

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGR/2017



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Analyses biologiques et biochimiques

Présenté par :

CHIBAH Razika & LABANDJI Assia

Thème

*Extraction et caractérisation des huiles essentielles de
Rosmarinus officinalis et l'étude de quelques activités
biologiques*

Soutenu le : 01 / 07 / 2017

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mlle. BENSMAIL Souhila</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme. BOUTELDJA Razika</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme. DJOUAHRA Djamilia</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire: 2016/2017

REMERCIEMENTS

Nous remercions **ALLAH** le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience durant la réalisation de ce mémoire .

Tout d'abord nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciements à notre promotrice M^{me} **Bouteldja R.** maître assistante à l'université Akli Mohand Oulhadj d'avoir accepté de diriger ce travail ainsi que pour l'aide qu'elle nous apporté et pour sa rigueur scientifique et son intérêt constant qu'elle nous cessé d'accorder à l'orientation et à la réalisation de ce travail. Qu'elle trouve ici nos sentiments de gratitude.

Nous tenons à exprimer notre respectueuses remerciements à M^{elle} **Bensmail S.** maître assistante à l'université Akli Mohand Oulhadj pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant la présidence de jury de notre soutenance.

Nous remercions M^{me} **Djouahra D.** maître assistant à l'Université Akli Mohand Oulhadj d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et participer au jury.

On tient à remercier M^{me} **Saïd S.** directrice de laboratoire physicochimique et microbiologique de SAIDAL Dar El-Bida.

On tient à remercier aussi Mr **Djouidi S.** responsable au niveau de SAIDAL Dar al Bida, pour leur aide précieux, pour ses qualités humaines, qu'il trouve ici le témoignage de notre grand respect et notre estime.

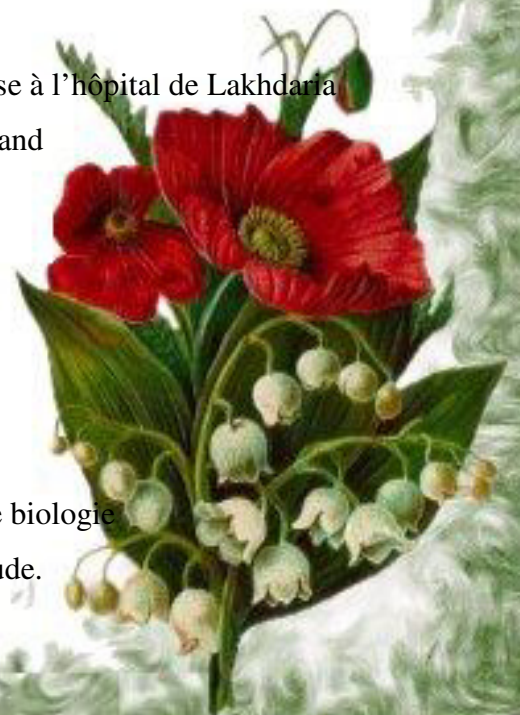
A tout le personnel de laboratoire physicochimique et microbiologique de SAIDAL Dar al Bida, on cite M^{me} **Ouahiba**, M^{me} **Samia**, M^{me} **Fahima** Qui ont contribué au bon déroulement de notre stage et pour leurs soutien et aide, ainsi que pour ses nombreux conseils.

Des remerciements particuliers sont avancés à Dr **Bournine L.** pour l'aide et les conseils qu'il nous prodigué.

Sans oublier de remercier Dr **Chikhi** le chef service d'hémodialyse à l'hôpital de Lakhdaria pour son aide, Mr **Adrar** maître assistant à l'université Akli Mohand Oulhadj pour son aide aussi notamment dans la pratique.

Notre remerciement s'adresse a tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué directement ou indirectement à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude et de reconnaissance infinie. Très cordialement.

Enfin on veut dire merci à tous les enseignants du département de biologie L'université de Bouira pour l'aide pendant notre formation d'étude.





DÉDICACES

*Je remercie **ALLAH** tout puissant
qui ma permet d'arriver à ce but.*

*C'est avec un très grand honneur que je dédie ce modeste travail
aux personnes les plus chères au monde :*

*À Mon père : **Ahmed.***

*À Ma mère : **Fatma.***

*À mes chers frères : **Abdel Rahim, Ali, Mohammed, Terek.***

*À mes chères sœurs : **Aicha, Mounia, Nora, Ratiba, Samira.***

Je dédie ce travail :

*À mon binôme **Assia.***

*À mon promotrice **Mme Bouteldja**, et à tous les profs de l'université d'UAMOB.*

*À mes amis et mes collègues : **Amina, Fatiha, Fozia, Hamama.***

À tous les étudiants de la première promo en Analyses biologiques et biochimiques.

À ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour.

À tous ceux qui aiment la science.

RAZIKA





DÉDICACES

Avant toute chose, je tiens à remercier ALLAH le tout puissant qui ma donnée la courage et la volonté pour achever ce modeste travail.

Je dédié ce modeste travail aux personnes les plus chers à mon cœur :

Spécialement à ma mère

Maman, les mots me manquent pour exprimer ma gratitude Tout ce que m'emploierais sera faible mais sache que pour nous vous avez toujours agit en une mère exemplaire .maman qu'ALLAH puisse vous apporter santé, bonheur, et longévité.

A mon très cher père

Je lui dédie avec fierté ce travail qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurais tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.

ma très cher frère :Halim

Ames adorables sœurs que j'aime beaucoup :Faiza ,Zineb, yasmine

A mon cher mari qui a su me pousser dans mes choix, et qui m'encourage toujours à aller plus loin, quoique cela nous coûte. Ta patience m'a toujours égayé même dans les moments les plus durs. Sans toi je ne serai pas arrivée jusque là.

A mes grandes mères et mon grand père.

A mes oncles et mes tantes.

A ma chère binôme :Razika .

Ames très chère amies : Besma, Hamama, Fatiha, Fosia, Soad, Khalida, Meriem.

A tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Et au final je tiens à remercier toute la section d'Analyse biologiques et biochimiques promotion 2017.

Assia



Table de matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction générale	1
Partie I : Etude bibliographique	
Chapitre I : Présentation <i>Rosmarinus officinalis</i>	
I. Présentation <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Dénomination interactionnelle.....	3
I.3. Description botanique.....	4
I.4. Taxonomie	6
I.5. Répartition géographique.....	6
I.6. Utilisation	6
Chapitre II : Les huiles essentielles	
II. Les huiles essentielles.....	7
II.1. Aperçu historique.....	7
II.2. Définition	7
II.3. Localisation de l'huile essentielle au niveau de la plante	8
II.4. propriétés organoleptiques.....	9
II.4.1. Aspect.....	9
II.4.2. Couleur.....	9
II.4.1. Odeur.....	9
II.5. propriétés physiques et chimiques.....	9
II.6. Composition chimique.....	10
II.7. Principales méthodes d'extraction	12
II.7.1Extraction par entrainement à la vapeur	12
II.7.2. Extraction par hydro distillation	13
II.7.3. Extraction par micro-ondes	13
II.8. Effets thérapeutiques des huiles essentielles	13
II.9. Domaines d'application des huiles essentielles	16
II.10. Toxicité des huiles essentielles.....	16
Chapitre III : Notions sur les pommades	

III. Notions sur les pommades.....	18
III.1. Définition.....	18
III.2. Intérêt thérapeutiques des pommades.....	18
III.3. Classification des pommades.....	18
III.4. Formulation	18
III.4.1. Principe actif	19
III.4.2. Excipient.....	19
III.4.2.1. Rôles des excipients.....	19
III.4.2.2. Propriétés des excipients	19
Partie II: Etude Expérimentale	
Chapitre I : Matériels et méthodes	
I. Matériel biologique	21
I.1. Plante.....	22
I.1.1. La récolte et le séchage	22
I.1.2. Broyage et conservation.....	22
I.2. Les souches microbiennes testées	22
II. Le screening phytochimique	23
II.1.Préparation de l'infusé	23
II.2.La révélation de la présence de quelques métabolites secondaires	23
III. Extraction des huiles essentielles	25
III.1.Protocole d'extraction des huiles essentielles.....	25
III.2. La détermination de rendement	26
III.3. Détermination de la teneur en eau	26
IV. Contrôle de qualités des huiles essentielles	26
IV.1.Mesure des indices physico-chimiques.....	26
IV.1.1. Mesure des indices physiques	26
IV.1.2. Mesure des indices chimiques	27
V. Analyse qualitatif par chromatographie en phase gazeuse	28
VI. Les activités biologiques des huiles essentielles.....	29
VI.1.Etude de l'activité antibactérienne.....	29
VI.2.Etude de pouvoir antiparasitaire	30
VII. Formulation d'une pommade	30
VII.1.Principe	30
VII.2. Composition de la pommade.....	31

VII.3. Contrôle de qualité de la pommade	31
VII.3.1. Analyse sensorielles	31
VII.3.2. Mesure de PH	31
VII.3.3. Test microbiologique de pureté	31
VII.4. Etude de l'effet anti inflammatoire et cicatrisant d'huile essentielle	32
Chapitre II : Résultats et discussion	
I. Screening phytochimique	33
II. Extraction par hydro distillation	35
II.1. Les propriétés organoleptiques	35
II.2. Détermination de rendement de l'huile essentielle.....	36
II.3. Détermination de l'humidité	36
II.4. Mesure des indices physicochimiques	37
II.4.1. Mesure des indices physiques	38
II.4.1.1. La densité relative.....	38
II.4.1.2. Le pouvoir rotatoire.....	38
II.4.2. Mesure des indices chimiques	38
II.4.2.1. Indice d'acide	38
II.4.2.2. Mesure de PH.....	38
II.5. Analyse qualitatif par chromatographie gazeuse	38
II.6. Les activités biologiques des huiles essentielles	40
II.6.1. Etude de pouvoir antibactérienne	40
II.6.2. Etude de pouvoir antiparasitaire	42
II.7. Formulation d'une pommade	43
II.7.1. Contrôle de qualité de pommade formulé	43
7.1.1. Analyse sensorielles	43
7.1.2. Mesure de PH	43
7.1.2. Test microbiologique de pureté	43
7.2. Etude de l'effet anti inflammatoire et cicatrisant	44
Conclusion	46
Références bibliographiques	47
Annexes	

Liste des figures

Figure 1: Le romarin cultivé.....	3
Figure 2: Les parties aériennes fleuries de <i>Rosmarinus officinalis</i> au niveau de région de Bouira	5
Figure 3 : Caractéristiques de <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
Figure 4: Structure chimique des composés actifs présents dans la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> L	11
Figure 5: Procédé d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur	12
Figure 6: Montage d'une distillation assistée par micro ondes	13
Figure 7: La démarche expérimentale.....	21
Figure 8: Conservation de la poudre	23
Figure 9 : Préparation de l'infusé à 10 %	24
Figure 10 : Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle...26	
Figure 11: Polarimètre de type JASCO.....	28
Figure 12: kyste hydatique dans la foie d'un bovin.....	31
Figure 13 : Aspect de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	38
Figure 14: Le taux d'humidité des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	39
Figure 15: Variation du rendement et de l'humidité en fonction de la durée de séchage	40
Figure 16: Virage de couleur	41
Figure 17 : La valeur du pH pour les huiles essentielles de <i>Rosmarinus Officinalis</i>	42
Figure 18: Les résultats obtenus par CPG.....	43
Figure 19: Résultats de l'activité antiparasitaire.....	46
Figure 20: Aspect de la pommade.....	46
Figure 21: Résultat de l'incubation de pommade dans le TSA.....	47
Figure 22 : Résultat de l'incubation de pommade dans le milieu SAB.....	47
Figure 23 : Résultats de d'effet anti inflammatoire et cicatrisant de la pommade formulée...48	

Liste des tableaux :

Tableau n° I Localisation des l'huiles essentielles chez quelques plantes	8
Tableau n° II: les effets thérapeutiques les plus répandues dans les huiles essentielles.....	14
Tableau n° III: Dose létale de quelque huile essentielle	17
Tableau n° IV: Les souches bactériennes testées.....	23
Tableau n° V : résultats du screening phytochimique des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35
Tableau n° VI : Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	37
Tableau n° VII: Rendement de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	38
Tableau n°VIII: La teneur en eau des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	39
Tableau n° IX: Les compositions biochimiques d'huile essentielle analysées par CPG.....	42
Tableau n° X : Les résultats obtenus de l'activité biologique.....	44



Introduction générale

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. **(Zeghad, 2009)**.

C'est dans cette perspective que nous sommes intéressés à étudier une plante poussant à l'état spontané dans notre pays, et qui n'est pas fréquemment employée par la population qui est le : *Rosmarinus officinalis*.

Le Romarin est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens.

Depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens **(Boullard, 2001)**.

Le romarin renferme une huile essentielle caractérisé par des propriétés antiasthmatique, anti-dysentérique, anti-inflammatoire, antinévralgique, antirhumatismale, antiseptique, Antispasmodique, anti-vertigineuse, anxiolytique, bronchodilatatrice, diurétique, gastroprocinétique **(Neves, 2009)** aussi un antioxydant for **(Erkan, 2009)**. De ce fait, l'amélioration du rendement en huile essentielle devient une nécessité primordiale. Ainsi, l'application des techniques statistiques telles que les plans d'expériences rend cette amélioration de plus en plus possible. Ces méthodes qui permettent l'expérimentation dans un nombre minimal d'expériences **(Zeboudj, 2005)** donnent aussi la possibilité du criblage des facteurs, du plus influent au moins influent, et l'optimisation des conditions opératoires afin d'avoir le résultat souhaité.

Notre travail a pour objectif d'étudier le screening phytochimique de l'huile essentielle de romarin à travers une étude des indices physicochimiques et une détermination de sa composition chimique avec une évaluation de différentes activités biologiques, ainsi que l'essai de formulation d'une pommade anti inflammatoire et cicatrisant à partir de cette huile.

Cette étude comporte trois parties essentielles :

Une première partie : consacré à l'étude bibliographique ; elle comporte trois chapitres ;

- Chapitre I : présentation de l'espèce étudiée (*Rosmarinus officinalis*).

