



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et
de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Biochimie Appliquée

Référence

Présenté et soutenu par :

KASSOUSSI Djazia

GUIDADOU Fatima Zohra

Le :

28-06-2022

Activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante *Rosmarinus Officinalis.L*

Jury :

Dr.	ZEROUAL Samir	MCA	Université de Biskra	Président
Mme.	NEFOUCI Fatima	MAA	Université de Biskra	Rapporteur
Dr.	ATHAMENA Ahmed	MCB	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire : 2021-2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A ALLAH le tout puissant qui m'a permis d'être ce que je suis aujourd'hui.

Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger mes pas.

Nous tenons à adresser mes très sincères remerciements à Notre promoteur de mémoire madame NEFOUCI Fatima qui nous a guidé dans notre travail, Merci pour nous avoir accordé votre temps, Merci d'avoir été très patient avec nous, Merci pour d'avoir mis votre expérience à notre profit.

Nous tenons à présenter notre sincère et vif remerciement à Les membre de jury Dr ZEROUAL Samir et Dr ATHAMNA Ahmed , qui ont accepté de juger Notre travail.

Sans oublier de remercier vivement l'équipe de bibliothèque de biologie, les travailleurs de l'administration et les agents de la faculté.

Mes remerciements vont également à tous mes enseignants, pour les informations et les aides au cours des années de mes études, surtout les enseignants du département de biologie.

*À tous les étudiants de master de la promotion 2022.
À toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.*

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents, qui m'avaient dirigé et suivi pendant toutes mes années d'étude et surtout ma mère pour leurs sacrifices de tous les instants, sa patience sans limites et l'éducation qu'elle m'a donnée,

Je lui dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à : Mes frères : Mohamed, Hocine, Tahar, Oussama, Abdelmalek et Walid.

Et

Ma sœur : Zohra et son mari Taher.

Et

Les femmes de mes frères : Hadjer et Asmaa.

Et

Les petits poussins de la famille : Lina, Manar Mohammad Abdul Aziz et Mohammad Amin.

Et

Mes chères amies : Hafida(zado), Houda, Yasmine, Mayada, Samah, Narimane, Zanoubia, Imane, Fatima, Khadija.

Je vous remercie pour votre soutien moral, votre patience et vos dévouements à ce travail, Je vous dédie le fruit de nos efforts.

Et

Tous mes amis sans exception.

Djazia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :
A mes parents. Aucun hommage ne pourrait être à
la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me
combler.
Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.
A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout
au long de ce projet :
Ma deuxième mère tata Salíha qui m'a toujours
encouragé, je remercie également son mari Elhadj
Omar et ma chère petite Zahra.
A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la
flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur :
Tata Abba que j'adore.
Et bien sûr A mes frères
Bilal Abdel Bakí, Saad, Mohammed et Amine et mes
chères sœurs Imane et Sara, sans oublier mes grands-
parents.
A mon soutien moral et source de joie et de bonheur,
mon fiancée Amine
Pour l'encouragement et qu'il m'a toujours accordé.
A toute ma famille mes oncles et mes tantes, et mes
amis
Zanoubia, Narimane, Djazia, Oum Hani Hiba et
Imane
Que j'ai connu jusqu'à maintenant Merci pour leurs
amours et leurs encouragements.
Je leurs souhaite une vie pleine du bonheur et de
succès.

Fatima

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des Tableaux.....I

Liste des Figures..... II

Liste des Abréviations.....III

Introduction générale..... 4

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : *Rosmarinus officinalis* L

- 1.1. Généralités sur la plante3
- 1.1.1. Présentation de *Rosmarinus officinalis* L.....3
- 1.1.2. Classification scientifique.....3
- 1.1.3. Répartition géographique.....4
- 1.1.4. Description botanique.....4
- 1.1.5. Les effets thérapeutiques de *Romarin*.....4
- 1.2. Activité antibactérienne5

Chapitre 2 : Les huiles essentielles

- 2.1. Généralités.....6
- 2.1.1. Définition.....6
- 2.1.2. Propriétés biologiques et pharmacologiques.....6
- 2.1.3. Composition chimique.....6
- 2.1.3.1. Les composés terpéniques.....6
- 2.1.3.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane.....7
- 2.2. Mode d'obtention de l'huile essentielle7
- 2.2.1. Techniques classiques.....8
- 2.2.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....8
- 2.2.1.2. Extraction par hydrodiffusion.....8
- 2.2.1.3. Extraction par hydrodistillation.....9
- 2.2.2. Techniques récentes.....9
- 2.2.2.1 Extraction assistée par microondes.....9
- 2.2.2.2. Extraction aux ultrasons.....10

Partie II : Etude expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

- 3.1. Matériel et méthodes.....11
- 3.1.1. Matériel végétale11

- 3.1.2. Matériels biologiques.....11
- 3.2. Préparation de plante médicinale étudiée.....11
- 3.3. Extraction.....11
- Principe.....12
- Mode opératoire.....12
- 3.4. Cinétique d'extraction.....14
- 3.5. Étude de l'activité antibactérienne.....14
- 3.5.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme).....14
- Principe.....14
- Méthode de diffusion du disque14
- Expression des résultats.....14
- 3.5.2. Analyse statistique.....15

Chapitre 4 : Résultats et discussion

- 4.1. Extraction et détermination du rendement.....18
- 4.1.1. Rendements.....18
- 4.2. Etude l'effet antibactérien.....20
- 4.2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne.....20

Conclusion..... 23

Bibliographie..... 24

Annexes

Résumés

Liste des Tableaux

Tableau 01: Résultats recueillis sur les utilisations de *Rosmarinus officinalis.L*4

Tableau 02 : Tableau 02 : Rendement en huile essentielle du romarin des stations d'étude.....18

Liste des Figures

Figure 01 : Présentation de <i>Rosmarinus officinalis</i>	3
Figure 02 : Structure chimique de certains composés des huiles.....	7
Figure 03 : Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau (A) et l'hydrodiffusion (B).....	8
Figure 04 : Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevnger (A) et Alombic (B).....	9
Figure 05 : Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique.....	10
Figure 06 : Partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> après séchage et broyage.....	12
Figure 07 : Protocole d'extraction des HEs de partie aérienne <i>Rosmarinus officinalis</i> selon la méthode d'hydrodistillation.....	14
Figure 08 : Figure 08 Rendement en huile essentielle de romarin dans les différentes zones bioclimatiques de la région de Murcie.....	19

Liste des Abréviations

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

CO₂ : Dioxyde de carbone.

D : Diamètre.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E coli : *Escherichia coli.*

E.faecalis : *Enterococcus faecalis.*

G- : Gram négatif.

G+: Gram positif.

GLD: Lipo-dystrophies ginoïde.

HE : Huile essentielle.

K.pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae.*

MH : Mueller Hinton.

MHE : Masse d'huiles essentielles.

NO : Monoxyde d'azote.

OMS : organisation mondiale de la santé.

PPM : partie par million.

RHE : Rendement d'huile essentielle.

S.aureus : *Staphylococcus aureus.*

UFC : Unité formant colonie.

UV : ultra-violet.

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% des habitants de la terre ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (Lhuillier, 2007).

Parmi, les 25 composés pharmaceutiques les plus vendus au monde, 12 d'entre eux sont issus de produits naturels. Cela signifie que le nombre de médicaments issus de produits naturels est supérieur à celui issus de la chimie combinatoire où plus de 10 000 molécules doivent être synthétisées puis testées afin de mener au développement d'un seul médicament (Bérubé, 2006).

Selon certains auteurs, les composés d'origine naturelle présentent l'avantage d'une très grande diversité de structures chimiques et ils possèdent aussi un très large éventail d'activités biologiques (Bérubé, 2006).

Les propriétés antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser (Yano *et al.*, 2006).

L'huile essentielle ou essence végétale, le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques volatils d'une plante. Il est obtenu par extraction mécanique, entraînement à la vapeur d'eau ou distillation à sec. D'autres extraits végétaux sont obtenus par extraction (Richard *et al.*, 1985).

Cependant les huiles essentielles extraites de ces plantes possèdent des propriétés biologiques diverses et intéressantes par leur composition chimique riche en composés terpènes et en composés non terpénique. Elles constituent une grande source d'agents antioxydants et antimicrobiens naturels. (Paul *et al.*, 2006).

Dans le présent travail, notre choix s'est porté sur le *romarin* (*Rosmarinus officinalis*), qui est l'une des plantes les plus répandues en méditerranéen et particulièrement en Algérie. Dans ce travail, nous sommes intéressés à étudier l'effet de l'huile essentielle de cette plante sur les bactéries gram-négatives et gram-positives de certaines souches.

