

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ - ZIANE ACHOUR - DJELFA
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département des Sciences De la Matière
Filière : Chimie Académique



Mémoire de fin d'étude

Pour L'obtention Du Diplôme De Master En Chimie

Option : Chimie Organique

Thème

Etude Physico-chimique De L'huile Extraite Du Rosmarinus Officinalis . L

Présentée par :

Melle Adjimi Nour Elhouda Yamna

Soutenue le: 09/10/2014

Devant le jury :

Président :	Mr Dardour maamar	l'université de Djelfa
Examineur :	Mr Rahmani Salaheddine	l'université de Djelfa
Co- encadreur :	Mme Machrouh Fatima	l'université de Djelfa
Encadreur :	Mr Bacha Abdelkader	l'université de Djelfa

Promotion 2013-2014



Remerciements

Avant tout je remercie Dieu « ALLAH » le tout puissant

De nous avoir accordé la force,

Le courage et la patience pour terminer ce travail

Je remercie mon encadreur de son

grand aide durant La réalisation de mon travail,

il est orienté nous vers

Le succès avec ses connaissances et partageants des idées

Et Aussi l'encouragement tout on long de notre épreuve,

Comme il a été présent à tout moment

*Qu'on a besoin de lui: **Dr Bacha Abdelkader.***

Et Mme Machrouh (Co- encadreur).

Je remercie les membres de jury, chacun a son nom,

D'accepter de juger mon travail.



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail:
Aux deux être le plus chers au monde,
Qui Ont souffert nuit et jour pour nous
Couvrir de leur amour, mes parents.*

*A la mémoire de mon cher père;
A ma source de bonheur, la prunelle
de mes yeux, qui m'ont encouragée durant
toutes Les années d'études,
En premier lieu ma mère avec
Sa grande tendresse.*

*Je dédie aussi ce modeste travail :
A mes très chers frères et mes sœurs,
Notamment : MUSTAFA MILOUD, AZIZ, OMAR,
BAHIA, DJAMILA*

*A Mon fiancé : AMAR pour son soutien
Et ses concours Durant cette année
De fin d'étude,*

*A ma chère amie SABEK REKIA,
Ainsi que pour toute mon famille et
toutes mes amies.*

Nour elhouda



Tableau de matière

<i>Remerciements</i>	I
Dédicace.....	II
Liste des figures... ..	III
Liste des tableaux.....	IV
Liste des abréviations.....	V
<i>I. Introduction générale</i>	01
CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	03
<i>Partie 01 : Présentation de l'espèce étudiée</i>	04
1.1 Le romarin dans l'histoire	05
1.2 Le romarin et les croyances.....	05
1.3 Définition de <i>Rosmarinus Officinalis</i> .L.....	06
1.4 Origine et Récolte de la Plante	09
1.5 Habitat et description	10
1.6 Caractéristiques botaniques	10
1.7 Variétés	10
1.8 Propriétés générales du <i>Romarin</i>	11
1.9 Principaux constituants de la plante de romarin.....	12
1.10 Domaine d'Utilisation de la Plante de romarin.....	13
<i>Partie 02 : Composition chimique de l'espèce</i>	15
1.11 Composition chimique du romarin.....	15
1.12 Les compositions phénoliques (poly phénols).....	15
1.13 Les flavonoïdes	15
1.14 Les Terpènes.....	17
1.15 Les Tannins.....	18
1.16 Huiles essentielles	19
Conclusion	24
CHAPITRE II: METHODES ET ANALYSES	25
II.1 Introduction.....	26
II.2 Première partie : Méthodes.....	26
II.2.1 Récolte et séchage de matériel végétal	26
II.2.2 Extraction d'huile essentielle par solvants.....	26
II.2.3 Extraction par hydro distillation.....	27

II.2.4 Extraction à reflux	28
II.2.5 Plan d'expérimentale.....	31
II.2.6 Plan d'extraction.....	32
II.2.7 Tests chimiques sur la poudre de romarin.....	33
II.3 Préparation des solutions à base de feuilles de Romarin.....	36
II.4 Deuxième partie : Analyses.....	42
II.4.1 Purification et Identification.....	42
II.4.2 Chromatographie à phase gazeuse et spectre de masse.....	42
II.4.3 Spectre RMN ¹H.....	44
II.5 Conclusion.....	46
CHAPITRE III : ETUDE THERMODYNAMIQUE.....	47
III.1 Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle.....	48
III.2 Préparation d'une solution cosmétique.....	50
III.3 Application de la crème	54
III.3.1 l'efficacité de la crème.....	54
III.3.2 Conseil d'application	55
III.4 Conclusion.....	56
IV. Conclusion Générale.....	58
V. Références Bibliographiques	
VI. Résumé	

Liste des figures

Fig.1. Photos de Rosmarinus Officinalis .L.....	06
Fig.2. Tige principale et rameau feuillé à fleurs du romarin.....	07
Fig.3. Photo des fleurs du romarin.....	10
Fig.4. Structure de base des flavonoïdes.....	16
Fig.5. Structures des différentes classes de flavonoïdes.....	16
Fig.6 . La molécule d'isoprène.....	17
Fig.7 Structures des différentes classes de Terpènes.....	17
Fig.8. Structure chimique des tanins condensés.....	19
Fig.9. Les étapes d'extraction d'huile essentielle.....	32
Fig.10. Protocole du dosage des polyphénols	38
Fig.11. Courbe d'étalonnage pour le dosage phénolique.....	39
Fig.12. structure d'Anthocyane.....	40
Fig.13. Protocole du dosage des.....	41
Fig.14. Chromatogramme de l'extrait du romarin.....	42
Fig.15. spectre de masse du produit Romanol.....	43
Fig.16. spectre RMN ¹ H du produit Rosmanol.....	44
Fig.17. Structure chimique du Rosmanol.....	46

Liste des photos

Photos 1: Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle...	27
Photos 2 : le mélange avant la filtration.....	28
Photos 3: le filtrat obtenu de l'eau distillé	28
Photos 4 : l'extraction de romarin avec l'alcool primaire à reflux	29
Photos 5 et 6: l'extraction de romarin avec l'alcool secondaire à reflux.	30
Photo 7 : les tannins de couleur verte foncée.....	33
Photo 8 : la présence des flavonoïdes	34
Photo 9 : la présence des Terpènes.....	35
Photos 10: Tests chimiques sur la poudre de Rosmarinus Officinalis L	36
Photos 11: la valeur du produit donnée par le pH mètre	48
Photos12 : la décantation.....	51
Photos 13 : séchage à l'air libre de la partie végétale	51
Photos 14 : matériels utilisés	52
Photos15: remuer le lait avec une quantité d'huile du romarin.....	53
photos16: partie végétale avec la solution (lait + d'huile du romarin)	53
Photos.17: le mélange dans l'eau froide.....	54

Liste des tableaux

Tableau.1. classification botanique (systématique) de romarin	8
Tableau.2. Variations de la composition chimique de l'H E	21
Tableau.3 Densités optiques des différentes concentrations de l'acide gallique	36
Tableau.4. : Tableau les déplacements chimiques	43

Liste Des Abréviations

°C	degré Celsius
CC	chromatographie sur colonne
CCM	chromatographie sur couche mince
cm	centimètre
d	doublet
dd	doublet de doublet
ddd	doublet de doublet de doublet
dddd	doublet de doublet de doublet de doublet
D-O	Densité optique
g	gramme
g/l	gramme /litre
h	heure
H E	Huile essentielle
kJ/kg	kilo Joule / kilo gramme
m/z	masse/charge électrique
mg	milligramme
M	Masse molaire
MHz	megahertz
Mul	Multiplet
min	minute
ml	millilitre
nm	nanomètre
p	pentaruplet
PH	Potentiel Hydrogène
PCI	pouvoir calorifique inférieur

PE	point éclair
ppm	partie par million
q	quadruplet
R_{HE}	Rendement des huiles essentielles
R_{eau}	Rendement de l'extrait de l'eau
R_{alcool}	Rendement de l'extrait d'alcool
RMN ¹H	résonance magnétique nucléaire du proton
S	singulet
SM	spectrométrie de masse
TMS	tétraméthylsilane
Tr	temps de rétention
Tri	triplet
UV	ultra-violet
µm	micromètre



Introduction

Générale

Introduction générale

L'utilisation des plantes est une méthode nécessaire, aussi bien dans le domaine de l'agroalimentaire que celui de la médecine ou le cosmétique. Les anciens savaient bien que ces herbes n'ont pas été créées pour faire bien à la nature, mais pour des solutions plus complexes liées à l'environnement **Le Prophète r dit** : « *Chaque fois qu'un musulman plante un arbre ou sème une graine, il aura à son actif comme aumône tout ce qui aura été mangé du produit de cette plante par un oiseau, un homme ou un quadrupède.* » **Al-Bukhârî (2/817), hadith n°2195.1**

Il y aura bientôt trente ans que l'OMS a reconnu l'importance de la médecine traditionnelle [1] et proposait son intégration dans les systèmes officiels de santé, particulièrement dans les pays en développement.

En effet, l'utilisation des plantes médicinales, ou phytothérapie, fait partie de ces méthodes Thérapeutiques qui peuvent trouver toute leur place à côté de la médecine moderne. Plusieurs plantes sont utilisées en médecine (digitale, belladone, pavot, etc.). Mais ce qui est important de savoir c'est que les données pharmacologiques de bon niveau de preuves pour tenter d'expliquer les propriétés de ces plantes sont rares voire inexistantes pour la plupart d'entre elles. De plus, leur innocuité n'est pas établie.

Tout ce qui est naturel n'est pas forcément bon pour la santé : des plantes sont contre indiquées dans certains états physiologiques (femme enceinte ou allaitante, fenugrec notamment) ou incompatibles avec certains médicaments (coumarines et anticoagulants par exemple). D'autres utilisées à mauvais escient peuvent entraîner divers dysfonctionnements. Certaines plantes médicinales constituent pour la plupart un danger pour la santé si elles sont prises en quantité. Cette notion de dose est souvent à l'origine d'intoxications alors que la plante elle-même, n'est souvent pas toxique

Introduction générale

Là se pose les questions auxquelles notre pharmacopée traditionnelle fait défaut encore : la partie du végétal à utiliser, la dose recommandée, l'indication, le mode de préparation (infusion, décoction, macération, ...etc.) de telle ou telle plante médicinale ?

Certaines plantes sont très toxiques et peuvent

mettre la vie des gens en danger (aconit, ciguë, datura stramoine, digitale, etc.). D'autres plantes peuvent devenir toxiques lorsqu'il y a une consommation sur une longue période, comme la réglisse.

Deux plantes d'une même espèce qui se ressemblent peuvent être l'une toxique et l'autre pas (cas de *Nigella sativa* L. non toxique et de *Nigella damascena* L. toxique par son alcaloïde la damascénine).

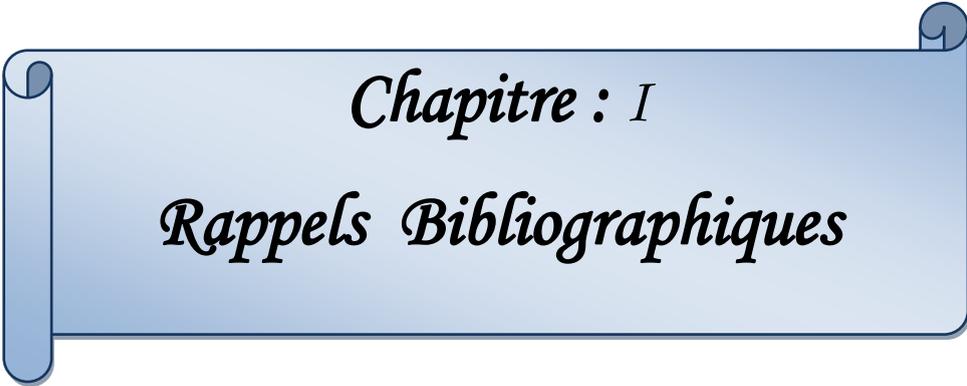
Le Romarin est une plante qui possède cette perspective, c'est l'espèce qu'on va étudier, voir ces substances et son rôle dans les maladies.

La première partie : est un rappel théorique sur la plante, on va donner une description botanique, la composition chimique des substances existantes et les mécanismes médicaux.

Dans la deuxième partie, on va décrire les techniques expérimentales conduisant à l'isolation et l'identification de l'extrait de la plante.

La troisième partie est une étude thermodynamique et traitement de phase.

En fin, on résume les résultats dans une conclusion générale.



Chapitre : I

Rappels Bibliographiques

Partie 01 : Présentation de l'espèce étudiée**I.1 Le romarin dans l'histoire**

Le romarin est connu depuis l'antiquité, c'est l'espèce la plus utilisée dans le méditerrané surtout en Algérie. Elle possède plus de 3300 espèce et environ 200 genres .

Dans la Grèce antique : Les étudiants se confectionnaient des couronnes de romarins car elles avaient la réputation d'améliorer mémoire et facultés intellectuelles.

Les Romains tressaient des couronnes de romarin dont on coiffait les mariés le jour de leurs noces. Ils en déposaient également sur leurs tombeaux –selon leur coutume- parce que cette herbe, considérée comme sacrée, devait conserver le corps par son arôme; et son feuillage persistant garantissait l'immortalité et procurait aux morts la paix éternelle .

