

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Sâad Dahlab de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie des Populations et Organismes

Laboratoire de recherche en biotechnologies, environnement et santé

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention

Du Diplôme de Master académique

Option : Biodiversité et Physiologie Végétale

Thème

***Etude comparative des huiles essentielles de Rosmarinus
officinalis L .récoltées dans deux régions différentes
(Blida et Cherchell).***

Présenté par :

- **Ougaida roufaida**
- **Fethi zahia**

soutenu le :

08/06/2018

Devant le jury composé de :

Mme Amara N
Mme Touabia M
Mme Chérif H.S
Mme Benmansour N

MAA/USDB-1
MCB/USDB-1
MCA/USDB-1
MCB/USDB-1

Présidente
Examinatrice
Promotrice
Co-promotrice

Année universitaire 2017/2018

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah, le tout puissant de nous avoir accordé la force et le courage afin de pouvoir réaliser ce travail.

Nos vives remerciements vont en particulier à : Mme Chérif H. notre promotrice, Professeur à l'Université Blida 1 ; pour son soutien, ses conseils précieux et ses critiques qui nous ont été bénéfiques tout au long de notre étude.

Mme Amara .N chargée de cour à l'Université Blida 1, que nous remercions pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury. Mme Toubia .M maitre de conférences à l'Université Blida 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail. Aussi Mme Ben mansour .N notre Co promotrice maitre de conférences à l'Université Blida 1, Blida, qu'elle trouve ici l'expression de notre gratitude pour ses conseils et ses critiques qui nous ont aidés au sein de laboratoire.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos enseignants pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve tout au long de notre cursus.

Nous remercions tous les membres de l'équipe du centre de recherche et analyse physico-chimiques (CRAPC) Mr le technicien Abou mustapha mohammed, Mme Lamia, Mme Yasmin, Mme Najlaâ et le chef de département Mr Hamitouch .

Nous remercions également les ingénieurs du laboratoires de PFE, Département du Science Alimentaires pour leurs accueil, leur sympathie ainsi que leurs idées constructives, Mme Hiba, Mme sihem et ammi Youssef. Les ingenieurs du laboratoire PFE pédagogique Mme Houriya et Mme Chafika.

Nous adressons encore nos remerciements à : L'ensemble des membres du ITAF et INRA

Enfin, tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail : Aux deux être les plus chers au monde, qui ont souffert nuit et jour pour nous couvrir de leur amour, mes parents.

A mon père pour sa patience avec moi et son encouragement.

A ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma chère mère .Que ALLAH vous garde en bonne santé.

Je dédie aussi ce modeste travail :

A mes sœurs Ahlem, Yosra et Fifi

A mon frère Mounir

A toutes mes amies surtout hamida et zineb qui m'ont beaucoup aidé.

A tous ceux que j'aime et que je respecte

Ougaida Roufaida

GLOSSAIRE

Topiaire : l'art topiaire consiste à tailler les arbres et arbustes de jardin dans un but décoratif pour former des haies, des massifs ou des formes très variées.

Sessile : tout organe fixé directement sur le corps d'un organisme, sans élément intermédiaire (pédoncule, pétiole...).

Hispidé : hérissé de poils rudes et épais.

Coriace : très dur ; qui ne se laisse pas couper.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- **AFNOR** : Association Française de Normalisation.
- **CO₂** : dioxyde de carbone.
- **C.P.G** : Chromatographie en Phase Gazeuse.
- **d**: densité. .
- **H.E** : Huile Essentielle.
- **HCl** : acide chlorhydrique.
- **IA** : Indice d'Acide.
- **IE** : Indice d'Ester.
- **IR** : Indice de Réfraction.
- **KOH** : hydroxyde de potassium.
- **MHE** : Masse de l'Huile Essentielle.
- **mg / ml** : milligramme par millilitre.
- **Mmv** : Masse de la matière végétale
- **mol/l** : mole par litre.
- **MV** : Matière Végétale.
- **pH** : potentiel d'hydrogène.
- **RHE** : Rendement en Huiles Essentielles.
- **VHE** : Volume de l'Huile Essentielle.

SOMMAIRE

Introduction.....

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralité sur *Rosmarinus officinalis*

I.1. Historique.....	3
I.2 .Nomenclature.....	3
I.3 .Classification botanique	4
I.4 .Description botanique	4
I.5 .Répartition géographique.....	5
I.6 .Habitat et culture	5
I.7 .Composition chimiques.....	6
I.8 .Divers usages et propriétés du romarin	7

II. LES HUILES ESSENTIELLES

II.1.Définition de L'huile essentielle.....	8
II.2.Partie de la plante utilisée.....	8
II.3. Techniques d'extractions	8
II.3.1.Hydro-distillation ou entrainement à la vapeur d'eau.....	8
II.3.2.Entrainement à la vapeur sèche.....	9
II.3.3.Extraction par solvants volatils.....	9
II.3.4.Extraction au CO2 supercritique.....	9
II.3.5.Extraction par micro-ondes.....	9
II.3.6.Expression à froid.....	9

II.4 .Identification des huiles essentielles	10
II.5. Composition chimique	11
II.6 .Propriétés Physico-chimiques des Huiles Essentielles	12
II.7 .Facteurs de Variabilité des Huiles Essentielles	12
II.8.Sécrétion et rôle des huiles essentielles	13
II.9.Conservation des huiles essentielles.....	14
II.10.Domaine d'application des huiles essentielles.....	14
II.11.Toxicité des huiles essentielles	

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1 .LOCALISATION DU LIEU D'EXPÉRIMENTATION.....	16
2 .MATÉRIEL.....	16
2.1 .Matériel biologique.....	17
2.2 .Matériel non biologique.....	17
3. Méthodes.....	20
3.1 .méthode d'extraction.....	20
3.2 .calcul du rendement des huiles essentielles	23
3.3. Caractéristiques organoleptiques.....	23
3.4. Caractéristiques physico-chimiques.....	23
3.4.1. Calcul de la densité.....	23
3.4.2. Détermination de l'indice de réfraction.....	23
3.4.3. Détermination de l'indice d'acide.....	24
3.4.4. Détermination de l'indice d'ester.....	24
3.5. Méthode d'identification chimique de l'huile essentielle CPG.....	25

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. RENDEMENT.....	27
2. ETUDE ANALYTIQUE.....	28
2.1. Tests Organoleptiques de L'huile Essentielle du Romarin.....	28
2.2. Analyse Physico-chimiques.....	29
2.3. Analyse Par CPG.....	30
3. DISCUSSION GENERALE	

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Liste des figures

Figure 1 : Aspects morphologiques du romarin (Quezel et Santa ,1963).....	4
Figure 2 : Schéma du montage de l'hydro distillation.....	9
Figure 3 : Feuilles fraîches de <i>Rosmarinus officinalis</i>	16
Figure 4 : Feuilles séchées de <i>Rosmarinus officinalis</i>	17
Figure 5 : Appareillage de type clevenger.....	21
Figure 6 : Etapes d'extraction de l'huile essentielle.....	22
Figure 7 : Décantation de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	22
Figure 8 : Histogramme d'évolution régionale des rendements.....	27
Figure 9 :Couleur de l'huile essentielle du romarin de la région de blida et cherchell.....	28
Figure 10 : Chromatogramme de CPG de l'huile essentielle de roamrin de cherchell.....	30
Figure 11 :Chromatogramme de CPG de l'huile essentielle de roamrin de Blida.....	32

Liste des tableaux

Tableau I : Situation botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L. (Porcher, 2007).

Tableau II : Température moyennes mensuelles des maxima et des minima de 2017 à Blida exprimées en degrés Celsius (° C).

Tableau III: Précipitations mensuelles (P) à Blida en 2017, exprimées en mm (I.T.A.F, 2017).

Tableau IV : Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées à l'I.T.A.F en 2017.

Tableau V : Température moyennes mensuelles des maxima et des minima de 2017 à Cherchell exprimées en degrés Celsius (° C).

Tableau VI : Précipitations mensuelles (P) à Cherchell en 2017, exprimées en mm (I.T.A.F, 2017).

Tableau VII: Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées à I.T.A.F en 2017.

Tableau VIII: Variation du rendement en fonction des régions.

Tableau IX: Caractéristiques Organoleptiques des huiles essentielles du romarin

Tableau X: Caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles du romarin

Résumé

L'objectif de ce travail se base sur l'étude comparative des huiles essentielles obtenues par hydro distillation de *Rosmarinus officinalis* récoltée en mois de avril(2018) dans la station de Blida et de Cherchell .

Les résultats montrent qu'il y a des différences entre les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la station de Blida (climat semi aride) et Cherchell (Climat sub humide) :

Le rendement en huile essentielle varie en fonction de la masse de la matière végétale. Il atteint son maximum avec un rendement d'environ 0.50% pour *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la station de Blida et 0.75% pour *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la station de Cherchell pendant une durée de 3H d'extraction.

Les indices physiques des huiles essentielles des plantes provenant des 2 stations montrent une grande similitude. Ils sont conformes à ceux donnés par AFNOR.

Contrairement aux indices physiques, la caractérisation des indices chimiques met en relief des différences notables entre les huiles essentielles des 2 plantes. En effet, l'indice d'acide de l'huile essentielle de la plantes provenant de la station de Cherchell (4.48) est supérieur à celui de la station de Blida. En revanche l'indice d'esters d'huiles essentielle de Blida est nettement plus élevé (325.10) que celui d'huiles essentielle de Cherchell.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a permis d'identifier 11 composés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la région de Cherchell et les principaux constituants sont : Bornéol (19.34 %), de camphre (6.94%), de bornyl acétate (5.65%) et de verbénone (5.03%) accompagnée par d'autres constituants mineurs avec des teneurs relativement faibles (entre 0.26 et1.74). Cependant celle de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la station de Blida révèle la présence de 15 composés dont 04 composés chimiques qui se montrent des pourcentages élevés : verbénone (23.48%), du camphre (22,35%), de Bornéol (16.63%), et d'eucalyptol (11,73%).

Mots clés: *Rosmarinu sofficialis*, huile essentielle, indices physicochimiques, Analyse chromatographique par CPG

Abstract

The objective of this work is based on the comparative study of essential oils obtained by hydro distillation of *Rosmarinus officinalis* harvested in April (2018) in Blida and Cherchell stations.

The results show that there are significant differences between the essential oils of *Rosmarinus officinalis* harvested in the Blida station (semi-arid climate) and Cherchell (Wet climate):

The yield of essential oil varies according to the mass of the vegetable matter. It reaches its maximum with 100 g of the dry plant with a yield of about 0.50% for *Rosmarinus officinalis* harvested in the station of Blida and 0.75% for *Rosmarinus officinalis* harvested in the station of Cherchell during a period of 3 hours of extraction.

The physical indices of the essential oils of the plants coming from the 2 stations show a great similarity whatever the period of harvest. They are consistent with those given by Afnor.

