



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme de

### MASTER

Domaine : sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

### THEME

---

*Etude sur l'effet antimicrobien et antioxydante des  
Différents extraits de romarin  
« Rosmarinus officinalis L »*

---

Réalisé par :

- **KHELIFI Fatima**
- **TOUTAOUI Douaaa**

Soutenu le 09/07/2024 devant le jury composé de :

Présidente	Dr.Nabti. D	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)
Promotrice	Dr. Bensehaila. S	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)
Co-promotrice	Dr. Zaouadi. N	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)
Examinatrice	Dr. Mostfa Sari. F	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)
Incubateur	DR. Feraoun. M	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)
Représentation du CATI	Dr. Kerraci.	MCA	(U.D.B Khemis Miliana)

## ***REMERCIENEMENT***

Tout d'abord Nous souhaitons tout d'abord exprimer notre gratitude infinie à **Allah** Tout-Puissant pour nous avoir accordé la santé, la force et la sagesse nécessaires pour mener à bien ce projet de fin d'études.

Nous tenons également à remercier chaleureusement notre promotrice, Mme Bensehaila Sarra, Maître de conférences A à L'université de Khemis Miliana Djilali Bounaama, pour sa précieuse guidance, ses conseils avisés et son soutien constant. Son expertise et sa disponibilité ont été des atouts inestimables pour mener à bien ce travail. Sa confiance en nos capacités nous a motivés à donner le meilleur de nous-mêmes.

Nous tenons aussi à remercier le Dr Zaouadi notre Co-promotrice pour sa guidance.

Nous tenons aussi à remercier le Dr Nabti, d'avoir accepté d'honorer la présidence du jury.

Un grand remerciement au Dr Mostfa Sari pour avoir bien voulu examiner ce travail et être Membre de jury.

Nous remercions Dr. Feraoune , Dr Kerraci et les membres de l'incubateur.

Enfin, nous remercions tous ceux et celles qui nous encouragent dans nos études de puis le Primaire jusqu'à la dernière année universitaire.



## *Dédicace*

*Tout d'abord , je remercie le Dieu , notre créateur qui guide chacun de mes pas , de m'avoir donné la force , la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.*

### *Je dédie ce travail*

*A ma mère , mon roc, ma lumière et mon inspiration, à celle qui m'a donné la vie, qui m'a enseigné la valeur du travail acharné et de la persévérance, Dans chaque ligne de ce travail, je veux graver l'empreinte de ta présence bienveillante et de ton soutien indéfectible. je veux te dire merci, du plus profond de mon cœur.*

*À mon cher père, source de sagesse, de force et d'amour, je le remercie énormément pour ses efforts , ses conseils et sa surveillance , tu es mon modèle, mon guide et mon héros.*

*À mon cher frère, compagnon de route et ami fidèle "Imad", Tu as toujours été là pour moi , je veux te dire merci pour tout ce que tu es et tout ce que tu as fait pour moi. Tu es un cadeau précieux dans ma vie, et je suis reconnaissante de t'avoir comme frère.*

*À mes sœurs , " Maria " "Rohaissa" et "Safia", votre présence et votre soutien ont été un pilier sur lequel je me suis appuyée avec confiance.*

*À mes précieux amis, "Asma" et "Fatima" qui ont partagé mes joies et mes peines, qui ont égayé les moments de travail acharné et qui ont célébré avec moi chaque petite victoire. Votre amitié a enrichi cette expérience et lui a donné une dimension spéciale.*

*À mon meilleur persson , Pour ta bienveillance, ton soutien indéfectible et ton amitié précieuse, Ta générosité et ta sagesse sont des trésors inestimables . Tu es une source constante d'inspiration et de joie dans ma vie. Merci d'être cette personne exceptionnelle dans ma vie*

*Enfin, à moi-même, pour avoir persévéré, pour avoir surmonté les obstacles et pour avoir atteint cette étape significative dans mon parcours éducatif.*

***"Fatima "***



## *Dédicace*

*À ma mère et mon père,*

*Ce mémoire est le fruit de nombreuses années d'efforts et de persévérance, et je ne serais pas arrivée jusqu'ici sans votre amour inconditionnel et votre soutien constant. Depuis mon plus jeune âge, vous avez toujours cru en moi et m'avez encouragé(e) à poursuivre mes rêves. Vos sacrifices pour m'offrir une éducation de qualité et vos conseils avisés m'ont permis de surmonter les obstacles rencontrés en chemin.*

*Maman, tu as été mon modèle de force et de résilience. Tu m'as appris l'importance du travail acharné et de la détermination. Papa, ton calme et ta sagesse m'ont toujours aidée à garder les pieds sur terre et à rester concentrée sur mes objectifs. Vous m'avez montré l'importance de la famille et des valeurs qui me guident aujourd'hui. Votre amour et votre soutien m'ont été indispensables pour atteindre ce jalon important de ma vie académique.*

*À mes frères,*

*Grandir avec vous a été une aventure incroyable, remplie de souvenirs joyeux et de moments de complicité. Votre présence m'a toujours apporté réconfort et motivation, surtout dans les moments de doute. Vos encouragements et vos conseils ont été des sources inestimables de soutien tout au long de mes études. Merci pour votre compréhension et pour les moments où vous avez su me redonner le sourire quand le stress des études devenait trop lourd. Vous avez toujours été là pour me rappeler que, même dans les moments les plus difficiles, je pouvais compter sur ma famille. Nos discussions et nos rires m'ont permis de décompresser et de garder une perspective équilibrée sur la vie.*

*À mon mari,*

*Ton amour, ta patience et ton soutien ont été essentiels tout au long de cette période exigeante. Merci d'avoir été mon partenaire, mon confident et mon plus grand supporter. Ta capacité à me motiver et à croire en moi, même quand je doutais de mes propres capacités, a été une source inestimable de force. Ta présence constante et ton écoute bienveillante m'ont aidée à traverser les moments les plus difficiles de cette aventure académique.*

*Merci pour les innombrables heures que tu as passées à m'écouter parler de mes recherches, pour les encouragements constants et pour avoir supporté mes absences et mes moments de stress. Ton amour et ton soutien ont rendu cette réalisation possible, et je suis profondément reconnaissante de t'avoir à mes côtés.*

*« Douaaa »*

## Table des matières

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Résumé

Introduction Générale

### Partie Bibliographique

#### Chapitre I : Généralités sur *Rosmarinus officinalis* L

I.1 .Les plantes aromatiques et médicinales .....	1
I. 1.1.Définition .....	1
I.1.2.Intérêts et utilisation .....	1
I.1.3.Importance économique.....	2
I.2. Le romarin ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L).....	3
I.2.1.Historique .....	3
I.2.1. Définition et description .....	3
I.2.2. Origine du nom ( <i>Rosmarinus officinalis</i> L) .....	4
I.2.3.classification.....	4
I.2.4.distrubition géographique .....	5
I.2.5.Récolte .....	5
I.2.6.Ecologie .....	5
I.2.7.Discription Botanique .....	6
a) Appareil végétatif .....	6
b) Appareil reproducteur : .....	6
I .2.8. Usages.....	7

_Parfumerie : .....	7
_Usage alimentaire : .....	8

## **Chapitre II : Les huiles essentielles**

II .1. Historique .....	9
II .2.Définition .....	9
II .3.Localisation des Huiles essentielles dans la plante .....	10
II .4. Caractérisation des huiles essentielles .....	10
II .5. La composition chimique des huiles essentielles .....	11
II .5.1.Composés terpéniques.....	11
Monoterpènes.....	11
Sesquiterpènes.....	11
II .5.2.Composés aromatiques dérivés du phénylpropane .....	12
II .6.Méthodes d'extraction des Huiles Essentielles .....	13
II .6.1.Méthodes traditionnelles .....	13
Expression à froid.....	13
Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	13
Extraction par distillation.....	14
Extraction par solvant.....	14
Enfleurage .....	14
II .6.2. Méthodes modernes .....	15
Extraction assistée par micro-ondes .....	15
Extraction avec des gaz supercritiques .....	15
Extraction assistée par ultrasons (EAU) .....	15
II .7.Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles.....	16
II .8.Toxicité de l'huile essentielles .....	16
II .9. Conservation des huiles essentielles .....	16
II .10. Les propriétés des huiles essentielles.....	16

II .10.1. Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques .....	17
II .10.2. Propriétés antivirals.....	17
II .10.3. Propriétés anti-inflammatoires.....	17
II .10.4. Propriétés antiparasitaires.....	17
II .10.5. Propriétés cicatrisantes .....	18

### **Chapitre III : Les métabolites secondaires de la plante**

III . Les composés phénoliques.....	19
III .1. Polyphénols .....	19
III .2. Les classes de composés phénoliques .....	19
III .2.1. Les phénols et acide _ phénols .....	19
III .2.1.1. Définition.....	19
III .2.1.2. Activité biologique .....	19
III .2.2. Les tanins.....	20
III .2.2.1. Définition.....	20
III .2.2.2. Activités biologiques .....	20
III .2.3. Les flavonoïdes .....	20
III .2.3.1. Définition.....	20
III .2.3.2. Activités biologiques .....	21
III .2.4. Les saponines.....	21
III .2.4.1. Définition.....	21
III .2.4.2. Activités biologiques .....	21
III .2.5. Les coumarines .....	22
III .2.5.1. Définition.....	22

III.2.5.2. Activités biologiques .....	22
III.2.6. Les quinones .....	22
III.2.6.1.Définition .....	22
III.2.6.2. Activités biologiques .....	23

## **Partie expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

IV. 1. Matériels et méthodes .....	24
IV.1.2. Échantillonnage .....	24
IV.1.2. Présentation de la région .....	24
IV.2.Méthodes d'étude: .....	25
IV.2.1.Récolte ET séchage .....	25
IV.2.2. Taux d'humidité :.....	25
IV.2.3. Extraction des Huiles Essentielles .....	26
IV.2.3.1.Rendement en Huiles Essentielles .....	27
IV.2.3.2Analyses qualitatives des huiles essentielles .....	27
IV.2.4. Préparation des extraits aqueux par décoction .....	28
IV.2.4.1.Détermination du rendement d'extraction.....	28
IV.2.5.Les tests phytochimiques .....	28
IV.2.5.1.Tests des saponosides:.....	28
IV.2.5.2.Test des Tanins: .....	29
IV.2.5.3.Test des flavonoïdes: .....	29
IV.2.5.4.Test des Quinones: .....	29
IV.2.5.5.Sucres réducteurs: .....	29
IV.2.6.Dosage des polyphénols .....	29

IV.2.7.Dosage des flavonoïdes.....	30
IV.2.8.Dosage des Tanins .....	30
IV.2.9. L'activité antioxydant .....	30
IV.2.9.1.Principe du test de DPPH .....	30
➤ Préparation de la solution de DPPH.....	31
➤ Mode opératoire : .....	31
➤ Calcul des IC50 : .....	32
IV.2.10. L'activité antimicrobienne .....	32
IV.2.10.1. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	33
Les milieux de culture utilisés .....	33
Conservation des souches : .....	33
Préparation des extraits.....	33
Évaluation du l'activité antibactérienne par la méthode des disques : .....	33
IV.2.10.2. Evaluation de l'activité antifongique : .....	34
Milieu de cultures utilisées : .....	34
Préparation de préculture : .....	34
Évaluation de l'activité antifongique .....	34
IV.2.11.Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire).....	35
IV.2.11.1.Préparation de la suspension érythrocytaire .....	35
IV.2.11.2.Expression des résultats.....	36
IV.3. contrôle de qualité de la pommade .....	37
IV.3.1.les analyses physicochimiques ET qualitatives .....	37
<u>A</u> .Test d'homogénéité.....	37
<u>B</u> .Test de solubilité .....	37
<u>C</u> .Mesure de la valeur du pH.....	37
<u>D</u> .Mesure de la teneur en eau .....	37
<u>E</u> .Teneur en cendre .....	38
IV.3.2.Contrôle de qualité Microbiologique .....	38

➤ Echantillonnage .....	38
➤ Mode opératoire (Ph, Eur, 2.6.12) .....	38
IV.3.4. Tests cliniques .....	39

## **Résultats et Discussion**

V .1.Taux d'humidité : .....	41
V .2.Les huiles essentielles .....	42
V .2.1.Rendement en Huiles Essentielles .....	42
V .2.2.Résultats des analyses qualitatives des huiles essentielles .....	42
V .3.Rendement du l'extrait aqueux.....	44
V .4.Les tests phytochimiques .....	44
V .5.Dosage des polyphénols.....	46
V .6.Dosage des flavonoïdes.....	46
V .7.Dosage des Tanins .....	48
V .8.L'activité antioxydant .....	48
V .8.1.Calcul des IC50.....	50
V .9.L'activité antimicrobienne .....	51
V .9.1.L'activité antibactérienne .....	51
➤ Avec l'huile essentielle : .....	52
➤ Avec l'extrait aqueux de romarin : .....	53
V .9.2.L'activité antifongique .....	54
V .10.Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire).....	55
V .11.Les résultats de contrôle de qualité de la pommade .....	56
V .11.1.Les analyses physicochimiques ET qualitatives de la pommade formulée.....	56
<u>A</u> .Couleur et odeur .....	56
<u>B</u> .Homogénéité.....	56

_ C. Teste de solubilité .....	56
_ D. Consistance.....	56
_ E. Mesure de pH.....	56
_ F. Teneur en eau .....	57
_ G. Teneur en cendres .....	57
_ H. Stabilité.....	57
V .11.2. Contrôle qualité Microbiologique .....	57
V .11.3. Résultats obtenus auprès de personnes souffrant de douleurs articulaires .....	58

## **CONCLUSION**

## **RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **ANNEXES**

## Liste des Abréviations

**AFNOR** : Association française de normalisation

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé

**HE** : Huile essentielle

**H** : Taux d'humidité (%)

**GC-MS** : chromatographie en phase gazeuse couplé par spectrométrie de masse

**RdtHE** : Rendement en huile essentielle (%)

**EAG**: Equivalent

**DPPH**: 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl.

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**IZD** : diamètre de la zone d'inhibition de croissance

**EtOH** : éthanol

## Liste des Tableaux

<b>TABLEAU 1</b> : EXEMPLE DES PRINCIPALES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES PRODUITES ET CONSOMMEES EN ALGERIE, MODIFIE APRES ( <b>ILBERT ET AL., 2016</b> ). .....	2
<b>TABLEAU 2</b> : CLASSIFICATION DU <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L. SELON ( <b>GOETZ ET GHEDIRA, 2012</b> ).....	4
<b>TABLEAU 3</b> : LES GENRES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L ( <b>MONZIE, 2008</b> ) .....	5
<b>TABLEAU 4</b> : LES COORDONNEES GEOGRAPHIQUES .....	24
<b>TABLEAU 5</b> : LES CONDITIONS ANALYTIQUES DE CG-MS.....	27
<b>TABLEAU 6</b> :SENSIBILITE DES SOUCHES MICROBIENNES EN FONCTION DES ZONES D'INHIBITION. ( <b>MOUAS, BENREBIHA ET AL. 2017</b> ) .....	33
<b>TABLEAU 7</b> : LES DEFERENTS MILIEUX SPECIFIQUES DES GERMES TESTES .....	38
<b>TABLEAU 8</b> : TAUX D'HUMIDITE DES FEUILLES DU <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> .....	41
<b>TABLEAU 9</b> : RENDEMENT DES HE DE ROMARIN.....	42
<b>TABLEAU 10</b> : RESULTATS DES TESTS PHYTOCHIMIQUES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L.....	44
<b>TABLEAU 11</b> : SENSIBILITE DES SOUCHES MICROBIENNES TESTEES VIS A VIS LES DEUX EXTRAITS .....	51
<b>TABLEAU 12</b> : SENSIBILITE DE SOUCHE FONGIQUE TESTEE VIS A VIS LES DEUX EXTRAITS. ....	54
<b>TABLEAU 13</b> : RESULTATS DE TEST DE SOLUBILITE DE POMMADE.....	56
<b>Tableau 14</b> : résultats des analyses microbiologiques de la pommade .....	57

## Liste des Figures

<b>FIGURE 1: <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L (ORIGINALE)</b> .....	4
<b>FIGURE 2: LA FLEUR DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L</b> .....	6
<b>FIGURE 3 : LE FRUIT DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i></b> .....	7
<b>FIGURE 4: EXEMPLE DE STRUCTURE DE COMPOSES MONOTERPENIQUES (OUTALEB, 2010)</b> .....	11
<b>FIGURE 5: EXEMPLE DE STRUCTURE DE COMPOSES SESQUITERPENIQUES (OUTALEB,2010)</b> ....	12
<b>FIGURE 6 : EXEMPLE DE STRUCTURE DE COMPOSES AROMATIQUES (OUTALEB, 2010)</b> .....	12
FIGURE 7 : LOCALISATION DU SITE D'ETUDE « EL HASSANIA » .....	25
<b>FIGURE 8: LES FEUILLES DE ROMARIN SECHEES (ORIGINALE)</b> .....	25
<b>FIGURE 9: HYDRODISTILLATION (TYPE CLEVANGER) (ORIGINALE)</b> .....	26
<b>FIGURE 10: REACTION DE REDUCTION D'UN RADICAL DPPH EN PRESENCE D'UN ANTIOXYDANT (LAKEHAL, 2016)</b> .....	31
<b>FIGURE 11: PROTOCOLE DE STABILISATION MEMBRANAIRE (LABU ET AL., 2015)</b> . ....	36
FIGURE 12: TENEUR EN HUMIDITE ET EN MATIERE SECHE DE L'ECHANTILLON ANALYSE.....	41
FIGURE 13 : TENEUR EN POLYPHENOLS DE TOTAUX DE <i>R.OFFICINALIS</i> -L.....	46
FIGURE 14 : TENEUR EN FLAVONOÏDES TOTAUX DE <i>R.OFFICINALIS</i> -L .....	47
<b>FIGURE 15 : TENEUR EN TANINS DE <i>R.OFFICINALIS</i>-L</b> .....	48
FIGURE 16 : POURCENTAGE D'INHIBITION DU RADICAL LIBRE DE DPPH EN FONCTION DES CONCENTRATIONS DE HUILE ESSENTIELLE ET L'EXTRAIT AQUEUX .....	49
FIGURE 17 : LES VALEURS D'IC50.....	50
FIGURE 18: LES ZONES D'INHIBITION D'HE DE <i>R.OFFICINALIS</i> -L SUR LES SOUCHES MICROBIENNES TESTEES.....	52
FIGURE 19 : LES ZONES D'INHIBITION DE L'EXTRAIT AQUEUX DE <i>R.OFFICINALIS</i> -L SUR LES SOUCHES MICROBIENNES TESTEES. ....	53
FIGURE 20 : LES ZONES D'INHIBITION DE L'EXTRAIT AQUEUX ET HE DE <i>R.OFFICINALIS</i> -L SUR LA SOUCHE FONGIQUE. ....	54

## Résumé

Notre travail porte sur l'étude de l'activité biologique des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus officinalis* L. L'extraction des huiles essentielles de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* L., récoltés dans la région d'El Hassania, a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation. Le rendement en huile essentielle est de 0,6% et pour l'extrait aqueux de 16%. Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ont permis d'identifier les composés majoritaires dans le romarin : Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-triméthyl- (6,66%), Eucalyptol (7,58%), Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-triméthyl- (6,43%), et Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-triméthyl- (5,57%). L'étude du pouvoir antioxydant des huiles essentielles par la méthode du radical DPPH a montré une activité antioxydante moyenne, tandis que l'extrait aqueux a une forte activité. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et de l'extrait aqueux, testée sur trois bactéries et une souche fongique, a révélé que les huiles essentielles ont une activité modérément sensible sur toutes les souches testées, contrairement à l'extrait aqueux qui a une faible activité. De plus, l'activité anti-hémolytique des huiles essentielles a montré que celles de romarin ont un effet protecteur sur les globules rouges.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis* L, Huile essentielle, Activité antioxydant, Activité antimicrobienne, activité anti-hémolytique.