Les Egyptiens l'utilisaient déjà pour l'embaumement, ainsi qu'en fumigation lors des cérémonies religieuses en remplacement de *l'encens* [1].

C'est Horace qui rendit le plus bel hommage à cette plante dont il disait "Si tu veux gagner l'estime des dieux porte leurs des couronnes de romarin."

Symbole de bonheur et de gaieté, on l'appelait aussi "herbe des troubadours".

I.2 Le romarin et les croyances

Durant les grandes épidémies, les gens en portaient un petit sac autour du cou pour se protéger. Les médecins le brûlaient dans la chambre du malade pour assainir l'air.

Au XVème siècle on le cultivé pour son fruit, consommé tel, ou dont on tire le vin.

Au XVIème siècle, l'huile essentielle extraite du romarin était utilisée conte la jaunisse.

Non seulement le romarin était pris pour ses propriétés médicinales, mais il était préconisé aussi pour les gens qui étaient tristes, malheureux et déprimés. Ceci leur confère le bonheur et remplace la passion par l'amour .

Selon les Anglais du Nord, un peu du romarin attire le succès et renforce la mémoire. Cette vertu fut célébrée par Shakespeare dans Hamlet quand il fait dire à Ophélie "Voici du romarin c'est pour le souvenir" (acte IV scène 5).

La reine de la Hongrie et à l'âge de soixante-douze ans le buvait dans l'eau, elle trouvait vigueur et beauté. A cet âge, avait des demandes au mariage. Au point que le Roi de Pologne l'aurait demandé en épousailles ! [2a,b].

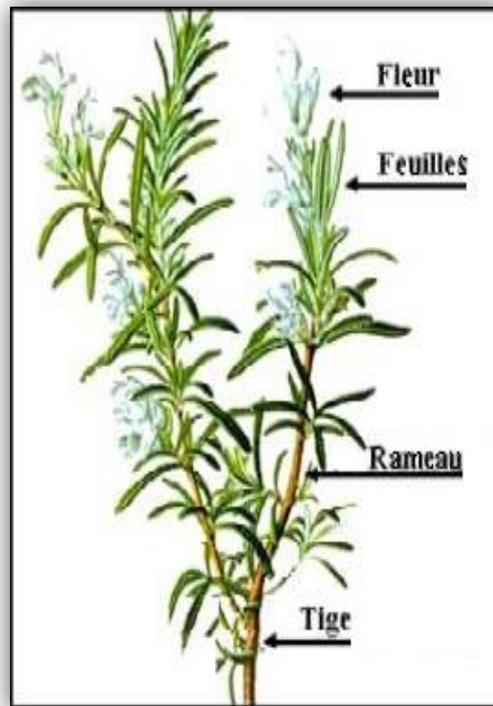


Figure 1 : Photos de *Rosmarinus Officinalis* .L

I.3 Définition de *Rosmarinus Officinalis* .L

Le *Rosmarinus* en Latin signifié la rosée marine, ce qui fait référence à la fois à la présence du romarin sur les côtes et les îles de la méditerranée et à diverses légendes liées à cette plante [3,4,5]. Le *romarin* est un arbrisseau dont la tige pouvant atteindre deux mètres, est couverte d'une écorce grisâtre. Elle se divise en nombreux rameaux opposés, tortueux (**figure 2**)

Les fleurs sont bleues pâles à bleues violacées, hermaphrodites, visibles de janvier en mai. Elles sont groupées à l'extrémité des rameaux, à la base des feuilles (**figure 1**). Les feuilles opposées décussées insérées sur une tige à section carrée, étroites, lancéolées, linéaires, à bords roulés en dessous, sont vertes foncé et luisantes à la face supérieure (**figure2**). Le fruit, ovoïde, est entouré par un calice persistant, sec est constitué de quatre akènes (tetrakène). Il attire les insectes (entomophiles) pour assurer la pollinisation (entomogame) [3, 5,6].



**Figure 2 : Tige principale et rameau
Feuillé à fleurs du romarin**

I.3.1 Classification botanique (systématique)

Règne	Végétal
Sous règne	Cormophytes
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamétophytes
Série	superovariées tétra cyclique
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae (Labiées)
Tribu	Ajugoidées
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.

Tableau 1 : classification botanique (systématique) de *romarin*.

a- Origine du nom (le nom scientifique)

Le mot *romarin* (*Rosmarinus*) dérive du latin «Ros» : rosée et «Marinus» : marin ou de marin.

b- Noms vernaculaires

Iklil Al Jabal ,Klil, Hatssa louban, Hassalban, Lazir ,AzÎir, Ouzbir ,Aklel, Touzala [7].

I.3.2 Etymologie

Le nom latin *rosmarinus* est habituellement interprété, comme dérivé "*ros*" de la rosée et "*marinus*" d'appartenir à la mer, bien qu'elle se développe habituellement loin de la mer.

On a affirmé que cette interprétation est un produit d'étymologie traditionnelle, mais probablement le nom original est dérivé du grec "*rhops*" arbuste et "*myron*" baume [8,9].

I.4 Origine et Récolte de la Plante

1.4.1 Aire géographique

Le *Romarin* spontané qui pousse sur les côtes méditerranéennes, et le sud-ouest de l'Asie, est souvent cultivé dans les jardins comme clôture. Le *Romarin* affectionne particulièrement les terrains calcaires. C'est pourquoi on le trouve essentiellement dans les garrigues maquis non- loin de la mer. En Algérie, le *Romarin* est l'une des sept espèces végétales excédant 50.000 hectares sur le territoire national [10].

Appellations régionales en Algérie : En plus souvent

Région de l'Est : Eklil

Région de l'Ouest : Helhal

Région du Centre : Yazir

1.4.2 Récolte de la plante

La récolte du *Romarin* en fleurs est possible pendant presque toute l'année, mais on la pratique avec plus de profit de mai à juillet ou septembre en temps chaud et sec [11,12].

1.5 Habitat et description

Originaires des régions méditerranéennes, le *Romarin* pousse spontanément dans le Sud de l'Europe.

On le cultive dans le monde entier à partir de semis ou de boutures au printemps. Il apprécie les climats chauds, modérément secs, les branches récoltées pendant l'été sont séchées à l'air et à l'ombre .



Figure 3: Photo des feuilles, et des fleurs du *romarin*.

1.6 Caractéristiques botaniques

Cette plante appartient à la famille des *Labiées*. Elle se présente sous forme d'arbuste, sous arbrisseau ou herbacée [13], mesurant environ de 0.8 à 2 m de hauteur [14].

Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, friables et coriaces, les fleurs d'un bleu pâle, maculées intérieurement de violet sont disposées en courtes grappes denses épanouissent presque tout au long de l'année [15].

1.7 Variétés

Le *romarin* se présente en une seule espèce avec de très nombreux chémotypes [16] (sous espèce); C'est à dire tous liés à la nature chimique du constituant majoritaire de l'huile essentielle. [17].

1.8 Propriétés générales du *Romarin*

1.8.1 Activité antibactérienne

Les effets des extraits aqueux et méthanoliques du *Romarin*, sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase ont été étudiés par les résultats en suggérant que les extraits du *Romarin* peuvent empêcher la lésion de la carie en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus* et peuvent aussi éliminer les plaques dentaires par suppression de l'activité de la glucosyltransférase [18].

Afin de chercher de nouveaux antibiotiques et des agents antimicrobiens, une autre étude a été élaborée pour examiner les effets antimicrobiens des extraits des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologiques. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du *Romarin*, a présenté un large spectre antimicrobien la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait d'acide carnosique [19].

1.8.2 Activité antifongique

La biosynthèse de l'aflatoxine a été inhibée totalement par l'huile essentielle du *Romarin*. Selon les résultats indiqués, le potentiel de cette huile essentielle en tant que conservatif naturel a un pouvoir contre l'*Aspergillus parasiticus* [20].

En utilisant la technique standard de diffusion sur gélose, les chercheurs ont évalué l'activité biologique de 11 huiles essentielles y compris celle du *Romarin*, les résultats ont montré que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis* *Schizosaccharomycespombe*, *Saccharomycescerevisiae*, *Yarrowialypolitica*) [21].

1.8.3 Activité antivirale

L'évaluation de l'activité antivirale de l'extrait commercial du *Romarin* a indiqué qu'il y a une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à la concentration très basse. Cependant, le carnosol a montré une activité anti-HIV à une concentration modérée qui n'était pas cytotoxique [22].

1.8.4 Activité ovicide

L'huile essentielle du *Romarin* s'est avérée un agent ovicide contre trois espèces de moustique (*Anophelesstephensi*, *Aedesaegyptiet Culexquinquefasciatus*), de même. [23] ont trouvé que cette huile présente une activité répulsive contre les moustiques (*Aedesaegypti*) [24].

1.8.5 Activité anti-oxydante

L'activité anti-oxydante du *Romarin* est connue depuis environ 30 années [25]. En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le *Romarin* est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité anti-oxydante la plus élevée [26].

Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du *Romarin* comme antioxydant pour conserver les produits à base de viande [27 ; 28 ; 29], [30].

1.9 Principaux constituants de la plante de *romarin*

- Huile essentielle, dont bornéol, camphène, camphre, cinéol.
- Flavonoïdes (apigénine, diosmine).
- Tannins.
- Acides rosmarinique.
- Diterpène.
- Rosmaricine

1.10 Domaine d'Utilisation de la Plante

1.10.1 Industrie agro-alimentaire

La présence des acides poly phénoliques (rosmarinique, caféique) [31, 32] donne aux extraits végétaux de *Romarin* un pouvoir antioxydant important, ceci rend le *romarin* un conservateur des aliments et des huiles lipidiques [33].

a- Alimentation

Les pays occidentaux, utilisent l'épice du *romarin* dans les boissons alcoolisées. Les aliments cuits, viande et produits de viande, condiment et assaisonnement on utilise l'huile du *romarin* comme vinaigre.

La quantité utilisée dans les aliments industriels (casse-croûte, sauces et autres) est maximale, et d'environ 0.41% (4.098 ppm) dans les aliments cuits. N'oublions pas les quantités utilisées dans les desserts glacés, confiseries, aliments cuits, gélamines et pouding, viande et produits de viande qui est presque à 0.003 % (26.2 ppm) .

b- Alimentation diététique, Tisanes herbales

Ces espèces sont utilisés sous forme d'infusions, des poudres, extraites sec avec de l'eau pour usage interne et externe, principalement contre les douleurs d'estomac [34].

1.10.2 Industrie cosmétique et parfumerie

Au 19^{ème} siècle l'essence de *Romarin* servait à la préparation de la très célèbre eau de Cologne de la reine de Hongrie. Aujourd'hui, on trouve le *romarin* dans la composition de savonnerie, détergents, crèmes et la plupart des eaux de Cologne; le taux d'utilisation maximum est rapporté à 1% dans la dernière catégorie .

1.10.3 effets médicaux

Le *romarin* est un véritable chasseur de toxines, il détruit les radicaux libres et est antioxydant (action des flavonoïdes et des diterpènes).

La teneur en acide rosmarinique confère au *romarin* un effet anti-inflammatoire [35]. C'est un hypoglycémique, il soigne les affections oculaires [36] et est utilisé comme antiseptique, cholagogue, antispasmodique, vulnéraire et diurétique [37].

1.10.4 La thérapie

Dans le Moyen-Orient, il y a aussi un remède à base de plantes célèbre pour l'asthme. Il s'agit d'un mélange d'extrait de cumin noir, la cannelle, la camomille, du romarin, clou de girofle, la sauge, la menthe verte, le thym, et d'autres. Ce mélange est extrait pris avec du miel. Le cumin noir, le thym et le romarin sont connus pour inhiber la contraction trachéale. *Thym, romarin, menthe, camomille, clous de girofle, la cannelle* et contiennent beaucoup d'antioxydants.

Il était déjà décrit dans les grands ouvrages de médecine arabe classique [38] pour ses propriétés hépatotrope, diurétique et emménagogue qui sont dues aux présences des flavonoïdes et les acides phénoliques .

En Europe, les feuilles de *Romarin* sont utilisées dans la phytothérapie pour brûlures d'estomac et thérapie d'appui, des maladies rhumatismales; en usage externe pour les problèmes de circulation. Dans les bains de sonna, l'herbe est utilisé comme stimulant externe pour l'accroissement sanguin fourni à la peau [30], et diminuant la chute des cheveux [33].

Ces constituants, sont en relation avec la présence de nombreux acides phénoliques signalés dans beaucoup de labiées (*Lit- Vinenko, voir bugle, marrube*), et qui sont ici les acides: caféique, chlorogénique, néochlorogénique, rosmarinique, ce dernier, de saveur astringente, consistant en un depside caféique et dihydrocaféique [39].

Les diterpènes phénoliques présentant dans le *Romarin* tel que l'acide carnosique et le carnosol ont des effets d'inhibition contre des virus de HIV-1 [40] et certains cancers et d'autres entrants dans cette fraction ont un effet carcinologique [41,42].

Partie 02 : Composition chimique de l'espèce**I.11 Composition chimique du *romarin***

Les sommités fleuries renferment une essence aromatique riche en camphre, en cinéole, en alpha-pinène, en bornéol et en camphène.

Elle est riche en tanins, en flavonoïdes (apigénine, diosmine), en diterpènes tricycliques, triterpènes et en acides-phénols, dont l'**acide rosmarinique** et la rosmaricine .