In contrast to physical indices, the characterization of chemical indices highlights significant differences between the essential oils of the two plants. In fact, the acid values of the essential oils of the plants coming from the station of Cherchell (4.48) are higher than those of the station of Blida. On the other hand, the ester indices of the essential oils of Blida are much higher (325.10) than those of the essential oils of Cherchell.

Gas chromatographic analysis identified 11 compounds of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* harvested in the Cherchell region and the main constituents are: Bornéol (19.34%), camphore (6.94%), bornyl acetate (5.65%) and verbenone (5.03%) accompanied by other minor constituents with relatively low levels (between 0.26 and 1.7). However that of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* harvested in the station of Blida reveals the presence of 15 compounds including 04 chemical compounds which are shown with high percentage rates: verbenone (23.48%), camphor (22.35%) , of Borneol (16.63%), and eucalyptol (11.73%)

Key words: *Rosmarinu sofficialis*, essential oil, physicochemical indices, GC chromatographic analysis

ويستند الهدف من هذا العمل الألى المقارنة بين الزيوت الأساسية التي تحصلنا عليها بواسطة عملية التقطير حصادها في أبريل (2018) في محطة البلدية وشرشال.

وتظهر النتائج أن هناك فروقات ذات دلالة إحصائية بين الزيوت الأساسية إكليل الجبل التي تم قطفها في محطة البلدية (شبه قاحل) وشرشال (شبه الرطبة المناخ):

يختلف إنتاج الزيوت الأساسية وفقاً لكتلة النبتة. يصل الحد الأقصى مع 100 غرام من نبات الجاف مع محصول بلغ نحو 0.50% لإكليل الجبل التي تحصد في محطة البلدية و 0.75% للإكليل الجبل التي تحصد في محطة شرشال خلال فترة استخراجها تظهر المؤشرات المادية للزيوت الأساسية للنباتات القادمة من المحطتين تشابهًا كبيرًا مهما كانت فترة الحصاد. وهي متنسقة مع تلك التي قدمها أفنور.

وعلى النقيض من المؤشرات المادية ، فإن توصيف المؤشرات الكيميائية يسلط الضوء على الفروق الهامة بين الزيوت الأساسية في النباتين. في الواقع ، فإن قيم الحمض من الزيوت الأساسية للنباتات القادمة من محطة شرشال (4.48) هي أعلى من تلك الموجودة في محطة البلدية. من ناحية أخرى ، فإن مؤشرات استر للزيوت الأساسية في البلدية هي أعلى بكثير (325.10) من تلك الزيوت العطرية لشرشال.

تحليل الطور الغازي اضهر 11 مركبات من الضروري النفط من المخزنية إكليل الجبل التي تحصد في منطقة شرشال والمكونات الرئيسية هي: بورنيول (19.34%) من كومفور من بورنيول أسيتات (5.65%) و ڤاربينون (5.03%) يرافقه مكونات ثانوية أخرى ذات مستويات منخفضة نسبيًا (بين 0.26 و 1.7). ولكن واحدة من الضروري النفط من المخزنية إكليل الجبل حصادها في محطة البلدية كشفت وجود 15 مركبات بما في ذلك 04 مركبات كيميائية التي تظهر مع معدلات نسبة عالية: فيربينون (23.48%)، و، من بورنيول (16.63%).

الكلمات المفتاحية: *Rosmarinu officinalis* ، الزيت العطري ، المؤشرات الفيزيائية الكيميائية ، التحليل في الطور الغازي.

Introduction.

Les recherches scientifiques sur le monde végétal montrent que la température et les précipitations sont des facteurs climatiques de toute importance car elles contrôlent l'ensemble des phénomènes métaboliques et conditionnent la répartition de la totalité des espèces et des communautés d'être vivant dans la biosphère (**Ramad ,1984**)

L'Algérie recèle d'un patrimoine végétal important par sa richesse et sa diversité dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes : on y trouve plus de 3000 espèces végétales. Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques qui occupent une large place et jouent un grand rôle dans richesse de l'écosystème(**Daruffourd et Lapraz ,2002**)

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

La composition de ces huiles essentielles, fluctue selon les facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité, l'altitude et la latitude, la nature du sol (**Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et al, 2001**)

Dans le cadre de la valorisation de la flore algérienne, on s'est intéressé aux espèces de la famille des Lamiacées. La majorité des plantes qui appartiennent à cette famille sont des plantes aromatiques (**SENER, 2008**) produisant des huiles essentielles (**SAMBAMURTY, 2005**).

La plante sur laquelle a porté notre choix est une espèce de romarin ; *Rosmarinus officinalis* L. (**ATIK et al. 2007**), c'est un arbrisseau poussant à l'état sauvage dans les régions ayant un bioclimat semi-aride et subhumide (**ELOUTASSI et al. 2013**),

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

L'objectif de la présente étude ; porte sur l'influence de certain facteurs climatiques et pédologiques sur la variabilité des huiles essentielles de romarin (*Rosmarinus officinalis*.L) .

I. Etude de *Rosmarinus officinalis* L.

I.1. Historique

Le romarin est connu depuis la plus lointaine antiquité et l'on a trouvé des rameaux de cette plante dans les tombes égyptiennes des premières dynasties. A Athènes, comme à Rome, le romarin passait pour une plante sacrée, Horace (65-8 av. J.-C), poète et tribun célèbre, lui consacre quelques vers, eu égard à ses très estimables qualités magiques (**BARDEAU, 2009**). D'abord cultivé pour ses propriétés thérapeutiques, le romarin est apparu dans les livres des recettes à partir du XV^e siècle, (**WILSON et GUYLAINE, 2008**).

Le romarin a été utilisé comme herbe médicinale et aromatique depuis l'Antiquité, bien que c'est une espèce indigène de la Méditerranée, cette plante a été cultivée en Europe du Nord au moins depuis l'époque Médiévale (**Barceloux, 2012**).et les médecins arabes l'utilisaient beaucoup et ce sont eux qui réussirent les premiers à en extraire l'huile essentielle (**Fuinel, 2003**).

I.2 .Nomenclature

Le nom latin *Rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "ros" de la rosée et "marinus" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer (**Heinrich et al, 2006**)

Noms vernaculaires

Le romarin est connu par plusieurs noms vernaculaires comme

Français : encensier, herbe aux couronnes, romarin, romarin officinal.

Anglais : Rosemary.

Arabe : Eklil, اكليل (**Halimi et al, 2004**)

1.3 .Classification botanique

La classification botanique du romarin est présentée dans le Tableau I

Tableau I: classifications botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L, (GOETZ et GHEDIRA, 2012).

Règne	végétal
Sous-règne	trachéophytes
Embranchement	Spermaphytes ou phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

I.4. Description botanique.

Rosmarinus officinalis L. appartenant à l'importante famille des *Lamiacea*, est un arbrisseau qui se reconnaît de loin à son odeur (Fig1). Cette plante peut atteindre 2m de hauteur. La racine est profonde et pivotante. La tige est tortueuse, anguleuse et fragile. Les feuilles coriaces sont sessiles, opposées, rigides, brillantes, à bords repliés, verdâtres en-dessus, plus ou moins hispides, blanchâtres en dessous. Les fleurs bleues s'épanouissant tout au long de l'année attirent de nombreux Insectes. Le fruit est oval et lisse (Damerdji, 2015)



Figure 1. Aspects morphologiques du romarin (QUEZEL et SANTA, 1963).

I.5. Répartition géographique

Le romarin est retrouvé à l'état spontané comme il peut être cultivé. C'est la plante la plus populaire dans le bassin méditerranéen : en Algérie, nous la trouvons dans les jardins, les parcs des sociétés, des écoles. Elle se trouve toujours en bordure sous forme d'une bande odorante. Les fleurs bleues s'épanouissent tout au long de l'année ce qui attire de nombreux insectes. Le romarin est rencontré à différentes altitudes suivant les étages bioclimatiques (**Emberger, 1960**). Selon **Guinochet et al. (1973)**, le romarin se repartit tout au long de la mer méditerranéenne et le reste de l'Europe d'où son nom « rose de la mer ». D'après **Perrot et Paris (1971)**, cette plante existerait aussi en Corse et au Portugal. En France, elle pousserait abondamment dans les terrains calcaires du midi en particulier sur le littoral méditerranéen (aux faibles altitudes) d'où il remonte même jusqu'au massif central (Provence, Roussillon, Languedoc) Cette plante est également cultivée dans de nombreux pays tel que l'Espagne, l'Italie, la Tunisie, le Maroc et l'Algérie (**Garnier et al. 1961**).

I.6.Habitat et culture

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

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

Il se multiplie facilement à l'automne par bouturage ou marcottage ; plus facilement en été par semis car sa germination est lente (**MASSAOUDI, 2005**). Originaire des régions méditerranéennes, le *Romarin* pousse spontanément dans le Sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. (**HEINRICH et al. 2006**).

I.7.Composition chimique de romarin :

Composition chimique de l'huile essentielle du romarin

La composition de l'huile essentielle de Romarin dépend fortement des Chimio types ainsi que du degré de développement de la plante. Ses Principaux constituants peuvent être du 1,8- cinéole (teneur entre 3et 60 %), de 1 α '-pinène (1 à 57 %), du camphre (1 à 57 %), d'autres composées telles que le bornéol (1 à 18 %), de l'acétate de bornyle (1à 21 %), de la verbénone (0 à 28 %), du p-cymène (0,5 à 10 %) ou du p- myrcène (0,5 à 12 %) ; ils peuvent être accompagnés de α -caryophyllène, de limonène, de linalol, de α -pinène, de sabinène, de α -terpinène, d' α -terpinéol et de terpinéol-4 (Teuscher et al., 2005). Il a été observé dans les pratiques empiriques que les agriculteurs introduisaient souvent dans les greniers des plantes aromatiques issue de la pharmacopée locale pour protéger les graines entreposées (Sanon et al.2002).

Les végétaux produisent des composés secondaires (terpènes, composés soufrés, alcools etc.), souvent considérés comme étant un moyen de défense de la plante contre divers organismes dépréciateurs (Aauger et al.,1999). L'utilisation de ces substances végétales en tant que bio pesticides dans la protection des graines de légumineuses ou céréales stockées contre les insectes a fait l'objet de nombreuses études notamment en zone tropicale (Arthur, 1996).

Les principaux constituants polyphénoliques du Romarin sont des diterpènes phénoliques (acide carnosique, carnosol, 12-O-glucoside, eriocitrin, la lutéoline 3'-O- β -glucuronide, l'hespéridine, diosmine, hispidulin 7-O-glucoside) des acides phénols: aciderosmarimque, acidechlorogenique, acidecafeique, les flavonoïde telle que : luteoline, apigénine, diosmétine

La concentration en composés polyphénoliques varie selon la saison, l'âge de la plante, le rayonnement solaire et le climat (Barceloux, 2012).

Localisations des huiles essentielles dans la plante

La partie active est la feuille entière séchée du *Rosmarinus officinalis*. Elle doit contenir au minimum 1,2% d'HE et 3% de dérivés hydrocinnamiques totaux, exprimés en acide rosmarinique (Rombiet, 2007).

