



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de
la recherche scientifique
université abbes laghrou - khenchela -
Faculté des sciences de la technologies
Département : science da la matière



N° de série :

Mémoire de fin d'études

Pour l'obtention du diplôme de master (LMD)

Spécialité : Chimie

Option : Chimie analytique et environnement

**Etude phytochimique de l'huile
essentielle de
*ROMARINUS OFFICINALIS- L***

Réalisé par :

- Maarad Samah
- Aissaoui Aicha

Dirigé par :

Mme. Falek Wahiba

Membres de jury :

- Benali-Cherif Rym M.C.B
- Badis Zakaria M.A.A

Présenté le : 29/06/2019

Année universitaire : 2018 - 2019



- Remerciement :

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrions témoigner toute notre gratitude.

Tout d'abord, nous remercions ALLAH le tout puissant pour son aide et sa protection. Puis nous voudrions dans un premier temps remercier et exprimer toute notre reconnaissance à notre directrice de mémoire, Mme Falek Wahiba pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions également tous les ingénieurs et les techniciens du laboratoire de l'université *Abbes Laghrour-Khanchela*, particulièrement *Bouzidi Nadjwa*, qui par leur gentillesse, leur modestie, leur aide, leur conseils et leur encouragements, ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

A nos enseignants toutes les expressions de respect et de gratitude.

Nous remercions par ailleurs l'ensemble des membres du jury de vouloir accepter, d'examiner ce travail et d'assister la soutenance de notre mémoire.

Présidente : *Mme Benali-Cherif Rym*

Examinatrice : *Mr Badis Zakaria*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont contribué de près et de loin à l'aboutissement de notre projet.



Dédicace

Avant tout remercier ALLAH le tout puissant, grâce à lui je suis arrivée à achever avec succès ce Modeste travail que je dédie en premier lieu à :

Celle qui fait partie de moi, celle qui ma donnée la vie ma chère mère : « Meryem ».

Celui qui ma encouragé, qui ma offert son sueur pour arriver là à mon chère père : « Belkacem ».

A ce qui partagent avec moi le même nom et le même sang à mes frères : « Achraf, Moustapha, Bachir » et ma chère sœur « Nadjat ».

A mon oncle : Elhadi et sa famille.

A mes tantes : Souad et Rachida.

A mes grandes parents : « Torkia et Belkacem ».

A tous les personnes de ma grande famille.

A ma chère encadreur : Mme Falek Wahiba

A ma chère collègue de travail : Samah Maarad.

A ma très chère amie, la fleur de ma vie : «Fadia ».

A mes chère amies que j'ai vécu avec elle des beaux moments au cours de mon cursus à l'université : Mira, Selma, Hadjar, Samia, Zoulikha, Zahia(Zizou), Wafa, Wissem (Foughali), Amel, Khadidja, Loubna, Abla, Rima Messai Et Rima Elmahrat.

A tous mes amis particulièrement : Sonya, Souhila, Asma Hiraoui, Yamina, Nabila, Ibtissem.

A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail : je leur dis «Merci ».

Aicha



Dédicace

Avant tout remercier ALLAH le tout puissant, grâce à lui je suis arrivée à achever avec succès ce Modeste travail que je dédie en premier lieu à :

Celle qui fait partie de moi, celle qui ma donnée la vie ma chère mère : «Chouikha ».

Aucun mot si sacré soit-il ne suffira à exprimer à sa juste valeur ton absence matériel et spirituel, tu me manques chère Papa : «Cherif», à ton aîné sain je dédie ce travail.

Ames frères : Zouhir Et Hassan.

A toutes mes sœurs, ainsi que leurs enfants particulièrement :

Hayat et ses enfants : Mouhamed Cherif, Assil Et Assinat.

AICHA et sa petite nièce Lamisse.

A tous les personnes de ma grande famille.

A ma chère encadreur : Mme Falek Wahiba.

A ma chère collègue de travail : Aissaoui Aicha.

Ames chère amies : Mouna, Yasmin, Nabila, Samia Et Loubna.

A toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail : je leur dis «Merci ».

Samah

Liste des abréviations

| | |
|--------------|-------------------------------------|
| PAM | plantes aromatiques et médicinales |
| MeOH | méthanol |
| H.E | huile essentielle |
| EP | ether de pétrole |
| AcET | acétate d'éthyle |
| CCM | chromatographie sur couche mince |
| UV | rayonnement ultra violet |
| ppm | partie par million |
| ml/kg | millilitre par kilogramme |
| VIH | Virus de l'immunodéficience humaine |
| Ph | potentiel hydrogène |
| C° | degré Celsius |
| G | gramme |
| μL | micro litre |
| R | rendement |
| λ | la longueur d'onde |

Sommaire

Sommaire

| | |
|---|-----------|
| Remerciement | |
| Dédicace | |
| Liste des abréviations | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Introduction générale | |
| Chapitre I: Etude bibliographique | 04 |
| Introduction | 05 |
| Partie A | 05 |
| I-Présentation de l'espèce étudié (la plante) | 05 |
| I-1-Les plantes aromatiques et médicinales | 05 |
| I -2- Classification des plantes médicinales et aromatiques | 05 |
| I-3- Importance des plantes aromatiques et médicinales | 06 |
| I-4-Les composées des plantes aromatiques et médicinales | 07 |
| I-5-Les plantes aromatiques et médicinales en Algérie | 07 |
| I-6- Définition et origine de la plante ROSMARINUS OFFICINALIS | 07 |
| I-7-Principes chimiques | 10 |
| I-8-Principes constituants de la plante | 10 |
| I-9- Propriétés et usage | 10 |
| Partie B | 13 |
| I-10-HUILS ESSENTIELS | 13 |
| Conclusion | 22 |
| Chapitre II : matériels et méthodes | 23 |
| Introduction | 24 |
| II-Matériels et méthodes d'extraction | 24 |
| II-1-Réactifs chimiques et instrumentations | 24 |

| | |
|---|-----------|
| II-2-L'appareillage | 25 |
| II-3-Matériels | 25 |
| II-4-Extraction de l'huile essentielle végétale par deux méthodes d'extraction | 26 |
| II-5-Etude chromatographique | 30 |
| II-6-Les éléments actifs des plantes | 31 |
| Conclusion | 35 |
| Chapitre III : résultats et discussions | 36 |
| III- Matériels et méthodes | 37 |
| III-1- Matériel biologique (<i>échantionnage</i>) | 37 |
| IV- Résultats et discussions | 48 |
| IV-1-Le rendement des extraits | 48 |
| IV-2-Détermination du rendement en huile essentielle de Rosmarinus Officinalis L | 48 |
| IV-3-Screening phytochimiques | 48 |
| IV-4- Etude comparative du rendement | 51 |
| Conclusion générale | 54 |
| Liste des références bibliographique | - |
| Résumé | - |

Liste des figures

| Titre de figure | page |
|---|-----------|
| Figure 1: Rosmarinus officinalis-L région d'Ain Defla (photo originale 2018). | 08 |
| Figure 2 : Photo des feuilles, et des fleurs du romarin. | 09 |
| Figure 3 : Rosmarinus officinalis-L. | 11 |
| Figure 4: Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles. | 16 |
| Figure 5 : Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile. | 19 |
| Figure 6 : Schéma de principe d'extraction par distillation. | 20 |
| Figure 7 : Montage d'une distillation par micro-ondes. | 21 |
| Figure 8: <i>Rosmarinus officinalis-L.</i> | 24 |
| Figure 9: Extraction par des solvants organiques. | 26 |
| Figure 10 : Filtrats de plants avec les trois solvants. | 27 |
| Figure 11 : Evaporation des filtrats. | 27 |
| Figure 12: l'appareil d'hydro distillation (Originale 2019). | 28 |
| Figure 13: pesage de 100 g sec de matière végétal (Rosmarinus officinalis. L). | 28 |
| Figure 14: récupération des huiles essentielles (photo original 2019). | 29 |
| Figure 15 : L'huile essentielle de Rosmarinus officinalis .L. | 29 |
| Figure 16 : Chromatographique liquide –liquide. | 30 |
| Figure 17 : Exemples de quelques alcaloïdes. | 31 |
| Figure 18: Exemples de flavonoïdes. | 32 |
| Figure 19: Exemples de quelques phénols. | 33 |
| Figure 20 : Exemples de quelques Tanins. | 33 |
| Figure 21 : Structure du sapogénol. | 34 |
| Figure 22: Echantillon de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis.</i> | 37 |
| Figure 23: la région de la plante. | 37 |
| Figure 24: Préparation d'échantillon. | 38 |
| Figure 25: Macération de la plante. | 38 |

| | |
|---|-----------|
| Figure 26: Les trois filtrats. | 39 |
| Figure 27: Evaporation des filtrats. | 39 |
| Figure 28: Les extraits bruts. | 39 |
| Figure 29: Montage d'hydro distillation. | 40 |
| Figure 30: Ampoule à décanter. | 40 |
| Figure 31: L'huile essentielle. | 41 |
| Figure 32: préparation de la plaque CCM. | 41 |
| Figure 33: la révélation des plaques CCM. | 42 |
| Figure 34: CCM de l'extrait EP. | 42 |
| Figure 35 : CCM de l'extrait AcOET. | 42 |
| Figure 36: CCM de l'extrait MeOH. | 43 |
| Figure 37: Détection des alcaloïdes. | 44 |
| Figure 38: Résultats du test des Polyphénols. | 44 |
| Figure 39: Identification des flavonoïdes. | 45 |
| Figure 40: Identification des tanins. | 45 |
| Figure 41: Identification des saponins. | 46 |
| Figure 42: Résultats du test des flavonoïdes de thèse « Benbott Mourad et Bouali Youcef ». | 49 |
| Figure 43: photo de chromatographie résultant de l'analyse de l'extrait MeOH avec révélation à l'UV. | 51 |
| Figure 44: CCM d'huile essentielle après l'hydro distillation. | 51 |

Liste des tableaux

| Titre de tableau | page |
|---|-------------|
| Tableau 1: La classification botanique de la plante. | 10 |
| Tableau 2: le système d'éluion des extraits. | 41 |
| Tableau 3: Le rendement des extraits. | 48 |
| Tableau 4: Analyse phytochimique préliminaires d' <i>Rosmarinus Officinalis-L.</i> | 49 |
| Tableau 5: Résultats des plaques CCM des extraits EP et AcOET dans UV. | 50 |
| Tableau 6 : Résultats des plaques CCM d'extrait MeOH. | 50 |
| Tableau 7: résultats de la comparaison des rendements. | 52 |

Introduction Générale

Introduction générale

A travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité¹. Et comme exemple le *Rosmarinus Officinalis-L* est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde.

Les extraits des huiles essentielles de cette plante sont largement utilisés, dans la médecine traditionnelle, depuis des siècles contre une multitude de maux. Aujourd'hui, le *Romarin* est entré dans la médecine moderne².

L'Algérie est caractérisée par une grande superficie étendant de la mer Méditerranée au nord à la profondeur du Sahara africain au sud, cette extension lui donne une diversité dans la situation climatique, ce qui produit une couverture végétale grande et variée, et selon (Hanifi, 1991) comparativement des pays du Maghreb, la flore algérienne est représentée par 3000 espèces et 1000 genres³.

En Algérie, les plantes sont utilisées depuis longtemps et leur utilisation s'inspire d'expérience de populations ainsi que la médecine arabe classique. Ce pendant, cette utilisation ne suit pas des règles précises et ne tient pas compte des nouvelles nécessités de la thérapeutique actuelle, La phytothérapie a été utilisée depuis des siècles pour traiter les affections⁴.

A cet effet, de nombreux travaux récents se sont penchés sur la recherche de substances ayant des pouvoirs insecticides et respectueux de la santé humaine et de l'environnement. Les plantes produisent naturellement des substances actives permettant de se protéger des insectes, de maladies ou d'attaques extérieures. De celles-ci ont été tirées les huiles essentielles⁵. De manière générale, l'extraction des huiles essentielles préalable à l'analyse chimique se compose de deux étapes : l'extraction et l'analyse.

Les huiles essentielles sont considérées comme une véritable banque de molécules chimiques. En effet les plantes en générale représentent une source inépuisable de remèdes traditionnels et efficaces grâce aux principes actifs qu'elles contiennent : alcaloïdes, flavonoïdes, quinones, vitamines.....et huiles essentielles⁶.

¹ A. Gurib-Fakim, **2006**, Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine 27, **2006**, p1-93.

² K. HOSTETTMANN, Tout savoir sur le pouvoir des plantes, Ed, Favre. S.A.Lausanne, Suisse, **1997**.

³ M. Benbott, Y. Bouali, Etude des activités biologiques de *Rosmarinus officinalis-L* des régions Ouargla et Ain M'Lila, université l'arbi ben mhidi-oum el bouaghi, **2018**, p2.

⁴ H. Baara, R. Nessah, étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Thapsia garganica*, université Abbes laghrour, Khenchela, **2016**, p1.

⁵ J. Boutaleb, synthèse des résultats de recherche sur l'utilisation de quelque biopesticides d'origine végétale sur les cultures d'importance économique au Maroc, roceedings su septième congréz de l'association marocaine de protection des plantes, Rabat, Maroc, Vol 2, **2010**, p 377-389.

⁶ J. Boutaleb, synthèse des résultats de recherche sur l'utilisation de quelque biopesticides d'origine végétale sur les cultures d'importance économique au Maroc, roceedings su septième congréz de l'association marocaine de protection des plantes, Rabat, Maroc, Vol 2, **2010**, p 377-389.