I.12 Les compositions phénoliques (polyphénols)

Les composés phénoliques ou les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des plantes, largement distribués possédant plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions et comportant au moins 8000 structures connues différentes [43], allant de molécules phénoliques simples de bas poids moléculaire tels que, les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tannins. Ils font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale [44].

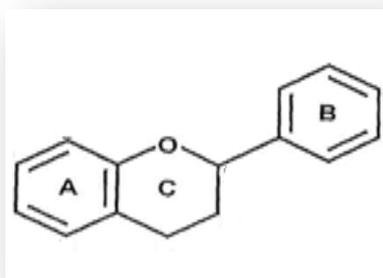
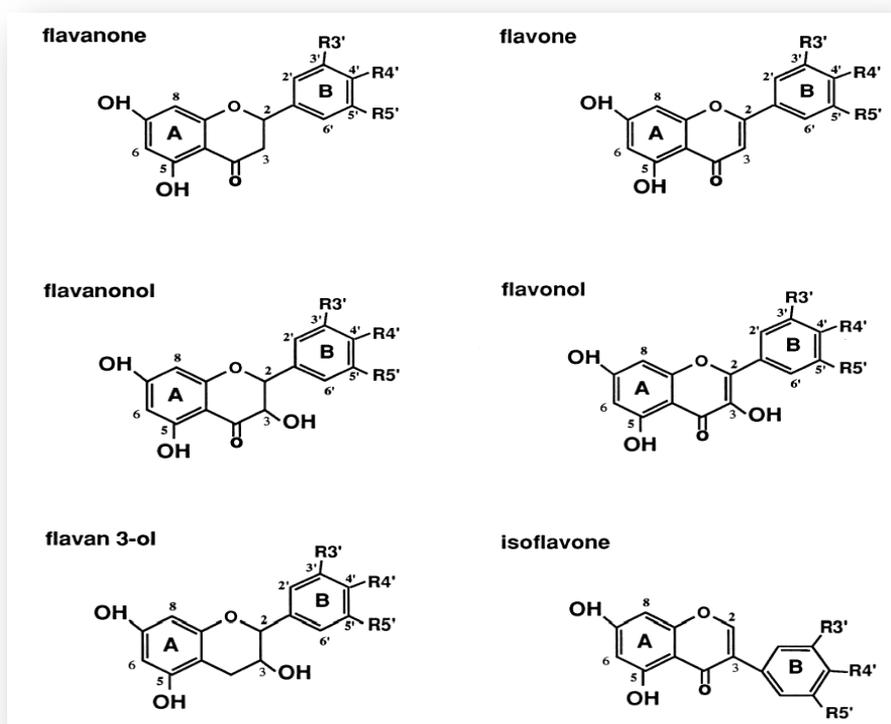
I.13 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes ont un squelette de base formé par deux cycles en C₆ (A et B) reliés entre eux par une chaîne en C₃ qui peut évoluer en un hétérocycle (cycle C) (**Figure 4**).

Ils donnent des couleurs allant du jaune clair au jaune or. Selon les détails structuraux les flavonoïdes se divisent en 6 groupes: flavones, flavonols, flavonones, isoflavones, chalcones, aurones. Ces composés existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, c'est-à-dire liée à des oses et autres substances [45].

Structure chimique :

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phényl chromone [46] à 15 atomes de carbone ($C_6-C_3-C_6$), constitué de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, Reliés par un hétérocycle oxygéné, que désigne la lettre C [47], Portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides .On signale que le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base [48].

**Figure.4.** Structure de base des flavonoïdes**Figure.5.** Structures des différentes classes de flavonoïdes [49].

I.14 Les Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte. Leur formule brute est $(C_5H_x)_n$ dont le x est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et n peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule C_5H_8 (Figure.6)

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.) [50].

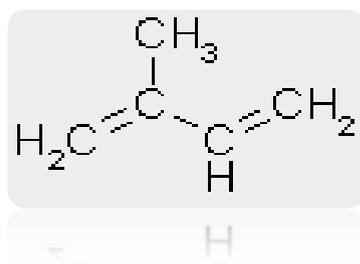


Figure 6: La molécule d'isoprène

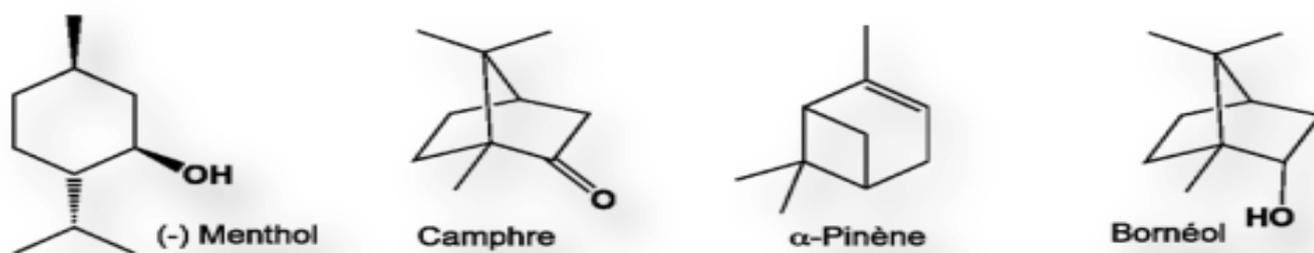


Figure 7: Structures des différentes classes de Terpènes.

I.15 Les Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones [51]. Ils ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre selon les degrés d'affinités [52,53]. On remarque les tanins condensés, appelés aussi polyphénols ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans l'alimentation humaine (fruits, légume, thé, dattes, ...).

Certains auteurs ont trouvé pour la variété Deglet- Nour que le taux est 16,66 ug/ml d'acide tannique, au stade, Tmar, cette teneur reste faible par rapport à d'autres chercheurs celle notée par [54]. (70 ug/ml d'acide tannique)

Il a été rapporté par [55]. Que les tanins jouent un rôle important dans les qualités organoleptiques et nutritionnelles des produits [55]. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique [56]. Ils ne s'hydrolysent pas sous l'action des acides minéraux dilués mais forment à l'ébullition des composés insolubles appelés phlobaphènes ou rouge de tanins [57].

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation [58]. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétriques C₂ et C₃ et par le niveau d'hydroxylation du noyau B (**figure9**). On distingue ainsi les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées).

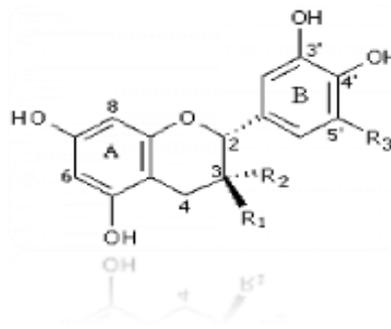


Figure. 8: Structure chimique des tanins condensés.

Dans notre alimentation, l'astringence est la qualité organoleptique qui indique la présence des tannins. Elle a un rôle important dans le choix des aliments (corrélation inverse entre les espèces végétales choisies et leur teneur en tannins) [59 ,60].

Comme les autres types de polyphénols, les tannins sont aussi répandus pour leurs nombreuses Activités thérapeutiques notamment ; anti-infectieuses [61,62], cardiovasculaires [63,64], hormonodépendantes et anticancéreuses [65, 66,67].

I.16 Huiles essentielles

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/Kg [68], Le type algérien renferme plus que [69] :

- ▶ **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 sont [70].

- Camphre (15-25 %)
- α - Pinène (19.6%)
- Bornéol libre et estérifié (10.0 %)
- 1,8 Cinéol (15-50%)
- Limonène (3.6%)

Notre recherche se repose sur l'étude de la composition structurale d'huile essentielle de *Romarin* ainsi que leur activité biologique (l'activité antimicrobienne et antioxydante), on cite [39, 70,71,72]

I.16.1 Caractéristiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles aident à traiter les petites indispositions de la vie de tous les jours. Outre leur action curative, elles opèrent de manière préventive en stimulant le système immunitaire afin que votre organisme lutte plus efficacement contre les infections bactériennes et virales. Parmi les propriétés les plus connues, on citera la propriété antiseptique. A l'heure où les germes microbiens deviennent de plus en plus résistants, ce qui implique pour l'industrie Pharmaceutique de trouver des antibiotiques de plus en plus puissants (mais aussi de plus en plus destructeurs de la flore saprophyte responsable de notre immunité), les huiles essentielles offrent une véritable alternative [73]. Leur efficacité se révèle en effet stable dans le temps et la preuve est faite tous les jours de leur grande efficacité, là où certains antibiotiques échouent désormais. [74].

I.16.2 Principaux constituants d'huiles essentielles du *romarin*

Le composé majoritaire de l'huile essentielle du *Romarin* varie d'une région à l'autre (tableau 02). On trouve le :

- 1-8 cinéole,
- le camphre,
- le pinène, le
- linalool,
- le limonène [75].

Composé majoritaire	Inscription dans les collèges locaux, 2005	Origine	Référence
α -pinène	23,1	Algérie (Tlemcen)	[14]
Camphre	14,5		
β -pinène	12,2		
α -pinène	14,9	IRAN(Tehran)	[76]
Linalool	14,9		
Pipéritone	23,7		
α -pinène	10,2	TURQUIE(Izmir)	[77]
1,8-cinéole	61,4		
α -pinène	11,4	MAROC	[78]
1,8-cinéole	50,2		
Camphre	9,1		
α -pinène	13,5	SERBIE(Vojvodina)	[79]
Limonène	21,7		
Camphre	21,6		

Tableau 02: Variations de la composition chimique (composé majoritaire) de l'huile essentielle de *Romarin*

I.16.3 Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

En ce qui concerne les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles forment un groupe très homogène [80]. Les principales caractéristiques sont :

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

I.16.4 La composition des huiles essentielles

Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes :

- le groupe de terpénoïdes.
- groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

D'après [81]. La structure des composés des huiles essentielles est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus ou moins longue. Sur ce squelette de base est souvent présent un ou plusieurs sites fonctionnels semblables ou différents. La majorité des sites fonctionnels sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygène, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés Selon [82].

Cette structure varie en fonction du nombre d'atomes de carbone qui les constitue [83] :

- Les monoterpènes.
- Les sesquiterpène
- Rarement les diterpènes.diterpènes.
- Du caractère saturé ou insaturé des liaisons.
- De leur agencement : linéaire ou cyclique.
- De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...).
- De la nature des groupes fonctionnels à savoir
- Terpènes : $R_1\text{-HC=CH-R}_2$.
- Alcools terpéniques : $R\text{-OH}$. Cétones: $R_1\text{CR}_2$.
- Phénols : $\text{C}_6\text{H}_6\text{-OH}$.
- Aldéhydes : RCHO
- Esters : $\text{R}_1\text{-COO-R}$
- Ethers : $\text{R}_1\text{-O-R}$

Conclusion :

Le *romarin* (*Rosmarinus officinalis* L.) Est un arbrisseau de la famille des Labiées, répandu sur toutes les rives de la méditerranée [84]. 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 découverts [85].

Le *romarin* fait l'objet de très nombreuses mentions historiques et légendaires.

Des recherches récentes [86; 87] ont démontré que l'huile de *romarin* avait certaines propriétés antibactériennes. De nos jours, le *romarin* est surtout utilisé en cuisine, entre autre, avec les viandes, shampoings ou encore pour son odeur légère de pin dans les savons, parfums ou eaux de toilette. Il est utilisé comme composant aromatique dans l'industrie des cosmétiques Ces caractéristiques nous ont poussés à ouvrir une porte sur cette espèce et découvrir secret.



Chapitre : II

Méthodes et analyses

II.1 Introduction

Notre objectif consiste à valoriser des espèces végétales de notre région. Nous avons choisi le *Rosmarinus officinalis* comme plante cible vu sa disponibilité et ses vertus aromatique et médicinale.

Notre travail a pour but deux points essentiels :

- Façons d'extraire les huiles essentielles de la plante et l'étude de leurs propriétés physico-chimiques.
- Connaissance des composés chimiques présents dans la plante par des tests chimiques.

II.2 Première partie : Méthodes

II.2.1 Récolte et séchage de matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de *romarin* (*Rosmarinus officinalis* L), la récolte a été effectuée au printemps Mars-avril 2014, dans un jour bien ensoleillé, notre échantillonnage était aléatoire.

Au niveau du laboratoire, on prend les feuilles, les étaler sur du papier et les laisser les sécher dans un endroit ombragé, à l'abri de l'humidité et à une température ambiante jusqu'au séchage complet, puis on les conserve dans des sacs de papier.

Après un certain temps, on les sèche à l'aire et à l'abri de la lumière durant 02 semaines.

Le matériel végétal séché est réduit en poudre puis soumis à l'extraction.

Parties utilisées : Feuilles et sommités fleuries.

II.2.2 Extraction d'huile essentielle par solvants

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de génie des procédés Université Ziane Achour de Djelfa.

L'extraction de notre plante se fait par :

- l'hydro distillation.
- soxlet (percolation) à reflux.

Les dispositifs utilisés

- ▶ Réfrigérante
- ▶ Hydro distillation
- ▶ Chauffe ballon
- ▶ Thermomètre

II.2.3 Extraction par hydro distillation

a - Principe d'hydro distillation

L'extraction de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* a été effectuée par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (**Photo 1**).

b- Mode opératoire

Dans un ballon de 500 ml, on met 36g de matériel végétal sec avec 300 ml d'eau distillé. Le mélange est placé dans un chauffe ballon (source de chaleur). Ce dernier est lié à un ballon par un réfrigérant. La température de distillation est contrôlée (100°C).