I.8 .Divers usage et propriétés du romarin

a) Usage alimentaire

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (**Bousbia, 2011**). En cuisine, il est conseillé d'en utiliser quelques feuilles lors de la cuisson (les viandes, le poulet, les légumes, les poissons et les coquillages), car ses propriétés bactéricides permettent de réduire les toxines la putréfaction (**Bourgeois, 2007**).

b) En cosmétologie

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques (**Bousbia, 2011**) pour leur pouvoir aromatique et aussi leur action régénérant et hydratante (**El goudour, 2003**).

II. LES HUILES ESSENTIELLES

II.1.Définition de l'huile essentielle

L'huile essentielle est définie comme étant un extrait volatile et odorant, que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qu'ils contiennent. Chez les plantes aromatiques, les huiles essentielles sont considérées comme sous-produits du métabolisme secondaire (Bruneton, 1999).

Selon Lacroix et al(2007), les huiles essentielles sont extraites soit des feuilles, des graines, des écorces, des racines ou d'autres structures spécialisées. Une huile essentielle est un mélange complexe de plusieurs composés d'arômes volatils qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique.

II.2. Sites de localisation des huiles essentielles

La partie de la plante utilisée pour obtenir l'huile essentielle doit être précisée, soit pour des questions de rendement (par exemple, la fleur de lavande contient beaucoup plus d'huile essentielle que la tige), soit par la composition chimique de la partie considérée conduira à une application spécifique très intéressante. (Kaloustian et Hadji-minaglou, 2013).

II.3.Techniques d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire les huiles essentielles. Les principales sont basées sur l'entraînement à la vapeur, l'expression à froid, la solubilité et la volatilité. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme.

II.3.1.L'hydro-distillation

L'hydro-distillation par cleverger est l'un des procédés les plus simples et le plus ancien. Il repose sur le fait que la plupart des matières odorantes peuvent être entraînées à la vapeur d'eau (BENETEAUD, 2011).

Les feuilles des espèces végétales utilisées sont découpées en petits morceaux pour faciliter leur introduction dans un ballon en verre de 2 L, rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa capacité. L'eau est ensuite chauffée dans le chauffe ballon jusqu'à ébullition, ce qui entraîne la formation d'une vapeur qui va entraîner les constituants volatils (Figure 02). Ces vapeurs s'élèvent et passent dans le réfrigérant qui est constamment refroidi à une température comprise entre 15°C et 18°C (TALEB-TOUDERT, 2015).

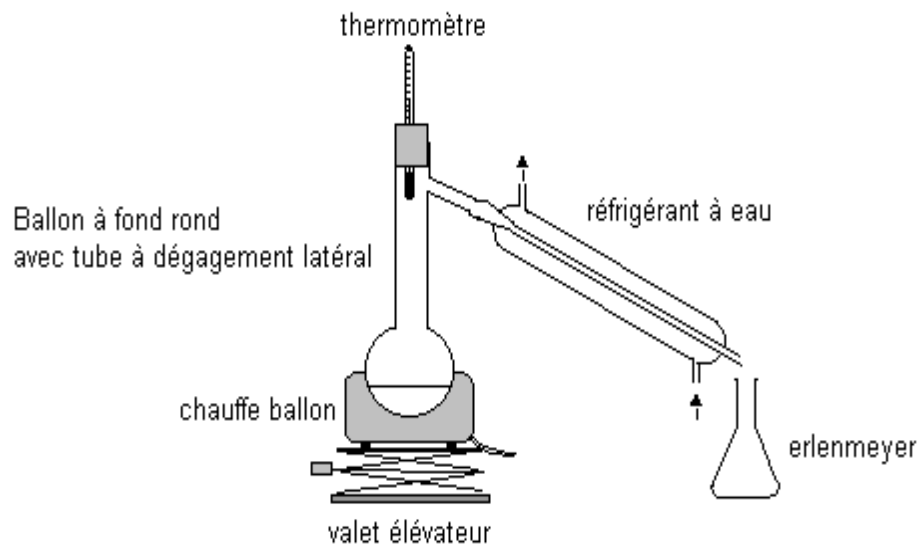


Figure 02: Schéma du montage de l'hydro-distillation

III.3.2. L'entraînement à la vapeur

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

Principe :

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

III.3.3. L'extraction par solvants volatils

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

Principe :

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

III.3.4. L'extraction au CO₂ supercritique

Il s'agit du procédé le plus récent d'extraction à froid des matières premières végétales utilisant le gaz carbonique ou CO₂.

Sous pression et à température supérieure à 31°C, le gaz carbonique se trouve dans un état dit « supercritique », intermédiaire entre le gaz et le liquide. Dans cet état, le CO₂ présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques.

Cette propriété a été mise à profit pour extraire des matières premières végétales intéressantes pour la parfumerie. Par cette application, l'extraction au CO₂ supercritique présente de nombreux avantages par rapport aux procédés d'extraction traditionnels. Les matières premières ainsi obtenues sont proches du produit naturel d'origine (**BENETEAUD, 2011**).

III.3.5. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction par micro-ondes consiste à extraire l'huile essentielle à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide.

Seule l'eau de constitution de la matière végétale traitée entre dans le processus d'extraction des essences .sous l'effet conjugué du chauffage sélectif des micro-ondes et de la pression réduite de façon séquentielle dans l'enceinte de l'extraction, l'eau de constitution de matière fraîche entre brutalement en ébullition. Le contenu des cellules est donc plus aisément transféré vers l'extérieur du tissu biologique, et l'essence est alors mise en œuvre par la condensation, le refroidissement des vapeurs et puis la décantation des condensats. Cette technique présente les avantages suivante : rapidité, économie du temps d'énergie et d'eau, extrait dépourvu de solvant résiduel (**Mompon, 1994 ; Brain, 1995**)

III.3.6. l'expression à froid

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

II.4. Identification des huiles essentielles

Les profils chromatographiques obtenus par C.P.G ou par d'autres méthodes d'analyse, sont le reflet direct de la composition du produit en terme qualitatif. Chaque pic correspond à une molécule du pool chimique on peut également déterminer le pourcentage représenté par chaque constituant en mesurant la taille des pics

- **Chromatographie en phase Gazeuse (CPG)**

La chromatographie en phase gazeuse s'applique à des échantillons gazeux ou susceptibles d'être vaporisés sans la décomposition dans l'injecteur. La phase mobile est alors un gaz (hélium, azote, argon ou hydrogène), appelé gaz vecteur qui balaie en permanence la colonne. Cette dernière placée dans four thermo staté, est un tube de faible section enroulé sur lui-même et contenant la phase stationnaire. Un grand choix des détecteurs permet l'analyse sélective et parfois l'identification de mélange très complexe comme dans le cas des huiles essentielles. Si la phase stationnaire est un liquide non ou peu volatil, possédant des propriétés de solvant vis à vis des composés à séparer, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage ; si la phase stationnaire est un solide adsorbant (silice, alumine,...), c'est la chromatographie gaz- solide ou chromatographie d'adsorption. (Arpinoet al. 1995)

- **Le Chromatographe en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CG-SM)**

Le système couplé (CG-SM) est l'un des premiers exemples de technique couplée et il est encore l'un des plus largement utilisés et des plus puissants

Cette technique de GC/MS permet d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances présentes en de très petites quantités, voire a l'état de traces.

II.5. Composition chimique générale des huiles essentielles

Comme toute substance, les huiles essentielles se caractérisent par une composition chimique très variable, chaque H.E est composée d'une combinaison de molécules aromatiques différentes et complémentaire. Les huiles essentielles peuvent subir des modifications profondes durant l'exploitation c'est-à-dire pendant la récolte, le séchage, le stockage du matériel végétal, l'extraction...etc. (Seguin, 2001).

La composition chimique des huiles essentielles varie au sein d'un même genre botanique et cette variation peut s'observer dans une même espèce. Il y a aussi les paramètres extrinsèques (le sol, l'environnement, le climat), intrinsèques (le degré de maturité, les facteurs génétiques,

la localisation), technologiques (le type de culture, le mode de récolte), et les modes d'extraction qui influent sur ces compositions (**Mnayer, 2014**).

Croteau et al(2000) et **Hellal(2011)** définissent les composées des HE comme des substances constituées des molécules très volatiles tels que : Les **terpènes**, **Les composés aromatiques**

II.6.Propriétés physicochimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont généralement Incolores, hydrophobes, inflammables, et oxydables (**Milpied, 2009**). Elles sont acres, inflammable, très odorantes, volatiles, plus ou moins fluides, souvent colorées et plus légères que l'eau, leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C et leur densité de l'ordre de 0,759 à 1,096.

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau à laquelle elles communiquent leurs odeurs.Elles sont dextrogyres ou lévogyres et rarement inactives sur la lumière polarisée.

De densité généralement inférieur à 1 car la plus dense reste l'huile essentielle de wintergreen à 1,187 (**Durafourd et Lapraz, 2002**), Ce sont des liquides mobiles entraînés à la vapeur d'eau (**Roux et Cartier, 2007**).

II.7.Facteurs de variabilité des huiles essentielles

La présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante). En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité, l'altitude et la latitude, la nature du sol sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite (**Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et al, 2001**). Le mode de récolte, les conditions de transport, séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques (**Yayi et al, 2004**). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydro-distillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydro-distillation (broyage, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle (**Lagunez Rivera, 2006; Chemat et al., 2007**). D'après **Fluck (1988)**, le climat et le sol ont une influence plus importante pour les espèces végétales dont l'organe sécréteur de l'H.E se situe au niveau des poils glandulaires (Lamiaceae,

Verbenaceae, Geraniaceae, Rutaceae) que pour celles dont l'huile est produite dans les formations schizogènes des feuilles, calices ou tiges (Lauraceae, Asteraceae)

II.8. Sécrétions et rôle des huiles essentielles

Tous les êtres vivants ont un métabolisme primaire qui fournit les molécules de base.

Toutefois, il existe un métabolisme dit secondaire chez les plantes : c'est une exclusivité du monde végétal (**Fouché et al., 2000**).

Pour **Guignard et al., (1985)**, il n'existe pas de règle générale concernant les lieux d'accumulation des métabolites secondaires, telles que les huiles essentielles, dans l'organisme végétal. Par contre, pour **Garneau (2004)**, la plupart des huiles essentielles se retrouvent dans des glandes. Les structures glandulaires et les cellules sécrétrices isolées peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux, végétatifs et reproducteurs. Plusieurs catégories de tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voir dans un même organe (**Lamarti et al., 1994**).

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses (**Camefort, 1977 ; Paris et Hurabielle, 1981; Guignard et al., 1985 ;Bruneton, 1999;Garneau, 2004**

Les huiles essentielles émises par les plantes sous forme de vapeur ont des fonctions multiples dans la nature. Actuellement il est souvent difficile de les préciser dans tous les cas néanmoins, il semble probable qu'elles aient un rôle écologique.

