

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie
Laboratoire des « Produits Naturels »
Laboratoire « Antibiotiques et Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et
Activité biologique »

MEMOIRE

Présenté par :

CHAIB DRA Ghizléne

En vue de l'obtention du **Diplôme de MASTER en BIOLOGIE**
Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

**Composition et activités biologiques de l'huile essentielle
de *Rosmarinus officinalis* (Klil) de la région de Béchar**

Soutenu, le 08/07/2020, devant le jury composé de :

Président :

M^{elle} BENARIBA N.

Maître de Conférences « A »

Université de Tlemcen

Encadreur :

M^{me} BEKHECHI C.

Professeur

Université de Tlemcen

Examineur :

M^{me} CHAOUCHÉ F.

Maître de Conférences « A »

Université de Tlemcen

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir accordé la force et la patience afin de pouvoir réaliser ce travail.

Tout d'abord, je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à mon encadreur M^{me} BEKHECHI Chahrazed, Professeur à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté de diriger ce travail, ainsi que pour sa patience, sa disponibilité, ses conseils et son soutien durant la réalisation de ce mémoire.

J'adresse également mes remerciements les plus profondes à Monsieur le Professeur TOMI Félix, directeur de l'équipe « Chimie & Biomasse », à l'université de Corse, pour la caractérisation des huiles essentielles par CPG-Ir et CPG/SM.

Je tiens également à remercier M^{lle} BENARIBA N. Maître de Conférences « A », à l'université de Tlemcen. Vous me faites un très grand honneur en acceptant de présider ce jury.

J'exprime ma profonde reconnaissance à M^{me} CHAOUCHE F. Maître de Conférences « A », à l'université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie également M^r MALTI Charaf Eddine, Docteur en Biologie, à l'université Tlemcen, pour son aide, et pour sa disponibilité au laboratoire durant tout le long de ce travail.

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

A mes parents pour leurs encouragements, leur patience et leur soutien tout au long de mon long parcours scolaire à ce jour, ce travail reflète le fruit de leur éducation et leur attention qu'ils m'ont réservé.

A mon cher mari qui m'encourage toujours à aller plus loin.

A mes chers frères

A ma chère sœur

A ma belle mère qui m'a tant aidé dans les moments les plus durs

المخلص

التكوين والأنشطة البيولوجية للزيت العطري ل *Rosmarinus officinalis* (Klil) من منطقة بشار

في هذا العمل الحالي ، اقترحنا من ناحية ، تحديد التركيب الكيميائي ومن ناحية أخرى ، دراسة القدرة البيولوجية (المضادة للأوكسدة والمضادة للميكروبات) للزيت العطري لأوراق نبات طبي جزائري ، وهي : *Rosmarinus officinalis* التي تنمو تلقائياً ، في منطقة بشار (في جبل عنتر) التي تم جمعها بعد الإزهار على مدى فترتين مختلفتين.

أخذنا 36 عينة (21 في أبريل و 15 في نوفمبر 2019) من أقدام فردية. تم الحصول على الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي بواسطة جهاز من نوع Clevenger. أوراق هذه الأنواع النباتية غنية بالزيوت العطرية ، مع غلافة متفاوتة تتراوح من 1.11 إلى 2.49٪.

الجزء الأول يتعلق بدراسة الخواص الكيميائية للزيت العطري لـ 36 عينة من *R. officinalis* ، بواسطة التحليل الكروماتوغرافي الغازي (CPG(Ir)) و التحليل الكروماتوغرافي الغازي/ قياس الطيف الكتلي (CPG-SM) بعد ملاحظة الاختلافات في تكوين ومحتويات مركبات الكيميائية للأغلبية ، تم إخضاع نتائج التركيب الكيميائي لل 36 عينة للتحليل الإحصائي الذي يشير إلى وجود مجموعتين رئيسيتين ، تم تمييزهما على أساس 1.8 محتويات سينول والكافور. بعد ذلك ، جمعنا الزيت العطري من العينات بنفس الملف الكيميائي للحصول على ما يكفي من الزيت الأساسي والقدرة على القيام بالأنشطة البيولوجية. وهكذا ، شكلنا عينتين EC 1 و EC 2. حدد التحليل 21 مركباً يمثل 99.1 و 98.8٪ من إجمالي التكوين ، على التوالي. ويهيمن على عينتين إلى حد كبير احادي التربان ، أساس احادي التربان المؤكسد. 1،8-سينيبول (66.9%) هو مركب الأغلبية في عينة EC 1. ويحتوي أيضاً على α -بينين (5.1٪) ، β -بينين (6.0٪) ، لينالول (6.1٪) و α -ترينيبينول (3.9٪) ، بكميات كبيرة. من ناحية أخرى ، فإن عينة EC 2 أقل ثراءً في 1،8-سينيبول (49.5٪) ولكنها تحتوي على كمية أكبر من الكافور (16.9٪ مقابل 1.5٪) في EC 1 ، تليها α -بينين (6.8٪) ، β -بينين (5.1٪) ، بورنيول (5.0٪) ولينالول (3.2٪).

تم تخصيص الجزء الثاني لدراسة القدرة البيولوجية. تم تقييم القدرة المضادة للأوكسدة بطريقة تثبيط الجذر الحر DPPH. كانت عينة EC 2 هي الأكثر نشاطاً ، حيث كان IC_{50} من ترتيب 21.33 ± 0.51 ملغ/مل ، ولكن يبقى بشكل أقل نشاطاً مقارنة بالمركب المرجعي ، حمض الأسكوربيك ($IC_{50} = 0.02 \pm 0.001$ ملغ/مل وأخيراً ، اختبرنا القدرة المضادة للبكتيريا للزيت العطري للعينتين بطريقة نشر القرص ضد ستة سلالات بكتيرية (*Escherichia coli* ، *Pseudomonas aeruginosa*) ، كانت *Staphylococcus aureus* ، *Bacillus cereus* ، *2 Klebsiella pneumoniae* كانت الأدنى للتثبيط حوالي 14.0 مم ، بينما وجد أن *Escherichia coli* هي الأكثر حساسية للزيت العطري لعينة EC 2 ، بقطر قيم التركيز الأدنى للتثبيط التي تبلغ 12.0 مم. أخيراً ، بسبب الأزمة الصحية الناجمة عن الفيروس التاجي (Covid-19) ، لم نتمكن من تقييم القوة المضادة للفطريات لهذه الزيوت العطرية ضد الفطريات وكذلك النشاط المضاد للالتهابات عن طريق اختبار تثبيط تكسير الدهون في المختبر.

الكلمات المفتاحية : *Rosmarinus officinalis* ، الزيت العطري ، التركيب الكيميائي ، CPG(Ir) ، CPG-SM ، النشاط المضاد للأوكسدة ، DPPH ، IC_{50} ، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Composition et activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Klil) de la région de Béchar

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposés d'une part, de déterminer la composition chimique et d'autre part, d'évaluer les activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire) de l'huile essentielle des feuilles d'une plante médicinale algérienne, à savoir : *Rosmarinus officinalis* qui pousse spontanément, dans la région de Béchar (à Djebel Antar) récoltée après floraison sur deux périodes différentes.

Nous avons prélevé 36 échantillons (21 en avril et 15 en novembre 2019) sur des pieds individuels. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. Les feuilles de cette espèce végétale sont riches en huiles essentielles, avec des rendements variables, allant de 1,11 à 2,49%.

La première partie est consacrée à la caractérisation chimique de l'huile essentielle des 36 échantillons de *R. officinalis*, par des techniques chromatographique et spectroscopique (CPG-Ir et CPG-SM). Ayant observé des variations concernant la composition et les teneurs des composés majoritaires, les résultats de la composition chimique des 36 échantillons ont été soumis à l'analyse statistique qui a suggéré l'existence de deux groupes principaux, qui ont été distingués sur la base des teneurs en 1,8-cinéole et en camphre. Ensuite, nous avons regroupé l'huile essentielle des échantillons ayant le même profil chimique pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué deux échantillons « communelle » (EC 1 et EC 2). L'analyse a permis d'identifier 21 composés représentant 99,1 et 98,8% de la composition totale, respectivement. Les deux échantillons sont largement dominés par des monoterpènes, principalement des monoterpènes oxygénés. Le 1,8-cinéole (66,9%) est le composé très majoritaire dans l'échantillon EC 1. Il contient aussi : α -pinène (5,1%), β -pinène (6,0%), linalol (6,1%) et α -terpinéol (3,9%), présents en quantités appréciables. Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en 1,8-cinéole (49,5%) mais, il contient une quantité plus importante en camphre (16,9% contre 1,5% dans EC 1), suivi de : α -pinène (6,8%), β -pinène (5,1%), bornéol (5,0%) et linalol (3,2%).

La deuxième partie a été consacrée à l'étude des activités biologiques. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la méthode de la réduction du radical DPPH. L'échantillon EC 2 s'est montré le plus actif, avec une CI_{50} de l'ordre de $21,33 \pm 0,51$ mg/ml, mais qui reste nettement moins actif par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$ mg/ml). Enfin, nous avons testé l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux échantillons par la méthode de diffusion sur disque vis-à-vis de six souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*). *Staphylococcus aureus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 1, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 14,0 mm, alors qu'*Escherichia coli* s'est révélé le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 12,0 mm.

Enfin, à cause de la crise sanitaire due au coronavirus (Covid-19), nous n'avons pas pu évaluer le pouvoir antifongique de ces huiles essentielles contre le mycélium ainsi que l'activité anti-inflammatoire par le test d'inhibition de la lipoxygénase *in vitro*.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, composition chimique, CPG(Ir), CPG-SM, activité antioxydante, DPPH, CI_{50} , pouvoir antibactérien.

Abstract

Composition and biological activities of essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Klil) of Béchar

In this present work, we proposed on the one hand, to determine the chemical composition and on the other hand, to evaluate the biological activities (antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory) of the essential oil of the leaves of an Algerian medicinal plant, namely: *Rosmarinus officinalis* which grows spontaneously, in the region of Béchar (in Djebel Antar) harvested after flowering over two different periods.

We took 36 samples (21 in April and 15 in November 2019) from individual plant. The essential oils were obtained by hydrodistillation with a Clevenger apparatus. The leaves of this plant species are rich in essential oils, with varying yields, ranging from 1.11 to 2.49%.

The first part is devoted to the chemical characterization of the essential oil of the 36 samples of *R. officinalis*, by chromatographic and spectroscopic techniques (GC(RI) and GC-MS). Having observed variations in the composition and contents of the major compounds, the results of the chemical composition of the 36 samples were subjected to statistical analysis which suggested the existence of two main groups, which were distinguished on the basis of 1,8-cineole and camphor contents. Then, we grouped the essential oil from the samples with the same chemical profile to have enough essential oil and to be able to carry out biological activities. Thus, we constituted two “communal” samples (EC 1 and EC 2). The analysis identified 21 compounds representing 99.1 and 98.8% of the total composition, respectively. The two samples are largely dominated by monoterpenes, mainly oxygenated monoterpenes. 1,8-cineole (66.9%) is the major compound in the EC 1 sample. It also contains: α -pinene (5.1%), β -pinene (6.0%), linalool (6.1%) and α -terpineol (3.9%), present in appreciable amounts. Contrariwise, the EC 2 sample is less rich in 1,8-cineole (49.5%) but, it contains a greater amount of camphor (16.9% against 1.5% in EC 1), followed by: α -pinene (6.8%), β -pinene (5.1%), borneol (5.0%) and linalool (3.2%).

The second part was devoted to the study of biological activities. The antioxidant power was evaluated by the method of reduction of the DPPH radical. The EC 2 sample was the most active, with an IC_{50} of the order of 21.33 ± 0.51 mg/ml, but which remains clearly less active compared to the reference compound, ascorbic acid ($IC_{50} = 0.02 \pm 0.001$ mg/ml). Finally, we tested the antibacterial activity of the essential oil of the two samples by the method of disc diffusion against six bacterial strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*). *Staphylococcus aureus* was the most sensitive to the essential oil of EC 1 sample, with a diameter of the inhibition zone of around 14.0 mm, while *Escherichia coli* was found to be the most sensitive to the essential oil of the EC 2 sample, with a diameter of the inhibition zone of the order of 12.0 mm.

Finally, because of the health crisis due to the coronavirus (Covid-19), we were unable to evaluate the antifungal power of the essential oils against the mycelium as well as the anti-inflammatory activity by the inhibition test of the lipoxygenation in vitro.

Key words: *Rosmarinus officinalis*, essential oil, chemical composition, GC(RI), GC-MS, antioxidant activity, DPPH, IC_{50} , antibacterial power.

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Abstract	
المخلص	
Table des matières	
Table des illustrations	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Première partie : synthèse bibliographique de <i>Rosmarinus officinalis</i>.....	3
I. Description de la famille des Lamiacées.....	4
II. Description botanique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
III. Systématique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	5
IV. Répartition de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
V. Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
VI. Usages thérapeutiques de <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
VII. Travaux antérieurs.....	7
VII.1. Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
VII.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	15
Deuxième partie : Partie expérimentale.....	17
I. Matériel végétal.....	18
II. Extraction des huiles essentielles.....	18
III. Calcul des rendements en huiles essentielles.....	19
IV. Analyse des huiles essentielles.....	19
IV.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	19
IV.1.1. Conditions opératoires.....	20
IV.1.2. Identification des constituants.....	20
IV.2. Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM).....	20
IV.2.1. Conditions opératoires.....	20
IV.2.2. Identification des constituants.....	20
V. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin.....	21
V.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	21

V.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl).....	22
V.2. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	23
V.2.1. Provenance des germes.....	23
V.2.2. Mise en culture des souches.....	24
V.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	24
a- Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme).....	24
Troisième partie : Résultats et discussion.....	26
I. Extraction des huiles essentielles.....	27
II. Calcul des rendements.....	28
III. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i>	29
IV. Etude des activités biologiques des feuilles de <i>R. officinalis</i>	31
IV.1. Etude de l'activité antioxydante.....	32
IV.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	34
IV.2.1. Détermination de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque.....	34
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	41
Annexes.....	50

Table des illustrations

Liste des photos

- Photo 1 :** Vue d'ensemble d'un pied de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Station de Béchar, le 12/04/19).....5
- Photo 2 :** Feuilles, inflorescences et fleurs de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Station de Béchar, le 12/04/19).....5
- Photo 3 :** Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger.....19
- Photo 4 :** Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de la ciprofloxacine.....35
- Photo 5 :** Faible inhibition d'*Escherichia coli* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1.....36
- Photo 6 :** Résistance de *Klebsella pneumoniae* 2 par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1.....36
- Photo 7 :** Faible inhibition de *Klebsella pneumoniae* 1 par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1.....36
- Photo 8 :** Inhibition modérée de *Staphylococcus aureus* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1.....36
- Photo 9 :** Inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 2.....37

Liste des figures

Figure 1 : Quelques caractéristiques de la famille des Lamiacées.....	4
Figure 2 : Aire de distribution de <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
Figure 3 : Structures de quelques composés de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i>	7
Figure 4 : Situation géographique du lieu des prélèvements de <i>Rosmarinus officinalis</i>	18
Figure 5 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	22
Figure 6 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> de l'échantillon EC 1.....	32
Figure 7 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> de l'échantillon EC 2.....	32

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composés majoritaires identifiés dans les 44 échantillons récoltés en Sicile.....	9
Tableau 2 : Origines des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	23
Tableau 3 : Rendements (en %) en huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i> récoltées en mois d'avril.....	28
Tableau 4 : Rendements (en %) en huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i> récoltées en mois de novembre.....	28
Tableau 5 : Composition chimique de huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i> des deux échantillons « communelle ».....	31
Tableau 6 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i> des deux échantillons exprimée en CI ₅₀	33
Tableau 7 : Moyennes des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des deux échantillons (EC 1 et EC 2) de l'huile essentielle des feuilles de <i>R. officinalis</i> relatives aux souches bactériennes selon la méthode de disque.....	34

Introduction

L'homme s'est toujours servi des plantes médicinales qui constituent une source naturelle de molécules chimiques que ce soit pour le plaisir du goût (cuisine), ou pour se soigner (phytothérapie ou aromathérapie) et c'est ce qu'on appelle la médecine traditionnelle qui utilisent des plantes pour des applications sous forme d'emplâtre, tisanes ou des décoctions grâce à la présence des substances bioactives ayant des propriétés thérapeutiques (antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antidiabétique, etc.). Ces connaissances se sont transmises de génération en génération et jusqu'à maintenant plusieurs populations préfèrent l'utilisation des plantes médicinales au lieu des médicaments.