Introduction générale

Et devant cette grande diversité de plantes médicinales, nous avons choisi *Rosmarinus Officinalis L*, ce choix est venu du fait de sa large diffusion et de sa grande utilisation par la population en médecine traditionnelle en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques et efficaces. Pour donner plus de valeur à cette plante, nous avons mené une étude sur le romarin de la région de Beskra (El haouch). L'objectif de cette étude est la détection des composés phytochimiques et d'estimer la teneur de cette espèce végétale en ces composés actifs essentiels, les poly phénols et les flavonoïdes obtenus dans la partie aérienne¹.

Ce travail est organisé en trois chapitres :

le premier chapitre est une revue bibliographique consacrée à des informations générale sur la plante de Romarin et les huiles essentielles, le deuxième chapitre est consacré à les méthodes et les matériaux nécessaire pour l'extraction de l'huile essentielle de Romarin moyennant de deux méthode différents (extraction par solvants et extraction par hydro distillation).

Dans le troisième chapitre, nous présentons les résultats de chaque expérience, puis on comparons les rendements pour choisies la meilleures techniques d'extraction.

Enfin, le mémoire est achevé par une conclusion générale.

¹ M. Benbott, Y. Bouali, Etude des activités biologiques de *Rosmarinus officinalis-L* des régions Ouargla et Ain M'Lila, université l'arbi ben mhidi-oum el bouaghi, **2018**, p2.

Chapitre I :

Etude bibliographique

Introduction :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine. On appelle plante médicinale toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies.

Les plantes aromatiques sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatization culinaire. Elles font partie de notre quotidien sans que nous le sachions. Il reste difficile de définir les molécules responsables de l'action, bien que certains effets pharmacologiques prouvés sur l'animal aient été attribués à des composés tels que les alcaloïdes des terpènes, stéroïdes et des composés polyphénoliques¹.

Partie A

I-Présentation de l'espèce étudiée (la plante) :

I-1-Les plantes aromatiques et médicinales :

I-1-1-Définition :

I-1-1-1-Les plantes aromatiques :

Les plantes aromatiques sont constituées par des organes apportant une odeur et une saveur destinées à améliorer un bien-être lors de la dégustation. Il peut s'agir soit d'une plante entière ou d'un organe particulier (feuilles, fleurs, fruits, bourgeons, grains, rhizomes ou bulbes²).

I-1-1-2-Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui possèdent une activité pharmacologique pouvant conduire à des utilisations thérapeutiques, grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain³.

I-2- Classification des plantes médicinales et aromatiques :

La classification des plantes peut se faire en fonction de nombreux critères :

- Classification botanique (systématique).
- Classification thérapeutique (action physiologique).

¹ A. MAKHLOUFI, 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, l'université Aboubaker Belkaid, **2010**, p 4.

² Mostafa S, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis*-L, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**, p3.

³ S. Babulka, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis*-L, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**, p3.

- Classification chimique (nature du principe actif).
- Classification commerciale (intérêt commercial)¹.

I-3- Importance des plantes aromatiques et médicinales :

I-3-1-L'action des plantes médicinales :

Les plantes sont universellement reconnues comme un élément essentiel de la diversité biologique du monde et une ressource essentielle pour la planète. Elles peuvent améliorer la qualité de la vie et le milieu de travail, de plus, les plantes oxygènent l'air et favorisent ainsi l'éveil et la concentration².

Plusieurs milliers de plantes sauvages ont une grande importance économique et culturelle, en fournissant de la nourriture, des médicaments, du carburant, des vêtements et des abris pour l'homme dans le monde entier. Les plantes jouent également le maintien de l'équilibre écologique de la terre et de la stabilité des écosystèmes. Elles fournissent des habitats pour les animaux et les insectes³.

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie : elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus⁴.

I-3-2-La phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement «soigner avec les plantes». La phytothérapie ou bien «la thérapie par les plantes» est demandée de façon incroyable, les gens font confiance aveugle à cette médecine sans prise compte de danger de ces plantes et herbes sur leur santé⁵.

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales⁶. Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples⁷.

De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. C'est pour cela

¹ S. Kateb, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis-L*, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**, p3.

² L. Bermness, Larousse, Plantes Aromatiques et Médicinales, **2005**.

³ A. Djoghlaif, PW. Jackson, Convention sur la diversité biologique: Rapport sur la conservation des plantes, **2009**.

⁴ A. Chevallier, Larousse, Encyclopedia of Medicinal Plants, 2nd Edition, **2001**.

⁵ S. Gahbich, La Phytothérapie, Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Sousse, **2009**.

⁶ A. Chevallier, Larousse, Encyclopedia of Medicinal Plants, 2nd Edition, **2001**.

⁷ L. Bermness, Larousse, Plantes Aromatiques et Médicinales, **2005**.

on voit que la phytothérapie qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associé aux traitements classiques.

Elle offre aussi de multiples avantages malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne. L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend des plantes leurs effets en fonction de leurs principes actifs¹ Les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Il se peut que des principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés (ex: l'orange: ses fleurs sont sédatives et son écorce est apéritive)².

Les éléments actifs des plantes: les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, les saponines, les vitamines, les glucosides et les minéraux³.

I-4-Les composés des plantes aromatiques et médicinales :

- **Les phénols**
- **Les anthocyanes**
- **Les tanins**
- **Les flavonoïdes**
- **Les saponines**
- **Les vitamines**
- **Les glucosides**
- **Les minéraux**

I-5-Les plantes aromatiques et médicinales en Algérie

En Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques.

Ce que nous intéresse au jour d'aujourd'hui c'est le romarin qui fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires. Le romarin est un symbole du souvenir et de l'amitié. Les étudiants grecs s'en confectionnaient des couronnes, qu'ils portaient durant les examens pour stimuler leur mémoire⁴.

I-6- Définition et origine de la plante ROSMARINUS OFFICINALIS

I-6-1-Définition

Le nom latin Rosmarinus est interprété comme dérivé de "ros" rosée et "marinus" appartenant à la mer autrement rosée marine, ce qui fait référence à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la Méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante⁵.

¹ A. Chevallier, Larousse, Encyclopedia of Medicinal Plants, 2nd Edition, **2001**.

² M. Sebai, M. Boudali, La Phytothérapie entre la confiance et méfiance, Institut de formation paramédical CHETTIA, **2012**, 56p.

³ (M. Sebai, M. Boudali, **2012**, A. Chevallier, **2001**).

⁴ A. Haddouche, L. Kirad, Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis*-L.) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers, Université Kmiss-Melyana, **2018**, P42.

⁵T. GUINOCHET, Phytosociologie, Ed, Masson, France, **1973**, P 227.

I-6-2-L'origine

Le romarin spontané qui pousse sur les côtes méditerranéennes, et le sud-ouest de l'Asie, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture. On le trouve essentiellement dans les garrigues maquis non loin de la mer¹.

En Algérie, le romarin est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national.² C'est une plante pérenne de type arbrisseau qui peut vivre plus de 20 ans³. Mais en culture, il faut compter une douzaine d'années de vie.⁴ L'aire géographique du romarin est spécifiquement méditerranéenne, il est répandu dans les pays européens, en France, en Espagne, au Portugal. De l'autre côté de Gibraltar on le retrouve au Maroc, en Tunisie et en Libye; mais qu'il est abondant, il devient rare et ne se manifeste que dans quelques stations isolées en Egypte, en Palestine, au Liban, à Chypre, il réapparaît en Turquie, en Grèce et en Italie⁵.

I-6-3-Distribution géographique

Le romarin se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs et arides, exposés au soleil, à l'état sauvage il se trouve sur des sols calcaires.⁶



Figure 1 : *Rosmarinus officinalis*-L région d'Ain Defla (photo originale 2018).

I-6-3-Distribution botanique :

¹ C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. Labiatea, université d'Ouargla, 2004.

² C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. Labiatea, université d'Ouargla, 2004.

³ Mathonet P.Y, Romarin bio Produire du romarin en AB, référent technique régional en PPAM bio Chambre d'Agriculture de la Drôme, 2012.

⁴ C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le *Rosmarinus officinalis*. Labiatea, université d'Ouargla, 2004.

⁵ Y. Helal, Etude et biomasse du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) dans le Massif des Beni-Imloul-Aures-Algerie, université de la foresterie Sofia, 2010.

⁶ A. Haddouche, L. Kirad, Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques *Eucalyptus* (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers, Université Kmiss-Melyana, 2018, P42.

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*-L.) est un arbrisseau de la famille des Labiées, répandu sur toutes les rives de la méditerranée¹. Il est dominant dans les communautés arbustives post-feu, principalement dans les sols calcaires. Il s'agit d'un germeur à semences obligatoire et à floraison abondante. Son caractère ensoleillé et son effort de reproduction élevé lui permettent de coloniser les paysages découverts², C'est un arbrisseau toujours vert de 0,5 à 2 m. la tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés. Les feuilles sont sessiles, opposées et coriaces ; enroulées sur les bords. Les fleurs bleu violacées, visible de janvier à mai. Sont groupées en grappe à l'extrémité des rameaux le fruit à une forme ovoïde, entouré par un calice brun et persistant. L'inflorescence et le calice ont une pilosité très courte; l'inflorescence est en épis très courts et les bractées mesurent 1 à 2 mm³.



Figure 2 : Photo des feuilles, et des fleurs du romarin.

¹ E. GILDEMEISTER, HOFFMANN FR, Les huiles essentielles, 2^{ème} Edition, **1912**.

² J. SARDANS, F. RODA, J. PEUELAS, Effects of water and a nutrient pulse supply, **2005**.

³ I. CHFAI AL, A. BOUKIL, MO. BACHER, DRISS I ET GUERMAL A, Projet PAM : intégration de la biodiversité dans les chaînes de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes au Maroc, **2014**.

I-6-3-1-Classification botanique

Selon Cronquist (1988), *Rosmarinus officinalis* est classé comme suit¹ :

Tableau 1 : La classification botanique de la plante.

| | |
|---------------------|---------------------------------|
| R ègne | Plantae |
| Sous-r ègne | Tracheobionta |
| Embranchemen | Magnoliophyta |
| Classe | Magnoliopsida |
| Ordre | Lamiales |
| Famille | Lamiaceae |
| Genre | <i>Rosmarinus</i> |
| Esp èce | <i>Rosmarinus officinalis</i> L |

I-7-Principes chimiques

Contiennent de la r é sine, 8,40% de canin, une substance am ère et environ 1,50% d'une essence Les feuilles de romarin sp é ciale à odeur aromatique , saveur chaude et camphr ée , compos ée de pin ène, de comph ène, de born éol, d'acétate et de val érianate de bornyle, de cin éole et de camphre ordinaire².

I-8-Principes constituants de la plante

- Huile essentielle, dont born éol, camph ène, camphre, cin éol.
- Flavonoides (apig énine, diosmine).
- Tannins.
- Acides rosmarinique.
- Diterp ène.
- Rosmaricine³.

I-9- Propri ét és et usage**II-9-1-Propri ét és du romarin**

Le romarin est une plante méditerran éenne ayant des qualit és et propri ét és stimulantes, antiseptiques et insecticides. Il sert à la fabrication des parfums et fut utilis é en m édecine contre les d ébilites de tout genre. Il calme les nerfs surtout au moment de la m énopause⁴.

¹ Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance desquelques microorganismes pathog ènes. Universite M'HAMED BOUGARA de Boumerdes, p. 11-12

² A. Beloid, Plantes m édicinales D'Algérie, Office des publications universitaire 1, place centrale de Ben-Aknoun (Alger), **2001**.

³ A. Beloid, Plantes m édicinales D'Algérie, Office des publications universitaire 1, place centrale de Ben-Aknoun (Alger), **2001**.

⁴ Sedjelmassi, Les plantes m édicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa, **1993**.



Figure 3 : Rosmarinus officinalis.

II-9-2-Usages du romarin

II-9-2-1-Phytothérapie

➤ Voie externe

Pour les traitements externes (entorses, foulures, contusions, torticolis), on emploie les sommités infusées dans de l'alcool. L'extrait alcoolique lui-même agit sur les ulcères, les plaies, les dermatoses parasitaires. La décoction aqueuse s'utilise en gargarismes (angines) et en bains de bouche (aphtes) ou elle est ajoutée à des bains stimulants. L'huile essentielle de romarin soulage les troubles rhumatismaux et de la circulation Sanguine, soigne les blessures, soulage les maux de tête, améliore la mémoire et la concentration, fortifie les convalescents, combat les effets du stress et de la fatigue, traite l'inflammation des voies respiratoires et de la sphère ORL¹.

➤ Voie interne

Le romarin est un stimulant, antispasmodique et cholagogue. On l'indique pour ses qualités stimulantes dans les dyspepsies atoniques, les fermentations intestinales, les asthénies, le surmenage, les états adynamiques des fièvres typhoïdes ou muqueuses, de la grippe. En sa qualité d'antispasmodique, il est bénéfique dans le catarrhe chronique des bronches, la coqueluche, les vomissements nerveux ; c'est un bon cholagogue utilisé dans les cholécystites chroniques, certaines ascites et cirrhoses, les ictères ; c'est aussi un emménagogue (aménorrhée dysménorrhée) et un diurétique (hydropisies), un anti-VIH et anti-cancer².

➤ Parfumerie et cosmétique

¹ N. Bousbia, Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, université D'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2011.

² N. Bousbia, Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, université D'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2011.

Le romarin entre dans la composition de parfums surtout masculins, hespéridés aromatiques (eaux de Cologne), boisés et fougères aromatiques, ainsi que dans la formulation des pommades dermiques¹. Grâce à la capacité de stimulation des terminaisons nerveuses cutanées, le romarin est employé comme tonique dans des bains moussants, et comme liniment pour muscles fatigués à une dose de 1 à 2%. Il a des propriétés dermo-purifiantes qui lui permettent l'utilisation dans la préparation de déodorants. En lotion et shampooing, à une dose de 0.5 à 1%, l'extrait de romarin stimule le cuir chevelu².