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du romarin *Rosmarinus officinalis* L. dans différentes régions, sur quatre souches de bactéries : *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Ce manuscrit se compose de quatre chapitres : du premier chapitre jusqu'au 2^{ème} chapitre est une synthèse bibliographique qui donnera un aperçu sur les différentes notions abordées dans ce travail : Généralités sur la *Rosmarinus officinalis* L, généralité sur les huiles essentielles, Et le troisième chapitre est le travail pratique d'extraction des huiles et d'étude de son effet sur les bactéries, et enfin le quatrième chapitre est une discussion des résultats de notre étude avec les résultats d'études précédentes pour d'autres articles.

Partie I

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :
Rosmarinus officinalis L

1.1. Généralités sur la plante

1.1.1. Présentation de *Rosmarinus officinalis* L

R. officinalis L., populairement connu sous le nom de *romarin*, est une plante appartenant à la famille des Lamiacées et originaire de la région méditerranéenne. Cependant, on le trouve partout dans le monde. C'est une plante vivace et aromatique, en forme d'arbuste avec des branches pleines de feuilles, ayant une hauteur allant jusqu'à deux mètres et des feuilles vertes qui dégagent un parfum caractéristique. *R. officinalis* peut être utilisé comme épice en cuisine, comme conservateur naturel dans l'industrie alimentaire et comme plante ornementale et médicinale (Jonatas *et al*,2019).



Figure 1. Présentation de *Rosmarinus officinalis* (Leplat, 2017)

1.1.2. Classification scientifique

L'origine de son nom "Rose-Mary" vient de deux mots latins : "rhous" qui signifie "sumac", et "marinus" qui signifie "la mer." Certains l'appellent "anthos", dérivé d'un grec, mot qui signifie « fleur ». Cette plante a un système racinaire fibreux (Andrade, 2018).

- | | |
|----------------------------|----------------------------------|
| ○ Règne : | <i>Plantes</i> |
| ○ Sous-règne : | <i>Tracheobiontes</i> |
| ○ Super division : | <i>Spermaphytes</i> |
| ○ Division : | <i>Magnoliophytes</i> |
| ○ Classe : | <i>Magnoliopsides</i> |
| ○ Sous-classe : | <i>Astéridées</i> |
| ○ Ordre : | <i>Lamiales</i> |
| ○ Famille : | <i>Lamiacées</i> |
| ○ Genre : | <i>Rosmarinus</i> |
| ○ Espèce : | <i>Officinalis</i> |
| ○ Nomenclature binomiale : | <i>Rosmarinus officinalis</i> L. |

1.1.3. Répartition géographique

Le *Romarin* pousse spontanément dans le sud de l'Europe et est originaire du bassin méditerranéen (aux altitudes faibles), en Provence et en Corse. Il remonte le long de la vallée du Rhône, sur les contreforts « sud du Massif central et parfois sur les causses » de la région Midi-Pyrénées. Il se retrouve dans les garrigues, maquis, pelouses sèches ; souvent sur sols calcaires (Leplat, 2017).

1.1.4. Description botanique

Le *Romarin* est un arbrisseau formant un buisson de 1 m et plus, toujours vert, très rameux et très feuillé dès la base. Les feuilles persistantes sont coriaces, sessiles, linéaires, entières, enroulées par les bords, vertes et chagrinées en dessous, blanches tomenteuses en dessous. Les fleurs bleues-pâle ou blanchâtres, subsessiles, sont disposées en petites grappes axillaires et terminales. Le calice est en cloche, bilabié, pulvérulent, nu à la gorge, à lèvre supérieure ovale et entière inférieure à 2 lobes lancéolés. La corolle bilabiée tube saillant, est à lèvre supérieure en casque bifide inférieure à 3 lobes, le moyen très large et concave. Les 2 étalées, à filets saillants munis vers là-bas de petites dents, sont insérées à la gorge de la corolle. Les anthères sont linéaires et à une loge. Le fruit est un tétrakène à 4 carpelles obovales et lisses, dissimulés au fond du calice (Ducroix, 2008).

1.1.5. Effets thérapeutiques de *Romarin*

Le *romarin* contient de nombreux composés phytochimiques tels que le camphre, l'acide rosmarinique, l'acide caféique, l'acide ursolique et l'acide butyloxy. Et un certain nombre d'antioxydants tels que l'acide carnosique et le carnosol.

En médecine traditionnelle, l'extrait et l'huile de *romarin* des fleurs et des feuilles sont utilisés pour traiter de nombreux troubles.

Tableau 01. Résultats recueillis sur les utilisations de *Rosmarinus officinalis*.L (Lucas, 2020).

	Résultats
Activité anti-inflammatoire	A. L'acide carnosique inhibe NO. B. Les plaquettes d'acide carnosique ont été inhibées. C. Carnosol réduit la dermatite atopique. D. L'extrait de <i>romarin</i> a montré une activité anti-inflammatoire similaire à l'indométhacine.
Cancer de la peau	A. L'extrait de <i>romarin</i> réduit le nombre, le diamètre, le poids et l'incidence des tumeurs et augmente la période de latence. B. L'acide rosmarinique a montré une activité caméoprotectrice. C. L'acide carnosique a montré un effet protecteur contre le mélanome.
Cicatrisation des plaies	A. L'huile de <i>romarin</i> a montré une cicatrisation, une angiogenèse et des améliorations du tissu de granulation. B. L'huile de <i>romarin</i> a accéléré la cicatrisation des plaies chez les animaux diabétiques et non diabétiques.

	C. La crème au <i>romarin</i> a accéléré la cicatrisation des plaies.
Survie des lambeaux cutanés	A. L'huile de <i>romarin</i> a montré une amélioration de la survie et de la viabilité des tissus, et la nécrose des tissus était plus faible.
Effets transdermiques	A. Les monoterpènes, présentés dans l'huile de <i>romarin</i> , favorisaient l'absorption cutanée.
Activité antifongique	A. L'huile de <i>romarin</i> était capable d'inhiber la croissance de <i>C. albicans</i> . B. L'extrait de <i>romarin</i> était responsable de l'inhibition de la croissance fongique.
Lipodystrophie ginoïde (GLD, cellulite)	A. Une crème à l'acide carnosique était responsable d'une amélioration de l'apparence de la cellulite.
Alopécie	A. L'extrait de <i>romarin</i> a montré une croissance des cheveux.
Anti-âge	A. Le <i>romarin</i> a une forte capacité antioxydante. B. Les nanoparticules d'huile essentielle de <i>romarin</i> ont montré une plus grande capacité d'hydratation et améliorent l'élasticité.
Protection contre les ultraviolets	A. Les extraits de <i>romarin</i> et d'agrumes ont pu améliorer la protection des cellules contre les UV. B. L'extrait de <i>romarin</i> réduit les dommages cutanés causés par le soleil.
Autres études	A. Les métabolites secondaires présents dans l'extrait de <i>romarin</i> ont montré des propriétés d'émulsion stabilisatrice.

1.2. Activité antibactérienne

Selon Weckesser *et al* (2007) ont examiné les effets antimicrobiens des extraits et des composés isolés de certaines plantes, sur l'ensemble de 29 bactéries et levures avec pertinence dermatologique. L'extrait obtenu par le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du *romarin*, a présenté un large spectre antimicrobien, la croissance de 28 sur 29 germes a été empêchée par cet extrait. Le résultat montre que seule l'acide carnosique a une activité antibactérienne (Weckesser *et al*,2007).

Chapitre 2 :

Les huiles essentielles

2.1. Généralités

Les HEs sont fabriqués à partir des sucres issus de la photosynthèse, par des cellules spécialisées (ou sécrétrices) situées le plus souvent dans les fleurs et les feuilles. Mais il est aussi possible d'utiliser le fruit, le bois ou encore la racine du végétal considéré. L'huile essentielle est un extrait pur et naturel de la partie odoriférante des plantes aromatiques (Lardry, 2007).

2.1.1. Définition

L'Agence française de normalisation : Agence Française de Normalisation (AFNOR) donne la définition suivante (NF T 75-006) : " L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe des Citrus, ou distillation sèche ". L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des moyens physiques.

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Ces huiles volatiles sont généralement liquides et incolores à température ambiante. Elles ont une odeur caractéristique, sont généralement liquides à température ambiante (Dhifi *et al*, 2016).

