

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

Melle : *TAHIRE Keltoume*

Thème

*Les huiles essentielles de Rosmarinus officinalis :
caractéristiques physico-chimiques et activité antioxydante*

Soutenu le : 22/09/2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme. Messad Sara</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. CHIRIFI ZAKIA</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mme Djouahra Djamilia</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Co-Promotrice</i>
<i>M. Lebdiri FARID</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Je remercie dieu le tout-puissant qui m'a donné la force et le savoir afin d'accomplir ce modeste travail.

Un grand merci pour ma famille, surtout mes parents qui m'ont aidé, soutenus et suivis tout au long de mon projet.

Je remercie profondément ma promotrice Mme CHERIFI, Z. de l'université de bouira, pour son suivie, ses remarques ainsi qu'à ma Co-promotrice Mme Djouahra .Dj pour son suivie attentif pour la réalisation de ce modeste travail

Je remercie l'ensemble des membres du jury d'avoir accepté d'examiner ce travail, et tout particulièrement. madame messad .S qui a présider ce travail , monsieur Labdrif. F qui a accepté de juger ce travail.

Enfin nous voulons dire merci à tous les enseignants du département de Biologie de L'université Akli Mohand Oulahdj Bouira pour l'aide pendant notre formation d'étude

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à:

-Mes chers parents que dieu les protège et les garde pour nous.

- Mon frère Abdennour et mes sœurs : Akila, Mariem, Nassima et Souade.

- Ma chère amie que j'adore ahlame.

- A tous mes ami (e)s et collègues et à tous ceux qui m'ont aidé de près et de loin à la réalisation de ce travail

La liste des abréviations

La liste des abréviations

A : Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

BHA : Butyl hydroxy Anisole

BHT :Butyl hydroxy Toluéne

°C : Degré Celsius

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

ERN : espèces réactives d'azote

ERO : espèces réactives oxygénées

ERS : espèces réactives de soufre

HE: Huile Essentielle

I A : indice d'acide

IC50 : inhibitrice Concentration médiane

PH : Potentiel d'Hydrogène

Rd : Rendement de l'huile essentielle

TBHQ :Ter-Butyl-Hydroxy-Quinone

La liste des figures

La liste des figures

Figure 1: feuilles et fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i>	4
Figure 2 : Exemples de quelques monoterpènes.....	9
Figure 3 : Exemples de quelques sesquiterpènes	10
Figure 4 : Exemples de quelques composés aromatiques.....	10
Figure 5. Montage d'extraction par hydrodistillation.	12
Figure 6. la démarche expérimentale.....	17
Figure 7 Carte géographique de station Aït l'Aziz boiura.....	18
Figure 8 photo représente l'étuve.....	20
Figure 9 Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle (originale).....	21
Figure 10 Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	22
Figure 11 Photo représente le pH mètre.....	23
Figure 12 Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton.....	25
Figure 13 : les étapes de Préparation de l'infusé.....	26
Figure 14 : Teneur en humidité et en matière sèche de <i>Rosmarinus officinalis</i> de la région D'Ait l'Aziz.....	29
Figure 15. Activité antiradicalaire de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	33
Figure 16. Activité anti radicalaire de l'acide ascorbique.....	33

Les listes des tableaux

Les listes des tableaux

Tableau 1 Classification de <i>R. officinalis</i> dans la systématique botanique.....	4
Tableau 2 : Appareils de laboratoire utilisés.....	19
Tableau 3 teneur en eau des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	29
Tableau 4 Résultats d'analyse des indices physico-chimique.....	30
Tableau 5 : Propriétés organoleptiques de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	32
Tableau 6 : Activité anti radicalaire par la méthode de DPPH.....	34
Tableau 7 : résultats du screening phytochimique des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i>	35

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Introduction.....1

1ère partie : La synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur la plante

I- 1- Définition.....3

I-2- Origine de nom.....3

I-3- Description botanique.....3

I-4- Distribution géographique.....5

I-5- La composition chimique.....5

I-6- les applications de plante5

I-6-1- en cosmétique.....5

I-6-2- en Thérapies et en pharmacologie.....6

I-6-3- en agroalimentaire.....6

I-6-4- les autres applications6

Chapitre II : composition et méthodes d'extraction des huiles essentielles

II-1- Définition.....8

II-2- Répartition et localisation.....8

II-3- Composition chimique des huiles essentielle.....8

Tables des matières

II-3-1- Les composés terpéniques.....	9
II-3-2- Les monoterpènes (C ₅ H ₁₆).....	9
II-3-3- Les sesquiterpènes (C ₁₅ H ₂₄).....	9
II-3-4- Les composées aromatiques.....	10
II-4- Les propriétés physicochimiques des HE.....	10
II-5- Les facteurs de variabilité des HE.....	11
II-5-1- L'organe producteur.....	11
II-5-2- L'origine géographique.....	11
II-5-3- Le mode de culture.....	11
II-6- Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	12
II-6-1- Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle.....	12
II-6-2- Expression a froids.....	12
II-6-3- Entraînement a la vapeur.....	13
II-6-4- Extraction par les solvants organiques.....	13
II-7- Le rôle des huiles essentielles.....	14
II-8- Activité biologique.....	14
II-8-1- Activité antioxydant.....	14
II-8-1-1- Le stresse oxydatifes et Les radicaux libre.....	14
II-8-1-2- Définition des antioxydants.....	15
II-8-2- 3-Types des antioxydants.....	15
II-8-1-3-1- Les antioxydants de synthèse.....	15
II-8-1-3-2- Les antioxydants naturels.....	15

2ème Partie : Partie expérimentale

I-Matériel

I-1- Matériel végétal.....	18
I-1-1- Origine et période de récolte de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
I-2- Matériel au laboratoire.....	18

II- Les Méthodes

II.1. Séchage broyage et conservation de plante.....	19
II-2-Détermination de taux d'humidité et de matière sèche.....	20
II-3- Extraction de l'huile essentielle par l'hydrodistillation.....	21
II -3-1-Protocole d'extraction des huiles essentielle.....	21
II-3-2- La séparation des phases.....	21
II-3-3- Conservation de l'huile essentielle obtenue.....	22
II-4 - Analyses physicochimiques d'huile essentielle.....	22
II-4-1- calcule de rendement d'extraction.....	22
II-4-2- Calcule Indice d'acide.....	22
II-4-3-Potentiel d'hydrogène (pH).....	23
II-4- 4-Densité relative.....	24
II-5- Caractérisation organoleptique d'huile essentielle.....	24
II-6-Activité antioxydant.....	24
II-6-1-Test du piégeage du radical libre DPPH.....	24
II-7- Screening phytochimique.....	26
II-7-1- Préparation de l'infusion.....	26
II-7-2-La révélation de la présence de quelques métabolites secondaire.....	27
II-7-2- 1-Teste de Détection des Anthocyanosides.....	27
II-7-2-2- Teste de Détection des tanins.....	27
II-7-2-3- Le teste de Détection des glucosides.....	27

Tables des matières

II-7-2-4- Le teste Détection des mucilages.....27

II-7-2-5- Le teste Détection des irridoides.....27

III- Résultats et discussion

III-1-la tenure en eau (l'humidité) et en matière sèche de *Rosmarinus officinalis*.....29

III-2- Les caractéristiques physico-chimiques d'huile essentielle.....30

III-2-1-Détermination de rendement d'extraction.....30

III-2- 3-L'indice d'acide.....31

III-2- 4-Potentiel d'hydrogène.....31

III-2-5-La densité relative.....31

III-3- Les caractéristiques organoleptiques d'huile essentielle.....32

III -4 - Evaluation de l'activité antioxydant.....32

III - 5 -Screening phytochimique.....35

Conclusion.....37

Références bibliographiques.....38

Résumé.

Introduction
Générale

Introduction

La région méditerranéenne d'une manière générale, avec son climat doux et ensoleillé est particulièrement favorable à la culture des plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes ont été traditionnellement employées pour l'assaisonnement et la prolongation de la durée de conservation des aliments parmi cette plantes la *Rosmarinus officinalis* qui est très rependue en Algérie.(Makhloufi,2011).

L'utilisation de cette plantes pour leurs vertus médicinales est une pratique très ancienne. Elle trouve ses origines dans les plus grandes civilisations de l'orient et de l'occident. Comme en témoignent les textes rédigés plusieurs millénaires avant notre époque, les sumériens, les égyptiens, les chinois et les indous, possédaient toute une panoplie de remèdes à base de plantes.

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une grande source d'antioxydants naturels pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique.

L'oxydation des lipides dans produits alimentaires est l'un des problème majeurs en industrie agroalimentaire, à cause de la formation des produits d'oxydation, qui sont responsables des odeurs indésirables et de la diminution des qualités organoleptique, nutritionnelle, et microbiologique des aliments (Paradiso et *al.*, (2006).

Pour cela de nombreuse études s'orientent vers la recherche d'antioxydant naturels, à la fois surs et efficaces. Parmi ces différents types de substances naturelles, les huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales qui ont reçu une attention particulière comme agents naturels à grand potentiel pour la conservation des aliments (Viuda-Martos,mohamady et *al.* .2011)

Dans ce contexte s'inscrit le présent travail de recherche dont le but principal est l'extraction des huiles essentielle des parties aérienne de *Rosmarinus officinalis* et étudie leur activité biologique. La présente étude, vise à évaluer l'activité antioxydant de l'huile essentielle issue de *Rrosmarinus officinalis* récolté à Brouira. Ainsi que leurs propriétés physico –chimique.

Notre travail comprend deux parties la première partie Sectionner en deux chapitres un premier chapitre qui comporte une présentation botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*, sa localisation géographique et son utilisation. Le deuxième chapitre présente des généralités sur les Huiles essentielles, leurs compositions, activité biologique, ainsi que les méthodes d'extraction

La deuxième partie correspond a notre étude : extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et études les caractéristique physico- chimique et l'activité

Introduction

antioxydante. Cette partie est Consacrée à la présentation des matériels et des procédés méthodologiques suivent de résultats et discussions.