➤ **Industrie agro-alimentaire**

Les extraits végétaux de romarin présentent un pouvoir antioxydant important et peuvent être appliqués à la conservation des aliments et des huiles lipidiques, ces propriétés sont dues aux acides polyphénoliques (rosmarinique, caféique)³.

➤ **Alimentation**

L'épice et l'huile de romarin sont largement utilisées en alimentation. L'épice est utilisée dans les aliments cuits, viande, condiment assaisonnement, les aliments industriels, casse-croûtes, sauces et autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0.41% (4.098 ppm) dans les aliments cuits.

L'huile est utilisée dans les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélatines et pouding, viande, condiments et assaisonnement, entre autres, avec le niveau maximum utilisé d'environ 0,003% (26.2ppm), en alimentation diététique et tisanes. Le romarin est utilisé en infusions, sous forme de poudres, extraits sec ou autres préparations galéniques pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac⁴.

Partie B

I-10-HUILS ESSENTIELS

III-10-1-HISTOIRE

¹ Sedjelmassi, Les plantes médicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa, **1993**.

² M.C. Martini, Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie, Edition Lavoisier, **2011**, pp358.

³ C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le Rosmarinus officinalis. Labiatea, université d'Ouargla, **2004**.

⁴ C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le Rosmarinus officinalis. Labiatea, université d'Ouargla, **2004**.

L'utilisation des traces d'huiles essentielles (H.E) destinées à rééquilibrer physiquement et psychiquement l'individu remonte à plus de 3000 ans. Toutefois, vers les débuts du 15^{ème} siècle, l'utilisation des huiles essentielles a subi une chute remarquable suite à la découverte de la pénicilline¹.

Dans les années 50, l'esthéticienne, biochimiste française Marguerite Maury a introduit le concept des huiles essentielles en massage en créant les premiers services d'aromathérapie en Europe. Ainsi, apparaît une nouvelle exigence relative aux choix des végétaux, aux modalités de cueillette et aux techniques d'extraction et de conservation². Finalement, la médecine aromatique est introduite par les auteurs Penel et Franschomme³. Il n'y a pas aussi longtemps, ces mêmes ont étudié au laboratoire, les caractéristiques des huiles essentielles issues d'un nombre important de végétaux. Ainsi, ils ont dressé un tableau assez précis qui sert actuellement de référence très importante pour les chercheurs. Selon Pierre de Larochequet (1999), de nos jours, l'aromathérapie s'impose comme l'une des thérapies complémentaires la plus performante non seulement en matière de santé mais également en matière de beauté et d'esthétique par les soins naturels qu'elle peut apporter à la peau et au corps⁴.

I-10-2-Définition

L'huile essentielle de *Romarin* est un liquide incolore ou jaunâtre dont l'odeur est fortement piquante camphrée, pénétrante de saveur très aromatique, Les sommités fleuries fournissent plus de 10 à 25 ml/Kg⁵, Le type algérien renferme plus que⁶ :

- **0,74 %** dans la plante sèche ;
- **0,1 %** dans les feuilles ;
- **1,4 %** dans les fleurs et rameaux;

Cette teneur en huile essentielle dans le *Romarin* varie en fonction de l'origine géo-climatique de la plante. Plus de 50 composants mono-terpéniques rentrent dans la composition chimique d'huile essentielle de *Romarin* dont les constituants principaux sont⁷.

- *Camphre* (15-25 %) - *1,8 Cinéol* (15-50%)

- *Pinène* (19.6 %) - *Limonène* (3.6%)

¹ Pierre de Larochequet, La Nature au service de la vie, les essences végétales naturelles, Paris, 2^{ème} édition, 1999, p16.

² L. Bremness, Les plantes aromatiques et médicinales, collection l'oeil nature, édition Bordas, Paris, 1996, p67.

³ Pierre de Larochequet, La Nature au service de la vie, les essences végétales naturelles, Paris, 2^{ème} édition, 1999, p16.

⁴ Pierre de Larochequet, La Nature au service de la vie, les essences végétales naturelles, Paris, 2^{ème} édition, 1999, p16.

⁵ Jeun. Brineton, Pharmacognosie, phytochimie- plante médicinale, 2^{ème} édition, 1992.

⁶ Thèse de boukhalfa, Apport des Couplages CPG/MS et CPG/IR dans l'Analyse des Mélanges Naturels Complexes, exemple l'Huile Essentielle de Romarin, USTHB, 1995.

⁷ RS Farag et al, Activity antioxidant of Spice essential oils, JAOCS, n 6, vol66, 1989, P7.

- Bornéol libre et estérifié (10.0 %)

Notre recherche se repose sur l'étude de la composition structurale d'huile essentielle de *Romarin*,

I-10-3-Localisation dans la plante

Selon Deysson (1979), les huiles essentielles sont produites dans le protoplasme cellulaire des plantes aromatiques et représentent les produits du métabolisme cellulaire dit "secondaire". La synthèse et l'accumulation de ces métabolites dans un organe sont associées à la présence de structures histologiques spécialisées qui selon l'espèce botanique peuvent être des cellules sécrétrices, des poches sécrétrices, des poils sécréteurs ou des canaux sécréteurs¹.

I-10-4-Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène², Les principales caractéristiques sont :

- Liquides à température ambiante.
- N'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes.
- Volatiles et très rarement colorés.
- Une densité faible pour les huiles essentielles à forte teneur en monoterpènes.
- Un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpène donnera un indice élevé cependant une teneur élevée en dérivés oxygénés produira l'effet inverse.
- Solubles dans les alcools à titre alcoolométrique élevé 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.
- 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'humidité³.

I-10-5-La composition chimique des huiles essentielles

I-10-6-Origine biogénique des huiles essentielles

¹ G. Deysson, *Organisation et classification des plantes vasculaires, Tomes II, (en deux parties), Soc, d'ali et d'En, Sup, Paris, 1979, p385-540.*

² J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition. Édition Tec et Doc, Paris, France, 1993, p3.

³ Melle Nour Elhouda Yamna. Adjimi, ETUDE physico-chimique de l'huile extraite du Rosmarinus Offinalis-L, Mémoire de, UNIVERSITIE –ZIANE ACHOUR-DJELFA, 2014, P22.

Comme toutes les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en deux familles. Les majeures parties des composés des huiles essentielles sont le groupe des terpénoïdes d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane d'autre part¹.

I-10-6-1-Groupe des terpénoïdes

C'est le groupe le plus important. Il comprend des monoterpènes avec 10 atomes de carbone, des sesquiterpènes soit 20 atomes de carbone, et des diterpènes (30 atomes de carbone). Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $[C_5H_8]_n$ ².

I-10-6-2-Les monoterpènes

Ce sont des hydrocarbures aliphatique, saturés ou insaturés. Ils peuvent être acycliques comme le myrcènes, ou cycliques comme le pinène, camphène, et même aromatiques comme le p-cymène. Aussi, ils peuvent contenir des atomes d'oxygènes³.

I-10-6-3-Les sesquiterpènes

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents. On trouvera ci-dessous quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des huiles essentielles (**Figure 4**).

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres constituants.

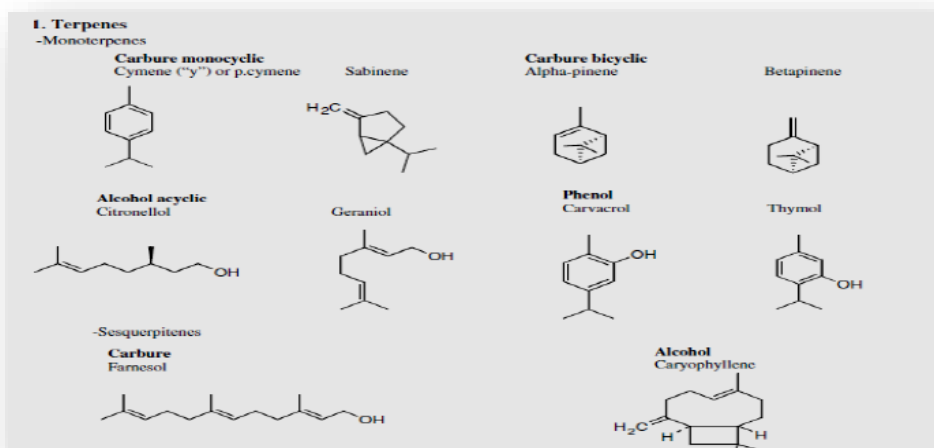


Figure 4: Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles (Bakkali et al. 2008)¹.

I-10-7-Propriétés des huiles essentielles

Les H.E sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire¹. Elles sont très inflammables et très odorantes. Elles sont sous la forme liquide à température

¹ F. Bakkali, Averbeck S, Averbeck D et Idaomar M, Biological effects of essential oils .A review. *Food and Chemical Toxicology*, 462, **2008**, p446-475.

ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf pour les huiles essentielles des plantes suivantes le sassafras, le girofle et la cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé. Les huiles essentielles ne sont pas solubles dans l'eau, entraînables à la vapeur d'eau. Elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille³. Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels⁴.

I-10-8-Rôle écologique des huiles essentielles

Les huiles essentielles jouent un rôle écologique dans les interactions végétales, végétale-animales et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs. En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les abeilles et des insectes responsables de la pollinisation, protègent les végétaux contre les herbivores et les rongeurs, possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, allopathiques dans les régions arides et peuvent servir de solvants bioactifs des composés lipophiles⁵.

I-10-9-Rôle des huiles essentielles chez les plantes

D'après Fouché et al., (2008), les huiles essentielles permettent aux plantes de s'adapter à leurs environnements et assurent leurs ultimes défenses. Elles jouent plusieurs rôles écologiques. On peut citer l'interaction plante-plante qui se traduit par l'inhibition de la germination et de la croissance. Ainsi, il est à noter l'interaction plante animale, qui s'exprime par leurs protections contre les prédateurs⁶.

I-10-10-Effets biologiques

¹ G. Deysson, *-Organisation et classification des plantes vasculaires, Tomes II, (en deux parties), Soc, d'ali et d'En, Sup, Paris, 1979, p385-540.*

² J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*, revue et augmentée, Paris France : Tec & Doc, Editions médicinales internationales, 4^{ème} ed, 2009, p1288.

³ K. Rhayour, *Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles*, Université Sidi Mohamed Ben Abdelleh Fés, Maroc, 2002, p170.

⁴ J. Bruneton, *Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales*. Technique et documentation. Lavoisier (France), 2^{ème} édition, 1999, p915.

⁵ A. El Haib, *Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques*, l'Université de Toulouse, 2011, p 158.

⁶ J.G. Fouché Marquet A et Hambuckers, *Les plantes médicinales de la plante au médicament: Conception et réalisation*, 2008.

Les terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. En 1977, il a été signalé que 60% des dérivés des huiles essentielles examinés jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30% de ces produits inhibent les bactéries. Le triterpénoïde, l'acide botulinique de plusieurs terpenoïdes ont montré une action inhibitrice envers le HIV. Le mécanisme de l'action des terpènes n'est pas entièrement compris. Mais on pense qu'il s'agit de la rupture de la membrane par les composés lipophiles¹.

I-10-11-Principaux domaines d'application

Les huiles essentielles sont employées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums². Ainsi, elles connaissent un vaste usage d'application dans divers domaines. Dans le domaine agroalimentaire, on trouve les arômes à base d'huile tels que la vanille, et le citron. Notamment en confiserie, on signale l'utilisation de bergamote dans la fabrication des bonbons (Julie, 1998)³. Par ailleurs, le pouvoir antioxydant des huiles essentielles permet la conservation des aliments.

En pharmacie, les huiles essentielles trouvent leurs emplois dans la formule d'un très grand nombre de spécialités; sirop, gouttes, gélules. A titre d'exemple, il a été formulé une pommade antirhumatisme à base d'essence de Romarin⁴, Leurs propriétés aromatisant sont également employées pour masquer l'odeur désagréable des médicaments. Les huiles essentielles sont également utilisées en parfumerie et cosmétique comme les shampooings, les dentifrices, les crèmes solaires, les parfums, et les crèmes de soins⁵.

Selon Julie (1998), les essences peuvent être administrées par plusieurs voies et sous différentes formes en usage interne ou externe. On peut citer la voie orale sous forme de tisane; décoction, infusion, macération, sous forme d'huile essentielle pure déposée sur les aliments. La voie rectale sous forme de suppositoires à base d'huile essentielle est à signaler. Ainsi, la voie cutanée est à mentionner à travers des huiles de corps, des baumes, et des huiles de bain ou l'essence est appliquée sur la peau, et diffuse dans tout l'organisme⁶.

I-10-12-Procédés d'extraction des huiles essentielles

¹ M.M. Cowan, Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinicalbiology Reviews, Creek Rush Growers Catalog, **1999;2010**, 12(4), p564-582.

² Anonym. II, Small field, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes, Crop and Food Research. Number 45,**2001**, 4p.

³ C. Julie, *la belle histoire de bergamote*, Magasine steps, **1998**.

⁴ M. Nabiev., **2006** *Extraction et analyse de l'huile essentielle de Romarin et formulation d'une pommade antirhumatisme*. II eme Symposium International sur les Plantes Aromatique et Médicinales, Marrakech, (11)123, p28.

⁵ C. Julie, *la belle histoire de bergamote*, Magasine steps, **1998**.

⁶ C. Julie, *la belle histoire de bergamote*, Magasine steps, **1998**.