2.1.2. Propriétés biologiques et pharmacologiques

Rosmarinus officinalis est une herbe médicinale bien connue et largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et la médecine traditionnelle. Il a fait l'objet de plusieurs études validant ses effets antibactériens et d'autres investigations ont rapporté que les huiles essentielles comme alternative naturelle pour contrôler les micro-organismes résistants aux antibiotiques, il a également été étudié en déterminant la effet de divers processus de séchage sur les composants volatils actifs et leurs bioactivités respectives telles que l'antioxydant basé sur trois dosages antioxydants différents, les propriétés antidiabétiques et anti-âge, et a montré un grand potentiel en tant qu'anti-inflammatoire, antifongique et Il a également été rapporté que les problèmes de toxicité de l'huile essentielle de *romarin* sont connus à des concentrations élevées représentées par des doses mortelles par des effets toxiques chez l'homme entraînant des convulsions, de l'ataxie, des hallucinations et une nécrose hépatique, ainsi que les activités cytotoxiques les plus fortes, ce qui signifie des effets anticancéreux (Diass, 2021).

2.1.3. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants appartenant exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : les terpènes volatils et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Lakhdar, 2015).

On retrouve plus d'un millier de composants chimiques dans les huiles essentielles. On distingue :

2.1.3.1. Composés terpéniques

Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène.

Ils sont classés selon : leurs fonctions et leur structure.

Il convient à souligner que seuls les terpènes de faible masse moléculaire (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (67) leur conférant un caractère volatil et des propriétés olfactives (Pibiri, 2006).

2.1.3.2. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes. Citons l'acide cinnamique et l'aldéhyde cinnamique, l'eugénol, l'anéthole et l'aldéhyde anisique, ainsi que le safrole.

Les lactones dérivées des acides cinnamiques, comme les coumarines, sont, pour la plupart, entraînaibles par la vapeur d'eau et ainsi présentes dans certaines huiles essentielles (Coic,2013).

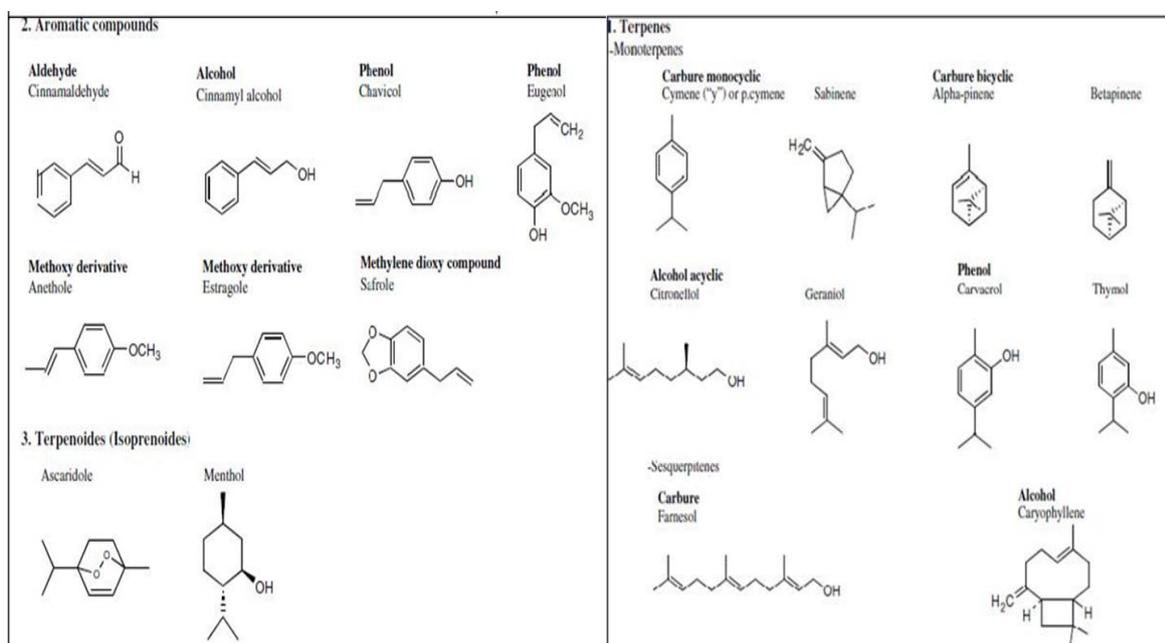


Figure 02. Structure chimique de certains composés des huiles essentielles (Bakkali *et al*, 2008).

2.2. Mode d'obtention de l'huile essentielle

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première : la fragilité de la plante utilisée, la partie du végétal traitée et ses caractéristiques. Les quantités d'essences secrétées par les plantes sont extrêmement variables ainsi que le rendement « HE/matière première végétale », qui varie d'une plante à une autre : de 150 ppm à plus de 20%. La technique utilisée conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier la viscosité, la couleur, la solubilité, la volatilité, l'enrichissement ou l'appauvrissement en certains constituants (Desmares *et al*, 2008).

2.2.1. Techniques classiques

Pratiquée sous des différentes formes, la distillation est sans doute la méthode la plus employée pour extraire les essences des plantes (Kone, 2001). Parmi ces techniques :

2.2.1.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille fig.3.A. Durant le passage cette vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite condensé dans le réfrigérant avant d'être décanté dans l'essencier. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées en deux phases : phase liquide et phase organique et les HE sont ensuite récupérées (Mnayer, 2014).

Le distillat aqueux qui subsiste après la séparation est appelé « eau aromatique », « hydrolat » ou « eau distillée florale » (Desmares *et al*, 2008). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Fadi, 2011).

2.2.1.2. Extraction par hydrodiffusion

C'est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale du haut vers le bas, en utilisant la pesanteur comme force de déplacement de la vapeur fig.3.B (Bouhaddouda, 2015). L'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur (Fadi, 2011).

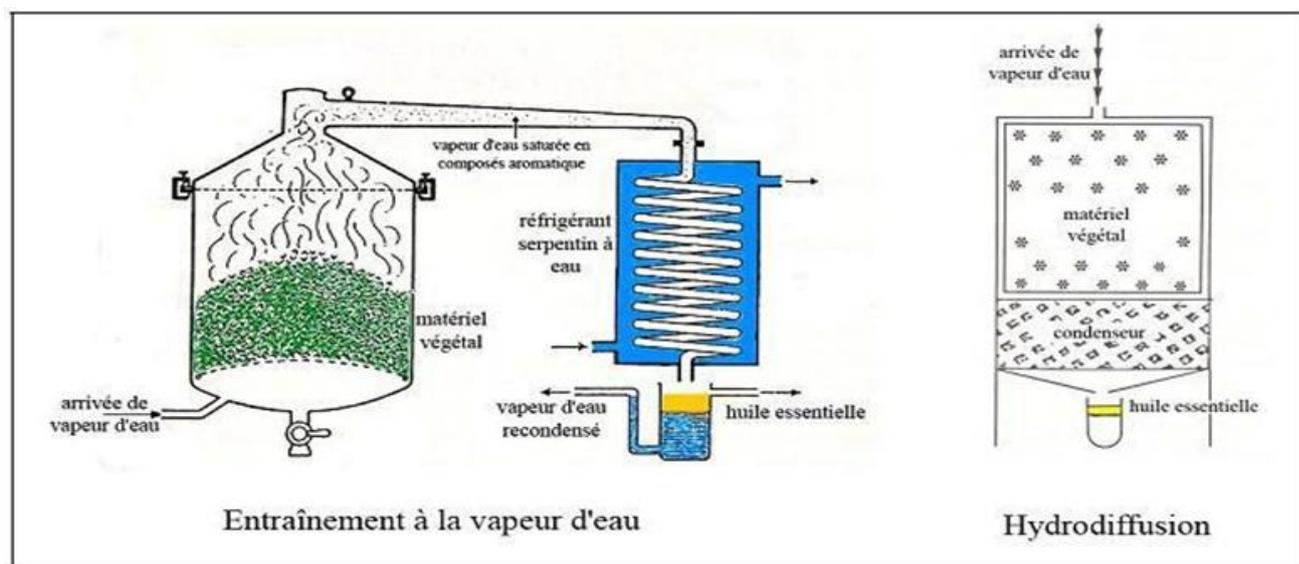


Figure 03. Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau (A) et l'hydrodiffusion (B) (Fadi, 2011)

2.2.1.3. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation est l'une des procédés les plus simples et le plus anciens (Beneteaud, 2011). Dans ce procédé la matière première à traiter est entièrement immergée dans l'eau dans un ballon fig.4.A (clevenger) lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic fig.4.B industriel qui est ensuite portée à ébullition.