Enfin, une conclusion générale qui portera une lecture attentive sur les différents résultats obtenus.

Synthèse
Bibliographique

Généralités
Sur La Plante

CHAPITRE I : Généralités sur la plante

I- 1- Définition

Le Romarin est une plante aride qui se trouve dans les lieux rocheux de la région Méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens. Le romarin était utilisé en médecine depuis l'antiquité particulièrement par les égyptiens ; les grecs et les romains (Moussaoui ; 2005), Il a été employé essentiellement pour améliorer et stimuler la mémoire.

I-2- Origine du nom

Le mot romarin (*Rosmarinus*) Dérive du latin (*Rosmarinus*) qui se compose de Ros : rose et marinus : marin, donc qui signifie (rose de la mer). En effet, le Romarin est une plante que l'on retrouvera seulement dans les régions où s'étend la rosée venant de la mer (Marion; 2015).

I-3- Description botanique

Comme de nombreuses labiées, le romarin est originaire du bassin. Il appartient à la famille des lamiacées, c'est une plante très connue dans les pays occidentaux, très cultivée dans les régions méditerranéenne et qui possède plusieurs caractéristiques. En Effet, elle se présente sous forme d'arbuste. , à odeur pénétrante, pouvant atteindre 2mde hauteur, Le romarin est facilement reconnaissable en toute saison par ses feuilles persistantes sans pétiole. (Atik *et al*; 2007).

La floraison commence dès le moi de janvier et de février et se poursuit jusqu'au mois d'avril et mai. La couleur des fleurs varie du bleu pâle au violet. Ces dernières elles sont disposées en courtes grappes denses s'épanouissent tout au long de l'année et attirent de nombreux insectes.

CHAPITRE I : Généralités sur la plante



Figure 1: Feuilles et fleurs de *R. officinalis* (Talbetuder ; 2015).

Tableau 1 : Classification de *R. officinalis* dans la systématique botanique (Gausсен *et al*, 1982)

Règne	Plantea
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Décotylédone
Ordre	Lamiales
Famille	lamiaceae (labiées)
Sous-famille	nepetoideae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

CHAPITRE I : Généralités sur la plante

I-4- Distribution géographique

Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, dans les lieux secs et arides, exposés au soleil. A l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires. (Escuder;2007).

I-5- La composition chimique de romarin

Le *Rosmarinus officinalis*, c'est une plantes médicinales très utilisé depuis plusieurs siècles pour ses richesses en différent composés utiles. Les propriétés du romarin reviennent à ses principaux constituants qui sont :

➤ Les flavonoïdes

Les flavonoïdes présents chez *Rosmarinus officinalis* sont dérivés de la flavone. De nombreuses molécules ont été identifiées par (Semrau ; 1958) et (Brieskorn *et al* ; 1973)

L'apigénine et la lutéoline ont été isolés par chromatographie sur colonne (Sandra *et al*, 1969).

➤ **Acides phénoliques** : acide vanillique, acide caféique, (Ibañez *et al* ; 2003).

➤ Les Huiles essentielle

Les huiles essentielles du *Rosmarin* contiennent: de l' α -pinène (7 à 80%), de la verbénone (1 à 37%), du camphre (1 à 35%), de l'eucalyptol (1 à 35%), du bornéol (4 à 19%), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10%) et du camphène. (Bellakhdar ; 1997).

I 6- les applications de la plante

Le romarin est une herbe médicinale bien connue et, largement répandue dans les produits pharmaceutiques et la médecine, Elle est très appréciée pour ses propriétés aromatiques, antimicrobiennes et anti-tumorales. et aussi une propriété antioxydantes qui a été utilisée pour la conservation des aliments.

I-6-1- En cosmétiques

L'utilisation des HE dans la production de cosmétiques et de produits apparentés peut avoir de multiples avantages. L'HE de Romarin peut être recommandée comme conservateur

CHAPITRE I : Généralités sur la plante

naturel cosmétique (Muyima *et al* ; 2012). Le romarin a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permette l'utilisation dans la préparation de déodorants. Il est également utilisé en cosmétique aussi bien pour la peau que pour les cheveux

I-6-2-En Thérapies et en pharmacologie

Rosmarinus officinalis, est une herbe médicinale largement utilisée à travers le monde en raison de ses différentes propriétés Antiasthmatique, anti-dysentérique, anti-inflammatoire, antirhumatismale, antiseptique, anti-vertigineuse, et aussi un antioxydant fort.

Le romarin à des propriétés sur les fonctions digestives, en particulier sur l'activité de la vésicule biliaire. C'est aussi un antispasmodique et il a des propriétés stimulant du système nerveux.

Les feuilles de Romarin en infusion ont une action antispasmodique. Elles ont aussi un effet diurétique en augmentant le volume des urines et en facilitant l'évacuation des toxines par les reins.

I-6-3- En agroalimentaire

Le romarin possède des vertus anti oxydantes important qui lui permettent de conserver les aliments et les huiles lipidique, ces propriétés sont dues aux acides poly phénolique (rosmarinique, caféique), l'acide carnosolique, le rosmanol et le carnosol sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire. En effet, ils servent d'antioxydant et de conservateur dans les charcuter, les viandes, les produits alimentaires riches en graisses (Anton *et al* ; 2005 et Wichtl *et al*; 2003).

Le *Rosmarinus officinalis* est riche en flavonoïde et diterpènes qui lui confèrent des propriétés antioxydantes ce qui permet de réduire l'action des radicaux libres (Debuigne ; 2009)

I-6-4- les autre Applications

Les feuilles de Romarin, en compresses, sont traditionnellement utilisées afin de traiter L'eczéma et plus généralement comme insecticide (Wichtl *et al* ; 2003).

Les feuilles et fleurs de Romarin peuvent être prises régulièrement en tisane Afin de soulager les femmes de leurs pertes blanches (Laïs; 2014).

Le Romarin en combustion dégage une fumée qui rend plus joyeux, désinfecte l'air ambiant et stimule la mémoire (c'est le cas de toutes les formes de Romarin).

CHAPITRE I : Généralités sur la plante

La plante fraîche utilisée en décoction et le vinaigre de Romarin soulagent la toux liée à une grippe, les maux de tête ainsi que les crampes menstruelles. (Gausсен et *al* ; 1982).

L'extrait de feuille de Romarin se retrouve utilisé en tant qu'antioxydant dans certains Compléments alimentaires. (Grünwald *et al* ; 2006).

Composition
Et Méthodes
D'extraction Des
Huiles Essentielles

Chapitre II : Composition et méthodes d'extraction de l'huile essentielle

II-1- Définition

Selon AFNOR (Association Française de Normalisation) elle désigne un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques soit, par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des plantes contenant des citrals, soit par distillation sèche.

La pharmacopée européenne définit les huiles essentielles comme : « Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou 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 ».

II-2- Répartition et localisation

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques. (Khia *et al* ; 2014). Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles Essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Exemple : *Myrtaceae* (Girofle), *Lauraceae* (laurier), *Rutaceae* (citron), *Lamiaceae* (Menthe),.

Ils sont stockés sous forme des microgouttelettes dans les glandes des plantes. , On les trouve dans les fleurs, les fruits, les feuilles, les racines, les graines et les écorces de nombreux végétaux. Ces huiles sont aussi stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs comme dans la menthe, canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif (Ibenz ; 2012).

II-3- Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces HE regroupent des "composés majeurs": les alcools, les esters, les aldéhydes, les cétones...etc. L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

II-3-1- Les composés terpéniques

Les terpènes appartiennent à la vaste famille des isoprénoïdes qui constituent la classe la plus large des métabolites secondaires. La majorité des substances de cette classe sont généralement insolubles dans l'eau. Ils sont subdivisés selon le nombre d'unités isoprène en: monoterpène formés de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes, formés de trois isoprènes formés de ($C_{15}H_{24}$), diterpènes, formés de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$), tétraterpènes formés de huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes et polyterpènes ($(C_5H_8)_n$). (Bayala;2014).

II-3-2- Les mono terpènes

Les mono terpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les huiles essentielles (90%)

Ils comportent deux unités isoprène (C_5H_8) .