Les huiles essentielles sont obtenues par diverses manières. Le choix de la technique dépend de la localisation histologique de l'huile dans le végétal et de son utilisation¹.

I-10-12-1- Hydro-distillation

C'est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité (**Figure 5**). L'huile essentielle étant plus légère que l'eau; sauf quelques rares exceptions, elle surnage au-dessus de l'hydrolat².

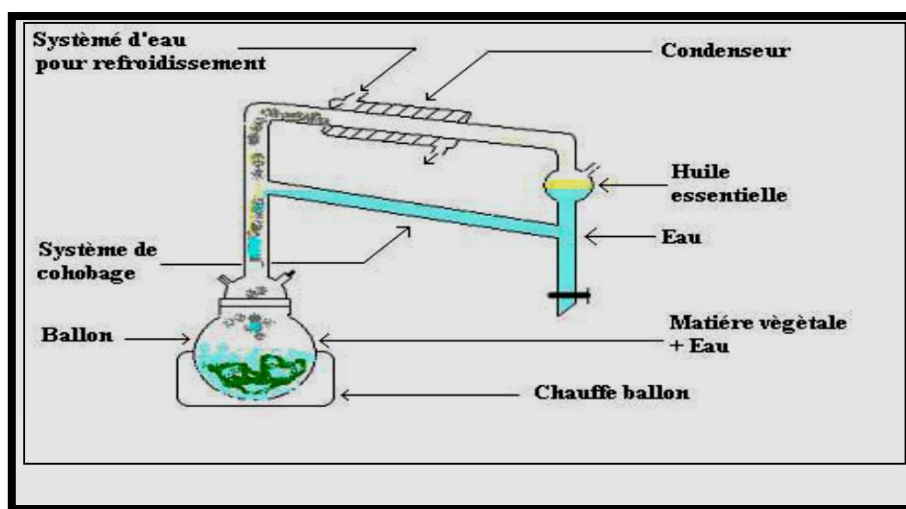


Figure 5 : Appareillage utilisé pour l'hydro distillation de l'huile³.

I-10-12-2- Distillation

La plupart des huiles essentielles sont obtenues par distillation et entrainement à la vapeur d'eau, à l'exception des huiles essentielles d'hespéridés (citron, orange) et l'huile de cade. On admet que la vapeur pénètre dans les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles (**Figure 6**). Ceci se traduit par isolement des essences de la plante démontrant donc uniquement une quantité suffisante de vapeur⁴.

¹ F. Mecheri, Mlle N. Akdif, Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes, université m'hamed bougara de boumerde, **2017**, P7.

² E. Lucchesim, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes: Conception et Application à l'Extraction des Huiles Essentielles, Université d'analyse nouveau, **2005**, p82.

³ L. R. Hernandez-Ochoa, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combinaison D'origine végétale, de l'Institut National Polytechnique de Toulouse France, **2005**, p46.

⁴ Franchomme et Penoel., Aromatherapy for health professionals Hormonal essential oils A few essential oils which are hormonal but not neurotoxic .journal of essential oil research.vol 13, **1990**, p102-112.

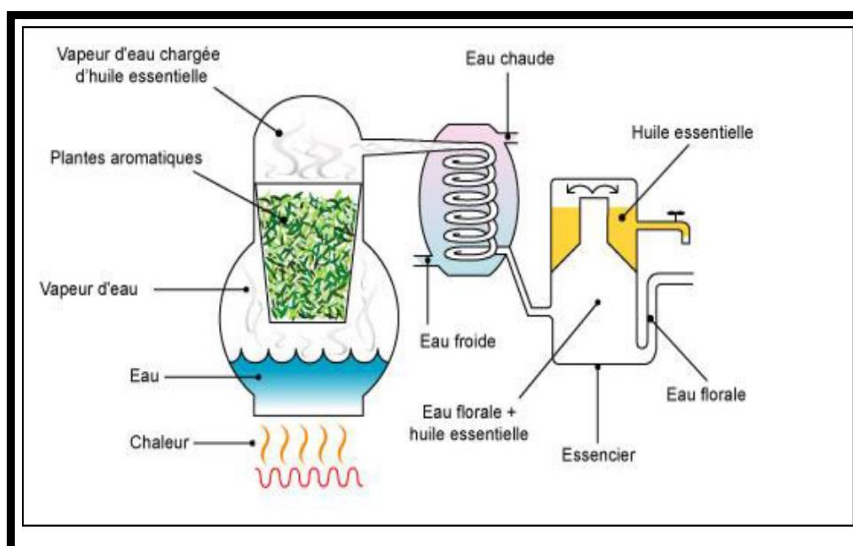


Figure 6 : Schéma de principe d'extraction par distillation.

I-10-12-3- Extraction par CO₂ super critique

La technique se base sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et de son état physique. Grâce à cette propriété, il permet l'extraction dans le domaine supercritique et la séparation dans le domaine gazeux. Ainsi, le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Ensuite, il est injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal. Après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant¹.

I-10-12-4- Extraction par les solvants

L'extraction par les solvants consiste à la mise en contact de la matière végétale avec un solvant qui dissout et extrait les constituants solubles contenus dans la plante. Aussi le choix des solvants obéit à des paramètres techniques et économiques. Une sélectivité, une stabilité, une inertie chimique, et une température d'ébullition pas trop élevée permettent son élimination totale pour éviter les pertes².

Les solvants les plus utilisés sont des carbures aliphatiques; éther de pétrole, et hexane, et les halogènes qui sont les dérivés chlorés et fluorés. Tandis que les carbures aromatiques par exemple le benzène qui est un bon solvant mais sa toxicité limite de plus en plus son utilisation.

Ce mode d'obtention présente l'avantage de contourner les dégradations probables induites par la présence d'eau et par les pH acides. En revanche, il manifeste un majeur

¹ K. Keville, M. Green, Aromatherapy A complete guide to healing art, Ed 1, the crossing press, p120-140, la reunion, p14-23.

² C. Bekhechi, F. Atik-Bekkara, D.E. Abdelouahi Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'origanum glandulosom d'Algérie – Phytothérapie, Vol 6, 2008, p153-159.

inconvenient qui est le manque sélectivité des solvants. Mais le problème de toxicité reste le majeur inconvenient¹.

I-10-12-5- Extraction par micro-ondes

C'est une technique récente développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Dans cette méthode, la plante est chauffée par un rayonnement micro-ondes dans une enceinte dont la pression est réduite de façon séquentielle. Les molécules volatiles sont entraînées dans le mélange azéotrope formé avec la vapeur d'eau propre à la plante traitée. Ce chauffage, en vaporisant l'eau contenue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et se libère ainsi en huile² (**Figure 7**).

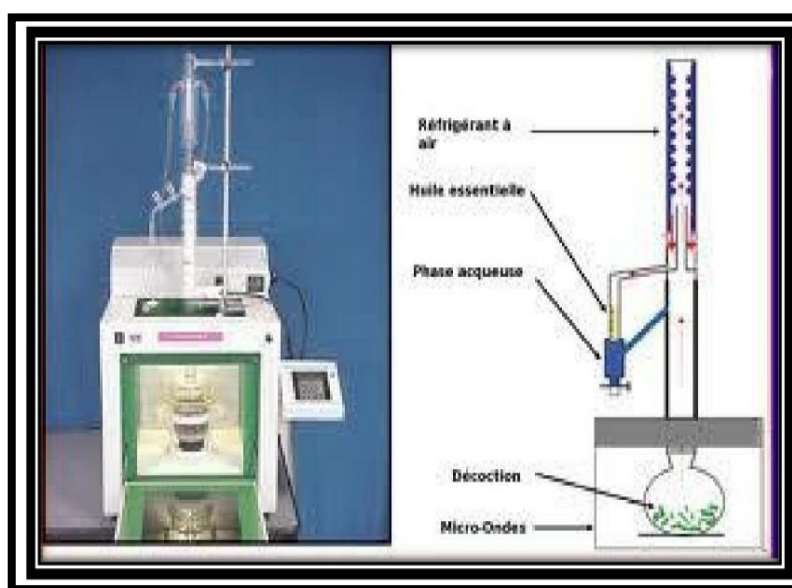


Figure 7 : Montage d'une distillation par micro-ondes.

¹ C. Bekhechi, F. Atik-Bekkara, D.E. Abdelouahi Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'organum glandulosum d'Algérie – Phytothérapie, Vol 6, **2008**, p153-159.

² P. Mengel, D. Beh, G.M. Bellido, B. Monpon, VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-onde, Parfums Cosmétique Aromes, **1993**, 114, **1993**, p66-67.

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons donné des généralités sur la plante aromatique et médicinale «*Rosmarinus Officinalis-L* » et l'huile essentielle.

Chapitre II

Matériels et méthodes

Introduction :

Dans ce chapitre nous présentons les différents points traités dans la partie expérimentale le matériel et les méthodes nécessaires, l'extraction de huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.



Figure 8: *Rosmarinus officinalis*-L.

II-Matériels et méthodes d'extraction :**II-1-Réactifs chimiques et instrumentations :**

Plusieurs réactifs chimiques et solvants ont été utilisés dans nos expériences sont :

II -1-1-Les solvants :

- Ether de pétrol (EP).
- Acétate d'éthyl(AcOET).
- Méthanol(MeOH).

II-1-2- Réactifs :**II-1-2- 1-Réactifs pour drogue à Alcaloides :****II-1-2- 1-1-Réactif de MAYER :**

- Chlorure mercurique.(HgCl₂)
- Iodure de potassium(KI).
- Eau distillé .

II-1-2- 1-2-Réactif de BOUCHARDAT :

- Iode(I).
- Iode de potassium (KI).
- Eau distillé

II-1-2-2- Réactifs pour drogue à POLYPHENOLS :

- Chlorure ferrique cristallisé(Fe_3Cl).
- Eau distillé.

II-1-2-3-Réactifs pour drogue les FLAVONOIDES :

- Butanol($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$).
- Acide chlorhydrique concentré(HCl).

II-1-2-4-Réactifs pour drogue les TANINES :

- Formol(CH_2O).
- Acide chlorhydrique(HCl).

II-1-2-5-Réactifs pour drogue les SAPONINES :

- Eau distillé.

II-2-L'appareillage :

- Agitateur magnétique.
- Chamre d'obsarvation UV(254-365 nm).
- Rotavapeur.
- Bain marie.
- Balance.
- Pompe de filtration.
- Séchoire.

II-3-Matériels :

- Les erlenmeyers.
- Les béchers.
- Les éprouvettes.
- Les tubes à essai et support.
- Entonnoir.
- Verre de montre.
- Papier filtre et papier filtre plissé.
- Pissettes.
- Fiole à vide, fioles et fioles jaugée.
- Entonnoir de BECHNER.
- Spatule, pince, la tige et barro magnétique.
- Thermomètre, pipette graduée.
- La cuve et les plaques CCM.
- Cristallisoir.

II-4-Extraction de l'huile essentielle végétale par deux méthodes d'extraction :

II-4-1- Méthode d'extraction au moyen des solvants organiques de différents polarités (ou macération):

L'extraction solide/liquide, c'est-à-dire l'opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide (la matière à extraire), et une phase liquide (le solvant d'extraction).

Elle est réalisable :

➤ **soit par simple contact** : L'extraction dans ce cas est

souvent incomplète même avec un très bon solvant ;

➤ **soit par contacts multiples, à co-courants parallèles ou à contre-courant** : cette dernière est plus économique¹.

Aussi la méthode d'extraction se passe à trois étapes principales :

- Agitation.
- Filtration.
- Evaporation du solvant.

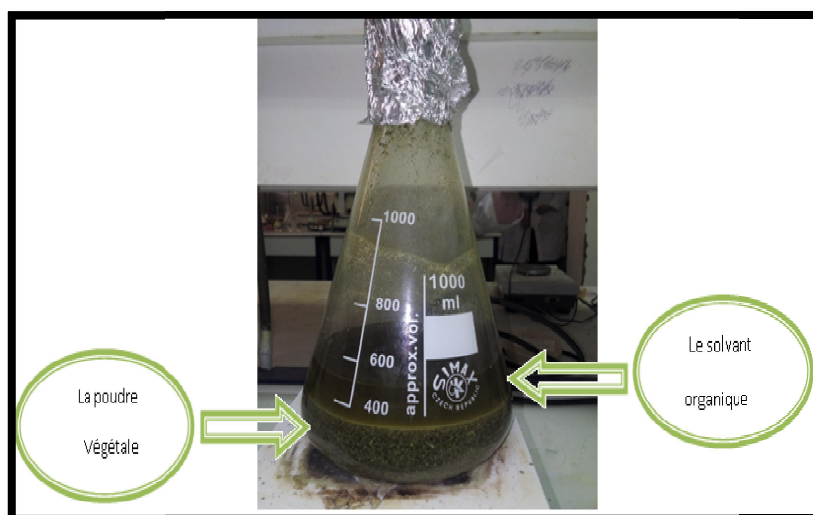


Figure 9: Extraction par des solvants organiques.

¹ N. BOUSBIA, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2011, P12.



Figure 10 : Filtrats de plants avec les trois solvants.

