



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

PRESENTE EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME

DE

MASTER SCIENCES ET TECHNIQUES

"GESTION & CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE"

**Valorisation des plantes aromatiques et médicinales:
étude du potentiel chimique et antibactérien des
huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (sauvage
et domestiqué)**

Présenté par : - Hicham RIYAHA.

Encadré par: - Khalid AMRANI JOUTEI FST- Fès.
- Abdelfattah ABDELLAOUI FSDM-Fès.

Soutenu le 17 juin 2013, devant le jury composé de:

Pr. Khalid AMRANI JOUTEI	FST- Fès	PRESIDENT
Pr. Abdelfattah ABDELLAOUI	FSDM-Fès	ENCADRANT
Pr. Elhoussine DERWICH	CURI-Fès	EXAMINATEUR
Pr. Karima MIKOU	FST-Fès	EXAMINATRICE
Pr. Khalid DERRAZ	FST-Fès	EXAMINATEUR
Pr. Saad RACHIQ	FST-Fès	EXAMINATEUR

Année Universitaire : 2012/2013

Dédicaces

A la mémoire de mes grands parents que leurs âmes reposent dans la
« rahma d'allah »

A mes parents que dieu les protège. **E**n témoignage de ma profonde affection. Qu'ils sachent que ce travail est en partie le fruit de leur soutien ; je leur suis très reconnaissant. Leur fierté à mon égard aujourd'hui est pour moi la meilleure des récompenses.

A mes amis qui m'ont permis d'oublier les moments de stress et de découragement.

A mes frères, oncles, tantes et cousins (es).

A tous mes miens.

Remerciements

Avant de procéder à la rédaction du présent rapport, je tiens à exprimer mes vifs remerciements à tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de ma formation. Cette formation qui m'a permis d'acquérir des compétences en expertise, gestion et conservation des espaces naturels et des espèces animales et végétales.

*Je tiens à remercier tous nos enseignants pour tous les apports qu'ils ont contribué dans l'accomplissement de notre formation, plus particulièrement Mr. **EL GHADRAOUI Lahcen**, Responsable de la Filière Master Sciences et Techniques : Gestion et Conservation de la Biodiversité. Je tiens à le remercier vivement pour avoir accepté de diriger nos réflexions, pour la confiance qu'il nous a accordé, son soutien constant et pour ses compétences qui ont largement contribué à la réussite de notre formation toute au long de ce master. Merci Monsieur pour vos enseignements votre humanité et pour toute l'aide que nous avons reçu de votre part.*

*Ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements vont aussi à notre encadrant Mr. **DERWICH El houssine**, responsable d'unité d'analyse de GC / MS et GC, Centre Régional d'Interface, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Fès, Maroc, Pour le choix du sujet ainsi que les analyses chromatographiques et aussi d'avoir fourni beaucoup d'efforts du matin au soir en guidant nos pas sur la voie du savoir et du savoir-faire.*

*J'ai le plaisir de présenter mes sincères remerciements à mon encadrant Mr **AMRANI Khalid**, à qui nous devons beaucoup d'estimation et de respect pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail et sa grande disponibilité à mon égard ainsi que ses judicieux conseils, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de formation et de la réalisation de ce travail.*

*Ma profonde gratitude va spécialement à l'égard de Mr. **ABDELLAOUI Abdelfattah** responsable de Bioremédiation et environnement, laboratoire de physiologie végétale à la faculté des sciences Dhar el Mahraz Fès. Qui malgré ses multiples responsabilités a bien voulu me soutenir tout au long la période du stage. Ses conseils, ses idées, son dévouement et sa patience ont concouru à son accomplissement. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Je remercie également Madame **MIKOU Karima**, Mr **DERRAZ Khalid** et Mr. **RACHIQ Saad** pour l'évaluation du manuscrit, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté à l'égard de ce travail aussi que pour m'avoir honoré en acceptant d'être jury de soutenance.*

*J'exprime mes reconnaissance à mes amis et collègues : **Amina, Asmae, Hajar, Ouafae, Salma, Soukaina, Aicha, Hind, Khadija, Meryem, Ilham, Imane, Rahma, kenza, Zineb, Tarek, Adil, Anass, Marouane, Reda, Youness, saad, kamal, Soufiane, Abdelmonaim, Mohammed, Abdallah, Khalid et Abdelkader**, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce modeste travail.*

Liste des abréviations

PAM:	Plantes Aromatiques et Médicinales.
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé.
HE:	Huiles Essentielles.
AFNOR:	Association Française de Normalisation.
Bio actives:	Biologiquement actives.
HCEFLCD:	Haute Commissariat des Eaux et Forêts et la Lutte Contre Désertification.
FS:	Feuilles Sèches.
T:	Tonne.
ND:	Non disponible.
SNDS des PAM:	Stratégie National de Développement du Secteur des Plantes Aromatiques et Médicinales.
PFPAM:	Projet Filière des Plantes Aromatiques et Médicinales.
USD:	United States Dollar.
CPG/SM:	Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectromètre de Masse.
CPG-FID:	Chromatographie en phase Gazeuse-Détecteur à Ionisation de Flamme.
EI:	Energie d'Ionisation.
Sil:	Silice.
CURI:	Centre Universitaire Régional d'Interface.
FSDM:	Faculté des Sciences Dhar el Mahraz.
LB:	Lysogenic Broth.
Romarin D:	Romarin Domestiqué.
Romarin S:	Romarin Sauvage.
Anti. P:	Antibiotique Pénicilline.
Anti. OFX:	Antibiotique Ofloxacin.
TR:	Temps de Rétention.
OFSP:	Office fédéral de la santé publique.
Afssaps:	Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé.
DFI:	Département Fédéral de l'Intérieur.
CNRS:	Centre National de la Recherche Scientifique.
Ed:	Editions.
USAID:	Agence Américaine pour le Développement International.

Sommaire

Résumé	1
Introduction	2
I - Etude bibliographique.....	4
1 - Définition des plantes aromatiques et médicinales	4
2 - Importance des plantes aromatiques et médicinales	4
2.1 - L'action des plantes médicinales	4
a- La phytothérapie.....	5
b – composées des plantes aromatiques et médicinales	6
3 - Les huiles essentielles	7
3.1 - Principes généraux	8
3.2 - Tissus sécréteur des HE	8
3.3 - Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	9
3.4 - Rôle écologique des huiles essentielles	10
3.5 - Utilité économique	11
3.6 - Caractéristiques traditionnelles des huiles essentielles:.....	11
3.7 - Facteurs influençant la composition d'une HE:	12
4 - Méthodes d'extractions des huiles essentielles:	12
a - Entraînement à la vapeur d'eau:	13
b - L'hydrodistillation	13
c - L'expression à froid	14
5 - Présentation de la plante étudiée	14
6 - Bactériologie	17
II - MATERIEL ET METHODES	19
1 - Matériel végétal	19
2 - Méthodes utilisées.....	19
3 - Calcul et détermination du rendement en huiles essentielles.....	21
4 - Méthode d'analyse chromatographique des huiles essentielles.....	22
5 - Activité antibactérienne des huiles essentielles	22
III - RESULTATS ET DISCUSSIONS	25
1 - Composition chimique des huiles essentielles	25
2 - Activités antibactériennes:	31
Conclusion.....	34
Perspectives	35
Références Bibliographiques.....	36