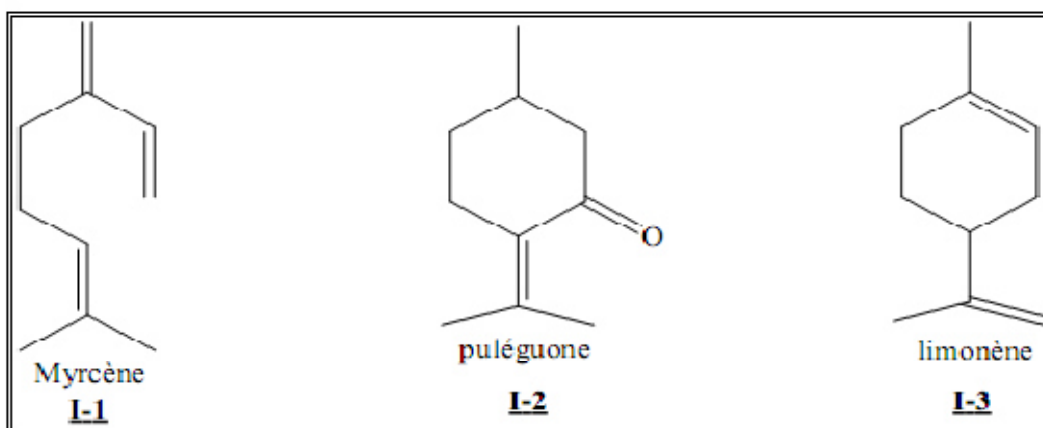
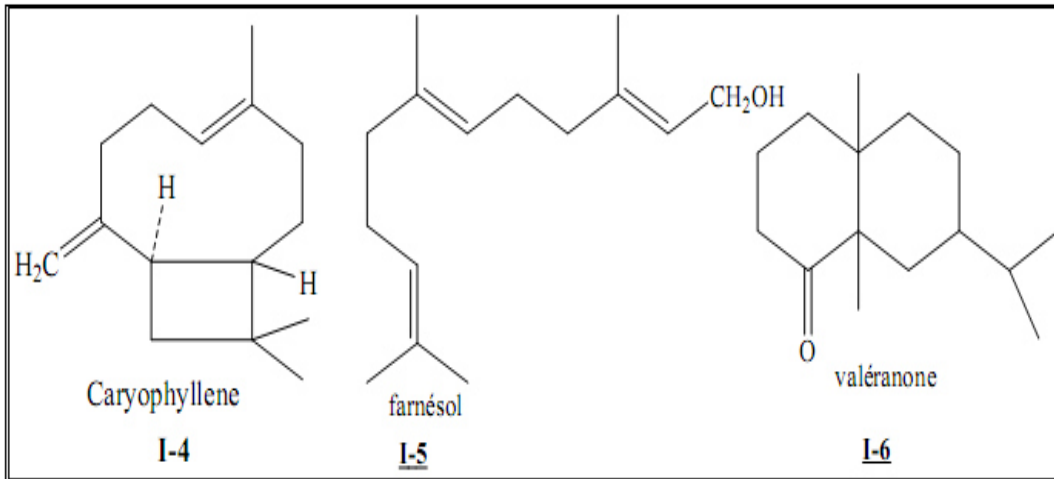


Figure 2 : Exemples de quelques mono terpènes (Menacure;2011)

II-3-3- Les sesquiterpènes ($C_{15}H_{22}$)

Ce sont des dérivés d'hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes qui se divisent en plusieurs catégories structurales, acycliques, monocycliques, bi cycliques, tri cycliques, poly cycliques. Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbure oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones dans la nature. (Bayala;2014).



Figur3 : Exemples de quelques sesquiterpènes (Menacure;2011)

II-3-4- Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, L'eugéno, l'anéthol, l'estragole et bien d'autres.

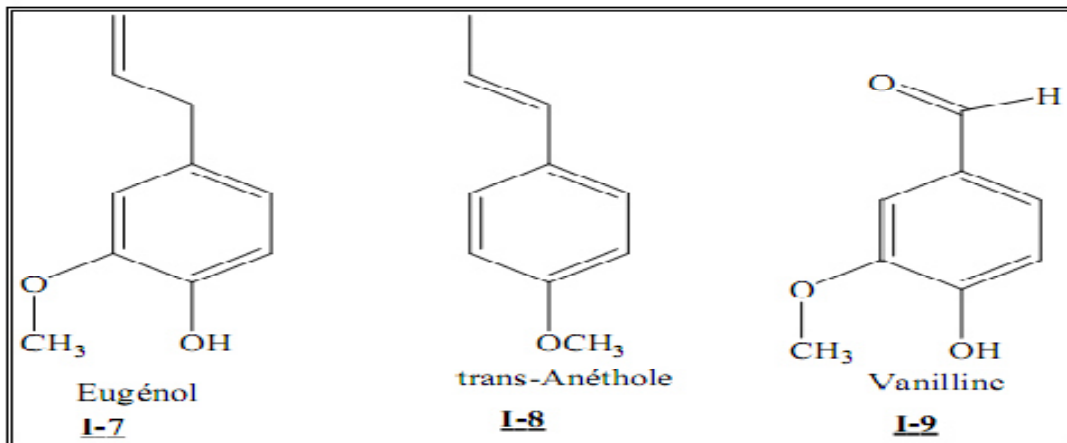


Figure 4 : Exemples de quelques composés aromatiques (Menacure;2011)

II-4- Les Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriété physicochimique Les principales caractéristiques physicochimique des huiles essentielles sont :

- Liquide à température ambiant.
- Les huiles sont insolubles dans l'eau soluble dans les alcools.

Chapitre II : Composition et méthodes d'extraction de l'huile essentielle

- Volatile et très rarement coloré.
- A la température ordinaire on trouve généralement les huiles essentielles incolores ou jaune pâle à l'état liquide.
- Les huiles essentielles sont altérable et sensible a l'oxydation il convient alors de les conserver a l'abri de la lumière et de l'humidité (Bayala;2014).

II-5- Les facteurs de variabilité

Des travaux de recherche ont prouvé que la composition chimique des huiles essentielles est très fluctuante. En effet, elle dépend de deux grands axes; ordre naturel (génétique, localisation, maturité, sol, climat, etc...) ou technologiques (mode de culture ou d'extraction d'huile essentielle de la plante), dont nous citons les plus importants:(Mayer;2014)

II-5-1- L'organe producteur

Il peut exister plusieurs huiles essentielles pour la même plante avec des compositions chimiques et des activités différentes c'est le cas de la cannelle de Ceylan, l'huile essentielle peut être extraite de ses feuilles et de son écorce.

II-5-2- L'origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. La composition chimique des huiles essentielles d'une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique, avec variation de la nature du sol peut être différente.

II-5-3- Le mode de culture

Il définit si la plante est cultivée ou sauvage. Il est souvent représenté par un label si la plante provient d'une culture biologique (Mayer;2014).

II-6- Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des huiles essentielles de corps végétales, voici les principale méthodes

II-6-1- Extraction par hydro distillation de l'huile essentielle

Ce mode d'extraction a été proposé par Garnier en 1891, c'est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et pouvoir 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 figure 5 rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition, les vapeurs hétérogènes vont se condenser sur une surface froide et l'HE sera alors séparée par différence de densité (Bruneton;1993)

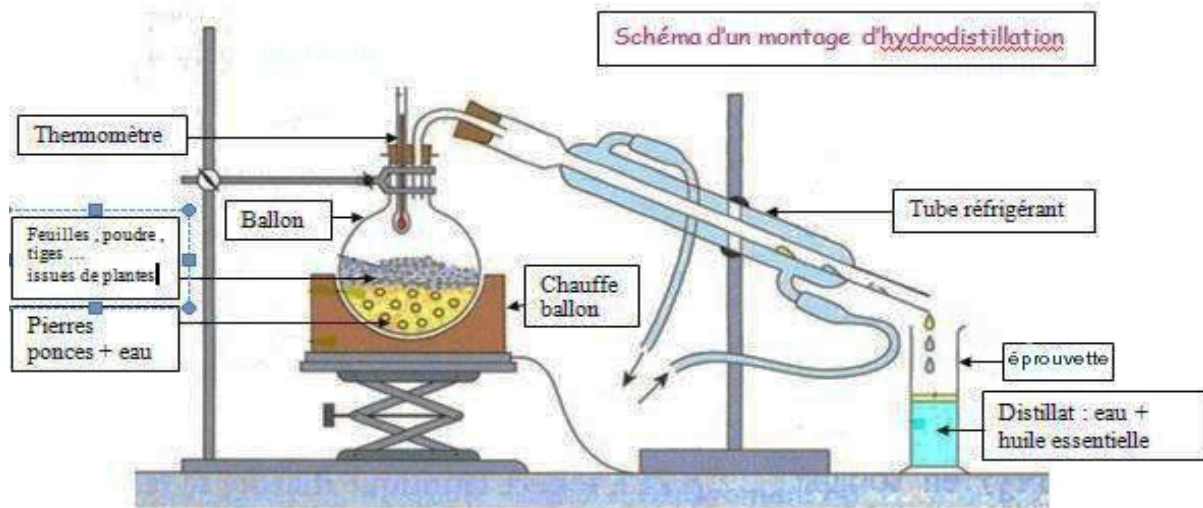


Figure 5. Montage d'extraction par hydrodistillation. (Bruneton; 1993).

II-6-2- Expression a froids

C'est une technique d'extraction des essences végétale .Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riche en huiles essentielles L'huiles essentielles ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau Formation d'une émulsion constituée d'eau et d'essence L'essence est alors isolée de l'eau grâce à une décantation (Bruneton ; 1993).

II-6-3- Entraînement a la vapeur

Cette technique qui ne met pas en contact directe l'eau et la matériel végétale contrairement a l'hydro distillation. Elle est basée sur l'utilisation d'une source de vapeur externe pour extraire et libérer les huiles essentielles de corps végétale.

Durant le passage de la vapeur a travers le matériel végétale, les cellules éclatent et libèrent les huiles essentielles qui seront vaporisées sous l'action de la chaleur pour forme d'un mélange (eau+huiles essentielles).

Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en deux phases bien distinctes une phase aqueuse (l'eau aromatique) et une phase organique l'huile essentielle (Bruneton ; 1993).

II-6-4- Extraction par les solvants organiques

L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone (Dapkevicius, Venskutonis *et al.* 1998 ; Kim and Lee 2002).

En fonction de la technique et du solvant utilisé, on obtient selon Des hydrolysats : extraction par solvant en présence d'eau.

- Des alcoolats : extraction avec de l'éthanol dilué.
- Des teintures ou solutions non concentrées obtenues à partir de matières premières traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau.
- Des résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement (Iagunez ; 2006)

II-7- Le rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles émises par les plantes sous forme de vapeur ont un impact écologique évident :

- Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons
- Elle empêche la dessiccation de la plante par évaporation excessive et protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou par concentration et maintiennent une certaine humidité autour des plantes des régions arides.
- Elles protègent les parties reproductives de la plante contre les prédateurs (herbivores, insectes).
- Elles interviennent lors de l'interaction végétal-animal et dans les communications plante-plante. Elles attirent les insectes et favorisent la pollinisation par leurs odeurs caractéristiques. On outre, elles embaument l'atmosphère en exhalant différents parfums ; c'est pour cela beaucoup d'entre-elles sont utilisées en cuisine comme condiments. (Henni ; 2016)

II-8- Activité biologique des huiles essentielles

Les extraits d'huiles essentielles possèdent des propriétés antioxydants, antibactériennes et antifongiques connues de longues dates (Dongmo, Kutea *et al* ,2002.)