Introduction générale

- Chapitre II : fait l'état des généralités sur les huiles essentielles.
- Chapitre III : se focalise sur des notions sur les pommades

La deuxième partie décrit la phase expérimentale ; il est réservé au mode d'extraction d'huile essentielle de cette plante, et aux différents analyses effectuées sur l'échantillon. Cette partie s'intéresse aussi à différentes activités biologiques.

La troisième partie est consacrée à la description et la discussion des résultats obtenus.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.



partie I :

Etude bibliographique

I. *Rosmarinus officinalis***I.1. Définition**

La flore Algérienne contient un nombre illimité de plantes présentant des vertus thérapeutiques.

Le *Rosmarinus Officinalis* (romarin) est une plante utilisée dans divers domaines tels que la médecine traditionnelle et la phytothérapie (Ayadi *et al.*, 2011). Il est aussi utilisé pour améliorer et stimuler la mémoire. Encore aujourd'hui en Grèce, les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (Boullard, 2001).

Le romarin est une plante très riche en huile essentielle, il est cultivé de nos jours à grande échelle en Espagne, en Italie, au Portugal, en France, au Maroc, en Tunisie et en Algérie (figure n°01), pour l'extraction de l'huile essentielle. La production mondiale actuelle se monte à environ 300 tonnes (Castellana et Jama, 2012).



Figure n° 01 : Le romarin cultivé (Monzie, 2008).

I.2. Dénomination internationale

Le nom latin *Rosmarinus* est interprété, comme dérivé de "*ros*" rosée et "*marinus*" appartenant à la mer autrement rosée marin (Guinochet, 1973).

Selon Goetz *et al.*, (2012), Le romarin porte les dénominations suivantes :

- Français : Encensier, herbe aux couronnes, romarin, romarin officinal.
- Anglais : Rosemary.
- Allemand : Romarin.

- Espagnol : Romani, Romero, Romé, Romero comun, Rosmario.
- Italien : Osmarino, Ramerino, Rosmarino, Usmarino.
- Arabe : Eklil.

I.3. Description botanique

Le romarin est un arbuste ou sous- arbrisseau aromatique qui supporte la chaleur, (**Benedicte, 2014**), il est reconnaissable de loin à son odeur pénétrante, ses fruits sont sous forme des tétrakènes (**De boree, 2012**), feuilles linéaires à marges révolutes, sessiles mesurant 2cm de longueur sur 2mm de largeur, verdâtre en dessus et tomenteuses en dessous, fleurs bleuâtres, disposées en grappes courtes, axillaires, brièvement pédicellées, bractées petites, caduques, calice à lèvre supérieure ovale et dont les lobes de la lèvre inférieure sont lancéolées, corolle bleue rarement blanche avec lèvre supérieure divisée en 2 segments et à lèvre inférieure à 3 lobes dont un médian plus large (figure n° 02) (**Beloued, 2012**).

Les caractéristiques de cette plante peuvent être résumées comme suit (figure n°03) (**Lepage Val de Loire, 2016**).

- **Couleur fleur** : Bleu foncé
- **Couleur feuillage** : vert
- **Hauteur** : 60 cm
- **Feuillaison** : Janvier – Décembre
- **Floraison(s)** : Mars - Mai
- **Type de feuillage**: persistant
- **Exposition** : soleil
- **Type de sol**: calcaire.



Figure n° 02: Les parties aériennes fleuries de *Rosmarinus officinalis* au niveau de région de Bouira (Source : Originale).



Figure n° 03 : Caractéristiques de *Rosmarinus officinalis* (Castellana et Jama, 2012).

I.4. Taxonomie (Tyler *et al.*, 1976)

- **Règne:** *Plantae*
- **Division:** *Magnoliophyta*
- **Classe:** *Magnoliopsida*
- **Ordre:** *Lamiales*
- **Famille:** *Lamiaceae*
- **Genre:** *Rosmarinus*
- **Espèce:** *Rosmarinus officinalis* L. 1753

I.5. Distribution géographique

Il s'agit d'une espèce qui se trouve dans toutes les contrées mondiales notamment en Europe. Cette plante se trouve dans les régions exposées au soleil et de préférence dans les lieux secs et arides car elle tolère modérément la sécheresse. Sous les climats plus nordiques, on la traite comme une annuelle que l'on cultive (Tyler *et al.*, 1976).

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante des zones arides garrigues et des lieux rocheux du pourtour méditerranéen et même un peu plus au Sud jusqu'aux confins sahariens. Il se trouve à l'état sauvage sur les sols calcaires (Makhloufi, 2009)

I.6. Utilisation

Le romarin est souvent cultivé pour son huile aromatique. Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol. Dans la médecine traditionnelle ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique (Gonzalez-Trujano *et al.*, 2007).

Dans le Mexique et le Guatemala, il est employé principalement comme remède de post-partum et traite également les problèmes respiratoires et les infections de la peau.

Au Maroc, l'infusion des feuilles est utilisée comme apéritif, cholagogue, stomachique et emménagogue. La poudre des feuilles est saupoudrée comme cicatrisant et antiseptique.

La fumigation du romarin est indiquée pour calmer les maux des dents, les feuilles séchées servent à conserver la laine de l'attaque des mites (Bellakhdar, 1997).

L'infusion des feuilles est tonique, antitussive, carminative, antiasthmatique, fébrifuge et anti paralytique (Arnold, 1997). On le recommande dans les asthénies, les troubles du foie, contre les dyspepsies atoniques ainsi que contre les céphalées et les migraines d'origine nerveuse, les vertiges et les troubles de mémoire (Poletti, 1988).

II. Les huiles essentielles

II.1. Aperçu historique

La médecine par les plantes est la plus ancienne du monde, alors que les hommes n'ont eu longtemps que cela pour soigner leurs maladies et panser leurs blessures. Certainement, l'aromathérapie (artisanale) remonte à des dizaines d'années avant J.-C. En Asie, un alambic datant de 5000 ans avant notre ère, indique que la Chine et l'Inde maîtrisaient déjà quelque peu les procédés d'extraction.

Les Egyptiens employaient les huiles essentielles pour embaumer leurs morts 4 000 ans avant J.-C. Cèdre du Liban, nard, encens, myrrhe, cannelle... que de noms associés au patrimoine culturel égyptien et mentionnés tant dans les papyrus médicaux que dans les traditions d'hygiène quotidienne. Les résines d'encens découvertes dans le tombeau de Toutankhamon, 3 250 ans après son inhumation, exhalaient encore leur parfum (**Festy et Danièle, 2014**).

II.2. Définition de l'huile essentielle

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la Commission de la Pharmacopée Européenne.

Une huile essentielle est définie comme étant un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (**Laurent et Delerme, 2008**).

Les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Jitaru et al., 1997**).

✓ Pourquoi y a-t-il des huiles essentielles dans les plantes ?

Les plantes survivent grâce à leurs huiles essentielles. Etant donné qu'elles ne peuvent se déplacer pour se mettre à l'abri, il leur fallait inventer un système de protection extrêmement efficace, antibiotique, antisolaire, etc. Ce sont elles, finalement, qui ont imaginé l'aromathérapie ! Les huiles essentielles leur servent à séduire les insectes pollinisateurs, à se

protéger des brûlures solaires, des prédateurs et des maladies, et enfin à guérir (blessures, attaques diverses...) (Festy, 2014).

Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (Bardeau, 2009). Ce sont des métabolites secondaires, la plante utilise l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques et conservant l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Mohammedi, 2006).

II.3. La localisation des huiles essentielles

Lorsqu'on extrait une huile essentielle, on emploie rarement la plante entière. Seule une partie (ou deux) fournit l'huile recherchée (Festy, 2014).

Pour les plantes aromatiques, les huiles essentielles se trouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties, et le tableau au dessous représente quelque exemple (Bruneton, 1993).

Tableau n° I : Localisation des l'huiles essentielles chez quelques plantes

Localisation des huiles essentielles	Nom de Plante
les feuilles	Le basilic
les fleurs	la rose
Les fruits	Le citron
les graines	la coriandre
L'écorce	la cannelle

Pour le romarin (*Rosmarinus officinalis*), ces huiles sont localisées au niveau des parties aériennes fleuries (Bruneton, 2009).

Les huiles essentielles sont souvent localisées sur ou à proximité de la surfaces de la Plante. Si l'on écrase la feuille (ou partie concernée) d'une plante aromatique, des petites poches vont se briser laissant s'échapper la substance aromatique. C'est pour cette raison que la récolte se fait au meilleur moment en fonction des substances que l'on veut extraire et des conditions extérieures (climat, période de l'année ...), car la plante ne développe pas les mêmes composants selon la période de l'année (Bruneton, 1993).

II.4. Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles

Les qualités organoleptiques des huiles essentielles sont surtout exploitées dans l'industrie des arômes alimentaires et de la parfumerie. Dans ces domaines, les essences sont souvent modifiées, neutralisées, décolorées, rectifiées pour éliminer certains produits indésirables potentiellement irritants, allergénisants ou photo sensibilisants (**Pibiri, 2005**).

4.1. L'aspect

Les huiles essentielles sont généralement liquides et quelques fois solides. Elles sont souvent composées d'un mélange incolore, des constituants liquides tels que les terpènes, les alcools et les esters (**Brineton, 1990**).

4.2. La couleur

Les huiles essentielles sont généralement incolores, mais on trouve quelque huile colorée en jaune, en rouge (essence de cannelle) ou en vert (huile d'absinthe). La coloration des huiles essentielles est due à la présence de quelques substances particulières qui sont l'azulène de couleur bleu et la résine.

On les divise en quatre classes (**Naves, 1974**)

- L'huile jaune avec résine seulement.
- L'huile bleue avec azulène.
- L'huile incolore sans azulène.
- L'huile verte brune ou jaune vert contenant de l'azulène en proportions variables.

4.3. L'odeur

Les huiles essentielles ont une odeur aromatique caractéristique de chaque plante (**Naves, 1974**)

II.5. Les caractéristiques physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes. Elles sont de consistance huileuse et non grasse et rarement colorées. Ils sont volatiles (contrairement aux huiles fixes et odorantes). Leur volatilité augmente avec la chaleur (**Pharmacopée Européenne, 2010**).

Ils ont un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés, donc une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé. Cependant, une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.

Elles sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais peu solubles dans l'eau. Douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés Asymétriques.

Ces huiles sont très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser donnant lieu à la formation de produits résineux, il convient alors de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Zabeirou et Hachimou, 2005**).

Ils ont une densité inférieure à celle de l'eau sauf celles de la cannelle, sassafras, girofle.

II.6. La composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (**Bakkali et al., 2008**).

Dans le cas des huiles essentielles seuls sont rencontrés les terpènes les plus volatils c'est-à-dire ceux dont le poids moléculaire n'est pas élevé (**Belaiche, 1979**).

L'huile essentielle de romarin est l'élément le plus étudié qualitativement, quelques-unes des principales structures chimiques actives sont représentées sur la figure n°04 (**Ávila-Sosa et al., 2011**).

Différents documents de recherche disent qu'en fonction de l'emplacement géographique où faire pousser des plantes dans des conditions de type sol, climat et altitude au-dessus du niveau de la mer génèrent différents changements dans la quantité et les types de molécules bioactives présentes, par exemple des variétés de romarin provenant de Portugal sont caractérisés par des quantités élevées de myrcène, alors que dans la France c'est le camphrée, qu'on le trouve avec des concentrations plus élevées (**Ávila-Sosa et al., 2011**).

En règle générale, la composition chimique de l'huile essentielle de romarin a été décrite dans les travaux qui indiquent le type de molécules actives. Il a identifié la présence d' α -pinène, β -pinène, camphène, esters terpène 1,8-cinéole, camphrée, linalol, verbinol, terpinéol, carnosol, rosmanol, isorosmanol, le 3-octanone, l'acétate et isobanil β -caryophyllène; l'acide vanillique, caféique, chlorogénique, rosmarínico, carnosique, ursolique, oléanolique, butilínico, bétulinique, bétuline, α -amyrine, β -amyrine, le bornéol, et éthyle bornyle (**Ávila-Sosa et al., 2011**).

