols dans leurs membranes (absents chez les procaryotes) ne confère pas de résistances particulières à ces microorganismes [119] .

Conclusion

Un grand nombre de plantes médicinales et aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes , dans ce contexte, nous avons essayé d'étudier la variation écotype / activité antibactérienne du l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. dans deux régions (Blida et Djelfa).

Le rendement en huiles essentielles le plus élevé a été enregistré chez le romarin cueilli de la région du MONT HAWAS (Djelfa) avec pourcentage de 0.65%, suivi par celui de la région de Sidi El Kebir (Blida) avec pourcentage de 0.42 %, soit 0.65 et 0.42g/100g de matière végétale sèche.

Pour l'activité antibactérienne, la méthode de l'aromatogramme nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L. vis-à-vis des trois souches bactériennes et un champignon testés.

A partir de ces résultats nous pouvons déduire que l'HE de *R. officinalis* L. extraite des plantes prélevées de la localité du Mont Hawas (Djelfa) présente une activité antimicrobienne plus élevée que celle extraite des plantes de Sidi El Kebir (Blida) .

La souche la plus résistante c'est *A. fumigatus* pour les deux régions (Blida et Djelfa) , tandis que la souche la plus sensible c'est *S. aureus* pour les deux régions (Blida et Djelfa) .

A la suite de ces résultats, il serait intéressant d'étendre l'éventail des tests antimicrobiens sur d'autres agents microbiens afin de confirmer leur efficacité. Comme il est indispensable de chercher de nouvelles substances antibactériennes efficaces et à large spectre d'action. L'ensemble de ces résultats obtenus ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances d'origine naturelle biologiquement active. Une analyse chimique est souhaitable pour obtenir une vue plus approfondie sur la composition qualitative et quantitative de ces extraits étudiés afin de mettre en lumière l'effet thérapeutique de cette plante médicinale *Rosmarinus officinalis* L.

On peut conclure que la flore algérienne peut constituer une réserve importante d'espèces végétales intéressantes, dont les principes actifs peuvent être employés dans plusieurs domaines tels que les industries agroalimentaire et pharmaceutique.

Références bibliographique

- [1] S.BELKACEM., (2009), "Investigation phytochimique de la phase n-butanol de l'extrait
- [2] GIRRE L., (2001) – Connaître et reconnaître les plantes médicinales, Ed Ouest- France. 333p.
- [3] OUTALEB T. (2010). Huiles essentielles et extraits de romarin : composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne. Thèse du Magister en Sciences Agronomique. ENSA El-Harrach, Algérie, 160p.
- [4] CROTEAU R., KUTCHAN T.M., NORMAN G.L., (2000). Natural products (secondary metabolites). *American society of plant physiologists*, vol. 24, p.p. 1250 -1318.
- [5] BOUHDID S., IDAOMAR M.; ZHIRI A.; BAUDOUX D.; SKALI N.S. ABRINI J., (2006). *Thymus* essential oil : chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities. Congrès International de Biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai.
- [6] MEYER C ., (2008) *Botanique biologie et physiologie végétal* .Ed. Meloine .Paris. pp 242-246.
- [7] SAMIA A., 2010- Atlas des risques de la phytothérapie rationnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes. Mémoire de master en spécialisée toxicologie Faculté de médecine de Tunis. P15.
- [8] DELAVEAU P., LORRAAR M., et MORTIE., 1985 – sécurité et vertu des plantes médicinales. 2ème édition. Editeur : sélection du Reader Digest.P244. Extracts. Chapman et Hall, Londres, Ed., 29-31.
- [9] PARIS M., et HURABIELLE M., 1981 – Abrégé de matière médicale, pharmacognosie. Tome I. Edition Masson, Paris. pp. 9- 13, 17-24, 182-184. Paris, 66 p.
- [10] LIPP F.J., (1995) –Ethnobotanical Method of fact, a case study edition Dicorides, 1 st edition, London, pp. 52-59.
- [11] ALCORN J.B., (1995) - The scope and aims of ethnobotany in a developpment Word, edition Dicorides, 1st edition, London, pp23-39.
- [12] VOLAK J. et STODOLA J., 1993 – Plantes médicinales. Ed. Gründ, Paris, pp.29-53.