II-8-1- Activité antioxydant

II-8-1-1- Le stress oxydatif et Les radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimique très réactive , contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ces composés peuvent réagir avec les molécules les plus stables pour apparié son électron.ils comprennent les espèces réactives oxygénées(ERO), les espèces réactives d'azote(ERN) et les espèces réactives de soufre(ERS).

Ils peuvent également causer des dommages cellulaires. Selon (Hussain *et al* ; 2003) plusieurs moyens de défense ont évolué pour protéger nos cellules contre les radicaux et pour réparer les dommages de l'ADN.

D'après (Reuter *et al* ; 2010) Le déséquilibre entre la production de radicaux libres et de métabolites réactifs, que l'on appelle des oxydants ou des espèces réactives de l'oxygène

Chapitre II : Composition et méthodes d'extraction de l'huile essentielle

(ROS), et leur élimination par des mécanismes de protection, dénommés antioxydants. Induire ce qu'on appelle le stress oxydatif

II-8-1-2- Définition des antioxydants

Selon (Helliwell *et al* ; 1987) les antioxydants sont définis comme «toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat».

II-8-1-3- Les types d'antioxydants

Les antioxydants sont largement présents dans nos aliments, soit sous forme naturelle, soit sous forme d'additifs utilisés dans l'industrie agroalimentaire (Tanguy *et al* ; 2009), pour prévenir ou retarder la détérioration oxydative des aliments. Il existe deux grandes familles d'anti oxygènes. Ceux d'origine naturelle et ceux de synthèse.

II-8-1-3-1- Les antioxydants de synthèse

Principalement utilisés sont les composés phénoliques comme le Butyl hydroxy Anisole (BHA), Butyl hydroxy Toluène (BHT) et le Ter-Butyl-Hydroxy-Quinone (TBHQ), et les ester de l'acide gallique

II-8-1-3-2- Les antioxydants naturels

Il a été rapporté que l'utilisation d'antioxydants naturels peut protéger les effets nocifs des radicaux libres induits chez le corps humain (Niki ; 2012). et parmi ces antioxydants on distingue :

- **Les huiles essentielles**

Les huiles essentielles extraites de certains plants ont été étudiées pour leurs activités antioxydantes.

- **Les composés phénoliques**

Les flavonoïdes, les acides phénols peuvent agir comme des antioxydants par leur pouvoir d'inhiber la lipoxygénase.

Chapitre II : Composition et méthodes d'extraction de l'huile essentielle

- **Les caroténoïdes**

sont une classe de composés phytochimique , trouvé dans les légumes et les fruits, également dans le lait ,empêchent les dommages génétique, protègent contre les dommage oxydant.

Matériel
Et Méthodes

Matériels et méthodes

Notre étude de recherche a été réalisée au niveau de laboratoire de biochimie de département de biologie-faculté des sciences (UAMOB), durant la période d'avril à juin 2018.

La démarche suivie durant notre travail est la suivant :

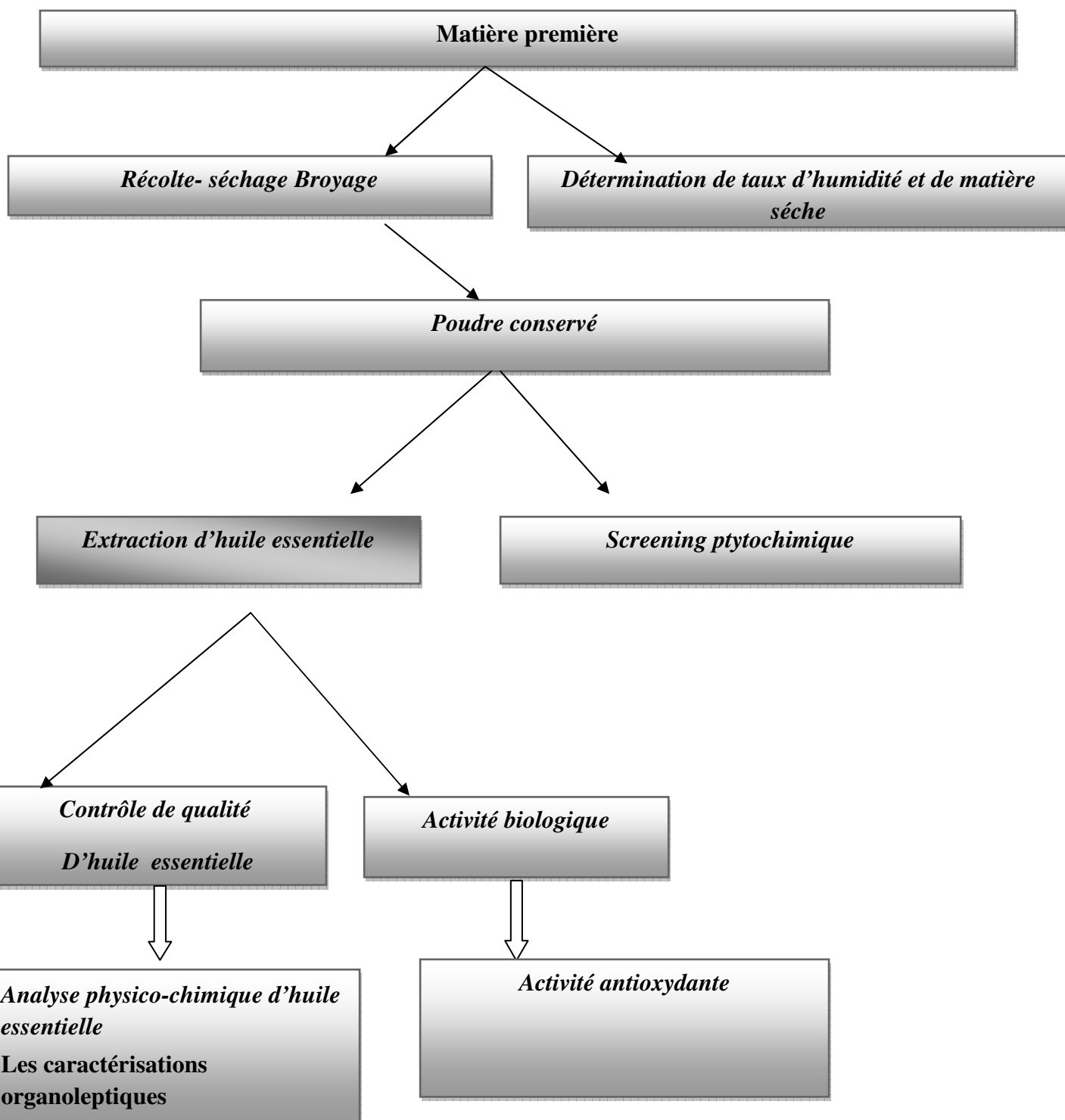


Figure 6 : La démarche expérimentale.

Matériels et méthodes

I -Matériel

I-1- Matériel végétal

I-1-1- Origine et période de récolte de *Rosmarinus officinalis*

Rosmarinus officinalis a été récolté au début de mois de avril de l'année 2018, dans la région de Ait l'Aziz dans la wilaya de Bouira. Seule la partie aérienne (feuilles et tiges) est utilisée pour l'obtention des huiles essentielles.

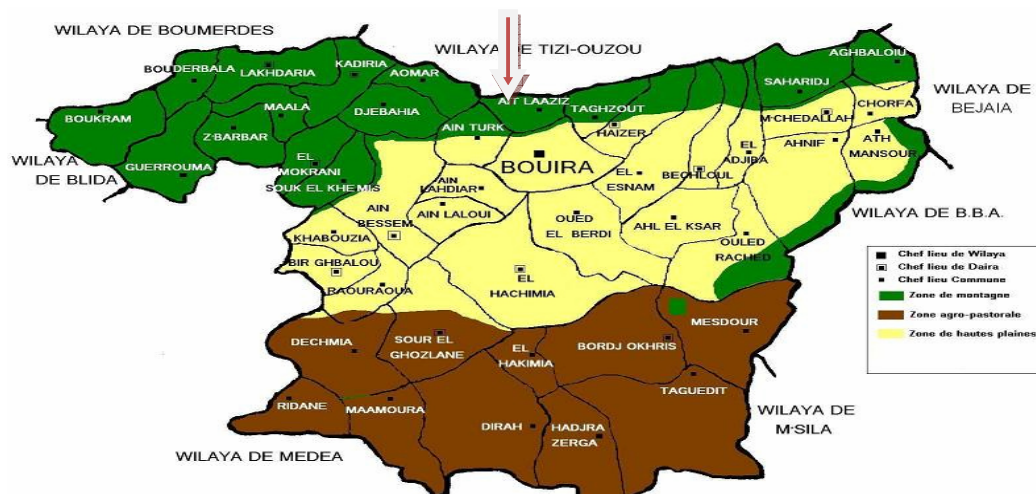


Figure 7 Carte géographique de station Aït laaziz.