En effet ; expérimentalement il a été établi qu'elles interviennent dans les interactions végétaux animaux. Ainsi, Elles constituent un moyen de communication (**Bruneton, 1997**).

Certaines essences attirent les insectes et favorisent la pollinisation. D'autre servent a la défense des plantes contre les prédateurs herbivores, insectes, microorganismes, ou autres. elles conviennent enfin de signaler que pour les plantes des régions désertiques, les vapeurs de l'huile saturent l'air autour de la plante et permettent de maintenir certaines humidités qui empêchent la température d'augmenter d'une manière excessives pendant le jour et de baisser au cours de la nuit (**Belaiche, 1979**)

II.9.Conservation des huiles essentielles

Selon **Bruneton (1999)**, les risques d' altération des huiles essentielles sont élevés : photo isomérisation, photo cyclisation, peroxydation des carbures et décomposition en cétone et alcool. Ce qui modifie leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons appropriés en acier inoxydable, en verre teinté ou aluminium. À l'abri de la lumière et de la

chaleur, ces flacons doivent être secs et propres pour éviter les contaminations (**Valnet, 1986**).

II.10. Domaines d'application de l'huile essentielle du romarin

Les huiles essentielles sont employées dans le secteur de la cosmétique, notamment pour la fabrication des parfums ; dans les compositions parfumées des détergentes études produites de parfumerie fonctionnelle ; mais aussi dans le domaine alimentaire.

L'utilisation des huiles essentielles pour l'élaboration des parfums est évidente. Dans les secteurs de la parfumerie fonctionnelle, les huiles essentielles sont sélectionnées pour renforcer l'impression de propreté ; de même, dans le domaine alimentaire, (**Besombes, 2008**).

II.11. Toxicité de l'huile essentielle du romarin

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque. Par leur composition chimique riche, les huiles essentielles doivent être utilisées avec une extrême prudence, du fait qu'elles peuvent présenter de très graves dangers lors d'une utilisation aléatoire autonome, Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant .

D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique (les cétones comme l' α -thujone sont toxiques pour les tissus nerveux) (**GUBA, 2001**).

1. LOCALISATION DU LIEU D'EXPRIMENTATION

Notre travail a été réalisé au laboratoire de PFE Département de Sciences Alimentaires situé à l'université de Blida (1), durant la période allant du mois de mars à la fin du mois de mai 2018.

Les analyses chromatographiques au niveau du centre de recherche et analyses physico-chimiques (CRAPC).

Objectif principal de la présente étude

L'objectif de l'étude est de montrer la relation entre la composition chimique de l'huile essentielle du romarin (*Rosmarinus officinalis L.*) vivant à l'état spontané à Blida et Cherchell et l'influence du climat et de l'altitude dans la diversité chimique de l'espèce

2. MATERIEL

2.1. Matériel biologique

L'identification de l'espèce étudiée a été faite à l'université de Blida, au niveau du département de Sciences Agronomique.

La matière végétale a été récoltée durant le mois de mars 2018 dans deux régions différentes Blida (aux alentours l'Université Saad Dahleb) et Cherchell (dans une école près de la mer). Seule la partie aérienne (feuilles et jeunes tiges) a été collectée en début de matinée, afin que le matériel végétal soit le plus frais possible (figure 03)



Figure 03 : Feuilles fraîches de *Rosmarinus officinalis L.*

Les échantillons, fraîchement récoltés, sont séchés à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 15 jours. Une fois la plante séchée, nous avons séparé les feuilles des rameaux et

elles sont conservées dans des sacs propres et aérés en papier pour servir ultérieurement à l'extraction de l'huile essentielle (Figure 04).



Figure 04 : Feuilles séchées de *R. officinalis*

2.2. Matériel non biologique

Le matériel utilisé durant notre expérimentation : Verrerie, et préparations ainsi que, Les appareils sont cosignée en (Annexe I), (Annexe II).

Présentation des zones d'étude

- **BLIDA**

Le matériel végétal provient de la région de Blida (aux alentours de l'université Saad Dahleb). La région de Blida se situe au niveau de la partie occidentale de la Mitidja. Elle est limitée au Nord par les villes Alger, Boumerdes et Tipaza, au Sud par Médéa, l'Atlas et la montagne de Chréa, les gorges de la Chiffa, à l'Ouest par Ain Defla et à l'Est par Bouira. Elle s'étend sur une superficie de 1696 km². Elle est située à une altitude de 163 m. Les coordonnées géographiques de cette région sont 36° 43' N et 2° 49' E

- **Caractéristiques édaphiques**

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

Il ressort ce qui suit :

- Texture : équilibrée à limoneuse.
- Structure : polyédrique moyennement développée et dépourvue de calcaire.
- La teneur en matière organique et en moyenne avec rapport C/N compris entre 4,3 et 23,8.
- Un sol poreux et perméable.

- Un pH neutre entre 6,5 et 7,5.
- Le complexe absorbant est saturé dans tous les horizons.
- Une capacité d'échange cationique (C.E.C) comprise entre 11 et 26.7meq /100g de sol.
- Le sol renferme de bonnes réserves minérales notamment en phosphore assimilable et en potassium assimilable.
- La teneur en azote est faible.

- **Caractéristiques climatiques**

Les principaux facteurs atmosphériques ayant une influence sur la flore spontanée et la faune sont la température, la pluviométrie, la vitesse du vent et l'humidité relative. Les relevés de ces facteurs sont enregistrés au niveau de la station de l'Institut National des Ressources hydriques (I.N.R.H) de Soumaâ à Blida et au niveau de la station de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière (I.T.A.F).

- **La température**

Le tableau regroupe les températures moyennes mensuelles, leurs minima et maxima obtenus dans la station de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière BOUFARIK (Blida) en 2017, (tableau II) annexe V

D'après le tableau II pour l'année 2017, nous constatons que le mois le plus chaud est Aout avec 35,67 °C, et le mois le plus froid est janvier avec 3,05 °C.

- **La pluviométrie**

Les relevés de la pluviométrie de la région de Blida pour l'année 2017, sont notés dans le (tableau III) annexe V

La pluviométrie mensuelle enregistrée dans la station météorologique de Blida pour l'année 2017 montre un maximum de 314 ,3 mm, Observé en janvier et un minimum de 0.1 mm noté en juin (tableau III) annexe V. le total des précipitations en 2017 est égal à 393,6 mm

- **Les vents**

Les vents exercent une grande influence sur les êtres vivants (FAURIE *et al.* ,1984).La vitesse des vents mensuels les plus forts exprimée en m/s, enregistrée à Blida en 2017, est notée dans le tableau IV

Tableau VI : Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées à I.T.A.F en 2017.

Mois	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Total
Vf (m/s)	/	5	2	/	/	/	/	1	/	/	/	03	11

D'après le tableau IV, les valeurs de la vitesse des vents les plus forts varient de 1 m/s à 5 m/s la plus grande valeur est notée en février avec 5 m/s.

- **CHERCHELL**

Le matériel végétal provient de la région de Cherchell. ville blottie entre mer et montagne. Elle est située à l'ouest d'Alger, reliée à la plaine de la Mitidja par la vallée de l'oued El Hachem et séparée de la vallée du Cheliff par le massif du Dahra. C'est une toute petite ville entourée d'un mur construit lors de la colonisation avec des « portes » : porte d'Alger, de Ténès, de Miliana. Elle s'étend sur une superficie de 1 707 km², et est située à une altitude de 26 m. les coordonnées géographiques de cette région sont Latitude: 36.6085, Longitude: 2.19718 et 36° 36' 31" Nord, 2° 11' 50" Est

- **Caractéristiques climatiques**

- **La Température**

Le tableau regroupe les températures moyennes mensuelles, leurs minima et maxima obtenus dans la station de l'Institut Technique de l'Arboriculture Fruitière BOUFARIK (Blida) en 2017(tableau V) Annexe V

D'après le tableau V pour l'année 2017, nous constatons que les mois les plus chauds sont Juin, Juillet, Aout, septembre, avec 39,0 °C, et le mois le plus froid est janvier avec 4 °C.

- **La pluviométrie**

Les relevés de la pluviométrie de la région de Cherchell pour l'année 2017, sont notés dans le tableau VI annexe V

La pluviométrie mensuelle enregistrée dans la station météorologique de Blida pour la région de Cherchell l'année 2017 montre un maximum de 184 mm Observé en Décembre et un minimum de 0 mm noté en Aout (tableau VI).le total des précipitations en 2017 est égal à **652,9** mm

- **Les vents**

La vitesse des vents mensuels les plus forts exprimée en m/s, enregistrée à Cherchell en 2017, est notée dans le tableau VII

Tableau VII : - Valeurs mensuelles de la vitesse des vents les plus forts notées à I.T.A.F en 2017.

Mois	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Total
Vf (m/s)	1,5	2,7	2,3	1,9	3,5	2,6	3,1	3,2	2,6	2,2	1,9	1,3	

D'après le tableau VII, les valeurs de la vitesse des vents les forts varient de 1,3 m/s à 3,5 m/s la plus grande valeur est notée en Mai avec 3,5m/s.

3. Méthodes

3.1. Méthode d'extraction

Extraction des huiles essentielles :

Parmi les différentes techniques d'extraction des plantes aromatiques, nous avons opté la méthode d'hydro distillation. ; Les principales raisons de cette technique sont liées à la facilité de mise en œuvre du procédé et pour la qualité des huiles essentielles obtenues lors de cette méthode.

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

- **Préparation d'échantillon de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis***

La récupération d'échantillon de l'huile essentielle par hydrodistillation a été effectuée au laboratoire. A cet effet, nous avons utilisé un matériel végétal sec.

Dispositif d'extraction

L'appareil utilisé pour l'hydro distillation est de type Clevenger, il est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place les feuilles séchées et l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) qui vient de l'échauffement du ballon, un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation (fig.08)



Figure 05: Appareillage utilisé : type Clevenger

- **Mode opératoire :**

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, qui est ensuite porté à ébullition pendant 3h. Les vapeurs hétérogènes formées dans le serpentin sont condensées sur une surface froide qui est celle du réfrigérant, ainsi la séparation eau- essences s'effectue par une simple différence de densité. L'huile essentielle obtenue est gardée au réfrigérateur à 4 °C et à l'obscurité jusqu'à son utilisation.