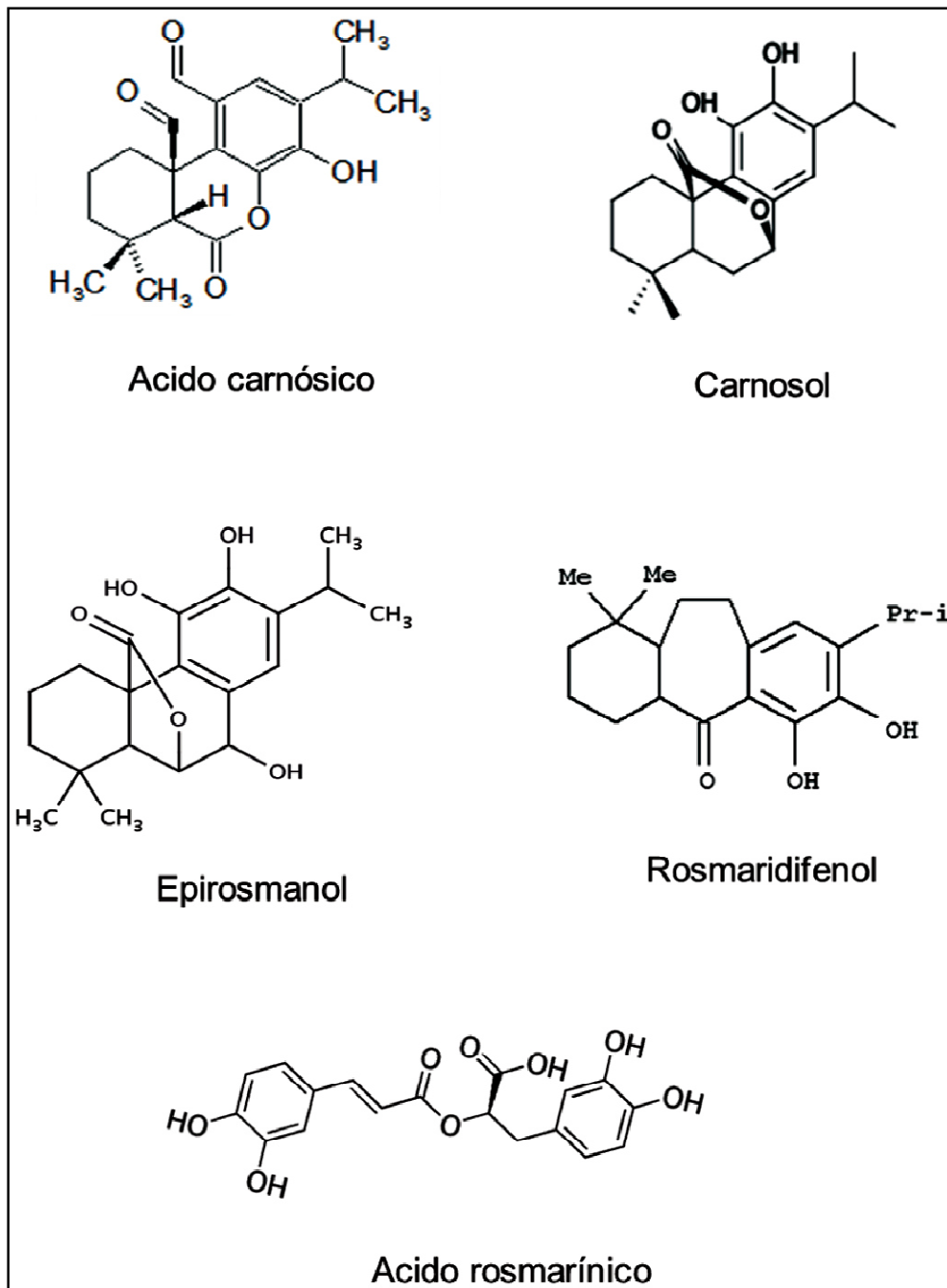


Figure n° 04: Structure chimique des composés actifs présents dans la plante *Rosmarinus officinalis L* (l'acide carnosique, le carnosol, epirosmanol, rosmaridiphénol, l'acide rosmarinique) (Ávila-Sosa *et al.*, 2011).

II.7. Les principales méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales, cette diversité est due à la variété des matières premières et à la sensibilité considérable de certains de leurs constituants (Legrand, 1993).

En général le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ...), de la nature des composés (par exemple, les huiles essentielles, les huiles lourdes...). Le rendement en huile et la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées. En effet, les principales méthodes d'extraction sont : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydro distillation, l'extraction par micro- ondes, l'hydro diffusion...

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques quelque soit le type d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale, les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation (**Marie Elisabeth et Lucchesi, 2005**).

II.7.1. L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées. L'injection de la vapeur se fait à la base de l'alambic (figure n°05) (**Richard et Peyron, 1992**).

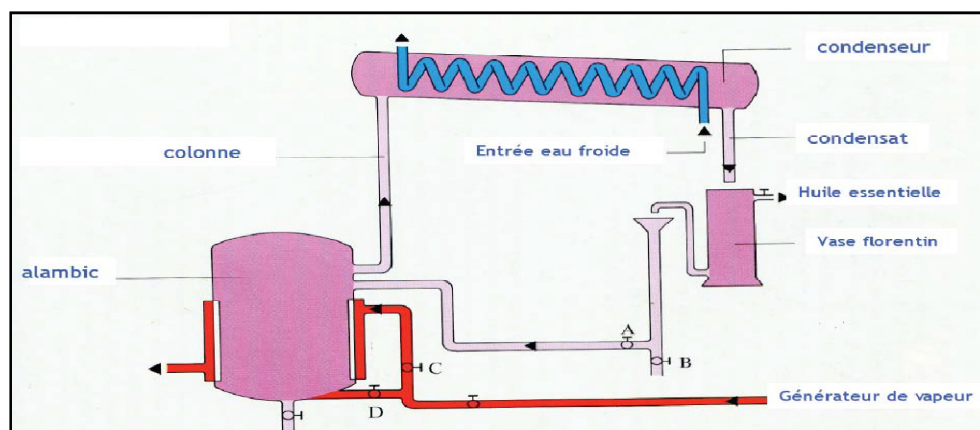


Figure n° 05 : Procédé d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur
(**Bousbia, 2011**).

II.7.2. Extraction par hydro distillation d'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les huiles essentielles. Elle permet de les séparer à l'état pur mais aussi de fournir de meilleurs rendements. Le principe consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un ballon rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs

hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'huile essentielle sera alors séparée par différence de densité (Bruneton, 1993).

II.7.3. L'extraction par micro-ondes

Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydro distillation par micro-ondes sous vide (figure n°06). Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par microondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) (Mengal *et al.*, 1993).

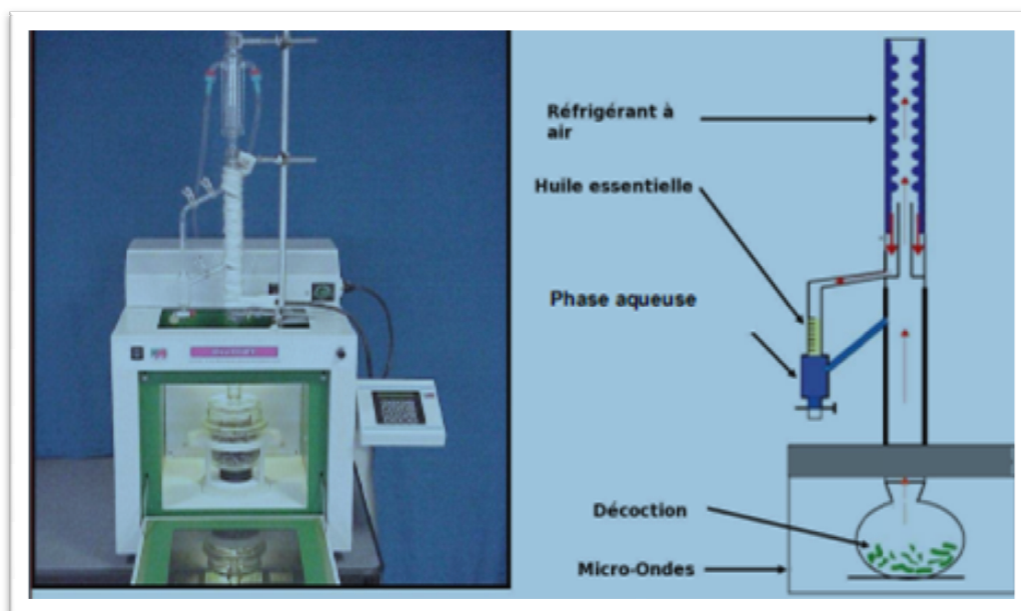











Figure n° 06 : Montage d'une distillation assistée par micro ondes (Chemat *et al.*, 2004)

II.8. L'effet thérapeutique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement utilisées en thérapie, les effets les plus répandues sont résumées dans le tableau n°II.

Tableau n° II : les effets thérapeutiques les plus répandues dans les huiles essentielles (Hurabielle, 1981)

Plante	Huile essentielle	Utilisation thérapeutique
Basilic		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Diminution de l'anxiété. ✓ Amélioration de la concentration de digestion.
Camomille		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement des problèmes la peau.
Citron		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Amélioration de la circulation. ✓ soulagement de problèmes respiratoires
Eucalyptus		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement des problèmes respiratoires, des douleurs.
Fenouil		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Amélioration de la digestion. ✓ Soulagement de la constipation et des nausées.
Jasmin		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement des problèmes respiratoires. ✓ normalisation de la circulation. ✓ Amélioration de la digestion.
Lavande		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement des douleurs musculaires.
Marjolaine douce		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Diminution de la tension nerveuse, la pression Artérielle.

<p>Menthe poivrée</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement de la fatigue, les irritations cutanées
<p>Pin</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ soulagement des problèmes respiratoires.
<p>Rose</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement de stress
<p>Romarin</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement de la fatigue, les douleurs musculaires, les problèmes respiratoires.
<p>Sauge</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement de la fatigue, les douleurs musculaires, Les problèmes respiratoires.
<p>Thym</p>		<ul style="list-style-type: none"> ✓ Soulagement de la fatigue, les douleurs musculaires. ✓ Amélioration de la Circulation

II.9. Les domaines d'applications des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées dans de nombreux domaines tels que la parfumerie, la cosmétologie, l'agroalimentaire, et l'industrie chimique. Elles interviennent dans la fabrication des produits tels que :

- Les produits alimentaires : jus de fruit, crèmes, bonbons, etc.
- Les produits d'hygiène et de beauté.
- Les parfums, la désinfection des locaux (elles sont antiseptiques).
- Les colles et vernis dans l'industrie chimique.

Ces huiles sont utilisées également pour leurs différentes propriétés et effets thérapeutiques divers (**Anton et al., 2006**), tels que les effets anti-infectieux, des effets antalgiques, antispasmodiques, antiparasitaire et anti-inflammatoires.

Elles possèdent aussi des propriétés antioxydants expectorantes, diurétiques antifongiques. Ces dernières propriétés sont illustrées par (**Kosh Komba, 2004**) dans son travail sur les huiles essentielles des espèces d'eucalyptus du campus universitaire de Lomé. Le massage aux huiles essentielles constitue un traitement curatif puissant, stimulant et relaxant. Les huiles essentielles sont incorporées dans les crèmes, les lotions, gels et champoings. Elles possèdent également des propriétés insecticides, insectifuges et bio pesticide (**Oussalah, 2007**).

Certaines d'entre elles sont recherchées pour leurs propriétés particulières, c'est le cas de :

- L'huile de cyprès, connue pour ses exceptionnelles qualités comme tonique de la circulation veineuse.

- L'huile essentielle d'*Artemisia dracunculus*, connue pour ses propriétés antispasmodiques, antivirales et antiallergiques.

- L'huile essentielle de romarin est un générateur hépatique et biliaires, cicatrisante, bactéricide, utilisée pour les soins de la peau et l'eczéma (**Azalenko, 2005**).

Il est aussi utilisé comme un antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique (**Koubissi, 2002**).

II.10. Toxicité des huiles essentielles

Certaines substances naturelles peuvent présenter des effets néfastes pour l'homme au même titre que certaines substances de synthèse.

Les huiles essentielles contenant surtout des phénols et des aldéhydes peuvent provoquer des réactions cutanées allergiques lors d'un contact direct, certaines huiles essentielles qui sont utilisées en parfumerie peuvent se comporter en irritant les yeux ainsi des muqueuses

respiratoires et favoriser le déclenchement de crises d'asthmes pour les asthmatiques. Il a été rapporté qu'en présence de parfums, les personnes asthmatiques et développant des allergies de contact montrent des détresses respiratoires plus fréquentes que les autres personnes saines (OFSP, 2008).

Une ingestion accidentelle d'huile essentielle peut générer une toxicité élevée voir un coma et même la mort. Il faut préciser que les huiles essentielles très liquides peuvent parvenir dans les voies respiratoires. Cela peut conduire à une inflammation des poumons (pneumonie).

De plus, certaines huiles essentielles comme le citron, l'orange amère et la bergamote deviennent sensibilisantes et toxiques seulement sous l'influence de la lumière. La toxicité des huiles essentielles peut aussi provenir des contaminants (si l'huile essentielle est impure) et/ou des produits de dégradation de celles-ci car elles se modifient à l'air, à la chaleur et à la lumière (OFSP, 2008). La dose létale des huiles essentielles de quelques plantes représentées dans le tableau n°III.

Tableau n° III : Dose létale de quelque huile essentielle (Bruneton, 1999).

Plante	DL50
Anis, Eucalyptus, Girofle	2 à 5 g/kg.
Camomille, Citronnelle, Lavande, Marjolaine	<5 g/kg.
Basilic	<5 g/kg.
Origan	1,5ml/kg.
Sassafras	1,9 g/kg.
Wintergreen	0,9 à 1,25 g/kg

III. Notions sur les pommades

III.1. Définition

Les pommades sont des préparations de consistance molle, obtenues par le mélange d'une substance médicamenteuse avec un excipient approprié. Elles sont appliquées sur la peau soit dans le but d'administrer des médicaments par voie dermique, ou pour obtenir une action locale superficielle. Les pommades qui contiennent des résines sont appelées des onguents et celles renfermant une forte proportion de poudres sont des pâtes dermiques (**Legrand, 1986**).

III.2. Intérêts thérapeutiques des pommades

Les pommades en plus de leurs actions émollientes et protectrices sur la peau, règlent le potentiel (pH) cutané à la normale. Elles ont une action générale par voie cutanée sans passer par le foie. En plus de leur application dermique, elles peuvent être appliquées sur les muqueuses rectales, vaginales, conjonctivales (**Koné, 1993**).

III.3. Classification des pommades (Legrand et Aiache, 1993)

Suivant la nature de l'excipient, nous pouvons classer les pommades de la manière suivante :

- **Les pommades hydrophobes ou lipophiles**

Ces pommades n'absorbent que de petites quantités d'eau. Les excipients les plus communément utilisés pour leur préparation sont : la vaseline, la paraffine liquide, la paraffine solide, les huiles végétales, les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides.

- **Les pommades absorbant l'eau**

Elles peuvent absorber de quantités importantes. Leurs excipients sont ceux de pommades hydrophobes dans lesquels sont incorporés des émulsifiants de type eau dans huile (E/H) tels que la graisse de laine, les alcools de graisses de laine, les esters de sorbitanne, les mono glycérides et des acides gras. A la pharmacopée française figure une monographie des alcools de laine constituée par un mélange de stérols et d'alcools aliphatique.

- **Les pommades hydrophiles**

Ce sont des préparations dont les excipients sont miscibles dans l'eau. Elles sont constituées par des mélanges de polyéthylène glycols (macrogols) liquides et solides et peuvent contenir de quantités appropriées d'eau.

III.4. Formulation

Malgré leurs formes différentes (crème, pommade ...), les produits semi-solides ont tous une composition à peu près identique.