I-2- Matériel au laboratoire

✓ Les matériels utilisés sont les suivants

- les tubes à essai - La burette
- Les béchers -Les flacons

✓ Les produits utilisés sont les suivant

- | | |
|-----------|------------------------|
| L'ethanol | hydroxyde de potassium |
| Méthanol | phénole-phtaléine |
| Hcl | méthanol |

-2,2- diphenyle-1-picryl hydrazyl (DPPH) :

Matériels et méthodes

Tableau 2 : les appareils de laboratoire utilisés

Matériel	Utilisation
Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	Extraction des HEs
Réfrigérateur	Conservation des échantillons
Agitateur plaque chauffante	Préparation de l'infusion
Ph mètre	Pour la mesure de ph des huiles
-Etuve réglée à 103C°	Pour sécher les feuilles de <i>Rosmarinus officinis</i>
Micropipette 10-100µl Pipette 1000 µl	Préparation de micro volumes
Spectrophotomètre	Mesurer l'absorbance

II- Les Méthodes

II.1. Séchage broyage et conservation de plante

La plante fraîchement récoltée est lavée et laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Les feuilles séchées sont broyées dans un broyeur électrique. La poudre obtenue est conservée dans des flacons en verre couverts de papier aluminium et stockée à l'ombre loin de la lumière et de l'humidité.

Notant qu'avant le lavage, une certaine quantité de la plante est récupérée pour la mesure du taux d'humidité.

Matériels et méthodes

II-2-Détermination de la matière sèche et du taux d'humidité

La matière sèche est déterminée à partir d'une masse de matière végétale (E) introduite dans creuset taré, puis séchée dans une étuve à 103°C jusqu'à poids constant. (Makhloufi ; 2011)

Après refroidissement, le creuset est pesé. (figure8)

- **Calcul du taux de la matière sèche**

Le taux de M.S est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{M.S (\%)} = \text{S} / \text{E} \cdot 100$$

M.S : matière sèche en %

S : masse de creuset taré après séchage

E : masse de la matière végétale

A partir du pourcentage de la matière sèche on peut calculer le taux d'humidité en (%.)

$$\text{H (\%)} = 100 \% - \text{M.S}$$



Figure 8 photo représente étuve

Matériels et méthodes

II-3- Extraction de l'huile essentielle par l'hydro distillation

II-3-1- Protocole d'extraction des huiles essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été effectuée par hydro distillation dans un appareil de type Clévenger(figure 9)

Il est constitué d'une chauffe ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place le matériel végétal et de l'eau distillée, une colonne de condensation de la vapeur (réfrigérant) et un collecteur en verre pyrex également qui reçoit les extraits de la distillation

Pour chaque extraction on a pesé 39g de la matière végétale séchée et broyée , ensuite on a l'introduit dans un ballon a 1 litre remplie avec 400ml d'eau distillée ,l'ensemble est porté a ébullition pendant 3h a une température de 250°C

.La vapeur d'eau produite entraine les constituants volatiles qui après condensation dans le réfrigérant sont recueillies dans un récipient. (Khia *et al* ; 2014)



Figure 9: Montage d'hydro distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.

II-3-2-La séparation des phases

Le distillat obtenu est récupéré dans une ampoule à décantier. Le mélange est laissé Au repos quelques minutes, ce qui résulte l'apparition de deux phases, l'une est organique (huile essentielle) et l'autre est aqueux (figure 10)

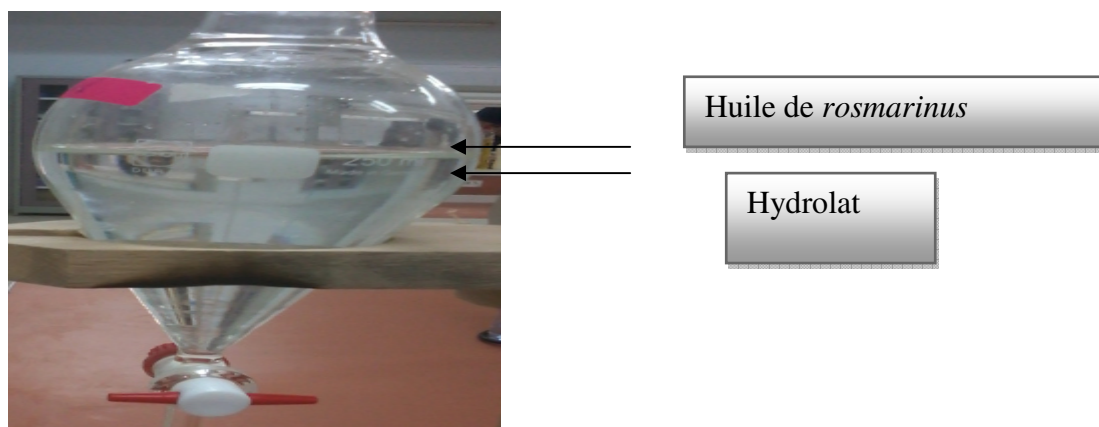


Figure 10: Huile essentiel de *Rosmarinus officinalis*

II-3-3- Conservation de l'huile essentielle obtenue

En fin, le distillat est recueilli dans un tube à essai et l'huile essentielle récupérées dans de petits flacons opaques et conservées dans un réfrigérateur entre 4 et 6°C

II-4-les analyses physicochimiques d'huile essentielle

Les propriétés physico-chimiques telles que, l'indice d'acide, le ph constituer un moyen de contrôle et de vérification et de la qualité de l'huile essentielle.

II-4-1- calcul de rendement d'extraction

Selon la norme (Association française de 1986) le rendement en huile essentielle (Rd), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$Rd = \frac{M'}{M} \cdot 100$$

Rd: Rendement en huile essentielle exprimée en pourcentage (%).

M' : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme (g).

II-4-2-Indice d'acide L'indice d'acide (I.A) est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres. (AFNOR ; 1999)

Matériels et méthodes

- **Mode opératoire**

On a Pesé 2 g d'H.E puis Introduire la prise d'essai dans le ballon.

Ajouter 5 ml d'éthanol à 95% et 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine.

Titrer le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium (0,1 M) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Noter le volume de solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

- **Calcul de l'indice d'acide**

L'indice d'acide (I.A) est donné par l'équation suivante :

$$I.A = V * 5.61 / m$$

Ou **V** : est le volume en millilitres de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage.

M : est la masse en grammes de la prise d'essai

5,61 : correspond à 0,1 mole/l de KOH ajoutée.

II-4-3- Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH indique si une solution est acide ou basique il est exprimé par une valeur numérique, il représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. Le pH d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est déterminé à l'aide d'un PH mètre. Figure 11 (Makhloufi ,2011)



Figure 11: Photo représente le pH mètre.

Matériels et méthodes

II-4-4- Densité relative à 20°C

La densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C. (Makhloufi ; 2011)

II-5-Les caractérisations organoleptiques d'huile essentielle

Les caractérisations organoleptique (apparence, couleur, odeur, goût) étaient les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques. Les caractéristiques organoleptiques ont été déterminées suivant la Norme (AFNOR, 1999).

II-6-Activité antioxydant

II-6-1-Test du piégeage du radical libre DPPH

- **Principe**

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) est l'un des radicaux libres qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. (Figure 12) Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères et restent dans leur forme monomère relativement stable à température ambiante. Cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl.

L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm (Bayala ; 2014).

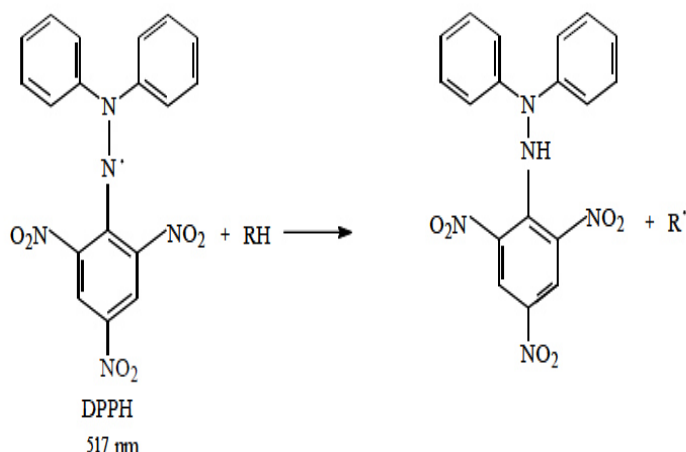


Figure 12: Réaction du DPPH avec une molécule donneuse de proton (Bayala ; 2014) .

- **Préparation de la solution DPPH**

Nous avons utilisé la méthode du DPPH (1,1-diphényl-di-picrylhydrazyl) Pour évaluer l'activité antioxydant de l'huile essentielle de romarin.

La solution de DPPH est obtenue en dissolvant 3 mg de la poudre dans 90 ml de l'éthanol. L'huile essentielle a été préparée par dissolution dans l'éthanol absolu.

- **Réalisation du test**

Le test s'effectue en mélangeant 1 ml de la solution précédente de DPPH avec 1ml de l'huile à tester à différentes concentrations. Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm.

L'antioxydant de référence ou le contrôle positif (acide Ascorbique) a été aussi préparé selon la même méthode avec des mêmes concentrations pour la comparaison

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé comme suit :

$$I \% = ([A \text{ Blanc} - A \text{ échantillon}] / A \text{ blanc})$$

A blanc : l'absorbance du témoin (contenant tous les réactifs sans le produit à tester).

A échantillon : l'absorbance du test.

Matériels et méthodes

Le graphique de la variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration de l'huile essentielle permet de déterminer l'IC 50 correspondant à 50 % d'inhibition et qui constitue l'activité antioxydant de l'huile essentielle. Cette valeur est comparée à celle trouvée pour le composé de référence. (Wu, S.-J., and Ng, L.-T. 2008)

II-7- Le screening phytochimique

Il s'agit des tests permettant de connaître la composition de la matière sèche de la plante en métabolites secondaires, il est basée sur des réactions de coloration et de précipitation par des réactifs chimiques spécifiques, il a été réalisée sur la poudre végétale soit sur un infusé.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux les Anthocyanosides, les tanins, les glucosides, les mucilages, les irridoides.

II-7-1-Préparation de l'infusion

Nous avons suivis les étapes suivantes (**figure N° 13**)

-étape 1 : Une quantité de 10g de poudre végétale est ajoutés à 100ml d'eau distillée bouillante.