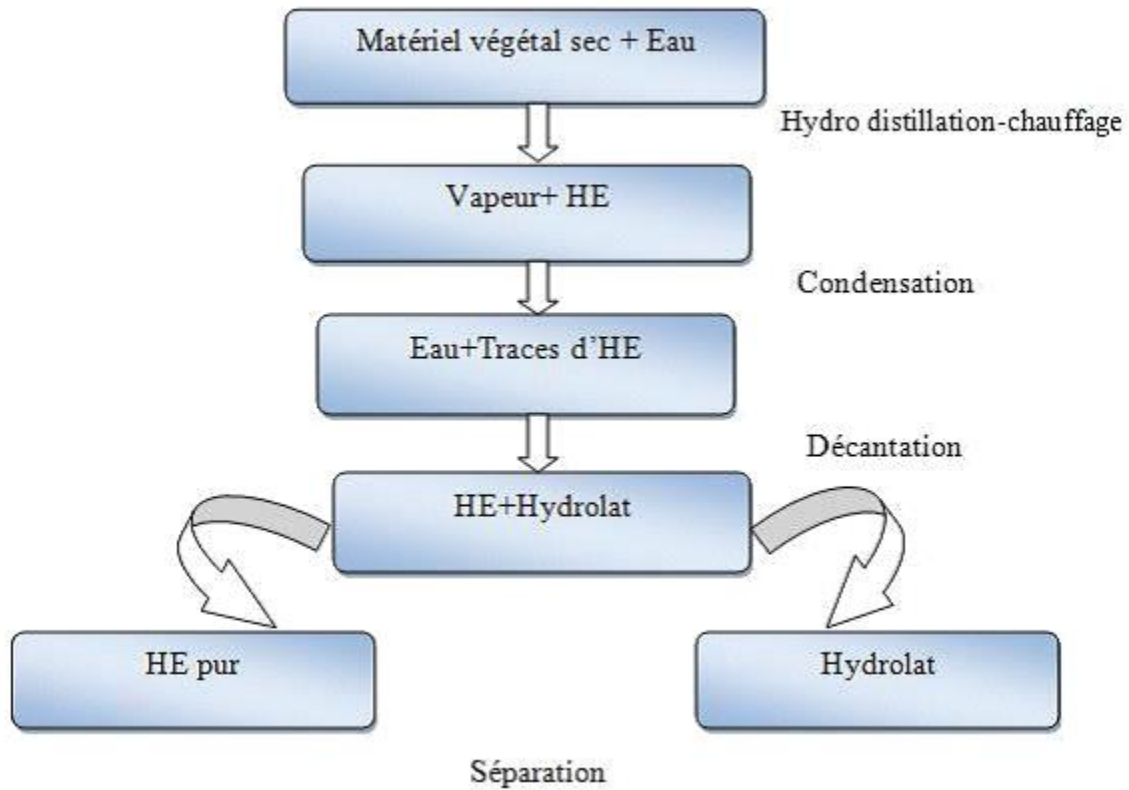


Figure 06: les étapes d'extraction de l'huile essentielle



Figure 07 : décantation de l'huile essentielle

3.2. Calcul du rendement en huiles essentielles

Selon les normes d'AFNOR, le Rendement en Huiles Essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (MH) et la masse de la matière végétale utilisée (Mmv) sèche ou fraîche.

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

$$\text{RHE (\%)} = (\text{MH} / \text{Mmv}) \times 100$$

Où : MH : La Masse d'Huile Essentielle en gramme.

Mmv : la masse de la matière végétale (sèche ou fraîche) utilisée en gramme.

RHE : Rendement en Huiles Essentielles.

Volume d'huile essentielle

Le volume de l'huile essentielle est déterminé grâce aux graduations millimétriques de l'éprouvette.

3.3. Caractéristiques organoleptiques

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

3.4. Caractéristiques physico-chimiques

3.4.1. Calcul de la densité

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

$$d = \text{MHE} / \text{VHE}$$

d : densité

MHE : Masse de l'Huile Essentielle (g)

VHE : Volume de l'Huile Essentielle (ml)

3.4.2. Détermination de l'indice de réfraction (IR)

- **Définition**

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

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

- **Mode opératoire**

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

3.4.3. Détermination de l'indice d'acide

- **Définition**

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

- **Mode opératoire**

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

- **Calcul**

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

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

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

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

3.4.4. Détermination de l'indice d'ester

- **Définition**

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

- **Principe**

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

- **Solvants chimiques**

Ethanol à 95% volumique.

C (KOH)= 0.5 mol/l

C (HCl)= 0.5 mol/

- **Mode opératoire**

- Introduire dans un ballon 0.5 g d'huile essentielle, ajouter à l'aide d'une burette 25ml de la solution d'hydroxyde de potassium KOH ainsi que des fragments de pierre de ponce ;

- Adapter un tube en verre au réfrigérant puis placer le ballon sur le bain d'eau bouillante pendant une heure ;

- Laisser le ballon refroidir, démonter le tube, ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de solution de phénophtaléine, comme indicateur et enfin titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec une solution d'acide chlorhydrique. (**Annexe IV**)

- **Calcul**

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

$$IE = 28.05/m (V_0 - V) - IA$$

Ou :

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

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

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

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

3.5. Analyse de la composition chimique de l'huile essentielle

L'analyse chimique des huiles essentielles est effectuée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse **CPG**

Les conditions opératoires**Injecteur**

Température : 250°C

Mode d'injection : split 1/50

Volume injecté : 0.2µl

Colonne

Type : HP-5MS

Dimension : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm

Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane. (Autre : Spécifier)

Température du four : 60°C 8 min, 2°C/min jusqu'à 240°C., isotherme pendant 5 min**Durée d'analyse** : 103 min**Gaz vecteur** : Azote N2 pur.**Débit GV** : 0.5 ml/min**Détecteur**: FIDTempérature FID : 270 °c**Equipement** :**Chromatographe** : GC MASTER DANI.**La loi utilisée pour l'identification des pics :**

$$I_i = 100 \cdot \left(\frac{t_R(i) - t_R(n)}{t_R(n+1) - t_R(n)} \right) + 100 \cdot n$$

I. Le rendement

Les résultats du rendement en huile essentielle du romarin des deux régions (Blida et Cherchell) sont présentés dans le tableau VIII et lustré par la figure 08

Tableau VIII: Variation du rendement en fonction des régions

Romarin de la région de Blida	0.50 %
Romarin de la région de Cherchell	0.75 %

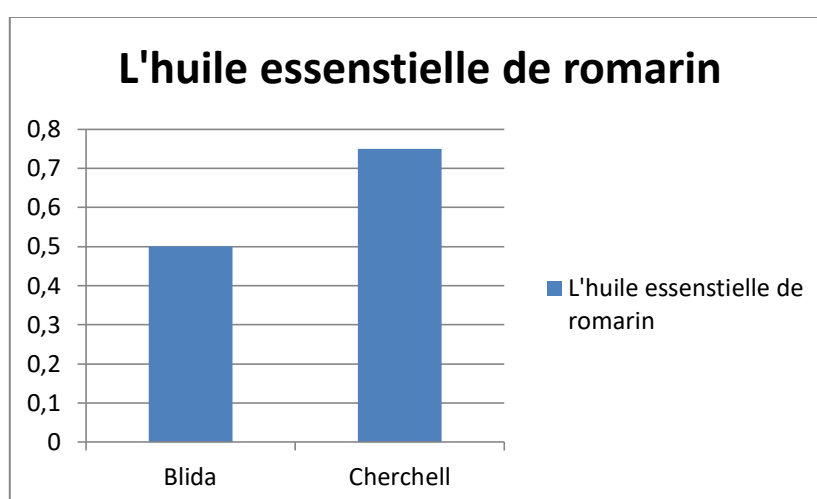


Figure 08: rendements des huiles essentielles étudiées.

Nous constatons que le rendement en huile essentielle de la région de Blida est de 0.50 % et celui de la région de Cherchell est de 0.75 % ce qui apparaitre faible et variable.

Le rendement en huile essentielle du romarin de la région de Cherchell est de 0,75% parait plus important par rapport à celui obtenu de la région de Blida qui est de 0,50%.

II. Etude analytique

1. caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles du romarin

L'huile essentielle du romarin obtenue par hydrodistillation est représentée par la figures 09.



Figure 09: Huile essentielle du romarin de la région de Blida et Cherchell.

Les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle du romarin obtenue par hydrodistillation sont résumées dans le tableau IX

Tableau IX: Caractéristiques Organoleptiques des huiles essentielles de romarin récoltées à Blida et Cherchell.

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

2. Résultats des analyses physico-chimiques

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

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

Paramètres physico-chimiques	La valeur de l'HE du romarin (région Cherchell)	La valeur de l'HE du romarin (région Blida)	Normes AFNOR (2000)
Densité	0.909	0.888	0,894 - 0,912
Indice de réfraction	1,451	1.451	1.464 - 1.476
Indice d'acide	4.48	2,24	-
Indice d'ester	283.58	325.10	-

La densité de l'huile essentielle de la région de Blida égale à 0.888 g/ml, elle représente un résultat conforme aux normes d'AFNOR.

La densité de l'huile essentielle de la région de Cherchell égale à 0.909 g/ml, elle représente un résultat conforme aux normes d'AFNOR.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle de romarin de la région de Blida est de 1,451. Ce résultat obtenu est conforme aux normes AFNOR.

L'indice de réfraction de l'huile essentielle du romarin de la région de Cherchell est de 1.451. Ce résultat obtenu est conforme aux normes AFNOR.

L'indice d'acide du romarin de la région de Blida est de 2.24 et celui de la région de Cherchell est de 4.48 On remarque qu'il y a une grande différence de l'indice d'acide des huiles essentielles des deux provenances.

L'indice d'ester du romarin de la région de Blida est de 325.10 et celui de la région de Cherchell est de 283.58 On remarque qu'il y a une différence de l'indice d'ester des huiles essentielles des deux provenances.

3. L'analyse par CPG

Les résultats de l'analyse par CPG de la région de Blida sont montrés dans le chromatogramme (Figure 10).