La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'essence recherchée, les deux vapeurs se concentrent au niveau du col de cygne de l'alambic puis s'acheminent par un serpentin refroidi dans un circuit d'eau et se condensent afin d'être recueillies dans un essencier.

La séparation entre eau et huile essentielle se fait par différence de densité, ce qui permet de récupérer facilement l'huile essentielle.

Cette méthode est généralement utilisée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées (Bouhaddouda, 2015)

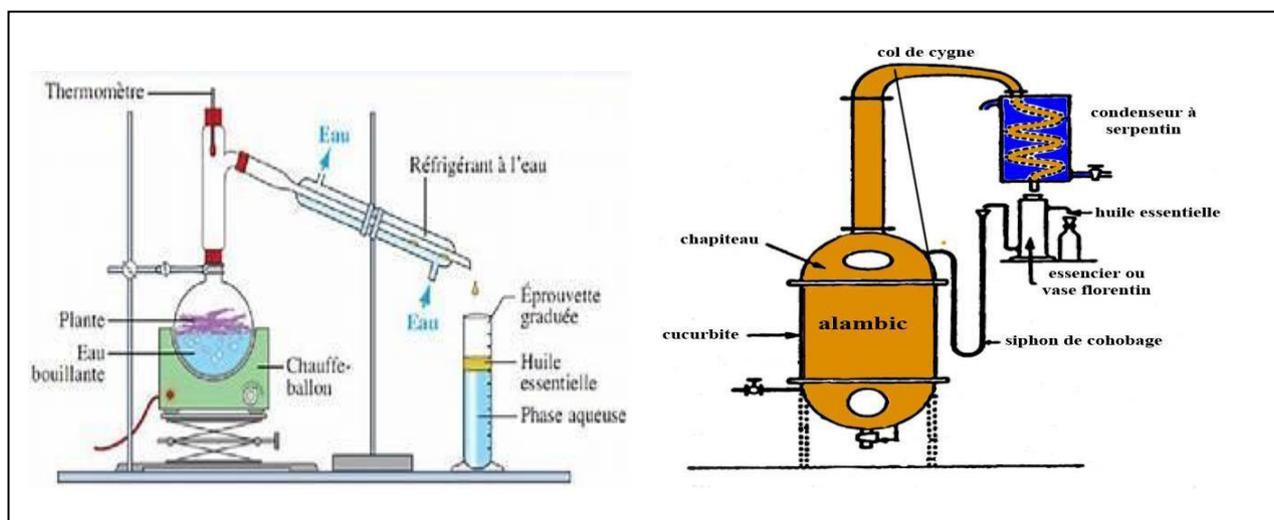


Figure 04 . Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevenger (A) et Alambic (B) (Fadi, 2011)

2.2.2. Techniques récentes

Ce sont des techniques qui répondent à un bon nombre d'exigences actuelles en termes de vitesse et d'automatisation utilisés pour obtenir les huiles essentielles ou d'autres composés des plantes. Parmi ces techniques : l'extraction aux ultrasons et l'extraction par micro-ondes.

2.2.2.1 Extraction assistée par microondes

Cette méthode permet de réaliser des extractions à pression atmosphérique du matériel végétal frais ou un échantillon sec réhydraté. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes. Le chauffage interne de l'eau intrinsèque de la plante permet de dilater ses cellules et provoquer la distillation d'un mélange d'eau/huile essentielle. Un système réfrigérant situé à l'extérieur du four à micro-ondes permet la condensation du distillat en

continu, puis le mélange est dirigé dans l'appareil de Clevenger où les composés aromatiques sont obtenus par simple séparation de phase. Pour l'extraction des autres composés végétale le solvant permet d'attaquer la paroi cellulaire et la pénétrer pour atteindre les composés d'intérêt (Destandau, 2013).

2.2.2.2. Extraction aux ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz). Les ultrasons de puissance fonctionnant à une intensité entre 20 et 100 kHz sont utilisés pour l'extraction des arômes ainsi que d'autres molécules des plantes (Dolatowski *et al*, 2007).

Lorsque les ultrasons se propagent à travers un liquide, les oscillations des molécules provoquent la formation des zones de compression et de dépression (raréfaction). Quand les cycles de raréfaction augmentent, les forces maintenant la cohésion du liquide sont vaincues et des bulles de cavitation apparaissent. Les bulles vont imploser à côté de la surface du matériel végétal et provoquer la rupture des membranes des cellules qui libèrent leurs contenus à l'extérieur fig.5 (Mnayer, 2014).

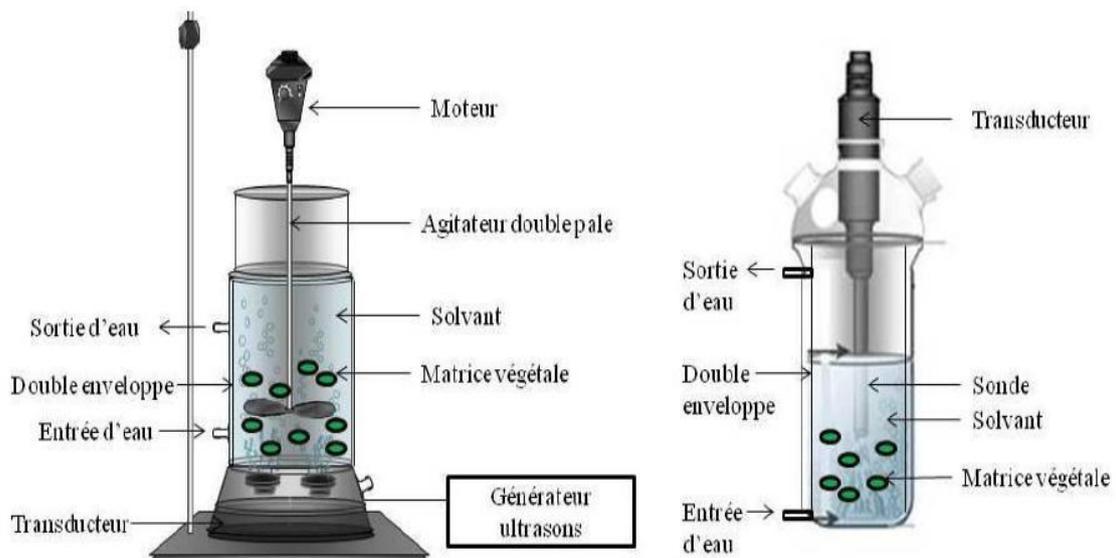


Figure 05 . Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique (Mnayer, 2014).

Partie II

Etude expérimentale

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

3.1. Matérielles et méthodes

Vu de la situation épidémiologique sanitaire cette année (*covide 19*), nous n'avons pas la capacité de réaliser la pratique et nous sommes appuyés sur l'analyse et la discussion avec d'autres articles.

Les informations sur mémoire de référence dans l'annexe.

3.1.1. Matériel végétale

Pour faire ce travail, nous avons sélectionné Les parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* qui ont été récoltées dans différentes régions de l'intérieur et de l'extérieur de l'Algérie à différentes périodes de février, mai, juin et juillet.

Dans ces articles, la plante a été utilisée : dans l'étude de Mouas *et al* (2017) la plante a été récoltée dans les régions de Blida et Djelfa, dans l'étude de Mihalian *et al* (2017) la plante a été récoltée dans la région de Constantine, et dans l'étude de la Jordan *et al* (2013) elle a été collectée dans 31 réserves sauvages appartenant à différentes zones climatiques biologiques de la province de Murcie, et dans l'étude de Fadil *et al* (2018) la zone était à Taounate (Maroc), et dans l'étude d'El Kameli *et al* (2019), la plante a été collectée dans la zone de Skoura Madaz dans la partie centrale du nord du Maroc, et dans une étude de Boutabia *et al* (2016), il a été collecté à partir de trois sites (Yukos, Draa Hamam et Amasha) en direction de Hammamet, province de Dar Bir Moghadam Tebessa.

3.1.2. Matériels biologiques

A travers ces études, nous avons choisi étude, deux souches de bactéries pathogènes, Gram-négatives (*Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*) et deux Gram-positives (*Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus aureus*).

Ont été sélectionnées pour étudier l'activité des huiles essentielles sur leur activité.

3.2. Préparation de plante médicinale étudiée

Après avoir cueilli le matériel végétal (*romarin*), il est nettoyé et séché à l'air libre et à l'ombre.