Liste des Figures

FIGURE 1: STRUCTURES CHIMIQUES DE QUELQUES COMPOSES EXTRAITS DES HUILES ESSENTIELLES (B. WENIGER, 2011)	10
FIGURE2: PRINCIPE DE L'APPAREILLAGE D'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU (A. ELHAIB, 2011)	13
FIGURE3: MONTAGE D'HYDRODISTILLATION (CLEVINGER) (J. SMADJA, 2009).....	13
FIGURE 4: « <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> » (A. CHEVALLIER, 2001).....	15
FIGURE 5: IMPORTATION AMERICAINES EN HUILE ESSENTIELLE DE ROMARIN (PROJET FILIERE DES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES, 2006)	16
FIGURE 6: <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> RECOLTEE DE GUERCIF	19
FIGURE 7: APPAREIL DE TYPE CLEVINGER DU LABORATOIRE DE PHYSIOLOGIE VEGETALE – FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ- FES.	20
FIGURE 8 : CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE (GC/MS) (CURI-FES).....	22
FIGURE 9: DIFFUSION SUR DISQUES	24
FIGURE 10: CHROMATOGRAMME DES HUILES ESSENTIELLES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> (DOMESTIQUE)	25
FIGURE 11: CHROMATOGRAMME DES HUILES ESSENTIELLES DE <i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> (SAUVAGE).....	27
FIGURE 12: ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES HUILES ESSENTIELLES.	31

Liste des Tableaux

TABLEAU 1 : PRODUCTION/EXPLOITATION DES PRINCIPALES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES (SOURCE HCEFLCD) (PROJET FILIERE DES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES, 2006). **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

TABLEAU 2: CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES LIEES A LA VOLATILITE DE QUELQUES CONSTITUANTS

ODORANTS (DENNY E.F.K, 1991): 9

TABLEAU 3: COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* (DOMESTIQUE).. 26

TABLEAU 4: COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* (SAUVAGE). 27

TABLEAU 5: ETUDE COMPARATIVE DE LA COMPOSITION DE L’HUILE ESSENTIELLE DU *ROSMARINUS OFFICINALIS*

SAUVAGE ET DOMESTIQUE..... 30

TABLEAU 6 : ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DES HUILES ESSENTIELLES DE *ROSMARINUS OFFICINALIS* SAUVAGE ET

DOMESTIQUE (ZONES D’INHIBITION EN MM). 33

Résumé

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des feuilles des deux variétés de *Rosmarinus Officinalis* sauvage et domestiqué, provenant de la région de Guercif, et de jardin de la Faculté des Sciences de Fès respectivement, ont été analysées par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse. Les huiles extraites des deux matières végétales étudiées, présentent des compositions chimiques et des rendements différents. 58 composés sont détectés dans la plante sauvage avec un rendement de (2%), et 51 sont détectés dans la plante domestiqué avec un rendement de (0.87%). Les composé majoritaires identifiés dans la variété sauvage sont: Androst -1-en-3-one (23,03 %), Androst-1-en-3-one-17-hydroxy-1-methyl- (6,32 %), Cis-Z- α -Bisaboleneepoxyde (6,94 %), Anthraquinone (13,46 %), Bornyl ester (4,09 %), α -Guaiene (2,3 %) et coumarine (7,83 %), alors que ceux identifiés dans la variété domestiquée sont composés principalement de: d'Androst-1-en-3-one (33,62 %), Cis-Z- α -Bisabolene epoxyde (7,33 %), Adamantane (3,16 %), coumarine (7,86 %), Anthraquinone (12,46 %), Bornyl ester (3,45 %), Resibufogenin (2,48 %) et β -Himachalene (2,22 %).

L'étude de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles sur des souches bactériennes gram positif (*Staphylococcus aureus*) et gram négatif (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*), montre que les huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis* des deux variétés de plantes, possèdent un effet antibactérien important surtout sur les 2 souches de bactéries gram négatif à savoir *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosae*.

Mots clés : *Rosmarinus Officinalis*, Huile essentielle, CPG/SM, Activité antibactérienne.

Introduction

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base: nourriture, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité (Gurib-Fakim A., 2006).

Au niveau mondiale, on estime que près de 70000 espèces sont utilisées dans la médecine traditionnelle. L'OMS rapporte plus de 21000 taxons végétaux utilisés pour des buts médicaux. Malheureusement, il n'y a aucune idée combien d'espèces sont employées dans les autres domaines d'utilisations (D. Lange, 2004). N'oublions pas que le Maroc est un fournisseur traditionnel du marché mondial en plantes aromatiques et médicinales. Cette activité met en exploitation aussi bien des plantes fraîches que des plantes séchées pour les besoins d'herboristeries et les aromates alimentaires (H. Bhar et A. Balouk, 2011). Le Maroc, de part son climat méditerranéen et ses caractéristiques géomorphologiques, bénéficie de conditions favorables pour le développement d'une flore riche et variée comprenant un important potentiel en plantes aromatiques et médicinales (PAM) souvent endémiques (Projet filière des plantes aromatiques et médicinales, 2006), dont certains sont abusées en raison du manque de données scientifiques (A. Talbaoui, 2012). A côté de plantes rencontrées à l'état spontané au niveau des forêts et parcours (ex: romarin, armoise, thym, lavande, etc.), plusieurs autres espèces sont cultivés dans différentes régions du Maroc, dont certaines sont également considérées dans la catégorie des condiments et épices (verveine, safran, sauge, menthes, carvi, coriandre, cumin, fenugrec, fenouil, anis, etc.) (Projet filière des plantes aromatiques et médicinales, 2006).

Le romarin est la principale plante exploitée suivi du thym et de l'armoise; tandis que la menthe pouliot domine dans le cas des PAM cultivées. Parmi ces principales espèces, on a choisi de travailler tout au long de ce stage sur le romarin (*Rosmarinus officinalis*).

Nous sommes intéressés à étudier *Rosmarinus officinalis* sauvage et domestiqué, afin de démontrer et de comparer leur composition chimique et déterminer leurs propriétés biologiques.

Ce mémoire comprend donc 3 chapitres : le premier Chapitre est consacré aux généralités sur les PAM. Cette étude inclut: la définition, aperçu historiques des plantes médicinales et les composées secondaires des plantes, ainsi que le procédé classique

d'extraction des huiles essentielles et leurs activités biologiques. Et aussi une description botanique de romarin (*rosmarinus officinalis*) utilisé dans ce travail.

