

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى-جيجل

Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de l'Environnement
et des Sciences Agronomiques

كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de **Master Académique**

Filière : Sciences Agronomiques

Option : Phytopharmacie appliquée

Thème

**Activité antimicrobienne et composition chimique de l'huile essentielle et de
l'extrait brut de l'espèce *Rosamrinus officinalis* L.**

Membres de jury :

Président : M^{me} BENTERROUCHE Ilhem

Examineur : M^f SEBTI Mohamed

Encadreur : M^{me} BENABDELKADER Messaouda

Présenté par :

LAOUICI Nourelhouda

Numéro d'ordre :

2^{ème} Session 2020

Remerciement

Tout d'abord, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de projet de fin d'étude stage et qui m'ont aidé lors de la rédaction de ce rapport.

Je tiens à remercier vivement Mme BENABDELKADER Messaouda mon encadrante, professeur à l'université de Jijel, pour son accueil, et le partage de son expertise au quotidien. Je la remercie profondément pour la confiance et l'autonomie qu'il m'a accordées. Je tiens à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre Mme BENTERROUCHE Ilhem d'avoir accepté de présider le jury ainsi que l'ensemble de ses membres, Mr SEBTI Mohamed qui fait l'honneur de juger notre travail.

Dernièrement non les moindres, je tiens à remercier vivement mes parents, mon frère et enfin tous mes amis pour leur support, aide et patience durant ce travail.

Dédicace

A l'aide de Dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce modeste travail, le fruit de mes efforts que je dédie :

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements pendant toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation, jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

A mon cher et unique frère pour son amour, son affection et son précieux soutien

A mes chères copines que j'aime

A tous mes amis de près et de loin et tous qui me connaissent

A toute la promotion Master II Phytopharmacie Appliquée

2020

Sommaire

Remercîment	
Dédicace	
Liste des Figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Chapitre I : Importance des plantes aromatiques et médicinales : Cas d'étude de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L	
I.1. Les plantes aromatiques et médicinales	3
I.1.1. Définitions	3
I.1.2. intérêts et utilisations	3
I.1.3. Importance économique	4
I.2. Le romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i> L)	5
I.2.1. Définition et description	5
I.2.2. Classification	5
I.2.3. Noms vernaculaires	5
I.2.4. Distribution géographique	6
I.2.5. Écologie	6
I.2.6. Caractéristiques anatomiques de <i>Rosmarinus officinalis</i>	6
a) L'appareil végétatif	6
b) L'appareil reproducteur	7
I.2.7. La croissance et le développement de la plante	8
I.2.8. Intérêts et usages du romarin	9
a) Herbe sèche	9
b) Huile essentielle	9
Chapitre II : Principes actifs des plantes aromatiques : procédés d'extraction et d'analyses	
II.1. Métabolisme des plantes	10
II.1.2. Typologie et classification	10
II.1.2.1. Les alcaloïdes	10
II.1.2.2. Les terpénoïdes	10
II.1.2.3. Les huiles essentielles	11
II.1.2.4. Les composés phénoliques	11
a) Les acides phénoliques	12

b) Les flavonoïdes	12
c) Les tanins	13
II.2. Mode d'obtention de l'huile essentielle	14
II.2.1. Techniques classiques	14
a) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	14
b) Extraction par hydrodiffusion.....	14
c) Extraction par hydrodistillation	15
II.2.2. Techniques récentes	16
a) Extraction assistée par microondes	16
b) Extraction aux ultrasons	16
II.3. Mode d'obtention de l'extrait brut	17
II.3.1. Le choix du solvant.....	17
II.3.2. Les techniques employées.....	17
a) Extraction par macération.....	17
b) Extraction par Soxhlet	18
II.3.3. Récupération de l'extrait	18
II.4. Méthodes d'identifications et d'analyses chimiques ..	18
II.4.1. Techniques chromatographiques de séparation	18
a) Chromatographie sur couche mince (CCM).....	18
b) Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	19
c) Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).....	20
II.4.2. Techniques spectroscopiques.....	20
II.4.3. Techniques de couplage	21
a) Le couplage CPG-SM	21
b) HPLC/SM	21
c) HPLC-CPG-SM	22
Chapitre III Composition chimique de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L	
III.1. Généralités sur la composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	23
III.2. Les composés phénoliques.....	23
a). Les acides phénoliques	23
b). Flavonoïdes	23
III.3. Les composé térpéniques.....	24
III.3.1. Les monoterpènes et les sesquiterpènes	24
III.3.1.1. Identification et composition chimique de l'huile essentielle.....	24
III.3.1.2. Variabilité de la composition de l'huile essentielle.....	24

a) Dans le monde	25
b) Dans l'Algérie.....	25
III.4. Les diterpènes	30
III.5. Les triterpènes	30
III.6. Autres constituants	31
Chapitre IV Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'espèce <i>Rosmarinus officinalis</i> L	
IV.1. Aperçu sur les maladies phytopathogènes	32
IV.1.1. Généralités.....	32
IV.1.2. Les bactéries phytopathogènes	32
IV.1.3. Les champignons phytopathogènes.....	33
IV.2. Efficacité des huiles essentielles et des extraits de plantes comme lutte biologique contre les phytopathogènes.....	33
IV.3. Mécanisme de l'action antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de plantes.	35
IV.4. Méthodes pratiques de mesures de l'activité antimicrobienne.....	36
IV.4.1. Technique par contact direct	36
a) Méthode de diffusion des disques	36
b) Méthode des puits creusés	37
IV.4.2. Technique des micro-atmosphères	37
IV.5. Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne durant l'analyse	38
IV.6. Estimation de la concentration inhibitrice	38
IV.6.1. La concentration minimale inhibitrice (CMI).....	38
IV.6.2. La concentration minimale bactéricide ou fongicide (CMB) ou (CMF)	38
IV.7. L'activité antimicrobienne de <i>Rosmarinus officinalis</i>	39
IV.7.1. Activité antibactérienne.....	39
IV.7.2. Activité antifongique	40
IV.7.2.1. Activité de l'huile essentielle.....	40
IV.7.2.2. Activité de l'extrait	41
Conclusion et perspectives.....	42

Références bibliographiques

Résumé.

Abstract

ملخص

Liste des Figures

Figure 1 <i>Rosmarinus officinalis</i> L de la région de Texanna, Jijel.....	5
Figure 2 Coupe transversale de la feuille (A) et de la tige (B) de <i>R. officinalis</i> L	7
Figure 3 Racines de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	7
Figure 4 l'organisation de la fleur de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	8
Figure 5 Fruit de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	8
Figure 6 Exemple des types des acides phénoliques : hydroxybenzoïques (A) hydroxycinnamiques (B).....	12
Figure 7 Structure de base des flavonoïdes et la structure générale de ses principales classes.....	13
Figure 8 Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau et L'hydrodiffusion.....	15
Figure 9 Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevenger et Alombic.....	15
Figure 10 Illustration de l'extraction assistée par microondes	16
Figure 11 Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique.....	17
Figure 12 Schéma du principe d'un système CPG.....	19
Figure 13 Résumé du principe d'un spectrométrie de masse.....	21
Figure 14 Schéma du principe d'un système de Couplage HPLC-CPG.....	22
Figure 15 Les Principaux composés phénoliques identifiés dans l'extrait de <i>Rosmarinus officinalis</i> L : Acides phénoliques (A) Flavonoïdes (B).....	24
Figure 16 Acide carnosique (A) Carnosol (B).....	30
Figure 17 Acide oléanolique (A) Acide ursolique (B).....	30
Figure 18 Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles.....	35
Figure 19 Illustration de la méthode d'aromatogramme.....	36
Figure 20 Illustration de la méthode des puits creusés.....	37
Figure 21 Illustration de la méthode des micro-atmosphères sur boîte de Pétri.....	37
Figure 22 Effet de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L sur <i>Aspergillus niger</i>	40

Liste des tableaux

Tableau 1 Exemple des principales plantes aromatiques et médicinales produites et consommées en Algérie.....	4
Tableau 2 Composition chimique de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L de différents pays du bassin méditerranéen.....	25
Tableau 3 Composition chimique de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L selon les différentes zones bioclimatiques de l'Algérie.....	26
Tableau 4 Sites de récolte, dates de récolte et la composition chimique de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L de différentes régions de l'Algérie	28
Tableau 5 Composition chimique détaillée de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> L de différentes régions de l'Algérie.....	29
Tableau 6 Sélection des principales maladies bactérienne et leurs espèces causales.....	32
Tableau 7 Sélection des principales maladies fongiques et leurs espèces causales.....	33
Tableau 8 Inhibition de la croissance mycélienne (%) après traitement avec l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	40

Liste des abréviations

CCM	Chromatographie sur Couche Mince
CG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CG/SM	Chromatographie Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
cm	centimètre
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMF	Concentration Minimal Fongicide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
CT	Chimiotype ou Chémotype
g	gramme
HE	Huile Essentielle
HPLC	Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance
IPP	isopentényl-pyrophosphate
IUCN	International Union for Conservation of Nature
kHz	kilo Hertz
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
m/z	masse/charge
MEP	méthyle erythritol-phosphate
mg	milligramme
mg/litre	milligramme/litre
ml/kg	millilitre/kilogramme
mm	millimètre
PAMs	Plantes Aromatiques et Médicinales
ppm	partie par million
SM	Spectrométrie de Masse
WWF	World Wide Found for Nature anciennement World Wide Found
µg/g	microgramme/gramme
µl	microlitre

A decorative scroll-like frame with a double-line border and small circular details at the corners, containing the word "Introduction" in a serif font.

Introduction

Introduction

Les maladies des plantes à côté des ravageurs ont menacé l'agriculteur depuis que l'homme a commencé à cultiver la terre (FAO, 2001). La révolution agricole amorcée au XVIIIe était une étape majeure, caractérisée par le passage d'une production simple à une production commerciale. Cependant, la fragilisation des cultures par les maladies et l'augmentation des dégâts sont concrétisés au milieu du XIXe par des exemples célèbres tels que le mildiou de la pomme de terre qui a provoqué en Irlande une famine, l'oïdium, le mildiou et le phylloxera de la vigne en Europe et autres maladies courantes (Bajard, 2016).

L'utilisation massive des produits phytosanitaires et l'augmentation de leurs emploi depuis l'année 1945 a fortement contribué à amplifier la production agricole et la protéger contre les maladies et les pathogènes (Lindquist, 2000). Cela vient comme résultats du progrès de la phytopathologie, qui a pour objectif la protection de ces cultures agricoles contre les maladies. Cela a permis de développer des pesticides organiques de synthèses très efficaces. Malgré ces bienfaits, la présence des résidus toxiques des produits phytosanitaires dans les aliments de consommation est inévitable, plus l'effet néfaste sur l'environnement et les agriculteurs. Par conséquence plusieurs alternatifs plus environnementaux à base des produits naturels sont adoptés et développés comme l'agriculture biologique, la modification biogénétique des plantes ou plus couramment les biopesticides. Parmi ces biopesticides, les extraits des plantes aromatiques et médicinales adoptés déjà depuis des milliers d'années en médecine traditionnelle et moderne grâce à leur richesse chimique. Cette richesse avec les propriétés antimicrobiennes sont prouvés être efficaces dans la défense contre les phytopathogènes.

Le romarin est une plante aromatique et médicinale très connue dans la région méditerranéenne dont son activité antimicrobienne est peu connue, ce qui complique son utilisation dans le domaine de la phytopathologie. Dans cette étude, nous proposons une synthèse bibliographique poussée afin de mettre en évidence les propriétés biologiques et chimiques du *Rosmarinus officinalis* L avec une approche sur l'activité antimicrobienne de ses extraits dans le domaine de la phytopathologie.

Ce manuscrite est subdivisé hormis l'introduction et la conclusion en quatre chapitres :

- Dans le premier chapitre, nous détaillerons la botanique et les caractéristiques biologiques du romarin comme plante aromatique et médicinale.
- Le deuxième chapitre contient les procédés d'extraction et l'analyse chimique des substances biologiques et les caractéristiques de ces derniers.
- Le troisième chapitre détaille la composition chimique du romarin.
- Le dernier chapitre met en exergue l'activité antimicrobienne de l'extrait du romarin comme lutte contre les maladies phytopathogènes.

**Chapitre I : Importance des plantes
aromatiques et médicinales : Cas d'étude de
l'espèce *Rosmarinus officinalis* L**

I.1. Les plantes aromatiques et médicinales

I.1.1. Définitions

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique héli-synthèse" (Neffati et Sghaier, 2014). La notion de plantes aromatiques indique des plantes ayant un arôme parfumé ou sucré, on parle aussi de plantes à huiles essentielles. Ces huiles s'accumulent dans certains organes spécifiques ou parties de plantes (Bhowmik, 2012). Ces plantes autrement définies, sont les végétaux qui contiennent suffisamment de molécules aromatiques dans un ou plusieurs organes producteurs : feuilles, fleurs, tiges, fruits, écorces, racines (Neffati et Sghaier, 2014). Les huiles essentielles constituent les plus importants principes actifs des **Plantes Aromatiques et Médicinales PAMs**.

Parmi toutes les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes), seulement 10% sont dites aromatiques (Khia et al, 2014). La capacité à accumuler l'HE est cependant la propriété de certaines familles de plantes réparties au sein de l'ensemble du règne végétal. Les familles les plus importantes sont les dicotylédones comme celles des Apiaceae, Asteraceae, Geraniaceae, Illiciaceae et des Lamiaceae (Boukhatem et al, 2019).

I.1.2. Intérêts et utilisations

Les plantes aromatiques et médicinales plus leurs huiles essentielles sont amplement utilisées dans la vie quotidienne, depuis l'herbe sèche jusqu'à l'extrait. Des milliers de substances naturelles différentes des plantes aromatiques ont été identifiées autour du monde et beaucoup d'entre elles se sont avérées utiles dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies (Khia et al, 2014). Les PAMs constituent une source précieuse de composés fonctionnels très utiles dans les industries agroalimentaires, source potentielle de médicaments et des produits de bien-être suscitant un intérêt croissant des industries pharmaceutiques et parapharmaceutiques, les industries cosmétiques, la parfumerie et autres utilisations (Neffati et Sghaier, 2014). En Algérie aussi, la production des PAMs atteint des centaines des stères par année, un chiffre faible par rapport à la potentialité de l'Algérie (Ilbet et al, 2016). Le tableau **tableau.1** cite les PAMs les plus communes dans le marché algérien et les plus demandées auprès l'herboristerie, dont le romarin notre objet d'étude est parmi les plus importantes.

Cette immense valeur dans plusieurs domaines de ces plantes vient de leurs richesses en teneurs très élevées des substances bioactives qu'elles synthétisent régulièrement dans leurs milieux de vie dont les huiles essentielles sont les composants majeurs. Ces substances sont adoptées par les plantes afin s'adapter et interagir avec leur environnement, et encore de tolérer les différentes conditions de cet environnement.

I.1.3. Importance économique

La recherche ethnobotanique et les organismes internationaux comme le WWF, IUCN, qui s'occupent de la préservation et la gestion durable des ressources naturelles estiment qu'il y a environ 50k à 70k d'espèces végétales utilisées par la phytothérapie traditionnelle et moderne à travers le monde. Depuis l'année 2000, la demande mondiale pour les produits issus de ces filières, connaîtrait une expansion rapide avec un taux de croissance annuel qui arrive à jusqu'à 20%. Par exemple à l'année 2014, les importations et les exportations de plantes aromatiques et médicinales sautaient à 600k tonnes en termes de volume d'échanges mondiaux avec un budget qui dépasse les 8 milliards de dollars. La quantité totale de plantes aromatiques et médicinales utilisées par les industries pharmaceutiques, cosmétiques, chimiques et agroalimentaires est très difficile à estimer. Au niveau mondial, plus de 35k sont utilisées par les industries pharmaceutiques, chimiques ou cosmétiques (Ilbert et al, 2016).