- Il reste hors de l'humidité, à température ambiante.
- Il est gardé dans des sacs propres pour éliminer les impuretés.
- La matière végétale est transportée au laboratoire de biologie pour commencer le processus d'extraction.
- Avant l'extraction, les plantes sont écrasées manuellement avec du mortier.

3.3. Extraction

L'extraction des HEs a été réalisée au laboratoire pédagogique du département des sciences biologiques à l'université de Tébessa par la méthode d'hydrodistillation.

➤ **Principe**

L'hydrodistillation est la méthode la plus courante pour l'extraction des huiles volatiles. Cette méthode est décrite dans la Pharmacopée Européenne 2005 et est réalisée à l'aide d'un appareil de type Clevenger.

Elle est une méthode qui implique de faire bouillir la matière végétale dans l'eau, en utilisant une source de feu située sous le récipient. La matière volatile est entraînée par la vapeur à travers des tubes, puis refroidie. L'huile volatile est ensuite retirée du sommet de l'hydrolat (Atofani *et al*, 2010).

➤ **Mode opératoire**

D'après Boutabia *et al*, (2016) ; Fadil *et al*, (2018) ; Jordan *et al*, (2013) ; Mehaliane *et al*, (2017).

Les huiles essentielles ont été extraites de 50 g de parties aériennes sèches par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger pendant 2 h. Les huiles obtenues ont été complètement séparées de l'eau sans ajouter de solvant et conservées dans des bouteilles en verre foncé stérilisées à 4 ° C jusqu'à ce qu'elles soient utilisées pour le test d'activité antibactérienne. Les extractions d'huiles essentielles ont été effectuées en deux à trois répétitions et les rendements ont été calculés.

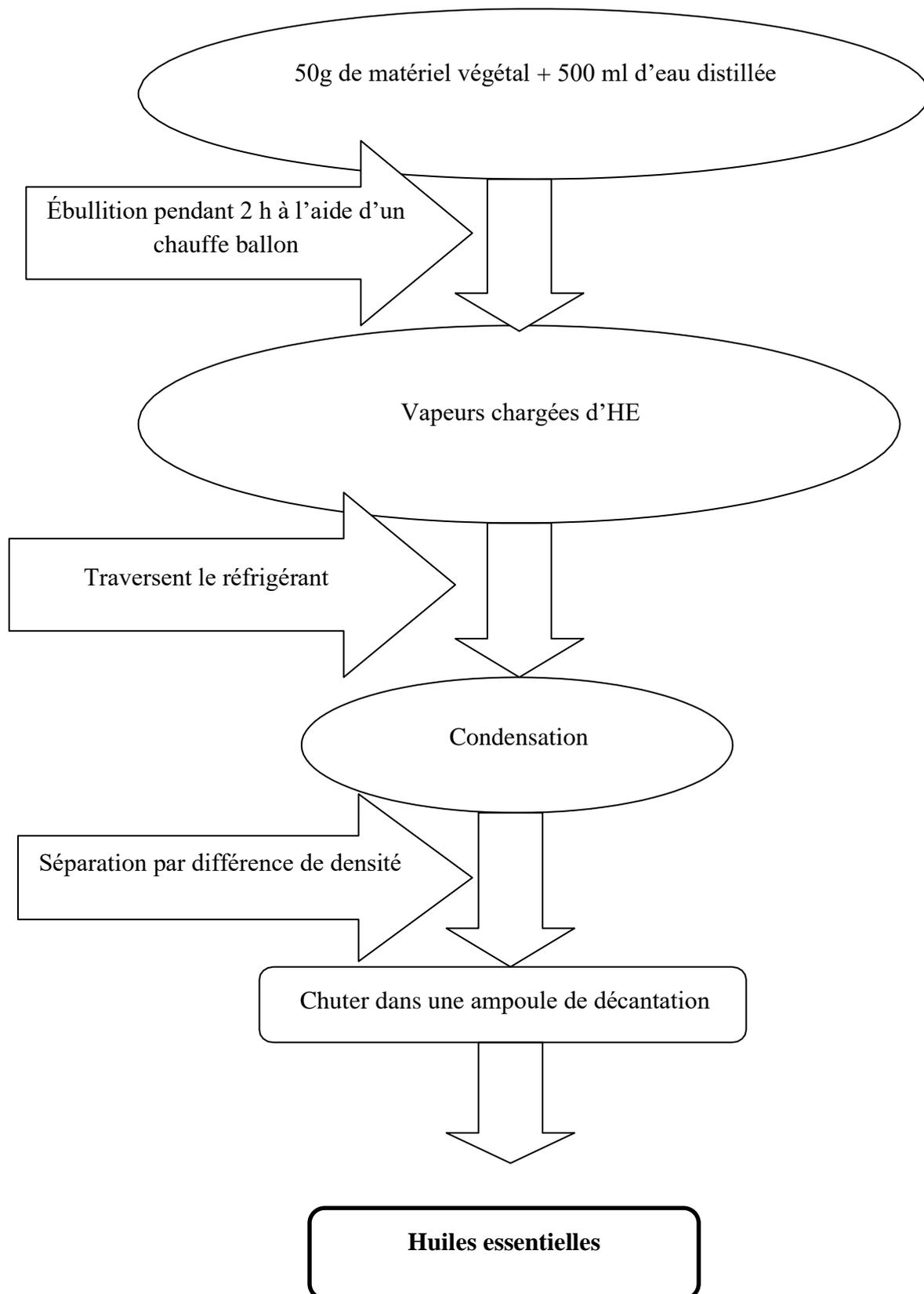


Figure 07. Protocole d'extraction des HEs de partie aérienne *Rosmarinus officinalis* selon la méthode d'hydrodistillation.

3.4. Cinétique d'extraction

Le rendement d'extraction de l'huile essentielle a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{RENDEMENT} = \frac{\text{MASSE DES HUILES ESSENTIALS RECUPERER (g)}}{\text{PRISE D'ESSAI DU MATIERE VEGETALE (g)}} \times 100$$

Où la masse du matériel foliaire était de 100 g (Sui *et al*, 2011).

3.5. Étude de l'activité antibactérienne

3.5.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé (Aromatogramme)

➤ Principe

L'activité antibactérienne est évaluée par la méthode d'aromatogramme qui permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée.

La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier buvard, préalablement imprégnés de quantités connues d'huile essentielle, sont alors placés en surface de la gélose. Généralement, les microorganismes seront classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (Boutabia *et al*, 2016).

➤ méthode de diffusion du disque

D'après Boutabia *et al*,(2016) ; El-Kamli *et al*, (2019) ; Jordan *et al*,(2013) ; Mehaliane *et al*, (2017), MOUAS *et al*, (2017) .

Le test biologique de diffusion sur disque a été appliqué pour déterminer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*. Les cultures bactériennes ont été cultivées sur un bouillon nutritif à 37 ° C pendant 24 h et les inoculums avec 10⁶ ufc / ml ont été uniformément répartis et répartis de manière homogène sur la surface des plaques de gélose Muller Hinton (Merck, Allemagne). Des disques de papier stérilisés (disque Whatman), de 6 mm de diamètre, ont été imprégnés d'huile essentielle (HE) et déposés sur les boîtes ensemencées. Après une période d'incubation de 24h à 37°C, les zones d'inhibition ont été déterminées et exprimées en mm incluant le diamètre du disque. Les antibiotiques de référence et les disques sans échantillons ont servi respectivement de témoins positifs et négatifs. L'expérience a été réalisée et les valeurs moyennes ont été déterminées.

➤ Expression des résultats

La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque en mm au moyen du marqueur. Les résultats sont exprimés en fonction du diamètre de la zone inhibitrice.

Sensibilité des souches bactériennes	Zone d'inhibition
Non sensible ou résistante (-)	Diamètre < 8mm
Sensible (+)	Diamètre compris entre 9 à 14mm
Très sensible (++)	Diamètre compris entre 15 à 19mm
Extrêmement sensible (+++)	Diamètre > 20 mm

Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (Ponce *et al*, 2003)

3.5.2. Analyse statistique

Afin d'effectuer une étude comparative de l'effet d'une HE sur les souches bactériennes, on a utilisé le logiciel statistique graph Pad Prism7.

Chapitre 4

Résultats et Discussion

Dans ce qui suit, nous avons discuté les résultats obtenus par :

Lamia BOUTABIA *et al*, Mouhcine Fadil *et al*, S. Mehalaine *et al*, A. Ouibrahim *et al*, María J. Jordán *et al*, MOUAS Yamina, T. El Kamli.