## Abstract

Our work focuses on the study of the biological activity of essential oils from the plant *Rosmarinus officinalis* L. The extraction of essential oils from the aerial part of *Rosmarinus officinalis* L., harvested in the El Hassania region, was carried out using the hydrodistillation method. The yield of essential oil is 0.6%, and for the aqueous extract, it is 16%. Analysis by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS) allowed the identification of the major compounds in rosemary: Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (6.66%), Eucalyptol (7.58%), Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (6.43%), and Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl- (5.57%). The study of the antioxidant capacity of the essential oils using the DPPH radical method showed a moderate antioxidant activity, while the aqueous extract exhibited strong activity. The antimicrobial activity of the essential oils and the aqueous extract, tested on three bacteria and one fungal strain, revealed that the essential oils had moderately sensitive activity on all tested strains, whereas the aqueous extract had low activity. Furthermore, the anti-hemolytic activity of the essential oils showed that rosemary oils have a protective effect on red blood cells.

**Keywords:** *Rosmarinus officinalis* L, Essential oil, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Anti-hemolytic activity.

## الملخص

يتركز عملنا على دراسة النشاط البيولوجي للزيوت الأساسية لنبات *Rosmarinus officinalis* L. تم استخراج الزيوت الأساسية من الجزء الجوي لنبات *Rosmarinus officinalis* L ، التي جُمعت من منطقة الحسنية، باستخدام طريقة التقطير المائي. كانت نسبة الزيوت الأساسية المستخرجة 0.6%، وللمستخلص المائي 16%. سمحت التحليلات بواسطة كروماتوغرافيا الغاز المزودة بمطياف الكتلة (CG/SM) بتحديد المكونات الرئيسية في الروزماري : (6.66%) 2,6,6-trimethyl-Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene، والأوكالينول (7.58%)، وBicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl- (6.43%) وBicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl- (5.57%). أظهرت دراسة قدرة الزيوت الأساسية على مضادات الأكسدة باستخدام طريقة الجذور الحرة DPPH وجود نشاط مضاد للأكسدة متوسط، بينما أظهر المستخلص المائي نشاطاً قوياً. أما النشاط المضاد للميكروبات للزيوت الأساسية والمستخلص المائي الذي تم اختباره على ثلاث بكتيريا و سلالة فطرية ، فقد أظهر أن الزيوت الأساسية تمتلك نشاطاً متوسط الحساسية على جميع السلالات المختبرة، في حين أن المستخلص المائي يمتلك نشاطاً ضعيفاً. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت دراسة النشاط المضاد لانحلال الدم أن الزيوت الأساسية للروزماري لها تأثير واقٍ على كريات الدم الحمراء.

**الكلمات المفتاحية:** الإكليل ، الزيت الأساسي، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للميكروبات، النشاط المضاد لانحلال الدم.

# *Introduction Générale*

### Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales et aromatiques ont été utilisées par l'homme. Aujourd'hui, leur usage a considérablement augmenté dans les secteurs des parfums, des produits cosmétiques et pharmaceutiques. Les plantes demeurent une source essentielle de substances actives, avec au moins 35 000 espèces exploitées à travers le monde. L'Algérie, grâce à sa variété de climats, de sols, sa position géographique et ses reliefs, abrite une flore de 3 510 espèces, dont 450 sont spécifiquement identifiées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (Mous *et al.*, 2017). Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), environ 65 à 80 % de la population mondiale dans les pays en développement dépend essentiellement des plantes pour leurs soins de santé primaires en raison de la pauvreté et du manque d'accès à la médecine moderne (Mesfin *et al.*, 2013).

Les activités antimicrobiennes des épices, des herbes et des huiles essentielles sont bien connues depuis longtemps. De nombreuses études ont rapporté les activités des épices, des herbes ou des huiles essentielles contre les bactéries pathogènes d'origine alimentaire (Yano *et al.*, 2006).

Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) appartient à la famille des Lamiaceae (Labiatae). C'est une plante aromatique bien connue utilisée dans le monde entier pour diverses fins médicinales. Des recherches récentes ont montré que les extraits de romarin possèdent une variété d'activités pharmacologiques, telles que des propriétés antioxydants, antimicrobiennes, améliorant la cognition, de prévention du cancer, antidiabétiques, protectrices de l'ADN, cholérétiques, hépato protectrices, stimulantes et légèrement analgésiques. Le romarin est considéré comme l'une des herbes les plus efficaces pour traiter les maux de tête, la mauvaise circulation, les maladies inflammatoires, ainsi que les troubles physiques et mentaux (Bilto *et al.*, 2015).

Notre étude comporte deux parties principales. La première partie est consacrée à la synthèse bibliographique, et elle est divisée en trois chapitres :

- Le premier chapitre présente des généralités et une étude botanique sur la plante de romarin.
- Le deuxième chapitre est consacré aux huiles essentielles.
- Le troisième chapitre étudie principalement les composés phénoliques

## Introduction générale

---

La deuxième partie de cette étude est une étude expérimentale et se divise en deux parties.

- Le quatrième chapitre décrit les méthodes d'extraction des huiles essentielles et des extraits aqueux des plantes étudiées, ainsi que les taux d'humidité, les rendements, les tests phytochimiques, les quantités de polyphénols, de flavonoïdes et de tanins. Ce chapitre comprend également l'évaluation des activités antioxydante, antifongiques et antimicrobiennes, l'activité anti-hémolytique
- Le cinquième chapitre est consacré aux résultats obtenus dans notre

Enfin, des conclusions générales sur notre étude seront présentées.

- L'objectif de notre étude est consacré sur élaboration d'une pommade anti douleurs à base d'huile essentielle de (*Rosmarinus officinalis* L.)

*Partie*  
*Bibliographique*

***I. Généralités sur  
Rosmarinus officinalis L***

## I.1 .Les plantes aromatiques et médicinales

### I. 1.1.Définition

Selon l'Organisation mondiale de la santé l'OMS, "**une plante médicinale** est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémi-synthèse». Ces plantes définies autrement, sont des végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, écorces, racines (**Neffati et Sghaier, 2014**). Parmi les espèces végétales, seulement environ 10% sont considérées comme « aromatiques ». Cependant, la capacité à accumuler des huiles essentielles (HE) est une caractéristique présente chez certaines familles de plantes réparties dans l'ensemble du règne végétal. Les familles les plus significatives comprennent les dicotylédones telles que les Apiaceae, Asteraceae, Geraniaceae, Illiciaceae, Lamiaceae et Lauraceae. Les huiles essentielles sont des sécrétions naturelles produites par les plantes et contenues dans diverses parties telles que les fleurs, les sommités fleuries, les feuilles, les écorces, les racines, les fruits, les bulbes, les rhizomes ou les graines (**Boukhatem et al., 2019**). L'Algérie avec sa diversité de climats et de sols, sa situation géographique et ses reliefs, présente une flore de 3 510 espèces dont 450 espèces sont répertoriées dans les hauts plateaux et le grand sud du pays (**Mouas et al., 2017**).

### I.1.2.Intérêts et utilisation

Pendant longtemps, les plantes ont joué un rôle très important dans la vie quotidienne de l'homme. Les médicaments à base de plantes ont traditionnellement été utilisés en raison de plusieurs avantages : ils sont abordables et facilement accessibles, et il n'existe aucune preuve de résistance aux extraits de plantes entières ou de leur efficacité (**Kachmar et al., 2021**). Les populations rurales et urbaines en Afrique considèrent les plantes médicinales comme des ressources inestimables, constituant ainsi le principal moyen d'auto soins (**Kouider et al., 2019**). Les plantes médicinales renferment des composés actifs capables de prévenir, soulager ou guérir diverses maladies. On estime que près de 25% de tous les médicaments modernes trouvent leurs origines, directement ou indirectement, dans les plantes médicinales, principalement grâce à l'application de technologies contemporaines aux savoirs traditionnels (**Ismaili et al., 2021**). Bien que la pharmacologie ait progressé, l'utilisation thérapeutique des plantes médicinales reste répandue dans certains pays, en particulier dans

les pays en développement (**Kouider et al., 2019**). La diversité des applications s'étend à plusieurs secteurs, notamment le domaine médical (pharmaceutique, allopathie, phytothérapie, homéopathie, aromathérapie), la cosmétique et les parfums, la chimie (détergents, colorants, vernis, feux d'artifice, etc.) et l'agroalimentaire (plantes pour infusions, épices, aromates secs, etc.), couvrant ainsi un large spectre d'industries (**Iibert et al., 2016**).

### I.1.3.Importance économique

Il demeure extrêmement complexe d'évaluer la quantité totale de plantes aromatiques et médicinales employées par les secteurs pharmaceutique, cosmétique, chimique et agroalimentaire. À l'échelle mondiale, le nombre de ces plantes utilisées par les industries pharmaceutiques, chimiques ou cosmétiques est estimé à plus de 35 000 selon les experts. Selon certaines sources, depuis l'année 2000, la demande mondiale pour les produits issus de ces filières connaît une croissance rapide, avec un taux annuel oscillant entre 10 et 20%. L'évaluation du marché mondial reste un défi en raison de sa complexité et de sa diversité. Cependant, une analyse approfondie d'une seule source de données internationales des Nations Unies (Comtrade), bien que limitée et partielle, offre une perspective comparative précieuse sur les structures d'importation et d'exportation de tous les pays, y compris l'Algérie et l'Albanie. La nomenclature de la base de données Comtrade concerne les "plantes et parties de plantes, quel que soit leur usage", et les séries de données sont systématiquement et régulièrement compilées depuis 1994 jusqu'à aujourd'hui, couvrant à la fois les importations et les exportations en volume et en valeur. En 2011, environ 33 stères de plantes aromatiques de diverses espèces telles que le romarin, le myrte, etc., ont été extraites en Algérie, comparativement à 735,5 stères en 2010 et 23 stères en 2009 (**Iibert et al., 2016**).

**Tableau 1** : exemple des principales plantes aromatiques et médicinales produites et consommées en Algérie, modifié après (**Iibert et al., 2016**).

Espèces	Noms scientifiques	Parties utilisées	Importance
<b>Fenugrec</b>	<i>Trigonella foenum groecum. L</i>	Graines	XXX
<b>Verveine</b>	<i>Verbena citriodora HB et K</i>	Feuilles	XXX
<b>Sabline</b>	<i>Arenaria rubra. L</i>	Plante entière	XXX
<b>Coriandre</b>	<i>Coriandrum Sativum. L</i>	Graines	XXX
<b>Romarin</b>	<i>Rosmarinus officinalis. L</i>	Sommités fleuries	XX
<b>Tyum</b>	<i>Thymus vulgaris</i>	Sommités fleuries	XX
<b>Sauge</b>	<i>Salvia officinalis L</i>	Sommités fleuries	XX
<b>Lavande</b>	<i>Lavandula officinalis L</i>	Fleurs	XX
<b>Noyer</b>	<i>Juglans regia L</i>	Feuilles et écorce	XX

## I.2. Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L)

### I.2.1. Historique

Selon la légende, le romarin était à l'origine d'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 le romarin fleurit bleu. Certains voient dans cette légende une autre Origine possible au nom Romarin à savoir « Rose de Marie » (l'appellation anglaise Étant d'ailleurs Rosemary) (Baghioul, 2019).

En effet, le romarin, reconnu pour ses qualités culinaires et son utilisation dans la cuisine méditerranéenne, est également une source de nectar pour les abeilles. Autrefois largement utilisé lors des cérémonies religieuses, le romarin était moins exploité pour ses vertus médicinales.

D'autre part, Les anciens Romains étaient familiers avec les propriétés extraordinaires du romarin. Vénéré comme une plante sacrée, il était réputé garantir aux défunts une existence sereine après la mort, repousser les forces maléfiques et apporter chance et bonheur aux vivants. Le romarin symbolisait l'amour inconditionnel, la prospérité, la fidélité et l'immortalité.

Au moyen Âge, Le romarin occupait une position privilégiée au sein de tous les parterres d'herbes médicinales et aromatiques des abbayes, particulièrement dans la région nord des Alpes, comme en atteste sa présence sur le plan du monastère de Saint-Gall en Suisse (Leplat, 2017).

### I.2.1. Définition et description

Le romarin *Rosmarinus officinalis* L. est une plante médicinale originaire du bassin méditerranéen qui pousse à l'état sauvage (Mouas et al., 2017) .c'est un arbrisseau de la famille des Lamiaceae (Lamiacées) (Monzie, 2008). Il détient des caractéristiques anti-inflammatoires et antispasmodiques, ainsi qu'une influence sur le système nerveux. Le romarin présente également d'excellentes propriétés antioxydante et antimicrobiennes (Mouas et al., 2017) . Le romarin est classé parmi les Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales

(PPAM) et est inclus dans la composition du mélange portant le label rouge "herbes de Provence "(Monzie, 2008)

### I.2.2. Origine du nom (*Rosmarinus officinalis* L)

Le Romarin, un arbuste, tire son nom du latin *ros*, signifiant rosée, et *marinus*, pour marin. Selon la légende, il ne pousse que dans les zones où la rosée marine se déploie au lever du jour (Leplat, 2017).

Selon (Goetz et Ghedira, 2012) :

**Nom vernaculaire:** La dénomination varie selon les régions :

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

**Anglais :** rosemary.

**Allemand :** Rosmarin.

**Espagnol :** romani, romero, rome, romero comun, rosmario.

**Italien :** osmarino, ramerino, rosmarino, usmarino.

**Arabe :** eklil, إكليل

### I.2.3.classification

Tableau 2 : classification du *Rosmarinus officinalis* L. Selon (Goetz et Ghedira, 2012)

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Sous-embranchement	<i>Magnoliophytina</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.



Figure 1: *Rosmarinus officinalis* L (originale)

**Tableau 3:** les genres de *Rosmarinus officinalis* L (Monzie, 2008)

Il existe 3 variétés de romarin :
<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ <i>Rosmarinus officinalis</i> ou romarin commun, de population, qui présente une grande variabilité</li> <li>✓ <i>Rosmarinus eriocalyx</i></li> <li>✓ <i>Rosmarinus eriocalyx</i> ssp. <i>Tomentosus</i></li> </ul>

### I.2.4. distribution géographique

Cette plante pousse naturellement en Afrique (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie), en Turquie, à Chypre, dans le nord de l'Europe, dans les pays de l'ex-Yougoslavie, en Grèce, en Italie, au Portugal, en Espagne et en France (Rasulov, 2023).

### I.2.5. Récolte

La première récolte peut être réalisée environ huit mois après la plantation, soit au début de la floraison, soit juste avant celle-ci. Durant la première année, deux récoltes sont possibles, tandis que les années suivantes permettent généralement d'effectuer de deux à quatre récoltes à des intervalles de 100 à 120 jours. Il est généralement recommandé de récolter les plantes jusqu'à ce qu'elles atteignent environ 50 % de floraison, car une récolte au-delà de 90 % de floraison n'est pas souhaitable.

Pour récolter du romarin, il suffit de couper les extrémités des branches selon les besoins, ce qui encouragera le développement de nouvelles pousses à partir de ces coupes (Dinesh).

### I.2.6. Ecologie

Le romarin peut prospérer même dans des environnements non adaptés à l'agriculture, montrant ainsi peu d'exigences en termes de sol. Il préfère généralement les sols argileux ou sablonneux, ainsi que des conditions sèches, chaudes, abritées du vent et ensoleillées pour maximiser la production d'huiles essentielles et la puissance des parfums. Les conditions optimales pour la culture du Romarin dans des zones non rustiques comprennent un sol bien drainé, calcaire et meuble, une exposition plein sud, des plants démarrés sans l'utilisation de fertilisants chimiques et provenant de sources de qualité (Leplat, 2017).

### I.2.7. Discription Botanique

Le romarin médicinal est un arbuste persistant pouvant atteindre 50 à 100 cm de hauteur (Rasulov, 2023).

#### a) Appareil végétatif

- **Feuille :**

La longueur des feuilles est de 4 cm, la largeur est de 0,3 cm, elles sont oblongues et en forme de crayon, sans bande ou avec une bande courte, et elles sont opposées sur la tige (Rasulov, 2023).

- **Tige :**

La tige est dressée, ramifiée, et les jeunes branches sont à quatre côtés (Rasulov, 2023).

- **Système racinaire :**

Le système racinaire se développe bien et pénètre dans le sol jusqu'à 3-4 mètres de profondeur (Rasulov, 2023).

#### b) Appareil reproducteur :

- **Fleur :**

Les fleurs sont normalement bleues, mais on peut trouver des cultivars avec des fleurs roses ou blanches (Dinesh).



Figure 2: la fleur de *Rosmarinus officinalis* L

- **Fruits**

Le fruit est rond et lisse, De forme de noix, de couleur brune. (Dinesh)



**Figure 3 :** le fruit de *Rosmarinus officinalis*

### **I .2.8. Usages**

Selon (Bousbia, 2011), Les différentes utilisations de romarin sont à noter.

#### **\_Usage médicinal (Phytothérapie) :**

Le romarin est utilisé pour divers traitements externes, notamment les entorses, foulures, contusions et torticolis. Son extrait alcoolique agit sur les ulcères, plaies et dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse est utilisée pour les angines et les aphtes, tandis que l'huile essentielle soulage les problèmes rhumatismaux, circulatoires, les maux de tête, améliore la mémoire, renforce les convalescents, combat le stress et traite les inflammations des voies respiratoires et ORL.

Il est utilisé comme stimulant, antispasmodique et cholagogue. Il est recommandé pour divers troubles digestifs, respiratoires et hépatiques, ainsi que pour les troubles menstruels et rénaux.

#### **\_Parfumerie :**

L'usage du romarin en parfumerie remonte à l'Antiquité. Il est un ingrédient essentiel dans la création de parfums, en particulier ceux destinés aux hommes, avec des notes hespéridés aromatiques (comme les eaux de Cologne), boisées et fougères aromatiques, ainsi que dans les formulations de pommades dermatologiques.

**\_Usage alimentaire :**

Le romarin est une source naturelle importante de composés antioxydants et est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour éviter la dégradation oxydative et microbienne des aliments. Il remplace souvent les additifs chimiques dans la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses et des salades, ainsi que dans les soupes et les chapelures. De plus, le romarin est utilisé comme épice dans les croustilles, les chips et les frites françaises.

## *II. Les Huiles Essentielles*

## II .1. Historique

Les premières investigations systématiques des constituants des huiles essentielles peuvent être attribuées au chimiste français M. J. Dumas (1800-1884), qui a analysé certains hydrocarbures, ainsi que des constituants contenant de l'oxygène, du soufre et de l'azote. Il a publié ses résultats en 1833. Le chercheur français M. Berthelot (1859) a caractérisé plusieurs substances naturelles et leurs produits de réarrangement par rotation (**Baser et al., 2009**). Le terme "huile essentielle" a été utilisé pour la première fois au XVI<sup>e</sup> siècle par Paracelsus von Hohenheim, qui désignait le composant efficace d'un médicament par le terme "Quinta essential (**Bassolé et al., 2012**). Les huiles essentielles semblent avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses débuts. Les Égyptiens, puis les Grecs et les Romains, ont utilisé diverses matières premières végétales et les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles, dans différents domaines tels que la parfumerie, la médecine, les rituels religieux, les coutumes païennes et même l'alimentation. Par exemple, chez les Romains et les Grecs, le romarin et le thym étaient associés comme emblème décoratif dans les pratiques culturelles et les célébrations des triomphes. En 812, les capitulaires de Charlemagne ont sélectionné 73 plantes qu'ils ont qualifiées de plantes utiles.

La période byzantine de la civilisation a jeté les bases de la distillation, tandis que l'ère arabe a vu l'huile essentielle devenir l'un des principaux produits de commercialisation internationale. Vers l'an mille, Avicenne, un philosophe, médecin et scientifique persan, a précisément défini le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie sont devenus les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques (**Besombes, 2008**).

## II .2.Définition

Une huile essentielle est un produit complexe qui peut être appréhendé de différentes manières : pour un chimiste, c'est un ensemble de molécules aux propriétés spécifiques ; pour un parfumeur, c'est un arôme distinctif ; et pour un alchimiste, c'est la quintessence ou l'esprit d'un végétal. En réalité, une huile essentielle est tout cela à la fois : un produit parfumé et volatil, composé de molécules sécrétées par certains arbres et plantes, lui conférant des propriétés olfactives uniques. Sa volatilité se manifeste par une évaporation rapide, d'où la nécessité de les conserver correctement pour préserver leurs principes (**Fekih, 2015**)

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'huiles volatiles, sont des mélanges complexes de constituants volatils biosynthétisés par les plantes. Biosynthétisés par les plantes, qui comprennent principalement deux groupes biosynthétiquement liés, Ces groupes principaux groupes comprennent les terpènes et les terpénoïdes, ainsi que les constituants aromatiques et aliphatiques, tous caractérisés par un faible poids moléculaire (**Bassolé et al., 2012**).