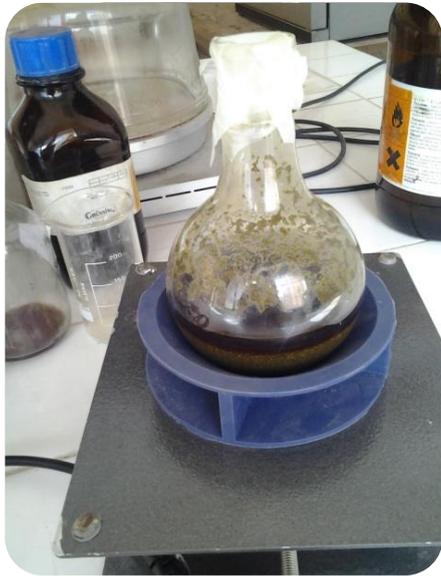
Photos 1: Montage d'hydro-distillation employé pour l'extraction de l'huile essentielle.

b - les conditions opératoires

- ▶ Masse de la charge végétale: 36 g.
- ▶ Solvants: 300 ml
- ▶ Durée d'extraction: 3 à 4 heures

Remarque

Le système est laissé pendant 3heures. Après la filtration on observe une solution de couleur Marron (**photos 2 et 3**)



Photos 2 : le mélange avant la filtration.



Photos 3: le filtrat obtenu de l'eau distillé

II.2.4 Extraction à reflux

II.2.4.1 l'utilisation de l'alcool primaire

a - Mode opératoire

On prend la poudre du produit broyé sèche de *Romarin* avec de l'alcool primaire (1-butanol) dans un ballon de 500 ml, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversent le réfrigérant de 40 cm (**photo 4**), se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'alcool primaire et l'huile se séparent par le phénomène de densité.

Les huiles essentielles récupérées dans de petits flacons opaques et stockées



Photos 4 : l'extraction de romarin avec l'alcool primaire à reflux.

b - les conditions opératoires

- ▶ Masse de la charge végétale: 36 g.
- ▶ Solvants: 100 ml de 1-butanol.
- ▶ Durée d'extraction: 3 heures.

Remarque

On fait évaporer l'alcool du mélange, afin de récupérer la solution. On observe après la filtration une solution de couleur verte foncée (un cercle vert).

II.2.4.2 l'utilisation de l'alcool secondaire

a - Mode opératoire

de la même façon que l'expérience précédente, on prend la poudre du produit broyé sèche de Romarin avec de l'alcool secondaire (2-propanol) dans un ballon de 500 ml, l'ensemble est porté à ébullition pendant 3 heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle traversent le réfrigérant de 40 cm (**photo 5 et 6**), se condensent et chutent dans une ampoule à décantier, l'alcool primaire et l'huile se séparent par le phénomène de densité.

Les huiles essentielles récupérées dans de petits flacons opaques et stockées.



Photos 5 et 6 : l'extraction de romarin avec l'alcool secondaire à reflux.

b - les conditions opératoires

- ▶ Masse de la charge végétale: 36 g.
- ▶ Solvants: 75 ml de 2-propanol.
- ▶ Durée d'extraction: 3 heures

Remarque

L'évaporation de l'alcool secondaire se fait pendant 3heurs à 82°C, et après la filtration on observe une solution de couleur verte claire.

II.2.5 Plan d'expérimentale

II.2.5.1 Détermination du rendement d'extraction

Selon la norme [88], le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = M'/M \cdot 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

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

II.2.5.2 Le résultat obtenu est:

a- Solvant eau : masse réelle du produit sec est M = 36 g, après l'extraction et évaporation de l'eau, la masse liquide M' = 24,7 g. donc, le rendement supposant qu'on a éliminé toutes les impuretés $R_{eau} = \frac{24,7}{36} 100 = 68,61\%$

b-Solvant alcool : masse réelle du produit est toujours 36 g, après évaporation du solvant, nous avons trouvé M' égale à 14,66 g. donc, le rendement $R_{alcool} = \frac{14,66}{36} 100 = 40,72.$

La masse réduite de la deuxième expérience (solvant l'alcool), montre que l'alcool a bien manipulé les dérivés de l'extrait du *romarin*

II.2.6 Plan d'extraction

Le protocole général de mon travail est comme suite :

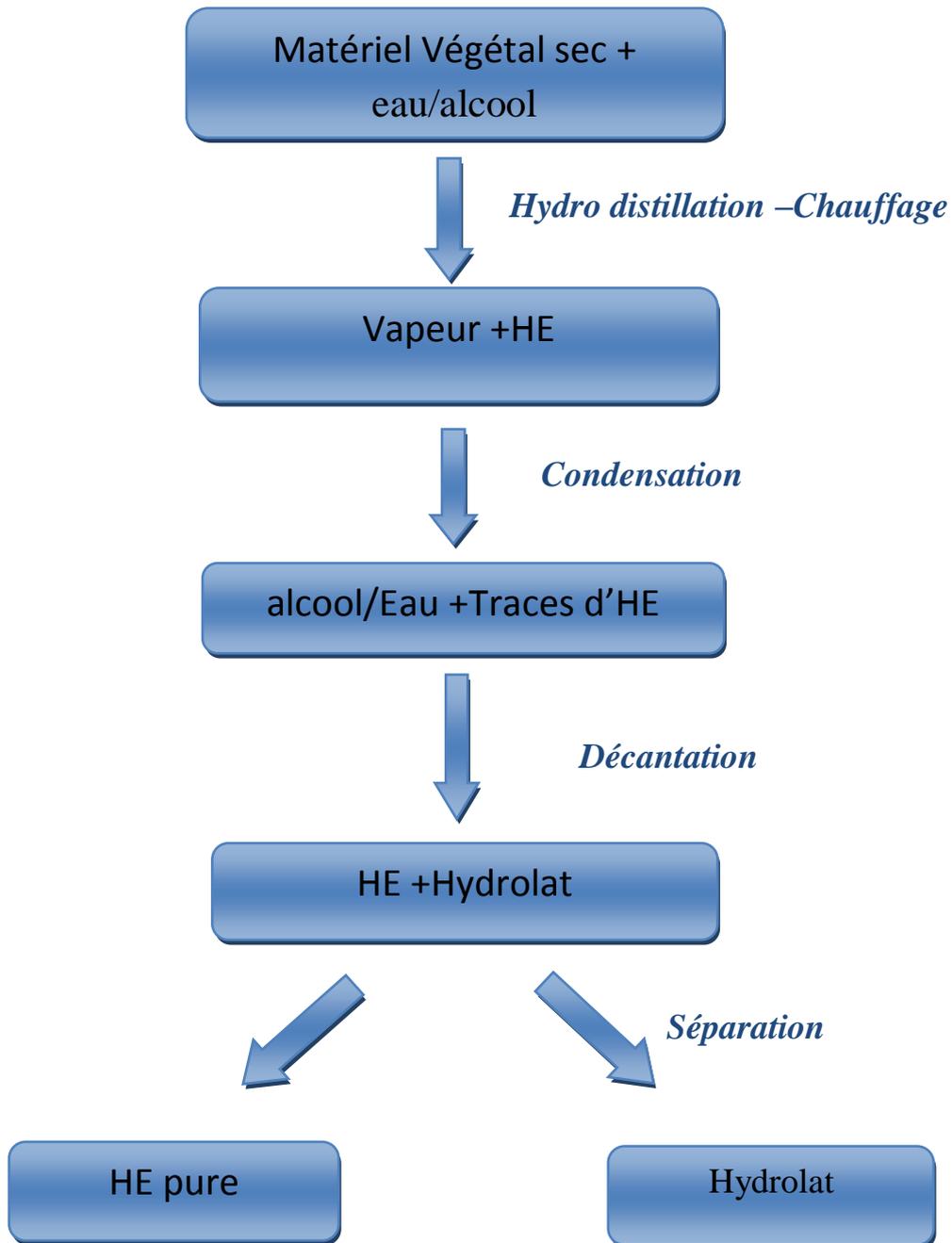


Figure.9: Les étapes d'extraction d'huile essentielle

II.2.7 Tests chimiques sur la poudre de *Rosmarinus Officinalis L*

II.2.7.1 Tanins:

Les tanins ont des couleurs qui vont du blanc jaunâtre au brun et foncent à la lumière. Ils possèdent une légère odeur caractéristique, un goût amer et sont astringents.

Les tanins se dissolvent dans l'eau sous forme de solution colloïdale. Ils sont solubles dans les alcools, l'acétone et dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium. Comme tous les phénols, les tanins réagissent avec le FeCl_3

a) Test

On prend 10 g de poudre de romarin sèche avec une solution aqueuse de $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ à 1%, on filtre la solution. On ajoute à l'ensemble précédent quelques gouttes d'une solution de FeCl_3 .

Le mélange devient vert, ceci dit qu'il y a des tanins.

Remarque

Le produit de départ était de couleur marron, et après l'ajoute de FeCl_3 , la solution change de couleur (devient verte foncée **(photo 7)**).



Photo 7 : les tannins de couleur verte foncée

II.2.7.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes donnent généralement avec le magnésium en présence de l'acide chlorhydrique une coloration rose ou rouge après 3 min.

a) Test

Pour justifier la présence des flavonoïdes, on mélange 10 g de poudre de *romarin* sèche, avec 150 ml de Hcl dilué 1% pendant 24 h, on filtre la solution.

On prend 10 ml de filtrat, on ajoute du NH_4OH pour le rendre basique.

Ceci, fait naître une couleur jaune clair sur la partie supérieure du tube à essai indiquant la présence des flavonoïdes.

Remarque

La solution change de couleur au fur et à mesure de l'ajout de NH_4OH , (voir la photo 8).



Photo 8 : la présence des flavonoïdes

II.2.7.3 Terpènes

a) Test

On prend 5g de poudre sèche ; la dissoudre dans 20 ml d'éther de pétrole filtré évaporé.

Le résidu est dissous dans 0,5ml d'acide acétique et ensuite dans 0,5 ml de CHCl_3 . Les solutions sont transférées dans un tube à essai puis on ajout 1ml de H_2SO_4 concentré.

Dans la zone de contact entre les deux liquides un cercle violet ou marron est formé puis

Deviens gris, ceci indique la présence des terpènes.



Photo 9 : la présence des Terpènes.



Photos 10: Tests chimiques sur la poudre de *Rosmarinus Officinalis L*

II.3 Préparation des solutions à base de feuilles de *Romarin*

5 g de produit sont broyées dans un mortier-pilon. Après dissolution dans une fiole de 200 ml avec de l'eau chaude, la solution est refroidie puis ajustée avec de l'eau distillée.

II.3.1 Extraction des composés phénoliques

L'objectif de cette extraction est de libérer les polyphénols présents dans des structures vacuolaires par rupture du tissu végétal et par diffusion. Ces derniers sont extraits par extraction liquide-liquide

en utilisant l'eau comme solvant, mais d'autres solvants peuvent être utilisés tels que les alcools primaires, acétonitrile, l'acétone et l'acétate d'éthyle.

II.3.1.1 Dosage des polyphénols (réactif de Folin Ciocalteu)

Le dosage des polyphénols a été effectué à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux de type SHIMADZU UV-2401PC, la technique à double faisceaux nous a aidé à éliminer l'absorbance du blanc et donner directement la densité optique de l'échantillon. Pour s'assurer que les résultats sont fiables, le dosage du composé phénolique a été réalisé en trois essais, après on a calculé la moyenne des densités optique mesurées.

Le dosage des polyphénols par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit par [89]. Depuis, son utilisation s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

II.3.1.2 Principe

Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [90].

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

II.3.1.3 Mode opératoire

Dans une fiole Jaugée de 20 ml, on introduit :

- La solution de *Romarin* (0,2 ml)
- Réactif de Folin Ciocalteu (1 ml)
- Le bicarbonate (CO_3Na_2) à 4,25% (quantité suffisante pour 20 ml).

On prépare dans les mêmes conditions un témoin avec de l'eau distillée à la place de la solution de *Romarin* puis on porte au bain-marie à 70°C pendant 20 minutes.

Après refroidissement on détermine la densité optique à 760 nm par rapport au témoin (voir figure 11).