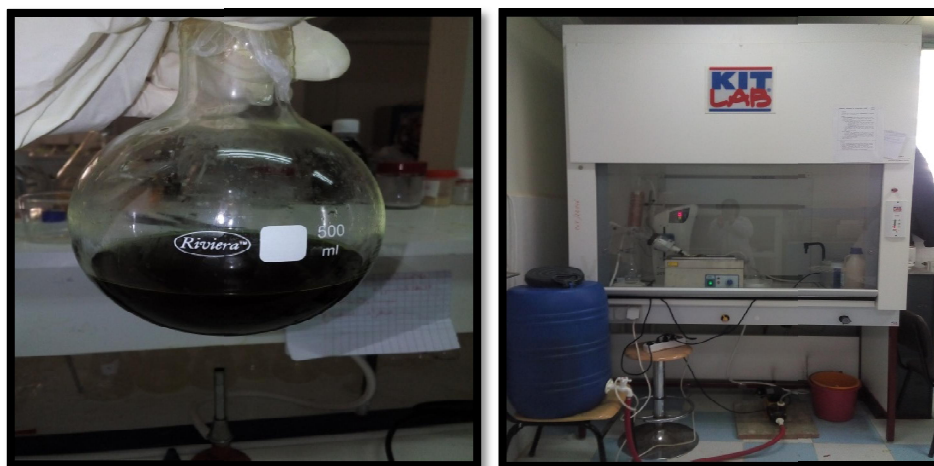


Figure 11: Evaporation des filtrats.

Après filtration on obtenu 3 extrais différents de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L.

II-4-2- Méthode d'extraction par hydro distillation :

II-4-2- 1-Description du dispositif d'extraction :

Les plantes sont placées dans un ballon, puis chauffées avec de l'eau. La chaleur intense fait exploser les petites poches qui contiennent les huiles essentielles, et celles-ci se réparent dans la vapeur d'eau. Elles sont ensuite canalisées dans un condensateur et réfrigérées pour se liquéfier à nouveau. A la sortie, un essencier ou « séparateur florentin » sépare l'huile qui flotte à la surface de l'eau de distillation ou hydrolat.



Figure 12: l'appareil d'hydro distillation (Originale 2019).

II-4-2-2-Procédé d'extraction :

La méthode d'extraction des huiles essentielles utilisées au cours de notre expérimentation est l'hydro distillation.

II-4-2-3-L'opération est effectuée selon le protocole suivant :

On introduit 100g de matériel végétal sec (les feuilles et les fleurs) dans un ballon d'un litre, rempli d'eau distillée au 2/3 de sa capacité. Le mélange est chauffé à l'aide d'une chauffe ballon. L'eau s'évapore entraînant avec elle les constituants de l'huile essentielle qui sont ensuite canalisés dans un condensateur et réfrigérés à une température de 17°C à 22°C pour se liquéfier à nouveau. Par la suite, l'huile qui flotte à la surface de l'eau de distillation est récupérée dans une ampoule à robinet.

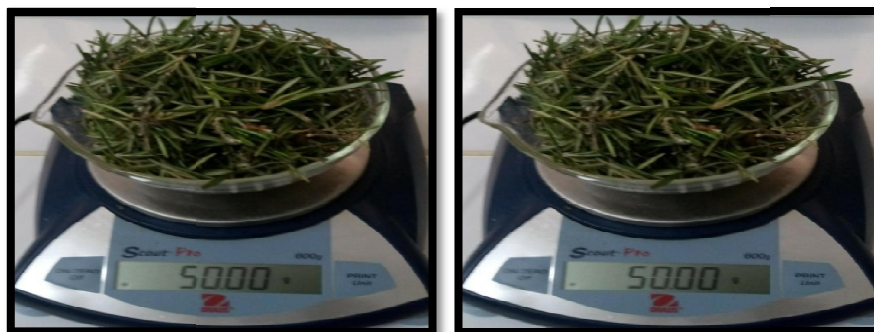


Figure 13: pesage de 100 g sec de matière végétal (*Rosmarinus officinalis*. L).

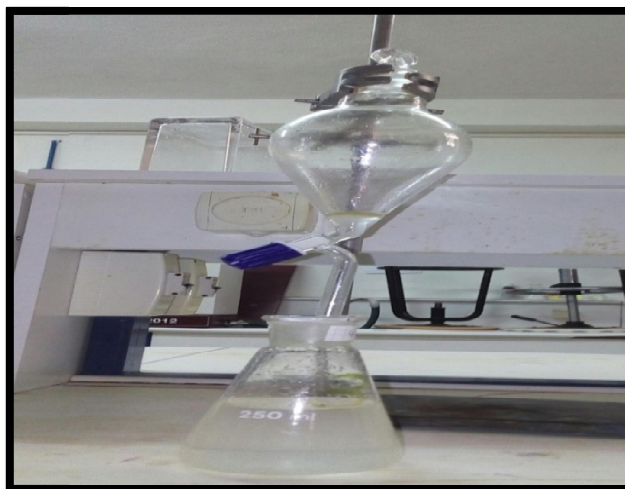


Figure 14: récupération des huiles essentielles (photo original 2019).

II-4-2-4-L'obtention de huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*-L :

Selon la Pharmacopée Européenne, une huile essentielle est 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 chauffage¹.



Figure 15: L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*-L.

¹C. Escriva, Les huiles essentielles corses, les plantes aromatiques distillées en Corse et leurs propriétés thérapeutiques, Bruxelles, Amyris, Ed, 2012, p383.

II-5-Etude chromatographique :

II-5-1-Chromatographie sur couche mince(CCM) :

II-5-1-1-Définition et appareillage :

La chromatographie sur couche mince (CCM) repose donc, principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle de solvants.

II-5-1-2 Les principaux éléments d'une séparation Chromatographie sur couche Mince:

- **La cuve chromatographique :** un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- **La phase stationnaire :** une couche d'environ 0,27mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le Sulfate de calcium hydraté l'amidon ou un polymère organique.
- **L'échantillon :** environ un micro litre (μL) de solution d'éluée (2 à 7%) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- **L'éluant :** un solvant pur ou un mélange: il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échant.

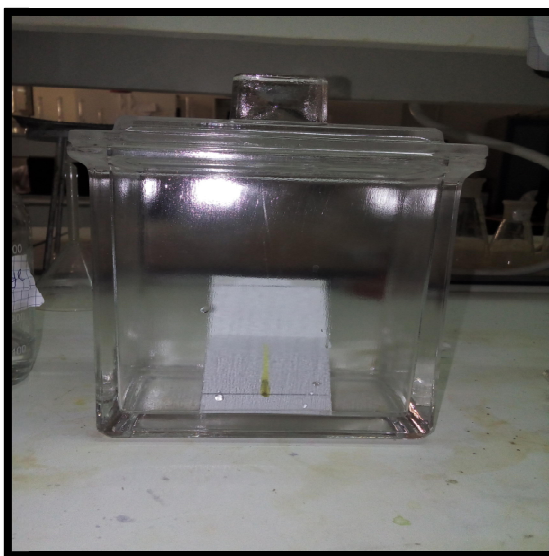


Figure 16 : Chromatographie liquide –liquide.

II-5-1-3 Principe de la technique :

Lorsque la plaque sur la quelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve. L'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et d'autre part de sa solubilité dans la phase mobile. Les composées se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile, l'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composées polaires

II-5-1-4 Application de CCM :

Lorsque les conditions opératoires sont connues, elle permet un contrôle aisée et rapide de la pureté d'un composé organique ou matière première .Si l'analyse, réalisée avec divers solvants et différents adsorbants , révèle la présence d'une seule substance (tache), on peut alors considérer que cet échantillon est probablement pur, de plus, étant donné que la chromatographie sur couche mince indique le nombre de composants d'un mélange, on peut l'employer pour suivre la progression d'une réaction.

II-6-Les éléments actifs des plantes :

Les effets curatifs de certaines plantes sont bien connus. Il est indispensable de connaître la composition des plantes pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme.

II-6-1-Quelque composées à tester :

II-6-1-1-Les alcaloïdes :

Formant un groupe très large, les alcaloïdes possèdent presque tous une molécule d'azote hétérocyclique qui les rend pharmacologiquement très actifs. Certains sont des médicaments connus qui ont des vertus thérapeutiques avérées; C'est le cas d'un dérivé de la pervenche de Madagascar (Vincaroseasyn, Catharanthusroseus) employé pour traiter certains types de cancer. D'autres alcaloïdes, comme l'atropine, présente dans la belladone (Atropa belladonna), ont une action directe sur le corps: activité sédatrice, effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson).

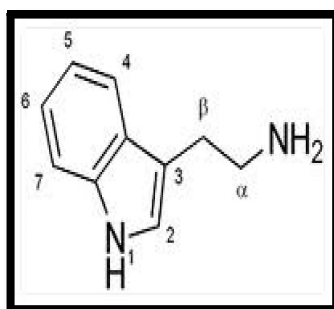


Figure 17: Exemples de quelques alcaloïdes.

II-6-1-2-Les Flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments poly phénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydants. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation. Certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales, et des effets protecteurs sur le foie. Des flavonoïdes comme l'hespéridine et la rutine, présentes dans plusieurs plantes, dont le sarrasin (*Fagopyrum esculentum*) et le citronnier (*Citrus limon*), renforcent les parois des capillaires et préviennent l'infiltration dans les tissus voisins. Les isoflavones, que l'on trouve par exemple dans le trèfle rouge (*Trifolium pratense*), et le citron (*Citrus limon*) ont des effets œstrogéniques, sont efficaces dans le traitement des troubles liés à la ménopause.

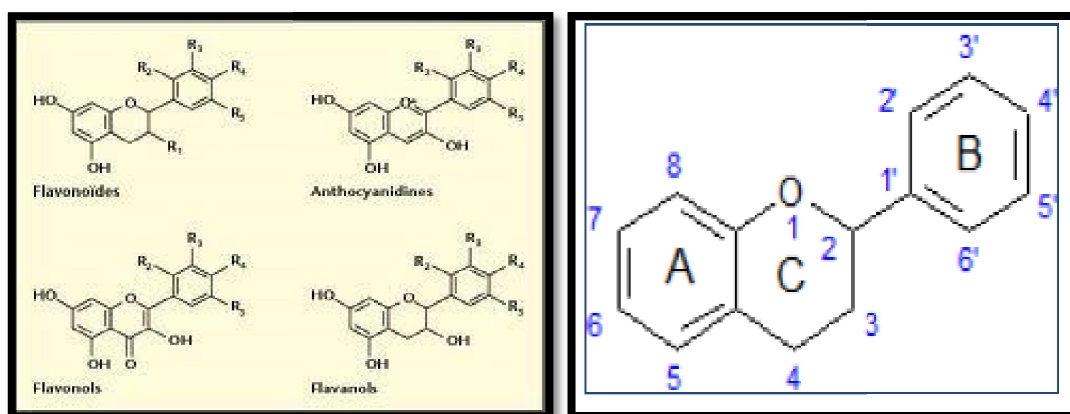


Figure 18: Exemples de flavonoïdes.

II-6-1-3-Les Phénols :

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. On suppose que les plantes, en les produisant, cherchent à se prémunir contre les infections et les insectes phytophages. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales. La gaulthène (*Caulthia incompumbens*) et le saule blanc (*Salix alba*) contiennent des acides glucosides phénoliques qui donnent, par distillation, des dérivés de salicylique et salicylate de méthyle.

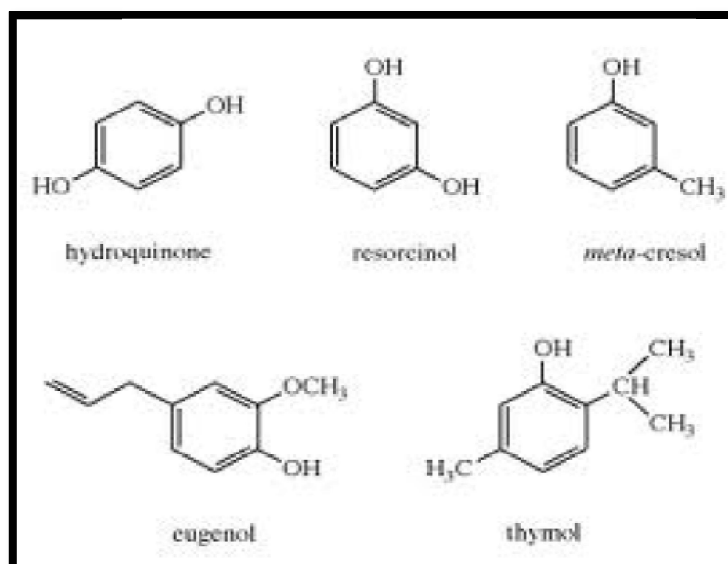


Figure 19 : Exemples de quelques phénols.

II-6-1-4-Les Tanins :

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines vanqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure. Les écorces de chêne (*Quercus robur*) et d'acacia (*Acacia catechu*) sont riches en tanins.

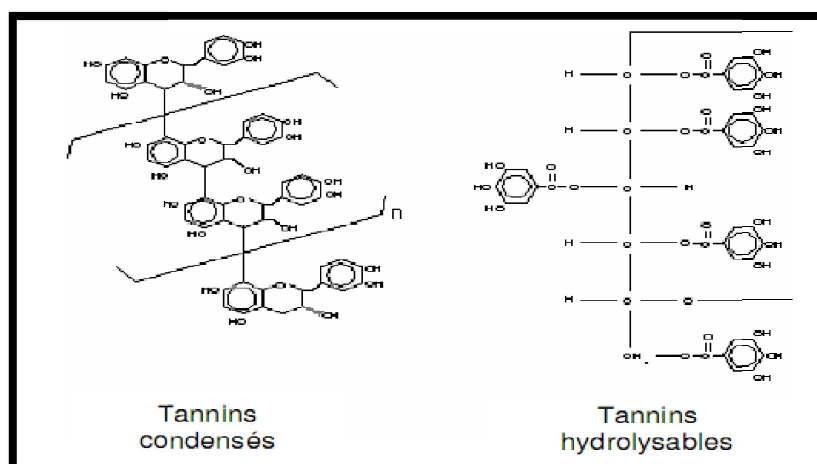


Figure 20 : Exemples de quelques Tanins.