Depuis quelques années, de nombreux chercheurs ont commencé à étudier scientifiquement les plantes traditionnelles et en particulier leurs huiles essentielles grâce à la présence des principes actifs qui sont bénéfiques offrant un large champ d'application : cosmétique, pharmaceutique, parfumerie, etc.

Le but de ces recherches est d'évaluer leurs activités biologiques telle que : l'activité antioxydante et antimicrobienne qui sont devenues des tâches très utile et très intéressante pour la découverte de nouveaux produits naturels qui remplacent les médicaments.

Ces derniers temps, l'apparition de la résistance des souches microbiennes aux médicaments est devenue un problème très fréquent ce qui pousse les populations à l'utilisation des vertus antimicrobiennes des huiles essentielles des plantes médicinales.

En plus de l'augmentation de la fréquence des infections dues aux germes multi-résistants, il y a les radicaux libres qui lorsqu'ils sont en surcharge, ils provoquent le stress oxydatif. Ce dernier peut provoquer de nombreuses pathologies telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, etc. C'est pour cela que les scientifiques s'intéressent à la recherche de l'activité anti-radicalaire des plantes médicinales pour minimiser l'influence de ces radicaux libres sur les cellules humaines.

La flore algérienne est très diversifiée, ceci a rendu la recherche et l'évaluation des activités biologiques des plantes médicinales très intéressante et indispensable. Dans ce contexte, nous nous sommes proposés de déterminer les activités biologiques : antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire de l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* poussant à l'état spontané dans la région de Béchar. A notre connaissance, l'espèce de cette région n'a jamais fait l'objet d'une étude de la composition chimique. Cependant, un produit naturel se présente presque toujours sous la forme d'un mélange complexe pouvant renfermer une centaine (et parfois plus) de composés. Ainsi, la valorisation de ces produits naturels nécessite généralement une connaissance précise de leur composition chimique.

Ce mémoire est structuré en 3 grandes parties :

La première partie concerne la synthèse bibliographique qui regroupe la description botanique de *Rosmarinus officinalis*, les propriétés thérapeutiques et les travaux antérieurs.

La deuxième partie concerne les données expérimentales dont laquelle, nous détaillons la cueillette du matériel végétal, l'extraction des huiles essentielles des feuilles de *R. officinalis* ainsi leur caractérisation par les techniques chromatographique et spectroscopique (CPG(Ir) et CPG-SM). Ensuite, nous décrivons les méthodes utilisées pour l'évaluation des activités biologiques : antioxydante, antibactérienne, antifongique et anti-inflammatoire.

Dans la troisième et dernière partie, nous rapportons les résultats obtenus qui vont être interprétés et discutés par rapport aux données de la littérature sur cette plante.

Enfin, ce mémoire s'achève par une conclusion et quelques perspectives.

Synthèse Bibliographique

Le romarin dont le genre est *Rosmarinus*, est un arbrisseau de 50 cm à 1 m, à feuillage persistant, très aromatique, qui fait partie de la famille des Lamiacées (Couplan et Styner, 2012). Du latin « ros » apparenté à « rhus » qui signifie : arbrisseau ou buisson (Fournier, 2010) et « marinus » : de la mer (Rameau *et al.*, 2008).

I. Description de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées est une famille très importante dans la flore de l'Algérie qui comprend des arbustes, des sous-arbrisseaux ou des plantes herbacées, en général odorantes et à tiges quadrangulaires avec une inflorescence en cyme axillaires plus ou moins contractées stimulant souvent des verticilles ou bien condensées au sommet des tiges et stimulant des épis. Les genres de cette famille (Figure 1) portent généralement des feuilles opposées sans stipules et des fleurs pentamères hermaphrodites, avec calice à 5 divisions bilabiées et persistant. Une corolle généralement bilabiée, longuement tubuleuse, parfois à 4-5 lobes sub-égaux ou à une seule lèvre (Quézel et Santa, 1963). Une lèvre supérieure bilobée qui protège généralement les étamines et le stigmate, alors que la lèvre inférieure trilobée fournit une piste d'atterrissage et est souvent remarquable (Judd *et al.*, 2002). Les étamines sont au nombre de 4, la cinquième nulle ou très réduite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Les anthères sont à loges parfois dissociées et à connectif très différencié. Le style bifide est généralement gymnobasique. L'ovaire supère est constitué de 2 carpelles originellement bi-ovulés, ensuite uniovulés par la constitution d'une fausse cloison. Les Lamiacées produisent des fruits constitués de 4 akènes plus ou moins soudés par leur face interne et diversement ornés (Quézel et Santa, 1963).

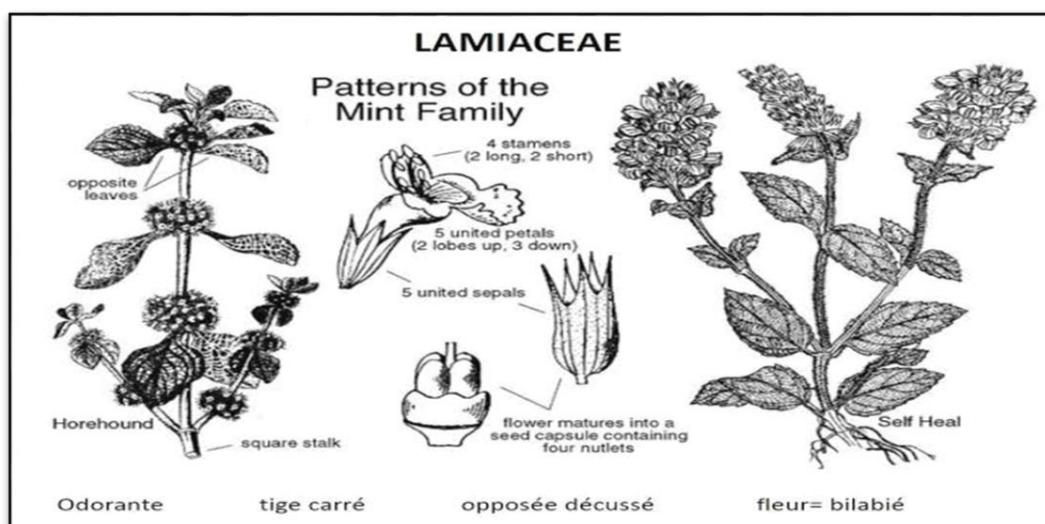


Figure 1 : Quelques caractéristiques de la famille des Lamiacées (Anonyme I)

II. Description botanique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

Le romarin possèdent des tiges ligneuses, très rameuses pourvues de feuilles linéaires de 1 à 2 cm, sessiles, opposées, de couleur verte en dessus et blanchâtre en dessous (**Couplan et Styner, 2012**) avec un sommet obtus ou arrondi, une face supérieure faiblement ridée et une face inférieure caractérisée par une nervure médiane très saillante (**Godet, 2004**).

Les fleurs de cette espèce sont réunies en petites grappes axillaires, mêlées de feuilles et terminales (**Couplan et Styner, 2012**), avec un calice en cloche, bilabié et une corolle bleue pâle ou blanchâtre à 2 lèvres (**Quézel et Santa, 1963**).

Le romarin (**Photo 1 et 2**) a une inflorescence en épis très courts, à bractées squamiformes de 1 - 2 mm rapidement caduque (**Quézel et Santa, 1963**) et ses fruits sont formés de 4 petits akènes avec une floraison toute l'année (**Couplan et Styner, 2012**).



Photo 1 : Vue d'ensemble d'un pied de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Station de Béchar, le 12/04/2019)



Photo 2 : Feuilles, inflorescences et fleurs de l'espèce *Rosmarinus officinalis* (Station de Béchar, le 12/04/2019)

III. Systématique de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

Selon l'APG III, l'espèce *Rosmarinus officinalis* est classée comme suit :

- ❖ **Clade** : Spermaphytes
- ❖ **Clade** : Angiospermes
- ❖ **Clade** : Eudicots
- ❖ **Clade** : Lamiales
- ❖ **Famille** : Lamiacées
- ❖ **Genre** : *Rosmarinus* L.
- ❖ **Espèce** : *Rosmarinus officinalis* L.

Noms vernaculaires

- **Nom en français** : Encensier, herbe aux couronnes, romarin, rose marine (**Rameau et al., 2008**).

- **Nom en arabe** : « Klil », « Hassalhan », « Iazir » (**Quèzel et Santa, 1963**).

IV. Répartition de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

Le romarin est très répandu dans le bassin méditerranéen (**Lemoine, 2001**). Il est originaire d'Afrique du nord et de l'Europe méridionale (**Figure 2**) (**Santich et Bryant, 2013**).

Cette plante croit dans les maquis, les garrigues, les lieux arides et les rocailles (**DE Bonneval, 2006**). Elle apprécie les climats tempérés et bien ensoleillés (**Chaïb, 2015**).

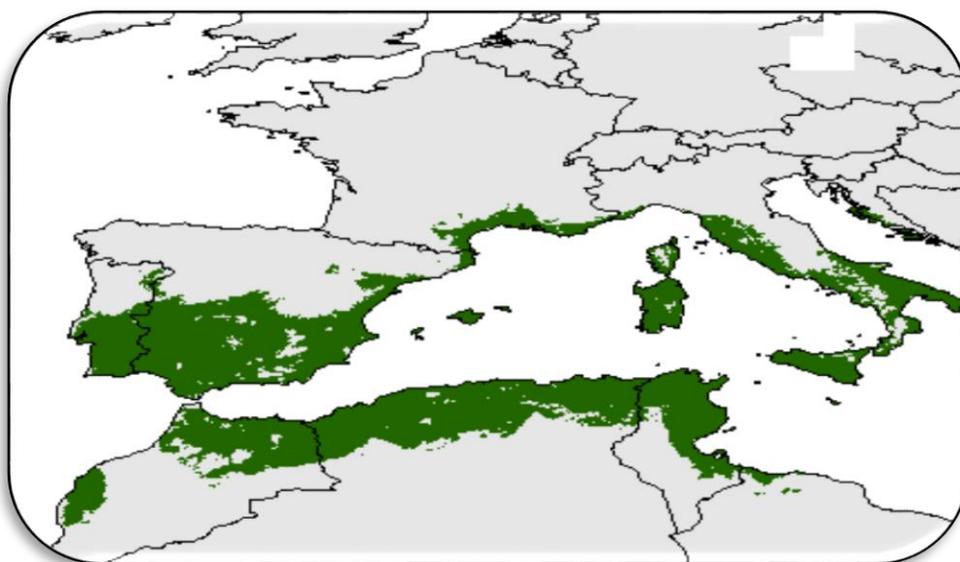


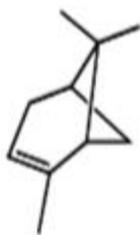
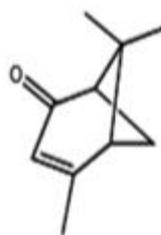
Figure 2 : Aire de distribution de *Rosmarinus officinalis* (Anonyme II)

V. Huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*

Selon la pharmacopée française 1965 : les huiles essentielles sont des produits odorantes qui renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et qui sont obtenues soit par entraînement à la vapeur, soit par distillation sèche ou par procédé mécanique approprié sans chauffage.

Leur synthèse et leur accumulation sont assurées par des structures histologiques spécialisées telles que les poils sécréteurs chez les Lamiacées.

Les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sont constituées de plusieurs composés dont les constituants majoritaires (**Figure 3**) sont : camphre, 1,8-cinéole, bornéol, camphène, α -terpinéol, α -pinène, β -caryophyllène et myrcène (**Goetz et Ghedira, 2012**). D'autres composés sont présents à teneurs appréciables, il s'agit de : verbénone, acétate de bornyle et β -pinène (**Casanova et Tomi, 2018**).

 α -pinène

Verbénone



Acétate de bornyle

Figure 3 : Structures de quelques composés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* (Casanova et Tomi, 2018)

VI. Usages thérapeutiques de *Rosmarinus officinalis*

L'homme s'est toujours servi des plantes pour aromatiser et conserver les aliments et aussi comme remède pour le traitement de nombreuses maladies humaines et c'est ce qu'on appelle la médecine traditionnelle qui est une pratique ancestrale et qui utilise ces plantes médicinales pour des applications locales sous forme d'emplâtre, des tisanes ou des décoctions grâce à leur richesse en molécules thérapeutiques.

Parmi les plantes qui ont pris un grand intérêt et qui ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche : *Rosmarinus officinalis* qui est réputé traditionnellement pour ses propriétés stimulantes. Il stimule le système nerveux et aide à favoriser la circulation au niveau cérébral. Il agit aussi sur la mémoire et prévient le vieillissement du tissu conjonctif. Il est aussi connu comme un fortifiant, un reminéralisant, un cholérétique qui augmente la sécrétion biliaire du foie, un cholagogue en facilitant l'évacuation de la bile contenu dans la vésicule biliaire, un chasseur des maux de tête et il améliore la circulation sanguine (Lemoine, 2001).

Cette plante est indiquée en cas d'état de fatigue et de stress. En usage externe, elle apaise les douleurs rhumatismales et la chute des cheveux (Chaïb, 2015).

Elle est aussi utilisée comme un antispasmodique, diurétique, vermifuge en usage interne et comme résolutive et astringente en usage externe (Fournier, 2010).

Rosmarinus officinalis est reconnaissable par la présence d'une huile essentielle qui se caractérise elle aussi par une valeur thérapeutique Elle combat les troubles digestifs et exerce une action tonique sur le cerveau, les muscles et le système cardio-vasculaire. Elle peut être employée aussi comme un anti-inflammatoire, un antiseptique et un dépurative (Chaïb, 2015) et en usage externe, elle est utilisée comme un antinévralgique (De Bonneval, 2006).

VII. Travaux antérieurs

VII. 1. Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

La composition chimique de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* a fait l'objet de très nombreuses études, répertoriées par Lawrence en 2012. Il avance qu'il s'agit d'une

huile essentielle riche en monoterpènes, principalement : l' α -pinène, le 1,8-cinéole et le camphre et une quantité plus faible en camphène, limonène, bornéol, acétate de bornyle et en verbénone (**Casanova et Tomi, 2018**). Ces mêmes auteurs ont reporté une classification des compositions d'HE de romarin spontané, poussant hors de Corse et de Sardaigne qui comprennent majoritairement l'un ou l'autre des composés suivants : verbénone, α -pinène et acétate de bornyle.