-étape 2 : Laisser infuser pendant 15min avec agitation de temps.

-Etape3 : Le mélange est filtré pour éliminer les résidus de la poudre.

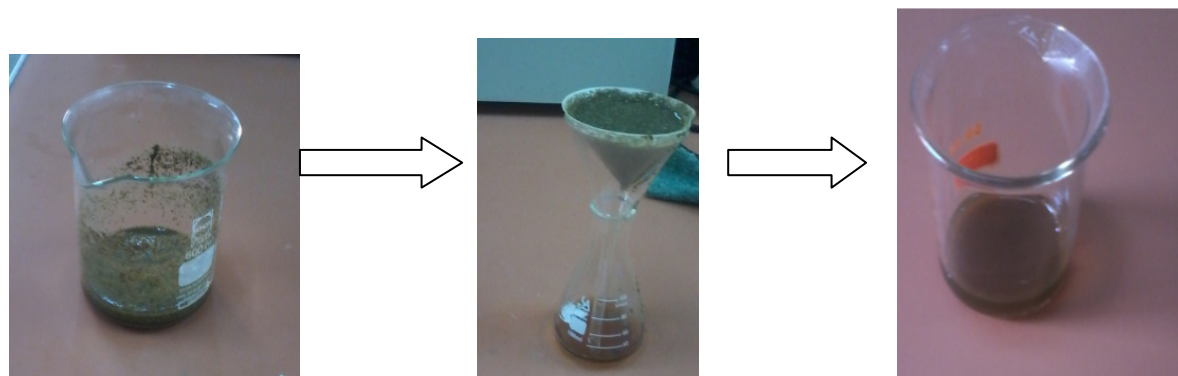


Figure 13 : les étapes de Préparation de l'infusion.

Matériels et méthodes

II--7-2-La révélation de la présence de quelques métabolites secondaire

Nous avons suivi pour les réactions de screening phytochimique le protocole de (bruneton, 1999) avec léger modification ; Le criblage phytochimique s'est basé aussi sur l'utilisation de quelque réactif. La recherche des anthocyanes a été assurée par l'ammoniaque. La caractérisation des tanins est effectuée par le FECL₃, nous avons employé l'acide sulfurique pour la recherche des glucosides .l'éthanol a été utilisé pour rechercher les mucilages et HCL pour la recherche des irridoides.

II-7-2-1-Détection des Anthocyanoside

La révélation a été effectuée par l'addition de quelque gouttes d'une solution de NaOH (1%), a 2ml de l'infusion, la couleur du point de virage Est fonction du pH :

- pH < 3, la solution prend une coloration rouge.

- 4 < pH < 6, la solution prend une coloration bleue

La présence des anthocyanosides est confirmée. (Makhloufi ,2011)

II-7 -2-2- Détection des tanins

La révélation a été effectuée par l'addition de quelque gouttes d'une solution de Fecl₃ 5% a 5ml d'infusion .la réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins (Makhloufi ; 2011)

II-7 -2-3- Détection des glucosides

La révélation a été effectuée par l'addition de gouttes d'acide sulfurique a 2 g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.(Makhloufi ;2011)

II-7 -2-4- Détection des mucilages

On introduit 1 ml de l'infusion dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolue, l'obtention d'une précipitation floconneux indique les présences des musilages

Matériels et méthodes

II-7-2-5- Détection des irridoides

Introduire 2ml d'infusé dans un bécher, ajoute quelques gouttes d'HCL puis chauffer a l'aide d'une plaque chauffante .la formation d'une coloration bleue indique la présence des irridoides.

Résultats
Et Discussion

Résultats et discussions

III-1-- la tenure en eau (l'humidité) et en matière sèche de *Rosmarinus officinalis*

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

Tableau N° 3 : la teneur en eau des feuilles de *Rosmarinus officinalis* masse

échantillon	E(g)	S(g)	H(%)
<i>Rosmarinusofficinalis</i>	5.147	3.61	29.87%

E (g) : masse de la matière végétale en gramme **S(g)** : masse de creuset taré après séchage

H% : le taux d'humidité en pourcentage

Les analyses de notre échantillon ont révélé un taux d'humidité faible de 29.87% Cela signifie que la moitié du poids de la plante est sèche (**Figure 14**).

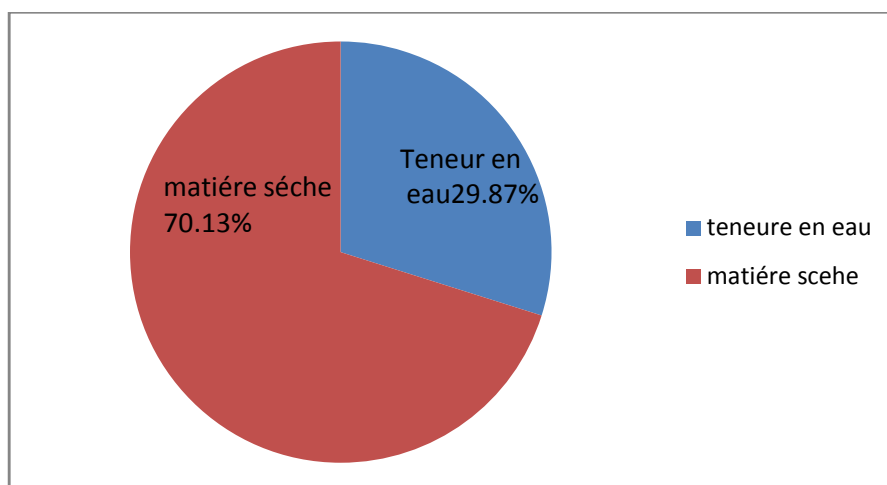


Figure 14 : Teneur en humidité et en matière sèche de *Rosmarinus officinalis* de la région D'Ait l'Aziz

Les taux d'humidité de notre plante est de 29.87%, ce résultat est supérieur par rapport à celui trouvé par (Makhloufi ; 2011) qui a obtenu des taux d'humidités de 20.80% et 28.17% respectivement pour l'espèce *Matricaria pibescens* et *Rosmarinus officinalis L.* provenant de la région de Béchar. Selon le même auteur, la différence marquée entre la teneures en eau est probablement due à la région de récolte de la plante car les plantes cultivées dans les régions tempérées comme le sud Algérien a un taux d'humidité plus faible par rapport aux plantes cultivées dans le nord.

Résultats et discussions

III-2- Les caractéristiques physico-chimiques des HE de *R. officinalis* L.

Les caractéristiques physico-chimiques de notre huile est résumé dans le tableau suivant :

Tableau 4 les Résultats d'analyse des indices physico-chimique

Analyse physico-chimiques des HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>			
Indice d'acide	Potentiel d'hydrogène pH	La densité relative	Le rendement
1,30	6,28	0,912 g/cm	0,4%.

III-2-1- Détermination du rendement

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydro-distillation dans un appareil de type Clvenger (Clenvenger ;1928).

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les échantillons de *Rosmarinus officinalis* ont fourni un taux relativement faible d'environ 0,4%. Ce rendement est faible par rapport à celui rapporté par (Fechtal *et al.* 2001, 2,5%) ; Makhloufi(2011) , 1,52%) et qui ont utilisé la même méthode d'extraction. Cette différence dans les résultats est probablement due à l'origine de l'espèce, la période de récolte, l'organe de la plante, la durée de séchage et la méthode d'extraction sont des facteurs parmi d'autres qui peuvent aussi avoir un impact direct sur les rendements en huiles essentielles.

Ainsi, Williams et Lusunzi, 1994, a démontré que la composition en HE, extraite par hydro distillation, peut être influencée par la quantité en eau, mise dans le ballon de distillation, car certains composés tels que : le terpinèn-4-ol, l' α - terpinéol et le cinéol sont peu solubles dans l'eau.

Le faible rendement obtenu peut être lié à la méthode et les conditions d'extraction au laboratoire. En effet, l'huile a été extraite par hydro-distillation en utilisant un réfrigérant serpentin alors que l'hydro-distillation utilise un réfrigèrent simple. En plus nous avons remarqué des résidus de l'huile essentielle au niveau du serpentin qui correspond à des pertes.

Résultats et discussions

III-2-2-Indice d'acide

Après le titrage par KOH (0.1 M) on a obtenu un virage de couleur rose persistant pendant 15second Les acides libres sont neutralisés par une solution Ethanol titrée d'hydroxyde de potassium.

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité des acides libres présents dans notre huile. Il peut aussi nous renseigner sur la susceptibilité de l'huile à subir des altérations.

L'indice d'acide de *Rosmarinus officinalis* est de 1.30 ce résultat est en accord avec la valeur obtenu par (AFNOR, 1999) concernant l'indice d'acide de l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis* qui est comprise entre [0.5-2].

III-2-3-Potentiel d'hydrogène pH

Le PH des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* est de 6.28 .ce pH est acide. Il convient de souligner que le pH joue un rôle déterminant au cours des réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisatrices d'une huile essentielle. Par conséquent, ce résultat peut amener à un bon caractère stabilisateur contre les microorganismes; ce qui permettra à ces huiles essentielles de jouer le rôle de conservateurs dans les produits alimentaire.

III-2-4-La densité relative

La densité relative est l'un des paramètres physique utilisés lors de la classification des huiles essentielles,, les résultats de notre échantillon est de 0.912 g/cm ce résultat est en accord avec les résultats obtenus par(AFNOR ,1999) qui indique une densité allant [0.905-0.921] g/cm. Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction.