Tableau 1 Exemple des principales plantes aromatiques et médicinales produites et consommées en Algérie, modifié après Ilbert et al (2016)

Espèces	Noms scientifiques 'espèces'	Parties utilisées	Importance
Verveine	<i>Verbena citriodora HB et K</i>	Feuilles	XXX
Armoise	<i>Artemisia herba alba.asso</i>	Sommités fleuries	XXX
Menthe verte	<i>Mentha verdis</i>	Feuilles	XXX
Origan	<i>Majorana hortentis Moeneli</i>	Sommités	XXX
Romarin	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	Sommités fleuries	XX
Tyum	<i>Thymus vulgaris</i>	Sommités fleuries	XX
Bigaradier	<i>Citrus bigaradia Duham</i>	Feuilles	XX
Sauge	<i>Salvia officinalis L</i>	Sommités fleuries	XX
Lavande	<i>Lavandula officinalis L</i>	Fleurs	XX
Myrte	<i>Myrtus communis L</i>	Feuilles	XX
Menthe Pouliet	<i>Menta pulgium</i>	Sommités fleuries	XX
Camomille	<i>Matricaria camomilla. L</i>	Fleurs	XX
Basilic	<i>Ocinum basilicum. L</i>	Sommités	X
Pétale de Rose	<i>Rosa canina L</i>	Pétale et fruit	X

I.2. Le romarin (*Rosmarinus officinalis* L)

I.2.1. Définition et description

Le *Rosmarinus officinalis* L est une plante aromatique et médicinale qui appartient à la famille des Lamiacées, c'est un arbrisseau poussant à l'état sauvage dans les régions ayant un bioclimat semi-aride et subhumide. Il occupe des surfaces très importantes dans tout le bassin méditerranéen (Eloutassiet al 2013). Depuis l'Antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire de l'être humain. Le romarin est considéré comme une plante revigorante avec autant de vertus qui reflète sa saveur aromatique bien particulière **fig.1** (Iserin, 2001).

I.2.2. Classification

La classification hiérarchique du *Rosmarinus officinalis* L selon (Goetz et Ghedira, 2012) est la suivante :

Règne Plantae

Sous-règne Tracheobionta

Embranchement Magnoliophyta

Sous-embranchement Magnoliophytina

Classe Magnoliopsida

Sous-classe Asteridae

Ordre Lamiales

Famille Lamiaceae

Genre *Rosmarinus* ==> ***Espèce** *Rosmarinus officinalis* L



Figure 1 *Rosmarinus officinalis* L de la région de Texanna, Jijel.

I.2.3. Noms vernaculaires

Rosmarinus du latin rose de la mer. Cette étymologie est controversée : en fait "ros" viendrait d'un nom du latin dérivant de rhus "rhous=sumac" qui rappelle l'aspect d'arbrisseau de la plante (Hoefler, 1994). En revanche, le nom commun attribué à cette plante varie selon la région :

Français : encensier, herbe aux couronnes, romarin, romarin officinal.

Anglais : rosemary.

Allemand : Rosmarin.

Espagnol : romani, romero, rome, romero comun, rosmario.

Italien : osmarino, ramerino, rosmarino, usmarino.

Afrique du nord : **Arabe** : (اكليل الجبل ، حصا البان ، ندى البحر)

Amazigh : (yazir/إيازير; touzala/توزالة; roazyir/روازير; azir/أزر)

I.2.4. Distribution géographique

Le romarin est bien représenté à l'état spontané dans le bassin méditerranéen, du Portugal à la Turquie au nord, et depuis l'est du Maroc jusqu'à la Cyrénaïque au sud (Zaouali et al, 2003). Également, cette plante est trouvée dans plusieurs régions du monde caractérisées par un climat proche au celui du bassin méditerranéen, comme par exemple le Mexique et le côté sud-ouest de Etats-Unis (Mértola, 2018).

I.2.5. Écologie

C'est une plante persistante caractéristique des zones boisées ouvertes et qui peut atteindre jusqu'à 2 mètres de hauteur. Elle se développe dans des lieux exposés, secs et chauds, dans une altitude de 0-650m sur le niveau de la mer. Elle peut coloniser les terrains sableux, schisteux ou calcaires, acides ou basiques. Les précipitations annuelles de 500 mm sont généralement suffisantes pour assurer la survie d'une plante adulte. Cette dernière tolère des conditions d'acidité des eaux et du sol modérée qui varie entre 5.5 à 8 (Mértola, 2018).

I.2.6. Caractéristiques anatomiques de *Rosmarinus officinalis*

Comme toute plante, le romarin est formé d'un pareil végétatif et un autre reproducteur.

a) L'appareil végétatif

- Les feuilles

Les feuilles sont généralement coriacées, persistantes, sessiles, linéaires, levées, vertes, ponctuées et rugueuses sur la page supérieure, blanches et tomenteuses sur la page inférieure d'extrémité révoluée (Mértola, 2018). La structure de la feuille est adaptée à la sécheresse par sa cuticule épaisse sur la face supérieure et sa forme à bords enroulés vers l'intérieur.

L'épiderme inférieur est peu cutinisée, et riche en stomates. La présence de poils tecteurs sur la face inférieure limite la perte d'eau par évaporation. La feuille possède des poils sécréteurs glanduleux sur les 2 épidermes. Un hypoderme est présent sous l'épiderme supérieur. La nervure médiane est saillante sur la face inférieure **fig.2.A** (Hoefer, 1994).

- La tige

Le romarin possède des tiges ligneuses très ramifiées, pubescentes chez les troncs jeunes. (Mértola, 2018). Les tiges sont sub-cylindriques avec quatre bosses peu marquées, remplies de collenchyme qui apparaît sous un épiderme net, munies d'une épaisse cuticule jaune verdâtre et de nombreux poils. Un peu plus en profondeur des îlots de sclérenchyme constituent les fibres péricycliques **fig.2.B** (Hoefer, 1994).

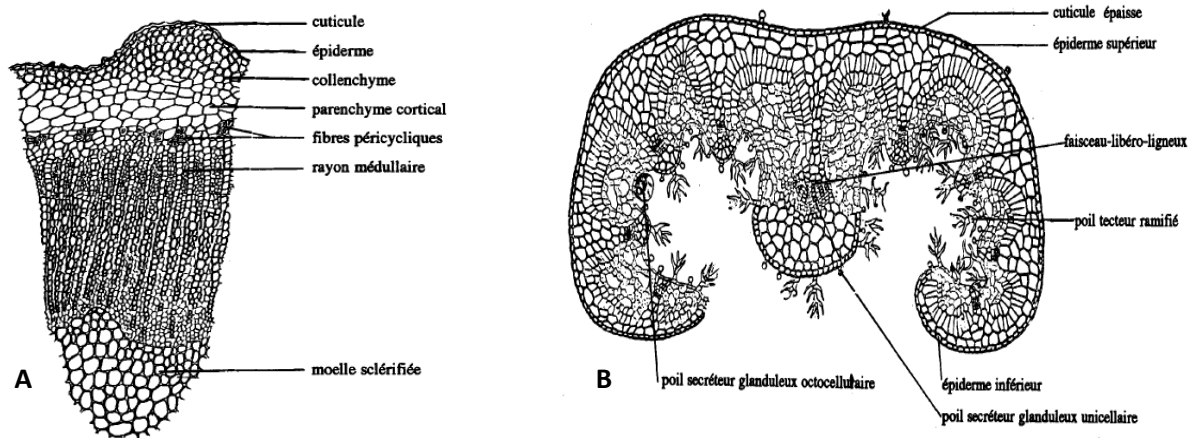


Figure 2 Coupe transversale de la feuille (A) et de la tige (B) de *R. officinalis* Hoefler, (1994)

- Les racines

Les racines du *Rosmarinus officinalis* sont ramifiées, fines avec un diamètre de quelques millimètres et une longueur qui ne dépasse pas les 10 centimètres avec une couleur blanchâtre. La racine principale est plus épaisse avec une couleur marronne ce qui la permet de bien tenir la plante dans le sol **fig.3**.



Figure 3 Racines de *Rosmarinus officinalis* L (Tite, 2013)

b) L'appareil reproducteur

- Les fleurs

Les fleurs sont regroupées par trois ou quatre en courtes grappes axillaires et terminales vers le sommet des rameaux. Elles ont des bractées lancéolées, velues, plus courtes qu'elles et caduques. Le calice est bilabié et comporte une lèvre inférieure à deux lobes lancéolés et une lèvre supérieure entière ovale, formée de trois sépales. La corolle bilabiée est longuement tubuleuse et de couleur bleu pâle ou lilas. Son tube s'épanouit en une lèvre inférieure à 3 lobes dont le médian plus développé et concave, une lèvre supérieure légèrement voûtée à 2 lobes. L'androcée est constituée de deux étamines saillantes avec des anthères allongées uniloculaires déhiscentes par une seule fente. Deux étamines stériles et réduites à des crochets sont également présentes. Le style ne possède qu'un stigmate entier se développant en général après les étamines. Le gynécée reposant sur un épais disque nectarifère se compose de deux carpelles soudés en un ovaire supère. L'ovaire est divisé en deux loges qui contiennent deux ovules chacune **fig.4** (Leplat, 2018).

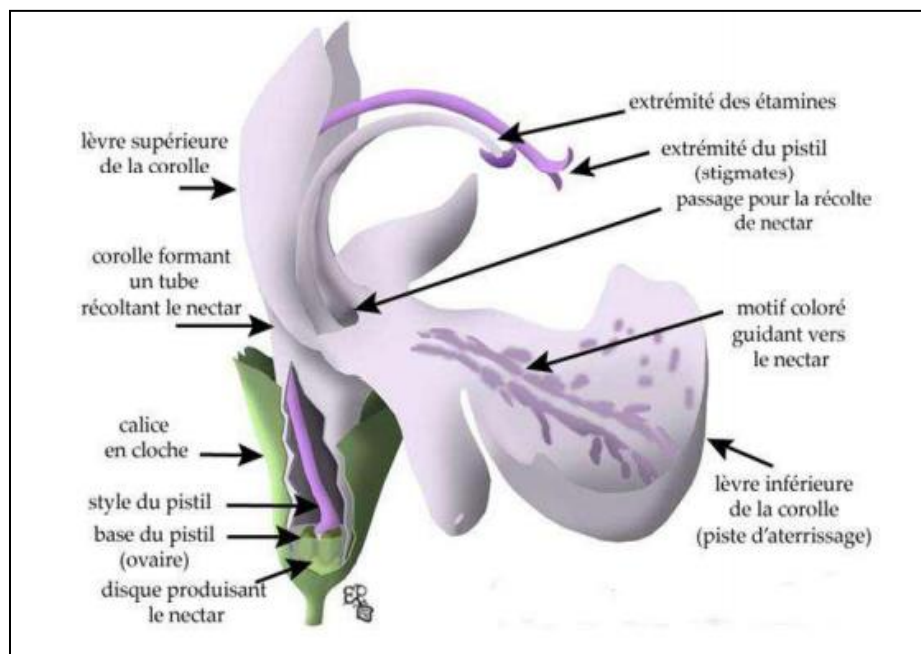


Figure 4 L'organisation de la fleur de *Rosmarinus officinalis* L (Pensa, 2020)

- Les fruits

Le fruit est un tétrakène sèche et lisse de forme ovale située au fond du calice, dont chaque partie renferme un seul embryon sans albumen **fig.5**.



Figure 5 Fruit de *Rosmarinus officinalis* L

I.2.7. La croissance et le développement de la plante

Le romarin est une plante diploïde et allogame qui se multiplie aussi bien par propagation végétative que par voie sexuée. La floraison du romarin dépend essentiellement de la pluviométrie automnale, une absence totale de floraison peut être observée durant plusieurs années de sécheresse. L'espèce produit en conditions favorables de nombreuses inflorescences en grappes axillaires, à nombre de fleurs variables (3 à 8). Les fleurs entomogames sont fréquemment visitées par les abeilles et les bourdons, ces derniers en tant que pollinisateurs restent longtemps sur l'individu et butinent beaucoup de fleurs sur

chaque inflorescence. La fécondation conduit à la formation de quatre nucules qui renferment chacun un embryon bien structuré après la fécondation (Zaouali et al, 2003).

I.2.8. Intérêts et usages du romarin

a) Herbe sèche

Plante très connue et très appréciée, utilisée depuis l'Antiquité dans la cuisine et en médecine populaire traditionnelle, le romarin est considéré comme une plante tonique, revigorante et stimulante qui reflète sa saveur aromatique bien particulière (Iserin, 2001). Le romarin est un régulateur du système nerveux (Casanova et Tomi, 2018), il stimule la circulation cérébrale, améliore la concentration et la mémoire et soulage également les céphalées et les migraines. (Iserin, 2001). Dû à sa teneur en huile essentielle, le romarin est une plante très utile contre l'asthme, la toux (Khia et al 2014), le traitement des bronchites chroniques (Casanova et Tomi, 2018), en cas de rhume, comme carminatif et stomachique en cas des troubles digestifs et pour stimuler l'appétit et les sécrétions gastriques (Goetz et Ghedira, 2012).

b) Huile essentielle

Dû à ses vertus, le romarin est une plante médicinale aromatique très exploitée à cause de sa teneur en huiles essentielles qui sont très recherchées (Eloutassi et al, 2013). Ces huiles essentielles ont fait l'objet de plusieurs études qui montrent leurs propriétés antimicrobiennes, leurs activités antioxydantes et anti-inflammatoires. Elles sont employées en aromathérapie et dans l'industrie pharmaceutique et thérapeutique, utilisées également dans l'industrie cosmétique ainsi que par l'industrie agro-alimentaire (Khia et al, 2014).

Chapitre II : Principes actifs des plantes aromatiques et médicinales : procédés d'extraction et d'analyses chimiques

II.1. Métabolisme des plantes

Les progrès de la chimie végétale ont conduit à une connaissance de plus en plus précise des principes actifs rentrant dans la composition des végétaux. En outre, la variation dans la teneur en principes actifs varie d'une plante à une autre et peut atteindre des proportions considérables (Dillemann, 1961). Ces substances actives sont générées par un processus métabolique dit secondaire. Ces substances qui s'agissent donc des métabolites secondaires, ne participent pas à la survie des cellules végétales contrairement aux métabolites primaires, qui effectuent le rôle métabolique essentiel en participant à la nutrition et la division cellulaire.

Cependant, les métabolites secondaires jouent un rôle dans la protection de la plante contre les agents pathogènes et les différents ravageurs (bactéries, champignons, nématodes, insectes) et l'interaction de la plante avec son environnement abiotique (température et humidité, blessure) (Pagare et al, 2015). Comme cette étude s'intéresse aux substances actives qui font partie des métabolites secondaires, nous avons mettre l'accent sur ces derniers.

II.1.2. Typologie et classification

La classification des métabolites secondaires est basée sur la structure chimique, la composition, leur solubilité dans divers solvants ou la voie de leur synthèse. Le système de classification principal comprend trois grands groupes : les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques (Kabera et al, 2014).

II.1.2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des principes organiques azotés plus ou moins basiques formant un groupe très large (Iserin, 2001), parfois complexes, donnant lieu à des réactions chimiques communes et manifestant une activité physiologique remarquable. Ils sont généralement combinés à des acides ou à des tanins qui se trouvent en solution dans le suc cellulaire. Les alcaloïdes sont abondants dans les tissus particulièrement actifs : régions de croissance, points végétatifs, zones de cicatrisation, bourgeons qui s'ouvrent, ovaires et ovules qui mûrissent...etc (Bézanger-Beauquesne, 1958).