Le deuxième Chapitre est consacré au travail du laboratoire. Nous aborderons les conditions opératoires des procédés employés au laboratoire, puis nous décrirons la méthode d'analyse photochimiques et l'analyse d'huiles par GC-MS. Nous allons par la suite étudier l'effet antibactérien de ces huiles de romarin sur des souches bactériennes isolées au laboratoire de la physiologie végétale au sein de la FSDM-Fès. L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin a été réalisée par la méthode de diffusion sur des disques stériles.

Dans le troisième et dernier Chapitre nous nous consacrerons à l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus par hydrodistillation et par chromatographie (GC/MS) des deux plantes sélectionnées (sauvage et domestiqué) ainsi que leurs propriétés biologiques.

Enfin une conclusion générale qui résume l'ensemble de résultats obtenus.

I - Etude bibliographique

1 - Définition des plantes aromatiques et médicinales

Les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est peu fréquent que la plante soit utilisée entière, le plus souvent, il s'agit d'une ou de plusieurs parties qui peuvent avoir chacune des utilisations différentes (*J. Vercauteren, 2012*).

Depuis la plus haute antiquité, les hommes se sont soignés avec les plantes qu'ils avaient à leur disposition. Plusieurs théoriciens ont entrepris d'expliquer l'action des plantes sur l'organisme (*A. Chevallier, 2001*). Les grandes civilisations anciennes ont eu recours aux PAM pour leurs propriétés médicinales, parfumantes ainsi que des utilisations rituelles (*H. Bhar et A. Balouk, 2011*).

Les plantes médicinales ont été toujours associées aux comportements et au savoir traditionnel culturels. Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours aux médecines traditionnelles pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire (*H. Bhar et A. Balouk, 2011*). Il pousse dans le monde plus de 20000 espèces de végétaux, à usages condimentaires, médicinaux ou cosmétiques, dont 50% est utilisée en industrie pharmaceutique (*L. Bermness, Larousse, 2005*).

Le criblage des plantes utilisées dans la médecine traditionnelle marocaine présente une base de la pharmacopée botanique. D'ailleurs le Maroc dispose, sur les 7000 espèces et sous-espèces existantes, 537 sont endémiques du pays et 1625 rares ou menacées (*H. Bhar et A. Balouk, 2011*).

2 - Importance des plantes aromatiques et médicinales

2.1 - L'action des plantes médicinales

Les plantes sont universellement reconnues comme un élément essentiel de la diversité biologique du monde et une ressource essentielle pour la planète. Elles peuvent améliorer la qualité de la vie et le milieu de travail, de plus, les plantes oxygènent l'air et favorisent ainsi l'éveil et la concentration (*L. Bermness, Larousse, 2005*).

Plusieurs milliers de plantes sauvages ont une grande importance économique et culturelle, en fournissant de la nourriture, des médicaments, du carburant, des vêtements et des abris pour l'homme dans le monde entier. Les plantes jouent également un rôle clé dans le

maintien de l'équilibre écologique de la terre et de la stabilité des écosystèmes. Elles fournissent des habitats pour les animaux et les insectes (A. Djoghlaï et al, 2009).

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques, car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie: elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (A. Chevallier, 2001).

a- La phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement «soigner avec les plantes». La phytothérapie ou bien «la thérapie par les plantes» est demandée de façon incroyable, les gens font confiance aveugle à cette médecine sans prise compte de danger de ces plantes et herbes sur leur santé (S. Gahbich, 2009; M. Sebai et M. Boudali, 2012).

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes médicinales (A. Chevallier, 2001). Beaucoup de remèdes phytothérapeutiques sont nés des observations, de l'inspiration et de l'expérience des guérisseurs, devenus des personnages révéérés dans toutes les tribus et chez tous les peuples (L. Bermness, Larousse 2005).

De plus, les effets secondaires induits par les médicaments inquiètent les utilisateurs, qui se tournent vers des soins moins agressifs pour l'organisme. On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. C'est pour cela on voit que la phytothérapie qui propose des remèdes naturels et bien acceptés par l'organisme, est souvent associée aux traitements classiques. Elle offre aussi de multiples avantages malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne. L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend des plantes leurs effets en fonction de leurs principes actifs (A. Chevallier, 2001).

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante; ils lui confèrent son activité thérapeutique. Il se peut que des principes actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les principes actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés (ex: l'oranger: ses fleurs sont sédatives et son écorce est apéritive) (M. Sebai et M. Boudali, 2012).

Les éléments actifs des plantes: les phénols, les flavonoïdes, les tanins, les anthocyanes, les saponines, les vitamines, les glucosides et les minéraux (*M. Sebai et M. Boudali, 2012; A. Chevallier, 2001*).

b – composées des plantes aromatiques et médicinales

✓ Les phénols:

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine, à des substances plus complexes comme les composés phénoliques auxquels sont rattachés les glucosides. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques (*A. Chevallier, 2001*).

✓ Les anthocyanes:

Qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleue, rouge ou pourpre Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres Ils maintiennent une bonne circulation, notamment dans les régions du cœur, des mains, des pieds et des yeux (*M. Sebai et M. Boudali, 2012; A. Chevallier, 2001*).

✓ Les tanins:

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou les bétails. Le tanin c'est un phénol qui est associé à un sucre. Un des tanins de base est l'acide gallique. Ils précipitent (agglutiner, coaguler) les protéines et la gélatine ce qui est beaucoup plus rare. On peut en outre les utiliser en cas d'empoisonnement par des alcaloïdes, car il les précipite et les rend inoffensifs (*M. Sebai et M. Boudali, 2012; A. Chevallier, 2001*).

✓ Les flavonoïdes:

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, ils entrent dans la composition de nombreux pigments végétaux et en particulier les pigments jaunes et orange (calendula) et aussi dans les pigments bleus. Ils sont particulièrement actifs dans le maintien d'une bonne circulation, certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (*M. Sebai et M. Boudali, 2012; A. Chevallier, 2001*).

✓ Les saponines:

Principaux constituants de nombreuses plantes médicinales (savon -saponaire, l'herbe à savon; le réglisse; le bouillon blanc; le Modène), des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon (*M. Sebai et M. Boudali, 2012*).

✓ Les vitamines:

Les vitamines sont des substances qui agissent à faibles doses, de nombreuses plantes médicinales sont particulièrement riches en vitamines, on distingue les vitamines hydrosolubles et liposolubles. Le citronnier notamment contient des doses élevées de vitamine C et la carotte est riche en bêta-carotène (pro vitamine A) (*A. Chevallier, 2001*).

✓ Les glucosides:

Les glucosides sont des substances décomposées par des enzymes spécifiques, donnent un sucre et un «aglycone» thérapeutiquement actifs, souvent toxique. Elles sont liées soit à une fonction phénol soit à un dérivé nitré ou soufré qui entraînera des propriétés particulières de la molécule (*L. Bermness, Larousse, 2005*).