- HE contenant α -pinène et verbénone mais peu ou pas d'acétate de bornyle, en provenance de : Italie, Espagne, Bosnie-Herzégovine, Hongrie, Algérie, Tunisie, Egypte, Arabie Saoudite, Iran, Yémen, Alabama et Brésil ;
- HE de romarin contenant verbénone et acétate de bornyle mais peu ou pas d' α -pinène, en provenance de : Hongrie et Egypte ;
- Romarins contenant de la verbénone mais peu ou pas d' α -pinène et d'acétate de bornyle : Ethiopie, Algérie et Portugal. En effet, un échantillon d'HE de romarin provenant d'une station expérimentale en Pologne fait état d'une teneur en verbénone égale à 44,4% de la composition globale tandis que l' α -pinène ne représente que 3,2% et que l'acétate de bornyle n'est pas mentionné. La composition de l'HE de romarin de Turquie, subit des variations quantitatives impressionnantes. Ainsi, la teneur en verbénone du romarin d'Izmir varie de 4,4% à 43,5% entre mars et septembre. Il en est de même pour l'HE du romarin de Canakkale qui atteint 45,2% de verbénone en décembre puis chute jusqu'à 5,5% dans les mois qui suivent. Dans les deux cas, la teneur en α -pinène ne dépasse pas 14,2% tandis que l'acétate de bornyle est quasiment absent (0,2-2,3%).

Une autre classification, a été proposée par **Casanova et Tomi** en **2018** en faisant abstraction de quelques rares compositions inhabituelles :

- Huile contenant plus de 40% de 1,8-cinéole, est originaire du Maroc, Tunisie, Turquie, Grèce, Yougoslavie, Italie et France.
- Celle qui présente des teneurs comparables entre en α -pinène, 1,8-cinéole et camphre est originaire de France, Espagne, Italie, Grèce et Bulgarie.

Par contre, en Portugal, au sud de l'Espagne, et en Argentine, un autre composé est dominant, il s'agit du myrcène.

Enfin, le romarin poussant à l'état spontané en Corse et en Sardaigne produit une HE dont la composition est dominée par l' α -pinène, l'acétate de bornyle et la verbénone (**Casanova et Tomi, 2018**). Ce type chimique a déjà été rapporté par **Pintore et al.** en **2002** concernant le romarin poussant en Corse et en Sardaigne.

En 2017, *Satyal et al.* ont réalisé une étude statistique sur 6 échantillons récoltés par ces auteurs et 72 échantillons décrits dans la littérature et collectés dans différentes régions du monde. Cette analyse a suggéré cinq types chimiques. Le cluster 1 est caractérisé par l'association α -pinène/1,8-cinéole. Il est très répandu sur tous les continents : Iran, Italie, Mexique, Liban, Brésil, Elba (Italie), Chine, Sicile, Algérie, Uruguay, Maroc, Sardaigne, Corse, Kenya, Alabama (États Unis), Victoria (Australie), Népal, W. Cape (Afrique du Sud). Le cluster 2 est caractérisé par l'association verbénone/ α -pinène/camphre/1,8-cinéole. Ce cluster 2 est plus limité, il est présent en Méditerranée (Corse, Sicile, Sardaigne, Italie, Turquie) et au Yémen. Le cluster 3 est caractérisé par l'association myrcène/1,8-cinéole/camphre. Il est beaucoup moins fréquent, retrouvé en Argentine, Brésil et en Portugal. Le cluster 4 est caractérisé par l'association 1,8-cinéole/camphre/ α -pinène. Il est présent dans tous les continents : Crête, Algérie, Tunisie, Italie, Turquie, Sicile, Egypte, Tunisie, Maroc, Autriche, Allemagne, Brésil, Pakistan, Espagne, Inde, Chine. Enfin, le cluster 5 est dominé par des teneurs semblables en α -pinène, β -pinène et camphène. Il n'est retrouvé qu'au Mexique.

Précédemment à l'étude de *Satyal et al. (2017)*, *Napoli et al. (2010)* ont caractérisé l'HE de 44 échantillons provenant de plusieurs stations en Sicile. L'analyse statistique de la composition de ces échantillons a permis de définir deux groupes eux même divisés en plusieurs sous-groupes (**Tableau 1**) mais où l'on retrouve les clusters 1, 2, 4 définis dans l'étude citée précédemment.

Tableau 1 : Composés majoritaires identifiés dans les 44 échantillons récoltés en Sicile (Napoli et al., 2010)

Groupe A (13 échantillons) α -pinène associé aux : 1,8-cinéole, verbénone, camphre et bornéol		Groupe B (30 échantillons) 1,8-cinéole	
IA	α -pinène (28 - 46%), suivi de : verbénone (12 - 15%) et 1,8- cinéole (6 - 12%)	IB	1,8-cinéole (53 - 67%), α -pinène (10 - 14%)
IIA	α -pinène (46%), bornéol (12%) et camphène (10%)	IIB	1,8-cinéole, suivi de camphre et d' α - pinène
IIIA	verbénone (22 - 23%), camphre (15%) et 1,8-cinéole (15 - 16%)	IIIB	1,8-cinéole, une faible teneur en camphre, une teneur appréciable en thymol (12%) et absence de la verbénone
IV-VIA	Quantités comparables en 1,8- cinéole/ α -pinène et des teneurs appréciables en camphre et bornéol.	IVB	1,8-cinéole, suivi d' α -pinène (22 - 23%) et une quantité appréciable en bornéol (3 - 13%).
		VB	Quantités comparables en 1,8-cinéole/ α - pinène et une teneur appréciable en camphre (11 - 17%)

Récemment, en 2019, **Melito et al.** ont déterminé la composition chimique de 60 échantillons de l'huile essentielle des parties aériennes de *R. officinalis* récoltés dans cinq stations en Sardaigne. Au niveau de chaque lieu de récolte, un prélèvement a été réalisé chaque mois. Ils ont identifié 27 composés dont sept constituants sont majoritaires : α -pinène (26 - 28%), camphène (5 - 8%), 1,8-cinéole (15 - 25%), bornéol (5 - 11%), camphre (3 - 12%), verbénone (6 - 15%) et acétate de bornyle (4 - 7%). Ces auteurs avancent que le type chimique « α -pinène/bornéol /acétate de bornyle/verbénone » est en accord avec le romarin de Sardaigne. Ce chémotype a déjà été décrit précédemment par **Pintore et al.** en 2002.

En ce qui concerne l'Afrique du Nord, divers articles font état de romarins poussant à l'état spontané ou cultivé.

Dans la majorité des travaux antérieurs, l'huile essentielle du romarin de Tunisie est caractérisée par 1,8-cinéole (35,3 - 60,4%) très majoritaire (**Marzouk et al., 2006 ; Zaouli et Boussaid, 2008 ; Akrouit et al., 2010 ; Marzouk et al., 2011 ; Kadri et al., 2011 ; Mathlouthi et al., 2012 ; Hcini et al., 2013 ; Ben Jemia et al., 2014 ; Yeddes et al., 2018 ; Ben Kaab et al., 2019 ; Ben Abada et al., 2020 ; Moumni et al., 2020**), ou bien associé au camphre (8,5 - 30,2%), à l' α -pinène (6,5 - 19,0%) et/ou au bornéol (3,3 - 25,0%) (**Zaouali et al., 2005 ; Akrouit et al., 2010 ; Hosni et al., 2013 ; Ben Jemia et al., 2014 ; Jridi et al., 2015 ; Yeddes et al., 2018**) et dans de rares cas au camphène (2,1 - 12,7%) (**Zaouali et al., 2005 ; Zaouli et Boussaid, 2008 ; Akrouit et al., 2010 ; Ben Jemia et al., 2014 ; Moumni et al., 2020**). Par ailleurs, **Zaouli et Boussaid (2008)** rapportent une composition d'un échantillon dominé par le camphre (28,0%) et 1,8-cinéole (22,7%) suivis d' α -pinène (13,3%) et camphène (11,6%). Un autre échantillon décrit par **Jardak et al. (2017)** contient 1,8-cinéole (23,6%) comme composé majoritaire, associé aux : camphène (12,8%), camphre (12,6%), β -pinène (12,3%) et γ -terpinène (7,6%). Par contre, les composés majoritaires dans un échantillon décrit par **Farhat et al. (2017)** sont l' α -pinène (35,6%) et le 1,8-cinéole (20,8%), suivis du camphre (17,0%), isobornéol (8,4%) et de myrténal (7,4%). En revanche, deux compositions inhabituelles ont été ponctuellement décrites. Un échantillon est caractérisé par l'association : myrthénol (17,5%), 1,8-cinéole (16,3%), camphre (15,7%) et bornéol (14,1%) (**Khalil et al., 2015**), alors que le deuxième échantillon contient de la verbénone (21,0%) comme composé majoritaire et absence totale de l' α -pinène et du 1,8-cinéole (**Mhiri et al., 2018**). Cependant, Il est à noter que la verbénone est absente dans la moitié des échantillons décrits dans la littérature. Lorsqu'elle est trouvée, elle est présente en faible teneur (jusqu'à 0,8%), à l'exception d'un échantillon qui contient une teneur appréciable en verbénone jusqu'à 13% (**Akrouit et al., 2010**).

De même, en ce qui concerne les travaux antérieurs réalisés sur la caractérisation chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* récoltés dans différentes régions du Maroc, le 1,8-cinéole (23,7 - 63,7%) est le composé majoritaire (Elamrani *et al.*, 2000 ; Lahlou et Berrada, 2003 ; Mouchid *et al.*, 2004 ; Wanner *et al.*, 2010 ; Fadli *et al.*, 2011 ; Ait-Ouazzou *et al.*, 2011 ; Alnamer *et al.*, 2011 ; Bouyahya *et al.*, 2017 ; Hannour *et al.*, 2017 ; Ismaili *et al.*, 2017 ; El Kamli *et al.*, 2019 ; Elyemni *et al.*, 2019 ; Chraib *et al.*, 2020), associé au camphre (5,3 - 21,3%), à l' α -pinène (2,5 - 23,5%) (Elamrani *et al.*, 2000 ; Lahlou et Berrada, 2003 ; Mouchid *et al.*, 2004 ; Wanner *et al.*, 2010 ; Fadli *et al.*, 2011 ; Ait-Ouazzou *et al.*, 2011 ; Alnamer *et al.*, 2011 ; Bouyahya *et al.*, 2017 ; Hannour *et al.*, 2017 ; Ismaili *et al.*, 2017 ; El Kamli *et al.*, 2019 ; Elyemni *et al.*, 2019 ; Chraib *et al.*, 2020) et dans certains cas, au bornéol (2,6 - 15,5%), à l' α -terpinéol (3,1 - 8,1%), au β -pinène (2,9 - 8,6%) (Elamrani *et al.*, 2000 ; Lahlou et Berrada, 2003 ; Mouchid *et al.*, 2004 ; Wanner *et al.*, 2010 ; Fadli *et al.*, 2011 ; Alnamer *et al.*, 2011 ; Bouyahya *et al.*, 2017 ; Hannour *et al.*, 2017 ; Ismaili *et al.*, 2017 ; El Kamli *et al.*, 2019 ; Elyemni *et al.*, 2019 ; Chraib *et al.*, 2020) et au camphène (6,8 - 9,8%) (Alnamer *et al.*, 2011 ; Hannour *et al.*, 2017 ; Elyemni *et al.*, 2019).

Cependant, une étude faite par Tahri *et al.* (2015) rapporte une composition à 1,8-cinéole (56,5%) très majoritaire, suivi du camphre (13,6%). Une autre analyse propose aussi un composé très inhabituel dans l'huile essentielle du romarin, le cyclofenchène (13,5%) associé au 1,8-cinéole (37,1%) et au camphre (9,3%) (Messaoudi Moussi *et al.*, 2020). De même, Aitboulahsen *et al.* (2018) rapportent des quantités appréciables en (E)-2-heptenal (9,8%) et en (Z)- β -ocimène (7,7%), associés au 1,8-cinéole (35,7%), à l' α -pinène (20,0%) et au camphre (9,6%). Un autre échantillon est dominé par l' α -pinène (34,8%), associé au 1,8-cinéole (28,3%) et suivi de : camphre (10,5%) et camphène (6,2%) (Mattazi *et al.*, 2015). De même, deux autres échantillons sont riches en α -pinène (37,0 - 40,0% ; 34,0%), suivi du camphre (4,6 - 7,6% ; 11,7%) (Elamrani *et al.*, 2000 ; Lahlou et Berrada, 2003). Ils contiennent également des teneurs appréciables en camphène (4,6 - 6,7%) (Elamrani *et al.*, 2000), en bornéol (16,9%) et en 1,8-cinéole (8,7%) (Lahlou et Berrada, 2003). Enfin, Elamrani *et al.* (2000) décrivent des échantillons caractérisés par le camphre (41,7 - 53,8%) très majoritaire, suivi de : 1,8-cinéole (1,2 - 13,5%), bornéol (3,7 - 6,3%), α -terpinéol (5,1 - 6,4%), α -pinène (0,5 - 5,5%) et camphène (1,2 - 2,9%). Un autre échantillon est caractérisé par l'association bornéol (15,6%), α -pinène (15,3%), 1,8-cinéole (11,6%), camphre (11,6%), verbénone (11,2%) (Lahlou et Berrada, 2001 ; Chebli *et al.*, 2003). Elamrani *et al.* (2000) et Bouyahya *et al.* (2017)

rappellent également des quantités appréciables en verbénone (4,8 - 5,5% et 4,7%), respectivement. Cependant, la verbénone est présente en très faible teneur dans certains travaux (tr - 0,5%) (**Lahlou et Berrada, 2003 ; Fadli et al., 2011 ; Mattazi et al., 2015 ; Ismaili et al., 2017 ; El Kamli et al., 2019 ; Elyemni et al., 2019**).

En ce qui concerne l'Algérie, les données de la littérature traitant la composition chimique de l'HE de *R. officinalis* montrent une variabilité chimique importante. Peu d'échantillons correspondent au chémotype 1,8-cinéole majoritaire. L'association α -pinène, 1,8-cinéole et camphre semble la plus fréquemment retrouvée. Le camphène ou le bornéol peuvent être ponctuellement importants. La verbénone est très souvent absente mais peut atteindre jusqu'à 23%. Pour l'Algérie, il n'existe pas d'étude complète avec plusieurs échantillons collectés au sein de la même station mais plutôt un seul échantillon collecté dans une ou plusieurs stations.

En **1997**, **Arnold et al.** ont fait une comparaison entre les huiles essentielles de l'Algérie et celles d'Italie et d'Espagne. Ils ont constaté que celles d'Algérie contiennent le camphre, le camphène, l' α -pinène et 1,8-cinéole comme composés majoritaires, alors que celles d'Espagne et d'Italie contiennent le camphre, suivi par le 1,8-cinéole et le limonène.

En **1998**, **Boutekdjiret et al.** ont réalisé une étude sur la composition chimique de l'huile essentielle des différentes parties (feuilles, fleurs et tiges) de *Rosmarinus officinalis* provenant de la région de Bibans (Bordj Bou Arréridj). Cette étude montre une dominance en 1,8-cinéole (52,4%) suivi du camphre (12,6%). Par contre, en **1999**, ces mêmes auteurs ont montré que la composition chimique varie fortement au cours du cycle de développement. Ainsi, la teneur en α -pinène varie de 2,5% (bourgeon) à 17% (pleine floraison) alors que celle du 1,8-cinéole élevée au stade bourgeon et en début de floraison autour de 40% diminue autour de 17% en pleine et après floraison. La teneur en camphre est elle aussi variable avec 26% au stade bourgeon, mais seulement de 11% en pleine et après floraison.