### II .3.Localisation des Huiles essentielles dans la plante

Les végétaux supérieurs abondent en huiles essentielles, lesquelles peuvent être conservées dans diverses parties telles que les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines.

Les huiles essentielles jouent un rôle crucial dans l'adaptation des plantes à leur environnement et dans leur mécanisme de défense. Fixées au sol, elles tirent parti des composés chimiques issus du métabolisme secondaire, soigneusement stockés là où ils sont le plus nécessaires, agissant comme une arme de dissuasion contre les parasites et les prédateurs. Les plantes qui renferment ces composés toxiques, appelés phagodéterrents ou inappétants, sont moins susceptibles d'être consommées (**Houël, 2011**).

### II .4. Caractérisation des huiles essentielles

Plusieurs variables peuvent altérer les extraits végétaux. Les huiles essentielles, en particulier, sont hautement susceptibles aux altérations car elles contiennent des composés oxydables sensibles à l'air et à la lumière. Ces composés peuvent se transformer en résine, ce qui altère leur odeur, leur saveur, ainsi que leurs propriétés physiques et chimiques, les rendant inadéquates pour leur utilisation prévue. La standardisation des huiles essentielles englobe :

- Les propriétés organoleptiques : odeur, couleur, aspect, saveur ;
- Les caractéristiques chimiques : indice d'acide et d'ester ;
- Le profil chromatographique et la quantification relative des différents constituants (**Taleb-Toudert, 2015**).

## II .5. La composition chimique des huiles essentielles

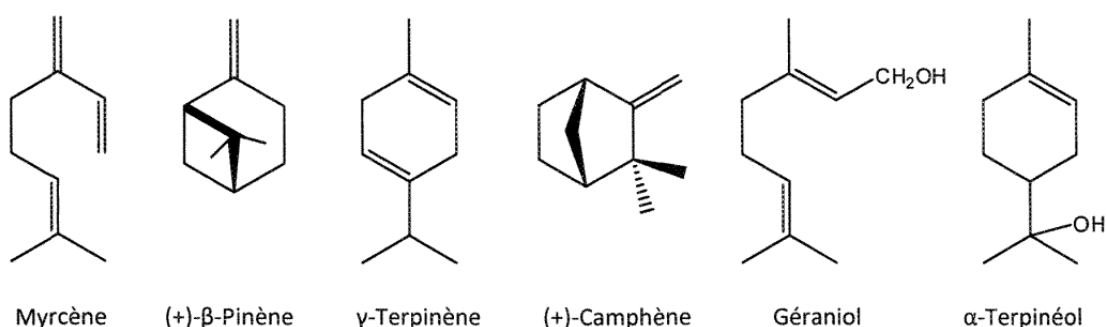
### II .5.1.Composés terpéniques

Seuls les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15 peuvent être extraits par distillation, les autres terpènes (diterpènes en C20 et triterpènes en C30) ne sont pas entraînés par la vapeur d'eau. Ils sont classés en fonction de :

- Leurs fonctions : alcools (comme le géraniol, le linalol), esters (comme l'acétate de linalyle), aldéhydes (comme le citral, le citronellal), cétones (comme la menthone, le camphre, la thuyone), éthers-oxydes (comme le cinéole)
- Leur structure : linéaire (comme le farnésène, le farnésol), monocyclique (comme l'humulène, le zingiberène), bicyclique (comme le cadinène, le caryophyllène, le chamazulène) ou tricyclique (comme le cubébol, le patchoulol, le viridiflorol (**Couic-Marinier et al., 2013**)).

#### ➤ Monoterpènes

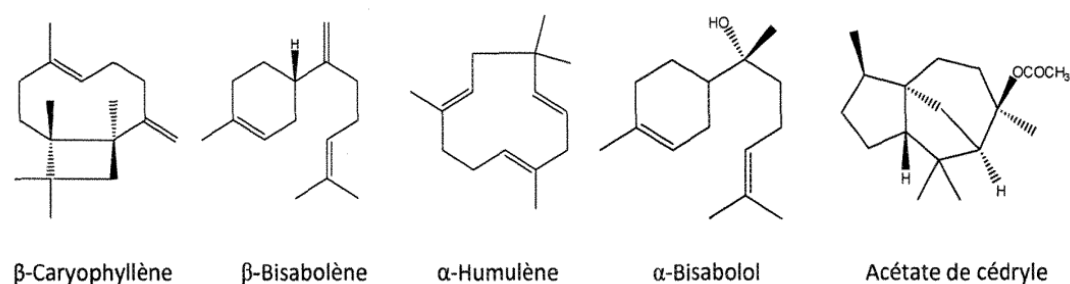
Les carbures sont presque toujours présents. Ils sont acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (citrus, térébenthine) (**Couderc, 2001**).



**Figure 4:** Exemple de structure de composés monoterpéniques (**Outaleb, 2010**)

#### ➤ Sesquiterpènes

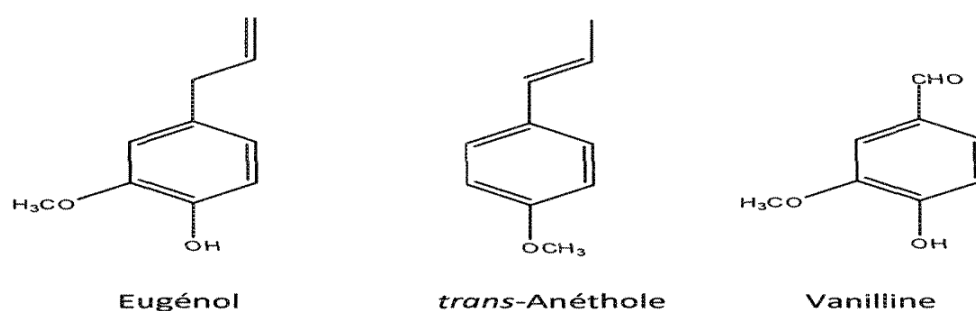
L'allongement de la chaîne (fpp) accroît le nombre de cyclisations possibles. Ainsi, plus d'une centaine de squelettes différents a été décrit (**Couderc,2001**).



**Figure 5:** Exemple de structure de composés sesquiterpéniques (Outaleb,2010)

## II .5.2.Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques issus du phénylpropane sont bien moins courants dans les huiles essentielles que les monoterpènes et les sesquiterpènes. Parmi eux, on peut citer l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique (présents dans l'huile essentielle de cannelle), l'eugénol (dans l'huile essentielle de clou de girofle), l'anéthole et l'aldéhyde ainsi que (dans les huiles essentielles d'anis étoilé, d'anis vert et de fenouil), ainsi que le safrole (dans l'huile essentielle de saffras). Les lactones dérivées des acides cinnamiques, telles que les coumarines, sont principalement entraînées par la vapeur d'eau et se retrouvent ainsi dans certaines huiles essentielles (Couic-Marinier et *al.*,2013).



**Figure 6 :** Exemple de structure de composés aromatiques (Outaleb, 2010)

## II .6.Méthodes d'extraction des Huiles Essentielles

### II .6.1.Méthodes traditionnelles

#### ➤ Expression à froid

La pression ou l'expression à froid est en effet le procédé le plus ancien pour obtenir des huiles essentielles (HE). Il était pratiqué bien avant que les humains ne découvrent le processus de distillation. Cette méthode présente l'avantage de générer peu ou pas de chaleur pendant le processus, mais elle donne des rendements relativement faibles. Elle est principalement utilisée pour isoler les huiles d'écorces d'agrumes en raison de la relative instabilité thermique des aldéhydes qu'elles contiennent.

La méthode de pression mécanique à froid est spécifiquement employée pour extraire les huiles essentielles des écorces d'agrumes. Elle consiste à briser les glandes sébacées par pression ou abrasion afin que l'huile soit éjectée, puis lavée avec un jet d'eau (**Reyes-Jurado et al., 2015**)

#### ➤ Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Il s'agit d'une des méthodes officielles pour obtenir des huiles essentielles. Dans ce processus d'extraction, le matériel végétal est exposé à un courant de vapeur sans pré-macération. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans un essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et le matériel végétal, ainsi qu'entre l'eau et les molécules aromatiques, permet d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation susceptibles de compromettre la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'huile essentielle obtenue est plus délicat, et la distillation, régulière et plus rapide, entraîne des notes de tête riches en esters.

Les fractions "de tête", constituées de fragrances très volatiles dues à des molécules légères, apparaissent en premier. Généralement, une demi-heure suffit pour collecter 95 % des molécules volatiles, répondant ainsi aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme c'est le cas pour la lavande. L'utilisation en aromathérapie nécessite de prolonger l'opération aussi longtemps que nécessaire pour récupérer tous les composants aromatiques volatils (**Boukhatem et al., 2019**).

### ➤ Extraction par distillation

La méthode traditionnelle d'extraction des composés volatils tels que les huiles essentielles (HE) à partir de matières végétales est la distillation. Lors de ce processus, les plantes odorantes sont exposées à de l'eau bouillante ou à de la vapeur, ce qui entraîne l'évaporation des huiles essentielles. La récupération des huiles essentielles est facilitée par la distillation de deux liquides non miscibles, à savoir l'eau et les huiles essentielles, selon le principe que, à la température d'ébullition, la pression de vapeur combinée est égale à la pression ambiante. Ainsi, les composants des huiles essentielles, qui ont des points d'ébullition normalement compris entre 100 et 300 °C, sont évaporés à une température proche de celle de l'eau. Le refroidissement indirect à l'aide d'eau permet de condenser le mélange de vapeur d'eau et d'huile. Le distillat est ensuite dirigé vers un séparateur où l'huile essentielle se sépare de l'eau (Reyes-Jurado et al., 2015).

### ➤ Extraction par solvant

L'extraction par solvant est une méthode utilisée pour extraire des huiles essentielles à partir de matières végétales, notamment des fleurs, qui sont thermiquement labiles. Dans ce processus, la matière végétale est immergée dans un bain de solvant qui la dissout. Après l'extraction, le mélange liquide contenant l'huile essentielle (avec d'autres composés) est filtré puis soumis à une distillation ultérieure. Les solvants couramment utilisés pour cette méthode comprennent l'alcool, l'hexane, l'éthanol, l'éther de pétrole et le méthanol (Stratakos et Koidis, 2016).

### ➤ Enfleurage

L'enfleurage est une technique d'extraction traditionnelle qui remonte à l'Antiquité. Principalement utilisée pour extraire les huiles essentielles des fleurs telles que le jasmin, elle implique l'utilisation d'une graisse froide, purifiée et inodore, qui est appliquée sur le matériel végétal, comme les fleurs. Les arômes sont libérés par les fleurs et se dissolvent dans la graisse. De nouvelles fleurs sont ensuite disposées pour remplacer les anciennes, et le processus se répète sur de longues périodes jusqu'à ce que la graisse soit saturée. Ensuite, la graisse est collectée et extraite à l'aide d'alcool. Cette méthode est considérée comme longue, laborieuse et coûteuse selon les normes actuelles. Elle semble ne pas avoir d'application dans l'industrie alimentaire et est aujourd'hui presque obsolète (Stratakos et Koidis, 2016).

## II.6.2. Méthodes modernes

### ➤ Extraction assistée par micro-ondes

Ces dernières années, plusieurs chercheurs ont utilisé les micro-ondes pour extraire différentes huiles essentielles (HE) et ont constaté que les HE obtenues en 30 minutes ou moins étaient comparables, tant qualitativement que quantitativement, à celles obtenues après plus du double de temps avec des techniques traditionnelles telles que l'extraction HD ou Soxhlet.

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) repose sur l'utilisation du rayonnement micro-ondes comme source de chauffage pour le mélange solvant-échantillon. En raison des effets particuliers des micro-ondes sur la matière, comme la rotation dipolaire et la conductance ionique, le chauffage par micro-ondes se produit instantanément à l'intérieur de l'échantillon, ce qui entraîne des extractions très rapides. L'un des avantages du chauffage par micro-ondes est qu'il perturbe les faibles liaisons hydrogène, favorisées par la rotation dipolaire des molécules (Reyes-Jurado *et al.*, 2015).

### ➤ Extraction avec des gaz supercritiques

Cette technique se distingue par l'utilisation de solvants à leur état supercritique, caractérisé par des conditions de température et de pression où le solvant se trouve entre les phases liquide et gazeuse, présentant ainsi des propriétés physico-chimiques uniques telles qu'un pouvoir de solvation accru. Bien que divers solvants puissent être utilisés, le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) est prédominant, en raison de sa disponibilité, de son faible coût, de sa non-toxicité relative et de sa facilité d'élimination de l'extrait. Cette approche, qualifiée de "verte" en raison de son faible usage de solvants organiques voire nul, est notablement plus rapide que les méthodes traditionnelles d'extraction. Les huiles essentielles (HE) obtenues par SFE peuvent présenter des variations qualitatives et quantitatives par rapport à celles obtenues par hydrodistillation (Boukhatem *et al.*, 2019).

### ➤ Extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'application industrielle des ultrasons dans l'industrie de l'extraction phytopharmaceutique a été reconnue pour son potentiel, couvrant une large gamme d'extraits de plantes. Les ultrasons assistent dans l'isolation des composés volatils des produits naturels à température ambiante en utilisant des solvants organiques, réduisant ainsi le temps de traitement, la quantité de solvant nécessaire, et augmentant le rendement de l'extraction par rapport aux méthodes

conventionnelles. Leur efficacité est particulièrement notable aux basses fréquences (18-40 kHz), tandis qu'elle devient négligeable à des fréquences plus élevées (400-800 kHz) (**Reyes-Jurado et al., 2015**).

### **II .7.Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont généralement incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Elles sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Elles ont un indice de réfraction qui varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés ; une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé, cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse (**Outaleb, 2010**).

### **II .8.Toxicité de l'huile essentielles**

Il est important d'utiliser les huiles essentielles avec prudence en raison de leur composition chimique complexe. Il est important de faire preuve d'une grande prudence dans leur utilisation, car elles peuvent comporter des dangers sérieux, en particulier lorsqu'elles sont utilisées de manière inégale. Les huiles essentielles peuvent provoquer de l'irritation cutanée, tandis que d'autres ont des effets neurotoxiques, tels que les cétones comme l' $\alpha$ -thujone, qui peuvent être néfastes pour les tissus nerveux (**Cuba, 2001**).

### **II .9. Conservation des huiles essentielles**

Il est essentiel de prendre des mesures pour protéger les huiles essentielles contre différents éléments nuisibles. Pour cela, il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre teinté pour les protéger de la lumière, et de les conserver dans un endroit frais, sec et à l'abri de la chaleur, de l'air et de l'humidité. Il est également important de maintenir les flacons en position verticale et de les refermer hermétiquement après usage pour éviter toute altération (**Buronzio, 2008**).

### **II .10. Les propriétés des huiles essentielles**

Selon (**Buronzio, 2008**), on peut identifier les caractéristiques principales des huiles essentielles

### **II .10.1. Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques**

Les huiles essentielles démontrent une activité antiseptique en pouvant rendre stérile une culture de microbes. Plusieurs études ont révélé leur efficacité contre des micro-organismes robustes tels que le staphylocoque, le bacille de Koch (responsable de la tuberculose) et le bacille typhique (lié à la fièvre typhoïde). Leur efficacité persiste dans le temps, car l'organisme humain ne développe pas de résistance aux principes actifs, permettant ainsi une réaction constante après chaque application. Ces huiles essentielles agissent de deux manières contre les microbes : elles les tuent (effet bactéricide) et inhibent leur prolifération (effet bactériostatique). Celles contenant des phénols, tels que le thymol, se révèlent particulièrement puissantes pour lutter contre les infections bactériennes, virales et parasitaires.

### **II .10.2. Propriétés antivirals**

Les molécules aromatiques présentes dans les huiles essentielles sont hautement efficaces contre les virus, leur permettant ainsi de lutter contre certaines infections virales. Ces huiles essentielles inhibent la propagation des virus, favorisent l'élimination du mucus et stimulent le système immunitaire.

### **II .10.3. Propriétés anti-inflammatoires**

Les aldéhydes présents dans de nombreuses huiles essentielles possèdent des propriétés anti-inflammatoires. Par exemple, la menthe poivrée peut soulager les douleurs au niveau du crâne, le clou de girofle peut apaiser les douleurs dentaires, et le thym peut agir sur les douleurs du coude (tennis-elbow). De plus, la citronnelle, le romarin et l'eucalyptus se révèlent efficaces en cas de piqûres d'insectes.

### **II .10.4. Propriétés antiparasitaires**

Les huiles essentielles de géranium, de citronnelle, de menthe ou de lavande aussi de romarin diffuses dans l'air sont efficaces pour protéger des attaques des Insectes, en particulier des moustiques. Elles tiennent à distance tous ces petits indésirables (poux, mites...), mais, pour une protection plus sûre, il vaut mieux les appliquer directement sur le corps (elles devront alors être diluées) ou sur les vêtements (elles peuvent être utilisées pures).

**II .10.5. Propriétés cicatrisantes**

Les huiles essentielles possèdent des propriétés cicatrisantes qui sont connues depuis l'Antiquité et qui ont été utilisées pendant les périodes de guerre pour soigner les blessures. Elles ont la capacité de favoriser la régénération des tissus endommagés et d'accélérer le processus de cicatrisation. Leur action antiseptique leur permet également de désinfecter les plaies, protégeant ainsi l'organisme contre les processus de décomposition, les microbes et leurs éventuels déchets nocifs.

*III. Les métabolites  
secondaires de la plante*

### III. Les composés phénoliques

#### III.1. Polyphénols

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens fruits, graines et bois) caractérisés par la présence d'un cycle aromatique avec des groupements hydroxyles, libres ou liés à un glucide. Ils jouent un rôle crucial dans divers processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines et la maturation des fruits .les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins étant parmi les plus courants (**Boizot et Charpentier, 2006**).

#### III.2. Les classes de composés phénoliques

De multiples catégories de polyphénols telles que les phloroglucinols, les quinones, les stilbénoides, les coumarines, les acides phénoliques, les flavonoïdes, les anthocyanes, les tannins, présentent une diversité de structures et de polarités grâce à des processus d'acylation et de glycosylation, dérivant tous de l'acide shikimique dans leurs biosynthèses (**Outaleb, 2016**).

##### III.2.1. Les phénols et acide \_ phénols

###### III.2.1.1. Définition

Les phénols et les acides-phénols sont des dérivés des acides benzoïques et cinnamiques. En général, ils se dissolvent dans des solvants organiques polaires pour les phénols, dans les hydrogénocarbonates pour les acides-phénols, et dans l'eau pour les formes hétérosides. Ces composés sont connus pour leur instabilité, donc leur extraction doit être réalisée sur le produit frais à l'aide d'alcool ou d'une solution hydro-alcoolique (**Richard, 2012**).

###### III.2.1.2. Activité biologique

Les phénols sont des agents anti-infectieux extrêmement puissants qui agissent non seulement comme des antibiotiques à large spectre, efficaces contre la plupart des bactéries pathogènes, mais aussi comme des virucides, des fongicides et des antiparasitaires. Leur mécanisme d'action implique la perturbation des lipides de la membrane des germes ainsi que

la dénaturation des protéines. En plus de leur effet antibactérien, les phénols stimulent l'immunité, ont des propriétés hyperthermisantes et hypertensives, et peuvent agir comme des stimulants pour le système nerveux central (**Deschepper, 2017**).

### **III.2.2. Les tanins**

#### **III.2.2.1.Définition**

Les tanins, un groupe de substances phénoliques polymériques, sont connus pour leur capacité à tanner le cuir ou à précipiter la gélatine, créant une sensation d'astringence. Leur poids moléculaire varie de 500 à 3 000, et ils sont présents dans différentes parties des plantes : écorce, bois, feuilles, fruits et racines. Ils se divisent en deux catégories : les tanins hydrolysables, basés sur l'acide gallique et souvent liés au D-glucose, et les tanins condensés, également appelés proanthocyanidines, dérivés de monomères (**Cowan, 1999**).