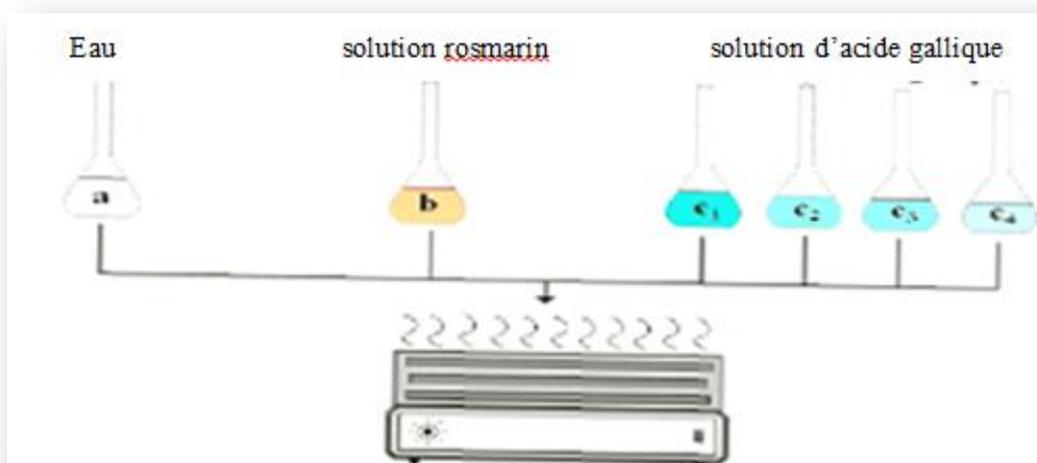


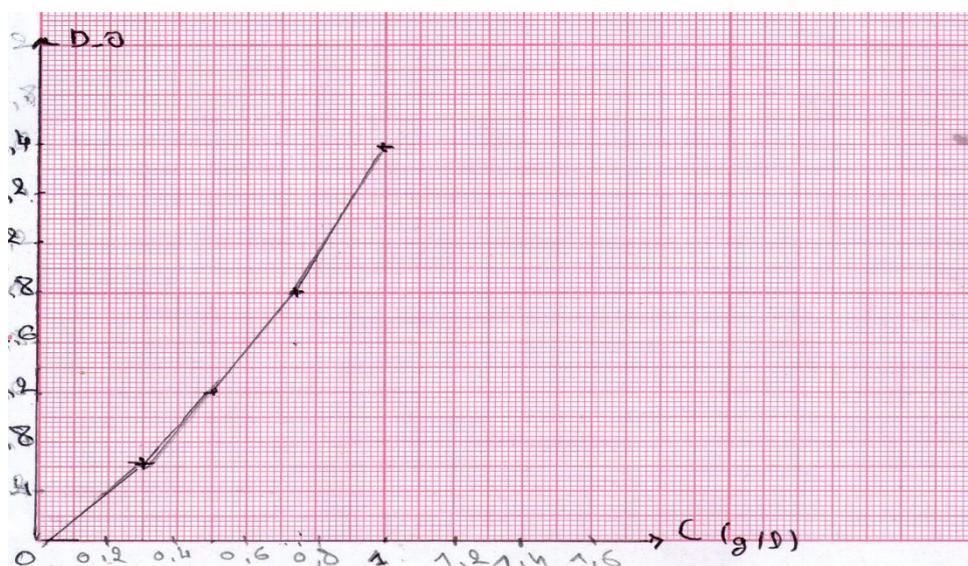
Figure. 10: Protocole du dosage des polyphénols dans le *Rosmarin*

Après la préparation de la gamme des concentrations de l'acide gallique (0,25 g/l; 0,5 g/l; 0,75 g/l; 1 g/l), la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 760 nm (tableau 4). Les absorbances obtenues ont été représentées en fonction des concentrations, la courbe d'étalonnage Réalisée montre la linéarité de la réponse du détecteur en fonction des différentes concentrations (figure 12).

Tableau 3: Densités optiques des différentes concentrations de l'acide gallique

Concentrations d'acide gallique (g/l)	Densité optique (D-O)
0,25	0,6045
0,5	1,209
0,75	1,813
1	2,418

Figure. 11: Courbe d'étalonnage pour le dosage phénolique.



L'absorbance moyenne de la solution *romarin* est 1,401

La concentration de l'échantillon a été obtenue par projection de l'absorbance moyenne sur la courbe d'étalonnage. Le résultat exprimé en g/l d'acide gallique est

II.3.2 Dosage des anthocyanes

II.3.2.1 Définition

Les **anthocyanes** (du grec *anthos* « fleur » et *kuanos* « bleu sombre ») ou **anthocyanosides** [91] (ou sur le modèle anglais *anthocyanines*) sont des pigments naturels des feuilles, des pétales et des fruits, situés dans les vacuoles des cellules, solubles dans l'eau, allant du rouge orangé au bleu pourpre dans le spectre visible.

Ces composés existent sous forme d'hétérosides formés par la condensation d'une molécule non glucidique (appelé aglycone) et d'oses et souvent, de groupes acyles. L'aglycone qui les caractérise est un anthocyanidol de la classe des flavonoïdes. En 2006, 539 anthocyanosides ont été recensés [92].

Les anthocyanosides sont présents dans un certain nombre de végétaux tels que myrtille, mûre, cerise, raisin noir, orange sanguine, aubergine, pomme de terre vitelotte, prune, bleuet (airelle bleue du Canada, ne pas confondre avec le Bleuet des champs), mauve, etc. Ils donnent leur couleur aussi bien aux feuilles d'automne qu'aux fruits rouges. Ils jouent un rôle important dans la pollinisation des fleurs et la dispersion des graines.

Leur fort pouvoir colorant, leur solubilité en milieu aqueux et leur absence de toxicité font des anthocyanosides des colorants naturels susceptibles de remplacer les colorants synthétiques utilisés dans l'industrie agroalimentaire. Enfin, leur activité anti-oxydante laisse supposer que leur apport par l'alimentation pourrait jouer un rôle bénéfique dans la santé humaine, notamment dans le domaine des risques cardiovasculaires.

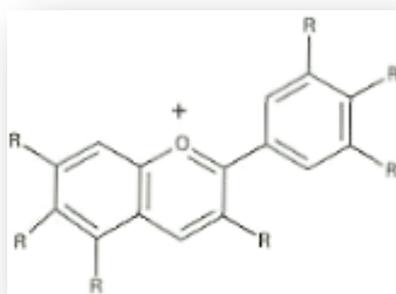


Figure.12: Anthocyane

Les anthocyanes sont déterminés par la méthode basée sur la décoloration par l'acide sulfureux [93].

II.3.2.2 Principe du dosage

Le principe est basé sur la décoloration des solutions d'anthocyanes en utilisant une solution de Bisulfite de Sodium. Le chercheur a montré que ce phénomène était dû à l'existence d'une réaction entre le cation flavylium et l'hydrogénosulfite HSO_3 . Cette réaction est équilibrée et conduit à la formation d'un produit d'addition incolore et plus ou moins stable selon le pigment. Cette méthode suppose que les autres composés phénoliques n'interfèrent pas sur le dosage.

II.3.2.3 Mode opératoire

Dans un Erlenmeyer de 50 ml, on introduit: 1 ml de la solution de rosmarin; 1 ml d'éthanol de 0,1 % et 20 ml d'HCl concentrée à 2 %. A partir de cette solution, on place dans un premier tube à essai 10 ml de la solution et 4 ml d'eau distillée; dans un deuxième tube on met 10 ml de la solution et 4 ml de bisulfite de sodium à 15%.

On procède après une attente de 20 mn, aux mesures des densités optiques à 520 nm par rapport à l'eau distillée(voir figure 13).

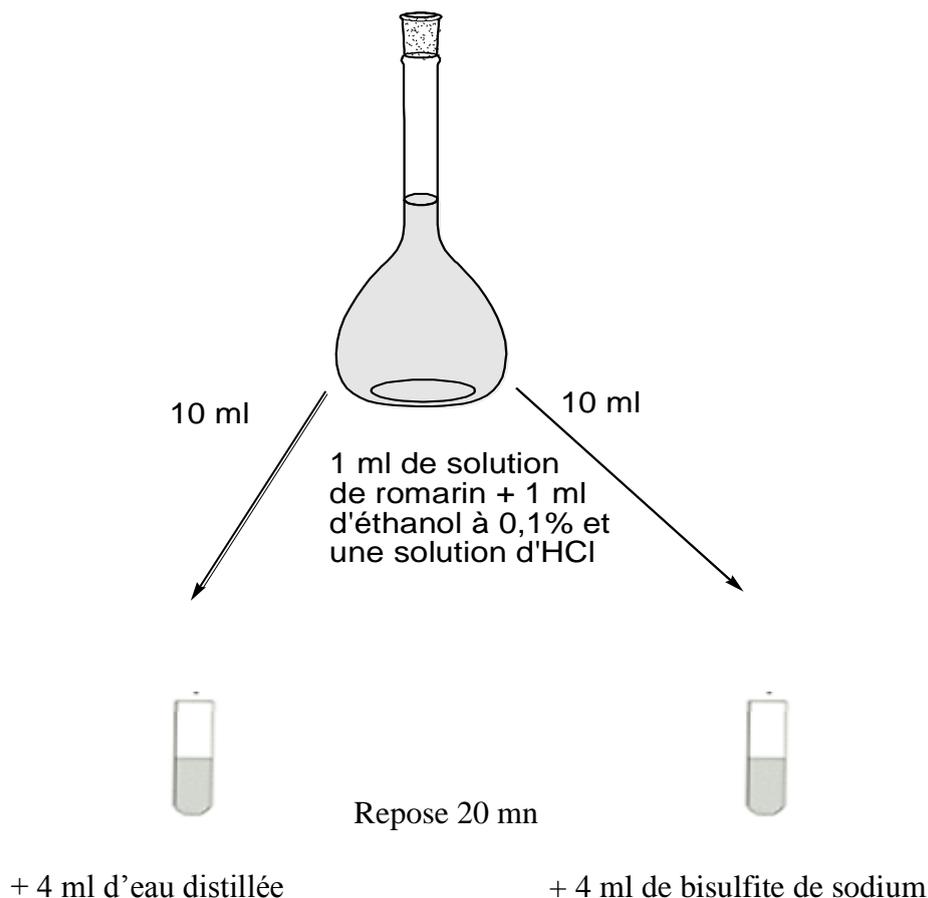


Figure. 13: Protocole du dosage des anthocyanes

La valeur de la densité optique des anthocyanes non décolorés (tubes témoins) et décolorés par le Bisulfite de Sodium (tubes décolorés) sont successivement 0,0501 et 0,0480. La différence est de 0,021.

Nous n'avons pas fait la courbe d'étalonnage car on n'avait pas assez de valeurs.

Nous remarquons que le taux en anthocyanes pour notre échantillon est faible.

Il est important de signaler que les anthocyanes, sur le plan théorique augmentent avec la maturation des fruits, atteignant un maximum puis diminuent. Cette évolution est étroitement corrélée avec la nature des fruits. En plus, les différentes réactions qui peuvent prendre place dans la diminution des anthocyanes sont :

- Les réactions de condensation des anthocyanes et/ou flavanols avec d'autres molécules inférieures comme l'acide puracique, vinyl phénole ou l'acide glycoxylique.
- La combinaison des anthocyanes avec les tanins pour donner des polymères qui possèdent des propriétés et des couleurs différentes à celles des anthocyanes.

II.4 Deuxième partie : Analyses

II.4.1 Purification et Identification

Les analyses en chromatographie sont réalisés sur un système est équipé d'une pompe SpectraSYSTEM P 1000, d'un injecteur automatique SpectraSYSTEM AS1000, d'une pré-colonne (polymer laboratories PL gel 5 μ m Guard, 50x 7,5mm) suivi de deux colonnes (polumer laboratorie, 2PL gel 5 μ m MIXED-D colonnes, 2x300x7,5 mm).

RMN¹H : spectromètre RMN Varian 300MHz (Acétone d₆, T ambiante, TMS)

Nous n'avons pas tenu compte du changement de la température lors de l'utilisation de la chromatographie gaz couplée à la masse sur la structure des produits trouvés.

Les constantes de couplages J sont exprimées en Hertz (Hz). Les déviations suivantes sont utilisées pour préciser la multiplicité des signaux : s (singulet), d (doublet), t (triplet), q (quadruplet), p (pentuplet), m (multiplet), dd (doublet de doublet), ...

II.4.2 Chromatographie à phase gazeuse et spectre de masse

- a- Conditions opératoires :
- b- Résultats et discussion :

D'après le chromatogramme obtenu l'extrait présent deux pics majoritaire correspond à $T_r = 7,17$ et $T_r = 2,542$ (**figure 14**).

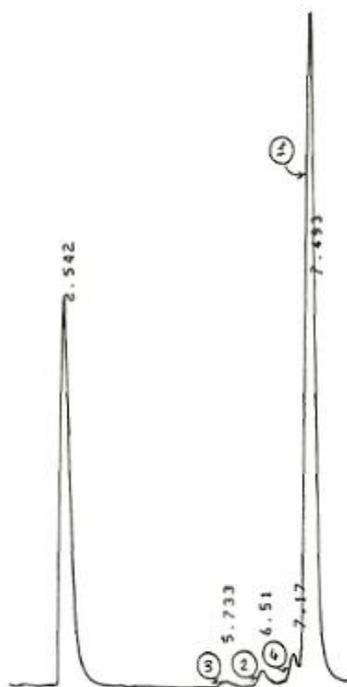


Figure 14: Chromatogramme de l'extrait du *romarin*.

Le balayage de la figure de la chromatographie par le détecteur de masse (SM) donne le spectre suivant :

Selon la figure, le pic majoritaire présente une masse identique à celle du Rosmanol. Le spectre montre que la masse moléculaire est celle de celui-ci $M = 303$ g/mol.

On voit un pic de masse de 332 qui correspond à la structure de l'acide carnosique, mais un pic non majoritaire, ceci veut dire que la réaction lors de l'augmentation de la température dans le four de la chromatographie a été réalisée.

L'identification de la masse moléculaire des substances extraites à partir de *romarin* indique que le produit est le Rosmanol, ceci est en bon accord avec les résultats trouvés dans la littérature. L'acide carnosique se transforme en rosmanol par le processus de lactonisation [94,95].