II.1.2.2. Les terpénoïdes

Les terpènes sont le plus grand groupe des métabolites secondaires des plantes, leur origine biosynthétique dérive de l'acétyl-coA ou des intermédiaires glycolytiques (Pagare et al, 2015). Ils sont composés par le groupe le plus important des composés actifs des plantes avec plus de 23 000 structures connues. La volatilité des terpénoïdes fournit pour les plantes un outil

chimique impliqué dans trois processus, à savoir l'interaction plante-plante, signalisation entre les organismes symbiotiques et l'attraction des insectes pollinisateurs (Kabera et al, 2014). Les terpénoïdes sont classés en monoterpènes, sesquiterpènes, diterpène, triterpènes et polyterpènes (Pagare et al, 2015), les monoterpènes et les sesquiterpènes sont les constituants majeurs des huiles essentielles (Chamorro et al, 2012).

II.1.2.3. Les huiles essentielles

A priori, toutes les plantes possèdent la faculté de produire des composés volatils mais seulement à l'état de traces le plus souvent. Parmi les espèces végétales qui produisent ces essences, 10% seulement sont dites « aromatiques ». La capacité à accumuler l'HE est cependant la propriété de certaines familles de plantes réparties au sein de l'ensemble du règne végétal. Les familles les plus importantes sont les dicotylédones comme celles des Apiaceae, Asteracea, Geraniaceae, Illiciaceae et des Lamiaceae (Boukhatem et al, 2019).

Les HEs sont des sécrétions naturelles élaborées par le végétal et contenues dans les cellules des parties de la plante comme celles des fleurs, des sommités fleuries, des feuilles, des écorces, des racines, des fruits, des bulbes, des rhizomes ou des graines (Kone, 2001). Elles sont des mélanges complexes renfermant des principes volatils : des monoterpènes hydrocarbonés, des monoterpènes oxygénés et des sesquiterpènes (Chamorro et al, 2012). Les monoterpènes sont les molécules les plus représentatives constituant 90% des huiles essentielles (Bakkali et al, 2007), ces molécules constituantes proviennent du métabolisme secondaire de la plante et sont responsables de l'arôme caractéristique de l'huile essentielle émise (Chamorro et al, 2012). Les HEs sont biosynthétisées en réponse à des conditions de stress et surtout pour combattre les agents infectieux ou parasitaires (Paul et Ghnedira, 2012).

II.1.2.4. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un large groupe de molécules avec une variété de fonctions physiologiques et morphologiques. Ils sont omniprésents dans presque tous les organes de la plantes, impliqués dans la croissance, le développement, la reproduction, rentrant dans les molécules de signal, les pigments, les arômes ainsi que dans le système de défense des plantes contre les pathogènes et les épidémies agricoles (Marooun et al, 2013).

Les composés phénoliques possèdent un cycle aromatique avec un ou plusieurs groupes hydroxyles et leurs structures peuvent aller d'une simple molécule phénolique à un polymère complexe de haut poids moléculaire. Grace à cette diversité structurale qui résulte dans la vaste gamme des composés phénoliques, ils sont divisés en plusieurs classes. Parmi ceux-ci,

les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les principaux des composés phénoliques (Balasundram et al, 2006).

a) Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides **fig.6**. Ces acides (libres ou liés à d'autres molécules) représentent environ un tiers des composés phénoliques (Zadernowski et al, 2009). Les acides phénoliques se composent de deux sous-groupes, à savoir, les acides hydroxybenzoïques avec la structure C6 – C1 **fig.6.A** et les acides hydroxycinnamiques avec la structure (C6 – C3) **fig.6.B** (Balasundram et al, 2006).

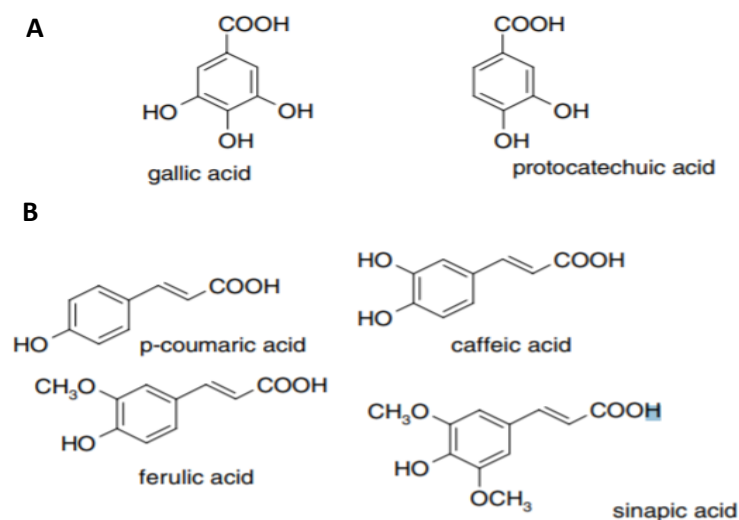


Figure 6 Exemple des types des acides phénoliques : hydroxybenzoïques (A) hydroxycinnamiques (B) (Balasundram et al, 2006).

b) Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le plus grand groupe des composés phénoliques des plantes, représentent plus de la moitié des huit milles composés phénoliques. Les flavonoïdes sont des composés de faible poids moléculaire, constitués de quinze atomes de carbone, disposés en C6 – C3 – C6, la structure est constituée de deux cycles aromatiques A et B, reliés par un pont à 3 carbones, sous la forme d'un cycle hétérocyclique C **fig.7.A**. Le cycle aromatique A est dérivé de la voie acétate / malonate, tandis que le cycle B est dérivé de phénylalanine par la voie shikimate. Les variations des schémas de substitution vers l'anneau C donnent les principales sous-classes des flavonoïdes : les flavonols, les flavones, les flavanones, les flavanols **fig.7.B** (Balasundram et al, 2006).

Les flavonoïdes sont largement distribués dans les feuilles, les graines, les écorces et les fleurs des plantes. Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés jusqu'ici. Ils protègent la plante contre les rayonnements ultraviolets et les microorganismes pathogènes (Heim et al, 2002).

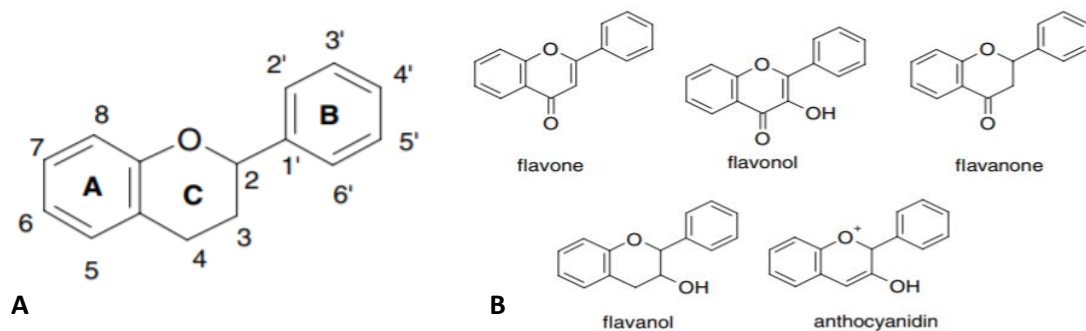


Figure 7 Structure de base des flavonoïdes (A) et la structure générale des principales classes des flavonoïdes (B) (Balasundram et al, 2006).

c) Les tanins

Les tanins sont des polymères phénoliques de poids moléculaire relativement élevé et constituent le troisième groupe important des composés phénoliques après les flavonoïdes et les acides phénoliques. Les tanins sont subdivisés en deux grandes classes : les tanins hydrolysables et les condensés. Les premiers sont des esters d'acide gallique, tandis que les tanins condensés sont des polymères de flavan-3-ol (Balasundram et al, 2006) à l'opposé des tanins hydrolysables, les tanins condensés ne sont pas décomposables par hydrolyse. Les tanins sont localisés dans les écorces, les bois, les racines, les feuilles, les fruits, les galles des végétaux avec des proportions différentes d'une plante à une autre (Richardin et al, 1988).

II.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 (Kone, 2001) 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).

II.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 :

a) 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.8.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).

b) 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.8.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).

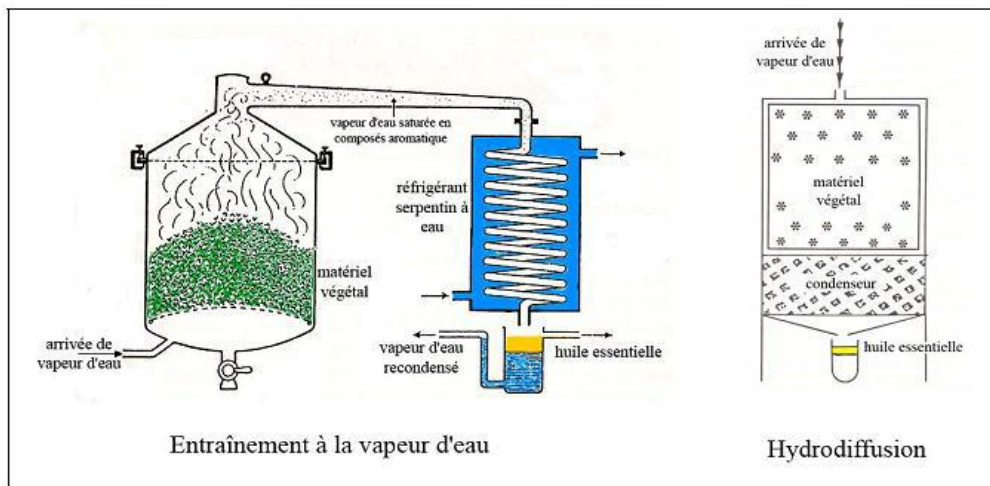


Figure 8 Illustration présente l'entraînement à la vapeur d'eau (A) et l'hydrodiffusion (B) (Fadi, 2011)

c) 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.9.A** (clevenger) lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic **fig.9.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)

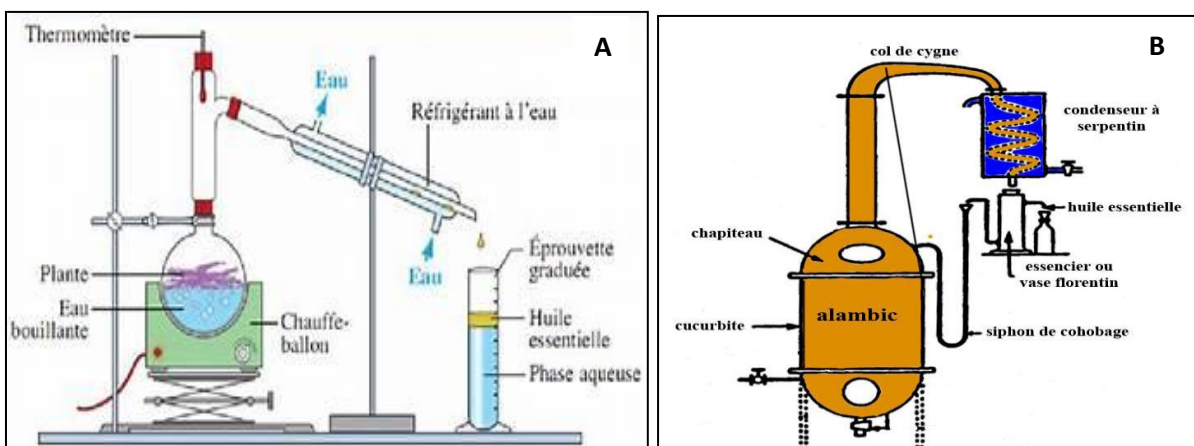


Figure 9 Illustration présente l'hydrodistillation par la technique Clevenger (A) et Alambic (B) (Fadi, 2011)

Cependant, le contact direct des constituants de l'HE avec l'eau occasionne des réactions chimiques conduisant à des changements dans la composition finale de l'extrait. Les conditions opératoires et notamment, la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'HE (Boukhatem et al, 2019).

II.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.

a) 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 **fig.10** (Destandau, 2013)

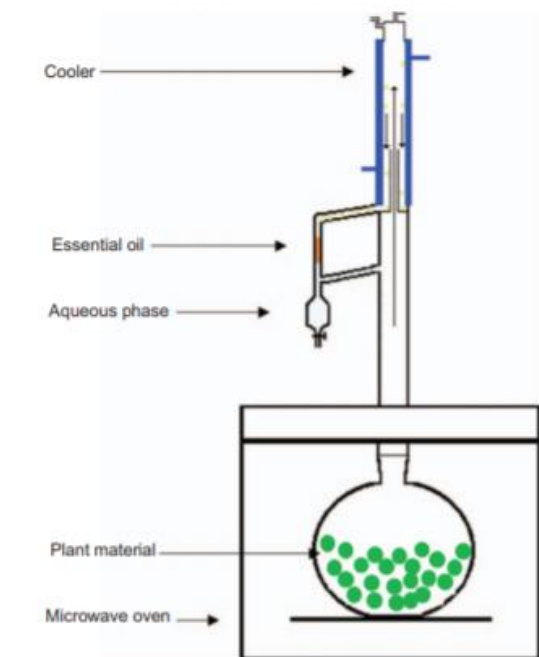


Figure 10 Illustration de l'extraction assistée par microondes (Destandau, 2013)

b) 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).

Le bac ou la sonde à ultrasons sont les deux types d'équipements couramment utilisés dans les laboratoires.

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.11** (Mnayer, 2014).

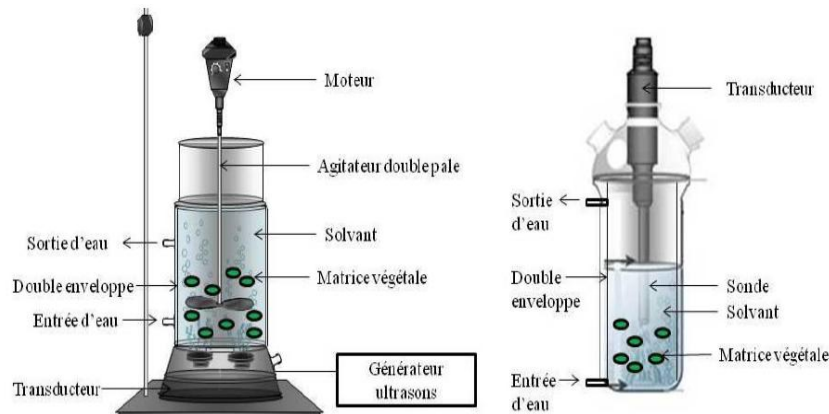


Figure 11 Illustration de l'extraction par sonde ultrasonique (Mnayer, 2014)

II.3. Mode d'obtention de l'extrait brut

II.3.1. Le choix du solvant

Les solvants permettent d'extraire les métabolites secondaires de la plante (les extraits bruts) et de récupérer des familles chimiques variées telle que les alcaloïdes, les flavonoïdes et les tannins (El-Azrak, 2017).

Le choix du solvant d'extraction est très délicat, le solvant choisi doit posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait (Fadi, 2011).

II.3.2. Les techniques employées

a) Extraction par macération

La méthode consiste à faire macérer la matière végétale à extraire dans un solvant, grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être passé dans un décanteur puis un concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (Beneteaud, 2011).

b) Extraction par Soxhlet

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours renouvelable puisque distillé à chaque cycle (Bouhaddouda, 2015).

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie qui permet de faire l'extraction continue par solvant d'un solide. Il se compose d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche en papier filtre épais, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction.

Le corps de l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant extracteur, les matières premières à extraire sont placées dans l'extracteur surmonté d'un réfrigérant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs du solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'adducteur, faisant ainsi macérer les résidus dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites (Bettahar, 2015).

II.3.3. Récupération de l'extrait

Le mélange recueilli par les différentes méthodes d'extraction citées ci-dessus est soumis à une pression sous vide grâce à un évaporateur rotatif, pour séparer le solvant et les composés chimiques existants dans l'extrait.