#### **III.2.2.2. Activités biologiques**

Les tanins permettent d'imperméabiliser la peau, notamment par vasoconstriction, et ont donc une possible application dans la cicatrisation, notamment lors de blessures superficielles ou brûlures par limitation de pertes en fluides. On leur confère aussi des propriétés anti diarrhéique, antibactérienne et antifongique, d'où une application empirique dans les dermatoses. De même, ils ont un potentiel antioxydant, inhibiteur enzymatique, anti tumoral et antiviral (**Richard, 2012**).

### **III.2.3. Les flavonoïdes**

#### **III.2.3.1.Définition**

Les flavonoïdes, un groupe de plus de 6 000 composés naturels largement répandus chez les plantes vasculaires, agissent comme pigments donnant des teintes jaunes, orange et rouges à divers organes végétaux. On les retrouve dans les fruits (notamment les agrumes où ils peuvent représenter jusqu'à 1 % du poids frais des fruits) et les légumes. Des boissons telles que le vin rouge, le thé, le café et la bière en contiennent également en quantités significatives. Les flavonoïdes sont également présents dans de nombreuses plantes médicinales et sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde (**Ghedira, 2005**).

### III.2.3.2. Activités biologiques

Les flavonoïdes sont principalement reconnus pour leur capacité à renforcer les vaisseaux sanguins, réduisant ainsi leur perméabilité, et pour leur potentiel dans diverses activités biologiques telles que l'anti-inflammation, l'antimicrobien, l'antioxydant et l'anti-cancéreux. De plus, ils jouent un rôle important dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes, interagissant avec différentes hormones végétales, et agissent comme des phytoalexines pour combattre les infections fongiques ou bactériennes (**Abedini, 2013**).

### III.2.4. Les saponines

#### III.2.4.1. Définition

Les saponines sont généralement connues comme étant des composés non volatils, actifs en surface, largement répandus dans la nature et présents principalement dans le règne végétal. Le nom "saponine" est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie "savon", car les molécules de saponine forment des mousses semblables à du savon lorsqu'elles sont agitées avec de l'eau. Il s'agit de molécules structurellement diverses, appelées chimiquement glycosides triterpéniques et stéroïdes. Elles sont constituées d'aglycones non polaires couplés à un ou plusieurs monosaccharides. Cette combinaison d'éléments structurels polaires et non polaires dans leurs molécules explique leur comportement de savon dans les solutions aqueuses (**Vincken et al., 2007**).

#### III.2.4.2. Activités biologiques

Les saponines possèdent une gamme variée de propriétés, notamment la douceur et l'amertume, les propriétés moussantes et émulsifiantes, les propriétés pharmacologiques et médicinales, les propriétés hémolytiques, ainsi que les activités antimicrobiennes, insecticides et molluscicides. Les saponines ont trouvé de nombreuses applications dans les boissons et les confiseries, ainsi que dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques (**Vincken et al., 2007**).

### III.2.5. Les coumarines

#### III.2.5.1. Définition

Les coumarines présentes dans diverses familles de plantes telles que les Légumineuses, Rutacées, Apiacées et Thyméléacées, sont des composés naturels importants conférant une odeur distinctive rappelant celle du foin fraîchement coupé. À l'exception des algues, ces composés sont caractéristiques des plantes chlorophylliennes et se retrouvent dans toutes les parties de la plante, notamment dans les fruits et les huiles essentielles des graines (Kholkhal, 2014).

#### III.2.5.2. Activités biologiques

Les coumarines possèdent des propriétés sédatives, apaisantes et parfois hypnotiques, tout en étant anticonvulsivants, antispasmodiques, hypothermisantes et hypotensives. On les retrouve dans les essences extraites des écorces d'agrumes (*Citrus* sp), les huiles essentielles de *Lavandula vera*, d'*Ammi visnaga*, d'angélique, d'*Apium*, de *Ruta*, etc. Les coumarines simples se distinguent des furanocoumarines et des pyranocoumarines. Ces dernières, photosensibilisantes et parfois hépatotoxiques, nécessitent une protection solaire rigoureuse lors de leur utilisation. Cependant, leur effet dépend de la proportion et des autres composants présents dans l'huile essentielle, qui peuvent atténuer ou équilibrer leurs effets. Par exemple, dans l'huile essentielle de *Lavandula vera*, les cétones et les coumarines, présents en faible proportion, sont "neutralisés" par des esters aux propriétés relaxantes importantes (Couci-Marinier et Lobstein, 2013).

### III.2.6. Les quinones

#### III.2.6.1. Définition

Les quinones sont des anneaux aromatiques avec deux substitutions cétoniques et sont caractérisées par une grande réactivité. Elles peuvent passer facilement du diphénol au dicétone par des réactions d'oxydation et de réduction. Ces composés colorés sont responsables de la réaction de brunissement des fruits et légumes coupés ou blessés. En plus de constituer une source de radicaux libres stables, les quinones sont connues pour former des complexes irréversibles avec les acides aminés nucléophiles des protéines. Par conséquent, les quinones inactivent les protéines et altèrent leur fonction. Les quinones se lient aux adhésines

exposées en surface, aux polypeptides de la paroi cellulaire, aux enzymes liées à la membrane, et forment des complexes qui inactivent les enzymes (Arif, Bhosale et al. 2009).

### III.2.6.2. Activités biologiques

Les quinones sont ubiquitaires et possèdent généralement des propriétés antimicrobiennes. Leurs principales cibles dans la cellule microbienne sont les adhésines, les polypeptides et les enzymes membranaires (Saidi, 2019).

# *Partie expérimentale*

## *IV. Matériels et méthodes*

## IV. 1. Matériels et méthodes

Le but de notre travail est d'obtenir des dérivés extraits à partir des feuilles de Romarin.

Le but de cette étude est :

L'évaluation de l'effet antioxydant

L'évaluation de l'effet antimicrobien

L'évaluation de l'effet antifongique

Etude qualitative des huiles essentielles par (GC-MS)

**Lieu de stage :** le stage a été effectué au niveau de laboratoire universitaire de l'université Khemis Miliana Djilali Bounaama pendant la période de janvier à juin, et au niveau de laboratoire privée **A. ZIBOUCH**.

### IV.1.2. Échantillonnage

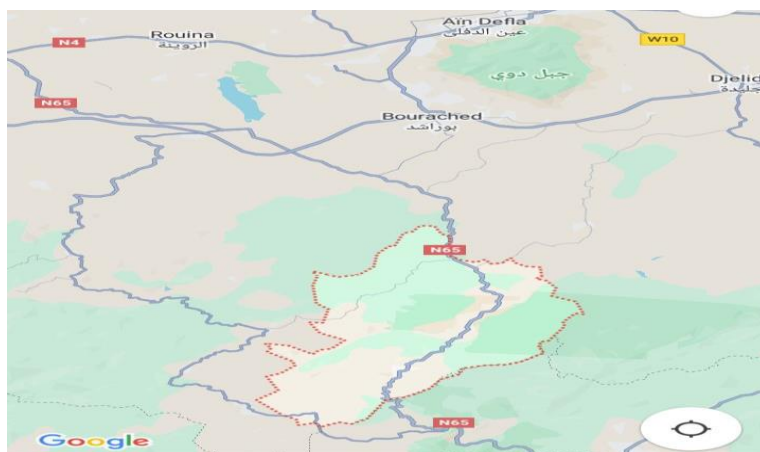
Nous avons apporté une quantité de romarin de la région d' "**El Hassania** " wilaya d' "**Aine Defla** " en janvier 2024 pour étudier ses effets antioxydants et antimicrobiens.

**Tableau 4 :** Les coordonnées géographiques

Latitude	<b>35.9464</b>
Longitude	<b>1.91699</b>
Altitude	<b>939 m</b>

### IV.1.2. Présentation de la région

El Hassania (El Hassania) est un/un lieu habité (class P - des lieux habités) en Wilaya de Ain Defla (Algeria (general)), Algérie (Africa), 35° 56' 47" Nord, 1° 55' 1" Est. Le climat d'El Hassania est de type méditerranéen, caractérisé par des étés chauds.



**Figure 7 :** Localisation du site d'étude « El Hassania »

## IV.2.Méthodes d'étude:

### IV.2 1.Récolte ET séchage

Nous avons laissé notre échantillon sécher naturellement à une température ambiante pendant trois semaines en le protégeant du soleil et de l'humidité. Ensuite, nous l'avons conservé à l'abri de la lumière jusqu'à ce qu'il soit utilisé.



**Figure 8:** Les feuilles de romarin séchées (**originale**)

### IV.2 .2. Taux d'humidité :

Le taux d'humidité consiste à une perte de poids par dessiccation. La détermination de taux d'humidité a été effectuée selon la méthode décrite par BOUKSSAIM et AOAC. Pour ce

faire, des feuilles contenant une masse de  $5 \text{ g} \pm 0,01 \text{ g}$  de séchées des différents échantillons ont été placées pendant 24 heures dans une étuve de type Binder à  $105 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Les capsules sont refroidies dans un dessiccateur après leur sortie de l'étuve. Chaque trois heures, une pesée est effectuée jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La formule suivante est utilisée pour calculer la moyenne des pertes en poids et calculer le taux d'humidité : (Lakehal, 2016).

$$H = \frac{(P_i - P)}{P_i} \times 100$$

H : Taux d'humidité (%).

P<sub>i</sub> : Masse de l'échantillon avant séchage en étuve (g).

P : Masse de l'échantillon après séchage en étuve (g).

### IV.2.3. Extraction des Huiles Essentielles

L'extraction de l'HE de romarin a été réalisée selon la méthode European Pharmacopeia, par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger.

Brièvement ,50g de feuilles de romarin et 500mL d'eau distillée ont été placés dans un ballon sphérique de 1L. Le ballon a été relié à appareil clevenger et a été placé dans un bain thermostatique à  $100^\circ\text{C}$  pendant 3h. Après extraction, l'HE de romarin a été recueillie dans un eppendorf, stockée dans réfrigérateur à  $4^\circ\text{C}$  jusqu'à d'autre analyse (Vella et Laratta, 2023).



**Figure 9:** hydrodistillation (type Clevenger) (originale)

### IV.2.3.1.Rendement en Huiles Essentielles

Le rendement en huile essentielle est calculé par Le rapport des masses de l'huile essentielle et de la matière végétale séchée. Il est exprimé en pourcent (%) (**Bousbia, 2011**).

$$\text{RdtHE} = \frac{\text{MHE}}{\text{MVS}} \times 100$$

Où :

RdtHE : Rendement en huile essentielle (%) ;

MHE : Masse de l'huile essentielle (g) ;

MVS : Masse de la matière végétale sèche (g).

### IV.2.3.2Analyses qualitatives des huiles essentielles

Cette analyse a été réalisée par technique GC-MS combine la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse au niveau du laboratoire de recherche de l'Université de Djilali Bounaama .

Pour identifier ou mesurer précisément les substances présentes en séparant les molécules. Les gaz principalement utilisés sont l'hélium, le dihydrogène, le diazote et l'argon. Actuellement, les chromatographes sont largement utilisés dans les laboratoires pour détecter de faibles quantités de substances spécifiques avec rapidité et précision. Ils permettent également d'obtenir des résultats fins et exacts pour les composés organiques semi-volatils grâce à leur grande dynamique de réponse.

**Tableau 5** : Les conditions analytiques de CG-MS

	Paramètre	
Injecteur	Température	250°C
	Mode d'injection	Splitles
	Volume injecté	8 µl
Colone	Type	GC-2010
	Dimension	Longueur : 30 m Diamètre : 0,25µm
Four	Température	250°C

	Durée d'analyse	35min
	Gaz vecteur	Argon
	Débit	1ml/min
Détecteur de masse	Mode d'analyse	Q3 Scan
	Délai de solvant	3.00 min
	Température de l'interface	250.00°C
	Intensité de filament	+0,2KV
	Température de la source	200.00°C

#### IV.2.4. Préparation des extraits aqueux par décoction

Une prise d'essai de 10 g de poudre de plante a été introduite dans un ballon contenant 100 mL d'eau distillée. L'ensemble a été maintenu en ébullition pendant 30 minutes. Après refroidissement et filtration. L'extrait a été ensuite mis à l'étuve à 46°C. Les essais ont été réalisés en triple. Les poudres obtenues ont été pesées puis conservées dans un flacon stérile hermétiquement fermé (Bohui et al., 2018).

##### IV.2.4.1. Détermination du rendement d'extraction

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant le transfert du filtrat à évaporer)

Rendement (%) = ((Masse d'extrait sec) \* 100) / (Masse de la matière végétale) (Bohui et al., 2018).

#### IV.2.5. Les tests phytochimiques

Tests effectués au niveau du laboratoire universitaire de biochimie

##### IV.2.5.1. Tests des saponosides:

0,5 g de la poudre de l'extrait est mélangé à 10 ml d'eau distillée puis porter à l'ébullition pendant 5 minutes. Il est ensuite refroidi et agité vigoureusement pendant 2 minutes. La formation d'une mousse plus ou moins importante indique la présence de saponosides (Vella et Laratta, 2023).

#### IV.2.5.2. Test des Tanins:

5 g d'extrait sec ont été agités avec 10 ml d'eau distillée. Après filtration, Nous avons ajouté quelques gouttes de chlorure de ferrique ( $\text{FeCl}_3$  à 1%) au filtrat.

Un précipité bleu-noir a été pris comme preuve de la présence de tanins (**Oloyede, 2005**).

#### IV.2.5.3. Test des flavonoïdes:

Le test des flavonoïdes a été réalisé selon le protocole modifié décrit par **MECHERI** On a pesé 10g de plante en poudre, puis on a mélangé avec 150 ml d'une solution HCl (1%). Après avoir macéré ce mélange pendant 24 heures, nous avons procédé à la filtration et ajouté du  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 10 ml du filtrat jusqu'à obtenir une base. La couleur jaune clair se manifeste lorsque les flavonoïdes sont présents.

#### IV.2.5.4. Test des Quinones:

Sur un volume de l'extrait, on ajoute quelques gouttes de NaOH 1%. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence de quinones libres (**Himour et al., 2016**).

#### IV.2.5.5. Sucres réducteurs:

La méthode réductrimétrique de Fehling a été utilisée. 2 ml de l'extrait organique contenu dans chaque tube puis, 1 ml de réactif de liqueur de Fehling y est ajouté. Ces tubes ont été portés à ébullition pendant 30 minutes. La formation d'un précipité rouge-brique indique la présence des composés réducteurs (**Kamsi et al., 2020**).

#### IV.2.6. Dosage des polyphénols

Selon le protocole de laboratoire ST. En flacons, quantité de 20 $\mu\text{l}$  de chaque extrait mélangée avec 100  $\mu\text{l}$  de réactif Folin-ciocalteau et Mélanger soigneusement et incubé pendant 3 minutes. Après incubation ajouter 300  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7,5% à la solution et mélanger soigneusement, puis compléter le flacon avec 2 ml d'eau distillée. Laisser à température de laboratoire et à l'abri de la lumière pendant 2 heures. La lecture effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 765nm.

En utilisant l'acide gallique comme contrôle positif, des courbes d'étalonnage ont été tracées en parallèle dans les mêmes conditions opératoires.

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g).

#### **IV.2.7. Dosage des flavonoïdes**

La quantité de flavonoïdes a été évaluée en utilisant la méthode de laboratoire ST. Mélanger 20 µl de chaque extrait avec 1 ml d'éthanol. Ajoutez ensuite 1 ml d'AlCl<sub>3</sub> (2% dans l'éthanol) et laissez incuber à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 10 minutes. La lecture effectuée contre un blanc à l'aide de spectrophotomètre à 430nm.

#### **IV.2.8. Dosage des Tanins**

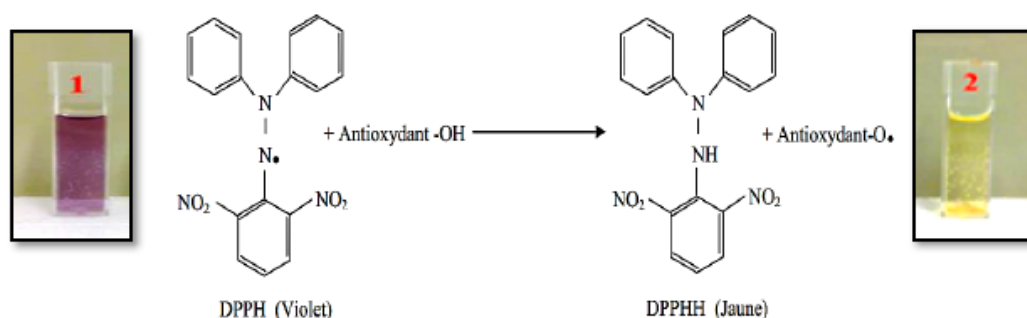
La quantité de tanins a été évaluée en utilisant la méthode de laboratoire ST. Mélanger 20 µl de chaque extrait avec 3 ml de solution de vanilline (4 % dans l'éthanol), suivi de l'ajout de 1,5 ml d'acide chlorhydrique concentré (HCl). Mélanger soigneusement la solution, laisser incuber à température ambiante, à l'abri de la lumière, pendant 20 minutes. En mesurant l'absorbance contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 500 nm.

#### **IV.2.9. L'activité antioxydant**

L'activité antioxydant des extraits peut être réalisée de différentes méthodes pour notre étude. Nous avons choisi la technique de piégeage du radical au DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl).

##### **IV.2.9.1. Principe du test de DPPH**

Cette méthode consiste à mesurer l'activité antiradicalaire par la technique de piégeage du radical au DPPH (2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl). Le DPPH, (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub> ; PM=394,33), est un radical libre stable soluble dans le méthanol (ou éthanol). D'une couleur violette intense, il présente un maximum d'absorbance à 517 nm. Lorsqu'une molécule antioxydante réduit le radical DPPH, la couleur violette disparaît rapidement pour donner une couleur jaune pâle. Le Test de piégeage du radical DPPH (**Bohui et al., 2018**).



**Figure 10:** Réaction de réduction d'un radical DPPH en présence d'un antioxydant (Lakehal, 2016).

### ➤ Préparation de la solution de DPPH

Selon le protocole de laboratoire ST

Dissoudre 4 mg de poudre dans 100 ml d'éthanol (EtOH) pour obtenir une solution de DPPH (2,2-diphényl-ditrinitrophénylhydrazine). Des échantillons d'huiles essentielles et d'extraits sont préparés par dissolution dans de l'éthanol absolu (EtOH), ces solutions dites solutions mères, puis diluées pour obtenir une concentration.

### ➤ Mode opératoire :

Le test est réalisé en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH (0,04%) avec 1 ml de différentes concentrations de l'huile et de l'extrait à tester.

Un antioxydant de référence ou un contrôle positif, la vitamine C, a également été préparé en utilisant la même méthode. Le contrôle négatif était constitué de 1 ml de solution DPPH et 1 ml d'éthanol absolu (EtOH).

Après 30 min d'incubation, protéger de la lumière et de l'O<sub>2</sub> atmosphérique à température du laboratoire. Les mesures d'absorbance ont été prises à 517 nm

➤ **Calcul des IC50 :**

La CE50, la concentration d'extrait nécessaire pour atteindre 50% d'inhibition du radical DPPH, a été calculée en traçant le graphique du pourcentage d'ASR en fonction des concentrations. Les résultats ont été exprimés en mg/mL (**Vella et Laratta, 2023**).

Le pourcentage d'activité de piégeage des radicaux (%RSA) de la décoloration DPPH a été obtenu à l'aide de la formule suivante :

$$\%RSA = \frac{(ADPPH - As)}{ADPPH} \times 100$$

Où :

ADDPH : est l'absorbance de la solution DPPH

As : est l'absorbance de la solution lorsque l'échantillon a été ajouté.

#### IV.2.10. L'activité antimicrobienne

Les activités antibactérienne et antifongique ont été évaluées en utilisant la méthode de diffusion sur disques ; cette étude est réalisée au niveau de laboratoire Privée **A. ZIBOUCH**

Les souches étudiées sont :

- *Pseudomonas*
- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *Candida albicans*

La méthode d'aromatogramme est utilisée pour évaluer l'activité en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (le tableau n) pour différentes espèces vis-à-vis de l'extrait donné.