II-6-1-5-Les Saponines :

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les triterpénoïdes. La structure chimique des stéroïdes est similaire à celle de nombreuses hormones humaines (œstrogène, cortisone), et de nombreuses plantes qui en contiennent ont un effet sur l'activité hormonale. L'igname sauvage (*Dioscorea alata*) contient des saponines stéroïdes à partir desquels on synthétise la pilule contraceptive. Les saponines triterpénoïdes, contenues dans la réglisse (*Glycyrrhiza glabra*) et la primevère (*Primula veris*), ont une activité hormonale moindre. Elles sont souvent expectorantes et facilitent l'absorption des aliments¹.

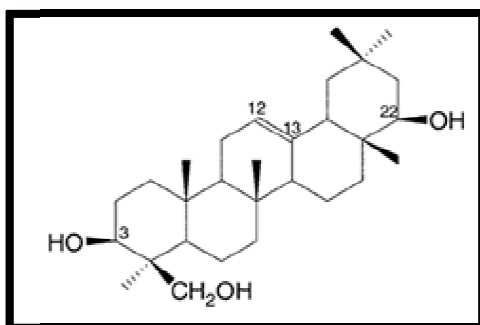


Figure 21: Structure du sapogénol.

¹ Encyclopedia of Medicinal Plants Copyright ©, Dorling Kindersley Limited, Londres, Text copyright Andrew, Chevallier, 2nd Edition, 1996-2001.

Conclusion :

Dans ce chapitre, nous avons donnée les matériaux et les méthodes principales que nous allons suivis pour l'extraction d'huile essentielle de Romarin. Aussi nous avons donnée quelques définition des composés chimiques de notre plante et vont être testés dans le 3^{ème} chapitre.

Chapitre III

Résultats et discussions

III- Matériels et méthodes :

III-1- Matériel biologique (échantionnage) :

III-1-1-Matériel végétal :

La plante de *Rosmarinus officinalis*. A été collectée au mois de Mars 2019 dans la région de Biskra(**Figure23**). L'identification botanique de l'espèce a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie et de microbiologie, université Abbas Laghrour-Khenchela.

La plante récoltée a été ensuite séchée à l'abri de la lumière du soleil. Enfin la plante sèche a été pulvérisée au broyeur pour obtenir une poudre fine pour qu'elle soit prête à l'utilisation (**Figure 22**).



Figure 22:Echantillon de l'espèce *Rosmarinus officinalis*.



Figure 23: la région de la plante.

III-1-2-Méthodes d'Extraction :**III-1-2-1- Extraction par les solvants :**

La méthode d'extraction que nous avons adoptée est la macération successive par trois solvants organiques de polarité croissante; il s'agit d'éther de pétrole, d'acétate d'éthyle et du méthanol. Dans notre cas 100g de la plante est broyé et extraite par 450 ml d'éther de pétrole. L'extraction est effectuée sous agitation continue et à une température ambiante, pendant 28 heures (**Figure24, 25**).



Figure 24: Préparation d'échantillon



Figure 25:Macération de la plante.

Après filtration sur un papier Wattman, le matériel végétal est ensuite soumis à une autre extraction dans les mêmes conditions mais avec d'autres solvants plus polaires, il s'agit d'Acétate d'éthyle et Méthanol. Les filtrats sont additionnés et concentrés à sec par un évaporateur rotatif de type « HAHNVAPOR » (Figure 26, 27).

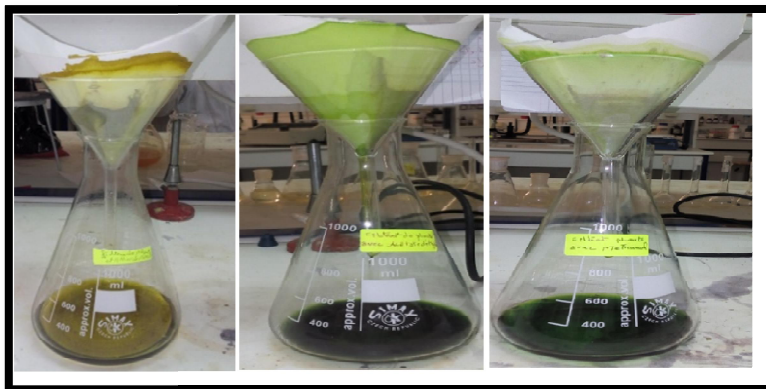


Figure 26: Les trois filtrats



Figure 27: Evaporation des filtrats.

Cette série d'extraction a permis d'obtenir trois extraits organiques bruts: extrait d'éther de pétrole (E EP) extrait d'acétate d'éthyle (E AcOET) et extrait méthanolique (E MeOH) (Figure 28), qui seront récupérés dans des flacons en verre jusqu'à utilisation.

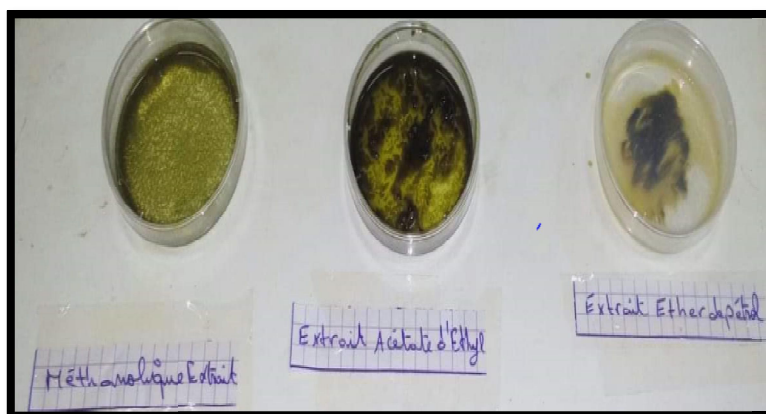


Figure 28: Les extraits bruts

III-1-2-2-Extraction par Hydro distillation :

Nous remplissons environ de moitié un ballon avec de l'eau distillée et 100 g de la plante. Puis nous plaçons le tout sur le chauffe ballon et raccordons au montage à reflux. Le montage porté à l'ébullition. Au fur et à mesure les vapeurs s'échappent du mélange et sont liquéfiées grâce au chauffage à reflux. **(Figure 29)**

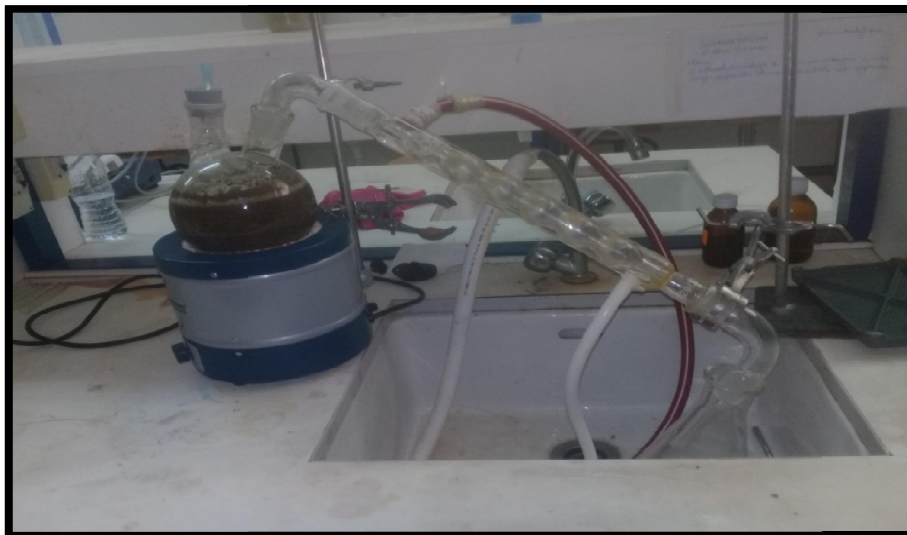


Figure 29: Montage d'hydro distillation.

III-1-2-2-1-L'extraction liquide-liquide :

Nous récupérons le distillat dans un récipient, puis on le verse dans une ampoule à décanter et on introduit 200 ml de méthanol (02 fois). Après agitation et décantation (l'extraction liquide-liquide), on observe deux phases (organique et aqueuse) la phase organique est inférieure et la phase aqueuse est supérieure, on récupère la phase organique (Méthanol et l'huile essentielle). **(Figure 30)**



Figure 30: ampoule à décanter

Après filtration et évaporation de solvant par de verre un évaporateur rotatif. L'huile essentielle récupérée dans un flacon. **(Figure 31)**



Figure 31: L'huile essentielle.

III-1-3-Détermination du rendement :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction.

III-1-4-La chromatographie sur couche mince :

Tableau.2: le système d'élution des extraits.

| Le système d'élution | Les pourcentages |
|----------------------|------------------|
| EP/ AcET | 65.52 /34.48 % |
| | 90 /10 % |
| | 80/20 % |

➤ Les résultats de CCM du chaque extraits :



Figure 32:préparation de la plaque CCM.

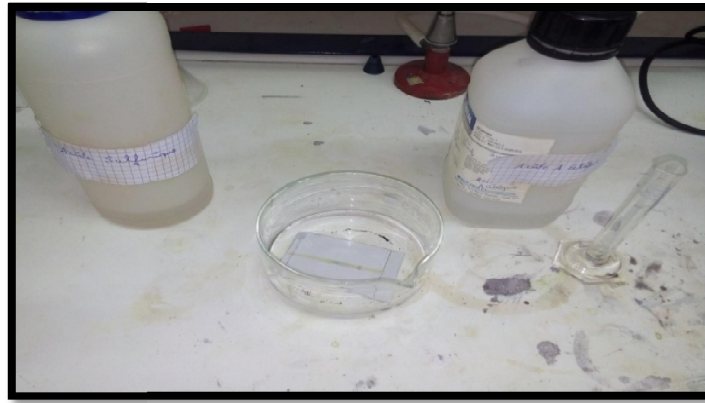


Figure 33: la révélation des plaques CCM.

1- CCM d'Ether de Pétrole :

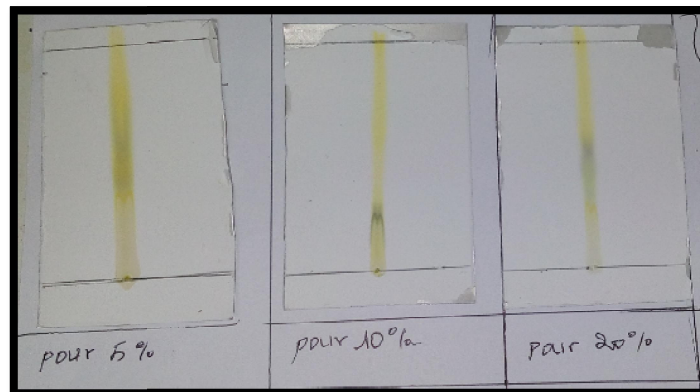


Figure 34: CCM de l'extrait EP.

2- CCM d'Acétate d'Ethyle :



Figure 35: CCM de l'extrait AcOET.

3- CCM Méthanolique :

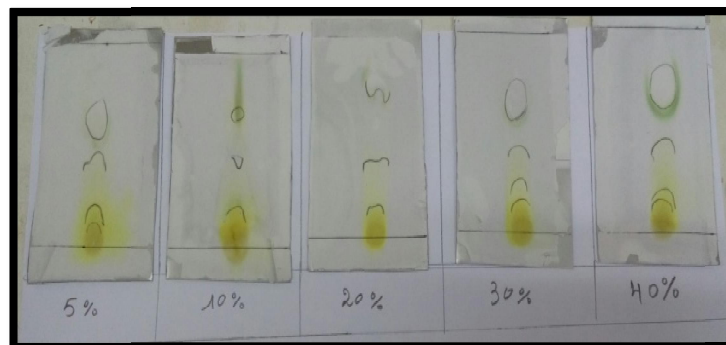


Figure 36: CCM de l'extrait MeOH.

III-1-5- Screening phytochimiques de la plante sélectionnée :

Le screening phytochimique est un ensemble des méthodes et technique de préparation et d'analyse des substances organique naturelles de la plante. De cet effet, nous somme intéressé à réaliser un screening chimique de la plante *Rosmarinus Officinalis-L.*

III-1-5-1-Détection des alcaloïdes :

Pour faire les tests d'identification rapide des drogues à alcaloïdes, on peut préparer un extrait selon le procédé suivant :

- Dans un erlenmeyer de 50 ml, introduire :
- 6 g de la Poudre végétale.
- 30 ml d'une solution d'acide sulfurique à 10%.
- Agiter pendant 2 minutes puis filtrer sur papier filtre.
- Partager les filtrats entre 2 tubes :
- Dans le premier tube, ajouter quelques gouttes de réactif de **MAYER** (réaction faible, léger précipité blanc-jaunâtre si le test positif).
- Dans le deuxième tube, ajouter quelques gouttes de réactif de **BOUCHARDAT** (il se forme un précipité marron roille si le test positif).