Ensuite, en **2003**, ces mêmes auteurs ont effectué une étude sur l'influence de la méthode d'extraction sur la composition de l'huile essentielle de *R. officinalis* récolté à Porte de Fer (région de Bibans). Ils ont avancé que la teneur des composés est différente. L'huile essentielle obtenue par distillation à la vapeur contient : 52,4% en 1,8-cinéole, 12,6% en camphre, 5,7% en β -pinène et 5,2% en α -pinène alors que celle obtenue par hydrodistillation contient : 31,9% en 1,8-cinéole, 19,7% en camphre, suivi 12,1% en bornéol et 12,8% en α -terpinéol.

En **2004**, **Touafek et al.** puis **Kabouche et al.** en **2005** ont étudié également la composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* provenant du Sahara

septentrional (Oued Souf, El Oued). Le composé majoritaire est 1,8-cinéole (29,5%), suivi du camphre (11,5%) et de l' α -pinène (7,5%). Cette analyse propose aussi un composé très inhabituel, jamais trouvé dans l'huile essentielle du romarin : 2-éthyl-4,5 diméthylphénol (12,0%).

En 2005, **Boutekedjiret et al.** ont déterminé la composition chimique de l'huile essentielle de *R. officinalis* collectés dans 5 régions différentes. Ils ont trouvé que l'huile essentielle de la région de Bibans est très riche en 1,8-cinéole (52,4%), celle de Laghouat et de Djelfa sont riches en camphre (plus de 30%), celle de l'Institut national d'agronomie d'Alger est riche en α -pinène (15,5%) et celle du Parc national de l'école polytechnique d'Alger est dominée par le camphre (12,3%) et le bornéol (11,9%).

En 2007, l'étude faite par **Djeddi et al.** sur la caractérisation de l'huile essentielle de *R. officinalis* récolté pendant la période de floraison dans le parc national d'El Hamma, rapporte une composition chimique contenant du camphre (14,6%), du 1,8-cinéole (12,2%) et plus de 10% en bornéol et en β -caryophyllène.

Par contre, l'étude menée par **Atik et al.** en 2007 est basée sur la comparaison de la composition chimique des huiles essentielles provenant de 2 régions différentes : Tlemcen et Honâine. L'échantillon récolté à Tlemcen est caractérisé par l'association camphre (13,8%)/ α -pinène (12,6%)/1,8-cinéole (11,8%), alors que celui de Honâine est dominé par l' α -pinène (23,1%), suivi de camphre (14,5%) et de β -pinène (12,2%).

Giordani et al. (2008) décrivent aussi un échantillon de l'est algérien (Annaba) qui contient des teneurs comparables pour le camphre (12,6%), le 1,8-cinéole (7,9%), l' α -pinène (19,7%) et le bornéol (11,2%).

En 2009, **Bousbia et al.** ont réalisée une étude sur la comparaison de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* provenant de la région d'El Harrach (Alger) et obtenue par deux méthodes d'extraction différentes : hydrodistillation et hydrodiffusion assistée par micro-ondes. Ils ont obtenu une composition homogène du point de vue qualitatif et quantitatif. Le composé majoritaire est l' α -pinène (44,1% et 43,6% ; respectivement). D'autres constituants sont présents en quantités appréciables : camphre (7,8% ; 8,6%), verbénone (6,4% ; 7,7%), camphène (6,1% ; 6,5%) et limonène (5,5% ; 5,5%), respectivement.

Zoubiri et Baaliouamer (2011) décrivent un échantillon des parties aériennes de *R. officinalis* provenant de la région de Sétif. Il est caractérisé par l'association α -pinène (12,6%)/1,8-cinéole (13,5%)/camphre (11,8%), suivis de bornéol (9,4%) et de la verbénone (8,3%).

Lograda et al. (2013) ont décrit l'huile essentielle de parties aériennes de *R. officinalis* récoltées dans 6 régions différentes : Boussâada (M'sila) et Agmeroual (Batna), Kherrata (Béjaïa), Bibans (Bordj Bou Arreridj), Boutaleb (Sétif) et N'gaous (Batna). Deux échantillons sont caractérisés par une forte teneur en 1,8-cinéole (35,5% et 42,2%), suivi de camphre (14,5% et 9,1%) et d' α -pinène (11,4% et 13,8%). Deux autres échantillons sont dominés par le camphre (38,8% et 42,7%), suivi d' α -pinène (16,9% et 15,1%) et de camphène (13,8% et 17,7%). Un échantillon est caractérisé par l'association α -pinène (25,2%)/camphre (24,1%)/camphène (22,7%), alors que les composés majoritaires dans le dernier échantillon, sont : camphre (16,9%), α -pinène (13,6%), 1,8-cinéole (12,1%) et bornéol (11,9%).

Outaleb et al. (2015) rapportent la composition chimique de trois échantillons récoltés dans la région d'Alger. Un échantillon est très riche en α -pinène (51,8%), suivi de camphre (7,8%) et de camphène (6,2%), alors que le 1,8-cinéole est présent à l'état de trace. Une composition similaire est rapportée pour un autre échantillon, mais avec une plus faible teneur en α -pinène (24,7%) et en camphène (4,5%) et une quantité plus importante en camphre (13,8%). Un autre échantillon contient du camphre (32,0%) comme composé majoritaire et des teneurs comparables en α -pinène (20,9%) et camphène (22,0%) et une faible teneur en 1,8-cinéole (9,5%).

Belkhodja et al. (2016) ont réalisé une étude sur l'huile essentielle de *R. officinalis* de la région de Mascara. Ils rapportent une composition différente dominée par la verbénone (23,5%) et le camphre (22,4%), suivi de bornéol (16,6%). Un pourcentage aussi élevé en verbénone n'a jamais été rapporté auparavant dans les travaux réalisés en Algérie.

Boutabia et al. (2016) et **Ksouri et al. (2017)** décrivent aussi la composition chimique de quatre échantillons collectés dans la région de Tébessa. Si l'échantillon décrit par Ksouri est assez classique : 1,8-cinéole (31,5%), α -pinène (18,3%) et camphre (9,7%) associés à l' α -terpinéol (9,4%), les trois autres décrits par Boutabia sont plus originaux avec un échantillon à 1,8-cinéole très majoritaire (72,9%), suivi du camphre (17,2%) et les deux autres sont caractérisés par l'association 1,8-cinéole (32,6 et 32,8%), sabinène (15,9 et 16,0%) et camphène (14,4 et 14,5%) et contiennent des teneurs appréciables en bornéol (9,7%) et en pinocamphone (6,2%).

Hendel et al. (2019) ont décrit la composition chimique de 15 échantillons ; 11 au centre (Djelfa, Médéa, M'Sila, Bordj Bou Arreridj), trois échantillons à l'est (Oum El Bouaghi, Béjaïa, et Souk Ahras) et un à l'ouest (Oran). La composition chimique est assez variable. Douze échantillons sur 15 correspondent à l'association α -pinène (14,9 - 21,3%)/camphre (32,2 - 41,2%)/camphène (15,1 - 22,4%) avec une teneur en 1,8-cinéole

toujours inférieure à 10% (1,8 - 8,8%). Deux échantillons présentent des teneurs élevés en 1,8-cinéole dont un à l'est (43,2%, Souk Ahras) et un autre au centre (47,6%, Bordj Bou Arreridj). L'échantillon de l'ouest Algérien (Oran) est atypique avec une teneur en α -pinène élevée (28,5%) associé à des teneurs en camphre (3,1%), camphène (7,7%) et 1,8-cinéole (10,9%) faibles.

Enfin, **Zouaoui et al. (2020)** rapportent un pourcentage plus élevé en *trans*-caryophyllène (14,8%), avec le camphre majoritaire (17,5%) associé au α -pinène (9,7%) et au camphène (9,7%) pour un échantillon récolté à Biskra.

VII. 2. Activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Les propriétés biologiques de *Rosmarinus officinalis* ont fait l'objet de plusieurs études :

Goetz et Ghedira (2012) rapportent que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* possède plusieurs activités : action anti-hépatotoxique, activité anti-inflammatoire qui est due à l'acide rosmarinique, activité antioxydante qui est en partie liée à l'acide rosmarinique et 90% due aux O-diphénols diterpéniques qui inhibe la peroxydation lipidique, activité antibactérienne et antifongique qui sont dues aux principaux constituants de l'extrait chloroformique, activité antivirale due à la présence du carnosol et activité antidiabétique.

En 2007, **Gachkar et al.** ont réalisé une étude sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis de trois bactéries : *E. coli*, *S. aureus* et *L. monocytogenes*. Ils avancent que ces souches bactériennes se sont avérées sensibles à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* avec des zones d'inhibition variant entre 8,3 à 16,7 mm.

L'étude menée par **Ben Kaab et al. (2019)**, en Tunisie a montré que l'huile essentielle de *R. officinalis* a une activité antifongique à une concentration en huile essentielle de l'ordre de 6 mM, avec des pourcentages d'inhibition de la germination des spores : 86,0%, 100% et 95,4% pour *F. culmorum*, *F. oxysporum* et *P. italicum*, respectivement. Ils avancent également, une bonne activité herbicide en inhibant complètement la germination des graines de 3 mauvaises herbes (*T. incarnatum*, *S. marianum* et *P. minor*) à une concentration en HE de l'ordre de 5 mM.

En Algérie, peu de travaux ont été effectuées sur les activités biologiques de l'huile essentielle de *R. officinalis* :

En 2005, **Kabouche et al.** ont réalisé une étude sur l'activité antibactérienne vis-à-vis de huit souches microbiennes : *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens* et *S. aureus*.

Seules *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* se sont avérées sensibles, avec une CMI de l'ordre de 0,625 et 2,5 µg/ml, respectivement.

Hendel et al. (2019) ont testé l'activité antibactérienne de 15 échantillons de l'huile essentielle *R. officinalis*, récoltés dans plusieurs régions d'Algérie, vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ils avancent un pouvoir antibactérien faible voir modérée contre ces deux souches bactériennes avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 10,0 et 14,6 mm.

En revanche, l'étude réalisée par **Djeddi et al. (2007)** sur l'huile essentielle du romarin récolté pendant la période de floraison dans le parc national d'El Hamma, ont montré une forte activité contre *S. aureus*, *S. epidermis*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae* et *E. coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 19,3 et 34,1 mm, une faible activité contre *Salmonella brunei* et aucune sensibilité vis-à-vis de *C. albicans*.

De même, **Ksouri et al. en 2017** rapportent une importante activité antifongique de l'huile essentielle de *R. officinalis* vis-à-vis de plusieurs souches de *C. albicans*, avec des CMIs variant entre 24,0 et 31,1 µg/ml.

Hendel et al. en 2019 rapportent aussi une bonne activité antioxydante de certains échantillons de l'huile essentielle *R. officinalis* récoltés dans plusieurs régions en Algérie. En effet, ils avancent des CI_{50} , pour six échantillons sur quinze, variant entre $120,4 \pm 2,21$ et $176,8 \pm 15,92$ µl/ml, plus faibles que celle du trolox ($185,21 \pm 7,23$ µl/ml) qui est utilisé comme composé de référence.

Partie Expérimentale

I. Matériel végétal

Dans ce présent travail, nous nous sommes proposés d'une part, de déterminer la composition chimique et d'autre part, d'évaluer les activités biologiques (antioxydante et antimicrobienne et anti-inflammatoire) de l'huile essentielle des feuilles d'une plante médicinale algérienne, à savoir : *Rosmarinus officinalis* qui pousse spontanément, dans la région de Béchar.

La récolte de la plante a été effectuée dans une seule station à Djebel Antar de la wilaya de Béchar (**Figure 4**) qui se situe à 1150 Km au nord-est de la capitale d'Alger, à 852 Km au nord-est de Tindouf et à environ 80 Km de l'est de la frontière marocaine.

La cueillette a été réalisée sur 2 périodes différentes. L'échantillonnage a été réalisé sur 21 pieds individuels en mois d'avril 2019 et 15 pieds individuels en mois de novembre 2019. Les prélèvements ont été effectués par Dr. MALTI Charaf Eddine Watheq.

Après la récolte, les feuilles de *R. officinalis* ont été séchées à l'air libre et dans un endroit aéré pendant 10 jours.

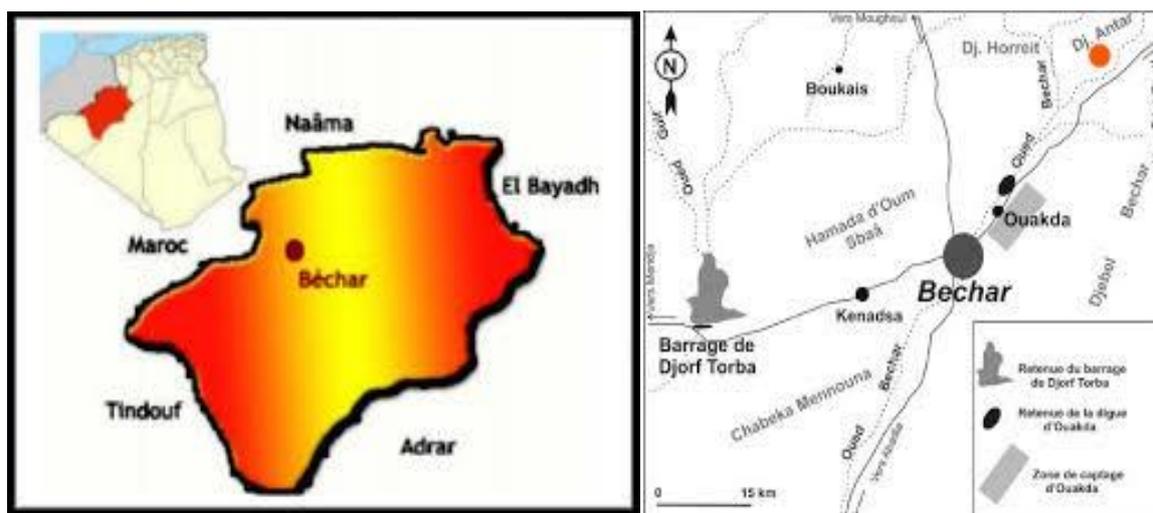


Figure 4 : Situation géographique du lieu des prélèvements de *Rosmarinus officinalis*

II. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles de *R. officinalis* a été effectuée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger (**Photo 3**), pendant une durée de 2 heures ou le matériel végétal est en contact direct avec le solvant.

Dans un ballon rempli d'eau, on a déposé les feuilles séchées de la plante à extraire puis on les a portées à ébullition. La vapeur d'eau monte dans la colonne jusqu'à atteindre le réfrigérant où elle se transforme en liquide séparant les deux phases, l'huile flotte sur l'eau qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé.

Pour éviter leur dégradation, due à l'action de l'air ou de la lumière, les huiles essentielles étaient conservées dans des piluliers en verre à $4 \pm 1^\circ \text{C}$ à l'abri de la lumière.



Photo 3 : Dispositif d'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger

III. Calcul des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétal sèche à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$\text{Rdt \%} = \text{M}/\text{M}_0 \times 100$$

Rdt% : Rendement en huile essentielle

M : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

M₀ : Masse de matière végétale à traiter (g)

IV. Analyse des huiles essentielles

L'analyse des échantillons d'huile essentielle de *R. officinalis* a été réalisée par les techniques chromatographique et spectrométrique (CPG(Ir) et CPG-SM) au niveau du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS.

IV.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)

Les analyses chromatographiques en phase gazeuse ont été réalisées à l'aide d'un appareil Perkin-Elmer Clarus 500, équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID), d'un injecteur diviseur et de deux colonnes capillaires de dimensions (50 m x 0,22 mm ; épaisseur

du film : 0,25 μm), apolaire (BP-1, polyméthylsiloxane) et polaire (BP-20, polyéthylène glycol).