Le principe de cet appareil est basé sur la distillation sous vide. La solution est mise en rotation pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, puis la pression est diminuée grâce à une trompe à eau. La température de chauffage est en fonction de la température d'ébullition du solvant à éliminer pour accélérer l'évaporation (El-Azrak, 2017).

II.4. Méthodes d'identifications et d'analyses chimiques

Il existe de nombreuses techniques pour l'analyse des huiles essentielles et les extraits végétaux, on peut distinguer les techniques chromatographiques de séparation des composants chimiques, les techniques spectroscopiques et les techniques de couplage (Benazzouz, 2011).

II.4.1. Techniques chromatographiques de séparation

a) Chromatographie sur couche mince (CCM)

Il s'agit de la première et la plus utilisée des techniques chromatographiques, elle fournit des informations simples quant aux caractères physicochimiques des composants d'un mélange.

Cette technique est à indiquer pour la détermination rapide des différentes voies et/ou familles chimiques présentes dans une huile essentielle donnée (Benazzouz, 2011).

La CCM comprend une phase stationnaire (couche mince de matériel absorbant) et une phase mobile liquide (éluant). Le support est une plaque en silice avec indicateur de fluorescence. Après passage à l'étuve pendant 3 à 6 minutes, les colorations sont révélées par une solution de vanilline mélangée avec de l'acide sulfurique concentré à 1% (Leplat 2018).

L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention I_r et des données spectrales (spectres de masse ou infrarouge) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

b) Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Il s'agit d'une technique de chimie analytique qui permet de séparer des composés volatils ou volatilissables. Son pouvoir de séparation dépasse celui de toutes les autres techniques.

La CPG est la méthode de dosage et d'identification la plus couramment employée dans l'étude des huiles essentielles. En effet, elle permet de séparer de faibles quantités des différents composants de l'huile essentielle (Lucaccioni et al, 1993).

Un Appareil CPG comporte trois parties : l'injecteur, la colonne et le détecteur réunis dans un bâti unique. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur. L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon (1 μ l) sous forme liquide ou gazeuse avec une micro-seringue dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Celle-ci est placée dans une enceinte à température réglable (Four) et renferme la phase stationnaire **fig.12** (Labidi, 2020).

Les différentes molécules contenues dans la phase gazeuse vont se séparer et sortir de la colonne vers le détecteur les unes après les autres en fonction de leurs affinités avec la phase stationnaire.

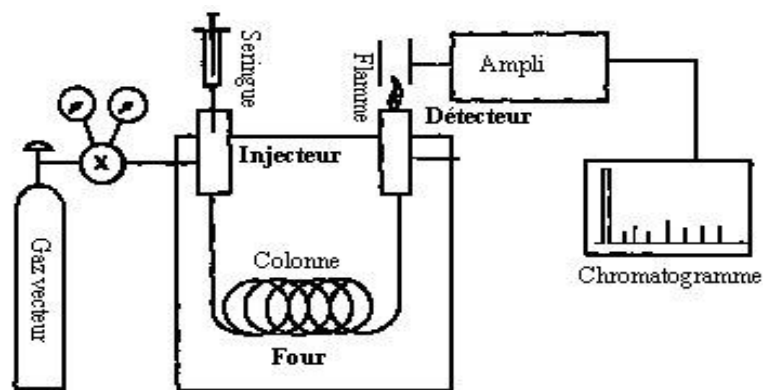


Figure 12 Schéma du principe d'un système CPG.

c) Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)

La chromatographie en phase liquide à haute performance est aussi utilisée dans l'analyse des arômes et des huiles. Néanmoins son application dans ce domaine est limitée par la faible résolution qu'elle autorise en comparaison avec la chromatographie en phase gazeuse.

Dans les laboratoires de recherche elle est souvent utilisée par couplage avec la CPG. (Lucaccioni et al, 1993).

L'échantillon à analyser est poussé par une phase mobile dans une colonne remplie d'une phase stationnaire de fine granulométrie. Le débit d'écoulement de la phase mobile est élevé ce qui entraîne une augmentation de la pression dans le système. Ce débit élevé diminue le temps nécessaire pour séparer les composants le long de la phase stationnaire. La fine granulométrie de la phase stationnaire permet une meilleure séparation des composants (Benazzouz, 2011).

II.4.2. Techniques spectroscopiques

Il existe différentes techniques spectrométriques dont la plus utilisée est la spectrométrie de masse SM. Dans cette dernière, les différents composés à analyser sont séparés au préalable par les techniques séparatives de type HPLC, CPG avant d'être détectés par spectrométrie de masse (Méjean, 2014). Cette technique permet de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Un SM consiste en une source d'ionisation, deux analyseurs de masse, séparés par une cellule de fragmentation (cellule de collision), et un détecteur d'ions.

Les molécules à étudier étant neutres en solution, il s'agit de les faire passer en phase gazeuse puis de les ioniser. L'ion obtenu permet la détermination de la masse molaire du composé. Cet ion est fragmenté avec les molécules du gaz de la cellule de collision (Fay, 1998) formant ainsi des ions fragments caractéristiques qui sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge, puis collectés par un détecteur. L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire, ainsi une comparaison avec celui d'une bibliothèque informatisée **fig.13** (Lucaccioni et al, 1993).

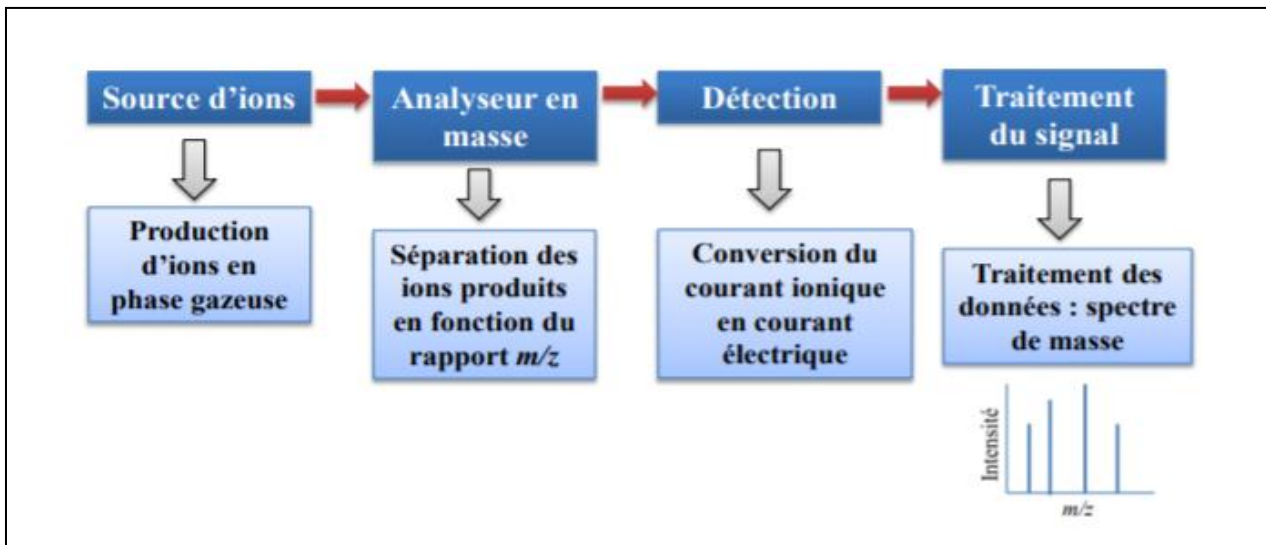


Figure 13 Résumé du principe d'un spectrométrie de masse

II.4.3. Techniques de couplage

a) Le couplage CPG-SM

La méthode la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles est le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC-MS), l'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse particulièrement performant (Lucaccioni et al, 1993). La CPG-SM permet d'obtenir des niveaux de sensibilité très importants, les molécules étant éluées de manière séquentielle dans la phase stationnaire de la colonne du CPG sont ensuite ionisées dans la source d'ionisation du spectromètre de masse (Fay, 1998).

Le tracé du chromatogramme est effectué par l'ordinateur en sommant les intensités des fragments à tout moment. Le spectromètre de masse réalise un balayage de masse de 10 u jusqu'à 1000 u en 2 à 3s. Le signal obtenu est en 3 dimensions :

- Intensité (I) • Temps de rétention (tr) • Masse (m) sur charge (z).

Le spectre de masse obtenu est comparé avec celui d'une bibliothèque informatisée.

b) HPLC/SM

Le couplage HPLC/SM permet d'accéder à la caractérisation de la fraction non volatile des extraits des végétaux, qui peut comprendre les limonoïdes, les flavonoïdes, les coumarines et d'autres composants (Cavalli, 2002).

c) HPLC-CPG-SM

Dans le couplage HPLC/CPG/SM, l'utilisation de la HPLC permet un premier fractionnement. En effet, les constituants sont séparés par classe de composés avant d'être introduits dans la colonne capillaire de la CPG, où une nouvelle séparation est réalisée. Ce préfractionnement permet une fiabilité plus grande dans l'identification par SM en limitant les coélutions (Cavalli, 2002). Il s'agit très simplement de mettre bout-à-bout une colonne HPLC et une colonne CPG **fig.14** et disposer un système de modulation pour pouvoir choisir les fractions éluées par HPLC et auxquelles on désire faire subir une CPG (Benazzouz, 2011).

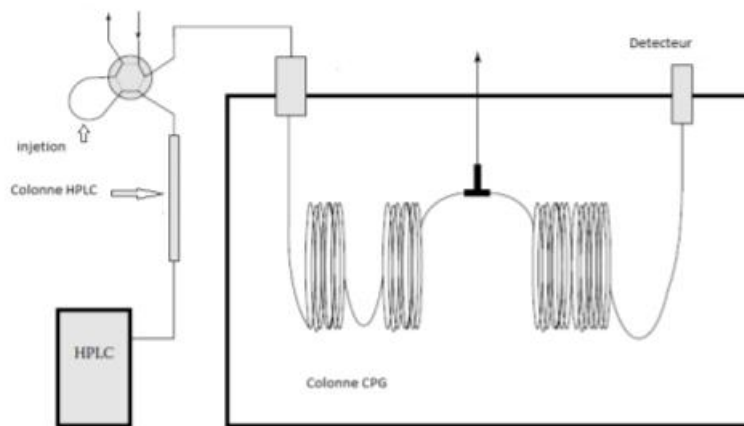


Figure 14 Schéma du principe d'un système de couplage HPLC-CPG

Chapitre III : Composition chimique de
l'espèce *Rosmarinus officinalis* L

III.1. Généralités sur la composition chimique de *Rosmarinus officinalis* L

La plante de *Rosmarinus officinalis* L est constituée essentiellement par des composés phénoliques et des huiles essentielles dont les constituants principaux sont les monoterpènes et les sesquiterpènes (Andrade et al, 2018).

La plupart des études publiées concentrent sur les métabolites secondaires de romarin, très peu d'études ont été faites sur les métabolites primaires tels que les sucres, les acides aminés et les acides carboxyliques qui peuvent indirectement affecter le changement des métabolites secondaires et qui ont une importance biologique significative sur la physiologie de la plante (Xiao et al 2008).

D'après les études de **Xiao et al (2008)** le métabolisme de *Rosmarinus officinalis* est dominé par 33 métabolites incluant des métabolites primaires : les sucres, les acides aminés, les acides organiques et des métabolites secondaires : les acides et les diterpènes phénoliques, parmi eux l'acide rosmarinique, l'acide carnosique, le carnosol, le quinate et autres constituants.

D'après la Pharmacopée Européenne, la feuille entière séchée de *Rosmarinus officinalis* L doit avoir une teneur minimale de :

- 3% de dérivés hydroxy-cinnamiques totaux (composés phénoliques).
- 12 mL/kg d'HE (Leplat, 2018).

III.2. Les composés phénoliques

III.2.1. Les acides phénoliques

Les principaux acides phénoliques trouvés dans les extraits de *Rosmarinus officinalis* sont l'acide vanillique, l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide rosmarinique **fig.15.A**, l'acide quinique et l'acide syringique (Xiao et al, 2008).

L'acide rosmarinique est l'un des principaux acides phénoliques du romarin; d'ailleurs **Regnault-Roger et al (2004)** avaient enregistré 5.67 mg d'acide rosmarinique /g de matière sèche (43,6%) et seulement 0.87mg d'acide caféique et ses dérivés /g de matière sèche (6,7%) dans les feuilles séchées de romarin.

III.2.2. Flavonoïdes

Almela et al (2006) ont trouvé que plus les acides phénoliques, les flavonoïdes sont aussi présents dans le *Rosmarinus officinalis* et qu'ils constituent un groupe important des composants de cette espèce principalement les flavones de type apégénine comme la genkoanine et ses dérivés et de type lutéoline et ses dérivés **fig.15.B**.

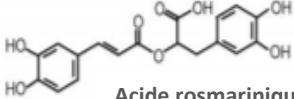
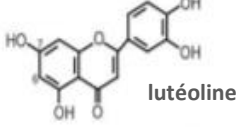
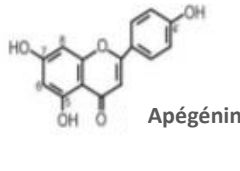
Type de composant	Structure chimique	composants reliés
Acides phénoliques	 <p>Acide rosmarinique</p>	A
Flavones	 <p>lutéoline</p>	B <ul style="list-style-type: none"> 6-Hydroxyluteolin 7-glucoside Genkwanin (7-methyl ether) 4'-Methoxytectochrysin (4',7-dimethyl ether) Homoplantagin (6-methyl ether,7-glucoside) Scutellarein (6-hydroxy) 4',5,7,8-Tetrahydroxyflavone (8-hydroxyapigenin) Cirsimaritin (6,7-dimethyl ether)
	 <p>Apégénine</p>	

Figure 15 Les Principaux composés phénoliques identifiés dans l'extrait de *Rosmarinus officinalis* L : Acides phénoliques (A) Flavonoïdes (B) D'après Almela et al (2006)

III.3. Les composé terpéniques

III.3.1. Les monoterpènes et les sesquiterpènes

III.3.1.1. Identification et composition chimique de l'huile essentielle

Les huiles essentielles extraites de romarin sont des mélanges complexes qui contiennent des centaines de composés volatiles, des composés aromatiques et d'autres composés, dont les principaux composés appartiennent aux groupes des monoterpènes ainsi que les sesquiterpènes (Andrade et al, 2018).

L'huile essentielle de romarin obtenue par distillation des feuilles et des sommités fleuries peut atteindre un rendement de 1 jusqu'à 2,5% à l'équivalent de 10 à 25ml /kg (Fadi, 2011). Cette huile présente une couleur jaune pâle à jaune verdâtre avec un arôme caractéristique plus au moins camphré.

Les constituants majeurs de l'huile essentielle de romarin sont : 1,8 cinéole (15–55%), camphre (5.0–21%), α -pinène (9.0–26%), camphène (2.5–12%), limonène (1.5–5.0%), bornéol (1.5–5.0%) avec des proportions qui varient selon le cycle végétatif de la plante, l'origine et la région géographique, les conditions bioclimatiques, le moment de récolte et les procédés d'extraction (Andrade et al, 2018).

III.3.1.2. Variabilité de la composition de l'huile essentielle

a) Dans le monde

Il existe différents chémotypes ou chimiotypes (CT) de l'huile essentielle de romarin en fonction de son origine géographique (Leplat, 2018). D'un point de vue chimique, cette huile est classée en trois chémotypes : cineoliferum (haute teneur en 1,8-cinéole), camphoriferum (camphre >20%) et verbenoniferum (verbénone >15%) (Hendel et al, 2019).

Le romarin originaire de Provence d'Espagne fournit une HE où le camphre prédomine (CT camphre). Lorsqu'il est originaire du Maroc et de Tunisie, c'est le 1,8 cinéole qui est prédominant (CT 1,8 cinéole). Le Romarin cultivé en Corse quant à lui, contient de la verbénone (CT verbénone) **tableau.2** (Leplat, 2018).