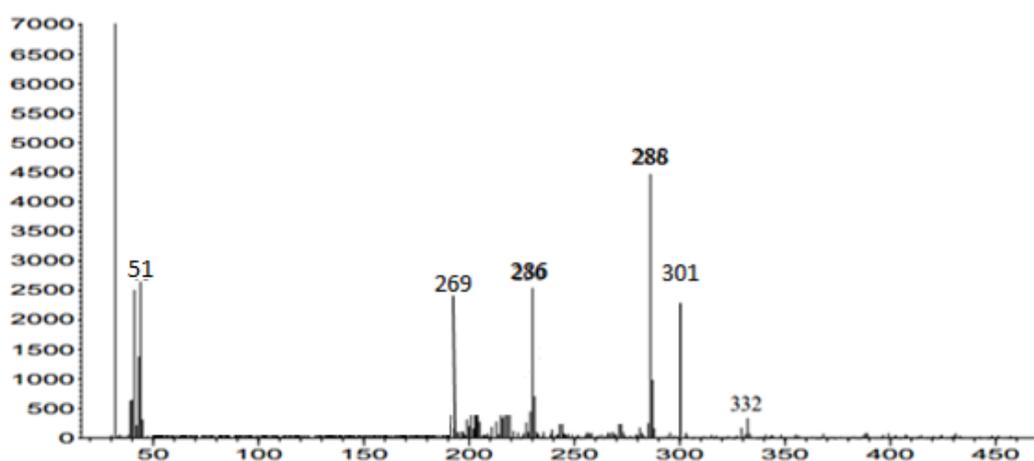
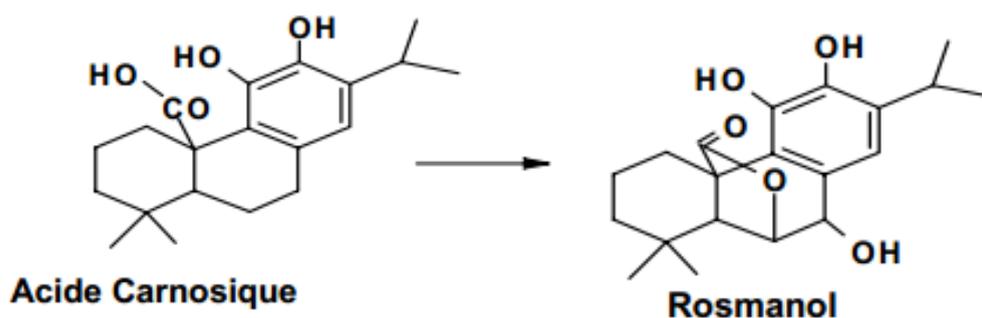


Figure 15: spectre de masse du produit Romanol

Rosmanol :

$$m/z[{}^+M-2H] = 303$$

$$m/z[{}^+M-CH_3] = 288$$

$$m/z[{}^+M-(2H + CH_3)] = 286$$

$$m/z[{}^+M-(2H + OH + CH_3)] = 286$$

$$m/z[{}^+M-3OH] = 51 \text{ dégradation}$$

II.4.3 Spectre RMN 1H

on a utilisé l'acétone deutéré comme solvant, l'analyse RMN 1H donne le spectre suivant (**figure.16**) le déplacement des différents protons sont mentionnés dans le tableau suivant :

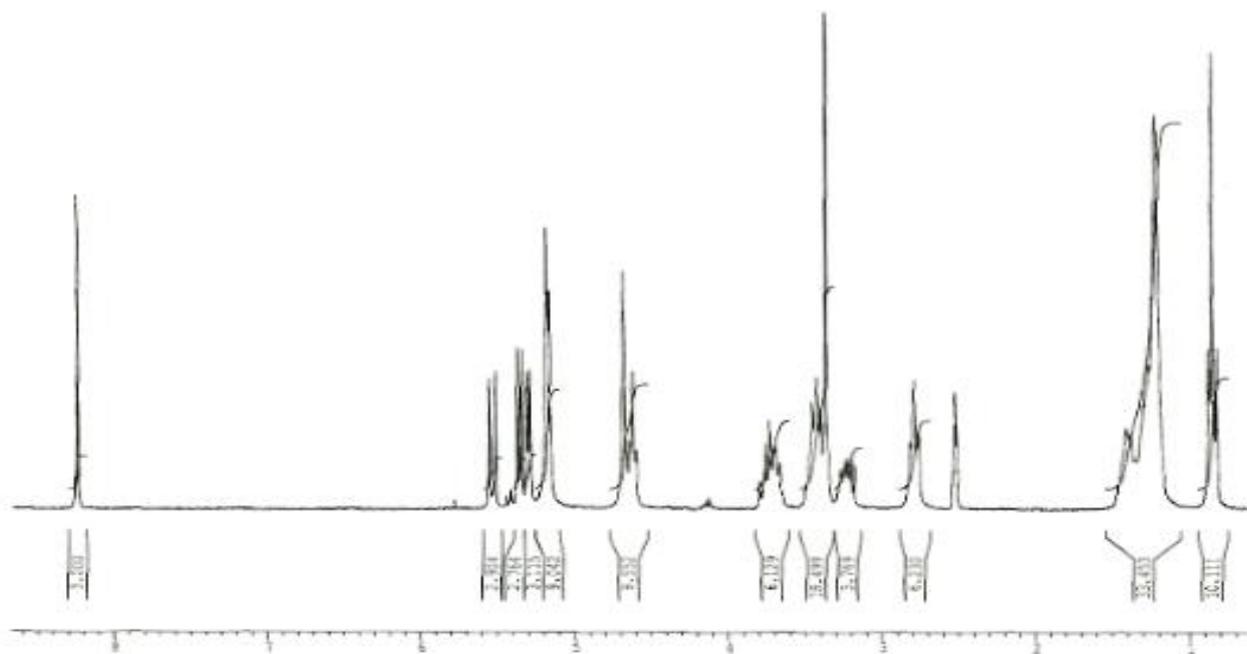


Figure 16 spectre RMN 1H du produit Romanol

Tableau les déplacements chimiques des différents protons :

Proton	Δ (ppm)	Multiplicité
1	0,8	Tri
3	1,2	Mul
4, 14	1,4	Mul
5, 6	2,5	S
7	2,8	S
2	3,2	dd
10, 11	3,4	ddd
9	3,7	dddd
8	4,6	dddd
15, 16	5,2	s
17	5,3	ddd
18	5,5	ddd
OH acide	8,2	s

Tableau 4: Tableau les déplacements chimiques.

II.5 Conclusion

On peut dire qu'à partir de ces résultats, l'extrait de *Romarin* par soit l'eau ou l'alcool donne de résultats qui ont été justifiés par l'analyse chromatographique et RMN du proton :

Avec l'eau l'extrait obtenu est marqué par un spectre indiquant un seul produit avec un rendement acceptable.

Avec l'alcool, le rendement était insuffisant.

La structure chimique de la substance extraite est celle du Rosmanol. On attendait à l'acide Carnosique (signalée par la documentation de la littérature), mais du fait de la température interne de l'appareil chromatographie, l'acide s'est transformé par effet de protonation à Rosmanol.

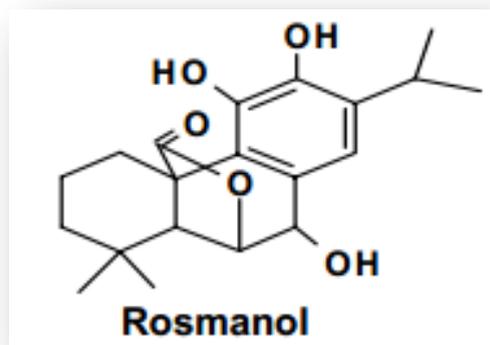
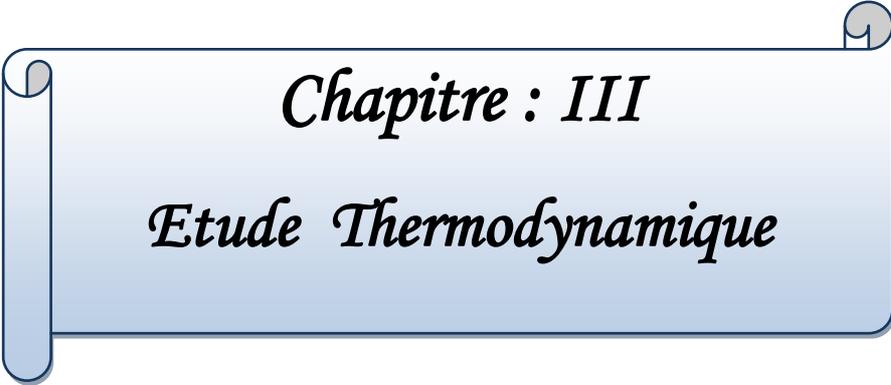


Figure 17 : La structure chimique du rosmanol



Chapitre : III

Etude Thermodynamique

III.I Analyses physico-chimiques de l'huile essentielle

L'huile a une odeur masculine légèrement boisée et épicée encore rafraîchissante. L'huile est incolore à jaune très pâle.

Après l'extraction de l'huile essentielle de Romarin on a fait les analyses physico-chimiques suivantes :

- Le pH
- Viscosité
- Indice d'acide

III.I.1 La mesure du pH

L'analyse des résultats obtenus indique que les valeurs de pH mesurées présentent une légère différence entre les feuilles et les racines.

Les racines ont un pH légèrement acide (5,8) par rapport à celui des feuilles (6.66) (**photos 11**).

Ce qui confirme le goût acidulé de la solution romarine. Ces résultats semblent parfaite par rapport à ceux de la littérature car [96] ont trouvé un pH qui varie en fonction du temps de 6,24 à 7,04.

Cette différence de pH trouvé par rapport au notre peut s'expliquer par l'effet du stockage et également suivant l'état physiologique du produit, mais aussi suivant les conditions climatiques, de stockage et les façons culturales.



Photos 11: la valeur du produit donnée par le pH mètre

III.I.2 La Viscosité

La viscosité peut être définie comme une résistance à l'écoulement, à la déformation. Elle s'exprime en centistokes. La viscosité des acides gras et des triglycérides est liée à leur structure, et en particulier à la longueur des chaînes et à leur instauration:

- l'augmentation du poids moléculaire entraîne une augmentation de la viscosité ;
- l'augmentation de l'instauration entraîne, à longueur de chaîne constante, une diminution de la viscosité.

La viscosité des huiles végétales est fonction de la nature des graines et est en général nettement plus élevée que la viscosité des huiles industrielle.

La viscosité dépend de la température et pour voir la différence on prépare des solutions et on les chauffe environ entre 70 - 80°C.

III.I.3 Densité

La densité peut être définie comme étant le poids de produit contenu dans un volume déterminé (un litre) dans des conditions déterminées. Ainsi, pour les solutions extraites des plantes, la température de mesure est fixée à 15°C. La densité varie peu entre les différentes huiles végétales.

III.I.4 Point éclair

Le point éclair d'un liquide se définit comme la température la plus basse à laquelle la concentration de vapeurs émises est suffisante pour produire une déflagration au contact d'une flamme, d'une étincelle, d'un point chaud mais insuffisante pour produire la propagation de la combustion en l'absence de la "flamme pilote". Les produits peuvent être classés en fonction de leur point-éclair :

- < 0°C : extrêmement inflammables
- de 0°C à 21°C : facilement inflammables
- de 21°C à 55 °C : inflammables

Dans le cas de notre huile, le point éclair (PE) est plus élevé que celui de l'huile de table. Ceci présente à la fois un avantage et un inconvénient majeurs.

La température de la combustion est d'environ 265 °C à 270 °C (environ 75°C pour le fioul). Cependant, une valeur élevée de ce point éclair est synonyme de sécurité pour le stockage et la manutention du produit.

III.1.5 Pouvoir Calorifique Inférieur

Le pouvoir calorifique inférieur (PCI) se définit comme la quantité de chaleur dégagée par la combustion complète d'une unité de combustible. Elle s'exprime en kJ/kg. Cette valeur permet de comparer différents produits de nature différente et permet de convertir l'ensemble des huiles sous forme de tep (tonne équivalent pétrole). Le pouvoir calorifique des différentes huiles végétales sont proches les unes des autres mais inférieures d'environ 10 % au PCI du carburant diesel.

Cependant, en raison de manque de matériels, on n'a pas fait le calcul du PCI.

III.1.6 Indice de cétane

Aucune méthode d'analyse satisfaisante n'existe actuellement pour pouvoir déterminer correctement l'indice de cétane des produits forts visqueux comme l'huile végétale.

III.2 Préparation d'une solution cosmétique

III.2.1 Introduction

L'industrie pharmaceutique utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et les chercheurs trouvent chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi synthèse. Parmi ces molécules, les polyphénols sont probablement les composés naturels les plus répandus dans la nature, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et même dans le miel. Les Polyphénols végétaux, en particulier les flavonoïdes et les anthocyanes sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants et anti-radicalaires...