III.4.1. Principe actif

Comme son nom l'indique c'est une substance qui détermine l'activité de la préparation, qui fait sa spécificité. Il pourrait être des huiles animales ou végétales, des extraits végétaux, ajouté a faible dose mais peut assurer l'efficacité de la préparation (**Aiache, 2008**).

III.4.2. Excipient

Un excipient est défini comme « tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication ». La fonction d'un excipient est de servir de vecteur au(x) principe(s) actif(s), ou d'entrer dans la composition du vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil biopharmaceutique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication. La formulation d'un médicament comprend généralement plusieurs excipients. Un excipient n'est donc pas défini par une composition chimique particulière mais par son utilisation, qui découle des propriétés physico-chimiques qui le rendent apte à remplir son rôle d'excipient.

Deux autres termes sont utilisés suivant que les préparations sont liquides ou solides, dans le premier cas on parle de véhicule, alors que pour les préparations solides on parle de base (**Goris, 1949**).

1. Rôles des excipients

Les excipients ont pour but de :

- Faciliter l'administration des principes actifs d'un point de vue technique comme par exemple les excipients pour pommades, mais également d'un point de vue de l'acceptabilité par le malade comme les édulcorants ou les aromatisants.
- Augmenter l'efficacité du principe actif : on peut citer dans cette partie les excipients à libération prolongée qui permettent une longue durée d'action du principe actif.
- Assurer la conservation et la stabilité du principe actif le plus longtemps possible : ce sont notamment les conservateurs (**Lehir, 2009**).

2. Propriétés des excipients

Une des propriétés principales des excipients est l'inertie. Cette propriété est primordiale et s'applique à tous les excipients. Ils doivent être inertes vis-à-vis :

- Du principe actif : l'excipient ne doit pas interférer sur son action afin de ne pas augmenter ou diminuer son activité qui pourrait conduire à une absence d'efficacité du médicament ou à une toxicité, c'est pourquoi les excipients ne peuvent pas être modifiés sans une étude préalable.
- Du matériau de conditionnement primaire, c'est-à-dire celui en contact avec le médicament. Il est important que les excipients ne dissolvent pas ou ne soit pas retenu par le conditionnement,
- De l'organisme : l'excipient ne doit pas avoir une activité par lui-même, seul le principe actif doit en avoir une. Cette neutralité est testée à l'aide des essais d'innocuité.

Cependant l'inertie totale ne peut être obtenue. Le choix de l'excipient se fait donc par un équilibre entre bénéfice et risque. De plus ces problèmes peuvent être liés aux impuretés de l'excipient et non à l'excipient lui-même (**Lehir, 2009**).



Partie II:

Etude Expérimentale

Notre étude de recherche a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de département de biologie-faculté des sciences (UAMOB), et au niveau de la structure des substances naturelles du centre de Recherche et de Développement CRD (SAIDAL-EL Harrach), au niveau des laboratoires de contrôle qualité, physicochimie, microbiologie et de production de SAIDAL (Dar El Beida), durant la période d'avril à juin 2017. La démarche expérimentale suivie durant notre travail est la suivante :

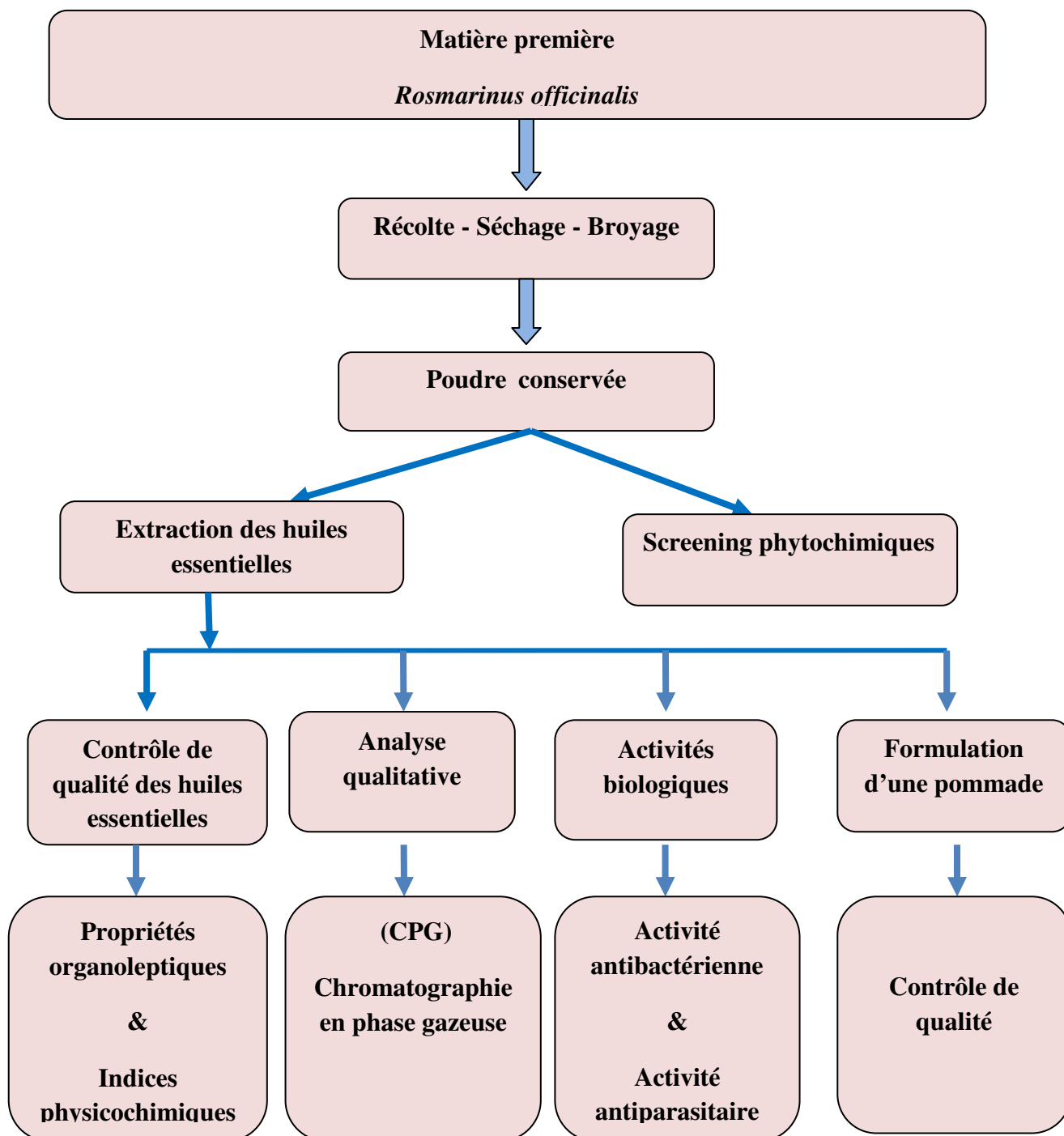


Figure n° 7 : La démarche expérimentale.

I. Matériel biologique

I.1. Plante

- Feuilles de *Rosmarinus officinalis* de la région de Bouira.

I.1.1. Récolte et séchage

La récolte des feuilles a été effectuée à partir de la population végétale spontanée de la région de Bouira durant les deux mois de décembre et mars (Celiktas, 2007).

La récolte du matériel végétale collecté la matinée, a été nettoyé des débris et séché à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant 8 jours (Fadil *et al.*, 2015).

I.1.2. Broyage et conservation

Cette opération a été faite après le séchage des feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltés. Les feuilles séchées sont broyées dans un broyeur électrique. Le poudre obtenue est conservée dans des flacons en verre, bien fermée, couverts par du papier aluminium et stockée à l'ombre loin de la lumière et de l'humidité (figure n°8).



Figure n° 08 : Conservation de la poudre (Originale).

I.2. Les souches microbiennes testées

Les souches bactériennes testées au cours de notre expérimentation sont précieusement fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Mohammed Boudiaf de Bouira.

Tableau n° IV : Les souches bactériennes testées (Annexe III).

Souches Bactériennes	Gram	Familles
<i>Escherichia coli</i>	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	<i>Micrococcaceae</i>

II. Le screening phytochimique

Il s'agit des testes permettant de connaître la composition de la matière sèche de la plante en métabolites secondaires (les anthocyanes, les leuco-anthocyanes, les tanins, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponosides, les glucosides, les coumarines, les quinones). Ces tests sont effectués soit sur la poudre végétale, soit sur un infusé (**Bouyer, 1996**).

II.1. Préparation de l'infusé

Nous avons appliqué les étapes suivantes :

- Une quantité de 10g de poudre végétale est ajoutés à 100 ml d'eau distillée bouillante.
- Laisser infuser pendant 15 min avec agitation de temps en temps.
- Le mélange est filtré afin d'éliminer les résidus de la poudre.

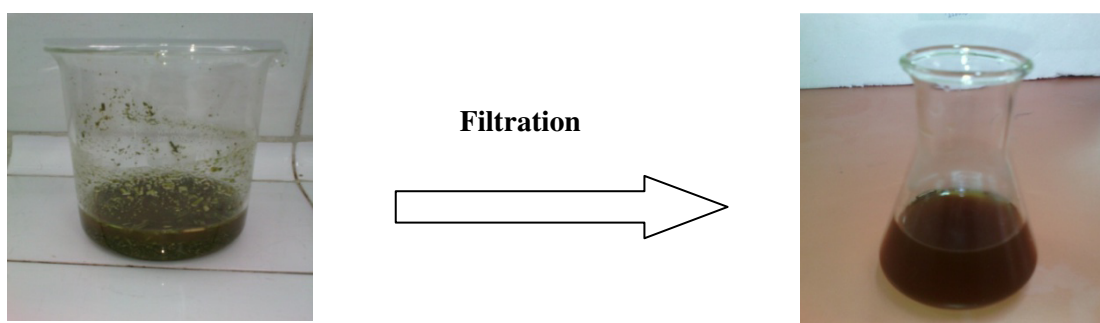


Figure n° 09 : Préparation de l'infusé à 10% (Originale).

II.2. La révélation de la présence de quelques métabolites secondaires

Nous avons suivi pour les réactions de screening phytochimique le protocole de (**Bruneton, 1999**).

II.2.1. Les anthocyanes

La révélation a été effectuée par l'addition de quelques gouttes d'ammoniaque v/v (le volume d'ammoniaque égale au volume d'eau distillé) à un volume de 5 ml d'infusé. L'apparition d'une couleur rouge, indique la présence des anthocyanes.

II.2.2. Les tanins

La révélation a été effectuée par l'addition de quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 5 % à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins.

II.2.3. Les glucosides

La révélation a été effectuée par l'addition de gouttes d'acide sulfurique à 2g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

II.2.4. Les coumarines

Une quantité de 2g de poudre végétale sont mises dans 20 ml d'alcool éthylique (éthanol). Le mélange est mis à ébullition pendant 15 minutes dans un bain-Marie. Le mélange est filtré. A 5ml de filtrat, rajouter 10 gouttes de la solution alcoolique de KOH et quelques gouttes d'HCl à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

II.2.5. Les mucilages

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneux indique la présence des mucilages.

II.2.6. Les irridoides

Introduire 2 ml d'infusé dans un bécher, ajouter quelques gouttes d'HCl puis chauffer à l'aide d'une plaque chauffante. La formation d'une coloration bleu indique la présence des irridoides.

II.2.7. Les sucres réducteurs

A 5 ml d'extrait, sont ajoutées 1 ml de liqueur de Fehling, puis chauffage au bain marie 40°C. L'apparition d'un couleur rouge brique indique la présence des sucres réducteurs.

II.2.8. Les terpénoides

A 5ml d'extrait, sont ajoutées 2 ml de chloroforme et 3 ml d' H_2SO_4 . L'apparition de deux phases et une couleur marron à l'interface indique la présence des terpénoides.

II.2.9. Les anthraquinones

A 10 ml d'extrait, sont ajoutées 5 ml de NH_4OH à 10%. L'apparition d'une coloration violette indique la présence des anthraquinones.

II.2.10. Les polyphénols

A 2 ml d'extrait, sont ajoutées une goutte de FeCl_3 à 2%. La formation d'une coloration bleue ou verte foncée indique la présence des polyphénols.

III. Extraction des huiles essentielles

III.1. Protocole d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir de notre plante (*Rosmarinus officinalis*) est réalisée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger (figure n° 10).

Pour chaque extraction on a pesé 40g de la matière végétale séchée et broyée, ensuite on a l'introduit dans un ballon à 1 litre remplie avec 420 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3h et 30 min à une température de 250°C.

La vapeur d'eau produite entraîne les constituants volatiles qui après condensation dans le réfrigérant sont recueillies dans un récipient (Fadil *et al.*, 2015).



Figure n° 10 : Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction des huiles essentielles (Originale)

La séparation des deux phases se fait par décantation, la phase supérieure qui contient l'huile essentielle est récupérée. Les huiles, après leur extraction sont conservées au réfrigérateur entre 4 et 6°C.

III.2. La détermination de rendement d'extraction de l'huile essentielle (Fadil *et al.*, 2015)

Le rendement en huiles essentielles est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante traitée. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\text{Le rendement} = (\text{Ph} / \text{Pp}) \times 100$$

Ph : poids de l'huile essentielle.

Pp : poids sec de la plante traitée.

III.3. Détermination de la teneur en eau (l'humidité)

Le taux de l'humidité de la poudre de romarin à été déterminé par le procédé de dessiccation à une température de 105°C dans une étuve isotherme ventilée à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids constant. (**linden et lorient, 1994**).

$$T(\%) = \frac{X - Y}{X} \times 100$$

T% : Taux d'humidité exprimé en pourcentage ;

X : Poids de l'échantillon avant séchage ;

Y : Poids de l'échantillon après déshydratation.