Tableau 2 Composition chimique de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L de différents pays du bassin méditerranéen (Boutekedjiret et al, 2013)

Origine / constituant (%)	α -pinène	camphène	β -pinène	1,8 cinéole	Camphre	bornéol	verbénone	β -caryo phyllène
Tunisie	8.6-11.4	2.7-3.8	-	47.6-55.1	6.4-14.8	4.2-12.1	-	0.9-1.1
Grèce	10.3	4.0	-	51.2	5.5	4.7	-	-
Maroc	9.5-12.0	3.2-4.0	7.0-7.8	50.0-58.0	7.4-8.2	3.0-4.5	0.2-0.5	-
Corse	24.0	-	-	6.0	3.0	2.0	27.0	-
France	19.0	8.9	4.3	24.8	7.5	3.2	1.3	-
Espagne	19.1-26.9	7.0-9.9	4.9-5.0	17.0-25.1	12.7-20.7	2.4-3.4	-	-

b) Dans l'Algérie

D'après **Meziane et al (2013)**, le romarin de l'Algérie comprend les chémotypes α -pinène et camphre (camphoriferum). D'après l'analyse des résultats de leur étude sur la composition chimique de l'huile essentielle de seize populations de *Rosmarinus officinalis* de différentes régions de l'Algérie, les échantillons peuvent être subdivisés en deux groupes (A et B) comme rapportés dans le **tableau.3**.

c) Le groupe A avec 13 échantillons (Bousmail, Constantine, El Kala, Médéa, Oran, Bouira, Alger, Jijel, Tablat, Tessala El Merdja, Sétif, Relizane et Bejaia) dans laquelle α -pinène (20.13–72,58%) était le constituant principal.

Le groupe A comprend deux sous-groupes (A1 et A2) : le sous-groupe A1 avec les échantillons de (Constantine, Tessala El Merdja, Sétif, Bejaia, El Kala, Jijel et Oran)

Chapitre III : Composition chimique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L

qui se caractérisent par la présence de 1,8-cinéole (11,00–29,28%) en tant que deuxième composé après l' α -pinène.

Le sous-groupe A2 avec les échantillons de (Alger, Bousmail, Bouira, Relizane, Médéa et Tablat) présentant une teneur en α -pinène suivi de camphre (14,69–21,17%) comme deuxième composé.

- d) Le groupe (B) avec les échantillons de (Touggourt, Hassi Messaoud et Bejaia montagnes) est caractérisé par le camphre comme composant principal (32,69–36,44%) et avec des teneurs élevées en camphène (21,9–31,39%) et en α -pinène (25,07-28,02%) comme deuxième composé. Ce groupe (B) appartient donc au chémotype camphoriferum (camphre>20%).

Tableau 3 Composition chimique de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L selon les différentes zones bioclimatiques de l'Algérie, après Meziane et al (2013)

Groupes		A		B	
Constituants principaux		α -Pinène 20.13-72.58%		Camphre 32.69-36.44%	
		1.8 Cineole 11-29%	Camphre 14.69-21.17%	α -Pinène 25.07-28.02%	Camphène 31.39%
Sous-groupes		A1	A2	B1	B2
Zones bioclimatiques	Très-humide	L.13	-	-	-
	Humide	L.11	L.1	-	-
		L.16	L.2		
		-	L.10		
	Sub-humide	L.8	L.15	-	-
		L.14	L.7		
		L.6	L.9		
		L.12			
	Semi-aride	-		L.3	-
	Saharienne	-	-	L.4	L.5

L.1 : Alger, L.2 : Tablat, L.3 : Bejaia (Montagnes), L.4 : Touggourt; L.5 : Hassi Messaoud, L.6 : Oran, L.7 : Médéa, L.8 : Constantine, L.9 : Relizane, L.10 : Bouira, L.11 : Tessala Elmardja, L.12 : Setif (Djemila), L.13 : Bejaia, L.14 : ElKala, L.15 : Bousmail, L.16 : Jijel.

Dans le même but d'étude **Hendel et al (2019)** ont étudiés la composition chimique de l'huile essentielle de quinze populations de *Rosmarinus officinalis* de différentes régions de l'Algérie qui appartiennent aux différentes zones climatiques (humide, sub-humide et semi-aride) **tableau.4**. Le rendement moyen en huile essentielle des échantillons des différentes régions algériennes de *R. officinalis* était de 1,54% (% v / masse sèche).

L'analyse GC / MS de chaque huile essentielle est dominée au total par 38 composants, qui ont été caractérisés et regroupés en trois classes : monoterpènes hydrocarbonés, monoterpènes oxygénés et sesquiterpènes.

D'après **Hendel et al (2019)** les 11 huiles obtenues à partir de plantes poussant dans les zones semi-arides de (Oum-El-Bouaghi, Djelfa, Médéa et M'sila) contiennent du camphre comme composant principal. Cependant, les 4 huiles des zones humides ou subhumide montrent un profil chimique hétérogène, les échantillons R34 (Borj Bou Arreridj) et R41 (Souk Ahras) contiennent du 1,8-cinéole comme composant principal avec une quantité inférieure d' α -pinène et du camphre, l'échantillon R31 (Oran) est le seul ayant de l' α -pinène comme composant principal et contient aussi des teneurs remarquablement en sesquiterpènes (en particulier en β -caryophyllène), tandis que l'échantillon R06 (Bejaia) présente une composition chimique similaire à celle de huiles des zones semi-arides **tableau.5**.

Chapitre III : Composition chimique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L

Tableau 4 Sites de récolte, dates de récolte et la composition chimique de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L de différentes régions de l'Algérie d'après les travaux de Hendel et al, 2019.

Classe	Origine	Date de récolte	Rendement HE (% v/ masse sèche)	Monoterpènes hydrocarbonés (%)	Monoterpènes oxygénés (%)	Sesquiterpènes (%)	Total(%)
R04	Ain Mlila (Oum-El-Bouaghi)	mars-11	1.92	48.1	48.0	2.2	98.3
R06	Kherrata (Bejaia)	avr-11	1.40	44.9	49.4	2.5	96.8
R17C	Djelfa	avr-11	1.63	49.8	44.5	3.1	97.4
R17HS	Had-Shary (Nord de Djelfa)	mars-11	1.83	45.7	49.1	1.3	96.1
R17	Djelfa	avr-11	1.62	42.7	42.7	2.3	93.8
R26	Bouhar (Sud-ouest de Médéa)	mai-11	1.38	45.5	45.0	3.2	93.7
R28B	Djbel messaâd (Sud de M'sila)	avr-11	1.93	52.6	41.9	3.3	97.8
R28KA	Kaf-El-Assal (Nord-ouest de M'sila)	avr-11	1.50	42.8	50.6	2.6	96.0
R28O	Ouenougha (Ouest de M'sila)	mars-11	1.81	38.1	51.6	6.8	96.5
R28HD	Hammam Dalâa (Nord-ouest de M'sila)	avr-11	1.21	47.5	44.6	3.3	95.4
R28M	Mâadid (Est de M'sila)	mars-11	1.12	43.5	50.8	2.7	97.0
R28B3	Djbel messaâd (Sud de M'sila)	avr-11	1.63	51.0	40.9	4.6	96.5
R31	Ain Turk (Oran)	mars-11	0.70	49.3	22.6	15.2	87.1
R34	Bibans (Borj Bou Arreridj)	mars-11	1.62	25.1	68.0	3.6	96.7
R41	Souk Ahras	mars-11	1.82	25.0	68.3	3.3	96.6

Chapitre III : Composition chimique de l'espèce *Rosmarinus officinalis* L

Table 5 Composition chimique détaillée de l'HE de *Rosmarinus officinalis* L de différentes régions de l'Algérie d'après les travaux de Hendel et al, 2019.

RI Classe/ Constituant %	Monoterpènes hydrocarbonés				Monoterpènes oxygénés			Sesquiterpènes	
	936 α - pinène	951 camphène	1023 p- cymène	1029 limonène	1032 1,8 cinéole	1152 camphre	1169 bornéol	1424 β - caryophyllène	1691 α - Bisabolol
R04	20.3	18.1	2.1	4.1	8.4	35.7	1.4	0.4	1.2
R06	18.1	18.9	2.0	3.7	8.4	36.7	2.0	0.6	1.0
R17C	20.5	19.9	2.2	4.2	4.3	36.2	1.6	0.7	1.1
R17HS	17.3	19.5	2.6	4.6	8.3	36.3	2.0	0.4	t
R17	18.4	19.3	0.5	2.3	7.8	36.7	2.0	0.7	1.0
R26	18.9	19.1	1.8	3.5	7.8	35.3	0.8	1.0	1.1
R28B	21.0	22.4	2.0	4.3	2.7	33.9	3.2	0.8	1.3
R28KA	16.1	18.7	2.3	3.9	8.2	37.6	2.4	0.6	1.0
R28O	14.9	15.1	1.3	2.9	8.8	39.1	1.5	3.0	1.1
R28HD	19.6	19.2	2.1	4.2	5.9	32.2	4.3	0.8	2.1
R28M	117.4	18.1	1.5	3.8	5.0	41.2	2.5	0.8	1.3
R28B3	21.3	20.5	1.5	4.9	1.8	33.6	3.3	1.3	1.5
R31	28.5	7.7	3.3	3.2	10.9	3.1	3.7	6.5	0.2
R34	13.5	5.3	1.6	0.9	47.6	11.1	3.7	2.5	0.1
R41	14.1	4.6	1.5	0.8	43.2	13.4	6.5	2.2	t

R04 : Ain Miila (Oum-El-Bouaghi), R06 : Kherrata (Bejaia), R17C : Djelfa, R17HS : Had-Shary (Nord de Djelfa), R17 : Djelfa, R26 : Boughar (Sud-ouest de Médéa), R28B : Djbel messaâd (Sud de M'sila), R28KA : Kaf-El-Assal (Nord-ouest de M'sila), R28O : Ouenougha (Ouest de M'sila), R28HD : Hammam Dalâa (Nord-ouest de M'sila), R28M : Mâadid (Est de M'sila), R28B3 : Djbel messaâd (Sud de M'sila), R31 : Ain Turk (Oran), R34 : Bibans (Borj Bou Arreridj), R41 : Souk Ahras. RI : Indice de rétention, t : trace

III.3.2. Les diterpènes

Les principaux antioxydants des composants actifs dans la plante de *Rosmarinus officinalis* sont les diterpènes : l'acide carnosique **fig.16.A** et le carnosol **fig.16.B** qui peuvent contribuer avec 90% dans l'activité antioxydante de l'extrait de la plante (Aruoma et al, 1992). L'acide carnosique provient de l'isopentényl-pyrophosphate (IPP) via le méthyle erythritol-phosphate (MEP), cet acide est localisé dans les chloroplastes et la membrane intracellulaire, le carnosol qui présente la même localisation dans la plante est formé par la dégradation oxydative de l'acide carnosique. L'acide carnosique peut donner aussi naissance à d'autres diterpènes phénoliques comme le rosmanol, l'épirosmanol, l'épirosmanol-méthyl éther, epiisorosmanol, epiisorosmanol-méthyl éther, le rosmadial et le méthyl carnosate mais présentant toujours une activité antioxydante (Almela et al, 2006).

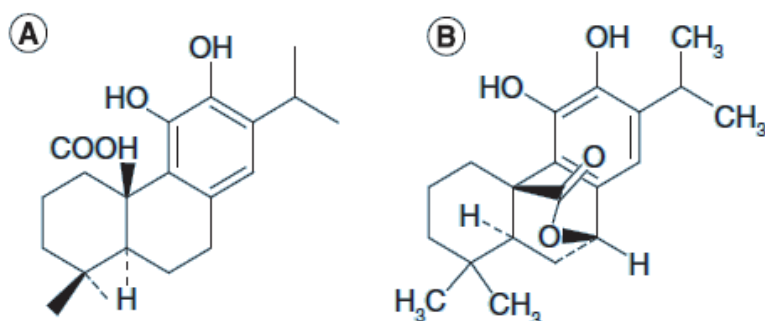


Figure 16 Acide carnosique (A), Carnosol (B) (Andrade et al, 2018)

III.3.3. Les triterpènes

Les principaux composés triterpéniques du romarin **fig.17** sont :

- L'acide ursolique
- L'acide oléanolique
- L' α -amyrine et le β -amyrine (Paul et Ghedira, 2012).

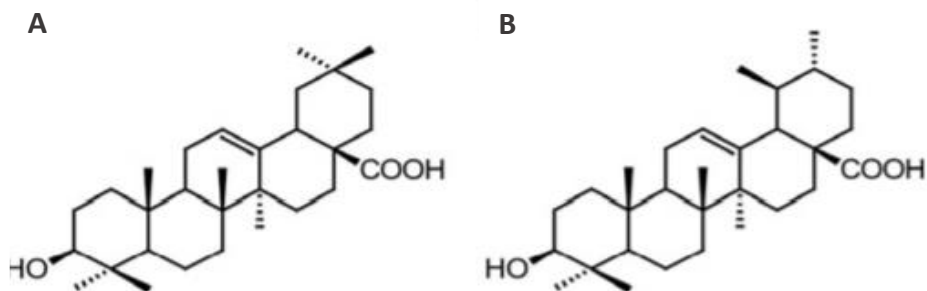


Figure 17 Acide oléanolique, B : Acide ursolique (Pollier et Goossens, 2012)

III.4. Autres constituants

D'autres constituants divers rentrent dans la composition chimique du romarin comme les vitamines et les sels minéraux. Un exemple des vitamines présentes dans cette plante est la vitamine E. Cette vitamine recouvre un ensemble de huit molécules organiques : quatre tocophérols à chaîne saturée et quatre tocotriénols à chaîne insaturée.

Les chloroplastes des plantes contiennent des quantités importantes de la forme α -tocophérol de la vitamine E qui est le plus biologiquement actif (Torre et al 2018). Dans la recherche de la présence de la vitamine E dans le *Rosmarinus officinalis* L, **Torre et al (2018)** ont trouvé des quantités importantes de cette vitamine sous forme de l' α -tocotriénol ;420 à 1000 $\mu\text{g/g}$ de masse sèche de feuilles de romarin. Dans le même but de recherche Horvath et al (2006) ont montré l'existence d'une quantité significative de l' α -tocophérol (2883 $\mu\text{g/g}$ de tissus) et (560.5 $\mu\text{g/g}$ tissus) de l' α -tocotriénol dans les grains et les feuilles de romarin.

Le romarin est également une plante très riche en minéraux notamment le Zn, le Mn, le Cu, et le Ca. D'après **Arslan et Ozcan (2008)**, le contenu en éléments minéraux en (mg/kg) dans le romarin est comme suit : Al 486, B 37.78, Ba 95.5, Ca 10899, Cr 8.93, Cu 6.66, Fe 547, K 9356, Li 0.69, Mg 3868, Mn 41.2, Ni 9.45, P 418, Sr 39.6, V 3.88 et le Zn 15.6. Alors qu'une autre étude révélait un contenu en Ca (7791.80), Fe (330.16), K (14916.23), Mg (1634.55), Na (2711.87), P (1074.60) et Zn (22.65).

Aussi on y trouve des: lipides (cuticule cireuse des jeunes feuilles) : n-alcanes, isoalcanes, alcènes, des polysaccharides et des traces de salicylate (Paul et Ghedira, 2012).