Sensibilité	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	diamètre < 8mm
Sensible (+)	diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible (++)	diamètre compris entre 15 à 19 mm
Extrêmement sensible (+++)	diamètre >20mm

**Tableau 6:**Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.  
(Mouas et *al.*, 2017)

#### **IV.2.10.1. Evaluation de l'activité antibactérienne**

##### **➤ Les milieux de culture utilisés**

Les milieux de culture suivants ont été utilisés :

\_ Gélose nutritive : milieu de conservation non sélectif

\_Gélose Muller Hinton : pour évaluer la résistance des souches bactérienne en milieu solide aux agents défendants à base de romarin.

##### **➤ Conservation des souches :**

Les souches bactériennes sont entretenues par repiquage sur GN. Incubées pendant 24 h à 37 C. elles sont conservées à 5 C dans des tubes contenant de la gélose nutritive incliné.

##### **➤ Préparation des extraits**

Les huiles essentielles de romarin et l'extrait aqueux sont testés sur les souches bactériennes préalablement sélectionnées, d'une part à l'état brut et d'autre part à l'état dilué.

Les dilutions (75 %, 50 %, 25% et 12,5%) sont préparées avec le solvant organique Diméthylsulfoxyde (Bouhaddouda, 2016).

##### **➤ Évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des disques :**

Nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme pour évaluer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait de romarin. Cette méthode consiste à diffuser des disques sur un milieu gélosé.

La gélose de Mueller Hinton stérile est coulé dans des boîtes de pétri à raison de 15 ml par boîte puis laissées refroidir. L'inoculum bactérien, ajusté à 0.5 Mc Farland et d'une concentration de 10UFC/ml, est frotté sur la totalité de la surface de Mueller Hinton de haut en bas en stries serrées. Des disques de papier Whatman n 1 de 6 mm de diamètre, sont stérilisés dans du papier aluminium à autoclave à 121 °C pendant 15 mn.

A l'aide d'une pince stérile, les disques imprégnés de différents volumes d'extraits de DMSO (Ext, 75%, 50 %, 25 %, 12,5%), ont été déposés à la surface des boîtes de pétri

ensemencées par les souches à tester. Les boîtes sont ensuite fermées et laissées diffuser à la température ambiante pendant 30 mn et mise à l'étuve à une température de 37°C pendant 24 heures. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de l'huile essentielle \_ou de l'extrait aqueux (Mouas et al., 2017).

#### **IV.2.10.2. Evaluation de l'activité antifongique :**

L'activité biologique contre les levures a été déterminée en utilisant la technique standard de diffusion sur disques (Minotti et al., 2004).

##### **➤ Milieu de cultures utilisées :**

\_Gélose sabouraud : pour étudier la sensibilité des levures aux extraits de romarin.

##### **➤ Préparation de préculture :**

La souche étudiée a été cultivée dans des boîtes de Pétri contenant du milieu sabouraud et a été incubée pendant 48 heures à 37°C.

##### **➤ Évaluation de l'activité antifongique**

Des cultures mères de *Candida albicans* ont été mises en place 24 h avant les essais afin d'atteindre la phase stationnaire de croissance. Les tests ont été évalués en inoculant des boîtes de Pétri provenant des cultures mères avec des milieux stériles appropriés, dans le but d'obtenir une concentration en microorganismes de 10<sup>5</sup>unités formant colonie (UFC)/ml. Une aliquote de diméthylsulfoxyde (DMSO ; Sigma – Aldrich) a été ajoutée aux extraits afin d'obtenir une plage de concentrations (Ext, 75%, 50 % ,25 %, 12,5%). Des dilutions en série de la solution DMSO/extraits ont été déposées sur des disques de papier stériles (diamètre 6 mm, Difco) qui ont ensuite été placés au centre des boîtes de Pétri inoculées. Par conséquent, les boîtes de Petri ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 h et le diamètre de la zone d'inhibition de croissance (IZD) a été mesuré au mm près. Des contrôles ont été mis en place avec du DMSO dans des quantités correspondant à la plus grande quantité présente dans la solution test (Sacchetti et al., 2005).

## IV.2.11. Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire)

### IV.2.11.1. Préparation de la suspension érythrocytaire

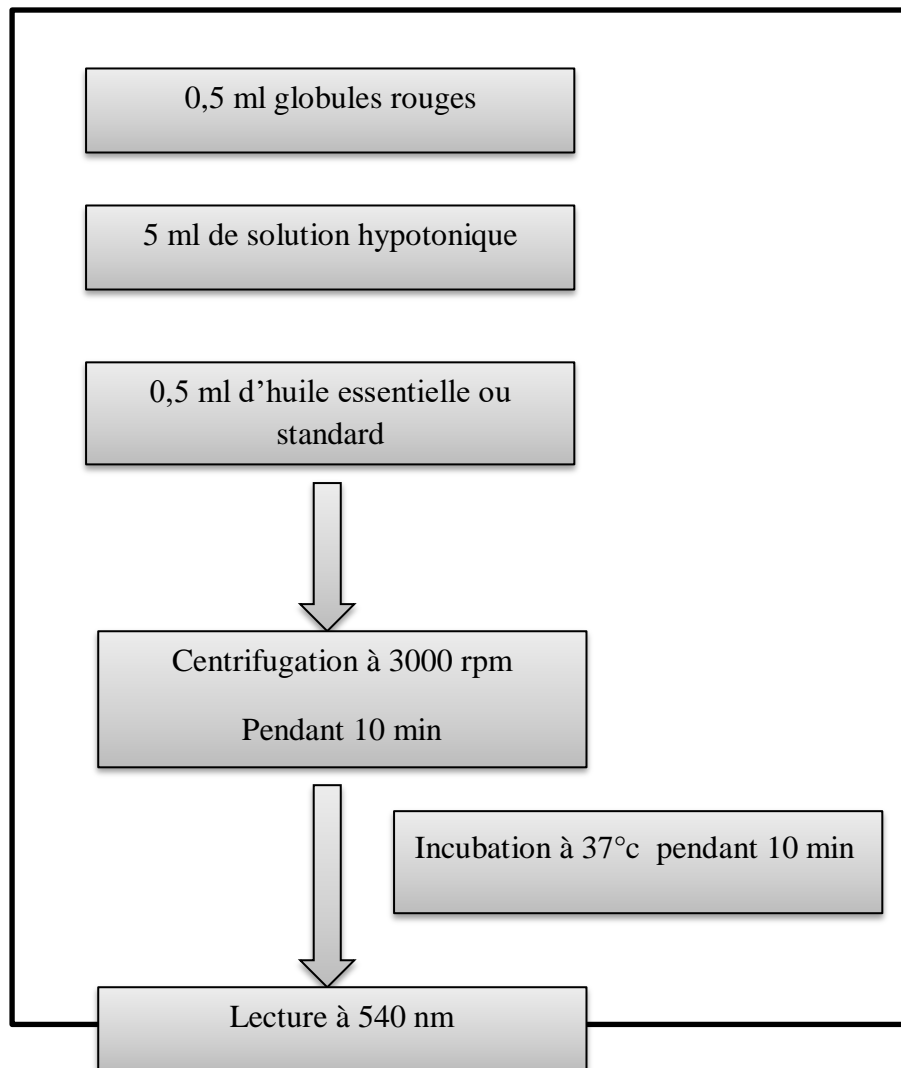
Protocole suivi pour les études sur l'activité protectrice de la membrane des globules rouges Par les huiles essentielles est celle de (**Labu et al., 2015**).

Pour préparer la suspension érythrocytaire, 5 ml de sang total ont été prélevés sur un volontaire humain sain par des seringues hypodermiques dans des tubes héparine.

\_Le sang a été centrifugé pendant 10 minutes à 3 000 tr/min.

\_ les cellules sanguines ont été lavées trois fois avec une solution NaCl (154 mM) dans un tampon phosphate de sodium 10 mM (pH 7,4).

\_Reconstitution des globules rouges sous forme d'une suspension à 10% dans la solution iso-saline.



**Figure 11:** Protocole de stabilisation membranaire (Labu *et al.*, 2015).

#### IV.2.11.2.Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse ou de la stabilisation membranaire a été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{pourcentage d'inhibition}\% = \frac{\text{Abs C} - \text{Abs T}}{\text{Abs C}} \times 100$$

Où :

Abs T: absorbance de test (huile essentielle ou standard).

Abs C: absorbance de contrôle (solution saline tamponnée hypotonique)

### **IV.3. contrôle de qualité de la pommade**

#### **IV.3.1.les analyses physicochimiques ET qualitatives**

Caractères tels que la couleur, l'odeur, la consistance et la stabilité ont été notés.

Initialement, l'étude de la stabilité consiste d'analyser d'abord la température de fusion de la pommade, puis de suivre l'évolution au cours du temps de divers paramètres spécifiques à cette préparation. Trois boîtes ont été placées à la température du laboratoire et examinées à intervalles réguliers pendant une période de deux mois :

- \_Une boîte à l'air libre
- \_Une autre toujours fermée
- \_une troisième ouverte pour manipuler à chaque contrôle (**Bene et al., 2017**).

#### **A. Test d'homogénéité**

La vérification de l'homogénéité de la pommade est effectuée en l'étalant en couche mince sur une surface plane. La répartition régulière ou non des composés de la pommade a été notée (**Bene et al., 2017**).

#### **B. Test de solubilité**

Évaluer la solubilité des pommades dans divers solvants tels que l'eau, l'éthanol et l'huile. Cela peut indiquer la compatibilité de la pommade avec d'autres substances (**Pharmacopée européenne (Ph. Eur.)**).

#### **C. Mesure de la valeur du pH**

Mesurez la valeur du pH de la pommade à l'aide d'un pH-mètre. Prenez une petite quantité de pommade et diluez-la avec de l'eau distillée. Trempez l'électrode du pH-mètre dans le diluant et enregistrez la valeur du pH (**Pharmacopée européenne (Ph. Eur.)**).

#### **D. Mesure de la teneur en eau**

Effectuer une analyse d'humidité de la pommade à l'aide d'une balance analytique. Prenez la quantité exacte de pommade et pesez-la. La pommade est ensuite placée dans une étuve à

température constante pendant un certain temps pour évaporer l'eau. Une fois la pommade évaporée, pesez-la à nouveau et calculez la teneur en eau en pourcentage (**ASTM International**).

### E. Teneur en cendre

Pour déterminer la teneur en cendres d'une pommade, un échantillon est pesé 3g et chauffé doucement pour évaporer l'eau et brûler les matières volatiles. Il est ensuite incinéré à haute température (600-700°C) pour brûler la matière organique restante. Après combustion complète, le creuset a été refroidi dans un dessiccateur et pesé pour mesurer le résidu inorganique (**Pharmacopée européenne**).

La teneur en cendres est calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Teneur en cendres (\%)} = (\text{Poids initial de la pommade} / \text{Poids des cendres}) \times 100$$

### IV.3.2. Contrôle de qualité Microbiologique

L'objectif est de contrôler l'eau de contamination bactérienne et fongique de la pommade en recherchant des bactéries spécifiques grâce à la méthode de comptage sur plaques de gélose.

#### ➤ Echantillonnage

1g de pommade est prélevé délicatement pour éviter toute contamination

#### ➤ Mode opératoire (Ph, Eur, 2.6.12)

Prépare une solution mère de produit fini en dissolvant 1 g de pommade dans un tube contenant 9 mL de milieu de culture stérile. Étaler 0,1 ml de chaque dilutions (SM, 10-1,10-2, 10-3, 10-4 et 10-5,10-6) sur la surface d'une boîte de Pétri coulée avec le milieu spécifique pour les germes testés (montré dans le tableau suivant).

**NB :** pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* on ensemence le milieu (semi-incliné) en faisant des stries à la surface de la gélose à l'aide de pipette pasteur

**Tableau 7 :** les différents milieux spécifiques des germes testés

Le germe testé	Milieu spécifique	Température	Durée
----------------	-------------------	-------------	-------

		<b>d'incubation</b>	<b>d'incubation</b>
<i>E. coli</i>	MacConkey	37 °C	24 heures.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman	35 °C à 37 °C	24 à 48 heures.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	kingA	30 °C à 37 °C	24 à 48 heures.
<b>les coliformes totaux</b>	VRBL	35 °C à 37 °C	24 à 48 heures.
<b>Levures (<i>Candida albicans</i>)</b>	Sabouraud	20 °C à 30 °C	48 à 72 heures

#### IV.3.4. Tests cliniques

Étude sur des sujets humains pour évaluer l'efficacité et la sécurité de la pommade.

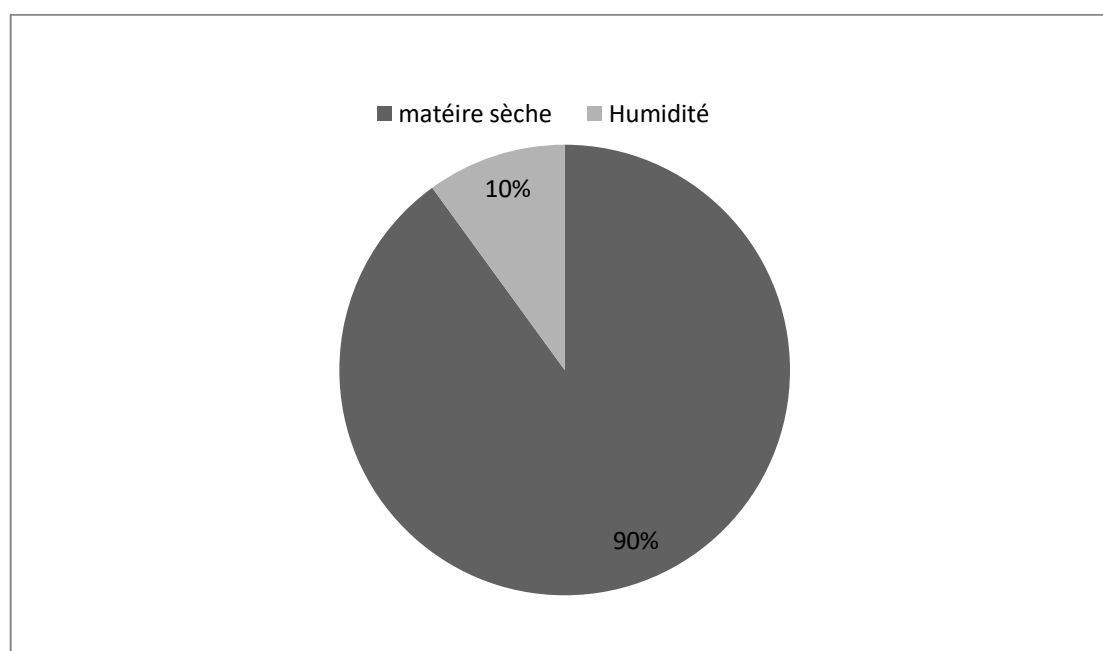
## ***V. Résultats et discussion***

### V.1.Taux d'humidité :

Les résultats du séchage sont présentés dans le tableau et la figure suivants.

**Tableau 8:** Taux d'humidité des feuilles du *Rosmarinus officinalis*

M0 (g)	M1 (g)	H (%)
5	4.5	10%



**Figure 12:** Teneur en humidité et en matière sèche de l'échantillon analysé.

Nos résultats indiquent que les feuilles de la région d'Elhassania ont une humidité de 10%, ce qui équivaut à 90% de leur masse en matière sèche (MS).

D'après (Makhloufi, 2010) la teneur en eau des feuilles de romarin est (28,17%), cette teneur diffère significativement de nos résultats.

La différence de teneur entre nos échantillons d'eau et ceux des travaux Auparavant cela pouvait être dû à certains facteurs écologiques, à l'âge de la plante, à la période Cycles nutritionnels et même facteurs génétiques (Albu et al., 2004).

## V.2.Les huiles essentielles

### V.2.1.Rendement en Huiles Essentielles

Nous avons calculé le rendement après extraction de l'huile essentielle des feuilles de romarin par hydrodistillation et élimination de toute trace d'eau. Le rendement a été déterminé en utilisant 50 g de feuilles de romarin séchées. Les résultats de performances sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 9:** rendement des HE de romarin

Huile	Rendement HE%
Romarin	0,6

Notre rendement HE est de 0,6%. Rendement en huile obtenue à partir des feuilles et Les fleurs répondent aux normes AFNOR (0,5 -2%).Mais reste inférieure à celui obtenu (Vella et Laratta , 2023) (1.57%) et (Outaleb, 2010) (1,02%) , et supérieur à celui obtenu par (Bousbia et al.,2009)( 0.35%). ce qui peut être dû à différents facteurs Parmi eux nous avons cité la nature du sol, les facteurs climatiques, la période Récolte, méthodes d'extraction (AFNOR 1999).

Les hydrolats contiennent toujours des gouttelettes que nous ne pouvons pas recycler et qui peuvent déformer rendement (Rivera, 2006).

### V.2.2.Résultats des analyses qualitatives des huiles essentielles

**Tableau 10 :** Rapport d'analyse par GC-MS pour huile de Romarin

	Heig ht%	Name
1	6.66	BICYCLO [3.1.1] HEPT-2-ENE, 2, 6,6-TRIMETHYL
2	6.38	Bicyclo[2.2.1]heptane, 2,2-dimethyl-3-methylene-, (1S)-
3	5.20	Pinene <beta->
4	2.69	Myrcene
5	0.90	Thujene <alpha->

6	1.04	1,3-CYCLOHEXADIENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHYL)-
7	7.58	Eucalyptol
8	2.64	1,4-CYCLOHEXADIENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHYL)-
9	0.11	4-THUJANOL, STEREOISOMER
10	2.69	1,3-CYCLOHEXADIENE, 1-METHYL-4-(1-METHYLETHYL)-
11	3.08	1,6-OCTADIEN-3-OL, 3,7-DIMETHYL-
12	0.73	Fenchyl alcohol
13	6.43	BICYCLO [2.2.1] HEPTAN-2-ONE, 1, 7,7-TRIMETHYL-
14	5.57	BICYCLO [2.2.1] HEPTAN-2-OL, 1, 7,7-TRIMETHYL-
15	4.06	3-CYCLOHEXEN-1-OL, 4-METHYL-1-(1-METHYLETHYL)-
16	5.34	3-CYCLOHEXENE-1-METHANOL, .ALPHA.,.ALPHA.,4-TRIMETHYL-
17	0.06	2-Cyclohexen-1-ol, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-, cis-
18	0.14	Bicyclo[3.1.1]hept-3-en-2-one, 4,6,6-trimethyl-, (1S)-
19	0.02	2-Oxabicyclo [2.2.2] octan-6-one, 1, 3,3-trimethyl-
20	0.59	6-OCTEN-1-OL, 3,7-DIMETHYL-
21	0.04	BICYCLO[7.2.0]UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-METHYLENE-, [1R-(1R*,4E,9S*)]-
22	0.30	Nerol
23	0.13	E-11,13-Tetradecadien-1-ol
24	3.45	BICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-OL, 1,7,7-TRIMETHYL-, ACETATE, ENDO-
25	1.04	Carvacrol
26	0.06	7,11-Epoxy-megastigma-5(6)-en-9-one

En observant ces résultats, il est évident que cette huile contient une grande quantité de : bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- (6,66%) , eucalyptol (7,58%) , bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl-(6,43%) et bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-(5,57%)

### V.3.Rendement du l'extrait aqueux

Le rendement (Rdt) du romarin en extrait sec a été évalué en calculant le rapport suivant:

$$\text{Rendement (\%)} = (1,6 * 100) / 10 = 16\%$$

Le rendement de l'extrait aqueux est 16%, cette valeur est proche a d'autre recherche avec un rendement (15.28%) (Karouche et al., 2021).


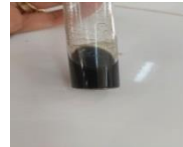
### V.4.Les tests phytochimiques


Les tests phytochimiques consistent à détecter différents composés présents dans les plantes. Nos échantillons ont été caractérisés qualitativement. Ces réactions sont basées sur Phénomène de précipitation ou de coloration sous l'action de réactifs spécifiques.

Le tableau présente les résultats, avec la présence des Flavonoïdes, des tanins, des Quinones, des saponosides et l'absence de Sucres réducteurs

Remarque : (-) Négative; (+) Faiblement positif. (++) Positif; (+++) fortement positif.