✓ Les minéraux:

De nombreuses plantes médicinales sont très riches en minéraux. Ils sont nécessaires à divers fonctions métaboliques, à la différence des enzymes, non catalyseurs. Les plantes, notamment celles issues de l'agriculture biologique, tirent les minéraux du sol et les transforment en une structure aisément assimilable par l'organisme (*L. Bermness, Larousse, 2005*).

3 - Les huiles essentielles

Bref historique sur les H.E (*B. Weniger, 2011*):

- Egypte (4ème millénaire av. J.C) : petites amorphes ayant contenues des essences et parfums retrouvées dans les sarcophages des rois.
- Civilisation arabe (Bagdad, Damas): commerce des épices et des aromates, et perfectionnement dans l'art de la distillation.
- Deux noms à retenir: l'alambic et incontestablement associé à Avicenne (930-1037), tout comme le vase florentin est associé à Giovanni Baptistadella porta (1540-1615).

- Hermann Boerhave (1668-1738) fut l'un des premiers à décrire les H.E d'un point de vue chimique.

3.1 - Principes généraux

Parmi les espèces végétales (800 000 à 1 500 000 selon les botanistes) 10 % seulement sont dites « aromatiques », c'est-à-dire qu'elles synthétisent et sécrètent des infimes quantités d'essence aromatique par l'intermédiaire de poils, poches ou canaux sécréteurs (M. C. Pibiri, 2006).

Les PAM avaient acquis une attention particulière dans le domaine de la recherche intensive sur les composés antimicrobiens naturels. Ce sont des végétaux qui renferment parmi ces produits, les huiles essentielles (HE). Leur étude est toujours d'une brûlante actualité malgré son ancienneté et les développements exponentiels des biotechnologies végétales. Elles constituent une source constante des réactifs actifs contre des agents pathogènes (A. Talbaoui et al, 2012; M. Najib, 2010). Selon la définition de la norme française AFNOR NF T 75-006, l'huile essentielle est **«un produit obtenu à partir d'une matière première végétal soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par la distillation sèche»** (M. C. Pibiri, 2006).

Les HE se rencontrent dans tout le règne végétal ; cependant, elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles: Myrtaceae, Lauraceae, Rutaceae, Lamiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Poaceae, Zingiberaceae et Piperaceae (A. Talbaoui et al, 2012). Elles sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. Certaines ont des propriétés pharmaceutiques reconnues, d'autres sont utilisées comme bases de parfums ou comme additifs alimentaires (S. Marghache et al, 2009).

3.2 - Tissus sécréteur des HE

Une huile essentielle est un produit naturel, de l'huile 100 % pure extraite par distillation ou par une autre méthode de diverses sources telles que les substances aromatiques de diverses origines (Guidebook for Export to Japan, 2011) : racines (Vétiver), bulbe (ail), rhizome (gingembre), tige (petits grains), bois (Bois de Rose, Cèdre, Santal), écorce (cannelle), feuille (citronnelle, eucalyptus), bourgeon (pin), sève (encens, myrrhe), fleur (romarin, rose, lavande), fruits (orange), graines (muscade, anis) (M. C. Pibiri, 2006).

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (cas des lauracées et magnoliacées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs spécialement différenciés et variables suivant les familles botaniques. On peut citer, par exemple, les poils sécréteurs des lamiacées, les poches sécrétrices des rutacées et les canaux sécréteurs des conifères (A. Endrias, 2006).

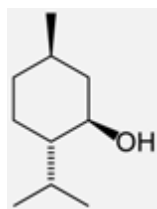
3.3 - Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

L'huile essentielle est un mélange complexe de molécules odorantes. C'est un liquide homogène, bien que constitué d'un assemblage hétérogène sur le plan chimique par la diversité des structures présentes (A. Endrias, 2008). Plus ou moins colorée, volatile, de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Leur densité est, en général, inférieure à celle de l'eau (H. Bhar et A. Balouk, 2011). Seules 3 huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau: il s'agit des huiles essentielles de cannelle, de girofle et de saffron. Elle a un indice de réfraction élevé et la plupart des HE dévie la lumière polarisée (A. Endrias, 2008).

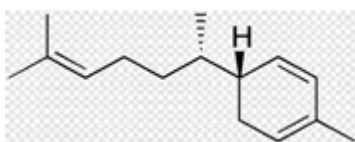
Tableau 2: Caractéristiques physico-chimiques liées à la volatilité de quelques constituants odorants (Denny E.F.K, 1991):

Composé	Formules	Poids moléculaire (M ^e H)	Point d'ébullition à 760 mmHg (°C)	Tension de vapeur calculée à 373°K (mmHg)	Rapport d'entraînement 760 mmHg (mole d'he/mole de l'eau)
α pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	155,0	141,0	1/4,4
β pinène	C ₁₀ H ₁₆	136	158,3	120,0	1/5,3
limonène	C ₁₀ H ₁₆	136	175,0	72,6	1/9,5
carvone	C ₁₀ H ₁₄ O	150	227,5	9,6	1/78,2
Carvacrol	C ₁₀ H ₁₄ O	150	237,0	5,3	1/142,4
camphr	C ₁₀ H ₁₆ O	152	209,2	20,0	1/37,0

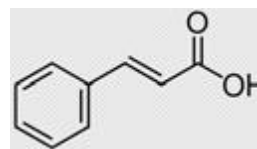
Les huiles essentielles sont habituellement constituées de mélange de terpènes (mono- et sesquiterpènes) et/ou de dérivés du phénylpropane, associées éventuellement à des coumarines (B. Weniger, 2011):



Menthol



Zingibérène



Acide cinnamique

Figure 1: Structures chimiques de quelques composés extraits des huiles essentielles (B. Weniger, 2011)

D'un point de vue appliqué, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes médicinales, alliées à leur difficulté de production. Chez l'homme, ces molécules traces jouent un rôle important en agissant directement sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes et leur impact sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, effet protecteur contre l'apparition de certains cancers) (Macheix *et al*, 2005; Iserin *et al*, 2001).

Le nombre des molécules chimiquement différentes qui constituent une huile essentielle est variable. A côté des composés majoritaires, on retrouve des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces. La plupart sont poly-moléculaires (c'est à dire composées d'une grande diversité de composés), il existe quelques huiles dites mono-moléculaires (constituées presque exclusivement d'une molécule majoritaire) (M. C. Pibiri, 2006).

Ces composés sont issus par deux voies principales de biosynthèse (B. Weniger, 2011) :

- Voie de l'acide mévalonique.
 - ✓ Assemblage d'unités «isoprène»: la plupart des mono- et sesquiterpènes
- Voie de l'acide shikimique.
 - ✓ Biosynthèse des dérivés du phénylpropane.
 - ✓ Biosynthèse des coumarines.

3.4 - Rôle écologique des huiles essentielles

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

allopathiques dans les régions arides et peuvent servir de solvants bioactifs des composés lipophiles (A. Elhaib, 2011).

3.5 - Utilité économique

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie : Cosmétologie, alimentaire et médicinale (Grysole J, 2004).