IV. Contrôle de qualité des huiles essentielles

IV.1. Mesure des indices physico-chimique des huiles essentielles

IV.1.1 Mesure des indices physiques

Les méthodes physiques d'examen pour l'analyse des huiles essentielles s'attachent surtout à la détermination de la densité relative, et le pouvoir rotatoire.

a) La densité relative (Pharmacopée européenne 2014)

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile essentielle à la masse d'un volume égal d'eau distillé à 20°C. Brièvement, à l'aide d'un pycnomètre de capacité de 5 ml, on pèse successivement ce pycnomètre vide puis avec des volumes égaux d'huile essentielle et d'eau distillée à la température ambiante (20°C). La densité relative est donnée par la formule :

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

Ou :

m_0 : est la masse en gramme de pycnomètre vide.

m_2 : est la masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

m_1 : est la masse du pycnomètre rempli d'eau distillée.

Si on désire obtenir la masse volumique des huiles essentielles, il faut multiplier la densité relative par la masse volumique de l'eau ρ (eaux) = 0,99823 g/ml (AFNOR, 2000)

b) Le pouvoir rotatoire

Il est obtenu grâce à un appareil appelé : **Polarimètre** de type JASCO (Figure n° 11).

- **Mode opératoire**

A température 20°C nous avons effectué une dilution des huiles essentielles de romarin de 0,25g /100ml d'éthanol, puis remplissage de tube avec l'échantillon, en s'assurant qu'il ne reste aucune bulle d'air interposée puis nous avons passé à la lecture de l'angle de rotation.



Figure n° 11 : Polarimètre de type JASCO (Originale).

IV.1.2. Mesure des indices chimiques

Les méthodes chimiques d'examen pour l'analyse des huiles essentielles s'attachent surtout à la détermination de l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice d'ester et la détermination de pH.

a) Indice d'acide

- **Définition**

L'indice d'acide I_A est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de sodium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g de substance.

- **Mode opératoire**

- Dissolvez 10g de la substance à examiner dans 50 ml d'un mélange à volume égal d'éthanol à 96% et d'éther de pétrole .Si nécessaire, chauffer à environ 90°C pour dissoudre la substance à examiner. Sauf indication contraire, le solvant doit être neutralisé au préalable par l'hydroxyde de sodium 0,1 M en présence de 0,5 ml de solution phénophtaléine.
- Après dissolution, titrez par hydroxyde de sodium 0,1 M.
- Si la préparation a été chauffée pour dissoudre la substance à examiner, maintenez la température à environ 90°C pendant le titrage. Le titrage est arrêté lorsque la couleur rose persiste pendant 15s.

- **Expression des résultats**

A la fin de titrage, lire le volume de NaOH consommé. Le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$I_A = 5,610 \times n / m$$

IA : Indice d'acide

n : Volume de réactif titrant NaOH en (ml)

m : la masse de l'huile essentielle (g)

b) Détermination du pH

Placer une prise d'essai d'huile essentielle de romarin dans un bécher, puis introduire les électrodes de pH mètre et noter la valeur de pH.

V. Analyse qualitative d'huile essentielle par chromatographie phase gazeuse (CPG)

Pour déterminer la composition chimique de notre huile, nous avons effectué une analyse par chromatographie en phase gazeuse.

- **Principe**

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalisés dans le domaine des colonnes capillaires,

des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles (Arpino *et al.*, 1995).

VI. Les activités biologiques des huiles essentielles

VI.1. Etude de pouvoir antibactérien (Bolou *et al.*, 2011)

- **Revivification des souches bactériennes**

La revivification des souches bactériennes a pour objectif d'obtenir une culture pure et jeune. Elles ont été sorties de réfrigérateur et laissées sur la paillasse pour revenir à la température ambiante, puis ont étéensemencé sur gélose nutritive par la méthode de stries dans des boîtes de Pétri, ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

- **Préparation des disques**

Les disques sont préparés à partir d'un papier buvard, de diamètre de 6mm, puis stérilisées à l'autoclave pendant 20 min à 120°C.

- **Préparation de l'inoculum**

La préparation de l'inoculum consiste à suivre plusieurs étapes :

- Préparer 3 tubes stériles contenant chacun 9 ml d'eau physiologique stérile.
- Mettre quelques colonies à partir de chaque souche bactérienne testée puis agiter.
- Lecture de l'absorbance à une longueur d'onde de 625 nm (Elle doit être comprise entre 0,08 et 1 qui correspond à une concentration de 10^7 - 10^8 UFC/ml.
- Préparer deux dilutions pour chaque tube (10^{-1} et 10^{-2}).

- **L'ensemencement**

- A partir de la dernière dilution (10^{-2}) et à l'aide d'un écouvillon transférer l'inoculum sur des boîtes de Pétri contenant le milieu Mueller Hinton (3 essais pour chaque bactérie).
- Imbiber les disques avec de l'huile essentielle (pour chaque boîte effectuer 2 disques contenant successivement 15 µl de l'huile essentielle puis 20 µl de l'huile essentielle).
- Les boîtes de Pétri sont d'abord laissées pendant 1h à la température ambiante pour une pré-diffusion des substances, avant d'être incubées à 37°C à l'étuve pendant 24h.

VI.2. Etude de pouvoir anti parasitaire

- **Obtention des membranes kystiques d'*Echinococcus granulosus***

Les membranes kystiques sont obtenues à partir d'un kyste hydatique bovin fourni par l'abattoir de Bouira. Le kyste hydatique est rompu dans des conditions aseptiques. Le liquide hydatique est récupéré. Les membranes sont lavées avec de l'eau physiologique stérile puis coupées en petites pièces de 5 mm.



Figure n° 12 : kyste hydatique dans le foie d'un bovin (Originale).

- **Mise en culture des pièces de membranes**

Les membranes sont mises en culture dans le milieu DMEM enrichi avec 5% de sérum de veau fœtale dans une atmosphère humide saturées en CO₂. Les cultures sont incubées à 37°C pendant 48 h. Une culture témoin a été effectuée sans l'huile essentielle.

Une autre pièce de membrane a été mise dans l'huile essentielle afin de tester les changements associés à l'huile essentielle.

VII. Formulation d'une pommade

VII.1. Principe (Legrand, 1986 ; Koné, 1993)

La formulation d'une pommade est réalisée à base d'un principe actif avec lequel sont ajoutés des excipients simples ou complexes.

Généralement les principes actifs utilisés sont soit naturels tel que les huiles essentielles, les extraits secs des plantes ou bien synthétiques tel que des produits chimiques de synthèse. Tandis que les excipients les plus utilisés sont :

- Les huiles végétales (huile d'olive, huile de ricin),
- Les cires (Cire d'abeille),

- Les hydrocarbures (vaseline blanche, le paraffine liquide et solide),
- Les gels de produits minéraux (silice),
- Les gels de polymères organiques (alginates, géloses, pectines, lanoline),
- Les excipients émulsionnés (mono stéarate de glycérol)
- Dérivés de celluloses (carboxycellulose, methylcellulose).

VII.2. Composition de la pommade

- Formulation d'une pommade à 3%
- Principe actif : les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.
- L'excipient : cire d'abeille, vaseline blanche avec vaseline à base de l'huile de paraffine.

VII.3. Contrôle de qualité de la pommade

VII.3.1. Analyse sensorielles

- **La consistance** : selon la composition et la préparation, les pommades peuvent être molle, pâteuse ou bien semi solide.
- **La couleur** : chaque pommade est caractérisée par une couleur caractéristique généralement appréciée à l'œil nu.
- **L'odeur** : l'odeur des pommades est appréciée en les approchant de façon répétée vers les narines.

VII.3.2. La mesure du pH

Placer une prise d'essai de pommade dans un bécher et introduire les électrodes du pH mètre. Noter la valeur du pH donnée. Pour la détermination du pH, un volume de produit suffisamment important est utilisé pour permettre l'immersion complète des électrodes dans l'échantillon.

VII.3.3. Tests microbiologique de pureté (pharmacopée européenne, 2010)

- **Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et des moisissures et levures totales (DMLT).**
- **Préparation de l'échantillon**
 - Préparer une solution de 10 g du produit à examiner dans 90 ml de la solution tampon au chlorure de sodium pH 7 ou dans un autre diluant approprié ex : solution tampon phosphaté pH 7,5 (solution A).

- Agiter jusqu'à homogénéisation complète. D'autres dilutions peuvent être employées si les caractéristiques et la sensibilité du produit l'exigent. Les dilutions suivantes sont préparées avec le même diluant.
- Prélever 4 fois 1ml de la solution à préparer et déposer chaque prélèvement dans une boîte de Pétri de 90mm de diamètre.
- Couler dans 2 des 4 boîtes de Pétri destinées au DGAT 15ml à 20ml du milieu gélosé TSA, et dans les 2 boîtes restantes destinées au DMLT 15 à 20ml de milieu Sabouraud dextrose (Annexe II).
- Agiter doucement les boîtes par un mouvement circulaire pour assurer un mélange homogène de l'échantillon et la gélose, sans faire de bulles et sans mouiller les couvercles des boîtes.
- Incuber les boîtes TSA à 35°C pendant 3 jours et les boîtes Sabouraud dextrose à 20°C pendant 5 jours.
- **La recherche de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus***
 - Ensemencer 100ml de milieu TSA avec 10ml de la solution A préparée comme décrite dans le DGAT et DMLT, ou la quantité correspondante à 1g de produit.
 - Homogénéiser et incuber à 35°C pendant 24h.
 - Agiter le récipient puis repiquer sur gélose ceftrimide 0,1ml de milieu liquide TSA et incuber à 35°C pendant 72h pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*.
 - Agiter le récipient puis repiquer sur gélose mannitol sel ; 0,1ml de milieu liquide TSA et incuber à 35°C pendant 72h pour la recherche de *Staphylococcus aureus*.


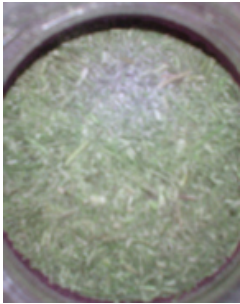
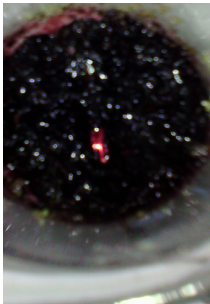
VII.4. Etude de l'effet anti-inflammatoire et cicatrisant de l'huile essentielle


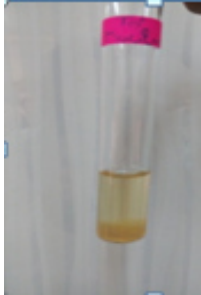








L'effet a été testé sur un patient atteint d'un psoriasis souffrant pendant 6ans de lésions inflammatoires avec desquamation de la peau. Nous avons testé l'effet de la pommade pendant une à trois semaines par application d'une part au niveau des lésions et nous avons laissé des lésions témoins. D'autre part nous avons testé l'effet de la pommade sur une région non affectée par les lésions et sur la peau d'un volontaire sain.

I. Screening phytochimique

Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis*, ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs composés chimiques réputés à avoir des activités biologiques intéressantes (tableau n° V) :

Tableau n°V: Résultats du screening phytochimique des feuilles de *Rosmarinus officinalis*

Substances actives	Aspect de poudre ou d'infusé avant l'ajout de réactif	Réactions	Résultats observés
Les anthocyanes		Précipité rouge Réaction positive (+ + +)	
Les tanins		Coloration bleue noire. Réaction positive (+ + +)	
Les glucosides		Coloration rouge brique puis violette. Réaction positive. (+ + +)	
Les coumarines		Réaction positive. Apparition d'un trouble. (+ + +)	

Les mucillages		Précipitation floconneuse. Réaction positive. (+ + +)	
Les irridoides.		Réaction négative. (-)	
Sucres réducteurs		Réaction négative (-)	
Les Terpanoïdes		Formation de deux phases et une couleur marron à l'interface (+ + +)	
Les anthraquinones		Réaction Négative (-)	

À partir de tableau ci-dessus nous remarquons que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sont :

- Riche en: anthocyanes, tanins, glucosides, coumarines, mucillages, terpanoïdes.
- Pauvre en : irridoides, sucres réducteurs, anthraquinones.

II. Extraction des huiles essentielles

II.1. Les propriétés organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (figure n°13) extraites par la technique d'hydro-distillation, sont reportées dans le tableau n° VI.

Tableau n° VI : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.

Caractéristiques organoleptiques	Normes AFNOR 1999	L'huile essentielle
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile
Couleur	Presque incolore à jaune pale	Jaune clair
Odeur	Caractéristique fraîche, plus ou moins camphrée selon l'origine	Camphrée

Les Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite sont en accord avec ceux obtenu par les normes AFNOR, (1999).



Figure n° 13 : Aspect de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (originale).

II.2. Détermination de rendement de l'huile essentielle

Les résultats de rendement de notre huile essentielle sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VII : Rendement en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.

	Référence	Huile essentielle
Rendement (%)	0,5 – 2	0,05

Le rendement obtenu pour les huiles essentielles est de 0,05%, ce rendement est beaucoup plus inférieure à celui obtenue par les normes **AFNOR, (1999)**, qui est de 0,5 -2%, pour la même espèce. Ces résultats peuvent être liés à la méthode et les conditions d'extraction. L'huile a été extraite par hydro-distillation en utilisant un réfrigérant serpentin alors que l'hydro-distillation utilise un réfrigérant simple. En plus, nous avons remarqué des résidus de l'huile essentielle au niveau du serpentin qui correspond à des pertes.

II.3. Détermination de la teneur en eau (l'humidité)

Le taux d'humidité de notre échantillon est résumé dans le tableau suivant :

Tableau n° VIII : La teneur en eau des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

Echantillon	P1(g)	P2 (g)	H (%)	Norme	Référence
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,147 g	3,63 g	29,47 %	25% - 30 %	Benjlali, 1994

Le rendement en matière sèche = $100\% - 29,47\% = 70,53\%$ (figure 14).