IV.1.1. Conditions opératoires

Le gaz vecteur est l'hydrogène (0,8 ml/min), avec une pression en tête de colonne de 25 psi ; la température de l'injecteur et du détecteur est de 250 °C ; la température est programmée depuis 60 °C jusqu'à 220 °C, à raison de 2 °C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220 °C ; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/60.

IV.1.2. Identification des constituants

Les constituants ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention (Ir) calculés par rapport à une série d'alcane ($\text{C}_8\text{-C}_{28}$) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence contenus dans la bibliothèque du laboratoire.

IV.2. Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG-SM)

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe Perkin Elmer TurboMass doté d'un injecteur automatique et d'une colonne capillaire de silice fondue (50 m x 0,22 mm, épaisseur du film 0,25 μm), BP-1 (diméthylpolysiloxane), couplé à un détecteur de masse Perkin-Elmer TurboMASS.

IV.2.1. Conditions opératoires

Les molécules sont bombardées par un faisceau électronique de 70 eV, la détection se fait par un analyseur quadripolaire constitué d'un assemblage de quatre électrodes parallèles de section cylindrique. La température de la source est de 250 °C. Les spectres de masse obtenus par impact électronique ont été acquis sur la gamme de masse 40 - 400 Da.

Le gaz vecteur est l'hélium (0,8 ml/min), exerçant une pression en tête de colonne de 43 psi ; la température linéaire est programmée depuis 60 °C jusqu'à 220 °C, à raison de 2 °C/min, suivie d'un palier de 20 min à 220 °C ; l'injection se fait par mode split avec un rapport de division de 1/75.

IV.2.2. Identification des constituants

L'identification est basée sur la comparaison du spectre de masse, obtenu pour chacun des composés de l'huile essentielle lors de la fragmentation de nos solutés, avec une banque de spectres de produits de référence (**National Institute of Standards and Technology, 1999 ; König et al., 2001 ; Adams, 2007 ; National Institute of Standards and Technology, 2014**).

V. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin

Utilisées depuis toujours par toutes les civilisations, les plantes ont apporté aide et réconfort aux maux les plus divers. D'abord, on se servit des plantes entières pour apporter soulagement et bien-être (sous forme de cataplasmes, infusions, macérations, décoctions), ensuite l'homme s'est intéressé à « détacher de son support » le principe aromatique d'une plante (**Lardry et Haberkorn, 2007**).

A juste titre, les huiles essentielles ont prouvé leur valeur inestimable pour la santé, durant ces dernières décennies, elles sont devenues sources d'antioxydants naturels et d'agents antimicrobiens (**Bandoniène et al., 2000**). Ainsi, elles sont considérées actuellement comme des alternatives très prometteuses aux différents antibiotiques pour le traitement de diverses maladies infectieuses, mais aussi aux agents chimiques pour la conservation des denrées alimentaires, ou encore pour les produits cosmétiques (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Dans ce travail, nous avons étudié le pouvoir antioxydant, antimicrobien et anti-inflammatoire de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Ainsi, pour avoir une quantité suffisante afin de pouvoir réaliser les activités biologiques, nous avons mélangé les huiles essentielles des différents échantillons qui présentent le même profil chromatographique. Cependant, nous avons constitué deux « communelle » (EC 1 et EC 2).

V.1. Activité antioxydante de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Même si les antioxydants de synthèse sont efficaces et bon marché et que leurs doses autorisées sont largement limitées pour éviter tout problème de toxicité, on a assisté depuis les années 1980 à un engouement pour les produits naturels, et au développement d'extraits végétaux à usage antioxydant, qui auraient des propriétés biologiques pouvant contribuer à réduire le risque de certaines pathologies (**De-Reynal et Multon, 2009**).

Un antioxydant est toute substance qui à faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat, soit en piégeant les radicaux libres en captant l'électron célibataire ou en les transformant en molécule ou en ion stable (**Halliwell, 1990**).

L'activité antioxydante des plantes médicinales est évaluée par plusieurs méthodes : soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques ou par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

Dans cette partie, nous avons utilisé la méthode du piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) pour la détermination du pouvoir antioxydant des huiles essentielles de *R. officinalis* des deux échantillons « communelle », en utilisant l'éthanol comme solvant.

V.1.1. Piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)

Ce dosage spectrophotométrique est basé sur la mesure de la capacité d'un antioxydant (AH) à réduire le radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) de couleur violette foncée en DPPH-H (2,2-diphényl-1-picrylhydrazine) de couleur jaune facilement mesurable par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 515 à 520 nm (**Figure 5**). Cette réduction est due à l'aptitude des composés antioxydants à céder des électrons (**Gazi et al., 2004**).

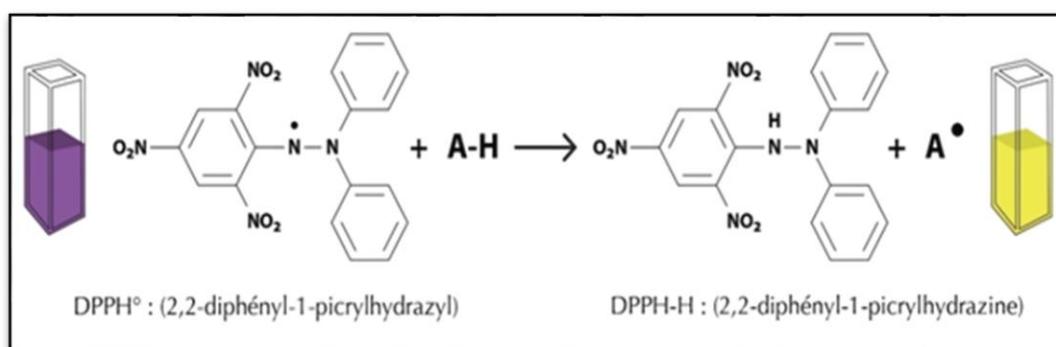


Figure 5 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

Le protocole utilisé repose sur la méthode expérimentale rapportée par **Kouame et al.** en (2017). 2,5 ml de diverses concentrations (256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 et 1 mg/ml) d'huiles essentielles préparées dans de l'éthanol absolu, sont ajoutés à 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH à 0,03 mg/ml. Pour chaque concentration, un blanc a été préparé. En parallèle, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 2,5 ml d'éthanol absolu avec 1 ml d'une solution éthanolique de DPPH. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à température ambiante, la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Nous avons effectué trois essais.

L'activité de l'huile essentielle a été comparée à l'acide ascorbique en tant que contrôle positif.

L'activité de piégeage des radicaux libres DPPH en pourcentage (%) a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = \left[\frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{test}}}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100$$

Avec : $A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle (nm)

A_{test} : Absorbance du test effectué (nm)

La concentration de l'huile essentielle nécessaire pour la réduction de 50% de la concentration initiale du DPPH* (CI_{50}), a été calculée à partir du graphique tracé en pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations en huile essentielle.

V.2. Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

La résistance multi-médicamenteuse est un problème de santé publique à l'échelle planétaire. En effet, beaucoup d'infections microbiennes telles que la tuberculose, le paludisme ou encore les maladies nosocomiales, sont devenues très résistantes aux antibiotiques. Il est donc urgent de trouver de nouvelles cibles pour de nouveaux antimicrobiens.

La détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles est réalisée vis-à-vis de six bactéries et trois champignons filamenteux en appliquant la méthode de diffusion sur disque.

V.2.1. Provenance des germes

Les souches pathogènes (**Tableau 2**) utilisées ont été choisies pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires, leurs résistances courantes à différents antibiotiques et pour leur pathogénicité.

Tableau 2 : Origines des souches utilisées pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

	Micro-organismes	Gram	Code	Origine
Bactéries	<i>Escherichia coli</i>	Négatif	ATCC 8739	LAPRONA
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	Négatif	IBMC Strasbourg	MNHN
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	Négatif	ATCC 700603	LAPRONA
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	LAPRONA
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
	<i>Bacillus cereus</i>	Positif	ATCC 25921	LAPRONA
Champignons	<i>Aspergillus flavus</i>		MNHN 994294	MNHN
	<i>Aspergillus fumigatus</i>		MNHN 566	MNHN
	<i>Fusarium oxysporum</i>		MNHN 963917	MNHN

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturelle (Paris) ; **LAPRONA** : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen) ; **ATCC** : American Type Culture Collection ; **IBMC** : Institut de Biologie Moléculaire et Cellulaire.

V.2.2. Mise en culture des souches

Une préculture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance. La turbidité est ensuite ajustée avec un spectrophotomètre, à $1-2 \times 10^8$ UFC/ml pour les bactéries ($DO = 0,08$ à $0,1$ / $\lambda = 625$ nm) (NCCLS, 2001). Pour les moisissures, les suspensions (préparées à partir d'une culture de 7 jours ayant atteint le stade de sporulation sur milieu PDA (Potato Dextrose Agar) sont ajustées à 10^6 spores/ml, ce qui correspond à une transmittance de 68-82% ($\lambda = 530$ nm) (Pfaller *et al.*, 1998).

V.2.3. Méthodes d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester à faibles concentrations. A l'heure actuelle, l'activité antimicrobienne *in vitro* d'une substance peut être mise en évidence par un grand nombre de techniques classiques, aussi bien en milieu solide qu'en milieu liquide (Fernandez et Chemat, 2012).

-a- Détermination de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque (aromatogramme)

Cette méthode qualitative teste la sensibilité ou la résistance des micro-organismes par contact direct avec les huiles essentielles. C'est une méthode qui est généralement utilisée pour la présélection de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, car le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité des huiles essentielles mais une indication qualitative de la sensibilité ou de la résistance des germes.

Un disque de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné de 15 μ l d'huile essentielle et de 5 μ l de DMSO est déposé sur la surface d'un milieu gélosé en boîte de Pétri (3 disques par boîte) préalablement ensemencées en surface en nappe avec 1 ml de suspension microbienne (10^6 UFC/ml pour les souches bactériennes sauf *Staphylococcus aureus* qui a été ensemencée à 10^7 UFC/ml et 10^4 spores/ml pour les moisissures) pendant 10 à 15 min. L'excédent de l'inoculum est éliminé par aspiration.

Les milieux de culture utilisés sont : i) gélose Mueller-Hinton pour les bactéries et ii) milieu PDA (Potato Dextrose Agar) pour les moisissures.

Les boîtes sont laissées 1 h à température ambiante puis retournées et incubées à 37 °C pendant 18-24 h pour les bactéries et à 25 °C pendant 3 à 5 jours pour les moisissures.

Les germes se développent sous forme de colonies visibles à l'œil nu pendant l'incubation de sorte qu'un halo clair autour du disque indique l'inhibition de la croissance

microbienne, dont le diamètre de ce dernier dépend de la sensibilité aux huiles essentielles et est mesuré en mm, disque inclus.

En parallèle, la sensibilité des souches microbiennes, vis-à-vis de : ciprofloxacine (CIP. 5 µg/disque) contre les bactéries ; nystatine (NY. 30 µg/disque) et fluconazole (FLU. 25 µg/disque) contre les moisissures, a été testée comme contrôle positif et du DMSO (20 µl/disque) comme contrôle négatif.

Résultats et discussion

Le romarin est une plante aromatique qui appartient à la famille des Lamiacées et qui est très fréquente dans la plaine, les collines et les pays à hivers doux. C'est une plante typique du maquis, il se trouve dans toutes les contrées mondiales de l'Europe, plus particulièrement sur le pourtour méditerranéen, de préférence dans les lieux secs, arides et ensoleillés, à l'état sauvage, il se trouve sur des sols calcaires.

Le romarin est une plante célébrée par la médecine, la cuisine et la littérature. En effet, nous avons recensé dans la littérature une centaine de publications qui décrivent la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* de diverses origines.

En Algérie, plusieurs travaux ont été réalisés sur la composition chimique de cette espèce végétale et ceci depuis 1997. Si le camphre, le 1,8-cinéole, l' α -pinène sont les composés majoritaires les plus fréquemment identifiés avec une très forte variation du point de vue quantitative ; d'autres ne sont cités, à l'inverse, que très ponctuellement.

Le camphre est très majoritaire à Khenchla, le 1,8-cinéole retrouvé majoritairement à Bordj Bou Areridj et à Alger, par contre, la région oranaise (Tlemcen et Oran) est caractérisée par une composition à α -pinène majoritaire. Nous avons trouvé aussi une composition à 1,8-cinéole très majoritaire, de l'ordre de 72,9% dans la région de Tébessa. Ceci est dû à sa localisation près des frontières Tunisienne ou cette composition est trouvée assez fréquemment. Enfin, nous avons trouvé un point avec une composition atypique où la verbénone est majoritaire avec un pourcentage de l'ordre de 23% dans la région de Mascara. Il est à noter que cette huile ne contient pas α -pinène, ce qui est très étonnant.

Enfin, à notre connaissance, le Sahara n'a jamais fait l'objet d'une étude de la composition chimique des huiles essentielles de cette espèce végétale.

Ainsi, l'objectif de notre travail est de déterminer d'une part la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* récoltées dans une région saharienne, à savoir : Djebel Antar à Béchar, et d'autre part d'évaluer les activités biologiques de l'huile essentielle de cette plante.

Nous avons prélevé 36 échantillons sur deux périodes de récolte : 21 échantillons au mois avril 2019 et 15 échantillons au mois de novembre 2019. La cueillette a été effectuée sur des pieds individuels.

I. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles sèches de *R. officinalis* a été effectuée par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. L'aspect des huiles essentielles est liquide et de couleur jaune clair.

II. Calcul des rendements

Les rendements en huile essentielle sont calculés par rapport à la quantité de la matière végétale sèche et sont représentés dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 3 : Rendements (en%) en huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* récoltées en mois d'Avril

Echantillons	Poids (g) (Matériel végétal)	Poids HE (g)	Rendement (%)
E 1	125,19	1,89	1,51
E 2	162,80	3,10	1,90
E 3	119,32	2,86	2,40
E 4	133,98	2,52	1,88
E 5	103,82	1,15	1,11
E 6	100,48	2,28	2,27
E 7	128,98	3,00	2,33
E 8	98,09	1,74	1,77
E 9	119,92	2,21	1,84
E 10	135,98	3,01	2,21
E 11	141,57	2,13	1,50
E 12	151,82	3,52	2,32
E 13	105,77	1,50	1,42
E 14	88,30	1,86	2,11
E 15	123,41	2,93	2,37
E 16	133,71	2,76	2,06
E 17	135,59	3,08	2,27
E 18	89,15	1,55	1,74
E 19	70,87	1,51	2,13
E 20	91,55	2,28	2,49
E 21	94,56	2,20	2,33
Moy ± ET	2,00 ± 0,38		

E : Echantillon, HE : huile essentielle, Moy : moyenne, ET : Ecart type

Tableau 4 : Rendements (en %) en huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* récoltées en de mois de Novembre

Echantillons	Poids (g) (Matériel végétal)	Poids HE (g)	Rendement (%)
E 1	89,90	1,74	1,94
E 2	94,28	1,82	1,93
E 3	138,51	1,56	1,13
E 4	113,29	2,31	2,03
E 5	81,82	0,63	0,77
E 6	99,11	1,71	1,73
E 7	99,19	1,48	1,49
E 8	94,87	1,73	1,82
E 9	102,86	1,85	1,80
E 10	87,49	1,46	1,67

E 11	101,79	2,22	2,18
E 12	82,84	1,36	1,64
E 13	100,01	1,39	1,39
E 14	98,76	1,72	1,74
E 15	103,64	1,89	1,82
Moy ± ET	1,78 ± 0,21		

E : Echantillon, HE : huile essentielle, Moy : moyenne, ET : Ecart type

Selon les tableaux 2 et 3, nous avons remarqué que le romarin est riche en huile essentielle. Les rendements en huile essentielle sont variables. Cette variabilité existe entre les échantillons récoltés dans la même période. Les teneurs varient entre 1,11 et 2,49% pour le mois d'avril et entre 1,39 et 2,18% pour le mois de novembre. Cependant, nous avons constaté que la différence des moyennes des rendements entre les deux périodes de cueillette n'est pas significative.