- [13] PAUL I., 2001- Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2nd édition, VUEF, Paris, pp1-269.
- [14] ROULIER G. Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Éditions Dangles, 1990.
- [15] PALAISEUL J., (1972) – Nos grands-mères savaient. Edition Robert Laffont, Paris, pp. 31- 44.
- [16] TATAI J., 1993 – Contribution à l'étude de la flore médicinale de la région de Messâad (W. Djelfa). Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie Option : protection de végétaux. INA ELHarrache, Alger. 110. usages multiples et les alternatives de développement autour du parc national de Bwindi
- [17] BELOUD M., 2001 – Plantes médicinales d'Algérie. OPU, Algérie, p192
- [18] PRESCRIRE., (2006) - "Plantes médicinales" : série pour bien utiliser les plantes en situation de soins. Revue PRSCRIRE. 26 (276).p 696.
- [19] FLUCK, H, (1977), Petit guide panoramique des herbes médicinales : Description simple avec des indications sur leurs principes actifs, leur action, leur emploi, leur récolte et leur culture. 3ème édition, Delachaux et Niestlé S.A., Neuchâtel, Paris.
- [20] BRUNETON J., 1993 – Pharmacogonose, phytochimie, plantes médicinales. Editions TEC et DOC, 3ème édition, Pp 783-785.
- [21] DELAVEAU P. et *al.* , (1985) – Secret et veryus des plantes médicinales. Deuxième édition, édition Sélection du Reader's Digest, Paris. p 463. Sciences de la Vie, n°29 : 11-20
- [22] BRUNETON.J., (1993) – Pahrmacognosie, phytochimie plantes médicinales. Deuxième édition, Lavoisier Tec Doc, Paris. p 915. Bulletin de l'Institut Scientifique, Rabat .
- [23] PAUL I., 2001- Larousse Encyclopédie des Plantes Médicinales, 2nd édition, VUEF, Paris, pp1-269.
- [24] BOTINEAU M. (2010) *Botanique et systématique et appliquée des plantes à fleurs* .Ed. TAC et DOC Lavoisier, Paris. 1028p.
- [25] TOUAFEK O. (2010) Etude photochimique de plantes médicinales du nord et du sud Algériens . Thèse Doc. Univ. Constantine.282p.

- [26] GILLES F. (2007) *Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne.*
- [27] OZANDA P.(1977) *Flore du Sahara* . Ed. Centre nationale de la recherche scientifique, Paris. 399 p.
- [28] ZAOUI A. (2012) *Ecologie et systématique de genre Rosmarinus L. dans la région de sud algérois (wilaya de Djelfa).*Thèse Mag. Univ. Djelfa.109p.
- [29] TERZO M et RASMONT P. (2007) *Les livrets de l'Agriculture n° 14 : Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs.* Ed. Victor Thomas, Paris.48 p.
- [30] FRELY R. (2006) *votre beauté par les plantes* .Ed. ROMAGNAT :de Borée, France. 179 p.
- [31]BURG N. (2014) Les plantes : le romarin . Journal La Provence. N°146.
- [32]BRUN CH. (2012) Dossier des aromatiques : le Romarin .*article. Féminin bio.* France
- [33] ZOUBEIDI CH. (2004) *Etude des antioxydants dans le Rosmarinus officinalis (labiatea).* Thèse Mag. Univ. Ouargla. 67 p.
- [34] MAKHLOUFI A. (2010) *Etude des activités antimicrobienne et antioxydant de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (Matricaria pubescens (Desf.) et Rosmarinus officinalis L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru* .Thèse Doc. Univ. Tlemcen . 78 p.
- [35] UNESCO (L'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, La science et la culture).(1960) *Les plantes médicinales des régions aride* .Ed. Oberthur, rennes, Paris.52p.
- [36] LEMOINE C.(2005)*Les fleurs méditerranéennes.* Ed. Jean-Paul Gisserot, Paris. 26 p.
- [37] ZERMANE A.(2010) *Etude de l'extraction supercritique application aux systèmes agroalimentaires.* Thèse Doc. Univ .Constantine. 103 p.
- [38]QUEZEL P et SANTA S. (1962-1963) *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales.* Ed. CNRS. Paris, 1170p.
- [39] Site d'Internet 01: <http://www.mesarbustes.fr/rosmarinus-officinalis-corsican-blue-romarin-commun-bleu-couvre-sol-encensier-de-corse-rampant.html>.