**Tableau 11** : Résultats des tests phytochimiques de *Rosmarinus officinalis L*

Métabolites Secondaires	Réactifs	Résultats	Coloration
Saponosides	/	+++	
Tanins	FeCl3	+++	

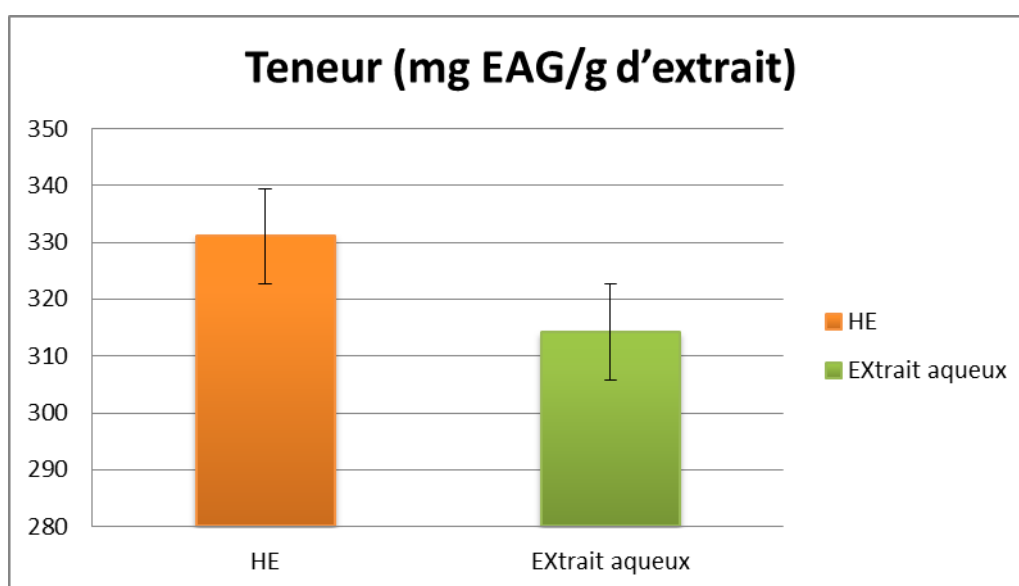
flavonoïdes	NH <sub>4</sub> OH	++	
Quinones	NaOH	+++	
Sucres réducteurs	Fehling	-	

Des résultats similaires ont également été obtenus par **(Makhloufi, 2010)**. Les analyses phytochimiques effectuées sur l'extrait des parties aériennes du romarin ont mis en évidence la présence de flavonoïdes, de tanins, de saponosides et de quinones. De plus, il a été observé l'absence de sucres réducteurs, contrairement aux résultats obtenus par **(Toubal, 2021)** indiquent l'absence des saponines, selon **(Roux et al., 2007)** Les plantes sont très riche en saponosides, ces molécules ont des propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et anti-œdémateuse. Cela justifie leur utilisation

Traitement traditionnel des symptômes de l'insuffisance veineuse et de la crise fonctionnelle Hémorroïdes et maladie de fragilité capillaire **(Makhloufi, 2010)**.

Nos résultats des analyses phytochimiques mettent en évidence la richesse du romarin en métabolites secondaires.

### V.5. Dosage des polyphénols



**Figure 13** : teneur en polyphénols de totaux de *R.officinalis-L*

Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/ g MS).

Les résultats indiquent que la teneur moyenne en phénols totaux de HE de romarin est de 331,1 (mg EAG/ g).

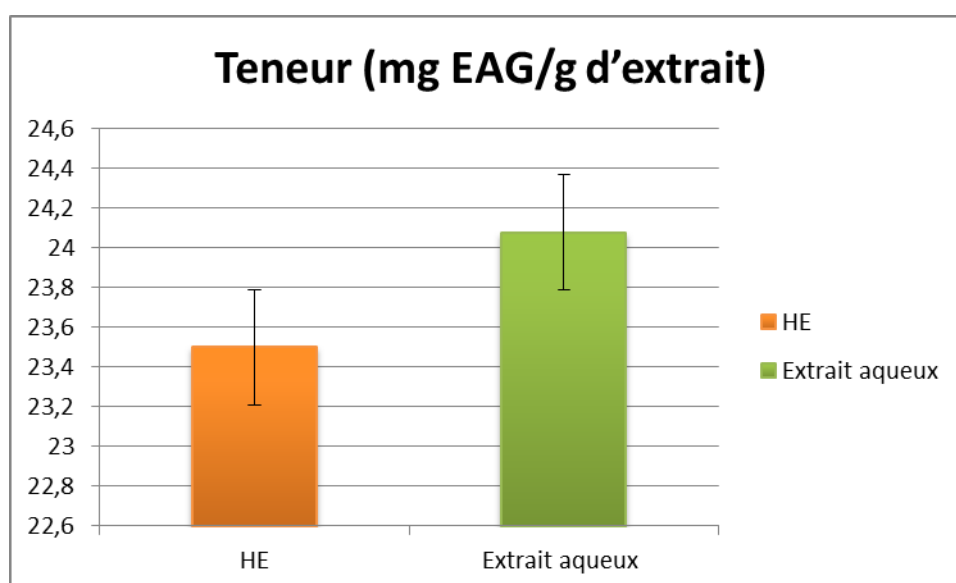
Cette valeur est bien supérieure à celle trouvée par (Tsai et al., 2007) qui est de l'ordre de 98.7(mg EAG/ g) .

Les résultats indiquent que la teneur moyenne en phénols totaux de l'extrait aqueux de romarin est de 314,3 (mg EAG/ g).

Cette valeur est bien supérieure à celle trouvée par (Tsai et al., 2007) qui est de l'ordre de 128 (mg EAG/ g) et ainsi à celle trouvée par (Karouche et al., 2021). et 0,306(mg EAG/ g).

Nos résultats indiquent que les feuilles de *Rosmarinus* contiennent des quantités importantes de phénols.

### V.6. Dosage des flavonoïdes



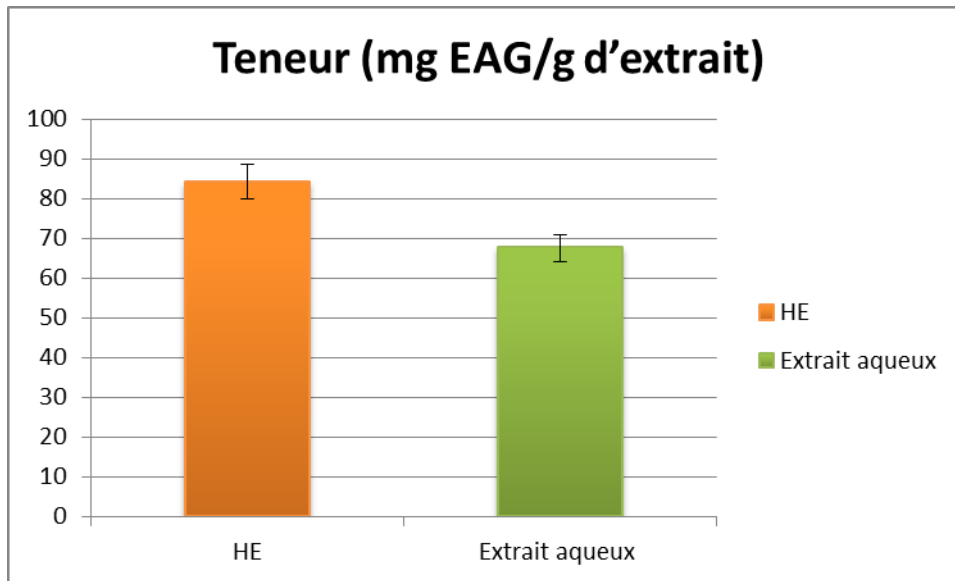
**Figure 14** : teneur en flavonoïdes totaux de *R.officinalis-L*

Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide quercitrine par gramme de matière sèche (mg EAG/ g).

La teneur en flavonoïdes de HE de romarin est de 23,5(mg EAG/ g). Cette valeur est largement inférieure à celle de (Tsai et al., 2007) est de l'ordre de 128(mg EAG/ g).

La teneur en flavonoïdes de l'extrait aqueux de romarin est de 24,08 (mg EAG/ g).cette valeur est supérieur à celle trouvée par (Karouche et al., 2021) est de l'ordre de 0,130(mg EAG/ g), et largement inférieur à celle trouvée par (Tsai et al., 2007) qui est de l'ordre de 128(mg EAG/ g). Par conséquent, nos résultats indiquent que les feuilles de *Rosmarinus* contiennent des faibles quantités de flavonoïdes.

### V.7. Dosage des Tanins



**Figure 15 :** teneur en Tanins de *R.officinalis-L*

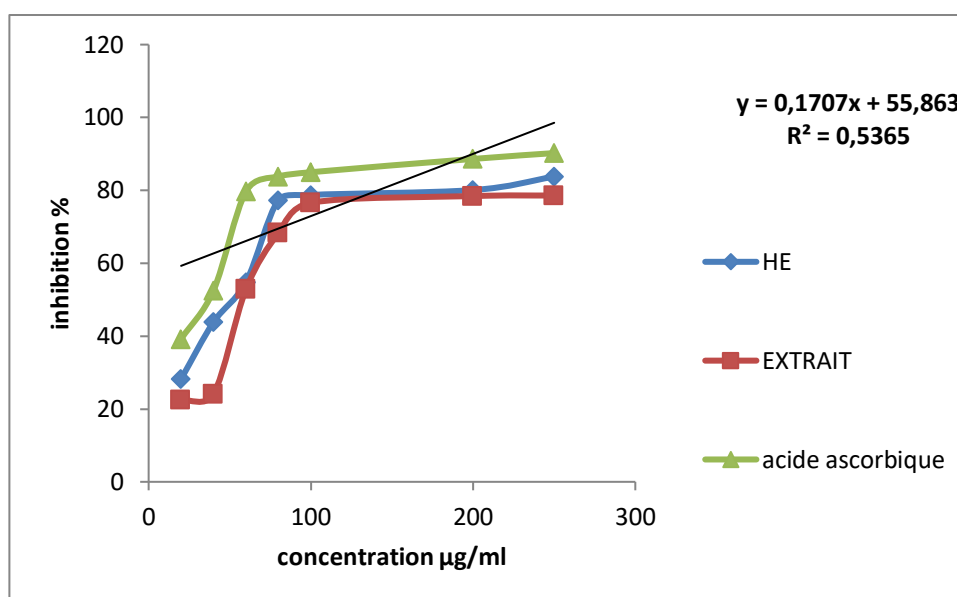
Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide catechine par gramme de matière sèche (mg EAG/ g). La teneur en tanins de HE de romarin est de 84,4(mg EAG/ g).

La teneur en tanins de l'extrait de romarin est de 67,7(mg EAG/ g). cette valeur est bien supérieure à celle trouvée par (Kabubii et al., 2023) est de l'ordre de 19.88 mg EAG/ g).

Nos résultats indiquent que les feuilles de *Rosmarinus* contiennent des quantités importantes de tanins.

### V.8.L'activité antioxydant

Les résultats obtenus permettent de tracer la courbe du pourcentage d'inhibition en fonction de Concentration d'huile essentielle et d'extrait aqueux.



**Figure 16 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre de DPPH en fonction des concentrations de Huile Essentielle et l'extrait aqueux

Selon les résultats obtenus, le pourcentage d'inhibition des radicaux libres augmente avec concentration d'huile essentielle et d'extrait aqueux

A une concentration 250µg/ml, HE d' *Rosmarinus Officinalis* présente l'activité la plus élevée avec un taux d'inhibition de 83,76%. Un pouvoir antioxydant proche à celui du standard (90,23%)

Des études ont montré que, HE d' *Rosmarinus Officinalis* l'inhibe les radicaux DPPH à un taux de 62,45% (Wnag et al., 2008) ce dernier est inférieur à ce que nous avons trouvé 83,76%

Selon (vassiliki et al.,2008) le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est de 91,7%, ce qui est supérieur de la valeur que nous avons trouvé 83,76%.

A une concentration 250µg/ml, l'extrait aqueux d' *Rosmarinus Officinalis* présente l'activité la plus élevée avec un taux d'inhibition de 78,59%. Un pouvoir antioxydant très éloigné à celui du standard (90,23%)

Des études ont montré que l'extrait aqueux inhibent les radicaux DPPH à un taux de 86.76 % (Karouche et al., 2021) Ce dernier est supérieur à ce que nous avons trouvé.

Selon (Makhloufi, 2010) le pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* est de 79,62%, ce qui est très proche de la valeur que nous avons trouvé 78,59%.

Les différences observées entre les résultats obtenus par nos propres études (HE et L'extrait aqueux) et d'autres études peuvent s'expliquer par l'utilisation de différentes méthodes, la variabilité des échantillons, l'influence des conditions de stockage, les techniques d'analyse utilisées.

### V.8.1. Calcul des IC50

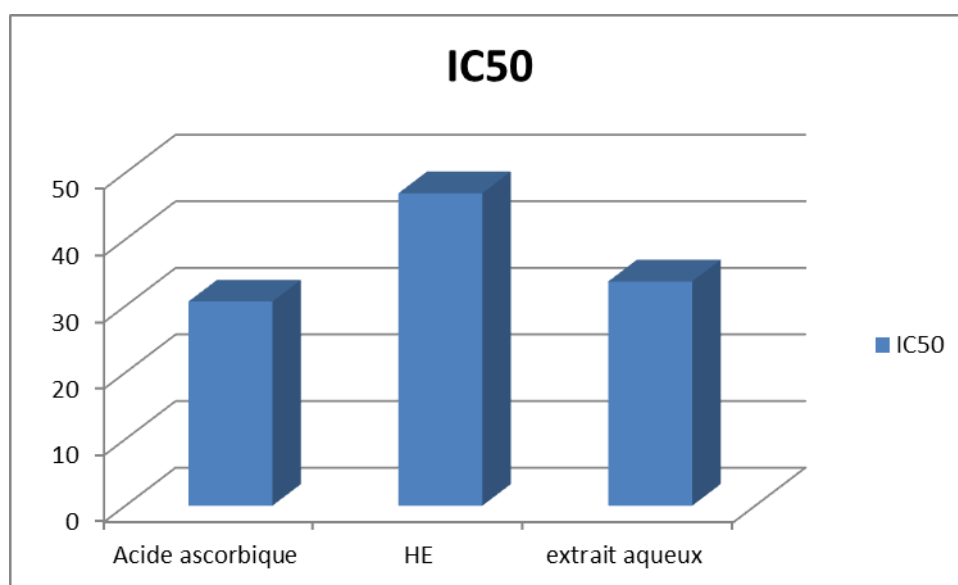


Figure 17 : les valeurs d'IC50

Les résultats des IC50 montre que l'huile essentielle de romarin est doté d'une valeur d'IC50 égale 46.92 mg/ml .Et l'extrait aqueux est doté d'une valeur d'IC50 égale 33.67 mg/ml. Ces valeurs sont comparées à celle de l'acide ascorbique qui égale 30,66 mg/ml.

Les valeurs d'IC50 sont représentatives de l'efficacité de l'huile essentielle et de l'extrait et de l'acide ascorbique à l'inhibition du radical DPPH, elles expriment la concentration d'antioxydant requise pour neutraliser 50% du radical libre initial. Une IC50 plus faible traduit une activité anti radicalaire plus prononcée pour un composé donné (Ouibrahim et al., 2015)

La détermination des IC50 des deux extraits et de l'acide ascorbique permet de conforter l'ensemble de nos observations.

- Donc on déduit que :

L'IC50 de l'extrait aqueux est plus proche à l'IC50 de l'acide ascorbique par rapport à celle de l'huile essentielle.

L'IC50 d'huile essentielle est supérieur à celle de l'acide ascorbique

Alors l'huile essentielle à un pouvoir antioxydant plus fort que l'extrait aqueux.

## V.9.L'activité antimicrobienne

### V.9.1.L'activité antibactérienne

On a évalué l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et l'extrait aqueux contre les bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli*)

Les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés d'huile essentielle et d'extrait aqueux des feuilles de la plante *Rosmarinus officinalis* ont été mesurées après 24 heures d'incubation à 37°C.

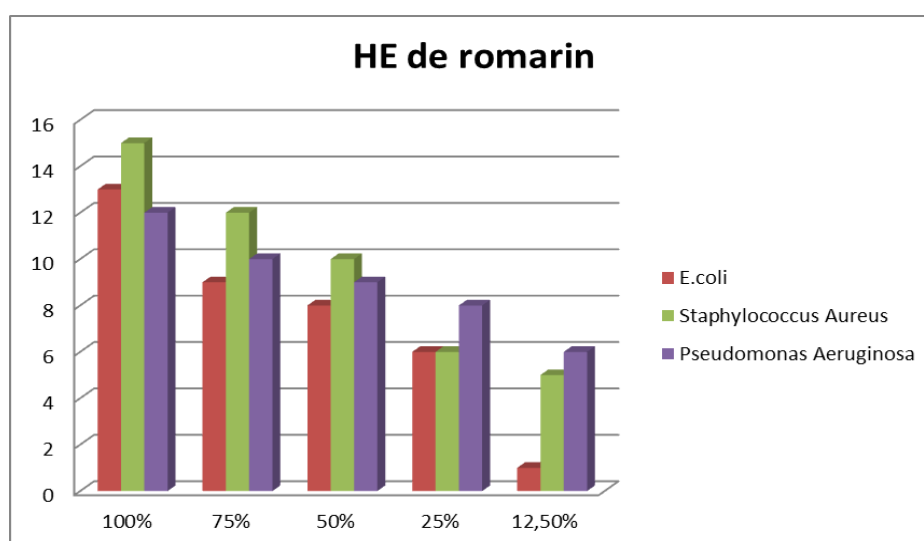
Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 12 :** Sensibilité des souches microbiennes testées vis à vis les deux extraits

Souches Bactériennes	Sensibilité des souches microbiennes									
	Huile essentielle					Extrait aqueux				
	100% S.M	75%	50%	25%	12,5%	100% S.M	75%	50%	25%	12,5%
<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus Aureus</i>	++	+	+	-	-	+	+		-	-
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Les résultats de l'effet antibactérien de deux extraits huile essentielles et extrait aqueux de romarin ont été interprétés comme suit :

## ➤ Avec l'huile essentielle :



**Figure 18:** Les zones d'inhibition d'HE de *R.officinalis-L* sur les souches microbiennes testées

Les résultats montrent que *E.coli* est sensible pour la concentration 100%, sensible avec les concentrations 75% et 50%, et résistante pour les solutions 25% et 12.5%, selon (Mouas et al., 2017).

Les résultats montrent que *Staphylococcus aureus* est très sensible pour les concentrations 100%, 75%, 50% et résistante pour les deux dernières concentrations. Selon (Mouas et al., 2017).

Les résultats montrent que *Pseudomonas aeruginosa* est sensible pour les concentrations 100%, 75%, 50% et résistante pour les autres concentrations. Selon (Mouas et al., 2017).

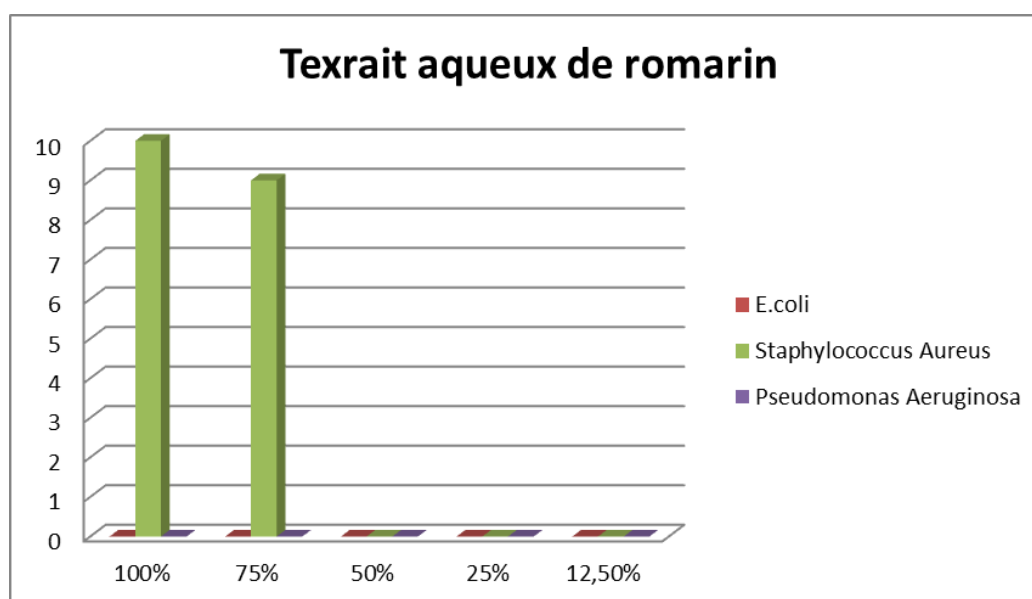
Notre résultat est identique à celui obtenu par (Mouas et al., 2017), et les résultats obtenus par (Makhloufi, 2010) qui confirme la sensibilité des *Staphylococcus aureus* et *E. coli*, contrairement à nos résultats, nous avons également constaté que *Pseudomonas aeruginosa* était sensible à l'huile essentielle de romarin.