Résultats et discussions

III-3-Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

Les caractéristiques organoleptiques (apparence, couleur, odeur, gout) sont les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle:

Tableau 5 : Les Propriétés organoleptiques de l'HE de *Rosmarinus officinalis*

Caractéristiques organoleptiques	Normes (AFNOR1999)	Echantillon étudié
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide, mobile
Couleur	Presque incolore à jaune pale	Jaune claire
Odeur	Caractéristique fraîche , plus ou moins camphrée de l'origine	camphrée

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

III -4-Evaluation de l'activité antioxydant

Dans ce travail, nous avons évaluée l'activité anti radicalaire de l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis* par le test du piégeage du DPPH. Cette valeur a été comparée à celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant synthétique de référence. Les figures 15 et 16 représentent respectivement le suivi de la réduction du DPPH en solution par l'acide ascorbique et par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

Résultats et discussions

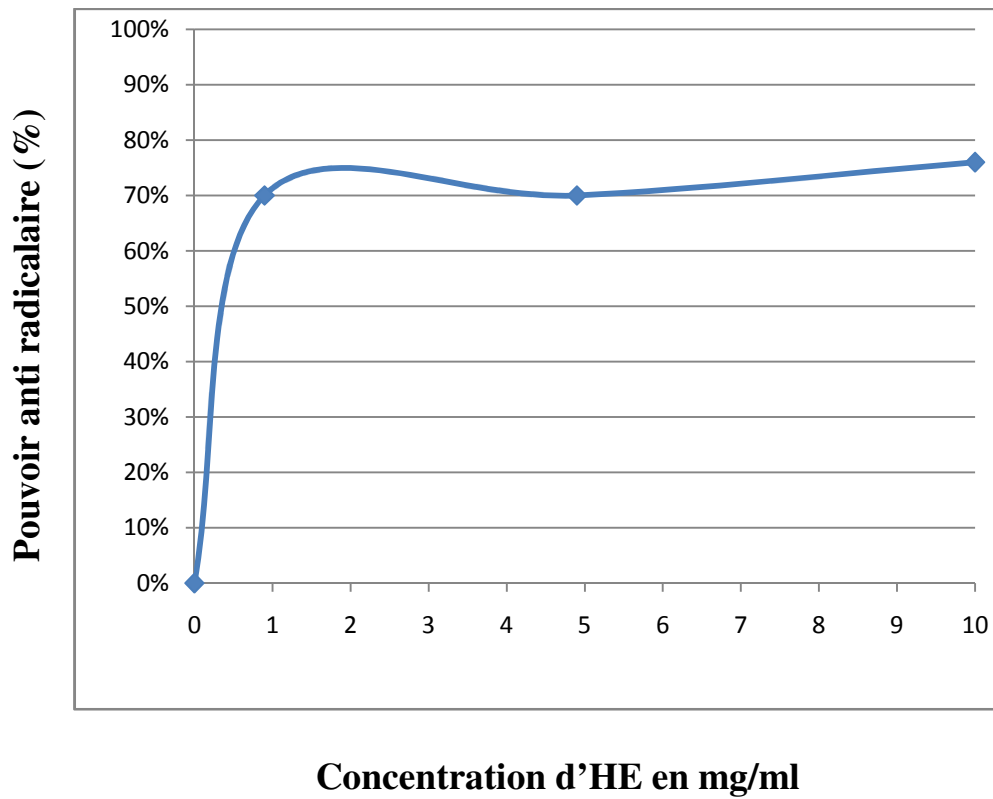
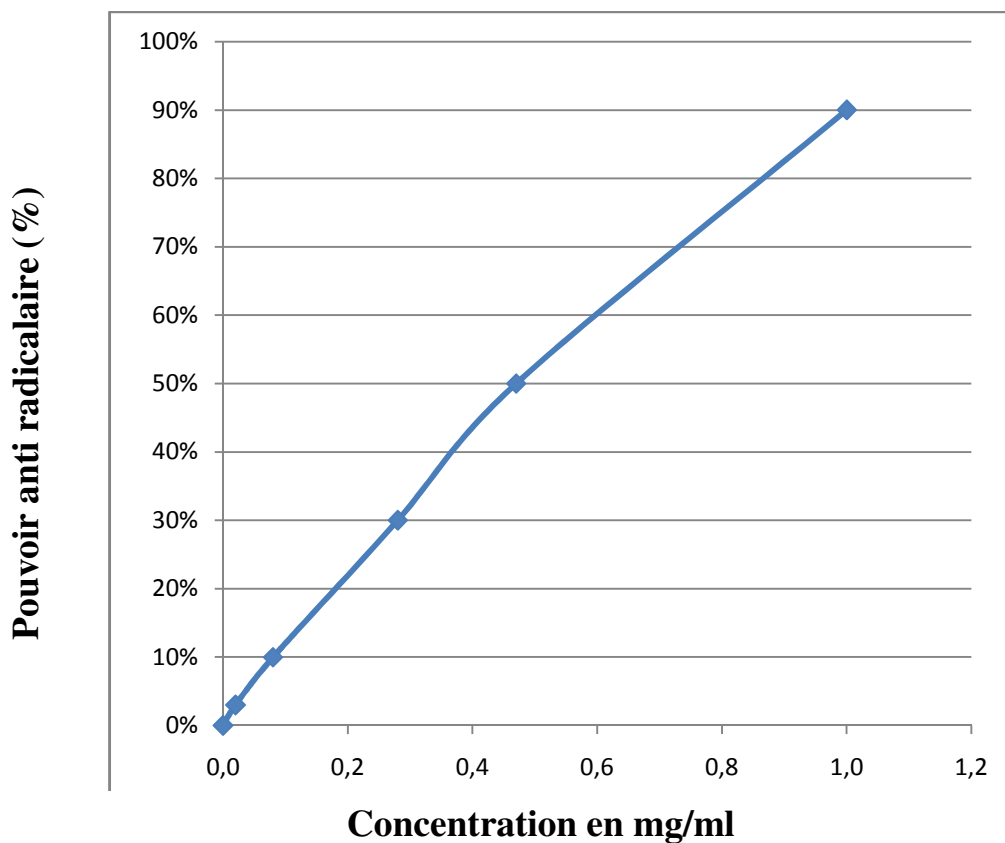


Figure 15. Activité antiradicalaire de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.



Résultats et discussions

Figure 16. Activité anti radicalaire de l'acide ascorbique

Les résultats semblent que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration soit pour l'acide ascorbique ou pour l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

L'activité antioxydant des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* a été évaluée au moyen du test DPPH. Les concentrations qui fournissent 50% d'inhibition (IC50) sont calculées à partir des courbes de la figure 15 et 16 et sont présentées dans le tableau 6 (les IC50).

Tableau 6: Activité antiradicalaire par la méthode de DPPH

	Huile essentiel de <i>Rosmarinus officinalis</i>	Acide ascorbique
DPPH IC50 (mg/ml)	0.6± 0,002 mg/ml	0.45± 0,04 mg/ml

Les résultats obtenus nous permettent de constater que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* pouvait ramener le radical libre stable 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) au diphenyl-picrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 0.6± 0,002 mg/ml montrant une activité antioxydante inférieure à celle de l'acide ascorbique, Il semble d'après ces résultats que l'antioxydant le plus efficace avec un IC50 de 0.45± 0,04 mg/ml par rapport à l'huile essentielle étudiée (Tableau 6).

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydant d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Donc Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande.











Les résultats obtenus par les travaux réalisés sur les différentes espèces sont divergents ceux de Dorman *et al.* (2003), ont trouvé une valeur d'IC50 de 0.236 ± 0,1 (mg /ml) en étudiant l'effet antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle étudiées malgré même espèce. D'autre part à comparer avec autre espèce *T. numidicus* de Djeddi *et al*,2015 qui ont trouver une valeur d'IC50 de 0.5mg/ml ce qui est supérieure au pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

D'une manière générale, notre espèce possède une bonne activité antioxydant en comparaison avec celle de l'acide ascorbique qui est un antioxydant puissant.

Résultats et discussions

III - 5 - Screening phytochimique

Tableau 7 : Résultat du screening phytochimique des feuilles de *Rosmanimus officinalis*.

Substances active	Aspecte de poudre ou d'infusé avant l'ajout de réactif	réactions	Résultats observés
des Anthocyanosides		Réaction positive (+++)	
Les Tanins		coloration bleu noire réaction positive (+++)	
Les Glucosides		Coloration rouge brique puis violette. Réaction positive (+++)	
Les Mucilages		Réaction négative(-)	
Les iridoïdes		Réaction négative(-)	

Résultats et discussions

Les résultats du screening photochimique effectuées sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis*, sont regroupés dans le tableau 7 il nous a permet de mettre en exergue ce qui suit :

Nous constatons l'absence des mucilages et les iridoïdes alors que présence des Anthocyanosides, Notre résultat est déferentes para port a celui trouvé par (Makhloufi ; 2011) qui a révéler une 'absence des Anthocyanosides, dans les feuilles de *Rosmarinus officinalis* arole que les résultats trouvé indique une richesse des feuilles de notre plante par les anthocyanocide. Nous constatons aussi la présence des glucosides et les tanins. Ces Tanis ont un rôle important Selon (Iserin ,2001), elles permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections.

Conclusion
Générale

Conclusion

Dans la présente étude, l'objectif principal était l'étude des propriétés physico-chimique et l'évaluation de l'activité antioxydante d'huile essentielle extraite de la partie aérienne d'une espèce de la famille de Lamiaceae, le *Rosmarinus officinalis* qui très connu dans la médecine traditionnelle.

L'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été réalisée par hydrodistillation. Le rendement a été voisin de 0.4%. Cette valeur est inférieure aux rendements obtenus chez d'autres études de la même espèce.