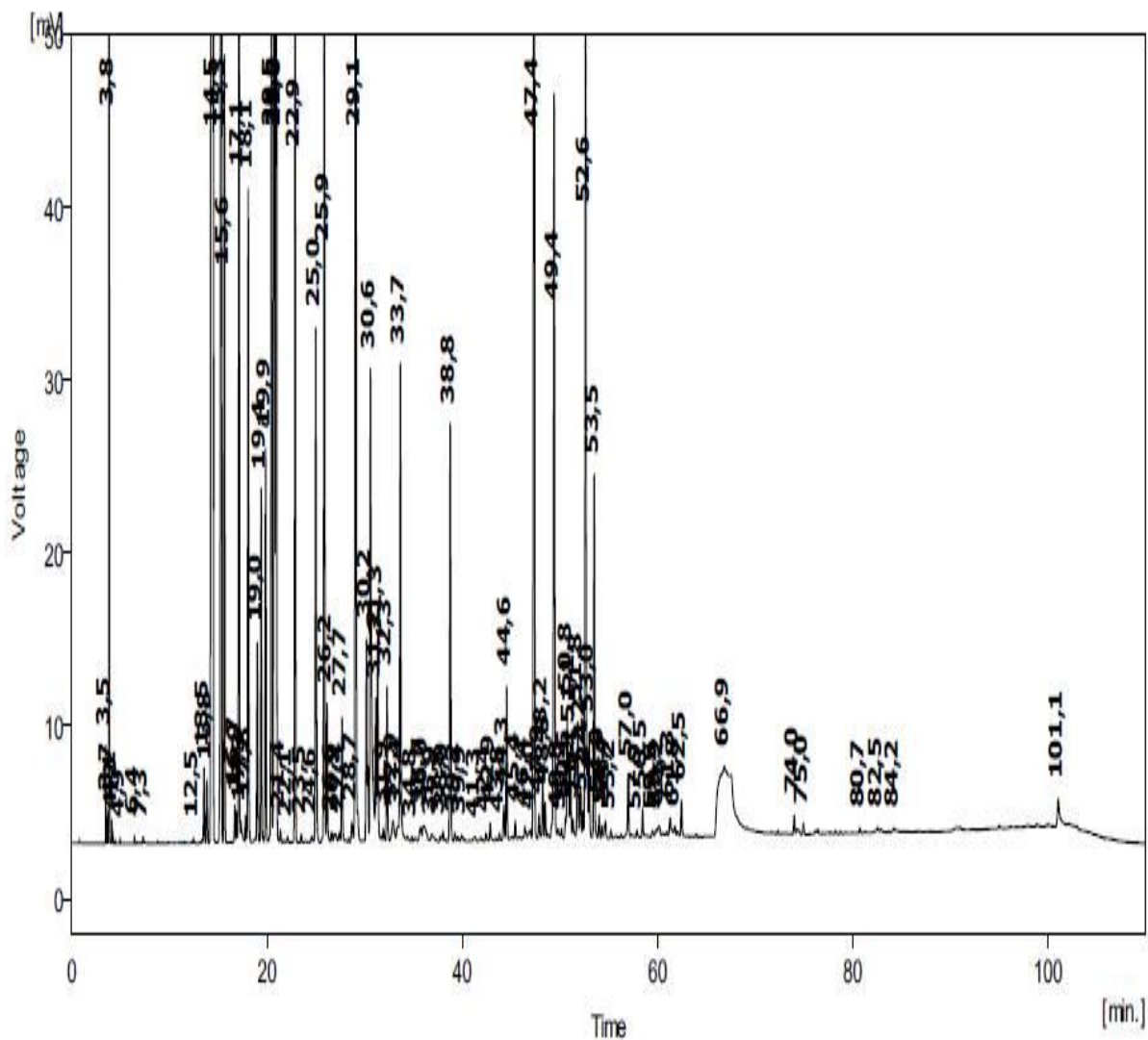


Figure 10 : Chromatogramme CPG de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Blida

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

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

Constituants	Temps de rétention	rendement
1-octen-3-ol	13.7	0.1
Eucalyptol	15.9	11.73
Linalol	17	0.20
Chrysauthenone	18.08	6.38
Camphor	20.13	22.35
Bornéol	20.85	16.63
isopinocampone	21.10	4.84
α -terpinéol	21.57	3.32
Ryrtenol	21.88	0.72
Cylopentene 1-ethanol,2-4-trimethyl	22.05	1.67
Verbénone	22.9	23.48
Grandlure II	23.19	0.33
5-caranol	23.43	0.10
p-mentha-1,8-dien-3one	24.31	0.35
Bornyl acetate	24.7	1.36

Les résultats de l'analyse par CPG de la région de Cherchell sont montrés dans le chromatogramme (Figure 11)

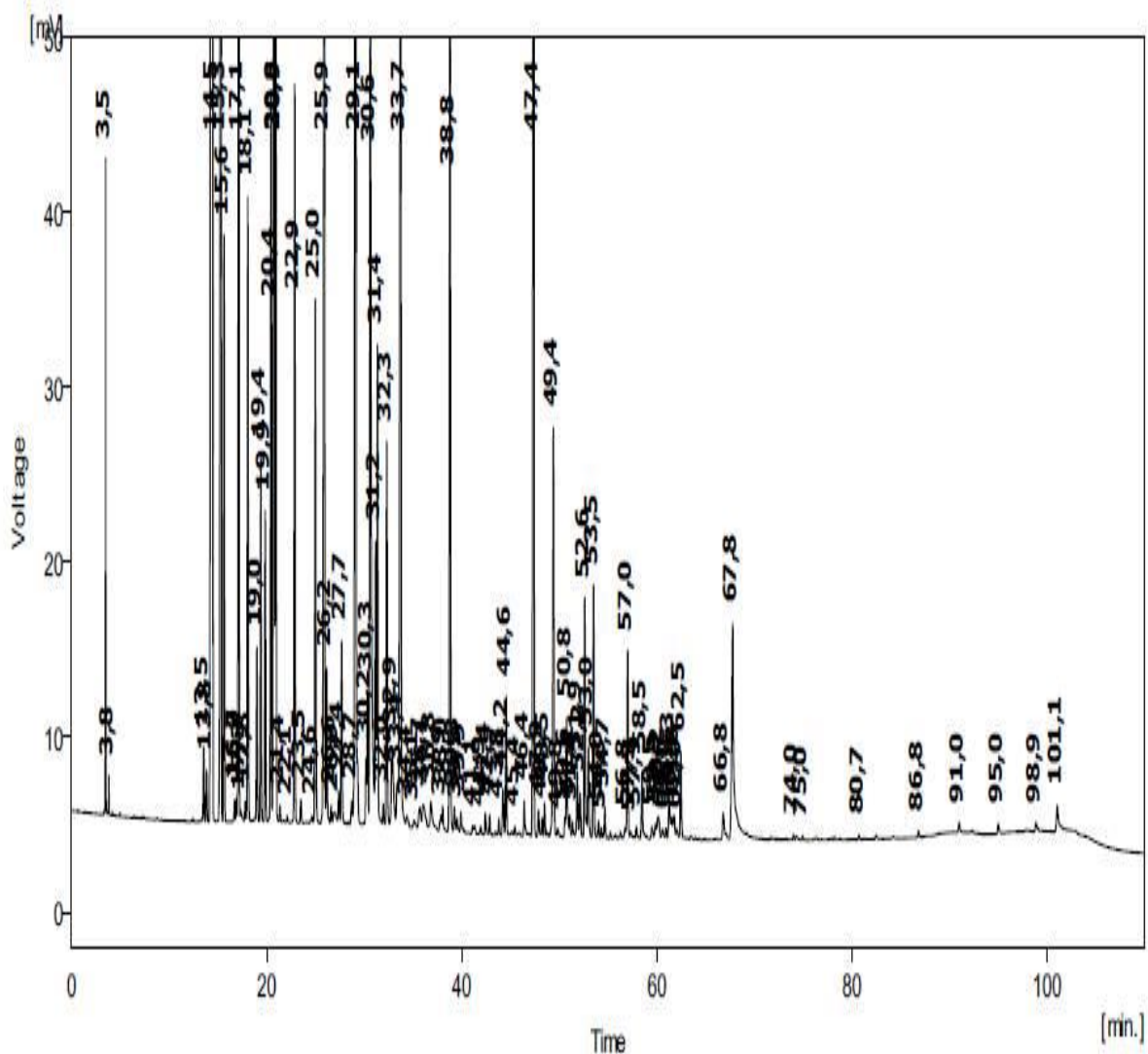


Figure 11 : Chromatogramme CPG de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Cherchell.

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

Tableau XII : Composition chimique de l'huile essentielle du romarin de Cherchell.

Constituant	Temps de rétention	Rendement %
Camphor	12.5	6.94
Pinocauvone	13.2	0.58
Bornéol	14.00	9.34
Myrthénol	14.5	0.50
Verbénone	15.5	5.03
Terpinyl acetate	15.6	1.25
Bornyl acétate	17.1	5.65
γ terpinéol -	18.1	0.73
Caryophylène	9.25	1.74
Humène oxide	25.9	0.15
Alloaromadérène oxide	33.7	0.26

Nous constatons que L'analyse par CPG a permis de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*L. Cueillie Dans les deux régions Blida et cherchell. Elle révèle deux chémotypes : les HE de la station de Cherchell, dans le chémotype à Bornéol les HE de la station de Blida, dans le chémotype à Verbénone.

Par rapport aux résultats obtenus, nous constatons que les huiles essentielles des deux régions paraissent très riches en termes de composés. On note une différence relativement importante entre les teneurs de ces composés.

4. Discussion générale

Le rendement total de *Rosmarinus Officinalis* L. cueilli dans la région de cherchell est de (R=0,75%) est largement supérieur à celui de Blida (R = 0,50%).

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

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

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

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

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

- Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles des deux régions sont différentes. En effet, l'indice de réfraction obtenu est : Blida ; 1,451 et aussi 1,451 pour celui de cherchell. L'indice de réfraction est inversement lié au degré d'insaturation de l'huile essentielle (**GACEM et al., 1995**). L'indice de réfraction de l'huile essentielle du romarin des deux régions Blida et cherchell est supérieur à celui de l'eau (1.335).

Des différences ont été également notées de la mesure de la densité. Cependant, malgré toutes ces différences, nous remarquerons que les paramètres physico-chimiques des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* L. des deux localités sont en accord avec AFNOR.

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

L'analyse chromatographique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la région de Cherchell a permis d'identifier 11 composés qui représentent environ **53.32%**

Du point de vue qualitatif, on note une présence d'alcools mono oxygénés (bornéol, myrthénol, terpinéol,), des cétones (camphore, pinocarvone, verbénone, , d'esters (terpinyl acétate, bornyl acétate) et des sesquiterpènes (caryophyllène oxide, humulène oxide et alloaromadendrène oxide).

Du point de vue quantitatif, L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est composée principalement de Bornéol (0.34 %), de camphore (6.94%), de bornyl acétate (5.65%) et de

verbénone (5.03%) accompagnée par d'autres constituants mineurs avec des teneurs relativement faibles (entre 0.26 et 1.74%).

L'analyse chromatographique, de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a permis l'identification de 15 composés exhibant un total d'environ 92,56 % de composés identifiés

. On note la présence des mono terpènes oxygénés, des cétones et des sesquiterpènes déjà cités dans l'huile essentielle de chercelle. En plus on note l'existence d'alcools (d'octenol, de linalool), de chrysanthénone, d'eucalyptol (éther) et 02 à 4 sesquiterpènes. L'ensemble est dominé par la présence du verbénone (23.48%), du camphore (22,35%), de Bornéol (16.63%), et d'eucalyptol (11,73%). En outre, l'huile essentielle testée contient également des quantités de divers constituants mineurs.

Grager et Passet (1973) ont introduit la notion de chémotypes pour distinguer les individus génétiquement différents à l'intérieur d'une même espèce, en utilisant les constituants majoritaires. En reprenant les proportions importantes en composés chimiques majoritaires dans les huiles essentielles des régions citées ci-dessus : nous pouvons classer ces HE de la manière suivante :

- Les HE de la station de Chercell, dans le chémotype à Bornéol
- Les HE de la station de Blida, dans le chémotype à Verbénone.