4.1. Extraction et détermination du rendement

Afin d'obtenir une quantité suffisante d'huile, le processus d'hydrodistillation a été répété à l'aide d'un appareil Clevenger, sur la partie aérienne de la plante.

La couleur des huiles essentielles varie de claire au foncé et plus légères que l'eau. Elles sont facilement liquides et volatiles.

4.1.1 Rendements

D'après le protocole expérimental, les valeurs de rendement des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* sont les suivantes :

Selon Boutabia *et al* (2016) l'opération d'extraction des huiles essentielles du *romarin* dans les trois stations de la région de Hammamet a permis d'avoir des rendements allant de 1.60 ± 0.004 ml/100g MS à 2.29 ± 0.041 ml/100g MS. Le tableau 02 regroupe les rendements obtenus de chaque station d'étude.

Tableau 02 : Rendement en huile essentielle du *romarin* des stations d'étude

Station	RHE1	RHE2	RHE2	Moyenne ml/100gMS	Écart type
Station 1 (Youkous)	2.25	2.27	2.36	2.29	0.041
Station 2 (Draa Hammam)	1.60	1.57	1.63	1.60	0.004
Station 3 (Ammacha)	1.83	1.96	1.77	1.85	0.004

Selon Fadil *et al* (2018) Les résultats de la distillation des plantes ont indiqué que le rendement en huile essentielle était de 2,3 % *R. officinalis*.

Selon les résultats de Jordan *et al* (2013), présentés dans la Fig.08, les caractéristiques écologiques de la zone particulière dans laquelle les arbustes de *romarin* sont cultivés affectent l'huile essentielle produite par ces arbustes. Ainsi, des différences statistiquement significatives ont été détectées entre les huiles essentielles obtenues à partir de plantes poussant dans la zone thermo méditerranéenne inférieure (1,74 0,38%) par rapport aux niveaux d'huile extraite de plantes des zones méso- et supra-méditerranéennes supérieures respectivement (2,44 1,26 et 2,58 0,75%). Ce phénomène pourrait être attribué à certains facteurs environnementaux qui pourraient stimuler la production d'huile essentielle par les plantes de *romarin*.

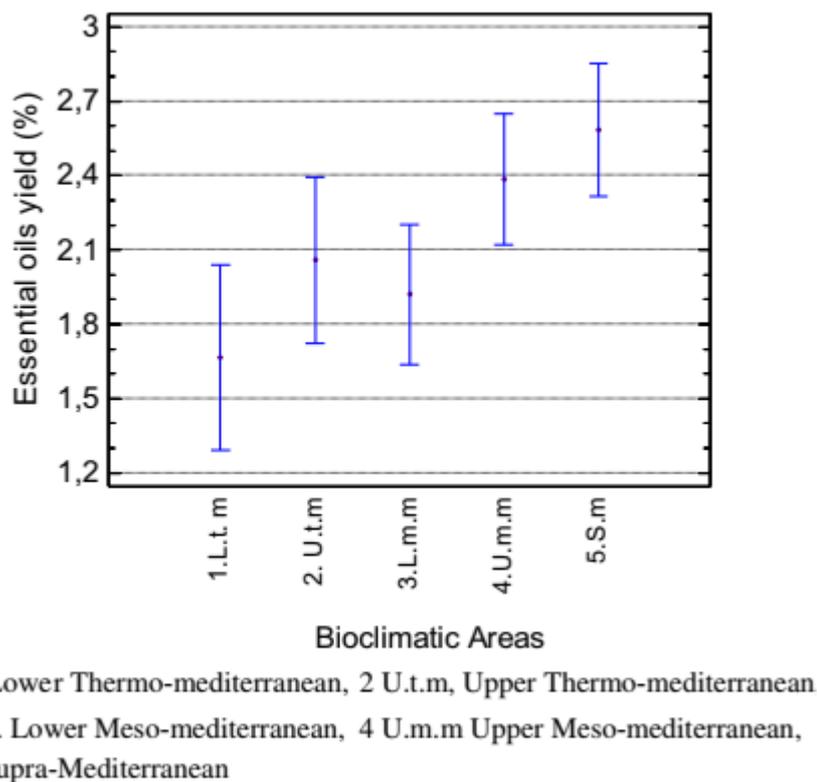


Figure 08. Rendement en huile essentielle de *romarin* dans les différentes zones bioclimatiques de la région de Murcie (Jordán *et al* 2013).

La différence de rendement peut s'expliquer par la différence de récolte dans les zones géographiques résultant de différents facteurs biotiques et abiotiques tels que le climat, le type de sol, l'âge, la diversité génétique de la plante, le moment de la collecte ou encore la méthode d'extraction de l'huile.

Cette différence de ratios est due à plusieurs facteurs dont le plus important est la méthode de travail. Bien que le principe soit le même, chacun a une méthode de travail particulière.

Et les différentes conditions de conservation et de cueillette de la plante, le changement de saison et le changement de lieu entraînent une modification de la composition chimique de la plante, nous pouvons donc trouver des différences dans la composition chimique, et cela est confirmé par la différence de rendement de l'huile extraite.

Des études menées sur des feuilles de *Rosmarinus officinalis* par Jordan *et al* (2012) extraites dans trois zones spécifiques montrent des rendements en HE différents de 0,38 % et 1,26 %. Et 0,75 %. Donc les rendements en HE dépendent de la zone bioclimatique dans laquelle se trouvent les buissons de *romarin*.

En revanche, le rendement en HE varie selon la zone d'étude. Selon Boutabia *et al*, (2016) Des prospections ont été menées sur trois stations à Wilayah, Tébessa (Youkous, Draa Hammam, Ammacha), avec des rendements de (1,60% à 2,29%) autorisés, et des rendements obtenus à cet intervalle.

C'est ce qui a été mentionné précédemment, la différence dans les régions est un facteur dans la différence de rendement de l'huile extraite.

4.2. Etude l'effet antibactérien

La méthode de diffusion sur disque est la méthode de référence pour l'évaluation de l'activité antibactérienne permet le contact direct de l'HE avec la bactérie testée. L'action inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné des extraits étudiés, toutes les valeurs des zones d'inhibition sont exprimées en moyenne de trois essais \pm écart type.

4.2.1. Évaluation de l'activité antibactérienne

D'après Boutabia *et al*, (2016) ; El-Kamli *et al*, (2019) ; Jordan *et al*, (2013) ; Mehaliane *et al*, (2017), MOUAS *et al*, (2017).

Dans une étude menée par MOUAS *et al*, (2017) qui testait l'effet de l'huile de *romarin* sur des souches bactériennes, elle a donné des résultats, dans laquelle les huiles essentielles des deux écotypes Blida et Djelfa ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* avec respectivement 23,75 mm et 16,75 mm.

Quant à l'activité antibactérienne d'*Escherichia coli*, les résultats ont indiqué que l'huile essentielle de l'écotype blida présente une activité antimicrobienne contre *Escherichia coli* approximativement égale à celui de Djelfa, soit 9,25 mm et 9,5 mm, respectivement.

En outre, les résultats de l'activité antibactérienne d'*Enterococcus faecalis* ont été trouvés. Les résultats indiquent que dans l'environnement terne, il montre une grande activité antimicrobienne contre *Enterococcus faecalis* par rapport à l'huile de Djelfa avec des quantités de 22,75 mm et 14,25 mm, respectivement.

Quant aux résultats d'une étude menée par El-Kamali *et al*, (2019) l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* a montré une activité antibactérienne variable. Les résultats ont indiqué que l'huile essentielle testée a montré des propriétés antibactériennes plus élevées que le études MOUAS *et al*, (2017) ont donné une activité antibactérienne contre les bactéries Gram-positives (17-27) mm par rapport aux bactéries Gram-négatives (15-23) mm.

On peut en conclure que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans le Moyen Atlas marocain (Skoura Madaz) représente une bonne efficacité comme antibactérien. Cela peut être dû au profil chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

En ce qui concerne les Gram-négatifs, l'huile essentielle a montré un effet significatif sur *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 9,83 mm et *K. pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition de 9,50 mm.

Dans l'étude El-Kamali *et al*, (2019) L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a présenté une activité antibactérienne variable, comme le montrent les zones d'inhibition (IZ). Les résultats du test de diffusion sur disque ont indiqué que l'huile essentielle testée présentait une

activité antibactérienne plus élevée contre les bactéries gram-positives (IZ 17–27) que contre les bactéries gram-négatives (IZ 15–23).