**Chapitre IV : Evaluation de l'activité
antimicrobienne de l'espèce *Rosmarinus
officinalis* L**

IV.1. Aperçu sur les maladies phytopathogènes

IV.1.1. Généralités

Les agents phytopathogènes sont les organismes susceptibles d'infecter les végétaux et d'y déclencher des maladies. Ces agents sont divers, les plus importants d'eux sont les champignons et les bactéries. Ces microorganismes se développent aux dépend d'une plante hôte en prélevant une partie de la substance du végétal pour assurer leurs développements et la leurs survies. Par un effet d'excitation locale, ils libèrent des substances toxiques et endommagent la croissance de la plante (Magali, 2008) pouvant attaquer toutes ses parties (racines, tiges, feuillage, fruits, tubercules) à tout niveau de son développement.

Les maladies phytopathogènes constituent une vraie menace pour les cultures agricoles, entraînant des pertes de rendements considérables et une réduction de la productivité ainsi qu'une diminution de la qualité de récolte.

IV.1.2. Les bactéries phytopathogènes

Les bactéries phytopathogènes affectent un large éventail des cultures dans le monde entier, elles colonisent leurs tissus provoquant plusieurs symptômes et dégâts : des brûlures, des pourritures tissulaires, des taches sur les fruits et les légumes, des déséquilibres hormonaux qui entraînent une altération des plantes et d'autres dommages **tableau.6** qui ont un impact qualitatif et quantitatif sur le rendement des cultures (Martins et al, 2018).

Tableau 6 Sélection des principales maladies bactériennes et leurs espèces causales Synthétisé après Thind (2019)

Maladie bactérienne	Espèce causale
Pourriture molle de la pomme de terre et jambe noire de ses plants	<i>Erwiniacarotovorar. carotovora</i> , <i>Pectobacterium atrosepticum</i>
Pourriture annulaire de la pomme de terre	<i>Clavibacter michiganensis</i> sp. <i>Sepedonicus</i>
Gale bactérienne de la tomate et du poivron	<i>Xanthomonas euvesicatoria</i>
	<i>Xanthomonas gardneri</i>
	<i>Xanthomonas perforans</i>
	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>
Moucheture bactérienne de la tomate	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Tomato</i>
Flétrissement bactérien des cucurbitacées	<i>Erwinia tracheiphila</i>
Flétrissement bactérien des solanacées	<i>Ralstonia solanacearum</i>
Feu bactérien ou brûlure bactérienne	<i>Erwiniaamylovora</i>
Gale du Collet (Crown Gall) des arbres fruitiers	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>

IV.1.3. Les champignons phytopathogènes

Les maladies fongiques ou cryptogamiques causées par les champignons constituent la principale cause des maladies chez les plantes, En effet, ils sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées avec environ 10.000 maladies différentes **tableau.7** causant des pertes de production de diverses cultures très importantes (Boulenouar, 2011).

Table 7 Sélection des principales maladies fongiques et leurs espèces causales Synthétisé après Bailly et al (2019)

Maladie fongique	Espèce causale
Moisissure grise ou pourriture grise des cultures légumières et fruitières	<i>Botrytis cinerea</i>
L'alternariose	<i>Alternaria alternata</i>
	<i>Alternaria solani</i>
Maladie de nécrose ou pourriture (fusariose)	<i>Fusarium oxysporum</i>
Le rhizoctone brun ou rhizoctone noir	<i>Rhizoctonia solani</i>
Mildiou de la pomme de terre et de la tomate	<i>Phytophthora infestans</i>
Mildiou des cucurbitacées	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>
Mildiou de la vigne	<i>Plasmospora viticola</i>
Oïdium ou maladie du blanc de la tomate	<i>Leveillula Taurica</i>
Pourriture blanche ou sclérotiniose	<i>Sclerotiniasclerotiorum</i>

IV.2. Efficacité des huiles essentielles et des extraits de plantes comme lutte biologique contre les phytopathogènes

Les maladies phytopathogènes causent d'importantes pertes de rendement de cultures et de pertes économiques dans le monde entier, le contrôle par la lutte chimique en utilisant les pesticides synthétisés de type fongicides et bactéricides est le moyen le plus couramment utilisé. Malgré l'efficacité de ces produits, son utilisation provoque des risques environnementaux et des effets toxicologiques pour les agriculteurs et les consommateurs (Araújo et al 2019). La préservation de l'environnement avec une plus grande conscience écologique a motivé la nécessité de tester des produits naturels visant à contrôler l'alternatif des phytopathogènes. En raison de la grande richesse chimique des plantes médicinales en principes actifs à effet antimicrobien, elles sont devenues des sources potentielles de molécules pour le

développement de nouveaux produits capables de contrôler les maladies phytopathogènes et de diminuer le recours aux produits phytosanitaires (Venturoso et al., 2011).

Kalleli et al, (2019) ont prouvé dans leur études l'efficacité *in vivo* des huiles essentielles des grains de fenouil dans la lutte biologique contre la maladie de flétrissure fusarienne des plants de tomate causée par *Fusarium oxysporium*. Dans des conditions de serre, l'application de ces huiles a abouti à une bonne protection. En fait, l'huile essentielle a montré une diminution significative (42,85%) de la gravité de la maladie sur la tomate par rapport au témoin. D'après les mêmes auteurs l'huile essentielle des graines de fenouil était un composé de lutte biologique prometteur et pourrait être une formulation de bio-fongicide utilisée contre le ce phytopathogène.

Dans le même but d'étude, beaucoup de plantes à potentiel antimicrobien ont été étudiés pour lutter contre les maladies des plantes **Araújo et al (2019)** ont testé l'effet antimicrobien de 14 plantes aromatiques contre cinq champignons phytopathogènes dont l'huile essentielle de la citronnelle (*Cymbopogon citratus*) et de l'ail (*Allium sativum* L) ont complètement inhibé la croissance mycélienne des cinq champignons testés. L'étude de **Ameziane et al (2007)** est aussi menée sur vingt plantes médicinales aromatiques qui ont été examinées pour leur activité antifongique contre les principaux pathogènes fongiques des agrumes, dont laquelle certaines huiles essentielles ont complètement inhibé la croissance des champignons testés.

D'après **Boulenouar et al (2011)**, la toxicité des composés phénoliques a été démontrée en augmentant artificiellement leur synthèse chez quelques plantes. Le traitement des plantes de tomate susceptibles avec l'acide quinique ou la phénylalanine a augmenté leur contenu phénolique, cette augmentation a amélioré la résistance au *fusarium. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Quand des plantes de tomate ont été alimentées avec du catéchol, une accumulation des phénols totaux a été observée et elle a eu comme conséquence la suppression de l'expression des symptômes de la maladie après infection par *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Les composés phénoliques peuvent être des phytoanticipines importantes impliquées dans la pathogénie fongique.

IV.3. Mécanisme de l'action antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de plantes

Compte tenu du grand nombre de composés chimiques présents dans les huiles essentielles, leur activité antimicrobienne n'est pas attribuable à un mécanisme spécifique, plusieurs cibles dans la cellule du microorganisme et sous l'effet (Bajpai et al 2011). Les monoterpénoïdes des huiles essentielles entraînent des perturbateurs des micro-organismes et interfèrent leurs processus physiologiques et biochimiques (Pandey et al, 2017).

Une caractéristique importante des huiles essentielles et de leurs composants est leur hydrophobicité, ce qui leur permet de pénétrer dans les lipides de la membrane cellulaire et des mitochondries, perturber les structures et les rendre plus perméables, une fuite d'ions critiques et d'autres contenus cellulaires peuvent alors se produire et entraînera la mort de la cellule **fig.18** (Bajpai et al 2011).

Les principaux mécanismes et sites d'action des différents constituants des huiles essentielles sont (Paul et Ghedira, 2012) :

- l'altération de la paroi cellulaire.
- la dégradation de la membrane cytoplasmique.
- l'altération des protéines membranaires.
- la fuite du contenu cellulaire.
- la coagulation du cytoplasme.
- l'épuisement de la force de mouvement des protons.

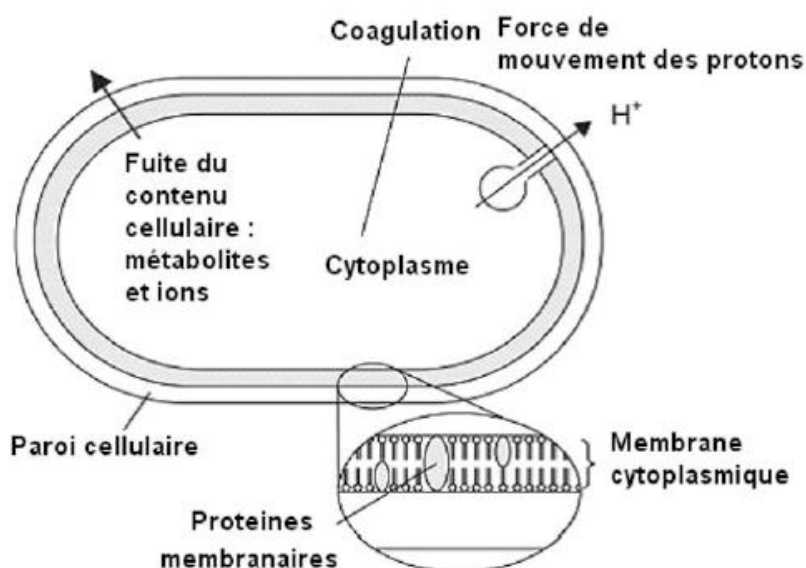


Figure 18 Principales localisations des sites d'action des constituants des huiles essentielles (Paul et Ghedira, 2012)

IV.4. Méthodes pratiques de mesures de l'activité antimicrobienne

Les différentes méthodes de mesure de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits des plantes peuvent être classées selon :

- Le milieu dans lequel se fait la diffusion de l'huile essentielle ou de l'extrait, soit liquide, solide ou gazeux.
- La nature du contact de l'huile essentielle ou extrait de l'avec le germe.

IV.4.1. Technique par contact direct

a) Méthode de diffusion des disques

L'évaluation de l'activité antibactérienne par méthode de diffusion sur gélose, l'**aromatogramme** ou encore méthode des disques est une méthode simple pratique et largement utilisée qui permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien *in vitro* des huiles essentielles et de déterminer la résistance ou la sensibilité de ces microorganismes vis-à-vis de cette essence. Elle consiste à déposer des disques de papier Wattman (6 mm de diamètre) imprégnés d'HE à la surface d'une gélose préalablement inoculée avec une suspension du microorganisme à étudier (Ouaar, 2018).

Les boîtes sont ensuite incubées pendant une période de temps appropriée et observées pour la croissance microbienne. Si une huile exerce une activité antimicrobienne, le micro-organisme ne se développera pas dans la zone qui entoure le disque du papier filtre, cette zone claire ou « zone d'inhibition » est mesurée ensuite et enregistrée en mm **fig.19** (Zaika, 1988).

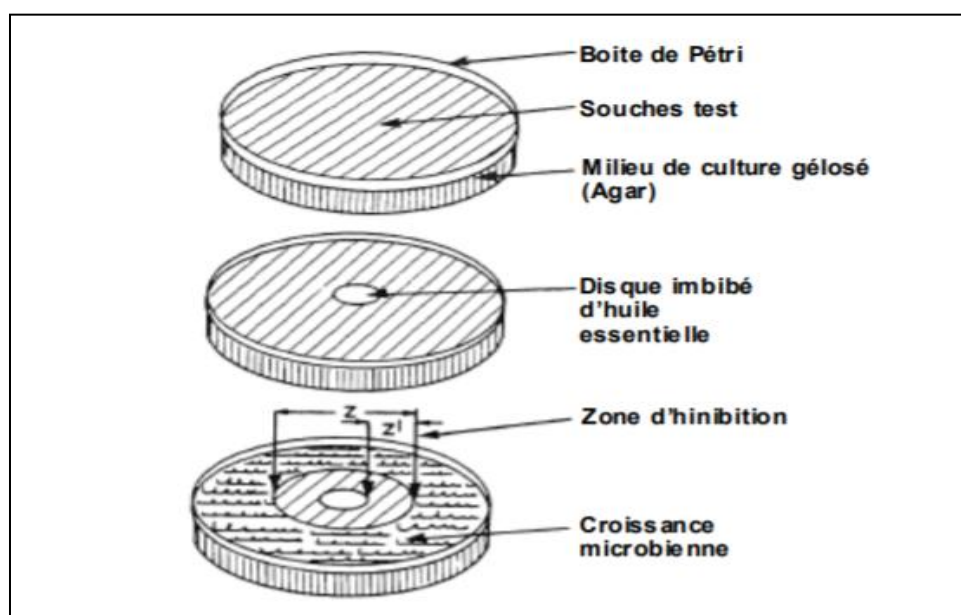


Figure 19 Illustration de la méthode d'aromatogramme (Zaika, 1988)

b) Méthode des puits creusés

La méthode consiste à ensemencer l'inoculum en surface du milieu de culture gélosé préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu des puits (05 à 06 puits par boîte) sont découpés à l'aide de pipette Pasteur (diamètre de 5 mm). Ces puits sont remplis par l'extrait végétal, puis les cultures sont incubées à 37°C pendant 24 h, les zones d'inhibition sont mesurées ensuite en mm. Le diamètre du puits (5 mm) est inclus dans la lecture **fig.20** (Benzohra, 2019).

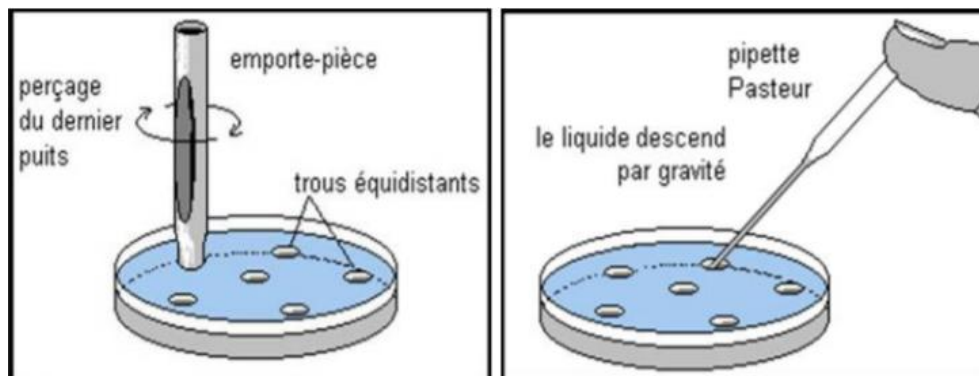


Figure 20 Illustration de la méthode des puits creusés (Benzohra, 2019)

IV.4.2. Technique des micro-atmosphères

Utilisée pour mesurer l'activité antimicrobienne de la vapeur de l'huile essentielle qui peut également exercer son effet. Le protocole des micro-atmosphères est techniquement proche de celle de la méthode d'aromatogramme, la différence réside principalement dans la position du disque imprégné. La méthode consiste à placer une petite tasse ou un disque de papier filtre rempli de l'huile essentielle à l'intérieur du couvercle de boîte de Pétri sans contact direct avec le milieu de culture ainsi inoculé avec le micro-organisme à tester. La zone d'inhibition est mesurée en mm après une période d'incubation appropriée **fig.21** (Zaika, 1988).

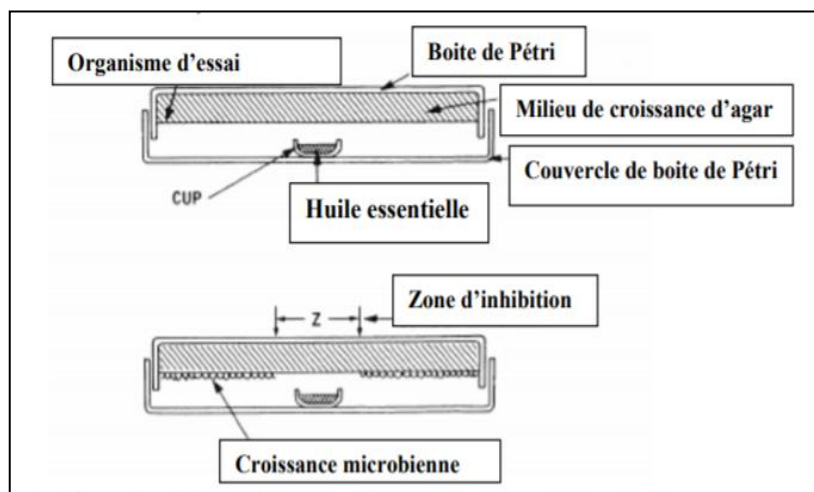


Figure 21 Illustration de la méthode des micro-atmosphères sur boîte de Pétri (Zaika, 1988)

IV.5. Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne durant l'analyse

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits des plantes, il est nécessaire de mettre en considération les variations de trois facteurs principaux qui peuvent affecter les résultats : le milieu de culture, la plante aromatique choisie ou ses composants et le micro-organisme inoculé.