Nos résultats indiquent que les souches de *Staphylococcus aureus*, qui est une bactérie à Gram positif, présente une sensibilité plus élevée à l'huile essentielle que les souches de bactéries à Gram négatif telles que *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

D'après (Mouas et al., 2017) La forte résistance des bactéries Gram négatif à l'huile essentielle découle de la complexité de leur enveloppe cellulaire, caractérisée par une double

membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram positif. Donc, on peut déduire que les huiles essentielles sont actives sur les souches bactériennes testées.

➤ Avec l'extrait aqueux de romarin :



**Figure 19** : les zones d'inhibition de l'extrait aqueux de *R.officinalis-L* sur les souches microbiennes testées.

Après les résultats exprimés dans le tableau précédent, on remarque que les études de l'effet antibactérien des bactéries *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* n'a montrées aucun diamètre de zone d'inhibition. Alors ces résultats montrent que ces bactéries sont résistantes contre l'extrait aqueux du Romarin, donc ce dernier n'a aucun pouvoir antibactérien sur ces souches bactériennes.

Les résultats indiquent que *Pseudomonas aeruginosa* est sensible pour les concentrations 100% et 75%, et résistante contre les trois dernières concentrations.

- A partir des résultats obtenus on remarque que :

L'huile essentielle de romarin a un pouvoir antibactérien plus élevé que L'extrait aqueux obtenu par décoction (presque inexistant)

Les souches bactériennes testées sont sensible au l'huile essentielle, cette sensibilité est différente selon les souches étudiées et les concentrations.

Les souches bactériennes sont résistantes contre l'extrait aqueux de romarin (à l'exception les *Staphylococcus aureus* à des concentrations élevées).

Notre résultat obtenus est confirmé avec celle trouvé par (Karouche et al.,2021).

### V.9.2.L'activité antifongique

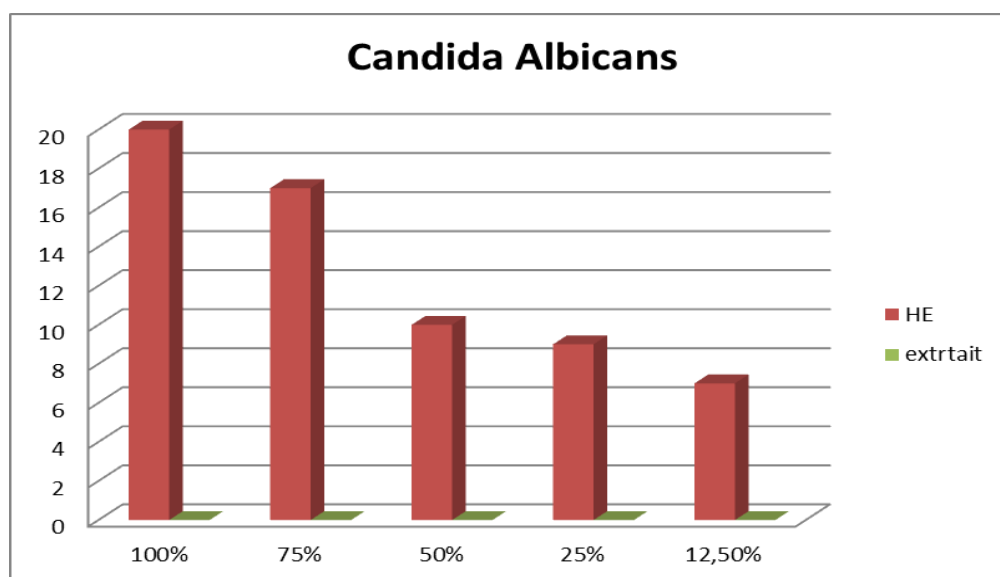
On a évalué l'activité antifongique de l'huile essentielle et l'extrait aqueux contre leveur (*Candida albicans*).

Les zones d'inhibition observées autour des disques imprégnés d'huile essentielle et d'extrait aqueux des feuilles de la plante *Rosmarinus officinalis* ont été mesurées après 48 heures d'incubation à 37°C.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous

**Tableau 13:** Sensibilité de souche fongique testée vis à vis les deux extraits.

Souche Fongique	Sensibilité de souche fongique									
	Huile essentielle					Extrait aqueux				
	100% S.M	75%	50%	25%	12,5%	100% S.M	75%	50%	25%	12,5%
<i>Candida Albicans</i>	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-



**Figure 20 :** les zones d'inhibition de l'extrait aqueux et HE de *R.officinalis-L* sur la souche fongique.

Pour l'huile essentielle, les résultats indiquent que la levure *Candida albicans* est Extrêmement sensible pour la solution mère, et très sensible pour la concentration 75%,

sensible pour la concentration 50%, 25% et résistante contre l'extrait pour la concentration 12.5 %.

(El Mansouri et Moutaj, 2013) a également trouvé que cette souche fongique *Candida albicans* est très sensible au huile essentielle de romarin avec un taux d'inhibition de 100%

L'extrait aqueux a produit des zone d'inhibition de diamètre 0mm pour toutes les concentrations ce qui indique que la souche fongique étudiée est résistante à cet extrait.

Cette étude de l'activité antifongique de différents extraits de romarin indique que :

La levure *Candida albicans* est sensible à l'huile essentielle de romarin, et résistante contre l'extrait aqueux obtenu par décoction

L'huile essentielle de romarin a une forte activité antifongique par rapport à l'extrait aqueux.

### V.10.Evaluation de la protection contre l'hémolyse (stabilisation membranaire)

L'activité anti hémolytique des HE de plante étudiée a été testée contre des érythrocytes humains normaux.

$$\text{pourcentage d'inhibition}\% = \frac{0,530 - 0,281}{0,530} \times 100 = 46,98\%$$

Le taux d'inhibition de l'hémolyse de 46,98% pour l'huile essentielle de romarin montre qu'elle a un effet protecteur sur les globules rouges, réduisant leur rupture. Cela montre l'efficacité modérée des huiles essentielles dans la prévention de l'hémolyse, avec des applications thérapeutiques potentielles.

Un grand nombre de composés de différentes sources ont été jugés comme responsables de l'hémolyse in-vitro. Parmi celles-ci figurent les substances dérivées des plantes (Gandhi et Cherian, 2000).

## V.11. Les résultats de contrôle de qualité de la pommade

### V.11.1. Les analyses physicochimiques ET qualitatives de la pommade formulée

Nous avons déterminé les paramètres suivants :

#### A. Couleur et odeur

La pommade a une couleur verte et une saveur d'huile essentielle de romarin.

#### B. Homogénéité

La méthode de préparation de la pommade a permis d'obtenir une très bonne homogénéité.

#### C. Teste de solubilité

Les résultats de solubilité sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 14** : résultats de test de solubilité de pommade

Solvants	Solubilité
L'eau	Insoluble
L'éthanol	partiellement dissoute
Huile végétale	Soluble

#### D. Consistance

La pommade a une consistance semi-solide .elle est à l'aire douce après l'avoir pris elle se ramollit immédiatement au contact de la peau ; la pommade se dissimule de la en deux à trois minutes.

#### E. Mesure de pH

Notre pommade a un ph de l'ordre de 5 cette valeur est acceptable dans la majorité des pommades et des crèmes (4.70 à 5.5) .et cette valeur est proche à celle de la peau (4.7 à 5.75).

## F. Teneur en eau

La teneur moyenne en eau de la pommade a été de 3,13% est cela est conforme aux normes United States Pharmacopeia inférieure à 5%.

## G. Teneur en cendres

Après l'incinération de pommade le les creusets sont pesés et le taux de cendres est calculé, et la teneur moyenne en cendres de notre pommade est 3,6% Et cela est conforme aux normes de la pharmacopée inférieure à 5 %.

## H. Stabilité

La pommade est conservée à différentes conditions en termes de température, d'humidité et d'éclairage.

La pommade mise dans le réfrigérateur : On a marqué une teneur en eau de 3% et 4,9 comme valeur de PH, aucun changement de couleur.

La pommade mise à l'aire libre : on a marqué l'augmentation de teneur en eau (3,5%), la valeur de PH été marqué 4,7 et aucun changement de couleur.

Donc, la pommade est stable, mais à des températures supérieures à  $>30^{\circ}\text{C}$  elle commence à fondre et se dissoudre complètement à la température de  $70^{\circ}\text{C}$ .

### V.11.2. Contrôle qualité Microbiologique

Le tableau suivant présente les résultats des analyses microbiologiques de notre pommade comparée à des normes Algériennes.

**Tableau 15** : résultats des analyses microbiologiques de la pommade

Test	Normes	Résultats	Conformité
<i>E. coli</i>	Absence dans 1g	Absence	Conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence dans 1g	Absence	Conforme
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Absence dans 1g	Absence	Conforme
les coliformes totaux	Absence dans 1g	Absence	Conforme

---

---

Levures ( <i>Candida albicans</i> )	Absence dans 1g	Absence	Conforme
-------------------------------------	-----------------	---------	----------

---

D'après le tableau des résultats des analyses microbiologiques de la pommade on remarque l'absence totale des germes pathogènes. Donc selon le règlement technique fixant les critères microbiologiques de la pommade notre pommade est stérile

### **V.11.3. Résultats obtenus auprès de personnes souffrant de douleurs articulaires**

Les résultats obtenus auprès d'un groupe de personnes souffrant de douleurs articulaires ont montré que l'utilisation de la pommade a permis de soulager progressivement la douleur au fil du temps. Les utilisateurs ont constaté une nette amélioration de leur état après s'être engagés à utiliser le produit pendant une période déterminée, ce qui indique son efficacité pour soulager les symptômes associés aux douleurs articulaires.

# *Conclusion*

## Conclusion

---

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé les bienfaits des soins par les plantes médicinales. Afin de soigner toutes sortes de maladies. Et le monde végétal reste toujours une source très importante des principes actifs dotés de diverses propriétés thérapeutiques, dont l'utilisation médicale des extraits +cela pour leurs nombreuses propriétés médicinales. Notre travail porte sur une espèce de la famille des lamiacées: le *Rosmarinus officinalis*. Largement répandue dans notre pays, le genre *Rosmarinus* a fait l'objet d'un grand nombre d'études.

On peut conclure que :

- ✓ Le rendement en huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* était de 0,6 %. Le rendement en extrait aqueux était de 16 %.
- ✓ à travers un criblage phytochimique, on peut mettre en évidence la présence des saponines, des tanins, des flavonoïdes, et des Quinones. Tandis qu'on a marqué l'absence totale des sucres réducteurs.
- ✓ L'analyse de dosage des polyphénols totaux par le réactif de Folin-ciocalteu dans l'extrait aqueux obtenu et l'huile essentielle a révélé que le romarin contient 314,3 (mg EAG/ g) ; 331,1 (mg EAG/ g) respectivement.
- ✓ L'analyse de dosage des flavonoïdes totaux par la méthode d'AlCl<sub>3</sub> dans l'extrait aqueux obtenu et l'huile essentielle a révélé que le romarin contient 24,08 (mg EAG/ g) ; 23,5(mg EAG/ g) respectivement.
- ✓ L'analyse de dosage des tanins par vanilline dans l'extrait aqueux obtenu et l'huile essentielle a révélé que le romarin contient 67,7(mg EAG/ g) ; 84,4(mg EAG/ g) respectivement.
- ✓ L'activité antioxydante des extraits, a été déterminée par la méthode DPPH avec des pourcentages d'inhibition de 83.76% pour l'huile essentielle et de 78.59% pour l'extrait aqueux .L'étude menée sur l'activité antioxydante et antiradicalaire du romarin a permis de mettre en évidence les propriétés bénéfiques de cette plante médicinale. Les résultats obtenus ont montré que les extraits de romarin possèdent une capacité significative à neutraliser les radicaux libres et à inhiber les processus d'oxydation, ce qui confirme son potentiel en tant qu'agent antioxydant naturel.
- ✓ L'activité antimicrobienne des extraits du romarin a été évaluée sur Trois souches bactériennes (*Pseudomonas Aeruginosa* ; *E. coli* ; *Staphylococcus aureus*) et une souche fongique (*candida albicans*) par la méthode de diffusion sur disques. Les résultats obtenus tout au long de ce test ont montré que les souches testées sont sensible à l'huile essentielle du romarin et la sensibilité de *Staphylococcus aureus* au

## Conclusion

---

extrait aqueux et la résistance de *Pseudomonas Aeruginosa* et *E. coli* à ce dernier. on a arrivé que la souche fongique est sensible au huile essentielle mais résistante au l'extrait aqueux.

- ✓ L'évaluation de l'activité hémolytique d'huile essentielle de romarin a montré son efficacité dans la prévention de l'hémolyse.

On conclusion cette étude a mis en évidence les propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des différents extraits de romarin. Les résultats obtenus montrent que le romarin possède une activité antioxydante significative, ce qui pourrait être attribué à la présence de composés phénoliques. En outre, les extraits de romarin ont démontré une efficacité antimicrobienne notable contre plusieurs souches bactériennes et fongiques. Les analyses effectuées suggèrent que les principes actifs présents dans les extraits de romarin peuvent jouer un rôle crucial dans la neutralisation des radicaux libres et la suppression de la croissance microbienne. Ces avantages ouvrent la voie à des applications potentielles dans les domaines pharmaceutique et alimentaire, où les extraits de romarin pourraient être utilisés comme agents naturels de conservation et de protection.

En perspective dans le cadre de valoriser ces résultats, il est intéressant de :

- \_ Recherche de l'activité antidiabétique et antioxydante in vivo.
- \_ recherche de l'activité anti-inflammatoire.

*Références*  
*bibliographiques*

- **Abedini, A. (2013).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'*Hyptis atrorubens* Poit. (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes (Doctoral dissertation, Université du Droit et de la Santé-Lille II).
- **Arif, T., Bhosale, J. D., Kumar, N., Mandal, T. K., Bendre, R. S., Lavekar, G. S., et Dabur, R. (2009).** Natural products–antifungal agents derived from plants. *Journal of Asian natural products research*, 11(7), 621-638.
- **BAGHIOUL, F. (2019).** Bio-décontamination en agro-alimentaire par des molécules bio-actives naturelles d'une plante médicinale : *Rosmarinus officinalis*, université BadjiMokhtar\_Annaba.
- **Baser, K. H. C., et Buchbauer, G. (2009).** Handbook of essential oils: science, technology, and applications. CRC press.
- **Bassolé, I. H. N., et Juliani, H. R. (2012).** Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 17(4), 3989-4006.
- **Bene, K., Camara, D., Soumahoro, I. A., Kanga, Y., et Zirihi, G. N. (2017).** Formulation galénique d'une pommade antimicrobienne à base d'un extrait hydroalcoolique de *Bersama abyssinica* Fresen. Melianthaceae). *Ethnopharmacologia*, 58, 24-33.
- **Besombes, C. (2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermo-mécanique d'herbes aromatiques: applications généralisées (Doctoral dissertation, Université de La Rochelle).
- **Bilto, Y. Y., et Alabdallat, N. G. (2015).** In vitro and in vivo antioxidant related effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) extracts in humans. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 3(5), 213-221.
- **Bohui, P. S. G., Adima, A. A., Niamké, F. B., et N'Guessan, J. D. (2018).** Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales: *Azadirachta indica* et *Psidium guajava*. *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, 46, 50-58.

- **Boizot, N., et Charpentier, J. P. (2006).** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le Cahier des Techniques de l'INRA, In: Numéro spécial, 79-82.
- **Bouhaddouda, N. (2016).** Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local: *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Diplôme de Doctorat, Univ Badji Mokhtar, Annaba.
- **Boukhatem, M. N., Ferhat, A., et Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature. Une, 3(4), 1653-1659.
- **Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).
- **Buronzio, A. (2008).** Grand guide des huiles essentielles. Hachette Pratique.
- **Couderc, V. (2001).** Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation).
- **Couic-Marinier, F., et Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. Actualités pharmaceutiques, 52(525), 22-25.
- **Cowan, M. M. (1999).** Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews, 12(4), 564-582.
- **Cuba, R. (2001).** Toxicity myths essential oils and their carcinogenic potential. International Journal of Aromatherapy, 11(2), 76-83.
- **Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie (Doctoral dissertation).
- **Dinesh, R.** "Rosemary." Indian Institute of Spices Research Calicut, Kerala, Indi.
- **El Mansouri, K., et Moutaj, R. (2013).** Recherche et évaluation de l'activité antifongique des extraits de plantes médicinales (Doctoral dissertation, Université Cadi Ayyad).

- **FEKIH, N. (2015).** Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre *Pinus* poussant en Algérie (Doctoral dissertation).
- **Ghedira, K. (2005).** Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4), 162-169.
- **Goetz, P., et Ghedira, K. (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer.
- **Himour, S., Yahia, A., Belattar, H., et Bellebcir, L. (2016).** Etude phytochimique des feuilles d'*Olea europaea* L. var *Chemlel* d'Algérie. *J. of Biores. Valorization*, 1(1), 34-38.
- **Houël, E. S. (2011).** ETUDE DE SUBSTANCES BIOACTIVES ISSUES DE LA FLORE AMAZONIENNE Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara* L. (Simaroubaceae) et de *Psidium acutangulum* DC. (Myrtaceae) utilisées en Guyane française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolomique d'huiles essentielles à activité antifongique (Doctoral dissertation, Université des Antilles-Guyane).
- **Ilbert, H., Hoxha, V., et Sahi, L. (2016).** Le marché des plantes aromatiques et médicinales: analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie [Rapport final] (Doctoral dissertation, CIHEAM-IAMM; FranceAgriMer).
- **Ismaili, R., Lanouari, S., Lamiri, A., et Moustaid, K. (2021).** Étude ethnobotanique de plantes aromatiques et médicinales Marocaines. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 34(2), 403-413.
- **Kabubii, Z. N., Mbaria, J. M., Mathiu, M. P., Wanjohi, J. M., et Nyaboga, E. N. (2023).** Evaluation of seasonal variation, effect of extraction solvent on phytochemicals and antioxidant activity on *Rosmarinus officinalis* grown in different agro-ecological zones of Kiambu County, Kenya. *CABI Agriculture and Bioscience*, 4(1), 1.
- **Kachmar, M. R., Naceiri Mrabti, H., Bellahmar, M., Ouahbi, A., Haloui, Z., El Badaoui, K., ... et Chakir, S. (2021).** Traditional knowledge of medicinal plants used in the Northeastern part of Morocco. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(1), 6002949.
- **Kamsi, L. N., Mengome, L. E., Aboughe-Angone, S., et Engonga, P. E. (2020).** Etude phytochimique de *Senna occidentalis* (L.) Link et *Cissus quadrangularis* (Linn)

deux Plantes Médicinales Gabonaises Utilisées Contre la Filaire Loa Loa. *European Scientific Journal ESJ*, 16, 21.