- [40] BHAR H et BALOUK A (2011) *Les plantes aromatiques et médicinales ces plantes odorantes qui soulagent la douleur* .dossier.L'espace Marocain N° 68 / 2° Trimestre. Maroc, 42 p.
- [41] USAID (United States Agency for International Développement). (2006)Projet filière des plantes aromatiques et médicinales, Agence Américaine pour le développement international, Maroc. 25 p.
- [42] GARIEPY F.(2005) *50 Plantes utiles au jardin ,à la maison, à la cuisine*. Ed .Michel Quintin, Paris.99 p.
- [43] AKROUM S. (2006) *Etude des propriétés biochimiques des polyphénols et tannins issus de Rosmarinus officinalis et Vicia fab aL* .Thèse Mag .Univ. Constantine ,91 p
- [44] SILBERFELD T. (2012) *Plantes mellifères*. Fiche pratique. Univ. France. 24p.
- [45] ATHAMENA S. (2009) *Etude quantitative des flavonoïdes des graines de Cuminum cyminum et les feuilles de Rosmarinus officinalis et l'évaluation de l'activité biologique*. Thèse Mag. Univ.Batna ,90 p.
- [46] CLAUDE M et SEILLER M. (2004) *Actifs et additifs en cosmétologie: Les antioxydants*. Ed. Tec et Doc. Paris. 352p.
- [47] MORIGANE.(2007) Ouvrage : *Grimoire des Plantes*. Grimoire_des_Plantes.zip.
- [48] ZEGHAD N. (2009) *Etude du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales D'intérêt économique (Thymus vulgaris, Rosmarinus officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne*. Thèse Mag. Univ .Constantine. 130 p.
- [49] FERY-HUE F. (2005) Le « romarin » : un traité manuscrit anonyme à travers l'Europe médiévale. Spécialiste des textes scientifiques et parascientifiques en langues vernaculaires(France). *CNRS et IRHT*.1p.
- [50] DESCAMP J.(2010) *Jardin de Jacky le Romarin s'utilise à toutes les sauces* ,France. 44p.
- [51] AOUADHI S. (2010)*Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle. À l'étude de 57 plantes recommandées par les herboristes*. ThèseMas.Univ Tunisie, 153p.

- [52] HIRECHE M. (2004) *Effets des plantes médicinales sur les maladies cardiovasculaire*. Thèse. d'études supérieures en biochimie. Univ. Oran,40 p.
- [53] Pharmacopée européenne. 4ème édition. Conseil de l'Europe. Strasbourg, 2002. 2060p.
- [54] FLUCK H., (1942) – Nos plantes médicinales. Ed libraire Payot. Lausanne. p190.
- [55] WICHTL M et ANTON R., (2003), «Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique». 2 ème édition française. Paris : éd. Tec& Doc ; Cachan. Médicale Internationales : 692p.
- [56] BOUYAHYA A., BAKRI Y., TOUYS A.,2017. Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, pp.1-11.
- [57] TALBAOUI A., JAMALY N., ANEB M .,2012. Chemical composition and antibacterialactivity of essential oilsfrom six Moroccan plants. *Journal of medicinal plant research*, n o 6, pp. 4593–600.
- [58] SOUALEH N., SOULIMANI R., 2016. Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, vol. 14, pp. 44-57.
- [59] LARDRY J.M., HABERKOM V.,2007. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.*n o 61, pp. 14-17.
- [60] ROULIER G. Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Éditions Dangles, 1990.
- [61] SANON A., GARBA M., AUGER J., HUIGANRT J., 2002. *Journal of Stored Products Research*, 38, 129.
- [62] BRUNETON J., 1987. *Elément de phytochimie et pharmacognosie*, Paris : Lavoisier - Tech. & doc, 584.
- [63] KESBI A., 2011. Étude des propriétés physicochimique et évaluation l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. mémoire de master en génie des procédés. Ouargla : Université Kasdi Marbah, 44p.
- [64] CHACOU M. BASSOU k. Efficacité antibactériennes et antifongiques des huiles essentielles obtenues par extraction de la menthe verte *Mentha Spicata*Lisdue de la région de Ouargla sur quelques germes pathogènes: *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