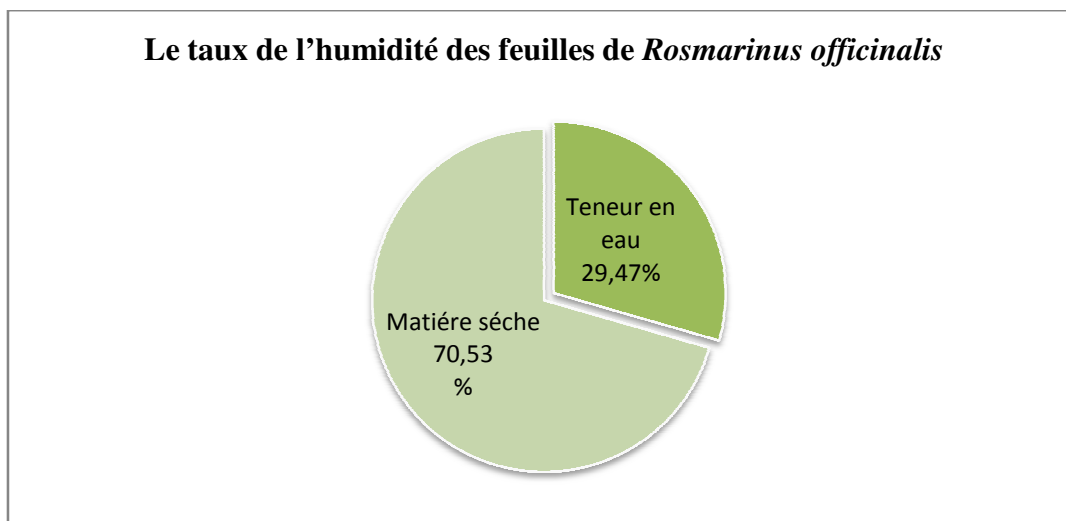


Figure n°14: Le taux d'humidité des feuilles de *Rosmarinus officinalis*.

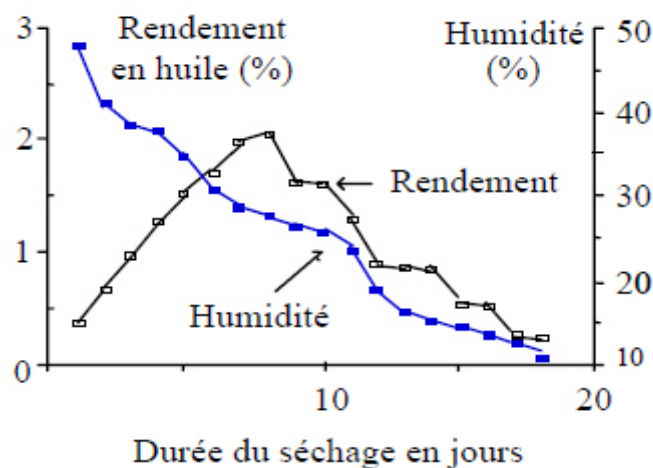


Figure n°15: Variation du rendement et de l'humidité en fonction de la durée de séchage (Benjilali, 1994).

Les résultats de du taux d'humidité de notre plante sont en accord avec ceux obtenus par (Benjilali, 1994), confirmant ainsi que l'extraction des huiles essentielles avec rendement faible n'est pas lié à la qualité de la plante mais plutôt aux artefacts techniques particulièrement l'utilisation du réfrigérant serpentin qui rend le passage des huiles essentielles beaucoup plus difficile.

II.4. Mesure des indices physico-chimiques des huiles essentielles

Les propriétés physico-chimiques tels que : le pouvoir rotatoire, l'indice d'acide, l'indice d'ester...etc., constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

II.4.1. Mesure des indices physiques

4.1.1. La densité relative

La densité relative est l'un des paramètres physiques utilisés lors de la classification des huiles essentielles, ce paramètre seule est insuffisant pour l'identification des huiles essentielles, les résultats de la densité relative de notre échantillon est de : 0,91 g/cm³.

Ce résultat est en accord avec les résultats obtenu par AFNOR, 1999 qui indiquent une densité de [0,905 – 0,921] g/cm³.

4.1.2. Le pouvoir rotatoire

L'analyse du pouvoir rotatoire indique si l'huile est dextrogyre ou lévogyre ce qui est un critère important pour connaître la pureté d'une huile essentielle. Les résultats du pouvoir rotatoire mentionnent une valeur de 0°, qui est en accord avec les valeurs obtenues par la norme AFNOR, (2000) qui se trouve entre -5° et +8°.

II.4.2. Mesure des indices chimiques

4.2.1. Indice d'acide

Après le titrage par le NaOH (0,1M), on obtient un virage de couleur rose persistant pendant 15s de l'échantillon. L'indice d'acide nous renseigne sur le taux d'acides gras libres existant dans l'huile essentielle.

Indice d'acide de *Rosmarinus officinalis* est de 1,4025 g de NaOH/g. Ce résultat est en accord avec la valeur obtenue par (AFNOR, 1999) concernant l'indice d'acide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* qui est de 0,5-2 g de NaOH/g.

L'indice d'acide permet de juger de leur état de détérioration (temps de stockage). Ce qui peut expliquer la valeur légèrement élevée dans l'huile essentielle.

4.2.2. Détermination du pH

Le pH des feuilles de *Rosmarinus officinalis* est de 6,77, ce pH n'est pas acide, et il n'est trop basique. Cette caractéristique permettra de préparer un produit pharmaceutique à base de cette plante sans corriger le pH.

II.5. Analyse qualitatif d'huile essentielle par CPG

Les résultats d'analyse qualitative d'huile essentielle par CPG résumé dans le tableau n°IX.

Tableau n° IX : La composition biochimique d'huile essentielle analysée par CPG

Composition biochimique	Pourcentages (%)
α-pinéne	11
Camphéne	4
β -pinéne	6
β -myrcéne	1,5
Limonéne	2,5
Cinéole	45
p-cyméne	1,5
Camphre	10
Acétate de bornyle	0,8
α -terpinéol	2
Bornéol	3,5
Verbénone	0,3

D'après les résultats (figure 16) notre huile essentielle comporte trois composants majoritaires (cinéole, α -pinéne, camphre).

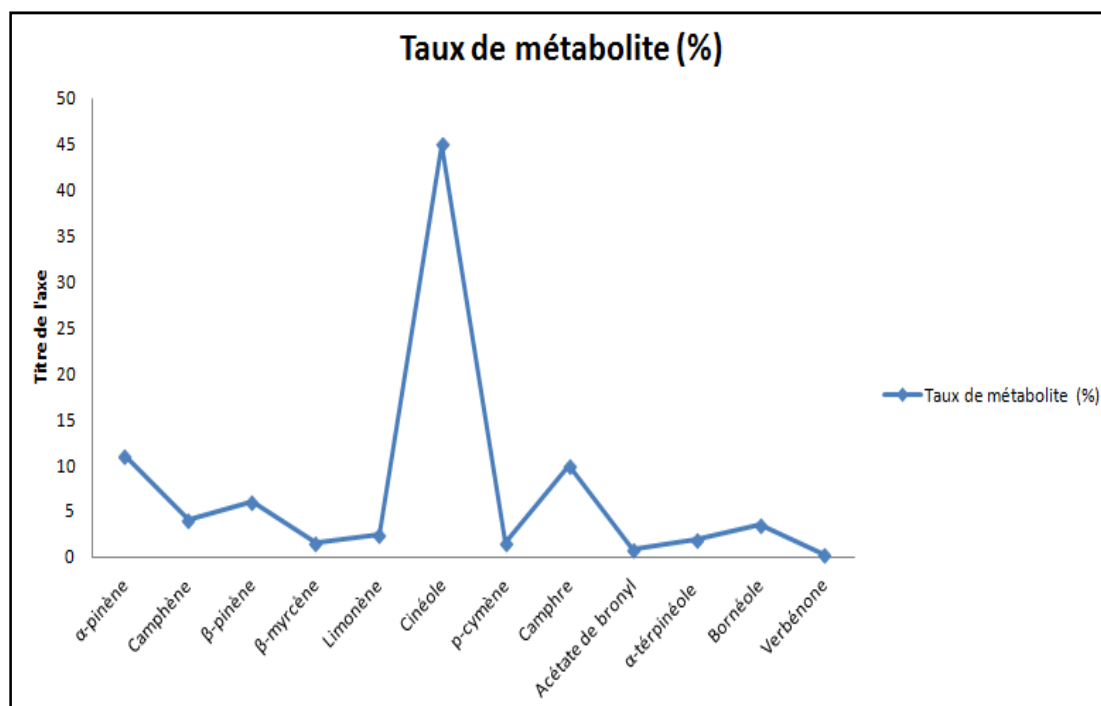


Figure n° 16: La composition biochimique d'huile essentielle analysée par CPG

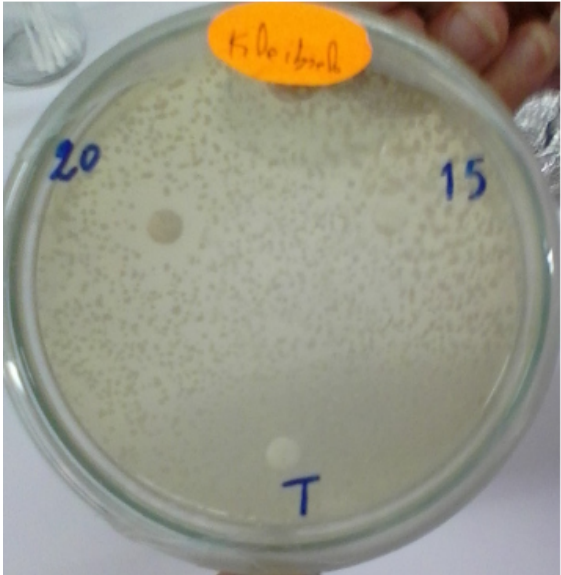
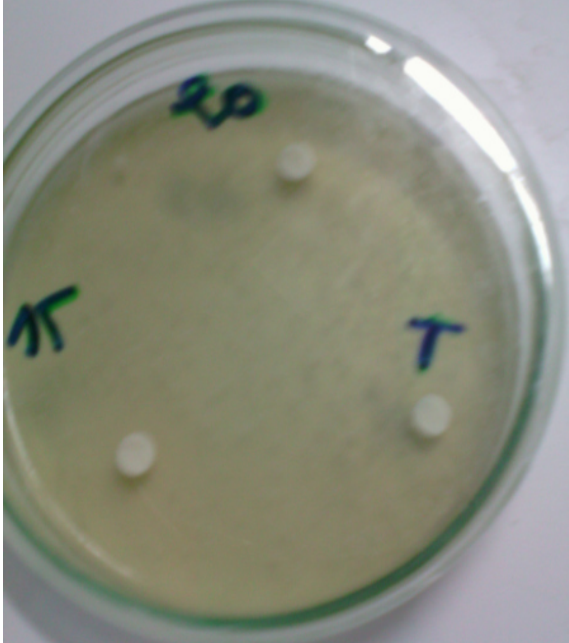
II.6. Les activités biologiques des huiles essentielles

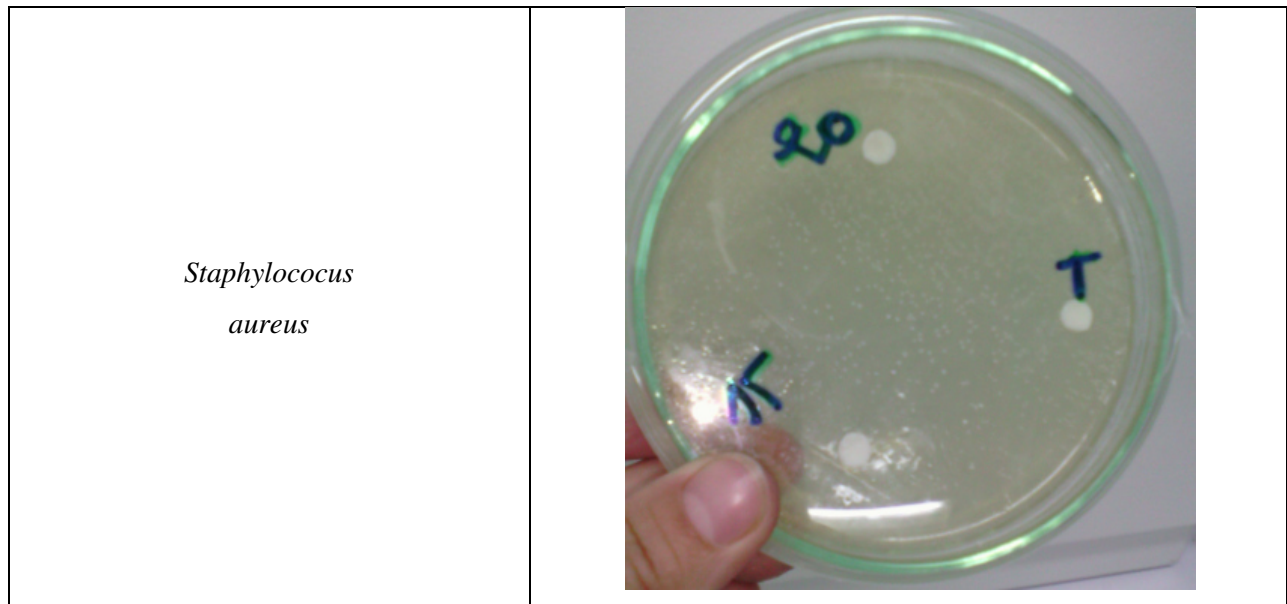
II.6.1. Etude de pouvoir antibactérien

Les résultats obtenus de l'activité biologique sont représentés dans le tableau n°X. Les résultats des diamètres des zones d'inhibition révèlent qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont résistantes aux huiles testées, sachant que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* présentent une activité antibactérienne notamment sur les bactéries Gram positif par rapport aux bactéries Gram négatif selon **Ayadi et al., (2011)**. Cela peut être interprété par la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries Gram négatif qui assure une meilleure protection, ou bien à l'absence d'action de certains composés volatiles des huiles essentielles testées.

Alors que *Klebsiella pneumoniae* est sensible avec une zone d'inhibition de 12 mm de diamètre malgré qu'elle appartienne aux bactéries Gram négatif. Ce résultat peut être expliqué par la présence de différents degrés d'activités contre des bactéries Gram négatif et gram positif (**Dorman et Deans, 2000**).