Cette grande variabilité des rendements en huile essentielle de *R. officinalis* obtenue, concorde avec les données de la littérature. En effet, certains travaux rapportent des rendements en huile essentielle comparables (variant entre 1,28 et 2,51%) aux nôtres (**Sahraoui et al., 2007 ; Belkhodja et al., 2016 ; Boutekedjiret et al., 1998, 2003**). De même, **Hendel et al.** en **2019** rapportent des pourcentages de rendement semblables aux nôtres, variant entre 1,12 à 1,93% pour plusieurs échantillons récoltés au centre et à l'est de l'Algérie (Djelfa, Médéa, Béjaïa, M'Sila, Oum-El-Bouaghi et Souk Ahras). En revanche, ces mêmes auteurs ont obtenu un teneur en huile essentielle faible de l'ordre de 0,7% pour un échantillon récolté à l'ouest de l'Algérie (Oran). Des faibles rendements, allant de 0,1 à 1,0%, en huile essentielle de *R. officinalis* ont été rapportés également par **Boutekedjiret et al.** en **1997 et 2005**, par **Atik Bekkara et al.** en 2007, par **Djeddi et al.** en **2007**, par **Zoubiri et Baalioumeur** en **2011** et par **Lograda et al.** en **2013**.

III. Composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis*

L'analyse de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* a été réalisée par les techniques chromatographique et spectrométrique (CPG-Ir et CPG-SM) au niveau du laboratoire « Chimie et Biomasse » de l'université de Corse-CNRS.

Dans le but de mettre en évidence une éventuelle variabilité chimique de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis*, les 36 échantillons d'huile essentielle ont été soumis à l'analyse par CPG et des indices de rétention (Ir) de différents composants ont été mesurés sur deux colonnes de polarité différente. Ayant observé des variations concernant la

composition et les teneurs des composés majoritaires, les résultats de la composition chimique des 36 échantillons ont été soumis à l'analyse statistique.

L'étude statistique suggère l'existence de deux groupes principaux, qui ont été distingués sur la base des teneurs en 1,8-cinéole et en camphre.

Pour la réalisation des activités biologiques, nous avons regroupé les huiles ayant le même profil chromatographique, afin de disposer de quantités suffisantes pour pouvoir effectuer la totalité des tests.

Les deux échantillons « communelle » ont été soumis à des analyses combinant une technique chromatographique sur deux colonnes de polarité différente (CPG-Ir) et une technique spectroscopique (CPG-SM). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 5.

La complémentarité des deux techniques d'analyse, nous a permis d'identifier 21 composés représentant 98,8 et 99,1% de la composition totale.

Les deux échantillons sont largement dominés par des monoterpènes, principalement des monoterpènes oxygénés. Le 1,8-cinéole (66,9%) est le composé très majoritaire dans l'échantillon EC 1. Il contient aussi deux composés oléfiniques, le α et le β -pinène présents en quantités appréciables de l'ordre de 5,1 et 6,0%, respectivement. Deux autres monoterpènes oxygénés sont présents en teneurs appréciables, il s'agit de : linalol (6,1%) et α -terpinéol (3,9%). Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en 1,8-cinéole (49,5%) mais, il contient une quantité plus importante en camphre (16,9% contre 1,5% dans EC 1). Les deux composés oléfiniques, le α et le β -pinène (6,8 et 5,1%, respectivement) sont présents en quantités appréciables, comparables à celles de l'échantillon EC 1. La teneur en linalol (3,2%) est plus faible par rapport à l'échantillon EC 1. Par contre, le bornéol est présent en quantité plus importante (5,0% contre 1,4% dans EC 1).

Enfin, trois sesquiterpènes sont mis en évidence dans les deux échantillons, à savoir : le (*E*)- β -caryophyllène, l' α -humulène et l'oxyde de caryophyllène qui sont présents en faibles teneurs.

En confrontant nos résultats avec ceux décrits dans les travaux réalisés en Algérie, nous constatons que l'huile essentielle de l'échantillon EC 1 se caractérise par une composition différente de celles décrites par les différents travaux antérieurs en Algérie. En effet, cette huile essentielle se caractérise par sa richesse en 1,8-cinéole, une composition exceptionnellement décrite en Algérie avec un seul échantillon rapporté par **Boutabia et al. (2016)** avec absence totale d' α -pinène situé près de la frontière avec la Tunisie où cette composition est par contre fréquemment rencontrée. Par contre, ils rapportent une teneur

appréciable en camphre (17,5%) qui est présent en très faible teneur (1,5%) dans notre échantillon.

Tableau 5 : Composition chimique de huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* des deux échantillons « communelle »

Composés ^a	I _r ^a ^b	I _r ^p ^c	Echantillons	
			EC 1	EC 2
α-Pinène	932	1021	5,1	6,8
Camphène	945	1071	1,0	1,5
β-Pinène	972	1117	6,0	5,1
Myrcène	982	1166	1,0	0,9
α-Terpinène	1010	1186	0,3	0,3
<i>p</i> -Cymène	1013	1277	0,5	0,7
Limonène*	1024	1207	0,9	1,2
1,8-Cinéole*	1024	1219	66,9	49,5
<i>cis</i> -β-Ocimène	1026	1237	0,2	0,1
γ-Terpinène	1049	1250	0,5	0,7
<i>trans</i> -Hydrate de sabinène	1056	1467	0,5	0,4
Linalol	1085	1551	6,1	3,2
Camphre	1123	1523	1,5	16,9
Lavandulol	1149	1676	0,8	0,6
Bornéol	1151	1704	1,4	5,0
Terpinéol-4	1163	1606	0,9	1,0
α-Terpinéol	1174	1701	3,9	3,5
Acétate de bornyle	1270	1585	0,3	0,3
(<i>E</i>)-β-Caryophyllène	1417	1600	0,8	0,5
α-Humulène	1450	1670	0,2	0,4
Oxyde de caryophyllène	1570	1984	0,3	0,2
Total (%)			99,1	98,8

^a : L'ordre d'éluion et les pourcentages donnés sont ceux sur colonne apolaire (BP-1), à l'exception des composés dont les noms sont suivis d'un astérisque (pourcentages sur colonne polaire (BP-20)). ^bI_r^a : Indices de rétention mesurés sur colonne apolaire. ^cI_r^p : Indices de rétention mesurés sur colonne polaire.

En revanche, la composition chimique de l'échantillon EC 2 est décrite dans plusieurs études : **Boutekedjiret et al. (1998, 1999, 2003, 2005 ; 2013)** dans un échantillon récolté à Bordj Bou Ariredj, **Sahraoui et al. (2007)**, **Lograda et al. (2013)** et **Ksouri et al. (2017)**.

IV. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis*

Cette partie concerne l'activité antioxydante et l'activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *R. officinalis* des deux échantillons « communelle » (EC 1 et EC 2).

IV.1. Etude de l'activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* a été testé en utilisant la méthode du piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH') et en utilisant l'éthanol comme solvant. Les résultats du pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle des deux échantillons : EC 1 et EC 2 sont reportés sur les figures 6 et 7 respectivement.

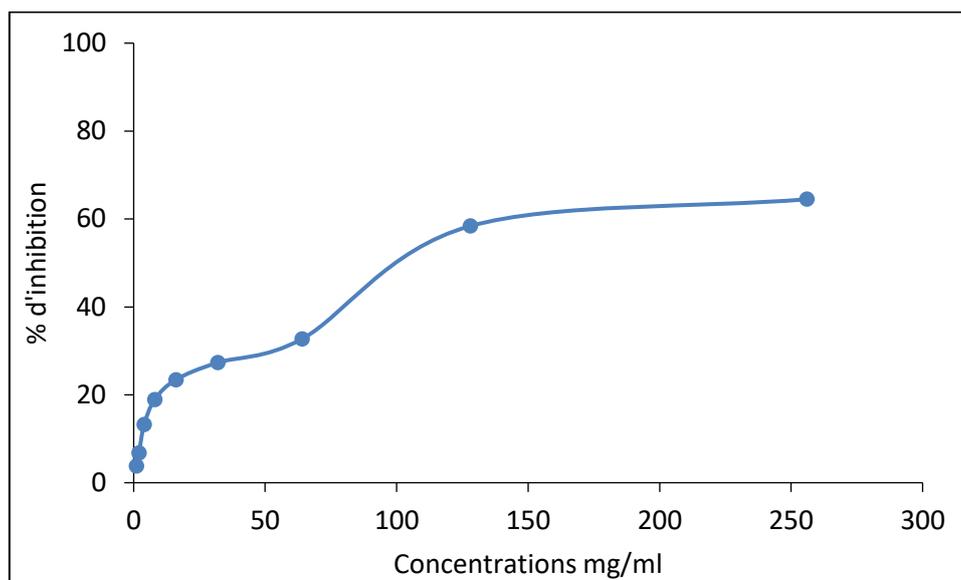


Figure 6 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* de l'échantillon EC 1

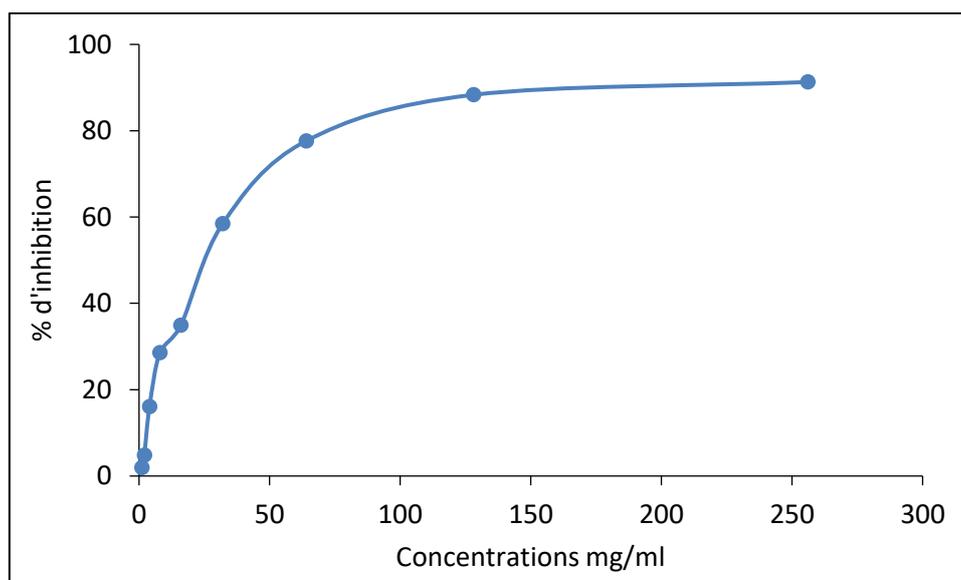


Figure 7 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* de l'échantillon EC 2

L'huile essentielle de l'échantillon EC 2 a montré une activité antioxydante plus importante vis-à-vis du piégeage du radical libre DPPH avec une valeur de l'ordre de 88,3% à une concentration de 128 mg/ml et 91,3% pour une concentration de 256 mg/ml (**Figure 7**).

En revanche, l'huile essentielle de l'échantillon EC 2 a montré un pouvoir antioxydant très faible. En effet, aux mêmes concentrations 128 mg/ml et 256 mg/ml, nous avons obtenu des pourcentages d'inhibition plus bas de l'ordre de 58,4% et 64,5%, respectivement (**Figure 6**).

Ainsi, la plus importante activité de l'échantillon EC 2 est due probablement à la présence du camphre en quantité plus importante (16,6% contre 1,5% dans EC 1). Cet échantillon contient également une teneur appréciable en bornéol (5,0% contre 1,5%) qui a probablement participé à cette activité. En effet, **Safaei-Ghomi et al. (2009)** rapporte que l'activité antioxydante des composés majoritaires testés séparément donne des résultats inférieurs comparés à l'activité de l'huile essentielle globale. Cependant, les interactions synergiques entre les différents constituants d'une huile essentielle sont à l'origine d'un pouvoir antioxydant beaucoup plus important (**Ruberto et Barrata, 2000**).

Les valeurs des CI_{50} , présentées dans le tableau 6, nous permettent de comparer l'efficacité des huiles essentielles. Nous rappelons que plus la valeur de la CI_{50} est faible plus l'huile essentielle possède un potentiel pour le piégeage des radicaux libres.

Tableau 6 : Capacité de piégeage du radical libre DPPH par l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* des deux échantillons exprimée en CI_{50}

Echantillons	CI_{50} (mg/ml)
EC 1	139,77 ± 22,74
EC 2	21,33 ± 0,51
Acide ascorbique	0,02 ± 0,001

Ces résultats confirment ceux obtenus pour les pourcentages d'inhibition. Ainsi, l'échantillon EC 2 est plus actif, avec une CI_{50} de l'ordre de 21,33 ± 0,51 mg/ml, mais qui reste nettement moins actif par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique qui présente une très faible CI_{50} de l'ordre de 0,02 ± 0,001 mg/ml.

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux rapportés par **Hendel et al. en 2019** qui rapportent une bonne activité antioxydante de certains échantillons de l'huile essentielle *R. officinalis* récoltés dans plusieurs régions en Algérie. En effet, ils avancent des CI_{50} , pour six échantillons sur quinze, variant entre 120,4 ± 2,21 et 176,8 ± 15,92 µl/ml, plus faibles que celle du trolox (185,21 ± 7,23 µl/ml) qui est utilisé comme composé de référence. Il est à

noter que ces échantillons présentent des compositions différentes. En effet, la composition chimique de trois échantillons est dominée par le camphre (33,9 – 36,2%), l’ α -pinène (20,3 – 21,0%) et le camphène (18,1 – 22,0%), suivis par une faible teneur en 1,8-cinéole (2,7 – 8,4%). Deux échantillons contiennent le 1,8-cinéole comme composé majoritaire (47,6 et 43,2%), et de faibles teneurs en camphre (11,1 et 13,4%), en α -pinène (13,5 et 14,1%) et en camphène (5,3 et 4,6%). Le dernier échantillon est caractérisée par sa richesse en α -pinène (28,5%) alors que : le 1,8-cinéole (10,9%), le camphène (7,7%) et le camphre (3,1%) sont présents en très faibles teneurs. Ainsi, **Hendel et al. (2019)** avancent que l’importante activité des ces échantillons est le résultat d’une synergie entre les composés majoritaires et minoritaires.

IV.2. Etude de l’activité antibactérienne

Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *R. officinalis* a été testé vis-à-vis de six souches bactériennes en utilisant la méthode de diffusion sur disque.