Tableau XIII: Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de

l'huile essentielle de Romarin

Composé majoritaire	%	Origine	Référence
α - pinène Camphre β - pinène	23.1 14.5 12.2	Algérie (Tlemcen)	(Atik Bekkara <i>et al</i> .,2007)
α-pinène Linalool Pipéritone	14.9 14.9 23.7	IRAN(Tehran)	(Gachkar <i>et al.</i> , 2007).
α pinène 1,8-cinéole	10,2 6.4	TURQUIE (Izmir)	(Yesil Celiktas <i>et al.</i> ,2007)
α pinène 1,8 cinéole Camphre	11.4 50.2 9.1	MAROC (fas)	Ouraini <i>et al.</i> , 2005)

La comparaison de la composition de notre l'huile essentielle isolée de *Rosmarinus officinalis* avec celle obtenue à partir de la même espèce recueillie dans des sites géographiques différents du monde (tableau XIII). Elle nous a révélé que l'huile essentielle peut présenter 07 profils chimiques différents. On distingue :

- Le Romarin à pipéritone qui se trouve généralement en IRAN.
- Le deuxième chémotype est le romarin à verbénone et acétate de bornéol (*Rosmarinus officinalis* L. ct verbénone) souvent originaire de Corse.
- Le quatrième chémotype est le romarin à limonène et camphre originaire de **SERBIE**
- Le Romarin à α pinène détecté en Turquie et en Algérie (Tlemcen)

En conséquence, on peut en déduire que *Rosmarinus officinalis* localisée en Algérie possède 03 chémotypes différents (à α pinène, à verbénone et à Bornéol).

Les variations du polymorphisme chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L. issue des différents pays est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur environnemental (**Bernath et al., 1991**), les conditions climatiques et géographiques qui changent d'un pays à un autre, le génotype, le stade végétatif de la plante, et à la période de la cueillette (**Fellah et al., 2006**)(Smallfield, 2001 ;Moldão et al., 1999). La méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition de l'huile essentielle (**Bruneton, 1993**).

Rosmarinus Officinalis cueillie en Turquie selon YESIL CELIKTAS et al., 2007 est composée principalement de 1,8-cinéole (60,9%) l' α -pinène (7,8%) et camphre (7,1%). Par contre l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* cueillie au Portugal (**MATA et al., 2007**) est constituée essentiellement de verbanone (35,4%) ; camphre (5,5%) et 1,8-cinéole (3,1%). Alors que le composé majoritaire de l'huile essentielle du romarin de Tunisie selon MATHLOUTHI, et al. 2009 est le cinéole (50 %) suivi du camphre (12 %), de l' α -pinène (10%) et du bicyclo-3.1.1-heptane (6,5%).

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

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

Un échantillon provenant de Bordj-Bou-Arreridj contient surtout du (E)- β -caryophyllène (13,9%) à côté du camphre (12,1%), du bornéol (10,1%), de l' α -terpinéol (9,5%) et 7,5% de cinéole (**BENHABILES et AÏT-AMAR, 2001**).

CONCLUSION

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

- Le rendement en huile essentielle est variable selon la localisation géographique. En effet, cette variabilité peut être due aux facteurs climatiques, la nature du sol, le cycle végétatif de la plante, le mode d'extraction ou même selon l'âge.

- L'huile essentielle des deux échantillons présente des caractéristiques organoleptiques conformes aux normes AFNOR avec une légère différence au niveau de la couleur, qui est due à la variabilité de la composition chimique des huiles essentielles.

- Les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles des deux régions sont différentes. Les fluctuations dans les valeurs des propriétés physicochimiques des différentes huiles essentielles obtenues sont dues principalement à la variation de la composition chimique de l'huile essentielle.

- L'analyse par CPG a permis de caractériser la composition chimique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis*L. cueillie Dans les deux régions Blida et cherchell. Elle révèle deux chémotypes : les HE de la station de Cherchell, dans le chémotype à Bornéol les HE de la station de Blida, dans le chémotype à Verbénone.

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

Nos résultats sont conformes à ceux publiés dans la littérature où nous avons rencontré presque tous les composés cités. Ainsi, nous pouvons dire que la différence de composition entre les différentes huiles essentielles du romarin est due à : l'origine géographique, le facteur environnemental, les conditions climatiques, la méthode d'extraction influe, également, considérablement sur la composition chimique de l'huile essentielle, la méthode de séchage des feuilles.

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

- * de compléter cette étude par l'identification des composés qui possèdent un pouvoir rotatoire
- * d'étudier la variation de la composition en huiles essentielles selon les saisons ou les mois.
- * d'exploiter la richesse de la flore algérienne pour créer de nouveaux espaces d'études et donner naissance à plusieurs idées dans le domaine de la biotechnologie.

Référence

A

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., Turgeon H. (2002) : Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In Vignola C.L, Science et technologie du lait –Transformation du lait. Ed. *École polytechnique de Montréal*, Québec. 1-73.

ARNASON J.T. et DORAIS M. (2001), Influence de la culture hydroponique de quelques plantes médicinales sur la croissance et la concentration en composés secondaires des organes végétaux. Act. coll. de Sainte-Foy (Québec).

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

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

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

B

BADREAU F (2009) les huiles essentielles : découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale . ED. fernand Lenore. 315p.

Bahorun T. (1997) – Substances naturelles actives: la flore Mauricienne. Une source D'approvisionnement potential. Food and Agricultural Research Council, Redurt, Mauritid, 83-94.

BAKKALI F., AVERBECK, D; &IDAOMAR, M. (2008) :biological effects of essential oils a review .food and chemical toxicology .475p.

BARDEAU. F 1976 : la médecine par les fleurs éditeur R Laffont, paris .335P

BECKER, L., BENDOUMA, M., BOMMART, A., BOUSQUIERE, J., DANZEAU, A., GERVAIS, C., HIERNAUX, M., MAISON, M., MATHIEU, R., NAJOLITANO, L., OBADIA, E., PALERNO, A., THOLLET, M .,(2008).les additifs alimentaire le meilleur et le prie.1-23P

BENAZZEDDINE S., 2010 : Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis-à -vis de *Sitophilus oryzae* (Coleoptera ; Curculionidae) et *Tribolium confusum* (Coleoptera; Tenebrionidae) Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach Algérie - Ingénieur d'état en sciences agronomiques.

- BENETEAUD E.** 2011 : les techniques d'extraction .Ed comité française du parfum .PP 1,7
- BERNADET M. (2000).** Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles, Editions D'angles.
- Bernath, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M., & Gaset, A. (1991).** « Extraction des huiles essentielles : chimie et technologie. Information chimie, pp. 179-184 ».
- Besombes, colette,** 2008, contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques ; thèse doctorat université de rochelle.
- Boira H. et Blanquer A,** 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. *Biochemical Systematic and Ecology*, 26:811-822.
- BOULARD B ;** 2001 Plantes médicinales du monde ; réalité et croyances. Edition E stem, paris .p177 -178
- Bourgeois, I. (2007).**Le grand livre des plantes aromatiques. Rustica éditions, 191p, Paris
- Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger.128p.
- Boutekdjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., & Bessiere, J. M. (2003).** « Extraction of Rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481-484».
- Bruneton, J.** 1999. Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2eme édition. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 915 p.
- Bruneton J.** (1999) – Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales. 3éditions Lavoisier Tec. Et Doc. 1120p.
- ## C
- CAMEFORT H.** (1977) – Morphologie des végétaux vasculaires. Cytologie. Anatomie. Adaptation. Doin, Éditeurs (Paris) 2è ed.
- CHAUMONT ET MILLET –CHERC(2011)** phyto-aromathérapie appliquée à la dermatologie .Lavoisier ,263P
- Chemat, F., Tomao, V. et Virot, M.,(2008) :** Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In *Handbook of Food Analysis Instruments* by Semith ötles. Boca Raton, Florida, USA : CRC Press 85 – 103.
- COURTIAL, S** (2005) : précis d'aromathérapie vétérinaire à l'usage des pharmaciens

d'officine .thèse de doctorat. Université de Nants .France .167P

CROTEAU .R, KUTCHAN.T.M, et LWIS.N.G, (2000) natural products (secondary metabolites) in **BUCHANAY B, GRUISSEM. W .JONES R** (Eds) biochemistry and molecular biology of plants. Americans society of plants physiologist.1250, 1268

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

D

Duraffourd C., et Lapraz J.C., 2002 : Traité de phytothérapie clinique, médecine et endobiogénie, édition Masson, Paris, 827p.

E

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

F

Fellah, S., Romdhane, M., & Abderraba, M. (2006). « Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis*. cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie. Journal-Société Algérienne De Chimie, 16(2), 193».

FILLATRE, Y. (2011) produits phytosanitaires développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem .thèse de doctorat université d'Angers .France .266P

FLUCK H. (1963), chemical plant taxonomy, London Swain Academic.

FLUCK, HANS (1988). Medicinal Plants. W.Foulsham & Co. Ltd. ISBN 0-572-00996-8

Conservation des huiles

FOUCHE J.G., Marquet A. et Hambuckers A. (2000) – Les plantes médicinales. De la plante au médicament. Exposition temporaire. Observatoire du monde des plantes.

FRANCHOMME P .ET PENOL D. (1990) matière médical aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième l'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .R.JOLLOIS Edit .Limoge ,446P

G

Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. et Rasooli I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis*

essential oils. Food Chem, 102, 898-904.

GARNEAU F.-X. (2004) – Le matériel végétal et les huiles essentielles. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 1-16.

GARNERO J., 1985 : Abrégé de phytochimie, Edition Masson, Paris, 217p.

GARNIER G, BEGENDER BEUQUESE L.DEBRAUX G, 1961 Ressources médicinales de la flore française .Ed .Vigot Frères .tome II Paris

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

Goetz, P., Ghedira, K. (2012).Propriété phytothérapies anti-infectieuse. Springer verlag France, 364-366.

GUBA R. (2001). Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic Potential. International Journal of Aromatherapy

GUIGNARD J. - L, Cosson L. et HenryM. (1985) – Abrégé de phytochimie. Ed. Masson 25-29p. Paris.

GUINOCHET M. (1973) phytosociologie .Paris .Masson Ed .227P.

H

HEINRICH, M., KUFER, J., LCONTI, M., Prado de Santayana, M. (2006).Ethnobotany and ethnopharmacology, 107(2) ,157 -160

HELLAL, Z (2011):contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et anti oxydantes de certaines huiles essentielles extraites de citrus .application sur la sardine, thèse de magister, université de Tizi-Ouzou.Algerie.78P

HUSNU CAN BASER ET GERHARD BUCHBAUER, Handbook of essential Oils: science, technology and applications, CRC Press, 2010, p 121.

J

JACQUEMOND C., AGOSTIANI D., ET GURK F, 2010 BIHA. Bureau d'ingénieur en horticulture et agro-alimentaire, Alger, 101P.

K

KALOUSTIAN J. ET HADJI-MINAGLOU F., 2013 : la connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie : Entre science et tradition pour une application

médicale raisonnée. Ed. Springer Science et Business. 226p.