Tableau n°X : Les résultats obtenus de l'activité biologique

Souches bactériennes	Résultats
<p><i>Klebsiella Pneumoniae</i></p>	
<p><i>Escherichia coli</i></p>	



II.6.2. Etude de pouvoir anti parasitaires

Nous avons observé un brunissement des membranes dans les concentrations les plus élevées en huiles essentielles du romarin indiquant une dégénérescence des membranes. Nous avons également constaté le détachement des deux membranes kystiques (la membrane germinative et la membrane laminaire) constituant les membranes kystiques (figure n°17).

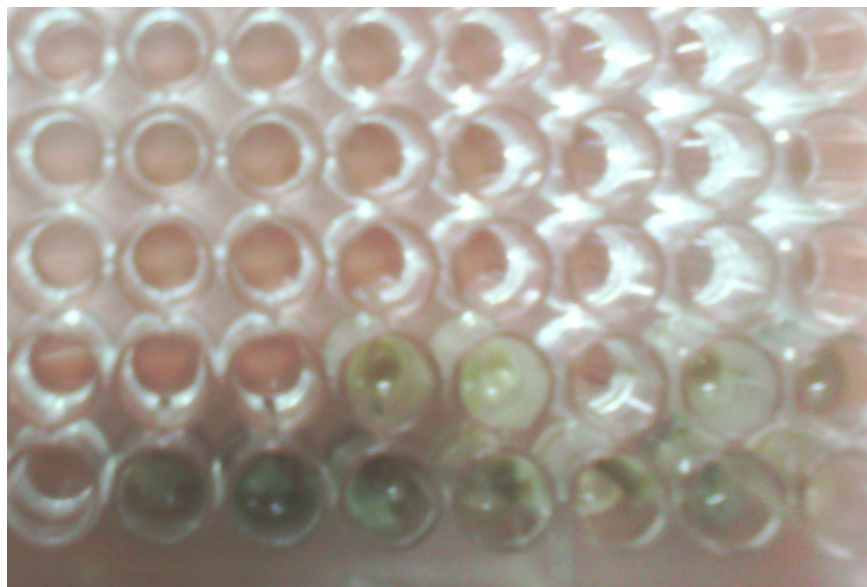


Figure n°17 : résultats de l'activité antiparasitaire.

II.7. Formulation d'une pommade

II.7.1. Contrôle de qualité de pommade formulée

7.1.1. Analyse sensorielle

La couleur de la pommade étudiée est marron, cette coloration issue de cire d'abeille parce que l'huile essentielle est jaune clair alors que la vaseline est blanchâtre, elle est généralement pâteuse avec une odeur caractéristique (figure n°18).



Figure n° 18: Aspect de la pommade.

7.1.2. Mesure de pH

Le pH de la pommade est égale à 6 proche de la neutralité. Donc nous pouvons dire que cette pommade ne provoque pas d'irritation sur la peau.

7.1.2. Test microbiologique de pureté

Ces résultats montrent une absence totale de contamination par les bactéries, les levures et les moisissures ce qui donne un produit d'une excellente qualité microbiologique (figures 19 et 20).

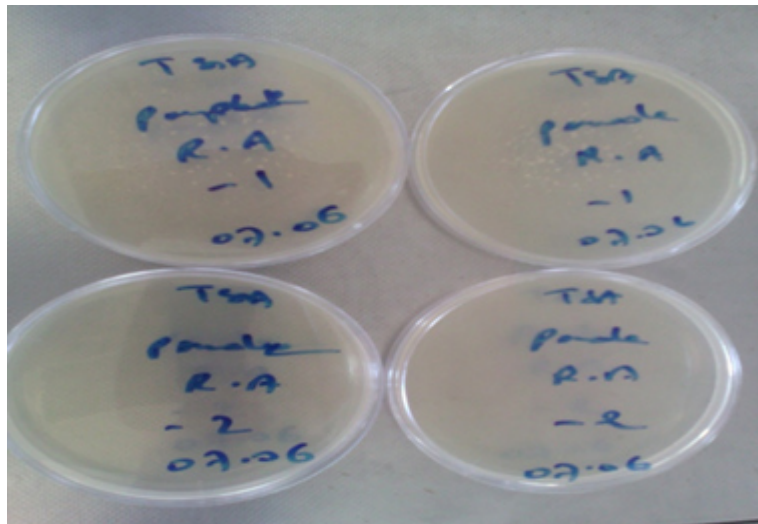


Figure n° 19 : Résultat de l'incubation de pommade dans le TSA.

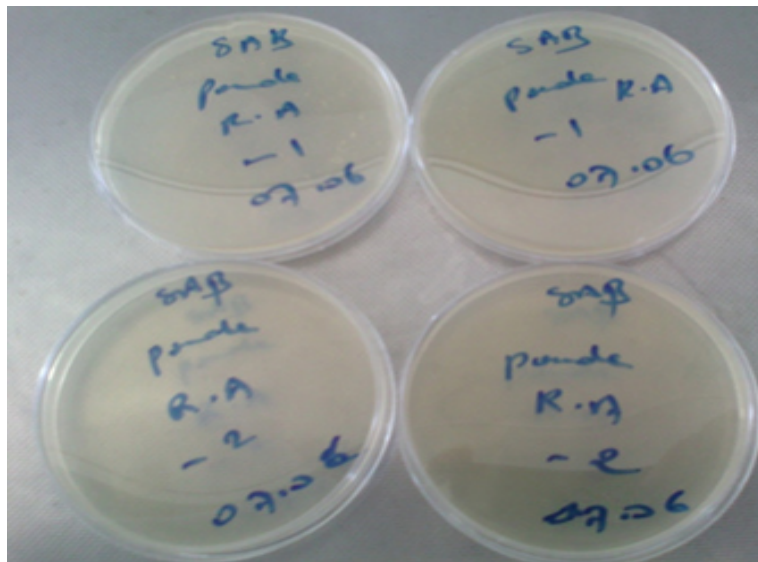


Figure n° 20 : Résultat de l'incubation de pommade dans le milieu SAB.

7.2. Etude de l'effet anti inflammatoire et cicatrisant de l'huile essentielle

Les effets de la pommade sont illustrés dans la figure n°21. Le traitement a montré une rétraction de la zone enflammée et résorption de la lésion laissant apparaître la dépigmentation de la peau qui est une conséquence de la lésion et cicatrisation de la peau ne laissant aucune trace de la lésion sauf une dépigmentation. La peau reperdra sa couleur après exposition à l'UV.

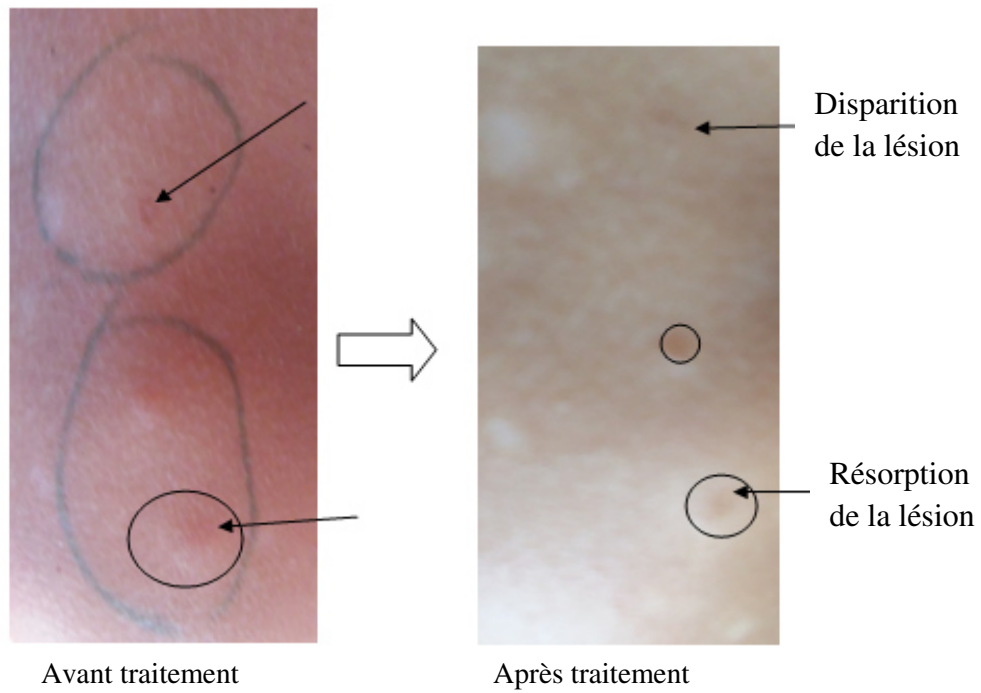


Figure n° 21 : Résultats de d'effet anti inflammatoire et cicatrisant de la pommade formulée



Conclusion générale

Conclusion et Perspectives

Au terme de ce travail, nous avons mis en évidence certaines caractéristiques physicochimiques de l'huile essentielles de *Rosmarinus officinalis* extraite par hydrodistillation. D'autre part nous avons montré quelques effets biologiques notamment l'effet antibactérien, anti parasitaire et quelques effets pharmacologiques tels que l'évaluation de pouvoir anti inflammatoire de cette huile .

Au regard global de nos résultats, nous pouvons noter avec intérêt que le screening phytochimique de la plante a montré que les feuilles de *Rosmarinus officinalis* est riche en anthocyanes, tanins, glucosides, coumarines, mucillages, terpanoïde. Toutefois cette plante est pauvre en irridoides, en sucres réducteurs, et en anthraquinones.

Le rendement d'extraction des huiles essentielles de la plante sèche par hydrodistillation est très faible (0,05) en comparaison avec celui trouvé dans les normes AFNOR. Cette différence peut être due à la méthode d'extraction utilisée.

Le contrôle physicochimique des huiles essentielles a permis d'évaluer la qualité de ces dernières en déterminant l'indice d'acide, le pouvoir rotatoire et la densité relative. Nos résultats ont montré que les propriétés physicochimiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* extraites par hydrodistillation sont conformes aux normes AFNOR.

L'analyse effectuée par chromatographie en phase gazeuse a montré l'existence de trois composés chimiques majoritaires.

L'étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de romarin a montré une action antibactérienne sur *Klebsiella pneumoniae* d'une part, d'autre part un effet antiparasitaire particulièrement anti hydatique très marqué.

Au cours de notre travail, nous avons formulé une pommade à base des huiles essentielles et qui a montré un effet anti-inflammatoire sur la peau.

En perspective, il est nécessaire d'effectuer d'autres études complémentaires pour améliorer les méthodes d'extraction des huiles essentielles dans le but d'assurer un meilleur rendement et d'identifier les métabolites doués d'activités biologiques importantes pour le développement de thérapies alternatives dans plusieurs pathologies. Il est également important d'évaluer l'effet toxique à moyen et à long terme de différents dérivés de l'huile de *Rosmarinus officinalis*.

Une recherche sérieuse d'une meilleure exploitation de ces huiles dans les domaines pharmaceutiques, nutritionnels et technologie agro-alimentaire.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

- Afnor. *Huiles essentielles Echantonnage et méthodes d'analyse Monographies relatives ax huiles essentielles* .2000
- AIACHE ,J-M.BEYSSAC ,F.CARDOT ,J-M.HOFFFORT ,V.RENOUX ,R.*Initiation à la connaissance du médicament* .5^{ème}Edition ,p269-272.
- ANTON, J.C. WENNIGER, B.Huiles essentielles in Actifs t additifs en cosmétologie. Lavoisier Tec et Doc. 3^{ème} édition. Paris, 2006, p189-229.
- ARNOLD, N., VALENTINI, G., BELLOMARIA, B., et al. *Comparative study of the essential oils from Rosmarinus eriocalyx Jordan & Fourr. from Algeria and R. officinalis L. from other countries*. Journal of Essential Oil Research, 1997, vol. 9, no 2, p. 167-175.
- AVILA, Sosa., ADDI RHODE NAVARRO, Cruz., OBDULIA VERA, López., et al. *Romero (Rosmarinus officinalis L.): una revisión de sus usos no culinarios*. Ciencia y Mar 2011, Edificio 105E Ciudad Univers, Vol 72420, p24-25.
- AYADI, S., JERRIBI, C., et ABDERRABBA, M. *Extraction et étude des huiles essentielles de Rosmarinus Officinalis cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie*. Journal de la Société Algérienne de Chimie, 2011, vol. 21, no 1, p. 25-33.
- AZALENKO, K.*Contribution à la détermination des chémotypes d'une plante à huile essentielle du Togo Lippiamutiflora*. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ .Lomé ,2005.

-B-

- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, C., REVIEU, MI. *Biological effects of essential oils*. A review food and chemical Toxicology, 2008, Vol. 46, p. 446-475.
 - BARDEAU, F. *Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale*. Edit. Femand Lanore, 2009, 315p.
 - BELAICHE, P. *L'aromatogramme, Traite de phytothérapie et d'aromathérapie*. M.S.A.Editeur, Paris, Tome 1, 1979, p. 204.
 - BELLAKHDAR, Jamal. *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Ibis Press (Ed). Paris, 1997, 764 p.
-

-
- BELOUED, Abdelkader. *Plantes médicinales d'Algérie* .6ème édition .Alger : office des publications universitaire, 2012,284p (I.S.B.N :978 .9961.0.0304.6).
 - BENEDICTE, Boudassou. *Plantes aromatiques*. Anne le Meur avec Anne Fragouard.le Guen. Paris : Hachette livre Jardin ,2014 ,95p (I.S.B.N :978-2-01-238510-8).
 - BOLOU, G., ATTIOUA, B. N'GUESSAN, A. COULIBALY, A. N'GUESSAN J, D. et DJAMAN A,J. *Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits de Terminalia glaucescens planch. sur Salmonella typhi et Salmonella typhimurium* . 2011,Vol 80, p 772 – 790.
 - BOULLARD, Bernard. *Plantes médicinales du monde: croyances et réalités*. De Boeck Secundair, 2001.
 - BOUSBIA, Nabil .*Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires*. Thèse en co-tutelle, Chimie, 2013.
 - BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. techniques et documentation ,2ème édition, 1993, Lavoisier (France) ,422-266. (ISPN : 2-85206-911-3).
 - BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. techniques et documentation ,3ème édition, 1999, Lavoisier (France), (ISPN : 2-7430-0315-4).
 - BRUNETON, J. *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. techniques et documentation ,4ème édition, 2009, Lavoisier (France), p 288. (ISPN : 978-2-7430-1188-8).