L'utilisation des huiles essentielles comme base dans la fabrication de parfums et de savons constitue une pratique courante depuis des siècles dans la plupart des civilisations. La consommation d'huile dans ce secteur se caractérise par le besoin d'une très grande variété de produits, de quantités relativement faibles et de prix souvent élevés. La parfumerie technique a également recours aux huiles essentielles pour l'image de propreté à laquelle elles sont associées, mais aussi parfois pour leurs propriétés antiseptiques (ex: la Citronnelle dégage un parfum qui indique au visiteur que l'endroit a été fraîchement lavé) (A. Elhaib, 2011).

En ce qui concerne l'industrie alimentaire, les huiles essentielles sont utilisées pour rehausser le goût des aliments, pour parfumer et colorer. Le nombre de produits augmente et le consommateur recherche d'avantage les produits avec des ingrédients naturels (ex: huile essentielle d'orange la plus utilisée dans le monde) (Confédération Suisse, 2009).

Les huiles à utilisations médicinales peuvent être vendues comme tel en petits flacons ou sous forme de vaporisateurs, de pastilles, de bonbons. Ces huiles peuvent également être utilisées comme inhalant pour soulager les difficultés respiratoires, comme dentifrice (dans l'eau), ainsi que pour rafraîchir ou soulager la gorge (M. Turgeon, 2001). L'homéopathie et l'aromathérapie sont des exemples courants d'usage d'huiles essentielles en médecine douce, et leur popularité s'est accrue d'une façon considérable ces dernières années (A. Elhaib, 2011).

3.6 - Caractéristiques traditionnelles des huiles essentielles:

Un certain nombre de plantes médicinales est encore utilisé de nos jours sous forme de décoctions et infusions mais la plupart d'entre elles ont été délaissées au profit de produits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisée par nos ancêtres (C. Bourrel, 1993).

Une relation entre la structure chimique et l'activité biologique est alors tendant, aussi la production des molécules naturelles pourrait entrer dans la composition de médicament moins

agressifs vis-à-vis de l'organisme, ou à des fins industrielles précédemment exposée (*Jean. Bruneton, 1993*).

Cette dernière perspective permet d'élargir le champ de valorisation des plantes aromatiques (autrefois restreint du point de vue économique, à l'extraction de molécules olfactives), par l'exploitation des nombreuses et diverses activités biologique, substantiellement évoquées par la médecine traditionnelle, qui sont recensées et corrélées à certains types de structures chimiques. Ce dernier fera apparaître des molécules «bio actives» dans des espèces référencées par la médecine traditionnelle (*C. Bourel, 1993*).

3.7 - Facteurs influençant la composition d'une HE:

La présence ou l'absence de certains constituants dans la plante dépend de l'un ou de la combinaison de trois facteurs (le patrimoine génétique, l'âge et l'environnement de la plante). En effet, l'influence des facteurs environnementaux, comme la température, l'humidité, l'altitude et latitude la nature du sol sur la composition chimique et le rendement des huiles essentielles a été décrite (*Boira et Blanquer, 1998 ; Palà-paul et al, 2001*). Le mode de récolte, les conditions de transport, séchage et de stockage peuvent générer des dégradations enzymatiques (*E.Yayi et al, 2004*). Les changements les plus importants interviennent pendant l'hydrodistillation sous l'influence des conditions opératoires, notamment du milieu (l'acidité, température) et de la durée d'extraction. D'autres facteurs tels que les traitements auxquels on peut procéder avant ou pendant l'hydrodistillation (broyage, dilacération, dégradation chimique ou enzymatique, pression, agitation) contribuent à la variation du rendement et de la qualité de l'huile essentielle (*L. Lagunez Rivera. 2006; F. Chemat et al, 2007*).

4 - Méthodes d'extractions des huiles essentielles:

Le choix de la technique dépend principalement de la matière première: son état originel et ses caractéristiques, sa nature proprement dite. Le rendement « HE/matière première végétale » peut être extrêmement variable selon les plantes (*C. Desmares et al, 2008*).

Les huiles essentielles sont extraites principalement par deux méthodes de distillation et une méthode d'expression à froid (*L. Lagunez Rivera, 2006*) :

- L'entraînement à la vapeur de l'eau.
- L'hydrodistillation.
- L'expression à froid (cas particulier des agrumes).

a - Entraînement à la vapeur d'eau:

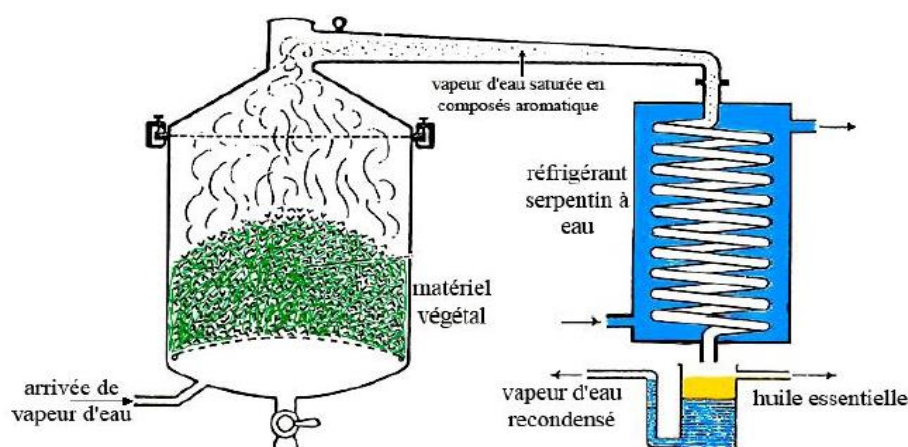


Figure2: Principe de l'appareillage d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau (A. Elhaib, 2011)

Le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable, qui traverse les végétaux et emporte avec elle les molécules aromatiques. La vapeur chargée de l'arôme se condense alors en traversant une cuve réfrigérante pour être récupérée en phase liquide dans un vase florentin (ou essencier) où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation (J. Smadja, 2009).

b - L'hydrodistillation



Figure3: montage d'hydrodistillation (Clevenger) (J. Smadja, 2009).

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors la décantation (*L. Lagunez Rivera, 2006*).

c - L'expression à froid

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (*Citrus spp.*) par des procédés mécaniques à température ambiante. L'expression à froid consiste à soumettre la substance végétale à une forte pression à l'aide d'une presse hydraulique (*C. Desmares et al, 2008*).

5 - Présentation de la plante étudiée

- **Systématique (*P. Quezel et S. Santa, 1963*):**

Règne : VEGETAL.

Embranchement : SPERMATOPHYTES.

Classe : Dicotylédones.

Ordre : Lamiales (Labiales).

Famille : Lamiaceae.

Genre : *Rosmarinus*.

Espèce : *Rosmarinus officinalis* L.