KARIM P., LEONHART S., ANGERS P., GOSSELINA ., RAMPUTH H., ARNISON J. T. ET DORAIS M (2001) influence de la culture hydroponique

KARINE P., LEONHART S., ANGERS P., GOSSELIN A., RAMPUTH A., FRANCHOMME P. et PENOEL D. (1990), Matière médicale aromatique fondamentale (317-406), livre quatrième, l'aromathérapie exactement, encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. R.Jollois Edit., Limoge, 446p.

L

Lacroix, M Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., et. (2007) : Mechanism of action of spanish oregano, cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Esherichia coli* O157 :H7 and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 69, 5. 1046-1055.

LAMARTI A., Badoc A., Deffileux G., et Carde J.-P. (1994) – Biogénèse des mono terpènes localisation et sécrétion. *Bull.Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: 69-78

LAMENDIN H ; TOSCAN G. ; REQUIRAND P. ; 2004 phytothérapie et aromathérapie buccodentaires Buccodental phytotherapy and aromatherapy EMC ; dentisterie 1 ,179-192

LAGUNEZ RIVERA L., 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse. 331p.

M

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

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

MATHLOUTHI N., BOUZAIËNNE T., OUESLATI I., RECOQUILLAY F., HAMDI M. et BERGAOUI R., 2009 : Effet de deux préparations d'huiles essentielles sur la croissance des bactéries *in vitro* et les performances du poulet de chair. Tunisie. 2016p-2020p.

MANYER, D (2004) Eco-extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaire en une d'une application comme agents antioxydants et antimicrobien .thèse de doctorat d'Avignon Et de pays Vaucluse .France ,142P

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

N

NTEZURUBANZA L. (2000), Les huiles essentielles du Rwanda, Lasève, Univ. Québec à Chicoutimi, Canada.

P

PALA-PAUL J., PEREZ-ALONSO M.J., VELASCO-NEGUERUEL A., PALA-PAUL R., SANZ J., AND CONEJERO F, 2001. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L.ssp *rosmarinifolia*. *Biochemical Systematic and Ecology*, 29: 663-672.

PARIS M. ET HURABIELLE M. (1981) – Abrégé de Matière Médicale (pharmacognosie) Tome 1. Ed. Masson p. 339

Perrot E.(1971).Matières premières usuelles du règne végétal.Masson&Cie.Tome 2. Paris .

POCHER, M.H.H (2007) M.M.P.N.D sorting *rosmarinus* names

R

RAMAD F., (1984), *Eléments d'écologie : écologie fondamentale*. MC GRAW-H 111, 37p

RDEAU F. (1976), *La médecine par les fleurs*. Laffont éd. p100-120

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

ROMBI, ROBERT, D (2007).120 plantes médicinales: composition, mode d'action et intérêt thérapeutique .Alpen, , France,527P .

ROUX D., CARTIER O., 2007 : *Cahier du préparateur en pharmacie, botanique, pharmacognosie, et phytothérapie*, Tome 3, Edit Wolters Kluwer, Paris, 141p

S

SAGUIN.E. (2001) *le préparateur en pharmacie botanique .pharmacognosie phytothérapie, homeopathie*. Ed ; Tec et Doc, 146P

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

SELL Y, BENAZRAC ; GUERINB ; 2002 *plantes et réaction cutanées*. Edition john libbery erotext ; France, p 126

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

SMALL E. et CATLING P.M. (2000), les cultures médicinales canadiennes, version française de Canadian medicinal corps, les presses scientifiques du CNRC, Ottawa,281p.

T

Talbi1, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi4, J., Hilali. (2015). A Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Mater. Environ. Sci.* 6 (4) 1111-1117.

TEISSEIRE P.J. Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France. 1991.

TEUSCHER.E. ROBERT, A., ANNEELISE, L. (2005).1000 plantes aromatiques, Ed .Lavoisier .Tech &DOC, Paris,522 p.

V

VALNET, J (1986). The Practice of Aromatherapy. C.W.Daniel Co. Ltd. ISBN 0-85207-143-4

W

WILSON ET GUYLAINE ,2008 fleurs comestibles du jardin à la table. Ed Fides

Y

YAYI E., JOACHIN D. GBENOU, LEON A. AHOUSI, MOUDACHIROU M. ET JEAN CLAUDE CHALCHAT. C. R, 2004. *Chimie* 7. 1013–1018.

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

ANNEXE I

1- Le matériel utilisé lors de l'expérimentation :

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

2- Verrerie

- Tubes à essai en verre. - Réfrigérant .
- Flacons. - Ecouvillon stérile.
- Béchers. - Pipette pasteur.
- Ballon.
- Anse de platine stérile. - Fioles.
- Burette
- Entonnoir. - Ampoule à décanter.
- Erlenmeyer. - Pipettes graduées.

3-produits chimiques utilisés :

- Eau distillée
- Ether di-éthylique
- Solution de potasse 0.1 N
- Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium
- Phénophtaléine
- Acide chlorhydrique
- KOH
- Sulfate de Sodium Anhydride (Na_2SO_4)
- Ethanol

Annexe II

Les appareils utilisés



Le montage d'hydrodistillation



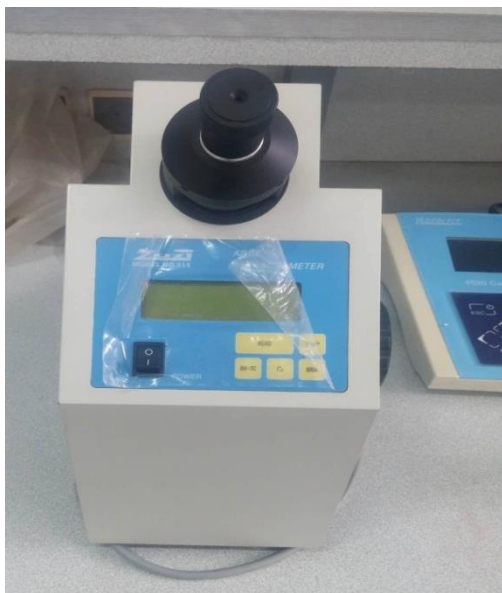
Rotavapeur



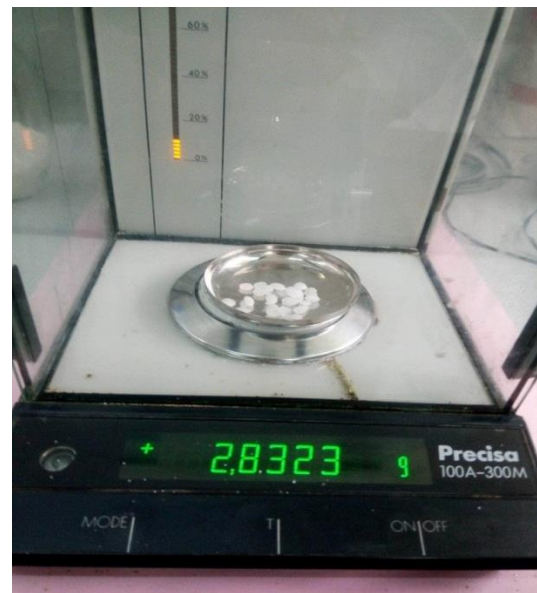
Chromatographe en phase gazeuse (CPG)



Etuve



Réfractomètre



Balance de précision

Annexe III

Préparation des échantillons des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* L.



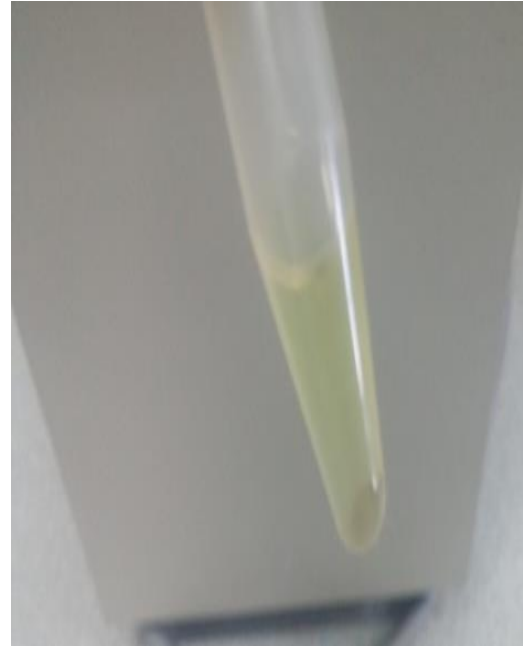
Entraînement par la vapeur de la matière végétale



Décantation



Le distillat obtenu



L'huile essentielle obtenue après décantation



Séparation liquide-liquide

Annexe IV

➤ Détermination de l'indice d'acide



La solution à neutraliser



neutralisation avec l'hydroxyde de potassium



L'apparition de la coloration rose persistante

➤ **Détermination de l'indice d'ester**



L'hydrolyse des esters par chauffage



Le titrage de l'excès d'hydroxyde de Potassium avec l'acide chlorhydrique



L'apparition de la coloration jaune persistante



La solution titrée

Tableau II – Température moyennes mensuelles des maxima et des minima de l’année 2017 à Blida exprimées en degrés Celsius (° C)

mois	Température sous arbis en C°		
	Moyenne de T° Maxima	Moyenne de T° Minima	Moyenne de T°C (M +m /2)
Janvier	15,39	3,05	9,22
Février	20,55	8,46	14,51
Mars	23,07	10,38	16,73
Avril	24,24	13,14	18,69
Mai	28,62	15,62	22,12
Juin	33,08	19,19	26,14
Juillet	35,10	20,12	27,61
Aout	35,67	21,97	28,82
Septembre	30,11	16,20	23,16
Octobre	26,36	11,48	18,92
Novembre	19,71	5,81	12,76
Décombre	16,03	5,33	10,68
Moyenne	25,66	12,56	19,11

Tableau III : Précipitations mensuelles (P) à Blida en 2017, exprimées en mm, (I.T.A.F, 2017)

Mois	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Total
P (mm)	314,3	21,7	49,8	13	6,5	4	0,1	6,6	40	23,40	77,60	150,90	393,6

Tableau V – Température moyennes mensuelles des maxima et des minima de 2017 à Cherchell exprimées en degrés Celsius (° C).

mois	Température sous arbis en C°		
	Moyenne de T° Maxima	Moyenne de T° Minima	Moyenne de T°C (M +m /2)
Janvier	24	4	14,3
Février	33	5	12,7
Mars	33	5	12,8
Avril	15	5	16
Mai	30	5	18,6
Juin	39	14	23,2
Juillet	39	16	26,3
Aout	39	17	25,9
Septembre	39	16	24
Octobre	35	12	22
Novembre	25	7	15,3
Décombre	19	5	12,7

Tableau VI : précipitations mensuelles (P) à Cherchell en 2017, exprimées en mm (I.T.A.F, 2017).

Mois	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Moyenne de P
P (mm)	89,1	131,8	77,6	69,7	17,4	0,3	8,9	0	5,3	2,8	66	184	652,9