aureus, Bacillus subtilis et Candida albicans. Mémoire de DES microbiologie. Université de Kasdi Merbah Ouargla, 2007.pp.14-27.

[65] BOUAINE A., 2017.étude de l'activité antifongique des huiles essentielles extraites des deux plantes aromatiques et médicinales : lentisque et myrte. Mémoire de master en science et techniques. Fès : université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 44p.

[66] FABROCINI V&C., 2007. Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos ,migraines, palpitations, etc. Ed. devecchi, p. 4-17.

[67] ACQUARONNE L., CORTICCHIATO M., RAMZOHI J., RAOUL J L.1998.Growing of monardafistulosta in france and getting of essential oils by hydrodiffussion.tRivista Italian app 761-765.

[68] KIM KS., CHUNG BJ., KIM HK. 2000. DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, Pests and Diseases, (1): 41-46.

[69] COUIC-MARINIER F. Huiles essentielles : l'essentiel. Strasbourg: Autoédition; 2013.

[70] COUIC-MARINIER F.,2018. Les huiles essentielles en pratique, Administration et précautions d'emploi. Actualités pharmaceutiques, n o 580, pp. 26-29.

[71] ANNE M., (2010), le guide complet de la phytothérapie ,le courrier du livre ,29 rue de condé 75006 paris p 256.

[72] COWAN, M. (1994), Plant products as antimicrobial agent. Clinical Microbiology Review,12: 565-571.

[73] DORDEVIC S, PETROVIC S, DOBRIC S, MILENKOVIC M, VUCICEVIC D, ZIZIC S, KUKIC J. (2007), J. Ethnopharmacol. 109: 458-463.

[74] AMES B.N., SHIGENAGA et M.K. HAGEN T. M. (1993), Oxidants, antioxydants, and the degenerative diseases of aging. Review: Product Natural Academic Science of USA, 90: 7915- 7922.

- [75] MANACH C., SCALBERT A., MORAND C., REMESEY C., JIMENEZ L. (2004), Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79 (5): 727-747.
- [76] DJERIDANE A., YOUSFI M., NADJEMI B., BOUTASSOUNA D., STOCKER P., VIDAL N. (2006), Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97 (4): 654-660.
- [77] AKAGAWA M., et SUYAMA K. (2001), Amine oxidase-like activity of polyphenols Mechanism and properties. *Eur. Journal of Biochemistry*, 268: 1953-1963.
- [78] MOMPON B., LEMAIRE B., MENGAL P., SURBLED M. (1996), Extraction des Polyphenols du laboratoire à la production industrielle. Id. INRA. In: *Polyphenols* 96. Vercauteren J. 31-43.
- [79] KEITA Y, KONE O, LY A. K et HAKKINEN V, (2004), Étude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Comptes Rendus. Chimie*, 7:1095-11.
- [80] KAROU D, DICKO M. H, SIMPORE J et TRAORE A.S. (2005), Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8): 823-828.
- [81] AMAROWICZ, R.; DYKES, G. A. and PEGG, R. B. (2008). Antibacterial activity of tannin constituents from *Phaseolus vulgaris*, *Fagopyrum esculentum*, *Corylus avellana* and *Juglans nigra*. *Fitoterapia*, 79(2): 17–219
- [82] ANDRES A., DONOVAN S.M. et KUHLENSCHMIDT M.S. (2009), *Journal of Nutritional Biochemistry*; 20: 563-569.
- [83] NASCIMENTO G. F., LOCATELLI J., FREITAS P. C., SILVA G.L. (2000), Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(4) : 247-256.
- [84] BAHORUN T., LUXIMON-RAMMA A., CROZIER A., ARUOMA O. I. (2004), Total phenol, flavonoid, proanthocyanidin and vitamin C levels and antioxidant activities of *Mauritian vegetables*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84:1553–1561.