IV.2.1. Détermination de l’activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque

Les résultats de l’activité antibactérienne de l’huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* et l’antibio-résistance (**Photo 4**) de chaque souche sont représentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Moyennes des diamètres des zones d’inhibition (en mm) des deux échantillons (EC 1 et EC 2) de l’huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* relatives aux souches bactériennes selon la méthode de disque

Souches bactériennes	Contrôle positif	Huile essentielle (15 μ l/disque)		Contrôle négatif DMSO (20 μ l/disque)
	CIP ^a (5 μ l/disque)	Echantillon EC 1	Echantillon EC 2	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31,0 \pm 1,0	6,7 \pm 1,2	6,7 \pm 0,6	6,0
<i>Escherichia coli</i>	31,7 \pm 0,6	8,7 \pm 0,6	12,0 \pm 2,0	6,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 1	30,3 \pm 0,6	9,0 \pm 0,0	8,3 \pm 0,6	6,0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 2	25,0 \pm 0,0	6,0 \pm 0,0	6,0 \pm 0,0	6,0
<i>Bacillus cereus</i>	26,7 \pm 0,6	7,0 \pm 1,7	9,7 \pm 1,2	6,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,3 \pm 0,6	14,0 \pm 0,0	10,7 \pm 1,5	6,0

^a : Ciprofloxacine

Comme il est indiqué dans la littérature, nous avons considéré qu’une huile essentielle a une action bactériostatique si son diamètre d’inhibition est supérieur à 13 mm (**Rossi et al., 2007**).

Ainsi, selon le tableau 4, les deux échantillons de l’huile essentielle de *R. officinalis* testés possèdent une faible activité antibactérienne avec des diamètres des zones d’inhibition

variant entre 6,0 et 10,7 mm vis-à-vis de la majorité des souches bactériennes. En revanche, *Staphylococcus aureus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 1 (**Photo 8**), avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 14,0 mm, alors que *Escherichia coli* s'est révélé le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2 (**Photo 9**), avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 12,0 mm.

Nous avons constaté également que les deux souches bactériennes *Klebsella pneumoniae* 2 (**Photo 6**) et *Pseudomonas aeruginosa* se sont avérées très résistantes aux deux échantillons de l'huile essentielle de *R. officinalis* testés.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Hendel et al. (2019)** qui ont testé l'activité antibactérienne de 15 échantillons, récoltés dans plusieurs régions d'Algérie, vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Ils avancent un pouvoir antibactérien faible voir modérée contre ces deux souches bactériennes avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 10,0 et 14,6 mm. De même, **Kabouche et al. en 2005** ont obtenu des diamètres des zones d'inhibition inférieures ou égales à 14 mm vis-à-vis des mêmes souches bactériennes que les nôtres. En revanche, **Djeddi et al. (2007)** rapportent une bonne activité de l'huile essentielle de *R. officinalis* contre *Staphylococcus aureus*, *Klebsella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec des diamètres des zones d'inhibition variant entre 19,6 à 34,1 mm.

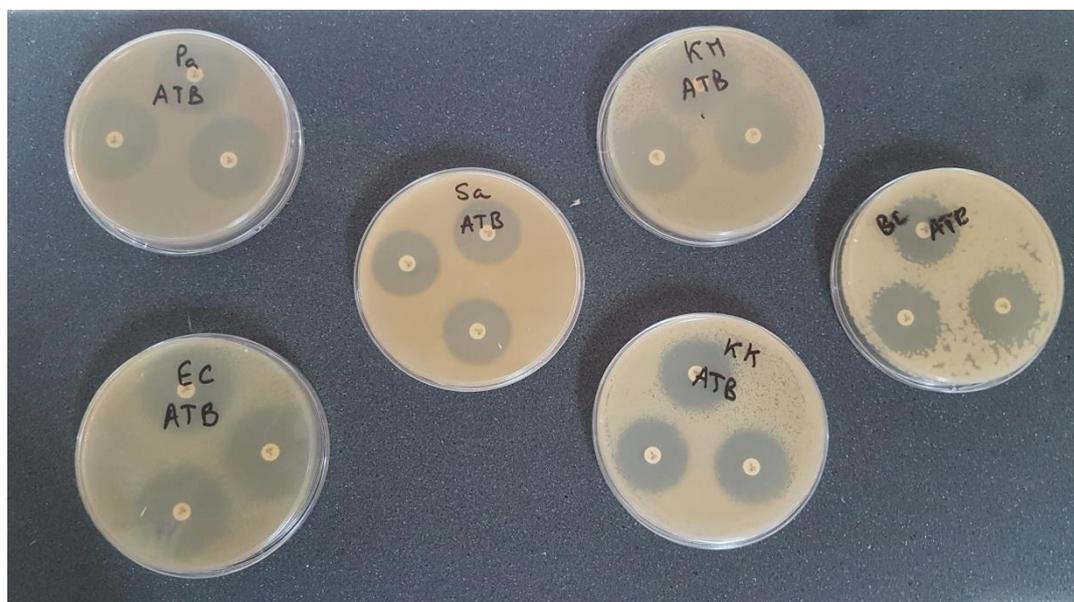


Photo 4 : Sensibilité des souches bactériennes vis-à-vis de la ciprofloxacine



Photo 5 : Faible inhibition d'*Escherichia coli* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1

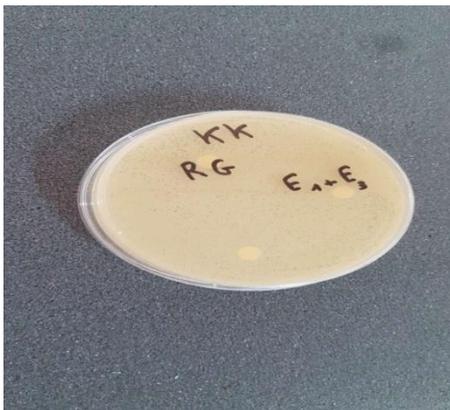


Photo 6 : Résistance de *Klebsella pneumoniae* 2 vis-à-vis de l'huile essentielle de l'échantillon EC 1



Photo 7 : Faible inhibition de *Klebsella pneumoniae* 1 par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1



Photo 8 : Inhibition modérée de *Staphylococcus aureus* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 1



Photo 9 : Inhibition de *Staphylococcus aureus* par l'huile essentielle de l'échantillon EC 2

Conclusion

Notre planète est très riche en plantes médicinales et aromatiques et surtout le continent Africain. Ces plantes médicinales sont utilisées depuis des milliers d'années pour prévenir les maladies humaines et surtout les épidémies et cela grâce à la présence d'une ressource non négligeable de molécules bioactives. La connaissance de leurs propriétés curatives s'est transmise au fil des siècles et aujourd'hui, elles sont utilisées dans le monde à diverses fins.

L'Algérie abrite de nombreuses plantes médicinales. Ainsi, nous nous sommes intéressés d'une part, à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* récoltées dans la région de Béchar sur deux périodes, et d'autre part aux propriétés biologiques des huiles essentielles de ces plantes (antioxydante, antimicrobienne et anti-inflammatoire).

Nous avons prélevé 36 échantillons (21 en avril et 15 en novembre 2019) sur des pieds individuels.

Dans la première étape, nous avons procédé à l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation avec un appareil de type Clevenger. Les feuilles de cette espèce végétale sont riches en huiles essentielles, avec des rendements très variables, allant de 1,11 à 2,49%. Cependant, la moyenne des rendements en mois d'avril (2,0%) est plus importante en comparaison avec celle du mois de novembre (1,76%).

L'analyse des huiles essentielles a été réalisée par les techniques chromatographique et spectroscopique (CPG-Ir et CPG-SM) dans le laboratoire « Chimie & Biomasse » de l'université de Corse. Ayant observé des variations concernant la composition chimique des 36 échantillons et les teneurs des composés majoritaires, ces résultats ont été soumis à une analyse statistique qui a suggéré l'existence de deux groupes principaux, qui ont été distingués sur la base des teneurs en 1,8-cinéole et en camphre. Ensuite, nous avons regroupé l'huile essentielle des échantillons ayant le même profil chimique pour avoir suffisamment d'huile essentielle et pouvoir effectuer les activités biologiques. Ainsi, nous avons constitué deux échantillons « communelle » (EC 1 et EC 2).

La combinaison des deux techniques a permis d'identifier 21 composés représentant 99,1 et 98,8% de la composition totale. Les deux échantillons sont largement dominés par des monoterpènes, principalement des monoterpènes oxygénés. Le 1,8-cinéole (66,9%) est le composé très majoritaire dans l'échantillon EC 1. Il contient aussi : α -pinène (5,1%), β -pinène (6,0%), linalol (6,1%) et α -terpinéol (3,9%), présents en quantités appréciables. Par contre, l'échantillon EC 2 est moins riche en 1,8-cinéole (49,5%) mais, il contient une quantité plus importante en camphre (16,9% contre 1,5% dans EC 1), suivi de : α -pinène (6,8%), β -pinène (5,1%), bornéol (5,0%) et linalol (3,2%).

Dans un second temps, nous avons évalué les activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* des deux échantillons « communelle » (la capacité antioxydante par le test de DPPH' et l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion sur disque). L'échantillon EC 2 s'est montré le plus actif, avec une CI_{50} de l'ordre de $21,33 \pm 0,51$ mg/ml, mais qui reste nettement moins actif par rapport au composé de référence, l'acide ascorbique ($CI_{50} = 0,02 \pm 0,001$ mg/ml. Enfin, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle des deux échantillons a été testée vis-à-vis de six souches bactériennes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*). *Staphylococcus aureus* s'est montré le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 1, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 14,0 mm, alors qu'*Escherichia coli* s'est révélé le plus sensible à l'huile essentielle de l'échantillon EC 2, avec un diamètre de la zone d'inhibition de l'ordre de 12,0 mm. Nous avons constaté également que les deux souches bactériennes *Klebsella pneumoniae* 2 et *Pseudomonas aeruginosa* se sont avérées très résistantes aux deux échantillons de l'huile essentielle de *R. officinalis* testés.

Toutefois, il serait intéressant de compléter cette étude en testant d'autres activités biologiques qu'on n'a pas pu réaliser à cause de la crise sanitaire due au coronavirus (Covid-19) :

- Evaluer le pouvoir antifongique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* contre le mycélium ;
- Tester les activités anti-inflammatoire et antidiabétique de l'huile essentielle de *R. officinalis*.

Il serait intéressant aussi d'isoler les molécules responsables des activités pour la recherche d'un remède naturel et trouver de nouvelles applications thérapeutiques.

Références Bibliographiques

- **Anonyme 1 :**
https://www.google.com/urlsa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.pinterest.com%2Fpin%2F820781100808773461%2F&psig=AOvVaw3DudEkGLkBkJ95sh1Dz_zI&ust=1594133778214000&source=images&cd=vfe&ved=2ahUKEwiRoed8bjqAhUK_RoKH RzsCP0Qr4kDegUIARCwAQ
- **Anonyme 2 :**
<https://www.google.com/url?sa=i&url=http%3A%2F%2Fboowiki.info%2Fart%2Fmaquisards%2Fmaquisards2.html&psig=AOvVaw3hw9bXicrpYVrkkRCO31tv&ust=1592575902273000&source=images&cd=vfe&ved=0CAIQjRxqFwoTCNiXhubFioCFQAAAAAdAAAAABAD>
- **Adams RP. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry (Vol. 456). Carol Stream, IL: Allured publishing, corporation.
- **Aitboulahsen, M., Zantar, S., Amin, L., Mohammed, E., Abdelhay, A., Chairi, H., Bakkali, M., Hassani Zerrouk, M. (2018).** Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Against Pathogens Isolated from Food, Crops and Hospitals in Morocco. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(6), 1450-1459.
- **Ait-Ouazzou, A., Lorán, S., Bakkali, M., Laglaoui, A., Rota, C., Herrera, A., Pagán, R., Conchello, P. (2011).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco : Antimicrobial activity of Moroccan essential oils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(14), 2643–2651.
- **Akrout, A., Hajlaoui, H., Mighri, H., Najjaa, H., Jani, HE, Zaidi, S., Neffati, M. (2010).** Caractéristiques chimiques et biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* cultivée à Djerba. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 13 (4), 398-411.
- **Alnamer, R., Alaoui, K., Houcine Boudida, E., Benjouad, A., Cherrah, Y. (2011).** Toxicity and Psychotropic Activity of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* and *Lavandula officinalis* from Morocco. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 1(4), 262-272.
- **Arnold, N., Valentini, G., Bellomaria, B., & Hocine, L. (1997).** Comparative Study of the Essential Oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. From Algeria and *R. officinalis* L. from Other Countries. *Journal of Essential Oil Research*, 9(2), 167-175.
- **Bandoniene D, Pukalskas A, Venskutonis PR, Gruzdiene D. (2000).** Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. *Food Research International*, 33(9), 785-791.
- **Bekkara, F. A., Bousmaha, L., Bendiab, S. A. T., Boti, J. B., & Casanova, J. (2007).** *Composition chimique de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis* L. poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*, 7, 6-11.

- **Belkhodja, H., Meddah, B., Tir Touil, A., Şekeroğlu, N. (2016).** Chemical composition and DNA damage protective effect of essential oil of *Rosmarinus officinalis* and *Populus alba*. *International Journal of Phytopharmacology*, 7(4), 196-201.
- **Ben Abada, M., Haouel Hamdi, S., Masseoud, C., Jroud, H., Boussih, E., Mediouni Ben Jemâa, J. (2020).** Variations in chemotypes patterns of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils and applications for controlling the date moth *Ectomyelois ceratoniae* (Pyralidae). *South African Journal of Botany*, 128, 18-27.
- **Ben Jemia, M., Tundis, R., Pugliese, A., Menichini, F., Senatore, F., Bruno, M., Kchouk, M. E., Loizzo, M. R. (2015).** Effect of bioclimatic area on the composition and bioactivity of Tunisian *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Natural Product Research*, 29(3), 213-222.
- **Ben Kaab, S., Rebey, I. B., Hanafi, M., Berhal, C., Fauconnier, M. L., De Clerck, C., Ksouri, R., Jijakli, H. (2019).** *Rosmarinus officinalis* essential oil as an effective antifungal and herbicidal agent. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 17(2), e1006.
- **Bousbia, N., Abert Vian, M., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., Chemat, F. (2009).** Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves : Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114(1), 355-362.
- **Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F. (2016).** Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85, 16.
- **Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., Bessiere, J. M. (1998).** The Essential Oil from *Rosmarinus officinalis* L. in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 680-682.
- **Boutekedjiret, C., Belabbes, R., Bentahar, F., Bessiere, J. M. (1999).** Study of *Rosmarinus officinalis* L. Essential Oil Yield and Composition as a Function of the Plant Life Cycle. *Journal of Essential Oil Research*, 11(2), 238-240.
- **Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Belabbes, R., Bessiere, J. M. (2003).** Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(6), 481-484.
- **Boutekedjiret, C., Buatois, B., Bessiere, J. M. (2005).** Characterisation of Rosemary Essential Oil of Different Areas of Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 8(1), 65-70.
- **Bouyahya, A., Et-Touys, A., Bakri, Y., Talbau, A., Fellah, H., Abrini, J., Dakka, N. (2017).** Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities. *Microbial Pathogenesis*, 111, 41-49.