Le genre *Rosmarinus* regroupe deux espèces de plantes au Maroc : *Rosmarinus officinalis* L. et *Rosmarinus tournefortii* de Noe. Au Maroc, le nom vernaculaire de *rosmarinus officinalis* L. est « yazir » alors qu'au moyen-orient, il est connu sous le nom « Iklil Al Jabal ». (*H. Bhar et A. Balouk, 2011*).



Figure 4: «*Rosmarinus officinalis*» (A. Chevallier, 2001).

Cette plante est très connue, le romarin est originaire du bassin méditerranéen, il apprécie les climats chauds et tolère modérément la sécheresse. Au Maroc, elle est rencontrée dans le Haut et le Moyen- Atlas, l'Oriental et le Rif. (N. Mouhssine, 2012). Les peuplements les plus importants sont rencontrés dans les régions de Taourirt, Jerada et Bouarfa (*Filière des plantes aromatiques et médicinales Note de Synthèse*, 2005). La croissance du romarin s'effectue en été, du début juillet à la fin août, pendant la sécheresse estivale. La floraison a lieu en mars en bord de mer, en mai-juin en altitude. Le romarin qui est une plante versatile, a des fleurs bleu pâle et dégage une odeur aromatique stimulante, riches en pollen, appréciées par les abeilles, l'une des premières herbes utilisées médicalement. On fait une seule récolte par an: avant la floraison pour l'herboristerie, en pleine floraison pour l'huile essentielle (F. Ida Jean et al, 2000).

Traditionnellement, on s'en servait pour chasser le diable, se protéger de la peste, et relativement peu employée en cuisine en Afrique du Nord, au Portugal et en Espagne (*Projet filière des plantes aromatiques et médicinales*, 2006). Grâce à ses propriétés antioxydantes (les diterpènes et les flavonoïdes réduisent les effets des radicaux libres, notamment la dégradation des tissus adipeux), le romarin est utilisé dans l'industrie de fabrication des produits à base de viande (Figure 1). L'effet anti-inflammatoire du romarin est dû à la présence d'acide rosmarinique et de flavonoïdes; ces derniers ont la propriété de renforcer les capillaires (A. Chevallier, 2001).

Les fleurs fraîches donnent une eau de soins oculaires, l'extrait de feuilles est présent dans l'eau de cologne, des rinçages pour cheveux foncés, des shampoings antipelliculaires. Le

romarin stimule la circulation, soulage l'arthrose, accroît l'irrigation sanguine (H. Bhar et A. Balouk, 2011).

- Remarque: le distillat de sommités florales est revigorant, antibactérien et antifongique. Il stimule le système nerveux central et la circulation, en apaisant les douleurs musculaires (L. Bermness, Larousse, 2005).

✓ l'industrie de la plante:

La production mondiale en HE est de 45000 tonnes. La valeur commerciale des exportations marocaines en matière d'HE est d'environ 165 millions de dirhams. Vu son potentiel, le Maroc peut facilement doubler sa production.

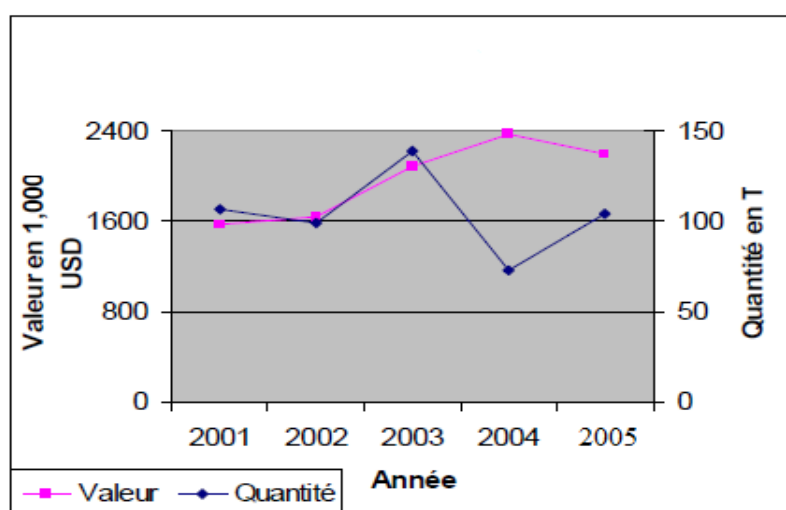


Figure 5: Importation Américaines en huile essentielle de Romarin
(Projet filière des plantes aromatiques et médicinales, 2006)

D'après la figure 5 au-dessus, le secteur des HE de romarin connaît une tendance en dent de scie pour les importations des années entre 2001 et 2005. Toujours est-il que les valeurs enregistrées connaissent une nette augmentation. Elles sont passées de 1,57 millions USD en 2001 à 2,20 millions USD en 2005 (Projet filière des plantes aromatiques et médicinales, 2006).

Notant que le romarin est l'aromate le plus exporté par le Maroc (12,70 % de toutes les PAM séchées). Les Etats-Unis d'Amérique constituent le premier client de ce produit (45 %). Ils sont suivis par la France (15 %) et l'Espagne (10 %) (SNDS Des PAM, 2008).

6 - Bactériologie

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanaliaires ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre (*L. R. Hernandez Ochoa, 2005*).

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant la denrée alimentaire (*A. Zambonelli et al, 2004; T. Mangena et al, 1999*).

Les huiles essentielles les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Labiatae: thym, origan, lavande, menthe, romarin, sauge, etc. L'essence d'origan d'Espagne est souvent citée comme étant parmi les huiles les plus actives. Son composé majoritaire, le carvacrol, possède également une forte activité antimicrobienne (*A. Endrias, 2006*).

La flore tunisienne contient plusieurs plantes présentant des vertus thérapeutiques. Ils ont pris le *Rosmarinus Officinalis* (romarin) comme exemple vu son utilité dans divers domaines (médecine traditionnelle, la phytothérapie, l'industrie des parfums et les aliments) et ses propriétés (anti-inflammatoire, anti-ulcerogénique, active et facilite les fonctions digestives).

La partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* a été collectée en mars 2008 de trois régions en Tunisie (Sidi Bouzid, Zaghouan, Bizerte). Après récupération des huiles essentielles et après analyse par GC/MS extraites de ces 3 plantes, montrent que les compositions chimiques et les caractéristiques physicochimiques sont différentes (*S. Ayadi et al, 2011*).

Pour mettre en évidence cette activité antibactérienne de ces huiles, ils ont utilisés la méthode de diffusion sur les disques stériles et la méthode des dilutions en série. L'étude de ces huiles essentielles sur des souches de bactéries gram positif et gram négatif, montre que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* possèdent un effet antibactérien surtout sur les souches de bactéries gram positif (*S. Ayadi et al, 2011*). Donc on peut utiliser les huiles

essentielles de romarin comme agent antimicrobien naturel pour le traitement de plusieurs maladies infectieuses provoquées par ces germes, qui ont développé une résistance aux antibiotiques.

II - MATERIEL ET METHODES

1 - Matériel végétal

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la détermination du rendement, identification des molécules bioactives et à l'étude biologique des spectres d'activité antimicrobienne des huiles essentielles du romarin sauvage et domestiqué.