-C-

- CASTELLANA, R et JAMA, S. *Floriculture et parfumerie: les origines de l'acclimatation végétale sur la cote d'azur*. Issued by the phoenix project, 2012, 17p.
 - CELIKTAS, Y. BEDIR, E. VARDAR, F. SUKAN, V. *In vitro antioxidant activities of Rosmarinus officinalis extracts treated with supercritical carbon dioxide*.2006, Vol, 101,8p.
 - CHEMAT, Farid., LUCCHESI, Marie Elisabeth1., JACQUELINE, SMADJA .*Flavour And Fragrance Journal Flavour Fragr*. 2004. Vol 19, p134-13 8.
 - CHOUITAH, O. *composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de glycyrrhiza glabra*.These de Doctorat.oran, 2012,143p.
-

-D-

- DE BOREE. *Atlas illustré des plantes médicinales curatives*. Paris : Swsaeta Editionnes S.A ,2012 ,285P (I.S.B.N :978-2-8129-0590-2).

-E-

ERKAN, N.AYRANCI, G. AYRANCI, E. *Food Chem.* 110,2008,p76.

-F-

- FADIL ,M.FARAH,A. IHSSANE,B. HALOUI ,T. RACHIQ,S. *Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de Rosmarinus officinalis L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of Rosmarinus officinalis L. by response surface methodology*.2015,Vol,6,p13.
- FESTY, Danièle. *Ma bible des huiles essentielles*. Quotidien Malin, une marque des Editions leduc.s, Paris, 2014,34p (I.S.B.N : 979-10-285-0013-9).

-G-

- GOETZ, Paul et GHEDIRA, Kamel. *Phytothérapie anti-infectieuse*. Springer Science & Business Media. France, paris, 2012,342p
 - GONZÁLEZ-TRUJANO, M. E., PEÑA, E. I., MARTÍNEZ, A. L., et al. *Evaluation of the antinociceptive effect of Rosmarinus officinalis L. using three different experimental models in rodents*. Journal of ethnopharmacology, 2007, vol. 111, no 3, p. 476-482.
- GORIS, A.LIOT, A. JANOT, M.M. GORIS, A. *Pharmacie galénique*. Masson. Paris, 1949, tome 2, p1928.
- GUINOCHET, T. *Phytosociologie*.Ed. Masson, France, 1973, 227p.
-

-H-

- HURABIELLE, M. *Abrégé de matière médicale (pharmacognosie)*.
TonneI.Ed.Masson, 259. Lavoisier(France), 1981.

-I-

-J-

- JITARU M., LOWY D. A., TOMA M., TOMA B. C., ONICIU L. *Electrochemical reduction of carbon dioxide on flat metallic cathodes*. Journal of Applied Electrochemistry, 27, 1997, p875-989.

-K-

- KONE, S. *Contribution à la formulation de pommades dermiques à base d'extraits de plantes à propriétés antifongiques et antibactériennes*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Bamako, 1993, 85 pages.
- KOUBISSI, H. *Dictionnaire des herbes et des plantes médicinales*. Édition Daar el kooub el Elmia Bierut ,2002. KONE, S. *Contribution à la formulation de pommades dermiques à base d'extraits de plantes à propriétés antifongiques et antibactériennes*. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Bamako, 1993, 85 p.

-L-

1986 ,618 pages.

- LAURENT, Anne et DELERME, Céline. *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielle*. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Mai 2008,17p. www.afssaps.sante.
 - LEGRAND, G (1986) .*Manuel du préparateur en pharmacie*. 10^{ème} édition Masson Paris, 1986, 618 pages.
-

-
- LEGRAND, G. AIACHE, J.M. *Manuel du préparateur en pharmacie à l'usage des élèves préparateurs, préparateurs et étudiants stagiaires en pharmacie*. 12^{ème} édition, 1993, 644p.
 - Legrand, G. *Manuel de préparateur en Pharmacie*. Masson, Paris, 1993.
 - LEGRAND, G. *Manuel du préparateur en pharmacie*. 10^{ème} édition Masson. Paris,
 - LEPAGE, V. *Rosmarinus officinalis 'pointe du raz'*. 2016. disponible sur : (www.lepage-vivaces.com).
 - LUCCHESI, Marie Elisabeth. *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. 2005, p. 17 ; 23, 52.

-M-

-
- MAKHLOUFI, A. *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 beur*. 1999 ,166p.
 - MOHAMMEDI, Z. *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen*. Mémoire de magistère, Univ. Tlemcen, 2006, 105p.
 - MONZIE, M. *Filière plantes aromatiques & à parfum*. Fiche technique : Production peu développée en Languedoc-Roussillon, 2008, 8p.

-N-

-
- NEVES, JM.MATOS, C. MOUTINHO, C. QUEIROZ, G. GOMES, L. R.J. *Ethnopharmacol.* 124 (2009) 270.

-O-

-
- OFSP (office fédéral de la santé publique). *Les huiles essentielles*. Département fédéral de l'intérieur DFI. Unité de direction protection des consommateurs : schweizerische eidgenossenschaft.confédération suisse confederazione.confederazioni svizr, .avril 2008, 5p.
 - OUSSALAH, M. *Inhibitory effects of selected plant essential oils on pseudomonas putida growth, a bacterial spoilage meat*. 2007, Vol 73, p236-244.

-P-

- PHARMACOPIE EUROPEENNE. *Conseil de l'Europe*. 7^{ème} édition, Strasbourg, 2010.
- PIBIRI, M. *Effects of cinnomaldehyde, garlic and juniper berry essential oils on rumen fermentation, blood metabolites, and carcass characteristics of growing lambs*. Thèse de doctorat, Institut des infrastructures, des ressources d'environnement, Lausanne, Suisse, 2006.
- POLETTI, A. *Fleurs et plantes médicinales*. 2ème Edition. Delachaux & Niestlé, Paris, 1988, 222p.

-Q-

-R-

- RICHARD, H et PEYRON, F. *Epices et aromates*. Ed .Tec & Doc-Lavoisier, Paris, 1992, p. 339

-S-

-T-

- TYLER V.E., BRADY L.R. et ROBBERS J. E. *Pharmacognosy*. Edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 1976, 171 p.

-U-

-V-

-W-

-X-

-Y-

-Z-

- ZABEIROU et HACHIMOU. *Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (Mentha Spicta L) et de la Poivree (Mentha Piperita L) dans la région d'Ouargla*. Mémoire de DES Biochimie, Université de Kasdi Merbbah, Ouargla, 2005, p 16.
- ZEBOUDJ, S. BELHANECHÉ-BENSEMRA, N. BELABBES, R. *J. Food Eng.* 67, 2005, p507



Annexes

Annexes I : Matériels et Equipements

Verrerie et le petit matériel	Appareillage et dispositifs.	Réactifs
-Tubes à essai -Béchers - Pipettes graduées - Eprouvettes graduées - Ballon à fond rond - Verres à montre - Spatule - Barreaux magnétiques - Ampoule à décanter - Papier filtre - Micropipettes - Embouts	-Chauffe ballon -Chambre UV -Bain-marie - Etuve - Agitateur magnétique - Balance analytique - Réfrigérateur - Dessiccateur - Appareil CPG - Broyeur électrique	- Eau distillée - Ethanol - HCL - Ammoniaque. - FeCl ₃ - H ₂ SO ₄ - KOH - Acide gallique -Acide sulfurique -Réactif e Fehling -Alcool éthylique -Chloroforme

- Les formules chimiques des réactifs

Réactifs	Formule chimique
Acide chlorhydrique	HCl
Ammoniaque	NH ₃
chlorure de fer anhydrique	FeCl ₃
Chloroformes	CHCl ₃
Ethanol	C ₂ H ₅ O
Ether diéthylique	C ₄ H ₁₀ O
Hydroxyde de potassium	KOH
Hydroxyde de sodium	NaOH

Annexe II : les milieux utilisés

Gélose aux peptones de caséine et de soja (TSA) :

- Peptone pancréatique de caséine (15g).
- Peptone papaine de soja (5g).
- Chlorure de sodium (5g).
- Gélose (15mg).
- Eau purifiée (1000ml).

Milieu Mueller Hinton :

- Extrait de viande 4g.
- Amidon 1.5g.
- Tryptone (caséine).
- Agar 15 g.

L'eau physiologique stérile :

- 0.9 mg de Nacl.
- 100 ml d'eau distillé.

Milieu Sabouraud :

- Peptone de viande et de caséine (10 g).
- Gélose (15g).
- L'eau purifiée (1000 ml).
- Glucose monohydraté (40g).

Annexe III

Matériels biologiques

- **Les souches bactériennes**
 - ✓ **Staphylococcus aureus**

Ce sont des cocci Gram positif avec un diamètre de 0.5 à 1.5 μ m, elles sont habituellement non capsulée, ou possédant des capsules limitées, elles sont anaérobies facultatives.

C'est l'agent commun des infections postopératoires de blessures endocardite aigue, intoxications alimentaires (**Dworkin et Falkow, 2006**)

- ✓ **Escherichia coli**

C'est une bactérie à Gram négatif, commensal du tube digestif de l'homme et de l'animal (kaper et al, 2004), de forme non sporulée, de type aérobie facultative, généralement mobile grâce au flagelle

Cette bactérie est impliquée dans les infections aiguës d'appareil urinaire, elle provoque également des diarrhées d'été ,des intoxications alimentaires (**Percival,2004**).

Résumé

L'objectif de notre travail est de caractériser et identifier les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*, mettre en évidence ses activités biologiques et l'essai de formulation d'un pommade à partir de ces huiles. D'après les résultats obtenus on a remarqué un rendement en huiles essentielles de l'ordre de 0,05 %, ce résultat est conforme aux standards internationaux. L'étude phytochimique a prouvé la richesse de cette plante en anthocyanes, tanins glucosides, coumarines, mucilages, terpanoïdes. L'étude organoleptique a permis de constater que cette huile est un liquide de couleur jaune clair avec une odeur camphrée. Les résultats des indices physicochimiques a montré un indice d'acide de 1,4025g NaOH/g, pH de 6,7 ; pouvoir rotatoire égal à 0 et une densité relative de 0,91g /cm³. L'analyse par CPG a révélée la richesse de l'huile essentielle en cinéole et pinène avec des grandes quantités. L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré une action et degré de sensibilité variable vis à vis les souches testés. L'activité antiparasitaire a donné une action positive provoquant le détachement de la paroi du kyste hydatique. Le contrôle de qualité du pommade a montré que cette dernière est caractérisé par une couleur marron, odeur caractéristique, consistance pâteuse, pH égal à 6 et qui ne présente aucune contamination bactérienne.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, activité biologique, pommade, rendement, étude phytochimique, indices physicochimiques, pouvoir rotatoire, CPG, activité antibactérienne, activité antiparasitaire, kyste hydatique.

Summary

The aim of our work is to characterize and identify the essential oils of *Rosmarinus officinalis*, to demonstrate their biological activities and to test the formulation of an ointment from these oils. The yield of essential oils is 0.05%. The phytochemical study showed the richness of this plant in anthocyanins, tannins, glucosides, coumarins, mucilages and terpanoïdes. The organoleptic study showed that this oil is of light yellow liquid with a camphorous odor. Physicochemical analysis showed an acid number of 1.4025 g NaOH/g, pH of 6.77, rotatory power equal to 0 and a relative density of 0.91g/cm³. The analysis by GC revealed the richness of the essential oil in cineole and pinene with large quantities. The evaluation of the antibacterial activity showed an action and a degree of sensitivity variable with respect to the strains tested. The antiparasitic activity gave a positive action causing detachment of the hydrated wall. The quality control of the ointment showed that the latter is characterized by a brown color, characteristic odor, pasty consistency, pH equal to 6 and which does not present any bacterial contamination.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, biological activity, ointment, yield, phytochemical study, physicochemical index, rotatory power, GPC, antibacterial activity, antiparasitic activity, hydatid cyst.

ملخص

الهدف من عملنا هو لتوصيف و تحديد الزيوت الأساسية من إكليل الجبل المخزنة و تسليط الضوء على الأنشطة البيولوجية و صياغة مرهم اختبار من هذه الزيوت. ووفقا للنتائج لاحظنا إنتاجا الزيوت الأساسية من حوالي 0.05 %. الدراسة الكيميائية النباتية تبين ثراء هذا النبات بالانتوسيانين، العفص جليكوسيدات، الكومارين، الصمغ، terpanoïdes، أظهرت الدراسة إن هذه الزيوت ذات لون اصفر فاتح و رائحة les camphrée، اطهرت نتائج الفيزيائية عدد حامض 1.4025غ، ودرجة الحموضة من 6.77، الدوران الضوئي يساوي 0 والكثافة النسبية 0.91 g/cm³ و التحليل بواسطة CPG كشف ثراء هذه النبتة بالسنيول و بينين واطهر تقييم النشاط المضاد للبكتيريا وجود درجات متفاوتة من الحساسية تجاه السلالات التي تم اختبارها. أعطى النشاط المضاد للطفيليات نتائج ايجابية مما تسبب في انفصال غشاء الكيس المائي. ومراقبة الجودة للمرهم بينت أن هذا الأخير يتميز بلون بني ورائحة مميزة واتساق عجيني، ودرجة حموضة 6 وعدم وجود أي تلوث بكتيري.

كلمات البحث :إكليل الجبل، النشاط البيولوجي، مرهم، الدراسة النباتية والمؤشرات الفيزيائية و الكيميائية، التناوب البصرية ، CPG، مضاد الجراثيم، النشاط المضادة للطفيليات، الكيس المائي.