- **Kouame, C., Ouattara, Z. A., Konan, M. K., N’Gaman-Kouassi, C. K. C., Tomi, F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., Bekro, Y.-A. (2017).** Quantitative organic composition and antioxidant potential of the essential oil from *Origanum syriacum* L. (Lamiaceae) acclimated in Cote d’Ivoire. *Int. J. Curr. Res.*, 10, 73602-73605.
- **Casanova, J., Tomi, F. (2018).** Spécificité de l’huile essentielle de romarin spontané (*Rosmarinus officinalis* L.) de Corse et de Sardaigne. ISTE Ltd. London, UK, 18.
- **Chaïb A. (2015).** Guide de phytothérapie : plantes et huiles médicinales. Thala Editions, El Biar, Alger.
- **Chebli, B., Achouri, M., Idrissi Hassani, L. M., Hmamouchi, M. (2003).** Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea*. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(1), 165-169.
- **Chraïbi, M., Farah, A., Elamin, O., Iraqui, H. M., Fikri-Benbrahim, K. (2020).** Caractérisation, antioxydants, antimycobactériens, effets antimicrobiens de l’huile essentielle de romarin marocain, et son potentiel antimicrobien synergique avec le carvacrol. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 11 (1), 25.
- **De Bonneval, P. (2006).** L’herboristerie. Manuel pratique de la santé par les plantes. Éditions DésIris, pp 445.
- **De-Reynal B, Multon JL. (2009).** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. 4^{ème} édition Tec & Doc Lavoisier, Paris.
- **Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., Skaltsa, H. D. (2007).** Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* from Algeria. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(4), 487-490.
- **Lemoine, E. (2001).** Les plantes aromatiques et médicinales. Molière, Paris.
- **El Kamli, T., El Hamdani, M., Eloutassi, N., Errachidi, F., Chabir, R., Bour, A. (2019).** Composition chimique, activités antioxydantes et antimicrobiennes de l’huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* du Moyen Atlas marocain. *Phytothérapie*, 17(5), 233-295.
- **Elamrani, A., Zrira, S., Benjilali, B., Berrada, M. (2000).** Une étude des huiles de romarin marocaines. *Journal of Essential Oil Research*, 12 (4), 487-495.
- **Elyemni, M., Louaste, B., Nechad, I., Elkamli, T., Bouia, A., Taleb, M., Eloutassi, N. (2019).** Extraction des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. par deux méthodes différentes: l’hydrodistillation et l’hydrodistillation assistée par micro-ondes. *The Scientific World Journal*, <https://doi.org/10.1155/2019/3659432>.
- **Couplan, F., Styner E. (2012).** Guide des plantes sauvages comestibles et toxiques. Delachaux et Niestlé SA, Paris.
- **Fadli, M., Chevalier, J., Saad, A., Mezrioui, N. E., Hassani, L., Pages, J. M. (2011).** Essential oils from Moroccan plants as potential chemosensitisers restoring

antibiotic activity in resistant Gram-negative bacteria. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 38(4), 325-330.

- **Farhat, A., Benmoussa, H., Bachoual, R., Nasfi, Z., Elfalleh, W., Romdhane, M., Bouajila, J. (2017).** Efficacité des extractions optimisées assistées par micro-ondes sur le rendement, la composition chimique et les activités biologiques de l'huile essentielle tunisienne *Rosmarinus officinalis* L. *Transformation des aliments et des bioproduits*, 105, 224-233.
- **Fernandez, X., Chemat, F. (2012).** La chimie des huiles essentielles. Tradition et innovation. Vuibert, Paris, pp 288.
- **Fournier, P. V. (2010).** Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France. Omnibus, pp 1056.
- **Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M., Taghizadeh, M., Astaneh, S., Rasooli, I. (2007).** Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*, 102(3), 898-904.
- **Gazi, M. R., Kanda, K., Yasuda, M., Kato, F. (2004).** Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7, 1365-1370.
- **Giordani, R., Hadeif, Y., Kaloustian, J. (2008).** Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79(3), 199-203.
- **Goetz, P., Ghedira, K. (2012)** Phytothérapie anti-infectueuse. Edition Springer-Verlage, Paris, France, pp 382.
- **Halliwell, B. (1990).** Comment caractériser un antioxydant biologique. *Communications de recherche sur les radicaux libres*, 9 (1), 1-32.
- **Hannour, K., Boughdad, A., Maataoui, A., Bouchelta, A. (2018).** Chemical composition of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) essential oils and evaluation of their toxicity against *Bruchus rufimanus* (Coleoptera : Chrysomelidae: Bruchinae) in Morocco. *International Journal of Tropical Insect Science*, 38(03), 192-204.
- **Hcini, K., Sotomayor, J. A., Jordan, M. J., Bouzid, S. (2013).** Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) of Tunisian Origin. *Asian Journal of Chemistry*, 25(5), 2601-2603.
- **Hendel, N., Napoli, E., Sarri, M., Saija, A., Cristani, M., Nostro, A., Ginestra, G., Ruberto, G. (2019).** Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary : Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Essential OilBearing Plants*, 22(1), 1-17.
- **Hosni, K., Hassen, I., Chaâbane, H., Jemli, M., Dallali, S., Sebei, H., Casabianca, H. (2013).** Extraction assistée par enzyme des huiles essentielles du thym (*Thymus*

capitatus L.) et du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.): impact sur le rendement, la composition chimique et l'activité antimicrobienne. *Cultures et produits industriels*, 47, 291-299.

- **Ismaili, M. R., Ramzi, H., Fidah, A., Rahouti, M., Kabouchi, B., Aberchane, M. (2019).** Variabilité chimique et activité acaricide des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. *Journal marocain de chimie*, 7 (4), 7-4.
- **Godet, J. D. (2004).** Arbres et arbustes aux quatre saisons. Delachaux et Niestlé SA, Paris.
- **Jardak, M., Elloumi-Mseddi, J., Aifa, S., Mnif, S. (2017).** Chemical composition, anti-biofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Tunisia. *Lipids in Health and Disease*, 16(1), 190.
- **Jridi, M., Siala, R., Fakhfakh, N., Ayadi, M. A., Elhatmi, M., Taktak, M. A., Zouari, N. (2015).** Effet des feuilles de romarin et de l'huile essentielle sur la qualité des saucisses de dinde. *Acta alimentaria*, 44 (4), 534-541.
- **Judd, W. S., Campbell, C. S., Kellogg, E. A., Stevens, P. (2002).** Botanique systématique: une perspective phylogénétique. De Boeck Supérieur, pp 467.
- **Kabouche, Z., Boutaghane, N., Laggoune, S., Kabouche, A., Aitkaki, Z., Benlabed, K. (2005).** Comparative of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *International Journal of Aromatherapy*, 15(3), 129-133.
- **Kadri, A., Zarai, Z., Chobba, I. B., Békir, A., Gharsallah, N., Damak, M., Gdoura, R. (2011).** Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from the South-Western of Tunisia. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(29), 6502-6508.
- **Khalil, S., Zarrad, K., Hammouda, A. B., Ayed-Lakhal, Y., Rguez, S., Tayeb, W., Laarif, A., Chaieb, I. (2015).** Comparison between Insecticide Effects of Wild and Cultivated Rosemary Essential Oils on Stored Product Insects. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 10(2).
- **König, W. A., Hochmuth, D. H., Joulain, D. (2001).** Terpenoids and related constituents of essential oils, library of massfinder 2.1. *University of Hamburg, Institute of Organic Chemistry: Hamburg*.
- **Ksouri, S., Djebir, S., Bentorki, A. A., Gouri, A., Hadeif, Y., Benakhla, A. (2017).** Antifungal activity of essential oils extract from *Origanum floribundum* Munby, *Rosmarinus officinalis* L. and *Thymus ciliatus* Desf. Against *Candida albicans* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal de Mycologie Médicale*, 27(2), 245-249.
- **Lahlou, M., Berrada, R. (2001).** Potential of essential oils in schistosomiasis control in Morocco. *International Journal of Aromatherapy*, 11(2), 87-96.

- **Lahlou, M., Berrada, R. (2003).** Composition et activité niticide des huiles essentielles de trois chémotypes de *Rosmarinus officinalis* L. acclimatés au Maroc. *Journal des saveurs et des parfums*, 18 (2), 124-127.
- **Lardry, J. M., Haberkorn, V. (2007).** L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie la Revue*, 61, 14-27.
- **Lawrence, W. R. (1860).** Extracts from the Diary and Correspondence of the Later Amos Lawrence.
- **Lograda, T., Ramdani, M., Chalard, P., Figueredo, G. (2013).** Characteristics of essential oils of *Rosmarinus officinalis* from eastern Algeria. *Global J Res. Med. Plants & Indigen. Med.* 2(12), 794-807.
- **Marzouk, Z., Neffati, A., Marzouk, B., Chraief, I., Fathia, K., Ghedira, LC, Boukef, K. (2006).** Composition chimique et activité antibactérienne et antimutagène de l'huile tunisienne *Rosmarinus officinalis* L. de Kasrine. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 4 (3/4), 61.
- **Mathlouthi, N., Bouzaienne, T., Oueslati, I., Recoquillay, F., Hamdi, M., Urdaci, M., Bergaoui, R. (2012).** Utilisation de romarin, d'origan et d'un mélange commercial d'huiles essentielles chez les poulets de chair: activités antimicrobiennes *in vitro* et effets sur les performances de croissance. *Journal of animal science*, 90 (3), 813-823.
- **Mattazi, N., Abdellah, F., Mouhcine, F., Chraibi, M., Benbrahim, K. F. (2015).** Analyse des huiles essentielles et activité antibactérienne des feuilles de *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* et *Mentha piperita* cultivées à Agadir (Maroc). *Int. J. Pharm. Sci.*, 7 (9), 73-9.
- **Melito, S., Petretto, G. L., Chahine, S., Pintore, G., Chessa, M. (2019).** Seasonal Variation of Essential Oil in *Rosmarinus officinalis* Leaves in Sardinia. *Natural Product Communications*, 14(7), DOI: 1934578X1986400.
- **Messaoudi Moussii, I., Nayme, K., Timinouni, M., Jamaledine, J., Filali, H., Hakkou, F. (2020).** Synergistic antibacterial effects of Moroccan *Artemisia herba alba*, *Lavandula angustifolia* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Synergy*, 10, 100057.
- **Mhiri, R., Kchaou, M., Belhadj, S., El Feki, A., Allouche, N. (2018).** Characterization of aromatic compounds and biological activities of essential oils from Tunisian aromatic plants. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(2), 839-847.
- **Moumni, S., Elaissi, A., Trabelsi, A., Merghni, A., Chraief, I., Jelassi, B., Ferchichi, S. (2020).** Corrélation entre la composition chimique et l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles d'espèces de Lamiacées de Tunisie. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 20, 1-15.

- **Mounchid, K., Bourjilat, F., Dersi, N., Bellik, A., Aboussaouira, T., Rachidai, A., Ismaili-Alaoui, M. (2004).** Toxicity of south Morocco *Rosmarinus officinalis* essential oil: antibacterial and histopathological effects. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 24(2), 139-145.
- **National Institute of Standards and Technology. (1999)** PC Version 1.7 of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library. Perkin-Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA.
- **National Institute of Standards and Technology. (2014).** PC version of the mass spectral library. Norwalk, CT, USA.
- **NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards). (2001).** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: eleventh informational supplement. NCCLS document M100- S11. USA: Villanova, 21(1).
- **Pfaller, M. A., Messer, S. A., Karlsson, Ä., Bolmström, A. (1998).** Evaluation of the Etest method for determining fluconazole susceptibilities of 402 clinical yeast isolates by using three different agar media. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9), 2586-2589.
- **Pintore, G., Usai, M., Bradesi, P., Juliano, C., Boatto, G., Tomi, F., Chessa, M., Cerri, R., Casanova, J. (2002).** Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, 17(1), 15-19.
- **Quézel, P., Santa, S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition, CNRS, Paris, pp 1169.
- **Rameau, J. C., Mansion, D., Dumé, G., Gauberville, C. (2008).** Flore forestière française : guide écologique illustré. Editions Artémis, Vol. 3, Paris.
- **Rossi, P.G., Panighi, J., Luciani, A., de Rocca Serra, D., Maury, J., Gonny, M., Muselli, A., Bolla, J.M., Berti, L. (2007).** Antibacterial action of essential oils from Corsica. *J. Essent. Oil Res.*, 19, 176-182.
- **Ruberto, G., Baratta, M. T. (2000).** Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food chemistry*, 69(2), 167-174.
- **Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A. H., Djafari-Bidgoli, Z., Batooli, H. (2009).** GC/MS analysis and *in vitro* antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. *Food Chemistry*, 115, 1524-1528.
- **Sahraoui, N., Hellal, A., Boutekedjiret, C., Bentahar, F., Bessièrè, J. M. (2007).** Antimicrobial activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, 1, 83-90.

- **Santich, B., Bryant, G. (2013).** 500 plantes comestibles Histoire Botanique Alimentation. Delachaux et Niestlé, Paris.
- **Satyral, P., Jones, T., Lopez, E., Mc Feeters, R., Ali, N., Mansi, I., Al-kaf, A., Setzer, W. (2017).** Chemotypic Characterization and Biological Activity of *Rosmarinus officinalis*. *Foods*, 6(3), 20.
- **Tahri, M., Imelouane, B., Amhamdi, H., Fauconnier, M.-L., Elbachiri, A. (2015).** The Chemical compositions and the Antioxidant and Antimicrobial Activities of the Essential Oil of Rosemary Leaves from Eastern Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 6 (3), 666-672.
- **Touafek, O., Nacer, A., Kabouche, A., Kabouche, Z., Bruneau, C. (2004).** Chemical Composition of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* Cultivated in the Algerian Sahara. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(1), 28-29.
- **Wanner, J., Schmidt, E., Bail, S., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Gochev, V., Girova, T., Atanasova, T., Stoyanova, A. (2010).** Chemical Composition, Olfactory Evaluation and Antimicrobial Activity of Selected Essential Oils and Absolutes from Morocco. *Natural Product Communications*, 5(9), DOI : 1934578X1000500.
- **Yeddes, W., Aidi Wannes, W., Hammami, M., Smida, M., Chebbi, A., Marzouk, B., Saidani Tounsi, M. (2018).** Effect of Environmental Conditions on the Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oils from *Rosmarinus officinalis* L. Growing Wild in Tunisia. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21(4), 972-986.
- **Zaouali, Y., Boussaid, M. (2008).** Marqueurs et volatils des isoenzymes chez le tunisien *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) : une analyse comparative de la structure de la population. *Systématique et écologie biochimiques*, 36(1), 11-21.
- **Zaouali, Y., Messaoud, C., Salah, AB, Boussaid, M. (2005).** Variabilité de la composition de l'huile parmi les populations en relation avec leurs zones écologiques dans le journal tunisien *Rosmarinus officinalis* L. *Flavour and fragrance*, 20(5), 512-520.
- **Zoubiri, S., Baaliouamer, A. (2011).** Chemical composition and insecticidal properties of some aromatic herbs essential oils from Algeria. *Food Chemistry*, 129(1), 179-182.

Annexe

Tableau 1 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* de l'échantillon EC 1

Concentrations (mg/ml)	DO 1	DO 2	Moyenne	% d'inhibition
256	0,11	0,14	0,13	64,37
128	0,11	0,18	0,15	58,59
64	0,27	0,22	0,24	31,41
32	0,26	0,26	0,26	26,48
16	0,31	0,25	0,28	20,56
8	0,29	0,30	0,30	16,48
4	0,32	0,25	0,32	10,99
2	0,33	0,33	0,33	6,76
1	0,34	0,35	0,34	3,80

Tableau 2 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* de l'échantillon EC 2

Concentrations (mg/ml)	DO 1	DO 2	Moyenne	% d'inhibition
256	0,04	0,03	0,03	91,27
128	0,05	0,04	0,04	88,31
64	0,09	0,07	0,08	77,61
32	0,14	0,16	0,15	58,45
16	0,23	0,26	0,24	32,11
8	0,25	0,24	0,24	31,41
4	0,30	0,29	0,30	16,06
2	0,35	0,34	0,34	3,94
1	0,34	0,35	0,35	2,82