Les échantillons des romarins sauvages proviennent de la région de Guercif située au Nord-Est du Maroc. La récolte des échantillons a été réalisée en (après ou avant floraison). Seules les parties aériennes (feuilles, fleurs, tiges) ont été collectées en début de matinée. Par contre, on a récolté l'échantillon de romarin domestiqué avant floraison le 22 Avril 2013, on a fait la collecte en matinée de la partie aérienne du jardin au sein de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès.

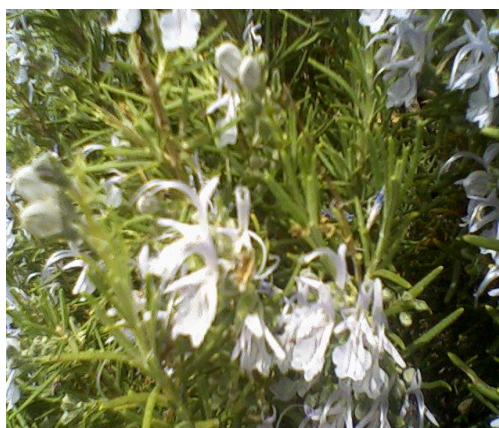


Figure 6: *Rosmarinus officinalis* récoltée de Guercif

2 - Méthodes utilisées

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger au sein du laboratoire de la physiologie végétale à la Faculté des Sciences Dhar El Mehraz de Fès. Une distillation a été réalisée par ébullition pendant 2 h de 150 g de matériel végétal frais avec 300 ml d'eau dans un ballon de 1 litres surmonté d'une colonne gradué de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant.

Notre dispositif expérimental (figure 7) était constitué de la manière suivante:

- Un chauffe-ballon
- Un ballon à fond plat de 1000 ml
- Un réfrigérant
- Une colonne avec creuset

- Un régulateur de tension
- Une burette graduée
- Un élévateur mécanique.



Figure 7: Appareil de type Clevenger du laboratoire de physiologie végétale – Faculté des Sciences Dhar El Mahraz- Fès.

Pour la réalisation de notre hydrodistillation, nous avons en premier lieu préparé 150 g de matière fraîche finement découpés (matière sauvage). Ensuite, ces quantités ont donc été introduites dans le ballon de 1000 ml pour chacune des deux expériences. Nous avons ajouté 300 ml d'eau distillée concernant le *Rosmarinus officinalis* domestiqué et la même quantité pour le *Rosmarinus officinalis* sauvage. Après, le tout a été porté à ébullition grâce au régulateur de tension pendant 2 heures. Enfin, les vapeurs chargées d'huiles essentielles, en traversant le réfrigérant vont se condenser et chuter dans la burette graduée nous permettant de lire directement le volume recueilli; l'eau et l'huile se sépare par différence de densité.

A la fin de l'hydrodistillation, nous avons bien obtenu des quantités variables des huiles essentielles pour les deux espèces étudiées. A cela, on peut ajouter deux autres produits acquis. En effet la vapeur condensée a produit deux phases: une phase organique contenant l'huile essentielle et une phase aqueuse encore appelé eaux aromatiques ou hydrolat aromatique qui contient une quantité non négligeable d'huile soit sous forme solubilisé soit sous forme de fines gouttelettes dispersées (N. Mansouri et al, 2011).

3 - Calcul et détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles pour chaque échantillon correspond à la quantité d'huile obtenue par rapport à la masse de matière sèche servie à l'extraction. Autrement dit, le volume d'huile recueilli doit être quantifié en liaison avec la masse placée dans le ballon. Il faut savoir que plusieurs calculs existent et diffèrent selon qu'il s'agisse de matière fraîche ou sèche.

En conséquence, le rendement en huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L a été exprimé par rapport à la matière sèche. La teneur en eau du matériel végétal a été déterminée parallèlement à chaque hydrodistillation. Un échantillon de matériel végétal (20g) a été mis à sécher dans une étuve réglée à 60°C pendant 48h. Après refroidissement dans un dessiccateur, une deuxième pesée a été effectuée. Trois répétitions ont été réalisées.

L'humidité est calculée par la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{MF-MS}{MF} \times 100$$

Avec:

MF: Matière Fraîche (g).

H(%): taux d'humidité.

MS: Matière Sèche (g).

Le rendement de l'huile essentielle des différentes provenances est calculé par rapport à la matière totale sèche par la relation :

$$R(\%) = \frac{V}{MF} \times 100$$

Avec:

R: Rendement en huile essentielle en pourcentage (%).

V: Volume de l'huile (ml) recueilli.

MF : Matière fraîche en (g)

Par la suite, les huiles ont été placées à l'obscurité et au frais jusqu'à leurs analyses afin de les préserver de la chaleur et de la lumière.

4 - Méthode d'analyse chromatographique des huiles essentielles

La séparation et l'identification des différents composés chimiques des huiles essentielles extraites des feuilles de *Rosmarinus officinalis* (sauvage et domestiqué) ont été réalisées par la chromatographie en phase gazeuse (Ultra GC Trace), couplée à un spectromètre de masse de type (PolarisQ) à l'unité d'analyse GC/MS et GC, Centre Universitaire Régional d'Interface-USMBA-Fès (figure 8), Trappe d'ions en mode impact électronique (EI) avec une énergie d'ionisations de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire apolaire en silice de type (Wcot Fused Silica), Phase stationnaire (CP-SIL5CB), 60 m de longueur, 0,32 mm de diamètre et 1,25 µm d'épaisseur. La température de la colonne est programmée de 40 à 280 °C à raison de 5 °C/min. La température de l'injecteur est fixée à 280 °C et celle de détecteur (source d'ionisation) est de 200°C. Le débit du gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1.5 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est de 1 µl de l'huile diluée dans l'hexane. Les constituants de l'huile essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux répertoriés dans une bibliothèque de type (NIST-MS).