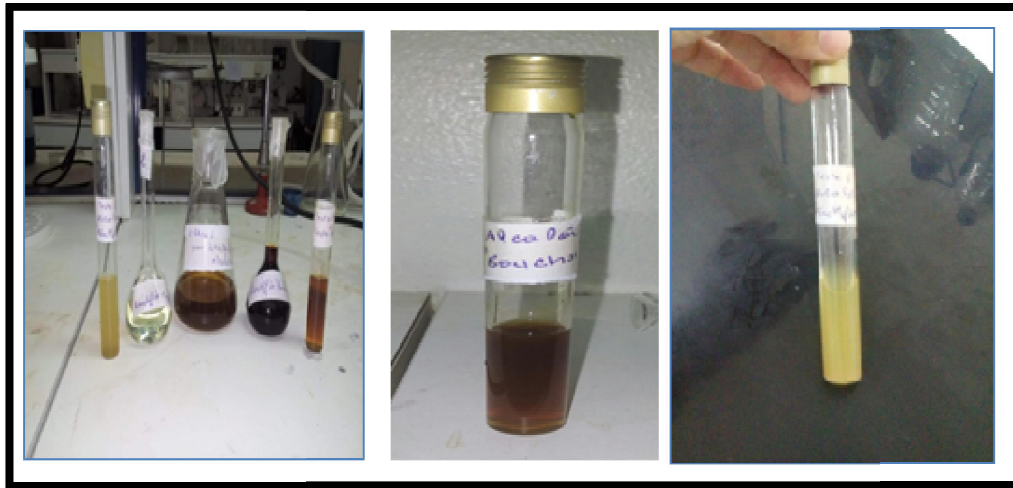


Figure 37: Détection des alcaloïdes.

III-1-5-2- Détection des polyphénols :

- Dans un erlenmeyer, introduire 6g de poudre végétale et ajouter un mélange de 6ml eau distillé et 12 ml d'acétone.
- Placer au bain marie (à 60 C° max), pendant 5 min environ, en agitant de temps en temps.
- Mettre le filtrat dans un tube à essais de 16 ml et ajouter 1 ou 2 gouttes de solution perchlorure ferrique (FeCl_3).
- Après l'ajoute de FeCl_3 , on a observé la formation d'un précipité noir-vert intense.

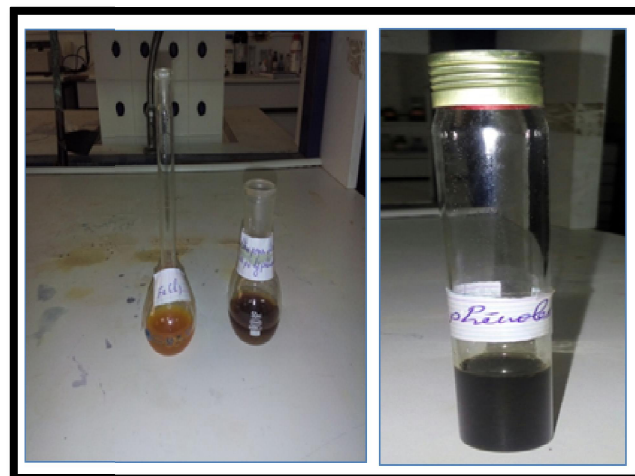


Figure 38: Résultats du test des Polyphénols.

III-1-5-3- Détection des flavonoïdes :

- Macérer 10g de poudre sèche des dans 150 ml HCl dilué 1% pendant 24 heures puis filtrer.
- A chaque 10 ml du filtrat, ajouter quelques gouttes de NH_4OH .
- L'apparition d'une couleur jaune clair dans la partie supérieure de tube à essai, indique la présence des flavonoïdes, mais notre test est négatif car la détection nous a donné une couleur verte foncée.



Figure 39: Identification des flavonoïdes.

III-1-5-4- Détection des tanins

2 à 3 gouttes de la solution FeCl_3 à 2%, sont ajoutées à 2 ml de l'extrait brute. La solution obtenue est reposée pendant quelques minutes. Le test est considéré positif s'il y a l'apparition d'une coloration verte-noir et un précipité.



Figure 40: Identification des tanins.

III-1-5-5- Détection des saponines :

- peser exactement **1g** de poudre végétale, et l'introduire dans un erlenmeyer de 250 ml avec 100 ml d'eau distillée.
- Chauffer au bain-marie à 95°C pendant 30 min: « décoction ».
- Filtrer à chaud le décocté, sur filtre plissé, dans un erlenmeyer propre.
- Introduire le filtrat dans un tube à essai.
- Boucher le tube avec un bouchon.
- Agiter vigoureusement le tube, en position horizontale pendant 15 secondes.

Après 10 minutes au repos, la couleur rouge-marron et la mousse de la couche d'interface indique la présence des triterpènes hétérosidiques.

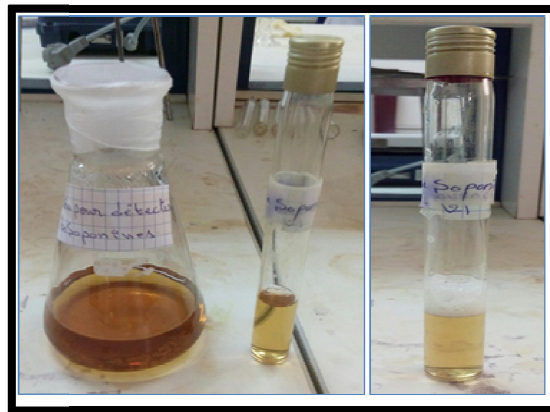


Figure 41 : Identification des saponins.

Résultats et discussions

IV- Résultats et discussions :

IV-1-Le rendement des extraits :

L'opération de l'extraction du matériel végétal de *Rosmarinus Officinalis* à l'aide de Ether de pétrole ,d'acétate d'éthyle et méthanol permis d'obtenir des résidus secs des extraits brutes de 12.92g pour l'extrait d'éther de pétrole, 19.41g pour l'extrait d'acétate d'éthyle et 7.00 g de l'extrait Méthanolique. Le calcul des rendements en fonction du matériel végétal sec a montré que l'extrait d'éther de pétrole de *Rosmarinus Officinalis* représente un rendement de 82%. Il est difficile de comparer ces résultats avec ceux de la bibliographie de manière générale puisqu'il dépend de la méthode et des conditions dans lesquelles l'extraction a été effectuée (Tableau 3).

Le Tableau 3: Le rendement des extraits.

| La Plante | <i>Rosmarinus Officinalis</i> L |
|---|---------------------------------|
| Le poids du matériel végétal en (g) | 100g |
| Le poids de l'extrait d'éther de pétrole en (g) | 12.92g |
| Le poids de l'extrait d'acétate d'éthyle en (g) | 19.41g |
| Le poids de l'extrait Méthanolique en (g) | 7.00g |
| Le rendement de l'extrait d'éther de pétrole en (%) | 82% |
| Le rendement de l'extrait d'acétate d'éthyle en (%) | 73.1% |
| Le rendement de l'extrait Méthanolique en (%) | 20.8% |

IV-2-Détermination du rendement en huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L :

Le rendement en huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* L est donne par la relation suivante :

Le Poids d'huile essentielle = [le poids de ballon vide + d'huile essentielle]- [le poids de ballon vide].

- Le poids d'huile essentielle = 0,82(g).
- $R = \frac{0.82}{100} \times 100 = 0,82\%$.

IV-3-Screening phytochimiques :

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par des réactions qualitatives de caractérisation.

Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifiques à chaque famille de composés.

Les tests phytochimiques réalisés sur la plante *Rosmarinus Officinalis-L* révèlent la présence de différentes familles de composés dont les résultats sont présentés dans le (Tableau 4).

Tableau 4: Analyse phytochimique préliminaires d'*Rosmarinus Officinalis L.*

| Composé | Plante | Observation |
|-------------------------|--------|---|
| Les huiles essentielles | +++ | Odeur et couleur Jaune |
| Les alcaloïdes | +++ | Précipité marron et couleur Blan-Jaunâtre |
| Polyphénols | +++ | Précipité Noir-Vert intense |
| Flavonoïdes | -- | Couleur Jaune Clair |
| Tanins | ++ | Couleur vert-daté |
| Saponines | ++ | Mousse et Couleur rouge |

Remarque :

La détection des flavonoïdes de notre plante donne un résultat négatif, à cause de l'absence des produits chimiques qui sont importants pour ce test.

D'après la comparaison avec la thèse de « Benbott Mourad et Bouali Youcef¹ », on a trouvé que la plante Romarin contient les flavonoïdes.

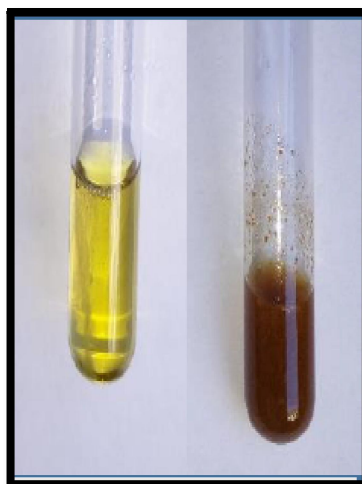


Figure 42: Résultats du test des flavonoïdes de thèse « Benbott Mourad et Bouali Youcef »

¹M. Benbott, Y. Bouali, Etude des activités biologiques de *Rosmarinus officinalis-L* des régions Ouargla et Ain M'Lila, université l'arbi ben mhidi-Oum el Bouaghi, **2018**, p50.

Les résultats sont interprétés comme suit :

- Le signe (+) : présence des traces de principe actif.
- Le signe (++) : présence d'une qualité appréciative de principe actif.
- Le signe (+++) : plante riche en principe actif.

L'étude phytochimique de la plante *Rosmarinus Officinalis* a montré que cette plante est riche de plusieurs composés particulièrement: les polyphénols, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les huiles essentielles, les sucres réducteurs. Cependant, on marque l'absence des autres principes testés. La richesse de l'extrait en composés chimiques actifs pourrait expliquer son utilisation en médecine traditionnelle.

IV-3- 1-L'analyse des chromatogrammes des extraits obtenus :

Le développement de la méthode pour la chromatographie sur couche mince commence non seulement par le choix de la phase mobile de séparation mais le choix aussi de la phase stationnaire, la technique de la chromatographie sur couche mince CCM permis d'avoir les empreintes Poly phénoliques dans les extraits de la plante *Rosmarinus Officinalis*. Notre CCM a été réalisée en utilisant le système solvant suivant: Acétate d'éthyle/méthanol. Les chromatogrammes résultants comportent une série de spots sous UV à 254 nm et 365nm. On a trois extraits qu'on réalise en CCM, les résultats sont récapitulés dans (les tableaux 5-6)

Tableau 5: Résultats des plaques CCM des extraits EP et AcOET dans UV.

| | E EP | | | E AcOET | | | |
|---------------------|-----------------|-----------------|-------------|-----------------|-----------------|-------------|-------------|
| | 5% | 10% | 20% | 5% | 10% | 20% | 30% |
| $\lambda=254$ nm | Aucune Tache | Aucune Tache | 2 Tache | Aucune Tache | Aucune Tache | 2 Taches | 2 Taches |
| $\lambda=365$ nm | 4 Taches | 3 Taches | 2 Taches | 3 Taches | 2 Taches | 2 Taches | 3 Taches |

Tableau 6: Résultats des plaques CCM d'extrait MeOH.

| | E MeOH | | | | |
|---------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | 5% | 10% | 20% | 30% | 40% |
| $\lambda=254$ nm | 4 Taches | 2 Taches | 3 Taches | 4 Taches | 4 Taches |
| $\lambda=365$ nm | 4 Taches | 3 Taches | 3 Taches | 4 Taches | 4 Taches |

- L'analyse des CCM de l'extrait d'éther de pétrole, Acétate d'éthyle et MeOH prouvent leur richesse en stérols connus par leurs taches violette avec les acides grâs.
- La chromatographie des trois extraits montre bien la présence des graisses caractérisés par leur révélation en couleur orange.
- La chromatographie de l'extrait MeOH révèle la présence des composés polaires de types flavonoïdes glycosylés, flavones (violet), l'acide phénol (Bleu), saponines (rouge), les glycosides (rose), isoflavones (blanc), alcaloïdes (jaune) détectés par l'apparition des taches visibles au UV et se révèlent par les acides (Acétique/sulfurique).



Figure 43: photo de chromatographie résultant de l'analyse de l'extrait MeOH avec révélation à l'UV.

- La chromatographie sur couche mince d'huile essentielle a donné une bonne séparation des molécules dans le système (Ether de pétrole /Acétate d'éthyle).
- Dans la plaque CCM du système (Ether de pétrole /Acétate d'éthyle), on observe quatre spots pour l'huile essentielle extraite par l'hydro distillation.

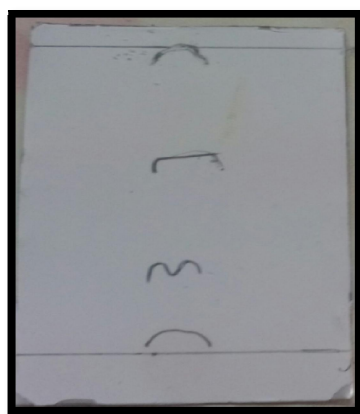


Figure 45: CCM d'huile essentielle après l'hydro distillation.

La richesse de cette plante en métabolites secondaires nous a incités à explorer biologiquement leurs extraits.

IV-4- Etude comparative du rendement :

La comparaison des résultats du rendement des extraits obtenus par les méthodes d'extraction de la plante *Rosmarinus officinalis-L* entre la région d'Ouargla et la région de Biskra, (tableau ...), montre qu'il y a un écart entre ces deux régions peut-être due à la conception de la plante elle-même ou au mode d'opérateur ou aussi aux quantités de solvant.

Tableau 7: résultats du rendement.

| | Ouargla | Biskra |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--|
| Extraction par macération | (50 g/500 ml MeOH) 18.20% | (50 g/225 ml MeOH) 2,08% |
| Extraction par hydro distillation | (50g/500ml H2O) 15.28% | distillation (50g/225ml H2O) 0,62% |

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Notre étude a été basée sur différents type d'extraction et l'analyse phytochimique de l'huile essentielle de la plante *Rosmarinus Officinalis-L*.