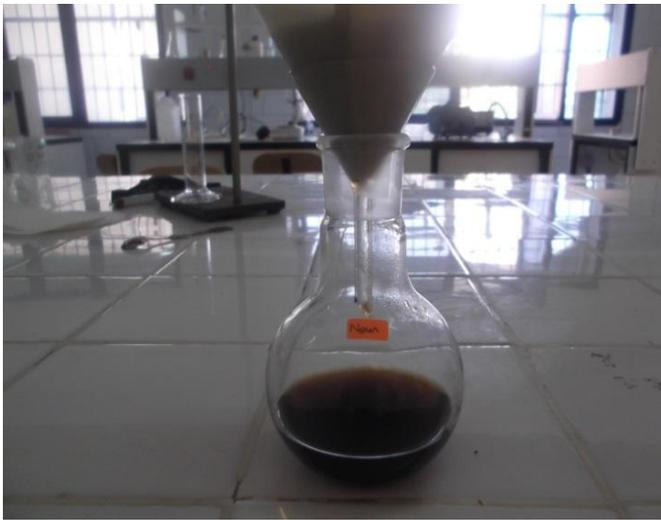
On trouve aussi, les crèmes de soin pour la peau classiques qui sont basées sur des émulsions huile/eau.

Le but de ce travail est de réaliser, à la maison des compositions cosmétiques (un masque sous forme de crème) à base d'extraits naturels de plantes (Romarin) et le déchet de la solution (la plante broyée), dans une petite quantité de l'huile d'olive.

III.2.2 Préparation de la solution crème initiale

Nous avons refait la manipulation, en prenant l'eau distillée comme solvant pour éviter la présence de l'alcool.

Après la décantation, on sépare les deux solutions. La partie supérieure (pâte) est séchée à l'air libre, on a fait évaporer l'eau de la solution liquide (**photos 12**).



Photos12 : la décantation

Le séchage de la partie végétale dure 24 heures (**figure 13**).



Photos 13 : séchage à l'air libre de la partie végétale

III.2.3 Préparation de la crème

a- Matériels

Produit végétal, la solution d'huile de la plante *romarin*, un verre doseur, une cuillère à café et un fouet, quantité d'huile d'olive et un bain marie (**figure 14**).



Photos 14 : matériels utilisés

b- Mode opératoire

On prend 60 ml d'eau (équivalent de 60g), on ajoute 25 ml d'huile extraite de la plante *romarin*, 300 ml de lait puis deux (2) cuillères à café bien bombées de Cire Émulsifiante sont ajoutées au fur et à mesure (correspond à 8 g environ) **Figure.15**.



Photos 15: remuer le lait avec une quantité d'huile du *romarin*

Ce mélange est posé dans un bain marie. On remue lentement jusqu'à la cire devient complètement fondu, tout en ajoutant goutte à goutte l'huile d'olive.

A cet instant, on ajoute la quantité de la partie végétale dans la solution. Après 10 mn, on retire du bain marie la mélange pour faire prendre l'émulsion (**photos 16**).



photos16: partie végétale avec la solution (lait + d'huile du romarin)

Enfin, on met notre bol dans l'eau froide (**photos17**), et on obtien notre crème.

Remarque : La Cire Émulsifiante, une cire émulsifiante classique (Aroma Zone ou, Polawax,) mais pas de Cire d'Abeille.



Photos.17: le mélange dans l'eau froide

III.3 Application de la crème

III.3.1 l'efficacité de la crème



On prend des petites quantités de crème entre des compresses stérilisantes et on les laisse environ 20 mn. La stabilisation de la crème donne à la peau une sensation de fraîcheur et de pureté.

Soin nettoyant quotidien doux convenant à tous les types de peau, elle peut être utilisée le matin et le soir. Elle maintient le film hydrolipidique naturel de la peau tout en la préparant aux soins complémentaires.

Sa composition à base de feuilles et d'huile essentielle de *romarin* revitalise en douceur et clarifie le teint. Les pores de la peau sont affinés. Les extraits précieux de ces plantes médicinales libèrent leurs propriétés purifiantes et traitantes grâce à cette préparation à base de poudre d'amande à la texture agréablement crémeuse (conseils de Vichy).

III.3.2 Conseil d'application

Il faut bien humidifier la peau du visage avec de l'eau chaude, en travaillant avec les deux mains.

Puis, la solution crème est utilisée dans les creux des mains, 2 cm environ avec un peu de l'eau jusqu'à ce que le mélange prenne une consistance crémeuse, et on applique directement sur le visage.

En déroulant progressivement les deux mains sur le visage pour absorber les impuretés, tout en partant du centre pour aller vers l'extérieur du visage, et du haut vers le bas, on évite le contour des yeux.

On refait ce geste à plusieurs reprises. On laisse cette application pendant 7 à 10 min, et on enlève la crème du visage en rinçant abondamment avec de l'eau chaude.

Remarque : on n'a pas fait des applications, manque de bénévoles.

III.4 Conclusion

Les plantes qui sont solubles dans l'eau et leurs actifs sont retenus dans leurs cellules sont trop importante dans la fabrication des masques esthétique. Avant utilisation, il est donc nécessaire de réduire les plantes en particules très fines. Ceci permet d'éclater leurs cellules, ce qui libère les actifs qui peuvent alors être diffusés par voie transcutanée. Cette opération, appelée micronisation, transforme les produits es en poudre très fine qui pourra être incorré dans des produits cosmétiques.

Sous forme de poudres ou de bouillies, les plantes sont censées avoir des propriétés exceptionnelles. Mais en réalité, les effets de ces dernies sur la peau ou les cheveux sont mal définis. Les plantes sont utilisées dans les cosmétiques pour leurs propriétés :

- hydratantes,
- nourrissantes,
- régénérantes,
- amincissantes,
- drainantes,
- détoxifiantes,
- apaisantes,
- reminéralisantes,
- antiseptiques.

Malheureusement, nous n'avons pas fait d'expériences pour montrer les propriétés de *romarin*.



Conclusion générale

Conclusion générale

Notre pays est riche en plantes aromatiques et médicinales, entre elles existaient des espèces pouvant être considérées comme source de produits pharmaceutique.

Les huiles essentielles, sont obtenues par hydro distillation de matériel végétal, trouvant des emplois dans divers secteurs (parfumerie, aromathérapie,...) et pouvant constituer le point important dans le développement économique durable.

Les huiles se présentent souvent sous forme de mélanges de plusieurs molécules dont il est recommandé de connaître la composition. Les propriétés des huiles sont d'une importance indispensable lorsqu'on souhaite les étudier, les commercialisées ou utilisées dans d'autres domaines.

L'objectif de notre travail consiste à faire une étude physicochimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de la région de djelfa- Algérie, et de participer au développement de cette méthodologie d'analyse en utilisant des diverses techniques GPC, RMN et analyses par concentrations.

Pour la détermination de la composition chimique des huiles essentielles nous avons respecté :

L'analyse par GPC/SM.

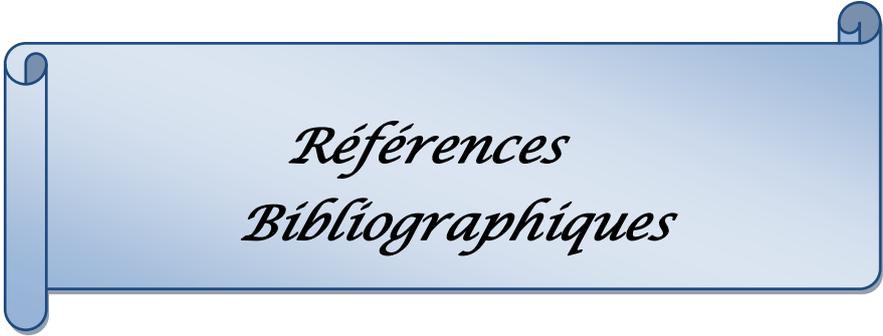
Nous avons fractionné l'huile pour faciliter l'identification des composés majoritaires.

Enfin, nous avons également utilisé l'RMN afin de préciser ou confirmer certains constituants.

Dans la première partie de ce mémoire, nous avons fait une synthèse sur la plante, ces constituants, ces différentes molécules et ces propriétés médicales.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques, ceci a fait l'objet d'une étude de synthèse dans le deuxième chapitre.

Au total, ce travail de mémoire a permis d'enrichir de manière conséquente nos bibliothèques de référence puisqu'une quantité de composés y ont été intégrés.



*Références
Bibliographiques*

Références Bibliographiques

- [1] : **Déclaration d'Alma-Ata** a été établie à l'issue de la Conférence internationale sur les **soins de santé primaires**, (*Alma-Ata*, du 6 au 12 septembre 1978).
- [2a] : **Jeun Brineton**. Pharmacognosie, phytochimie- plante médicinale.1999, 3^{ème} édition.
- [2b] : **RR. Paris, H. moyse**, Matières médicales, Tome II, 1971, 2^dition Masson, P 277.
- [3] : **Boudy P., 1948**. Economie forestière Nord-africain, Tome I : Milieu physique et milieu humain. Paris V^e, Edition Larose, p 125-216.
- [4] : **Favre R., Magnoplay P., Blane A., Meilland E., Soriano J., Vacherot M. et Viare J. 1981**. Apha flore, Encyclopédie des plantes; les plantes vivaces : Médicinales et aquatiques, volume 4; Importance et classement des végétaux. Editions grammont S.A.; Paris.
- [5] : **Grégory C., 1988**. Encyclopédia Universalis, Aolto Anabaptisme, Corpus 1, France S.A.
- [6] : **Noureddine Eloutssi**, (Elaboration de procedes biotchnologiques pour la volorisation du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) Marocain), mémoire pour l'obtention du doctorat des sciences en Biologie, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (2004), P12.
- [7]: **O.P.U.NT.WS.Benston**, Fleurs algeriennes.P54
- [8]: **Heinrich, M., Kufer, J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M. (2006)** Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethnopharmacol.* **107**: 157-160.
- [9] : **Athamena Souâd**, (Etude Quantitative Des Flavonoides Des Graines Caminum Cyminum Et Les Feuilles De Rosmarinus Officinalis Et L'évaluation De L'activite Biologique), Université El Hadj lakhdar (2008) P7.
- [10] : **O.P.U. NT. WS. Benston**, *Fleurs algeriennes*. P 54.
- [11]: **Med- Checklist**. Edition W.Greuter. H. M. Burdet 1986- Volume: 3; P 2316.
- [12] : **Zoubeidi chahinaz**, Etude antioxydants dans le rosmarinus officinalis. Labiatea, mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en chimie organique, université d'ouargla (2004), P5.
- [13] : **Zeghad Nadia**, (Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt Économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité

Antibactérienne), Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magister (Ecole doctorale), Université Mentouri Constantine(2008), P8.

[14] : Atik Bekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007)

Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané

[15] : Gonzalez-Trujano, M.E., Pena, E.I., Martinez, A.L., Moreno, J., Guevara Fefer,P.,Deciga- Campos, M., Lopez-Munoz, F.J. (2007) Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis* L. using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol.* **111**: 476-482.

[16] : Laparé M., Collin G., 2000. Parfums du Maroc, et le vase florentin. Info-essences. Bulletin sur les huiles essentielles. Numéro 14.

[17] : Noureddine Eloutssi, (Elaboration de procedes biotchnologiques pour la valorisation du Romarin (*Rosmarinus officinalis*) Marocain), Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (2004), P17.

[18]: Tsai et al (2007). In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of streptococcus sodrinus .Food chem. (in press).

[19]: Weckesser et al (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeast with dermatological relevance. Phytomedicine. (In press).

[20]:Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M. B.(2008) Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum coticum* L. essential oils. *International J of Food Microbiology.***122**:135-139.

[21]: Sacchetti, et Ses Collaborateurs (2005). Growing in Argentina. Bioresource Technology. (In press).

[22] : Aruoma, O. I., Spencer, J. P. E., Rossi, R., Aeschbach, R., Khan, A., Mahmood, N., Munoz, A., Murcia, A., Butler, J., Halliwell, B. (1996). An Evaluation of the Antioxidant and Antiviral Action of Extracts of Rosemary and Provençal Herbs. *Food and Chemical Toxicology.* **34**: 449-456.

[23]: Gill J et al (2007). Mosquito repllent activity of essentail olis of armatic plants

[24] : Prajapati et al (2005) .Insecticide, repellent.

[25] : Nassu, R.T., Guaraldo Goncalves, L.A., Azevedo Pereira da Silva, M.A., Beserra, F.J.(2003) Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Science.* **63**: 43-49.

[26]: Wang et al (2008). Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L.essential oil comared

to its main components. Food Chem. 108:1019-1022.

[27]: **Balentine et al (2006)** .The pre-and post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and during storage of ground beef. Meat Science. 73, p.413-421.

[28]: **Fernandez-Lopez et al (2005)**. Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. Meat science. p.69:371-380.

[29]: **Sebrotynket al (2005)** .Comparison of natural rosemary extract and BHA/BHT for relative antioxidant effectiveness in pork sausage. Meat science .69:289-296

[30]: **Frouhat Zoulikha et Lahcini Basma**, Lutte biologique par l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis, mémoire pour l'obtention du diplôme de master académique en biochimie appliquée, université kasdi merbah –ouargla (2013), p4, 5,6.

[31]: **Albert.Y. Leung, Steven Foster**, Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used In Foods, Drugs, And Cosmetics, 2^{ème} édition, 1996, Awrley- interscience publication, P 445.

[32]: **Muzon Ozcan**. Antioxydant Activity of Rosmary, 1999, 50(50), P: 355.