- [85] DREWNOWSKI A et GOMEZ-CAMEROS C. (2000), Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: A review. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72:1424-35.
- [86] BSSAIBIS F, GMIRA N, MEZIANE M, (2009), Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W. Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*, 3 : 44- 55.
- [87] DINZEDI M R , (2015), Activités antibactériennes de extraits de *Terminalia catappa* et *Thonningia sanguinea* sur *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* multiresistantes d'origine humaine. Thèse de Doctorat de l'Université Félix Houphouët-Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 133 p
- [88] PATRICK B., JEAN L., and MICHEL S. (1988). *Bactériologie : Les bactéries des infections humaines*. 1er Ed Médecine –Sciences Flammarion. Paris. pp: 100-108-274.
- [89] STEVEN. P., RACHEL. C., MARTHA. E., PAUL. H., JANE. S., and PETER W.J. (2004). *Microbiology of Waterborne Diseases*. Ed Elsevier Academic Press. pp71-132
- [90] HART T. et SHEARS P., (2002). *Atlas de poche de Microbiologie* Flammarion MédecineSciences. Paris. P.213.
- [91] PERRY J.J., STALEY JT., et LORRY S., (2004). *Microbiologie*. DUNOD. Paris : 891.
- [92] PIBIRI M.C., (2005). *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*. Thèse de doctorat ès sciences, école polytechnique fédérale de Lausanne. pp : 19-55.
- [93] BELAICHE, P. (1979). *L'aromatogramme"*. *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie*. M. S.A. Editeur. Paris. Tome 1 : 204.
- [94] BILLERBECK V.G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P., (2002). *Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles*. *HYGIENES - 2002 - Vol X – n°3*, pp : 248-251.
- [95] MAKHLOUFI A., 2009-*Etude des activités antimicrobienne et antioxydant de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar*(*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat. Univ. Aboubaker Belkaid .Fac. Sci.. Tlemcen, 11p.

- [96] GACEM Y ; OUADAA E., 2015- L'étude de la variation saisonnière des activités biologiques de l'huile essentielle de romarin dans la zone semi-aride (Djelfa).Mémoire de Master., Univ. Ziane Achour, Fac. Sci. Nat. Vie., Djelfa, 79p.
- [97] BELHI M et BOURAS Y., 2014 -Contribution à l'étude phytochimique des flavonoïdes chez *Rosmarinus officinalis* et évaluation de leur pouvoir antibactérien. Mémoire de Master., Univ.
- [98] MOUAS Y. (2018) : Effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de romarin *Rosmarinus officinalis* L. Thèse de doctorat en Sciences agronomiques, Univ. Blida 1, Algérie. P 165.
- [99] ANGIONI A., BARRA A., CERETI E., BARILE D., COISSON J. D., ARLORIO M., 2004. Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 52, N°1, p.p. 3530-3535.
- [100] BOUTEKEDJIRET C., BENTAHAR F., BELEBBES R., BESSIERE J.M., 1998. The Essential Oil from *Rosmarinus Officinalis* L. in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 10, p.p. 680-683.
- [101] SAHRAOUI N., HELLAL A., BOUTEKEDJIRET C., BNTAHAR F., BESSIERE J.M., 2007. Antimicrobial activities of essential oil of some Algerian aromatic plants. *International Journal of essential Oil Therapeutics*, Vol. 1, pp 83-90.
- [102] GHANMI M., SATRANI B., AAFI A., ISAMILI M.R., HOUTI H., EI MONFALOUTI H., BENCHEQROUN K.H., ABERCHANE M., HARKI L., BOUKIR A., CHAOUCH A. & CHARROUF Z.,(2010). “ Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) de la région de Guerçif (Maroc oriental)”, *Phytothérapie*, V.8. pp295-301.
- [103] CELIKTAS O. Y., KCOCABAS E. E. H., BEDIR E. , SUKAN F. V., OZEK T., & BASER K.H.C.,(2007).“Antimicrobial activities of methanolextracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations”, *Food Chemistry*, V.100. pp 553-559.