Commençant par l'extraction, nous avons utilisés deux méthodes d'extractions : macération et hydro distillation.

- La méthode de macération on a utilisé la plante sous forme d'une poudre et trois solvants de polarité différentes, après l'extraction on a obtenu comme résultat des extraits de différentes polarité de l'huile essentielle de Romarin.
- La méthode d'hydro distillation on a utilisé la plante en poudre avec l'eau distillé, après l'extraction on a obtenu comme résultat l'huile essentielle de Romarin.

Les résultats obtenus lors d'extraction hydro distillation et macération montrent que le rendement d'extrait aqueux et de l'huile essentielle de la plante *Rosmarinus officinalis-L* est respectivement de l'ordre 0,82 % et 0,62%.

La phytochimie basée sur des techniques de détection utilisables permet d'identifier la présence de composés des métabolites secondaires et le degré de sa présence dans le tissu végétal, pour un screening des substances actives doivent être rapides, simples, reproductibles.

Le criblage phytochimique effectué sur les extraits et les différentes fractions de la plantes *Rosmarinus officinalis-L* au moyen d'une méthode physique de séparation (CCM) basée sur la différence d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe et l'autre mobile.

Cette technique montre que tous les extraits donnent des spots différents avec les différents révélateurs et les différents systèmes d'élution utilisés, confirmant la présence d'une multitude de variétés de composés phénoliques, flavonols ou autres sous UV à 365 et 254 nm.

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques réalisés sur le matériel végétal broyé détermine que la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis-L* de la région de Biskra est très riche en métabolites secondaires, où nous avons confirmé la présence des huiles essentielle, des saponines, des poly phénols, des alcaloïdes.

Références Bibliographique

Références bibliographiques

- A. Beloid, Plantes médicinales D'Algérie, Office des publications universitaire 1, place centrale de Ben-Aknoun (Alger), **2001**.
- A. Chevallier, Larousse, Encyclopedia of Medicinal Plants, 2 nd Edition, **2001**.
- A. Djoghlaf, PW. Jackson, Convention sur la diversité biologique: Rapport sur la conservation des plantes, **2009**.
- A. El Haib, Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques, l'Université de Toulouse, **2011**.
- A. Gurib-Fakim, **2006**, Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow, Molecular Aspects of Medicine 27, **2006**.
- A. Haddouche, L. Kirad, Extraction des huiles essentielles de deux espèces aromatiques Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) et le Romarin (*Rosmarinus Officinalis*-L.) et leurs activités insecticides contre le puceron vert de certains arbres fruitiers, Université Kmiss-Melyana, **2018**.
- A. Makhloufi, 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, l'université Aboubaker Belkaid, **2010**.
- Anonym. II, Small field, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes, Crop and Food Research. Number 45, **2001**.
- C. Bekhechi, F. Atik-Bekkara, D.E. Abdelouahi Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'origanum glandulosom d'Algérie – Phytothérapie, Vol 6, **2008**.
- C. Escriva, Les huiles essentielles corses, les plantes aromatiques distillées en Corse et leurs propriétés thérapeutiques, Bruxelles, Amyris, Ed, **2012**.
- C. Julie, *la belle histoire de bergamote*, Magasine steps, **1998**.
- C. Zoubeidi, Etude des antioxydants dans le Rosmarinus officinalis. Labiatea, université d'Ouargla, **2004**.
- Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis et de Ruta graveolens sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes. Université M'HAMED BOUGARA de Boumerdes.
- E. Gildemeister, Fr. Hoffmann, Les huiles essentielles, 2ème Edition, **1912**.

- E. Lucchesim, Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-Ondes: Conception et Application à l'Extraction des Huiles Essentielles, Université d'analyse nouveau, **2005**.
- Encyclopedia of Medicinal Plants Copyright ©, Dorling Kindersley Limited, Londres, Text copyright Andrew, Chevallier, 2nd Edition, **1996-2001**.
- F. Bakkali, Averbeck S, Averbeck D et Idaomar M, Biological effects of essential oils .A review. *Food and Chemical Toxicology*, 462, **2008**.
- F. Mecheri, Mlle N. Akdif, Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes, université m'hamed bougara de boumerde, **2017**.
- Franchomme et Penoel., Aromatherapy for health professionals Hormonal *essential oils* A few *essential oils* which are hormonal but not neurotoxic .journal of essential oil research.vol 13, **1990**.
- G. Deysson, *Organisation et classification des plantes vasculaires, Tomes II, (en deux parties), Soc, d'édi et d'En, Sup, Paris, 1979*.
- H. Baara, R. Nessah, étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de l'extrait méthanolique de la plante médicinale *Thapsia garganica*, université Abbes laghrour, Khanchela, **2016**.
- I. CHFAI AL, A. BOUKIL, MO. BACHER, DRISS I ET GUERMAL A, Projet PAM : intégration de la biodiversité dans les chaines de valeurs des plantes aromatiques et médicinales méditerranéennes au Maroc, **2014**.
- I.F. Benzie et Strain J.J, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay, *Analytical Biochemistry*, 239, **1996**.
- J. Boutaleb, synthèse des résultats de recherche sur l'utilisation de quelque biopesticides d'origine végétale sur les cultures d'importance économique au Maroc, roceedings su septième congréz de l'assocaition marocaine de protection des plantes, Rabat, Maroc, Vol 2, **2010**.
- J. Brineton, Pharmacognosie, phytocimie- plante médicinale, 2ème édition, **1992**.
- J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinale, 2eme édition. Édition Tec et Doc, Paris, France, **1993**.
- J. Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, revue etaugmentée, Paris France: TTec 1 Doc, Editions médicinales internationales, 4ème ed, **2009**.
- J. Bruneton, Pharmacognosie. Phytochemie des plantes médicinales.Technique et documentation.Lavoisier(France), 2ème édition, **1999**.

- J. SARDANS, F. RODA, J. PEUELAS, Effects of water and a nutrient pulse supply, **2005**.
- J.G. Fouché, Marquet A et Hambuckers, Les plantes médicinales de la plante au médicament: Conception et réalisation, **2008**.
- K. Hostettmann, Tout savoir sur le pouvoir des plantes, Ed, Favre. S.A. Lausanne, Suisse, **1997**.
- K. Keville, M. Green, Aromatherapy A complete guide to healing art, Ed 1, the crossing press, p120-140, la reunion.
- K. Rhayour, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles, Université Sidi Mohamed Ben Abdelleh Fés, Maroc, **2002**.
- L. Bermness, Larousse, Plantes Aromatiques et Médicinales, **2005**.
- L. Bremness, Les plantes aromatiques et médicinales, collection l'œil nature, édition Bordas, Paris, **1996**.
- L. R. Hernandez-Ochoa, Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combinaison D'origine végétale, de l'Institut National Polytechnique de Toulouse France, **2005**.
- M. Benbott, Y. Bouali, Etude des activités biologiques de Rosmarinus Officinalis-L des régions Ouargla et Ain M'Lila, université l'arbi ben mhidi-Oum el Bouaghi, **2018**.
- M. Nabiev., **2006** *Extraction et analyse de l'huile essentielle de Romarin et formulation d'une pommade antirhumatismale*. II eme Symposium International sur les Plantes Aromatique et Médicinales, Marrakech, (11)123.
- M. Sebai, M. Boudali, **2012**, A. Chevallier, **2001**.
- M. Sebai, M. Boudali, La Phytothérapie entre la confiance et méfiance, Institut de formation paramédical CHETTIA, **2012**.
- M.C. Martini, Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie, Edition Lavoisier, **2011**.
- M.M. Cowan, Plant Products as Antimicrobial Agents, Clinicalbiology Reviews, Creek Rush Growers Catalog, **1999;2010**.
- Mathonnet P.Y, Romarin bio Produire du romarin en AB, référent technique régional en PPAM bio Chambre d'Agriculture de la Drôme, **2012**.
- Melle Nour Elhouda Yamna. Adjimi, ETUDE physico-chimique de l'huile extraite du Rosmarinus Offinalis-L, Mémoire de, UNIVERSITIE –ZIANE ACHOUR-DJELFA, **2014**.

- Mostafa S, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis-L*, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**.
- N. BOUSBIA, Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, **2011**.
- N. Bousbia, Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires, université D'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique, **2011**.
- P. Mengel, D. Beh, G.M. Bellido, B. Monpon, VHMD: extraction d'huile essentielle par micro-onde, Parfums Cosmétique Aromes, **1993**.
- Pierre de Larochepequet, La Nature au service de la vie, les essences végétales naturelles, Paris, 2ème édition, **1999**.
- Pinchuk I, Shoal H, Dotan Yet Lichtenberg D, Evaluation of antioxidants: Scope, limitations and relevance of assays. Chemistry and Physics of Lipids, 165, 2012.
- RS Farag et al, Activity antioxidant of Spice essentiel oils, JAOCS, n°6, vol66, **1989**.
- S. Babulka, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis-L*, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**.
- S. Gahbich, La Phytothérapie, Ecole Supérieur des Sciences et Techniques de la Santé de Sousse, **2009**.
- S. Kateb, La détermination des propriétés thermodynamiques d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis-L*, Université Djilali Bounaama – Khemis miliana, **2015**.
- Sedjelmassi, Les plantes médicinales du Maroc, Najah et El Djadida Casa, **1993**.
- T. GUINOCHE, Phytosociologie, Ed, Masson, France, **1973**.
- Thèse de boukhalfa, Apport des Couplages CPG/MS et CPG/IR dans l'Analyse des Mélanges Naturels Complexes, exemple l'Huile Essentiel de Romarin, USTHB, **1995**.
- Y. Helal, Etude et biomasse du Romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) dans le Massif des Béni-Imloul-Aures-Algerie, université de la foresterie Sofia, **2010**.

Résumé

Dans le cadre de la recherche phytochimique et biologique des plantes naturels, notre étude a été effectuée sur une plante médicinale de sud d'Algérie, *Rosmarinus Officinalis* L appartenant à la famille des Lamiacées ou (labiée) Cela dans le but de réaliser une étude chimique et biologique. Les extraits organiques ont été obtenus par macération en utilisant trois solvants: Ether de pétrole, Acétate d'éthyle et méthanol. Les rendements respectifs sont : 0,82 %, 7,310% et 2,80%.

Le screening phytochimique sur la plante a montré que cette plante contient: des tanins, des alcaloïdes, des polyphénols, des saponins des composés réducteurs, aussi et des huiles essentielles. Ces résultats ont été confirmés par des chromatogrammes réalisés sur les différents extraits obtenus (Extrait d'éther de pétrole, extrait d'Acétate d'éthyle et extrait Méthanolique). L'extraction d'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* à été effectuée par hydro distillation ; le rendement obtenu de la plante est 2.08 %. L'analyse par chromatographie planaire CCM a révélé la présence de quartes composés majoritaire. Les alcaloïdes; des tanins; les polyphénols et les huiles essentielles).

Mots clés: Lamiacées, *Rosmarinus Officinalis*.L, screening phytochimique, huile essentielle, CCM.

ملخص

في سياق البحوث الكيميائية والبيولوجية للنباتات الطبيعية ، أجريت دراستنا على نبتة من جنوب الجزائر إكليل الجبل (*Rosmarinus Officinalis*-L) التي تنتمي إلى عائلة Lamiacées أو (labiate) وذلك من أجل إجراء الدراسة الكيميائية والبيولوجية. تم الحصول على المستخلصات العضوية عن طريق النقع باستخدام ثلاثة مذيبات: إثير البترول، خلات الإيثيل والميثانول. فكانت نتائج المردود : 0.82 % ، 7.310 % و 2.80 % على الترتيب.

أظهر الفحص الكيميائي للنبتة أنها تحتوي على مختلف العناصر الكيميائية، وكذلك الزيوت الأساسية. تم تأكيد هذه النتائج من خلال تحليل كروماتوغرافيا على المستخلصات المختلفة التي تم الحصول عليها (مستخلص الأثير النفطي، مستخلص إيثيل الأسيتات والمستخلص الميثانولي). تم استخراج الزيت الأساسي لنبتة *Rosmarinus officinalis* بواسطة تقنية التقطير المائي فكانت قيمة المردود 2.08%. وكشف تحليل الكروماتوغرافيا عن وجود اربع عناصر كيميائية سائدة قلويدات. العفص. البولي فينول والزيوت الأساسية).

الكلمات المفتاحية: Lamiacées ، *Rosmarinus Officinalis*.L ، الفحص الكيميائي النباتي، الزيوت الأساسية، الكروماتوغرافيا.

Abstract

In the context of phytochemical and biological research of natural plants, our study was carried out on a medicinal plant of southern Algeria, *Rosmarinus Officinalis*-L belonging to the family of Lamiaceae or (labiate) That in order to carry out a chemical study and biological. The organic extracts were obtained by maceration using three solvents: petroleum ether, ethyl acetate and methanol. The respective yields are: 0.82%, 7.310% and 2.80%.

Phytochemical screening on the plant has shown that this plant contains: tannins, alkaloids, polyphenols, saponins, reducing compounds and also essential oils. These results were confirmed by chromatograms performed on the various extracts obtained (petroleum ether extract, ethyl acetate extract and methanolic extract). The extraction of *Rosmarinus officinalis* essential oil was carried out by hydro-distillation; the yield obtained from the plant is 2.08%. TLC planar chromatography analysis revealed the presence of quartets compounds prevails: Alkaloids; tannins; polyphenols and essential oils(

Key words: Lamiaceae, *Rosmarinus Officinalis*-L, phytochemical screening, essential oil, TLC.