L'huile essentielle de romarin a été analysée selon la méthode standard **AFNOR** afin de déterminer les constantes physiques habituelles définissant l'huile Essentielle extraite par hydrodistillation : densité relative, l'indice d'acide, le taux d'humidité, les résultats obtenus montrent que la valeur de la densité relative est égale à 0.912 g/cm. La comparaison de cette valeur à celle de la norme AFNOR relative à l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) a montré clairement que l'huile essentielle issue de la méthode d'extraction hydrodistillation est conforme à la norme AFNOR.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antioxydant ($IC_{50} = 0.6 \pm 0.002$ mg/ml), l'huile essentielle possède une faible activité antioxydante .

En fin, Les analyses chimique effectuées sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis*, ont permis, de caractériser la présence des différentes familles de composés: les Anthocyanoside , les tanins et les glucosides.

A l'essor de la présente étude, il serait intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'huile essentielle des fleurs de *Rosmarinus officinalis* afin d'isoler, de purifier et d'identifier les composés ayant une activité antioxydante.

Référence
Bibliographique

A

Abdelkader B., 2001. .plantes médicinales d'Algérie. Institut national agronomie d El-Harrach(Alger) ,283p.

Afnor. Huiles essentielles echantionnage et méthode d'analyse monographies relatives aux huiles essentielles.2000

Anton R., Lobstein A. Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments, et huiles essentielles. Paris et Cachan : Tec&Doc, 2005, 522p

Amusant, N., et Charrouf, Z. (2014). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* du Maroc. *Phytothérapie*, 12: 341–347.

Association française de, n. (1986). Huiles essentielles recueil de normes françaises. Paris La Défense, AFNOR.

Atik bekkara F., Bousmaha L., Taleb bendiab S.A .,Boti, J.B., Casanova J. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L* poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*.7 :6-11.2007

Atik bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* Poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. 7: 6-11. 2007.

B

Bayala .,B Etude des propriétés anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiprolifératives et anti-migratoires des huiles essentielles de quelques plantes médicinales du Burkina Faso sur des lignées cellulaires du cancer de la prostate et de glioblastomes, U.R.R. Sciences et Technologies, université blaise pascal(2014) p583.

Références bibliographiques

Belahdar J., (1997) La pharmacopée marocaine traditionnelle. Idis PRESS (Ed). Paris,764p

Brieskorn H ., Michel H., Biechelew., 1973 Flavones of rosemary leaves, Deut Lebensm Rundsch, 69,01,2445-246.

Bruneton J., (1993). Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.

C

Capkevicius, A., R. Venskutonis, et al. (1998). Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania." Journal of the Science of Food and Agriculture **77**(1): 140-146.

Cebuigne G., Couplan F., Vignes P., Vignes D. Petit Larousse des plantes médicinales. Paris : Larousse, 2009, 383p

Cjeddi, S., E. Yannakopoulou, et al. (2015). Activités anti-radicalaires de l'huile essentielle et des extraits bruts de *Thymus numidicus* Poiret., Algérie. Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie **11**(2): 58-65.

Clevenger J ;1928. Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of Pharmaceutical Sciences **17**(4): 345-349.

Congmo, P. M. J., J. Kuate, et al. (2002). "Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de Citrus sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*." Fruits **57**(2): 95-104.

Corman, HJD. Peltoketo , A., Hiltunen, R., and Tikkanen MJ. (2003). Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chemistry, 83:255–262

E

Escuder O., Plantes médicinales mode d'emploi. Paris : Ulmer, 2007, 255p

F

Fechtal, M., Ismaili, R., and Zine el Abidine, A. (2001). Effet de la transplantation sur la qualité et le rendement en huiles essentielles du romarin (*Rosmarinus officinalis L.*).

G

Gausсен H., Leroy., et Ozenda P., 1982. Précis de botanique, végétaux supérieurs.vol.2. Paris: 2ème édition Masson.

Grünwald J., Jänicke C., Wobst B. et al. Guide de la phytothérapie. Paris : Marabout, 2006, 416p.

H

Halliwell B., Gutteridge j.m.c. et Arnoma et al, (1987). The deoxyribose method: a simple test tube assay for the determination of rate constant for reaction of hydroxyl radical. analbiochem; (1): 215-219

Henni., M (2016) étude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilicum l. extraite par hydro-distillation et par micro-ondes thèse de doctorat en chimie moléculaire : analyse-modélisation synthèse .université d'orane, p2-p49.

Hussain S.P., Hofseth, L.J., Harris, C.C., 2003. Radical causes of cancer. Nat. Rev. Cancer 3,276–285. Doi: 10.1038/nrc1046

I

Ibañez E., Kubátová A., Señoráns F., Cavero S, Reglero G. et Hawthorne S. B. (2003). Subcritical water extraction of antioxidant compounds from rosemary Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (2): 375-382.

Ibane, L. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technology*(7): 44.

Iserin P., 2001. Larousse Encyclopédie des plantes médicinales. Ed Larousse, pp10, 335.

K

Kim N.-S. and D.-S. Lee (2002). Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from *Lavandula* species by gas chromatography–mass spectrometry." *Journal of Chromatography a* **982**(1): 31-47.

L

Lagunez Rivera, L. (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe.

Lais E., Le livre des simples : les vertus des plantes médicinales. Paris : Rustica, 2014, 191p.

M

Références bibliographiques

Makhloufi A.,(2011) 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. Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments.

Marion L., 2015. Le Romarin, *Rosmarinus officinalis L.* une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, 229p.

Mayer F., (2012) utilisation thérapeutiques des huiles essentielles étude de cas en maison de retraite thèse pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie université de lorraines facultés de pharmacie p10.

Moussaoui M., 2014. Plantes médicinales de méditerranée et d'orient france sabil, 2014.137p

Muyima N., Zulu G., Bhengu T. et al. The potential application of some novel essential oils as natural cosmetic preservatives in an aqueous cream formulation. Flavour and Fragrance Journal, 2002; 17; 258-66

N

Niki E., (2012). Do antioxidants impair signaling by reactive oxygen species and lipid oxidation products? FEBS Lett. 586: 3767–3770

P

Paradiso A.,Cecchini C., DeGara L., et D'egididom ., G.2006.functional,antioxydant and rheological properties of meal from immature durum wheat. journal of Cereal Science,Vol.43,n 2.p216-222.

R

Reuter S., Gupta, S.C., Chaturvedi, M.M., Aggarwal, B.B., 2010. Oxidative stress, Inflammation, and cancer: how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 49, 1603–1616. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006

S

Schneider A ., Arbres et arbustes thérapeutiques : les connaître, les protéger, les utiliser. Montréal : Ed. De l'Homme, 2002, 384p.

Sendra J., Sedil O ; Miedzobrodzaka J .,Zieba J., 1969, , Chromatographic Analysis of flavonoids and triterpenes in folium Rosmarinus , *Dissert Pharm Pharmacol*, 21'121, 185-191

Semrau R., 1958 Ueber die Flavone in der Familie der Labiataen, Inaug Dissert, München7, 1.

T

Talbetudert k ., 2015. Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatique provenant de la région de Kabylie(nord Algérien). Evaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *callosobruchus macuatus* (coleoptera :Bruchidea), science agronomique et biologique université mouloud Mammeri de tizi-ouzou160p.

Tanguy M., (2009). Antioxydants Première partie : Les antioxydants dans l'alimentation. Médecine ; Vol 5 (6): 256-260.

V

Viuda-Martos M., Mohamady M., et al. 2011 "In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants." *Food Control* 22(11): 1715-1722.

W

Wichtl M., Anton R., Lassechere-Bernard M ., Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 2e éd. française (4e éd. allemande). Paris: Tec [et] Doc, 2003, 692p.

Williams, LR. And Lusunzi, I. (1994). Essential oil from *Melaleuca dissitiflora*: a potential source of high quality tea tree oil. *Industrial Crops and Products*, 2: 211–217. *Annales de la recherche forestière au Maroc*, 34: 94

Wu , S-J., and Ng, L-T. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild Bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan. *LWT*, 41: 323-330.

Les sites d'internet

Site1: <http://www.lefigaro.fr/jardin/fiche-plante/2014/12/22/30011-20141222ARTFIG00132-thym.ph> consulté le 14/8/2018

Résumé

Plusieurs travaux de recherche ont été concentrés sur les huiles essentielles extraites des plantes aromatiques. Les différents résultats publiés indiquent qu'elles possèdent plusieurs propriétés biologiques. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vitro* l'activité antioxydante de l'huile essentielle extraite de *rosmarinus officinalis* et leurs propriétés physicochimiques. L'extraction a été réalisée par hydrodistillation des tiges et feuilles de la plante. Le rendement a été voisin de 0.4 %. Les résultats des analyses physicochimiques de l'huile essentielle sont conformes aux normes (AFNOR). L'activité antioxydante de l'huile essentielle a été évaluée en utilisant 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), les résultats obtenus sont : IC₅₀ de $0.6 \pm 0,002$ mg/ml.

Enfin Les résultats des tests phytochimiques effectués sur les feuilles de *Rosmarinus officinalis*, ont permis de mettre en évidence la présence et l'absence de quelque composé chimiques.

Mots clés : huile essentielle, *Rosmarinus officinalis*, propriétés physicochimiques, activité antioxydante.

Abstract

Several research studies have focused on essential oils extracted from aromatic plants. The different results published indicate that they have several biological properties. In this context, we tried to evaluate *in vitro* the antioxidant activity of the essential oil extracted from *rosmarinus officinalis* and their physicochemical properties. The extraction was carried out by hydrodistillation of the stems and leaves of the plant. The yield was close to 0.4%. The results of the physicochemical analyzes of the essential oil are in accordance with the standards (AFNOR). The antioxidant activity of the essential oil was evaluated using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), the results obtained are: IC₅₀ of 0.6 ± 0.002 mg / ml.

Finally The results of phytohimic tests carried out on the leaves of *Rosmarinus officinalis*, made it possible to highlight the presence and the absence of some chemical compounds.

Key words: essential oil, *Rosmarinus officinalis*, physicochemical properties, antioxidant activity.