- [104] ZAOUALI Y., BOUZAINÉ T. & BOUSSAÏD M., (2010). "Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities", *Food Chem. Toxicol.*, V.48. pp 3144–3152.
- [105] JORDAN M.J., Lax V., ROTA M.C., LORAN S. & SOTOMAYOR J. A., (2013 a). "Effect of the phenological stage on the chemical composition, and antimicrobial and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and its polyphenolic extract", *Industrial Crops and Products*, V.48, pp 144– 152.
- [106] ROJAS A., HEMANDEZ L., PEREDA-MIRANDA R., and MATA R. (1992). Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* 35. Pp 275-283.
- [107] SAGDAC O. (2003). Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols. *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36. Pp 467-473.
- [108] KHIA A., GHANMI M., SATRANI B., AAFI A., ABERCHANE M., QUABOUL B., CHAOUCH A., AMUSANT N. & CHARROUF Z., (2014). "Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc", *Phytothérapie*, V.12. pp341-347.
- [109] CHAIBI A., ABABOUCHE L. H., BELASRI K., BOUCETTA S., BUSTA F., (1997). Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62A spores by essential oils. *Food Microbiology*, Vol. 14. Pp 161-174.
- [110] BENCHAAAR C., CALSAMIGLIA S., CHAVES A.V., FRASERA G.R., COLOMBATTO D., MC ALLISTER T.A., BEAUCHEMIN K.A., 2008. A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology*, Vol. 145. Pp 209-228.
- [111] OUSSALAH M., CAILLET S., SAUCIER L., LACROIX M., (2008). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Science*, Vol 73. pp 236-244.
- [112] GUTIERREZ J., BARRY-RYAN C., BOURKE P., 2008. The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International journal of Food Microbiology*, Vol. 124. Pp 91-97.

- [113] TAJKARIMI M., S.A. IBRAHIM , D.O. CLIVER, (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *food control*.
- [114] SIKKEMA J., DE BONT J.A.M., Poolman B., (1994). Interactions of cyclic hydrocarbons with biological membranes. *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 269, N°. 11. Pp 8022-8028.
- [115] OKOH O.O., SADIMENKO A.P., AFOLAYAN A.J., (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Food Chemistry*, Vol. 120. Pp 308-312.
- [116] CUSHNIE T.P.T. & LAMB A.J.,(2011).“Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids”, *Int. J. Antimicrob. Agents*, V.38. pp 99-107.
- [117] LAHLOU M., (2004).“Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of Essential Oils”, *phytotherapy Research*, V.18. pp 435-448.
- [118] SUPPAKUL P., MILTZ J., SONNEVELD K., & BIGGER S. W., (2003).“Antimicrobial properties of Basil and its possible application in food packaging”, *J.Agric. Food Chem.*, V.51. pp 3197-3207
- [119] VARDAR-UNLU G., CANDAN F., SOKMEN A., DAFERERA D., POLISSIOU M., SOKMEN M., DONMEZ E., TEPE B., (2003). Antimicrobial and antitoxic activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, Vol. 51. Pp 63-67.

ANNEXES

• **Tableau 1 de l'ANOVA pour E.coli par concentration : Région de BLIDA**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	CV	Probabilité
Inter-groupes	154,223	3	51,4078	79,81	14,5833%	0,0000
Intra-groupes	5,15333	8	0,644167			
Total (Corr.)	159,377	11				

• **Tests des étendues multiples pour E.coli par concentration : Région de BLIDA**

Méthode: 95,0 % LSD

BLIDA	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
C3	3	4,8	c
C2	3	6,13333	c
C1	3	9,93333	b
C0	3	14,0	a

• **Tableau 2 de l'ANOVA pour S. aureus par concentration : Région de BLIDA**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	CV	Probabilité
Inter-groupes	385,07	3	128,357	382,20	46,8112%	0,0000
Intra-groupes	2,68667	8	0,335833			
Total (Corr.)	387,757	11				

• **Tests des étendues multiples pour S. aureus par concentration : Région de BLIDA**