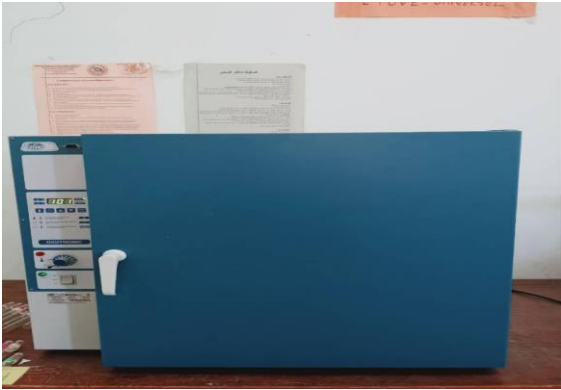
- **Karouche, S., Henouda, S., Benbott, A., et Mihrab, K. (2021).** Contribution à l'étude des substances bioactives et des activités biologiques de l'espèce *Rosmarinus officinalis*-L. *International Journal of Natural Resources and Environment*, 3(1), 53-60.
- **KHOLKHAL, F. (2014).** Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus* (Doctoral dissertation).
- **Kouider, H. A. D. J. A. D. J., Mohammed, B., Mohammed, M., Abdelkader, O., et Abdelkarim, R. A. H. M. O. U. N. E. (2019).** Importance des plantes médicinales pour la population rurale du parc national de Djebel Aissa (Sud-ouest algérien). *Lejeunia, Revue de Botanique*.
- **Labu, Z. K., Laboni, F. R., Tarafdar, M., Howlader, M. S. I., et Rashid, M. H. (2015).** Membrane stabilization as a mechanism of anti-inflammatory and thrombolytic activities of ethanolic extract of arial parts of *Spondiasis pinanata* (Family: Anacardiaceae). *Pharmacologyonline*, 2, 44-51.
- **Lakehal, S. (2016).** Extraction et caractérisation des composés secondaires de deux plantes: Armoise blanche (*artemisia herba-alba* Asso.) et romarin (*rosmarinus officinalis* L) de la région de djelfa. effets thérapeutiques et biopesticides.
- **Leplat, M. (2017).** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale.
- **Makhloufi, A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante 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. Mémoire d'obtenir le grade de doctorat d'état en biologie. Université Aboubaker Belkaid. Bechar P, 166.
- **Mesfin, K., Tekle, G., et Tesfay, T. (2013).** Ethnobotanical study of traditional medicinal plants used by indigenous people of Gemad District, Northern Ethiopia. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 1(4), 32-37.
- **Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., et Gianni, L. (2004).** Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacological reviews*, 56(2), 185-229.

- **Monzie, M. (2008).** Romarin *Rosmarinus officinalis* L. Alternatives Agricoles à l'arrachage de la vigne.
- **Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., et Chaouia, C. (2017).** Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* L. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.
- **Neffati, M., et Sghaier, M. (2014).** Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). *Observatoire du Sahara et du Sahel: Tunis, Tunisia*.
- **Oloyede, O. I. (2005).** Chemical profile of unripe pulp of *Carica papaya*. *Pakistan journal of nutrition*, 4(6), 379-381.
- **Ouibrahim, A., Kaki, Y. T. A., Bennadja, S., Mansouri, R., Kaki, S. A., Khbizi, S., et Djebbar, M. R. (2015).** Activité antioxydante et anti-candidosique de l'huile essentielle de *Laurus nobilis* L. provenant de la région d'El Kala (Nord-Est Algérien). *Algerian Journal Of natural Products*, 3(3), 209-216.
- **Outaleb, T. (2010).** "Huiles essentielles et extraits de romarin."
- **OUTALEB, T. (2016).** Extraits de romarin d'Algérie (*Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* De Noe), ENSA.
- **Rasulov, I. (2023).** DISTRIBUTION, DESCRIPTION AND AGRICULTURAL TECHNOLOGY OF ROSEMARY OFFICINALIS RASMORIN PHARMACY (*ROZMARINUS OFFICINALIS* L.). *Science and innovation*, 2(D5), 185-187.
- **Reyes-Jurado, F., Franco-Vega, A., Ramírez-Corona, N., Palou, E., et López-Malo, A. (2015).** Essential oils: antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*, 7, 275-297.
- **Richard, A. (2012).** Synthèse bibliographique de la phytothérapie et de l'aromathérapie appliquées à la dermatologie (Doctoral dissertation).
- **Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., et Bruni, R. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4), 621-632.
- **SAIDI, I. (2019).** Caractérisation et valorisation d'une plante de la famille des fabaceae: *Gleditsia triacanthos* de la région de Sidi Bel Abbès: Extraction des substances bioactives (Doctoral dissertation).

- **Stratakos, A. C., et Koidis, A. (2016).** Methods for extracting essential oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (pp. 31-38). Academic Press.
- **Taleb-Toudert, K. (2015).** Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERY).
- **TOUBAL (2021).** "étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante de romarin (*rosmarinus officinalis*)."
- **Tsai, P. J., Tsai, T. H., et Ho, S. C. (2007).** In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sobrinus*. *Food chemistry*, 105(1), 311-316.
- **Vella, F. M., et Laratta, B. (2023, October).** Rosemary Essential Oil Extraction and Residue Valorization by Means of Polyphenol Recovery. In *Biology and Life Sciences Forum* (Vol. 26, No. 1, p. 8). MDPI.
- **Vincken, J. P., Heng, L., de Groot, A., et Gruppen, H. (2007).** Saponins, classification and occurrence in the plant kingdom. *Phytochemistry*, 68(3), 275-297.
- **Wang, W., Wu, N., Zu, Y. G., et Fu, Y. J. (2008).** Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, 108(3), 1019-1022.
- **Yano, Y., Satomi, M., et Oikawa, H. (2006).** Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International journal of food microbiology*, 111(1), 6-11.
- **Sites web**  
[https://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus\\_officinalis](https://es.wikipedia.org/wiki/Rosmarinus_officinalis).  
[https://fr.getamap.net/cartes/algeria/algeria\\_\(general\)/\\_elhassania/](https://fr.getamap.net/cartes/algeria/algeria_(general)/_elhassania/)  
<https://fr.db-city.com/Alg%C3%A9rie--A%C3%AFn-Defla--Bathia--El-Hassania>  
<https://www.htds.fr/sciences-analytiques/spectrometrie-de-masse/gc-ms/>

# *Annexes*

Annexes 1 : appareils de laboratoire



**Figure 21** : Incubateur



**Figure 22** : centrifuge



**Figure 23** : Spectrophotomètre



**Figure 24** : Four à moufles

Annexes 2 :

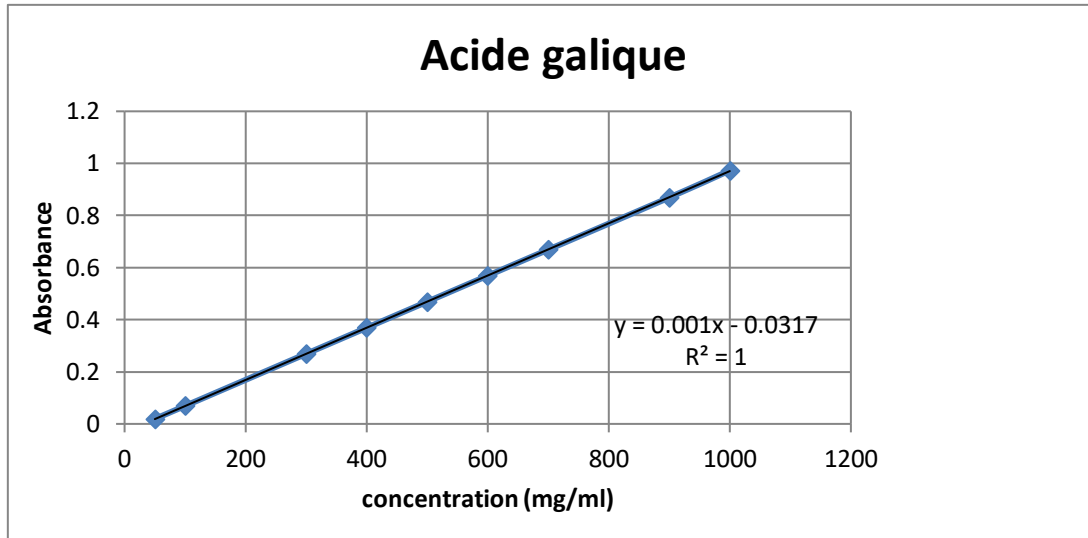


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Annexes 3 :

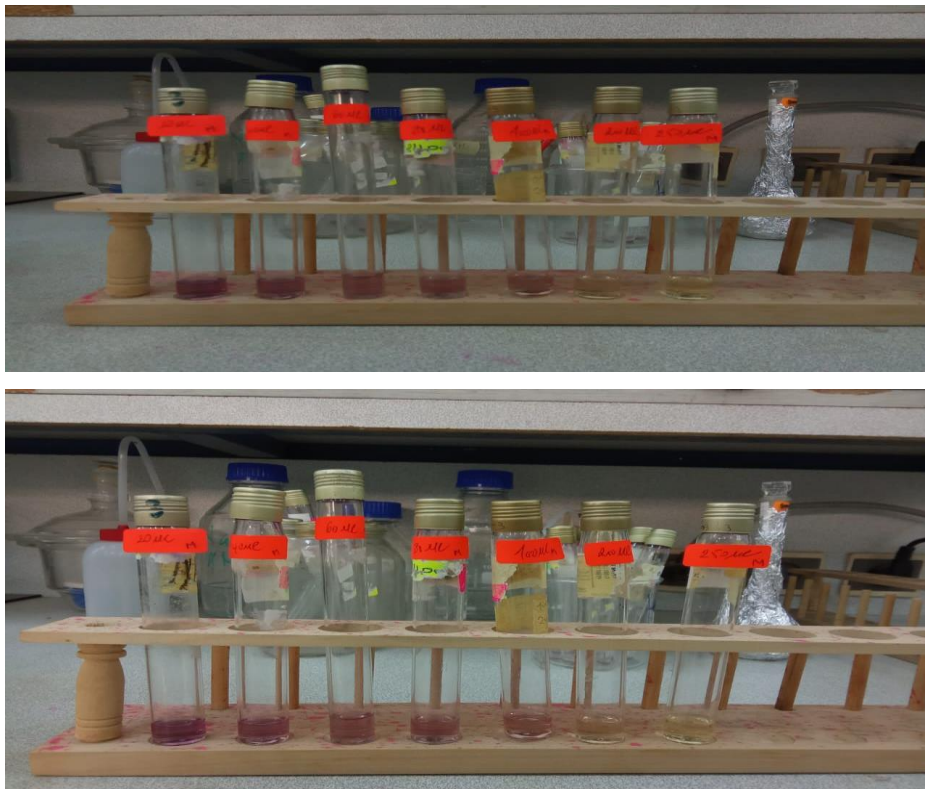
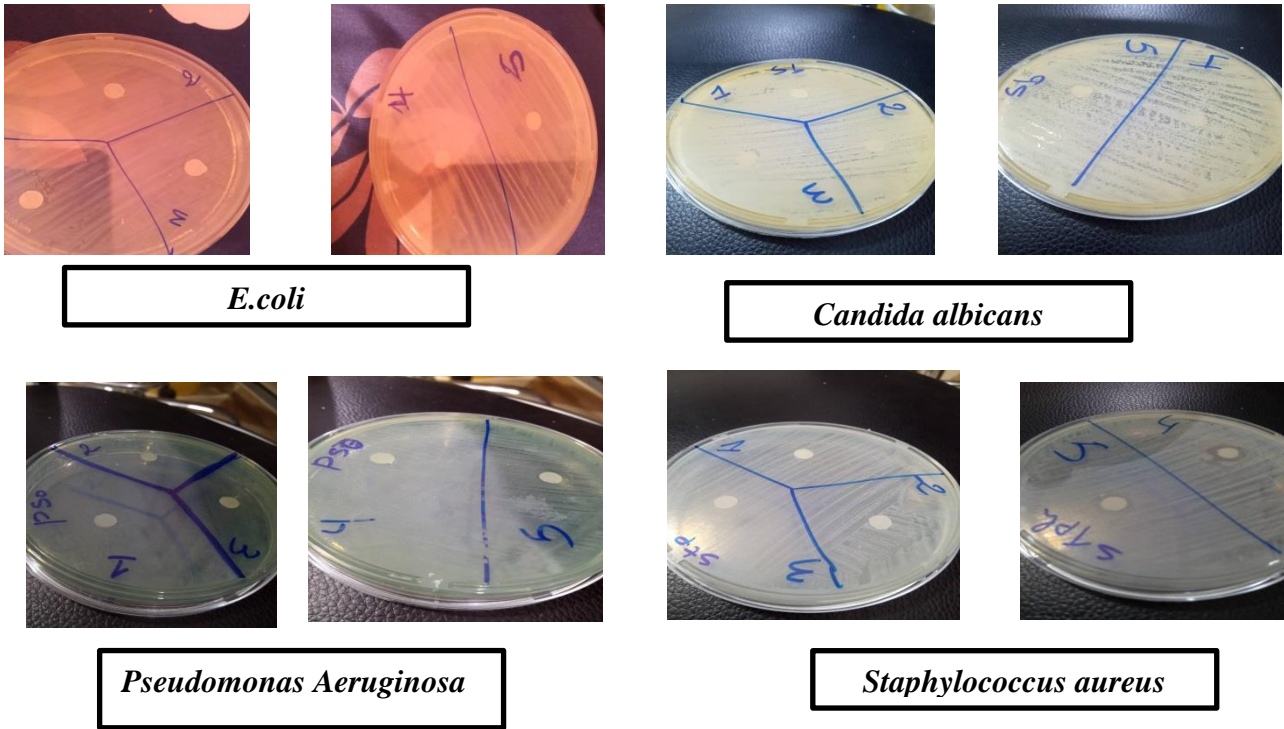
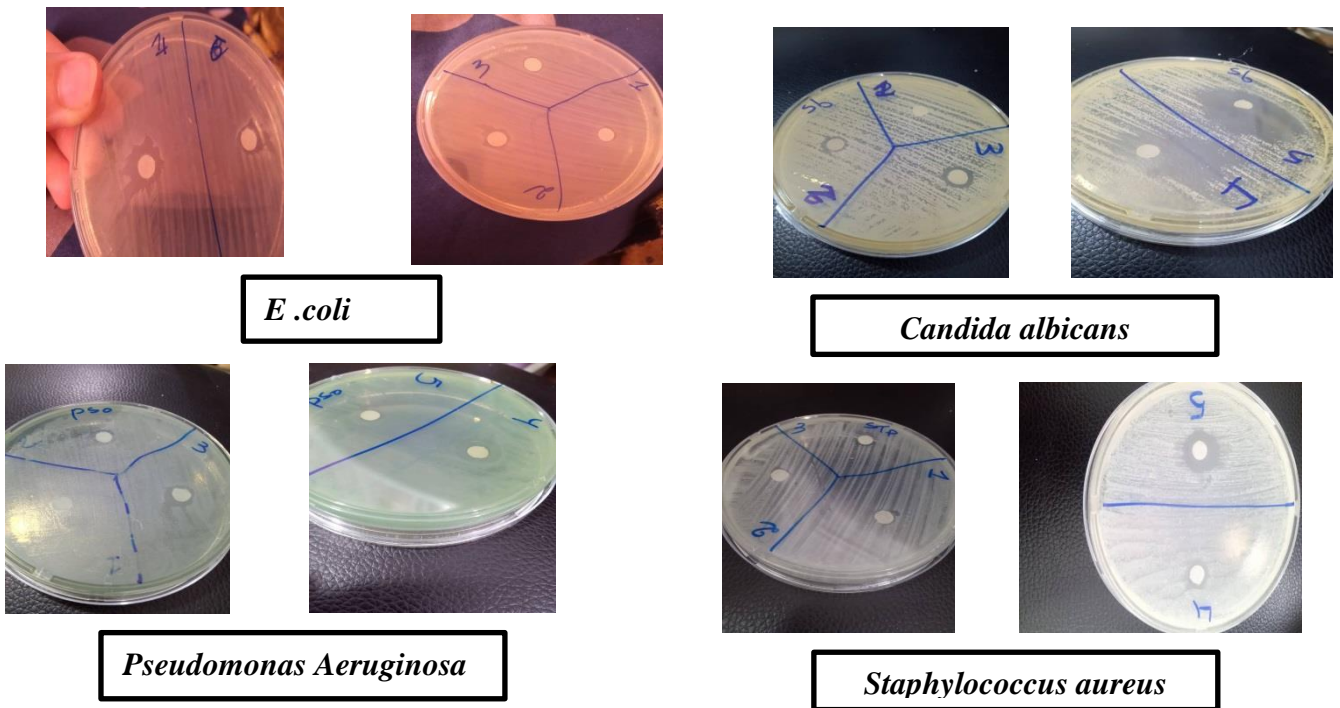


Figure 26 : Résultats du test DPPH pour HE et L'extrait aqueux

Annexes 3 :

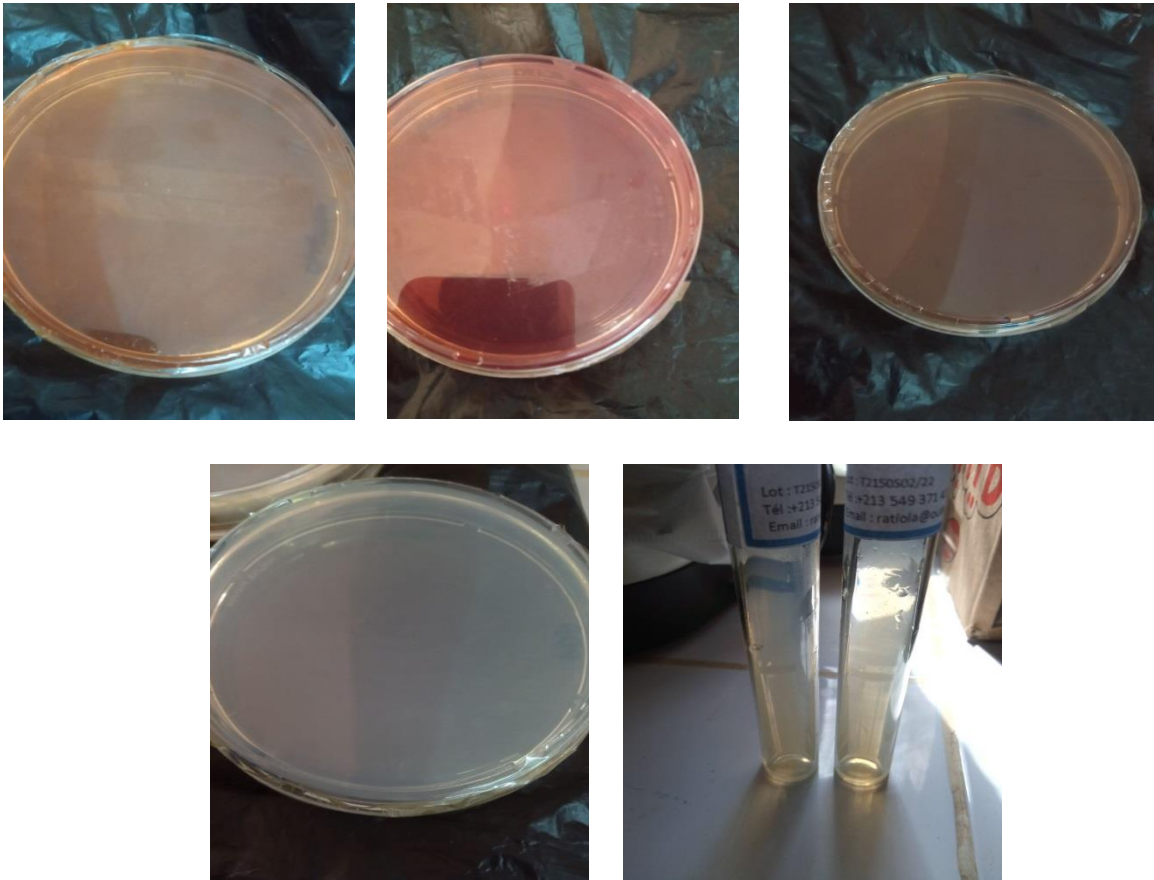


**Figure 27 :** Galerie de photos présentant les résultats de l'activité antimicrobiennes de l'extrait aqueux de *R.officinalis-L.*



**Figure 28 :** Galerie de photos présentant les résultats de l'activité antimicrobiennes d'HE de *R.officinalis-L.*

Annexe 4 :



**Figure 29 :** Galerie de photos présentant les résultats de résultats des analyses microbiologiques de la pommade