Cette activité antibactérienne peut être attribuée principalement aux constituants majoritaires, car le mode d'action des composants mineurs des huiles essentielles est inconnu. Les huiles essentielles ont généralement une plus grande activité antibactérienne que les mélanges de leurs composants majoritaires, ce qui suggère que les composants mineurs sont essentiels à l'activité synergique.

Selon Delaquis *et al* (2002) suggèrent que ces composés (mineurs) induisent des différences dans l'enveloppe des cellules des bactéries Gram positif. Il est bien connu que les bactéries Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries Gram négatif. La grande résistance des bactéries Gram négatif est liée, en partie, à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui contient une double membrane, contrairement à la structure simple de la membrane des bactéries Gram positif qui est dotée d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise externe constituée de lipopolysaccharides et de protéines. Cette structure peut empêcher la prise d'huiles ou protéger la couche peptidoglycane vis-à-vis des huiles. Chez les bactéries Gram négatif, elle constitue une barrière d'imperméabilité aux substances hydrophobes, susceptibles d'entrer et d'empêcher la croissance des bactéries Gram positif. Pour Moussaid *et al* (2012), l'activité des principes actifs serait liée aux conditions de séchage et de broyage de la plante. Elle dépend également de plusieurs facteurs, dont le mode d'extraction et la concentration en principes actifs (Fertout *et al*, 2016).

Conclusion

Le présent travail est consacré à la détermination du rendement, et des propriétés antibactériennes de l'huile essentielle extraite de la plante *Rosmarinus officinalis L.*

Cette étude résume le travail bibliographique en ce qui concerne les caractéristiques du *romarin* en tant que plante riche en substances qui peuvent lutter contre les activité bactérienne. L'étude morpho-physiologique du *Rosmarinus officinalis L* présente qu'il fait partie de la famille des *Lamiaceae* plante très étendue dans le bassin méditerranéen. L'étude biochimique montre que le *romarin* est une plante aromatique et médicinale très riche en principes actifs dont l'huile essentielle est un composant majeur, ce qui lui donne une importance économique importante.

Les techniques d'extraction des dérivés de cette plante sont les mêmes pratiquées pour toute type de plantes aromatiques et médicinales. L'hydrodistillation est la méthode classique la plus courante, due à la simplicité de son protocole et ses rendements adéquats. Les résultats de cette analyse chimique montrent que les principaux principes actifs sont les composés phénoliques et les terpénoïdes (monoterpènes et sesquiterpènes) qui constituent pratiquement la totalité de la composition de l'HE du *romarin*. Quel que soit sur l'échelle nationale ou régionale cette HE montre une variabilité de proportions des composantes chimiques. Cela dépend majoritairement de la race chimique (chimiotype) qui varie selon la répartition géographique mais aussi selon les conditions de récolte et les procédés d'extraction. En revanche, le rendement est plus au moins constant entre 1,5-3 % v/masse sèche.

Les études citées précédemment révèlent l'efficacité de l'HE in vitro du *romarin* sur le type bactérien. D'après le test d'aromatogramme de l'HE sur les différentes souches testées, les meilleurs résultats constatés sont celui de El-Kamali *et al* (2019) avec des halos d'inhibition de 27mm.

Pour faire suite à nos résultats et notre synthèse, un travail appliqué est envisageable afin de mettre en évidence par expérimentation et étude l'effet des dérivées du *romarin* dans la lutte contre les bactéries. Et la fabrication de produits qui contribuent biologiquement à l'effet sur les bactéries, d'autant plus qu'il est cette plante du *romarin* connue et facile à récolter dans notre territoire national.

Sachant que notre pays possède une formidable diversité biologique, chaque plante se caractérise par un réservoir assez important d'huiles essentielles aux propriétés curatives et pharmacologiques particulières qui nécessitent leur exploitation par la recherche, à cet effet, et comme perspectives nous vous proposons :

- Une identification de nouveaux composés d'huiles essentielles naturelles pouvant répondre à différents problèmes de santé et constituer une alternative aux médicaments de synthèse.
- Un développement de médicaments végétaux à activité antibactérienne.
- Orienter la recherche scientifique vers la réalisation d'études approfondies et complémentaires de l'activité antibactérienne des composés huileux en général.

Bibliographie

- 1) **Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P.** (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, 4(4), FSO283. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
- 2) **Atofani, D; Zamfirache, M; Andro, A; Boz, I; Coisin, M** (2010). IMPROVED TECHNIQUES FOR OBTAINING VOLATILE OILS CONCERNING THEIR QUANTITATIVE AND QUALITATIVE ANALYSIS FROM LAMIACEAE TAXONS, University, Faculty of Biology, Carol I Bd., No 20 A, 700506, Iasi, Romania.
- 3) **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- 4) **Beneteaud E**, 2011. Les techniques d'extraction. Comité Français du Parfum. p 2-7.
- 5) **Bérubé-Gagnon, J.**, (2006). Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de *Picea mariana*. Mémoire comme exigence partielle de la maîtrise en ressources renouvelables. Quebec.
- 6) **Bouhaddouda N**, 2015. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat en Biochimie appliquée. Univ Badji Mokhtar -Annaba. p18-19.
- 7) **Boukhatem M- N, Ferhat A et Kameli A**, 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *Revue Agrobiologia*. p 1654-1656.
- 8) **Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrour, A.** (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*, 174–189. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.6050>
- 9) **Couic-Marinier, F., & Lobstein, A.** (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22–25. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.02.006>
- 10) **De Macedo, L. M., Santos, R. M. D., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G.** (2020). *Rosemary (Rosmarinus officinalis*

- L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. *Plants*, 9(5), 651. <https://doi.org/10.3390/plants9050651>
- 11) **De Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & de Oliveira, L. D.** (2019b). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>
 - 12) **Delaquis, P.** (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1–2), 101–109. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00734-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00734-6)
 - 13) **Desmares C, Laurent A et Delerme C**, 2008. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles : Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France. P 11-12.
 - 14) **Destandau E, Michel T et Elfakir C**, 2013. Microwave-assisted extraction. Natural product extraction : principles and applications. n°21. p 113.
 - 15) **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W.** (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
 - 16) **Diass, K., Brahmi, F., Mokhtari, O., Abdellaoui, S., & Hammouti, B.** (2021). Biological and pharmaceutical properties of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula officinalis* L. *Materials Today: Proceedings*, 45, 7768–7773. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.495>
 - 17) **DJEBBARI H, BARKI D, BOUMAAGOUA S.** (2021)., Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus camaldulensis*). Université de Larbi Tébessi –Tébessa
 - 18) **Dolatowski Z-J, Stadnik J et Stasiak D**, 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. Vol 6, n°3. p 93.
 - 19) **Ducerf, G.** (2008). L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices alimentaires et médicinales (Vol. 2). Promonature.

- 20) **El Kamli, T., el Hamdani, M., Eloutassi, N., Errachidi, F., Chabir, R., & Bour, A.** (2019). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil From Moroccan Middle Atlas. *Phytothérapie*, 18(3–4), 162–168. <https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0128>
- 21) **Fadi Z,** 2011. *Le romarin, Rosmarinus officinalis* le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ Mohammed V Maroc. p 51-57.
- 22) **Fadil, M., Fikri-Benbrahim, K., Rachiq, S., Ihssane, B., Lebrazi, S., Chraïbi, M., Haloui, T., & Farah, A.** (2018b). Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: Optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 126, 211–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.06.002>
- 23) **Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B.** (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 346–353. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1048-1>
- 24) **Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., & Sotomayor, J. A.** (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30(2), 463–468. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.029>
- 25) **Kone S,** 2001. Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate Information Service. Eschborn, Germany.
- 26) **LAKHDAR, L** (2015)., EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE D'HUILES ESSENTIELLES MAROCAINES SUR AGGREGATIBACTER ACTINOMYCETEMCOMITANS : ETUDE IN VITRO. THESE N° : 28/14 CSVS
- 27) **Lardry, J. M., & Haberkorn, V.** (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 14–17. [https://doi.org/10.1016/s1779-0123\(07\)70308-x](https://doi.org/10.1016/s1779-0123(07)70308-x)
- 28) **LEPLAT.M** (2017). *Le Romarin, Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat.
- 29) **Lhuillier, A.,** (2007). Contribution à l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker

- (Ericaceae), *Tambourissa trichophylla* Baker (Monimiaceae) et *Embelia concinna* Baker (Myrsinaceae). Thèse de doctorat. Toulouse.
- 30) **Mehalaine, S., Belfadel, O., Menasria, T., & Messaili, A.** (2017). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three medicinal plants from Algerian semi-arid climatic zone. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1143-y>
- 31) **Mnayer N,** 2014. Eco-Extraction des huiles essentielles et des arômes alimentaires en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens. Thèse de doctorat en Chimie. Univ d'Avignon et des Pays de Vaucluse. p 13.
- 32) **Mouas Y, Benrebiha F, Chaouia Ch.,** (2017). Évaluation De L'activité Antibacterienne De L'huile Essentielle Et De L'extrait Méthanolique Du *Romarin Rosmarinus Officinalis* L. *AGROBIOLOGIA* Volume 7, Numéro 1, Pages 363-370 <http://agrobiologia.net/online/>
- 33) **Moussaid M, Elamrani AA, Berhal C, et al** (2012) Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* (L.) and *Origanum majorana* (L.). *Int J Nat Prod Res* 1:11–3.
- 34) **Ouibrahim, Y. Tlili Y, Bennadja S, G. Djahoudi A, Djebar R** (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), 4968–4973. <https://doi.org/10.5897/ajmr2012.2390>
- 35) **Paul, D., Bera, S., Jana, D., Maiti, R., & Ghosh, D.** (2006). In vitro determination of the contraceptive spermicidal activity of a composite extract of *Achyranthes aspera* and *Stephania hernandifolia* on human semen. *Contraception*, 73(3), 284–288. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2005.07.014>
- 36) **Pibiri M. C.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse Doctorat 2006, EPFL Lausanne, p.161.
- 37) **Ponce, A., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food*

-
- Science and Technology, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(03)00088-4)
- 38) **Richard F, Richard H., Benjilali B., Bauquour N., Baritoux O.** (1985) Etude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss U-Technol* :1995.
- 39) **Sui, X., Liu, T., Ma, C., Yang, L., Zu, Y., Zhang, L., & Wang, H.** (2012). Microwave irradiation to pretreat rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) for maintaining antioxidant content during storage and to extract essential oil simultaneously. *Food Chemistry*, 131(4), 1399–1405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.007>
- 40) **Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., & Schempp, C.** (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14(7–8), 508–516. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.12.013>
- 41) **Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H.** (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.031>

Annexes

- Les 21 articles scientifiques analysés

- 1) **Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., & Rijo, P.** (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future Science OA*, 4(4), FSO283. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0124>
- 2) **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M.** (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- 3) **Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., & Chefrour, A.** (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*, 174–189. <https://doi.org/10.25518/0037-9565.6050>
- 4) **Couic-Marinier, F., & Lobstein, A.** (2013). Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 52(525), 22–25. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2013.02.006>
- 5) **De Macedo, L. M., Santos, R. M. D., Militão, L., Tundisi, L. L., Ataíde, J. A., Souto, E. B., & Mazzola, P. G.** (2020). Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L., syn *Salvia rosmarinus* Spenn.) and Its Topical Applications: A Review. *Plants*, 9(5), 651. <https://doi.org/10.3390/plants9050651>
- 6) **De Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & de Oliveira, L. D.** (2019b). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 26(1). <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0499-8>
- 7) **Delaquis, P.** (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1–2), 101–109. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00734-6](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00734-6)
- 8) **Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W.** (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. *Medicines*, 3(4), 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- 9) **Diass, K., Brahmi, F., Mokhtari, O., Abdellaoui, S., & Hammouti, B.** (2021). Biological and pharmaceutical properties of essential oils of *Rosmarinus officinalis*

- L. and *Lavandula officinalis* L. Materials Today: Proceedings, 45, 7768–7773. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.03.495>
- 10) **El Kamli, T., el Hamdani, M., Eloutassi, N., Errachidi, F., Chabir, R., & Bour, A.** (2019). Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil From Moroccan Middle Atlas. *Phytothérapie*, 18(3–4), 162–168. <https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0128>
- 11) **Fadil, M., Fikri-Benbrahim, K., Rachiq, S., Ihssane, B., Lebrazi, S., Chraibi, M., Haloui, T., & Farah, A.** (2018). Combined treatment of *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils against *Salmonella typhimurium*: Optimization of antibacterial activity by mixture design methodology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 126, 211–220. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.06.002>
- 12) **Fertout Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B.** (2016). Composition chimique et activité antibactérienne de l’huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 346–353. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1048-1>
- 13) **Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., & Sotomayor, J. A.** (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30(2), 463–468. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.07.029>
- 14) **Lardry, J. M., & Haberkorn, V.** (2007). L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 14–17. [https://doi.org/10.1016/s1779-0123\(07\)70308-x](https://doi.org/10.1016/s1779-0123(07)70308-x)
- 15) **Mehalaine, S., Belfadel, O., Menasria, T., & Messaili, A.** (2017). Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of three medicinal plants from Algerian semi-arid climatic zone. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.1007/s10298-017-1143-y>
- 16) **Ouibrahim, Y., Tlili Y, Bennadja S, G. Djahoudi A, Djebar R** (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), 4968–4973. <https://doi.org/10.5897/ajmr2012.2390>

-
- 17) **Paul, D., Bera, S., Jana, D., Maiti, R., & Ghosh, D.** (2006). In vitro determination of the contraceptive spermicidal activity of a composite extract of *Achyranthes aspera* and *Stephania hernandifolia* on human semen. *Contraception*, 73(3), 284–288. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2005.07.014>
 - 18) **Ponce, A., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S.** (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*, 36(7), 679–684. [https://doi.org/10.1016/s0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/s0023-6438(03)00088-4)
 - 19) **Sui, X., Liu, T., Ma, C., Yang, L., Zu, Y., Zhang, L., & Wang, H.** (2012). Microwave irradiation to pretreat *rosemary* (*Rosmarinus officinalis* L.) for maintaining antioxidant content during storage and to extract essential oil simultaneously. *Food Chemistry*, 131(4), 1399–1405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.007>
 - 20) **Weckesser, S., Engel, K., Simon-Haarhaus, B., Wittmer, A., Pelz, K., & Schempp, C.** (2007). Screening of plant extracts for antimicrobial activity against bacteria and yeasts with dermatological relevance. *Phytomedicine*, 14(7–8), 508–516. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.12.013>
 - 21) **Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H.** (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.04.031>

Résumés

الخلاصة

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم الفعالية المضادة للبكتيريا للزيوت الأساسية المستخلصة من نبات اكليل الجبل. حيث ان البكتيريا تتميز بمقاومة للمضادات الحيوية, لهذا السبب تم التطرق لايجاد حلول من خلال استخراج الجزيئات النشطة بيولوجيا من النباتات.

تم العمل على اربع سلالات بكتيرية حيث أظهرت نتائج التقييم للزيوت الاساسية التي تم اختبارها بحجم 10 ميكرو لتر تأثيرات متفاوتة الاهمية عن طريق استخدام الوسط الصلب (طريقة الاقراص).

نستنتج من خلال النتائج المتحصل عليها ان التركيبة الكيميائية للزيوت و نوع البكتيريا المختبرة هم العوامل الاساسية في اختلاف التأثير المضاد للبكتيريا.

الكلمات المفتاحية: اكليل الجبل , النشاط المضاد للبكتيريا , الزيوت العطرية , الجزيئات النشطة , بكتيريا .

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de la plante de *romarin* (*Rosmarinus officinalis*).

Les bactéries étant résistantes aux antibiotiques, c'est pourquoi des solutions ont été approchées en extrayant des molécules biologiquement actives des plantes.

Un travail a été effectué sur quatre souches bactériennes, où les résultats d'évaluation des huiles essentielles testées avec un volume de 10 µl ont montré des effets d'importance variable en utilisant le milieu solide (méthode du disque).

Nous concluons des résultats obtenus que la composition chimique des huiles et le type de bactéries testées sont les principaux facteurs de la différence d'effet antibactérien.

Les mots clés : *Rosmarinus officinalis*, Activité antibactérienne, huiles essentielles, molécules actives, bactéries.

Abstract

The aim of this study is to evaluate the antibacterial activity of essential oils extracted from the *rosemary* plant (*Rosmarinus officinalis*).

Since bacteria are resistant to antibiotics, that is why solutions have been approached by extracting biologically active molecules from plants.

Work was done on four bacterial strains, where the evaluation results of the tested essential oils with a volume of 10 µl showed effects of varying importance by using the solid medium (disc method).

We conclude from the obtained results that the chemical composition of the oils and the type of bacteria tested are the main factors in the difference in the anti-bacterial effect.

key words: *Rosmarinus officinalis*, Antibacterial activity, essential oils, active molecules, bacteria.