Méthode: 95,0 % LSD

BLIDA	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
C3	3	5,36667	d
C2	3	9,66667	c
C1	3	15,3667	b
C0	3	20,3333	a

• **Tableau 3 de l'ANOVA pour Str. cremoris par concentration : Région de BLIDA**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	CV	Probabilité
Inter-groupes	264,977	3	88,3256	130,37	57,0976%	0,0000
Intra-	5,42	8	0,6775			

groupes						
Total (Corr.)	270,397	11				

- **Tests des étendues multiples pour *Str. cremoris* par concentration : Région de BLIDA**

Méthode: 95,0 % LSD

<i>BLIDA</i>	<i>Effectif</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Groupe homogène</i>
C3	3	3,53333	d
C2	3	5,6	c
C1	3	9,76667	b
C0	3	15,8333	a

- **Tableau 4 de l'ANOVA pour *A. fumigatus* par concentration : Région de BLIDA**

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>CV</i>	<i>Probabilité</i>
Inter-groupes	285,429	3	95,1431	143,07	84,8613%	0,0000
Intra-groupes	5,32	8	0,665			
Total (Corr.)	290,749	11				

- **Tests des étendues multiples pour *A. fumigatus* par concentration : Région de BLIDA**

Méthode: 95,0 % LSD

<i>BLIDA</i>	<i>Effectif</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Groupe homogène</i>
C3	3	0	d
C2	3	3,56667	c
C1	3	7,53333	b
C0	3	13,1333	a

- **Tableau 5 de l'ANOVA pour *E.coli* par concentration : Région de DJELFA**

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>CV</i>	<i>Probabilité</i>
Inter-groupes	294,842	3	98,2808	46,67	48,8731%	0,0000
Intra-groupes	16,8467	8	2,10583			
Total (Corr.)	311,689	11				

- **Tests des étendues multiples pour *E.coli* par concentration : Région de DJELFA**

Méthode: 95,0 % LSD

<i>DJELF</i>	<i>Effectif</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Groupe homogène</i>
A			
C3	3	5,03333	d

C2	3	8,03333	c
C1	3	12,2667	b
C0	3	18,2333	a

• **Tableau 6 de l'ANOVA pour *S. aureus* par concentration : Région de DJELFA**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	CV	Probabilité
Inter-groupes	515,382	3	171,794	123,59	47,1439%	0,0000
Intra-groupes	11,12	8	1,39			
Total (Corr.)	526,502	11				

• **Tests des étendues multiples pour *S. aureus* par concentration : Région de DJELFA**

Méthode: 95,0 % LSD

DJELF A	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
C3	3	6,16667	d
C2	3	11,3	c
C1	3	17,6667	b
C0	3	23,5667	a

• **Tableau 7 de l'ANOVA pour *Str. cremoris* par concentration : Région de DJELFA**

Source	Somme des carrés	Ddl	Carré moyen	F	CV	Probabilité
Inter-groupes	183,497	3	61,1656	44,65	49,562%	0,0000
Intra-groupes	10,96	8	1,37			
Total (Corr.)	194,457	11				

• **Tests des étendues multiples pour *Str. cremoris* par concentration : Région de DJELFA**

Méthode: 95,0 % LSD

DJELF A	Effectif	Moyenne	Groupe homogène
C3	3	4,06667	c
C2	3	5,93333	c
C1	3	9,63333	b
C0	3	14,3	a

- **Tableau 8 de l'ANOVA pour *A. fumigatus* par concentration : Région deDJELFA**

<i>Source</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Ddl</i>	<i>Carré moyen</i>	<i>F</i>	<i>CV</i>	<i>Probabilité</i>
Inter-groupes	229,857	3	76,6189	60,93	55,7079%	0,0000
Intra-groupes	10,06	8	1,2575			
Total (Corr.)	239,917	11				

- **Tests des étendues multiples pour *A. fumigatus* par concentration : Région deDJELFA**

Méthode: 95,0 % LSD

<i>DJELF A</i>	<i>Effectif</i>	<i>Moyenne</i>	<i>Groupe homogène</i>
C3	3	3,3	d
C2	3	6,16667	c
C1	3	8,93333	b
C0	3	15,1333	a