- **Le milieu de culture :** Il peut être de l'eau, un milieu nutritif microbiologique sous forme de gélose liquide ou semi-solide. Ce facteur est très important car la survie ou la croissance d'un micro-organisme dépend fortement du milieu auquel il est exposé.
- **La plante choisie :** Pour la plante ou ses composants, il faut mettre en considération la méthode de son application au milieu de culture, les différentes concentrations à tester et la variation de ses compositions.

Les plantes utilisées peuvent héberger une variété de micro-organismes ou de leurs spores, pour cette raison l'étape de la stérilisation est nécessaire, pour les huiles essentielles sont généralement stériles (Zaika, 1988). Les proportions des composants actifs de la plante utilisée et son extrait peuvent varier, ceux-ci peuvent être en raison de l'origine géographique, les différences variétales et les procédés d'extraction qui peuvent donc modifier les résultats du test (Andrade et al, 2018).

Les micro-organismes : le micro-organisme testé peut être utilisé sous la forme de cellules végétatives ou spores. Il peut être mélangé au milieu de culture ou appliqué sur la surface de la gélose. La taille de l'inoculum est également importante pour déterminer les résultats du test (Zaika, 1988).

IV.6. Estimation de la concentration inhibitrice

IV.6.1. La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de l'huile essentielle ou de l'extrait capable d'inhiber le développement de la culture d'un germe donné. La CMI est définie comme la plus basse concentration d'huile essentielle n'ayant pas donné de croissance microbienne après 24 h d'incubation à 37°C. Elle permet de définir la sensibilité ou la résistance des souches microbiennes au traitement de l'huile essentielle ou de l'extrait (Hellal et al, 2009).

IV.6.2. La concentration minimale bactéricide ou fongicide (CMB) ou (CMF)

La CMB ou CMF est la concentration minimale tuant tous les microorganismes. Elle est déterminée à partir du test de la CMI. Elle correspond à la concentration en huile essentielle ou en extrait ayant donné 99.9% de cellules mortes (Hellal et al, 2009).

IV.7. L'activité antimicrobienne de *Rosmarinus officinalis* L

L'huile essentielle et l'extrait des parties aériennes de romarin exercent une activité antibactérienne et antifongique inhibant la prolifération des bactéries, la croissance mycélienne et la germination des spores. Cette activité est due aux principaux constituants de l'extrait brut : acide carnosique, carnosol et 12-méthoxy-transacide carnosique et aux principaux constituants de l'huile essentielle : le 1,8-cineole, le camphre, le bornéol, l' α -pinène et autres constituants (Paul et Ghedira, 2012).

IV.7.1. Activité antibactérienne

La majorité des études se concentrent sur l'utilisation de l'huile essentielles, alors que peu d'études traitent le cas de l'extrait brut. D'après **Pandey et al (2017)** les bactéries à Gram-négative sont moins sensibles aux HE que les bactéries à Gram-positives. La membrane externe des bactéries à Gram-négative contient des lipopolysaccharides hydrophiles (LPS) qui agissent comme une barrière contre les macromolécules et les composés hydrophobes, offrant ainsi une tolérance accrue aux composés antimicrobiens hydrophobes tels que ceux trouvés dans les huiles essentielles.

Les études de **Doukkali et al (2018)** ont montré l'efficacité *in vitro* de l'activité antibactérienne de l'HE extraite de *Rosmarinus officinalis* L contre le développement de *Erwinia amylovora* (Burrill) qui est une bactérie de Gram-négative. En utilisant la méthode d'aromatogramme, l'application des différentes concentrations de l'HE résultent un diamètre de la zone d'inhibition de : 8mm pour 2 μ l, 12mm pour 6 μ l et 20mm pour 10 μ l.

Badawy et al (2013) ont testé l'efficacité *in vitro* antibactérienne de dix-huit huiles essentielles extraites des plantes aromatiques sur les deux bactéries phytopathogènes de Gram-négative responsables des dommages considérables *Agrobacterium tumefaciens* et *Erwinia carotovora* var. *carotovora*. Dont l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L révèle efficace.

Les résultats ont montré un effet variable des HEs sur les microorganismes testés, la forte activité est pour des valeurs de (CMI) comprises entre 50 et 500 mg / L, l'activité modérée pour des CMI entre 600 et 1500 mg / L et une faible activité au-dessus de 1500 mg / L.

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* exerce une activité antibactérienne modérée sur les deux espèces testées avec une CMI de 675mg/L pour *A.tumefaciens* et 550 mg/L pour *E.carotovora* var. *carotovora* après 24h d'incubation à 37°C.

IV.7.2. Activité antifongique

IV.7.2.1. Activité de l'huile essentielle

L'étude de **Sehari (2018)** montre que l'effet antifongique des HEs de romarin est bien remarqué sur *Aspergillus niger* et *Aspergillus flavus*. L'étude résulte des halos d'inhibition qui dépassent les 35mm avec une concentration de 30µl pour *A. niger* **fig.22** et une zone d'inhibition de 15,986mm pour *A. flavus* avec la même concentration de l'huile essentielle.

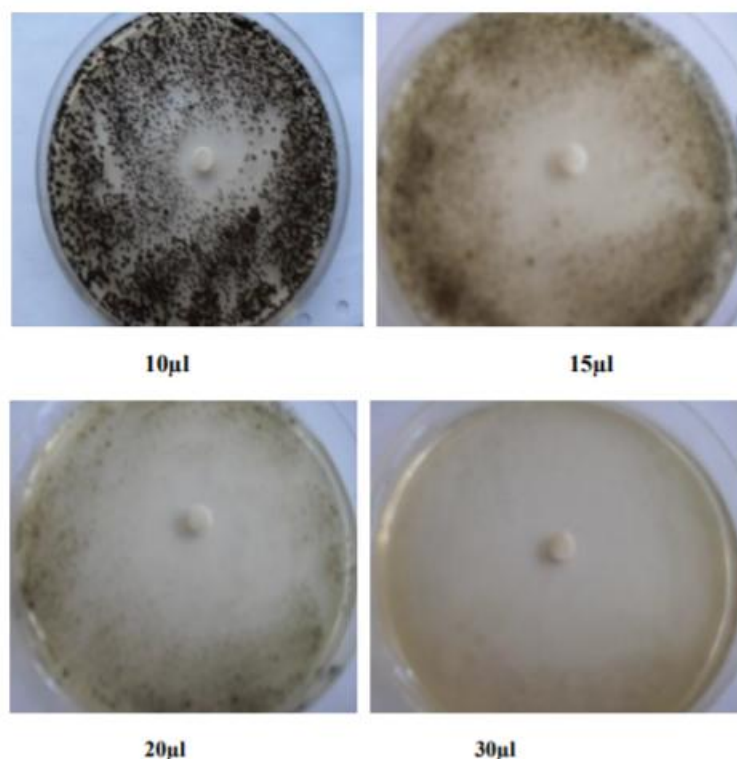


Figure 22 Effet de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L sur *Aspergillus niger* d'après Sehari (2018)

Les études de **Araújo et al (2019)** ont montré l'efficacité de l'activité antifongique inhibitrice de l'huile essentielle de romarin sur le développement mycélien de quatre espèces phytopathogènes. La table suivante illustre ses résultats **tableau.8**.

Tableau 8 Inhibition de la croissance mycélienne (%) après traitement avec l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* modifié après Araújo et al (2019)

<i>Phytophthora spp</i>		<i>Rhizoctonia solani</i>		<i>Pestalotiopsis guepinii</i>		<i>Fusarium solani</i>	
C.M (cm)	I.C.M %	C.M (cm)	I.C.M %	C.M (cm)	I.C.M %	C.M (cm)	I.C.M %
3,47	9,87	3,29	16,41	3	26,53	2,66	28,8

C.M = croissance mycélienne en cm). I.C.M = Inhibition de la croissance mycélienne en %).

IV.7.2.2. Activité de l'extrait

Ojaghian et al (2014) ont testé le potentiel antifongique d'extraits des feuilles de romarin contre trois isolats de *Sclerotinia sclerotiorum*. Ce dernier est un champignon ascomycète terricole provoquant des maladies importantes sur plus de 400 espèces de plantes partout dans le monde. Il est à l'origine d'une maladie connue sous le nom de pourriture blanche.

La recherche de **Ojaghian et al (2014)** montre que les extraits bruts de romarin ont un potentiel *in vitro* pour réduire la gravité de la pourriture blanche de la carotte (*Daucus carota*), l'activité antifongique a un potentiel pour empêcher la germination des sclérotés de 50,4%. Cependant, la recherche révèle que la phase de contact d'extrait de plantes brutes de romarin est plus efficace contre la croissance mycélienne du pathogène part rapport à la phase volatile (méthode des micro-atmosphères).

Dans l'étude de **Ameziane et al (2007)** l'extrait chloroformique de *Rosmarinus officinalis* et vingt autres plantes aromatiques et médicinales ont été examinées pour leur activité antifongique contre les principaux pathogènes fongiques des agrumes : *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotrichum candidum*. Les résultats montrent que l'extrait de romarin a un effet antifongique sur les trois pathogènes testés, le champignon le plus sensible envers le romarin est le *Penicillium digitatum* avec un pourcentage inhibiteur de 56%, le *Penicillium italicum* avec 22% et *Geotrichum candidum* avec 8%.

D'après **Djabi et Khobizi (2018)** et dans le but de l'étude de l'effet de l'extrait aqueux et éthanolique de romarin sur la croissance des champignons phytopathogènes, l'extrait aqueux utilisé à une concentration équivalente à 7,5 g de poudre de romarin a montré un bon effet inhibiteur de croissance sur le *Penicillium sp* (taux d'inhibition entre 2 et 40%), sur l'*Aspergillus flavus* (taux d'inhibition entre 2 et 23% et un faible effet sur *Aspergillus niger* (taux d'inhibition entre 6 et 11%). Cependant son effet est nul sur les deux espèces *Fusarium verticillioide* et *Fusarium sp*.

L'effet de l'extrait éthanolique de romarin sur la croissance radiale des cinq champignons étudiés a montré que trois champignons *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* et *Penicillium sp* sont sensibles vis à vis cet extrait avec des taux d'inhibition de 26 à 43% pour *Aspergillus niger*, de 16 à 36% pour *Aspergillus flavus* et de 21 à 49% pour *Penicillium sp*. D'autre part, pour les deux espèces de *Fusarium*, cet extrait a exercé un effet inhibiteur positif sur la croissance radiale comparé au témoin contenant l'éthanol seul.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

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 pathogènes agricoles. 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 PAM 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 PAMs. L'hydrodistillation est la méthode classique la plus courante, due à la simplicité de son protocole et ses rendements adéquats. En ce qui concerne l'analyse chimique, l'ensemble CPG/SM est très efficace en termes de résultats et de précision. D'après les études bibliographiques, les résultats de cette analyse chimique montre 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. Quelque 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 1,5-2 % v/masse sèche.

Les études citées précédemment révèlent l'efficacité de l'HE *in vitro* du romarin sur les phytopathogènes de type fongique et bactérien. D'après le test d'aromatogramme de l'HE sur les différentes souches testées, les meilleurs résultats constatés sont celui de **Sehari (2018)** avec des halos d'inhibition de 35mm avec une concertation de 30µl pour l'espèce *A.niger* et celui de **Doukkali et al (2018)** avec un halo d'inhibition de 20mm pour 10µl pour l'espèce *E. amylovora*. Pour l'extrait brut du romarin le meilleur résultat est celui de **Ojaghian et al (2014)** avec un pourcentage de 50,4% d'inhibition des sclérotés de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Pour faire suite à nos résultats et notre synthèse, un travail appliqué est envisageable afin de mettre en évidence par expérimentation en suivant notre protocole et modèle d'étude l'effet des dérivées du romarin dans la lutte contre les phytopathogènes. Cela pourra donner naissance à la formulation d'un nouveau produit biopesticide facile à commercialiser et efficace dans l'industrie phytopharmaceutique, à base de la plante du romarin connue et facile à récolter dans notre territoire national.

Références bibliographiques

Almela L, Sánchez-Muñoz B, Fernández-López J-A, Roca M. J et Rabe V, 2006. Liquid chromatographic–mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*. Vol 1120, n° (1-2). p 221-229.

Ameziane N, Boubaker H, Boudyach H, Msanda F, Jilal A et Benaoumar A-A, 2007. Antifungal activity of Moroccan plants against citrus fruit pathogens. *Agronomy for sustainable development*. Vol 27, n°3. p 273-277.

Andrade J-M, Faustino C, Garcia C, Ladeiras D, Reis C-P et Rijo P, 2018. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. *Future science OA*. Vol 4, n°4, FSO283.

Araújo A-S-Q, Cordeiro C-B, Araújo E-V-B, Amorin R-D-S, Faller B-V, de Assis Paes V-L, Jardim I-N, Domingos D-G et Junior M-A, 2019. Bioprospecting of bioactive essential oils against phytopathogenic fungi. *Amazonian Journal of Plant Research*. Vol 3, n° 1. p 298-304.

Aruoma O- I, Halliwell B, Aeschbach R et Löliger J, 1992. Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*. Vol 22, n°2. p 257-268.

Arslan D, Musa Ozcan M, 2008. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Energy Conversion and Management*. Vol 49, n°5. p 1258-1264.

Badawy M-E. et Abdelgaleil S-A, 2014. Composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Egyptian plants against plant pathogenic bacteria and fungi. *Industrial Crops and Products*. Vol 52. p 776-782.

Bajard E, 2016. Petite histoire des produits phytosanitaires. Site internet Jardin de France. <https://www.jardinsdefrance.org/petite-histoire-produits-phytosanitaires/>.

Balasundram N, Sundram K et Samman S, 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food chemistry*. Vol 99, n°1. p 191-194.

Bailly R, Aguilar J, Faivre-Amiot A et Paitier G, 1980. Guide pratique de défense des cultures. Reconnaissance des ennemis Notion de protection des cultures. Ed: ACTA.

Bajpai V-K, Kang S, Xu H, Lee S-G, Baek K-H et Kang S-C, 2011. Potential roles of essential oils on controlling plant pathogenic bacteria *Xanthomonas* species: a review. *Plant Pathol. J*. Vol 27, n°3. p 207-224.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D et Idaomar M, 2008. Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*. Vol 46, n°2. p 449.

Benazzouz M-A, 2011. Les huiles essentielles, importance et potentialité : mise à jour bibliographiques des dernières recherches sur leurs emplois, toxicité et l'analyse de la composition de l'huiles essentielles de quinze plantes les plus consommées au Maroc. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Univ de Mohammed V Maroc. p 22.

Beneteaud E, 2011. Les techniques d'extraction. Comité Français du Parfum. p 2-7.

Benzohra I-E, Megateli M, Elayachi B-A, Zekraoui M, Djillali K, Bouafia A et Benouis S, 2019. Journal Algérien des Régions Arides (JARA). Vol 13, n°2. p 4.

Bettahar, 2015. Extraction des huiles essentielles Analyse par FT-IR et UV-Visible. Mémoire de fin d'étude en Chimie. Univ Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. p 28.