[33]: **F.piozzi**, J. Phytochemistry, 1996, Vol : 6, 146

[34]: **F.piozzi**, J. Phytochemistry, 1994, Vol : 3, P 125

[35] : **Teuscher, E., Anton,R. , et lobstein, A, 2005**. Plantes aromatique.les éditions Tec & Doc-Lavoisier, paris, 560 p.

[36] :**Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Ziyat, A. 2002** Ethnopharmacology F medicinal Plants used in the treatment of diabetes in morocco. Int. J. Diabet Metabolism, 10 ; 33-50.

[37] : **Koubissi H; 2002**. Dictionnaire des herbes et des plantes médicinales. Édition Daar el kooub el Elmia Bierut, Liban, 82

[38] : **Leclerc L., 1877**. Traduction du 'traité des simples' de Ibn El Beithar. Notices extraites Des manuscrits de la Bibliothèque Nationale Publié par l'Institut National de France.

Imprimerie Nationale (paris), tome23.53-54, 230-231. &. 244-245.

[39] : **Deans et al**, Chémical Composition, Antibactériel, and Antioxydative Activity of Laurel, Sage, rosemary, Oregano and Coriander Essential Oils. J. Essent. Oil Res. 1998, 10, P 618

[40]: **Paris et al**, effect of *Carnosolic Acid Products*, 1993, Vol 56, N°8, P 1426.

[41]: **Karin Schwarz and Waldemar Ternes**, *Isolation and Formation of Other Phenolic Diterpens*, Z, Lebenson unter frsch, 1992, Vol195, P 99.

- [42] : **Zoubeidi chahinaz**, Etude antioxydants dans le rosmarinus officinalis. labiatea, mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en chimie organique, université d'ouargla (2004), P5.
- [43] : **Bahorun, T. (1997)** Substances naturelles actives : la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food and agricultural resarch council, Réduit, Mauritius.*
83-94.
- [44] : **Martin S., Andriantsitohaina R. (2002)** Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie.* 51:304-315.
- [45] : **Heller W, Forkmann G.** The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman & Hall, London, 1993, 399-425.
- [46] : **Milane, H.,(2004)** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.
- [47] : **Dacosta, E. (2003)** Les phytonutriments bioactifs. Yves Dacosta (Ed). Paris, 317p.
- [48] **Athamena Sauad** ,(Etude Quantitative Des Flavonoides Des Graines Caminum Cyminum Et Les Feuilles De Rosmarinus Officinalis Et L'évaluation De L'activite Biologique , Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister en boiologie), Université El Hadj lakhdar-Batna (**2008**), P17 ,19,20,21.
- [49] : **Gamet-Payrastre, L., Manenti, S., Gratacap, M.P., Tulliez, J., Chap, H., Payrastre, B. (1999)** Flavonoids and the inhibition of PKC and PI 3-kinase. *General Pharmacology.* **32**: 279-286.
- [50] : **Mostafa Malcky**, (métabolisme des terpénoïdes chez les caprins), thèse pour l'obtention le grade de docteur en l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech) physiologie de la nutrition animal (biotechnologie), ecole doctorale ABIES (27mai), P13.
- [51]: **Konig M, Scholz E, Hartmann R, Lehmann W, Rimpler H.** Ellagitannins and complex tannins from *Quercus patroae* bark. *J. Nat. Prodcut.* 1994, 57: 1411-15.
- [52]: **Hagerman AE.** Chemistry of tannin-protein complexation in chemistry and significance of tannins. In R. W. Hemingway RW, Karchesy JJ. Chemistry and significance of condensed tannins. Ed. Plenum Press, New York, 1989, 323-33.
- [53]: **Dangles O, Stoeckel C, Wigand MC, Brouillard R.** Two very distinct types of anthocyanin

complexation: Copigmentation and inclusion. *Tetrahedron Lett.* 1992, 33: 5227-30.

[54] : **Yahiaoui K, 1999.** Caractérisation physico-chimique et évolution du brunissement de la datte « D-N » au cours de la maturation. Thèse Mag. I.N.A. El-Harrach

[55]: **Haslam E,1998.** Preactical polyphénolics: from structure to molecular recognition and physiological action, Cambridge University press, Combridge.

[56]: **Porter L J, Hirtstich L N, Change B J, 1986.** The conversion of procianidins and prodlephinidins to cyanidines and delphenidins, *phytochemistry.* 25, 223-230 p.

[57]: **Guingard J, 1996.** Biochimie végétale. Lavoisier, Paris, 175-192 p.

[58] : **Hemingway R W, 1992.** Structural variation in proanthocyanidins and their derivatives. In : *L pant polyphenols: synthesis, properties, significande.* Hemingway R W, Laks P. E. New York.

[59]: **Horn J, Hayes J, Lawless HT.** Turbidity as a measure of salivary protein reactions with astringent substances. *Chem. Senses* 2002, 27 (7): 653-9

[60] : **Del Bubba M, Giordanie E, Pippucci L, Cincinelli A, Checchini L, Galvan L.** Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *J. Food Comp. Anal* 2009, 22 (7-8): 668-77.

[61]: **Latte LP, Kolodziej H.** Antifungal effects of hydrolysable tannins and related compounds on dermatophytes, mould fungi and yeasts. *Naturforsch* 2000, 5 (5-6): 467-72.

[62]: **Leitao DP, Polizello AC, Ito IY, Spadaro AC.** Antibacterial screening of anthocyanic and proanthocyanic fractions from cramberry juice. *J. Med. Food* 2005, 8 (1): 36-40.

[63]: **Yamanaka N, Samu O, Nagao S.** Green tea catechins such as (-) epicatechin and (-) epigallocatechin accelerate Cu^{+2} induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett.* 1996, 401: 230-4.

[64]: **CheruvankyH.** Method for treating hypercholesterolemia, hyperlipidemia and artherosclerosis. *United States Patol.* 2004, 6 (4): 733-99.

[65] : **Notomo H, Ligo M, Hamada H, Kojima S, Isuda H.** Chemoprevention of colorectal cancer by grape seed proanthocyanidin is accompanied by a decrease in proliferation and increase in apoptosis. *Nutr. Cancer* 2004, 49 (1): 81-8.

[66] : **Gosse F, Guyot S, Roussi S, Labstein A, Fisher B, Seiler N, Raul F.** Chemopreventive properties of apple procyanidins of human colon cancer-derived metastatic SW620 cells and in a

rat model of edon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2005, 26 (7): 1291-5.

[67] : **Akroum Souâd**, (Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels), thèse En vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences, Université Mentouri Constantine (2010), P23.

[68] : **Jeun Brineton**. Pharmacognosie, phytocimie- plante médicinale. 1992, 2^{ème} édition.

[69] : **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.

[70] : **RS Farag et al**, Activity antioxidant of Spice essentiel oils, *JAOCS*, 1989, vol66, n°6, P 7

[71] : **M.T. Baratte et al**, Antimicrobial and Antioxidant Propreties of Essentiel Oils, *Flavor Fragr,J*,1998, 13, P 235.

[72] : **Zoubeidi chahinaz**, Etude antioxydants dans le *rosmarinus officinalis*. Labiatea, mémoire Pour l'obtention du diplôme de magister en chimie organique, université d'Ouargla (2004), P8.

[73] : **Jean Botton A (1999)**. Pharmacognosie « Photochimie plante « médicinales 3^{ème} éd TEC.DOC Paris. P484-p540.

[74] : **Zabeirou ; Hachimou (2005)**, (Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha Spicta L*) et de la Poivree (*Mentha Piperita L*) dans la région d'Ouargla) , Mémoire de DES Biochimie –Université de Kasdi Merbbah _Ouargla .p16

[75] : **Makhloufi ahmed**, (Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) *Rosmarinus officinalis L*) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru), these pour obtenir le grade de docteur en biologie (Diplôme d'Etat), universite aboubaker belkaid tlemcen (2012).

[76]: **Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M.B., Taghizadeh, M., Astaneh S.A., Rasooli, I(2007)** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chem.* 102: 898-904.

[77]: **yesil celiktas o., bedir e., vardar sukan f.** In vitro antioxidant activities of *Rosmarinus officinalis* extracts treated with supercritical carbon dioxide. *Food Chemistry* (2007 a); 101 : 1457-1464.

[78] : **Ouraïni D, Agoumi A , Ismaïli-Alaoui M , Alaoui K, Cherrah Y, Amrani M, Belabbas M A,2005.** Étude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes, *J Phytothérapie* Numéro 4: 147-157

- [79]: **Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2006).** Characterization of the volatile composition of essential oil of some lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *Journal of Agriculture and Food chemistry*. 54, 1822-1828
- [80]: **Bruneton J, (1993).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} édition. Édition Tec et Doc .Paris, France, 3
- [81]: **Guenter E (1975).** The essential oils Vol II, III, IV, V, VI, and D. Van No strand Ed. New York USA
- [82]: **Bruneton, J (1999)** .Pharmacognosie ,phytochimie ,plantes médicinales.3^{ème} Edition.Tec & Doc (Ed) .Paris,p.575
- [83]: **Frouhat zoulkha et Lahcini Basma,** (Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*), mémoire pour l'obtention du diplôme de master académique en biochimie appliquée, université kasdi merbah –ouargla (2013), p27, 28,28.
- [84]: **Gildemeister E. Et Hoffmann Fr., 1912 :** Les huiles essentielles. 2^{ème} Edition. Edition Schimmel & Cie, Miltitz près leipzig.
- [85]: **Sardans J., Rodà F. et Peñuelas J., 2005:** Effects of water and a nutrient pulse supply on *Rosmarinus officinalis* growth, nutrient content and flowering in the field. *Enviro. Experi. Botany*. Vol. 53. pp : 1 – 11
- [86]: **Weerakkody N.S., Caffin N., Turner M. S. et Dykes G. A., 2010 :** *In vitro* antimicrobial activity of less-utilized spice and herb extracts against selected food-borne bacteria. *Food Control*, Vol.21, pp : 1408-1414.
- [87]: **Romano C.S., Abadi K., Repetto V., Vojnov A.A. et Moreno S., 2009** Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chem.*, Vol. 115, pp: 456-461.
- [88]: **L'AFNOR** présente la troisième édition du recueil de normes françaises documentation, à jour à la date du **30 août 1986**. Les textes des normes.
- [89]:**Singleton,V.L.;Rossi,J.A.** Colorimetry of total phenolics with phosphor molybdic phosphor tungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 1965, 16, 144-158
- [90]: Les compositions phénoliques des végétaux : par **P. Ribereau-Gayou, Dunod, Paris 1968,** 254
- [91]: **Bruneton, J.,** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd., revue e augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales,)p 1288 ,2009 ISBN 978-2-7430-1188-8)

[92]: **Kevin M. Davies**, « Modifying Anthocyanin Production in Flower », in K.Gould et al" anthocyanins Biosynthesis, Functions and Applications", Springer,.**2009**

[93]: **King, Martin Luther, Jr. 1967.**" Where Do We Go From Here? "Annual Report Delivered at the 11th Convention of the Southern Christian Leadership Conference, August 16, Atlanta, GA. (Excerpts)

[94]: **Karin Schwarz and Waldemar Ternes**, Isolation and Formation of Other Phenolic mDiterpens, Z, Lebenson unter frsch, **1992**, Vol195, P 99.

[95]: **S. L. Richeimer et al**, *Rosmary Antioxidants*, JAOCS, **1996**, vol 73, n°4, P 507

[96]: **Markides, Kyriakos S., Black, Sandra A. (1996)**, Aging and bealth behaviors in Mexican Americans. Family and community health. 19, (2), 11-18.

Résumé

Rosmarinus Officinalis est une plante à plusieurs composés chimiques telles que les flavonoïdes, les terpènes,... Les feuillages aromatiques rappelant l'encens et le pin, contient des substances qui facilitent l'excrétion de la bile dans l'intestin, favorisant ainsi la digestion des graisses et le transit intestinal.

Son huile essentielle est antibactérienne, stimulante mais peut être toxique à dose exagérée.

Le romarin contient des substances au potentiel pharmacologique très intéressant et c'est une plante à utiliser dans l'alimentation pour ses pouvoirs anti-radicaux

Mots clés : Rosmarinus Officinalis , flavonoïdes, terpènes

المُلخَص

إكليل الجبل هو نبات له عدة مركبات كيميائية مثل الفلافونويدات، التربينات، وأوراق الشجر العطرية ... ذات رائحة وزيوت ومواد تعمل على تسهيل هضم الدهون.

زيتها الطبيعي مضاد للجراثيم، بشكل جيد ولكن يمكن أن تكون سامة عند الجرعات المفرطة .

إكليل الجبل يحتوي على مواد ذات إمكانات مثيرة للاهتمام صيدلانيا فهي نباتات مستخدمة نظرا لقوة مكافحتها المضادة للجذور الحرة.

الكلمات المفتاحية : إكليل الجبل ، الفلافونويدات، التربينات

ASBECT

Rosmarinus officinalis is a plant has several chemical compounds such as flavonoids, terpenes, aromatic foliage ... recalling incense and pine, contains substances that facilitate the excretion of bile into the intestine, promoting digestion fat and intestinal transit.

Its essential oil is antibacterial, challenging but can be toxic in excessive doses.

Rosemary contains substances very interesting pharmacological potential and is a plant used in food for its anti-radical power

Key words : Rosmarinus officinalis , flavonoids, terpenes