Bézanger-Beauquesne L, 1958. Les alcaloïdes dans les plantes. Bulletin de la Société Botanique de France. Vol 105, n°5-6. p 266-291.

Bhowmik P-C, Schnitzler P, Bernath J, Savo V et Sinagb I, 2012. Medicinal & Aromatic Plants. The International Open Access Medicinal & Aromatic Plants. Vol 1, n°2. p 2.

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.

Boukhatem M- N, Ferhat A et Kameli A, 2019. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. Revue Agrobiologia. p 1654-1656.

Boulenouar N, Marouf A et Cheriti A, 2011. Phytopathologie fongique et métabolites secondaires. Annales de l'Université de Bechar n°11. p 32-38.

Boutekedjiret C, Belabbes R, Bentahar F et 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. Vol. 11, n°2. p 238-240.

Boutekedjiret C, Buatois B et Bessiere J-M, 2013. Characterisation of Rosemary Essential Oil of Different Areas of Algeria. Journal of Essential Oil-Bearing Plants. Vol 8, n°1. p 65-70.

Casanova J et Tomi F, 2018. Spécificité de l'huile essentielle de romarin spontané (*Rosmarinus officinalis* L.) de Corse et de Sardaigne. ISTE Open Science. p 2-14.

Cavalli J-F, 2002. Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles de Madagascar. Thèse de Doctorat en Chimie Organique et Analytique. Univ DE Corse Pascal Paoli. p 19-20.

Chamorro E-R, Zambón S-N, Morales W-G, Sequeira A-F et Velasco G-A, 2012. Study of the chemical composition of essential oils by gas chromatography. Gas chromatography in plant science, wine technology, toxicology and some specific applications. Vol 1. p 307-309.

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.

Destandau E, Michel T et Elfakir C, 2013. Microwave-assisted extraction. Natural product extraction : principes and applications. n°21. p 113.

Dillemann G, 1961. Plantes médicinales et principes actifs. La notion de race chimique. Bulletin de la Société Botanique de France. Vol 108, n°sup1. p 30-38.

Djabi A et Khobizi B, 2018. Etude de l'effet des extraits aqueux et éthanoliques de Romarin sur la croissance de quelques champignons phytopathogènes. Mémoire de fin d'étude en Protection des Végétaux. Univ de Bouira. p 48-49.

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.

Doukkali L, Tahiri A, Tazi B et Guenoun F, 2018. Chemical Composition and Antibacterial Activity of two Essential Oils of rosemary Against *Erwinia amylovora* the causal agent fire blight. Journal of Materials and Environmental Sciences. Vol 5, n°10. p 2913-2918.

Eloutassi N, Louasté B, Boudine L et Remmal A, 2013. Contribution au développement des régions rurales : Conservation de *Rosmarinus officinalis*. ScienceLib. Ed Mersenne : Vol 5, n° 130409. p 2.

El-Azrak H, 2017. Extraction et distillation d'une plante aromatique et médicinale : *Rosmarinus Officinalis*. Mémoire de fin d'étude en Biotechnologie et Valorisation des Phytoressources. Univ de Sidi Mohamed Ben Abdellah Maroc. p 12.

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.

FAO, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et agriculture, 2001. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture. Vol 33. Food & Agriculture Org.

Fay L-B, 1998. Application du couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse en tandem (CPG/SM/SM) à l'analyse de produits alimentaires : Chromatographie en phase gazeuse. Analisis (Imprimé). Vol 26, no 1. p 28-29.

Goetz P et Ghedira K, 2012. Phytothérapie anti-infectieuse. Ed Springer Verlag France, Paris. p 342-345.

Hellal A, Sahraoui N, Boutekedjirett F, Bentahar B, 2009. Activités antimicrobiennes de quelques huiles essentielles de plantes aromatiques algériennes. Recherche sur les plantes aromatiques et médicinales. Ed Greche H et Ennabili A. p 303-304.

Hendel N, Napoli E, Sarri M, Saija A, Cristani M, Nostro A, Ginestra G et Ruberto G, 2019. Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary: Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. Journal of Essential Oil Bearing Plants. Vol 22, n°1. p 1-17.

Heim K-E, Tagliaferro A-R et Bobilya D-J, 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. The Journal of nutritional biochemistry. Vol 13, n°10. p 572.

Hoefler C, 1994. Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de doctorat en pharmacognosie. Univ de METZ. p 9-18.

Horvath G, Wessjohann L, Bigirimana J, Jansen M, Guisez Y, Caubergs R, Horemans N, 2006. Differential distribution of tocopherols and tocotrienols in photosynthetic and non-photosynthetic tissues. *Phytochemistry*. Vol 67, n°12. p 1187–1189.

Ilbert H, Hoxha V, Sahi L, Courivaud A et Chailan C, 2016. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. p 19, 115.

Iserin P, Masson M, et Restellini J-P, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. Ed Larousse.

Kabera J-N, Semana E, Mussa A-R et He X, 2014. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*. Vol 2. p 377-380.

Kalleli F, Salem I-B, Boughalleb-M'Hamdi N et M'Hamdi M, 2019. *In vitro* and *in vivo* efficiency of fennel essential oil against tomato *Fusarium* wilt and its promotion effect on plant growth. *International Journal of Agriculture, Environment and BioResearch*. Vol 4 n°4. p 180.

Khia A, Ghanmi M, Satrani B et al, 2014. Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. du Maroc. *Phytothérapie*, vol 12, n°6. p 341-346.

Kone S, 2001. Extraction des huiles essentielles par distillation. Gate Information Service. Eschborn, Germany.

Labidi A, 2020. Chromatographie en Phase Gazeuse. p 1.

Leplat, M 2017. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de doctorat en Pharmacie. Univ de Marseille. p 65-69.

Lindquist D-A, 2000. Les pesticides : la chimie au service de la survie. *AIEA Bulletin*. Vol 23, n°3. p 37.

Lucaccioni F, Deneyer R et Tilquin B, 1993. Pour une analyse des huiles essentielles. *Chimie nouvelle*. Vol 11, n°43. p 1253-1256.

Magali M-O, 2008. Je lutte contre tous les parasites. Ed De Vecchi. p 16.

Magnani C, Isaac V-L-B, Correa M-A, Marcos A et Salgado H-R-N, 2014. Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical Methods*. Vol 6, n°10. p 3204.

Maroun R-G, Louka N, Maroun K et Amir-Aslani A, 2013. Enjeux et opportunités des composés phénoliques. *Spectra analyse*. n°295. p 19-20.

Martins P-M, Merfa M-V, Takita M-A et De Souza A-A, 2018. Persistence in phytopathogenic bacteria: do we know enough ?. *Frontiers in microbiology*. Vol 9. p 1099.

Méjean M, 2014. Développement d'un couplage de chromatographie en phase supercritique et spectrométrie de masse pour l'analyse de substances naturelles. Thèse de doctorat en Chimie Analytique. Univ Paris Sud. p 37.

Mértola, 2018. Bonnes pratiques de domestication de plantes aromatiques et médicinales : romarin et lavande jaune. Association de défense du patrimoine de Mértola. p 12-13, 37-38.

Meziane-Assami D, Tomao V, Ruiz K, Meklati B-Y et Chemat F, 2013. Geographical differentiation of rosemary based on GC/MS and fast HPLC analyses. *Food Analytical Methods*. Vol 6, n°1. p 282-288.

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.

Neffati M et Sghaier M, 2014. Développement et valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) au niveau des zones désertiques de la région MENA (Algérie, Egypte, Jordanie, Maroc et Tunisie). p 11-15.

Ojaghian M-R, Chen Y, Chen S, Cui Z-Q, Xie G-L et Zhang J, 2014. Antifungal and enzymatic evaluation of plant crude extracts derived from cinnamon and rosemary against *Sclerotiniacarrot* rot. *Annals of applied biology*. Vol 164, n°3. p 415-429.

Ouaar D, Megherbi-Benali A, Lotte S, Gérard J et Toumi-Benali F, 2018. Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite de la sciure de bois de *Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus*. CNRS. p 275.

Ozcan M, 2004. Mineral contents of some plants used as condiments in Turkey. *Food Chem*. Vol 84, n°3. p 437-440.

Pagare S, Bhatia M, Tripathi N, Pagare S et Bansal Y-K, 2015. Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*. Vol 9, n°3. p 293-299.

Pandey A-K, Kumar P, Singh P, Tripathi N-N et Bajpai V-K, 2017. Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives. *Frontiers in microbiology*. Vol 7. p 2161.

Pensa E, 2020. Animateur-nature. Site internet.

https://www.animateur-nature.com/a_la_loupe/rosmarinus_a_la_loupe1.html

Perrin J, Berger A, Bernard E, Mathonnet P-Y, Proust R, Trinquier S et Sauverre Y, 2012. Plantes aromatiques et médicinales : premiers pas dans la production bio en Languedoc Roussillon. p 1-2.

Prajapat R, Marwal A et Jha P-N, 2013. *Erwinia carotovora* associated with potato: A critical appraisal with respect to Indian perspective. *Int J Curr Microbiol App Sci*, Vol 2. p 83-89.

Pollier J et Goossens A, 2012. Oleanolic acid. *Phytochemistry*, vol 77. p 11.

Richardin P, Capderou C, Flieder F, Bonnassies S et Raison D, 1988. Analyse de Quelques Tannins Végétaux Utilisés pour la Fabrication des Cuirs. Les documents graphiques et photographiques : analyse et conservation : travaux du Centre de Recherches sur la Conservation des Documents Graphiques. p 152.

Sehari N-H, 2018. Etude de l'effet de l'huile essentielle du *Rosmarinus officinalis* et de la *Mentha pulegium* dans la lutte biologique contre les parasites des denrées stockées. Thèse de Doctorat en Biodiversité Végétale. Univ de Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes. p 71-72.

Spichiger R.-E et al, 2004 ; Aouina M, et Lakhdari S, 2018. Biologie des huiles essentielles de la famille des Lamiaceae. Mémoire pour l'obtention du diplôme de master en Biotechnologie Végétale. Université M.B. M'sila. p 2.

Thind B-S, 2019. *Phytopathogenic Bacteria and Plant Diseases*. CRC Press. p 223-269.

Tite F, 2013. Site internet paprika et chocolat.

<https://paprikaetchocolat.wordpress.com/2013/08/17/bouture-de-romarin/>

Torre J, Lorenzo M- P, Martinez-Alcazar M- P et Barbas C, 2001. Simple high-performance liquid chromatography method for α -tocopherol measurement in *Rosmarinus officinalis* leaves: New data on α -tocopherol content. *Journal of Chromatography A*. Vol 919, n°2. p 305-311.

Van Staden A-B et Lall N, 2018. Medicinal plants as alternative treatments for progressive macular hypomelanosis. In *Medicinal Plants for Holistic Health and Well-Being*. Academic Press. p 145-182.

Venturoso -L-D-R, Bacchi L-M-A, Gavassoni W-L, Conus L-A, Pontim B-C-A et Bergamin A-C, 2011. Antifungal activity of plant extracts on the development of plant pathogens. *Summa Phytopathologica*. Vol 37, n°1. p 18-23.

Xiao C, Dai H, Liu H, Wang Y, Tang H, 2008. Revealing the Metabonomic Variation of Rosemary Extracts Using NMR Spectroscopy and Multivariate Data Analysis. *J Agric Food Chem*. Vol 56, n°21. p 1042-1045.

Zaouali Y, Chokri M et Boussaid M, 2003. Diversité génétique des populations naturelles de *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae) en Tunisie. *Ecologia mediterranea: International Journal of Mediterranean Ecology*, tome 29 n°2. ISSN 1775-4100. p 202.

Zadernowski R, Czaplicki S et Nacz, M, 2009. Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garciniamangostana*). *Food Chemistry*. Vol 112, n°3. p 685.

Résumé

Cette étude vise l'élaboration d'une synthèse bibliographique sur les dérivés de la plante aromatique et médicinale *Rosmarinus officinalis* L et son activité antimicrobienne. Les résultats de l'analyse chimique montre que les principaux substances actives du *Rosmarinus officinalis* sont les composés phénoliques et les terpénoïdes principalement les monoterpènes et les sesquiterpènes qui constituent pratiquement la totalité des composants de l'huile essentielle du romarin. La composition chimique de cette huile varie en fonction de la chimiotype de la plante. Dans notre territoire national, on constate principalement deux chimiotypes : chimiotype α -pinène (20.13–72,58%) et chimiotype camphoriferum (camphre>20%) alors que le rendement est plus au moins constant entre 1,5-2 % v/masse sèche. Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du *Rosmarinus officinalis* L *in vitro* en tant qu'alternatif de biopesticide sur certains types de phytopathogènes (fongiques et bactériennes) ont montré que l'extrait brut et l'huile essentielle présentent une bonne activité inhibitrice envers les souches testées. Cette évaluation est acquise à travers les résultats de plusieurs expériences élaborées par plusieurs chercheurs sur une échelle nationale, ainsi que mondiale.

Mots Clés : Romarin, *Rosmarinus officinalis* L, plantes aromatiques et médicinales, huile essentielle, chimiotype, étude bibliographique, phytopathogènes.

Abstract

The objective of the current study is developing a bibliographic synthesis on the biochemistry of the derivatives of the aromatic and medicinal plant *Rosmarinus officinalis* L and its antimicrobial activities. The results of the chemical analysis show that the main active ingredients of *Rosmarinus officinalis* are phenolic compounds and terpenoids mainly monoterpenes and sesquiterpenes which constitute practically all of the components of the essential oil of rosemary. The chemical composition of this oil varies depending on the chemotype of the plant. In our national territory, there are mainly two chemotypes: α -pinene chemotype (20.13–72.58%) and camphoriferum chemotype (camphor> 20%) while the yield is more or less constant between 1.5-2% v/dry mass. The results of the evaluation of the antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L *in vitro* as a biopesticide alternative on certain types of phytopathogens (fungal and bacterial) showed that the crude extract and the essential oil have a satisfactory activity inhibition towards the tested strains. This assessment is acquired through the results of several experiments developed by various researchers, nationally and globally.

Key words: Rosemary, *Rosmarinus officinalis* L, aromatic and medicinal plants chemotype, bibliographic study, phytopathogens.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تطوير ملخص بليوغرافي عن مستخلصات عشبة إكليل الجبل العطرية و الطبية ونشاطها المضاد للميكروبات. تظهر نتائج التحليل الكيميائي أن المكونات الفعالة الرئيسية لإكليل الجبل هي المركبات الفينولية والتربينويدات وبشكل رئيسي التربينات الأحادية والسيكويتربينات و التي تشكل تقريبا جل مكونات الزيت الأساسي لإكليل الجبل. يختلف التركيب الكيميائي لهذا الزيت اعتماداً على النمط الكيميائي للنبات. يوجد في بلادنا نوعان أساسيان من الأنماط الكيميائية : النمط الكيميائي (الفا بينان 20.13-72.58%) والنمط الكيميائي الكافوريوم (الكافور <20%) بينما مردود هذا الزيت ثابت نسبياً و يتراوح بين (1.5-2% حجم/ الكتلة الجافة). أظهرت نتائج تقييم النشاط المضاد للميكروبات التي استعملت كبديل للمبيدات على أنواع معينة من مسببات الأمراض النباتية (الفطرية والبكتيرية) أن المستخلص الخام والزيت الأساسي لهما فعالية جيدة مثبثة للسلاطات المختبرة. تم الحصول على هذا التقييم من خلال نتائج العديد من التجارب التي طورها العديد من الباحثين على المستوى الوطني ، وكذلك على المستوى العالمي.

الكلمات المفتاحية : إكليل الجبل ، نباتات عطرية و طبية ، زيت أساسي ، نمط كيميائي ، دراسة بليوغرافية ، أمراض نباتية.