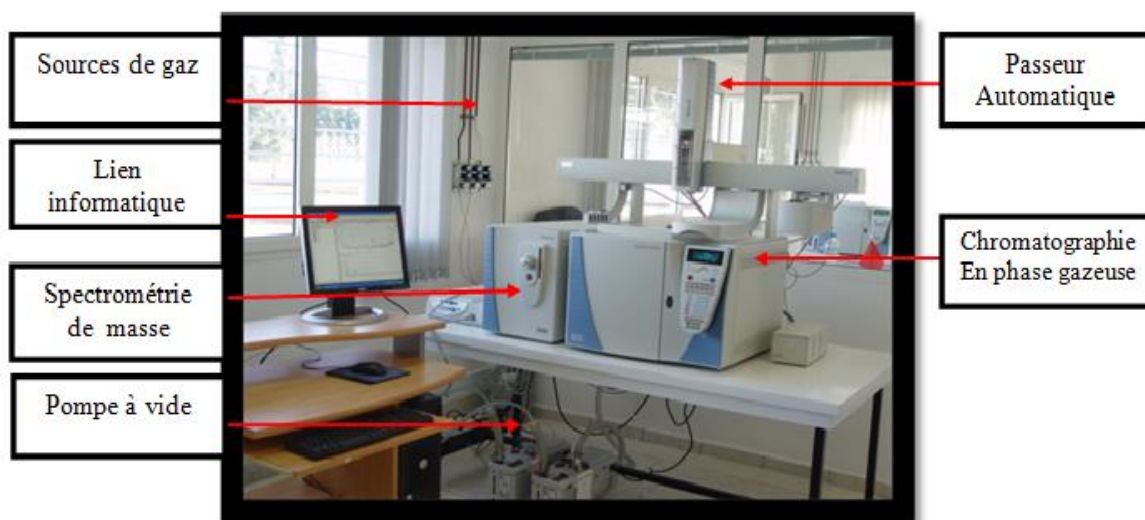


Figure 8 : Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS)
(CURI-Fès)

5 - Activité antibactérienne des huiles essentielles

✓ Micro-organismes étudiés:

Cinq souches microbiennes (ci-dessous) ont été choisies pour leur pathogénicité et leur implication fréquente dans la contamination des denrées alimentaires:

- *Acinetobacter baumannii* (gram négatif).

- *Staphylococcus aureus* (gram positif).
- *Pseudomonas aeruginosae* (gram négatif).
- *Klebsiella pneumoniae* (gram négatif).
- *Escherichia coli* (gram négatif).

Les souches bactériennes utilisées dans ce test appartiennent au laboratoire de la physiologie végétale-FSDM Fès (Maroc). Ils sont cultivés sur un milieu LB (Lysogenic Broth).

✓ **Composition chimique du milieu de culture:**

Protocole pour la préparation d'1L de milieu de culture (pour environ 25 boîtes de Pétri).
On est besoin d'un matériel:

➤ Physique:

- Eau distillée.
- Boîte de pétri.
- Balance en pyrex.
- Casserole à pression (autoclave).
- Bec benzène.
- Bain marie à 60°C.
- Thermomètre.

➤ Chimique:

- Trypton: 10g.
- Extrait de levure: 5g.
- NaCl: 10g.
- Agar: 15g.
- Eau distillée (1000 ml).

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle est généralement réalisée par deux méthodes différentes telles que la méthode de diffusion par puits et la méthode de diffusion sur des disques stériles:

✓ **Méthodes de diffusion par puits:**

La méthode de diffusion par puits sur gélose telle que décrite par *Berghe et Vlietinck, (1991)*. Le milieu choisis est coulé sur une boîte de pétri à une épaisseur de 8 mm. Après inoculation par inondation d'une dilution adéquate du microorganisme à tester réalisée suivant

une échelle de Mac Farland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis, 150 µl d'une concentration de 10 mg/ml pour l'extrait total et 2 mg/ml (dans l'eau distillée) pour les fractions sont introduits dans chaque puits. Après une pré-diffusion de 45 minutes à température ambiante sous la hôte, les souches sont incubées à 37°C (bactéries) ou à température ambiante, pendant 24 heures au terme desquelles les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse (Kuetze, V et al, 2004).

✓ Méthodes de diffusion sur disques:

Cette méthode consiste à inonder une gélose avec une souche bactérienne en bouillon nutritif de titre connu. Puis on organise les disques stériles sur la gélose. Ces disques sont formés par des papiers filtre stérilisés de 6 mm de diamètres, on utilise éventuellement des disques d'antibiotiques comme références pour préciser l'effet des huiles utilisées dans le test. Ces disques seront imbibés par des solutions d'huile essentielle.

Ce test est réalisé au niveau du laboratoire de la physiologie végétal à la FSDM-Fès», l'activité antibactérienne des extraits d'huiles essentielles du romarin a été déterminée par la méthode de diffusion sur les disques stériles. Ces disques seront imbibés par des solutions d'huile essentielle (entre 5 et 10 µl sur chaque disque). Après incubation à 37°C pendant 48 heures, des zones d'inhibition apparaissent autour de ces disques stériles.

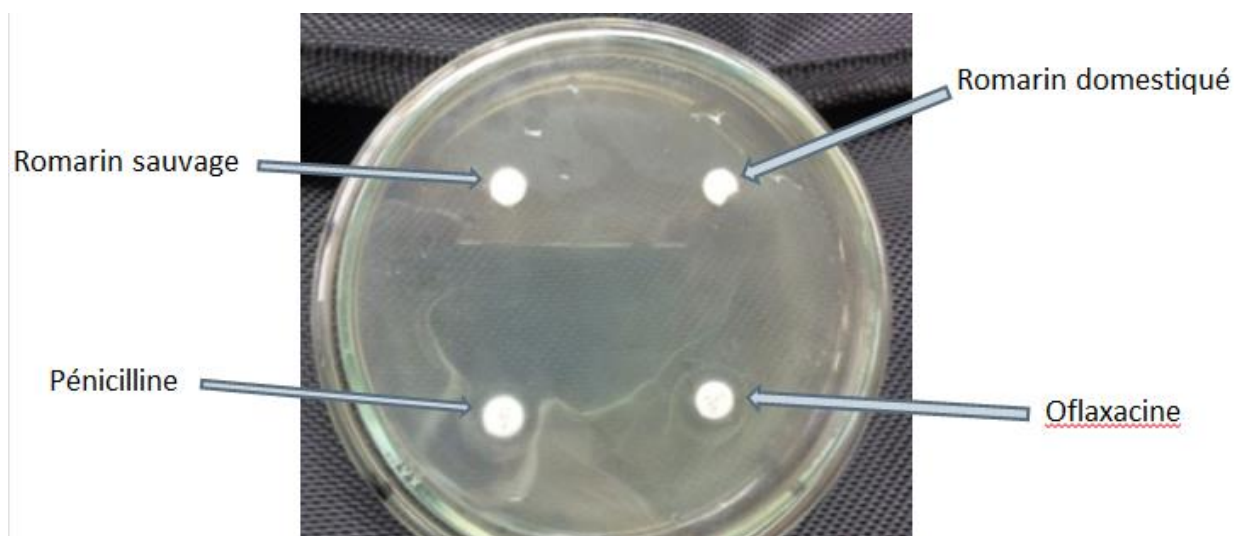


Figure 9: diffusion sur disques

III - RESULTATS ET DISCUSSIONS

1 - Composition chimique des huiles essentielles

Le rendement de l'huile essentielle du romarin domestiqué est de 0,87%. Et pour le romarin sauvage son rendement est de 2 %. On voit que le rendement de la variété sauvage est supérieur à celui du domestiqué.

Les résultats relatifs à la composition chimique des huiles essentielles extraites de romarin domestiqué et sauvage sont cités dans les tableaux 3 et 4 ci-dessous. L'analyse de la composition chimique montre une variation quantitative et qualitative du profil chimique des huiles étudiées.

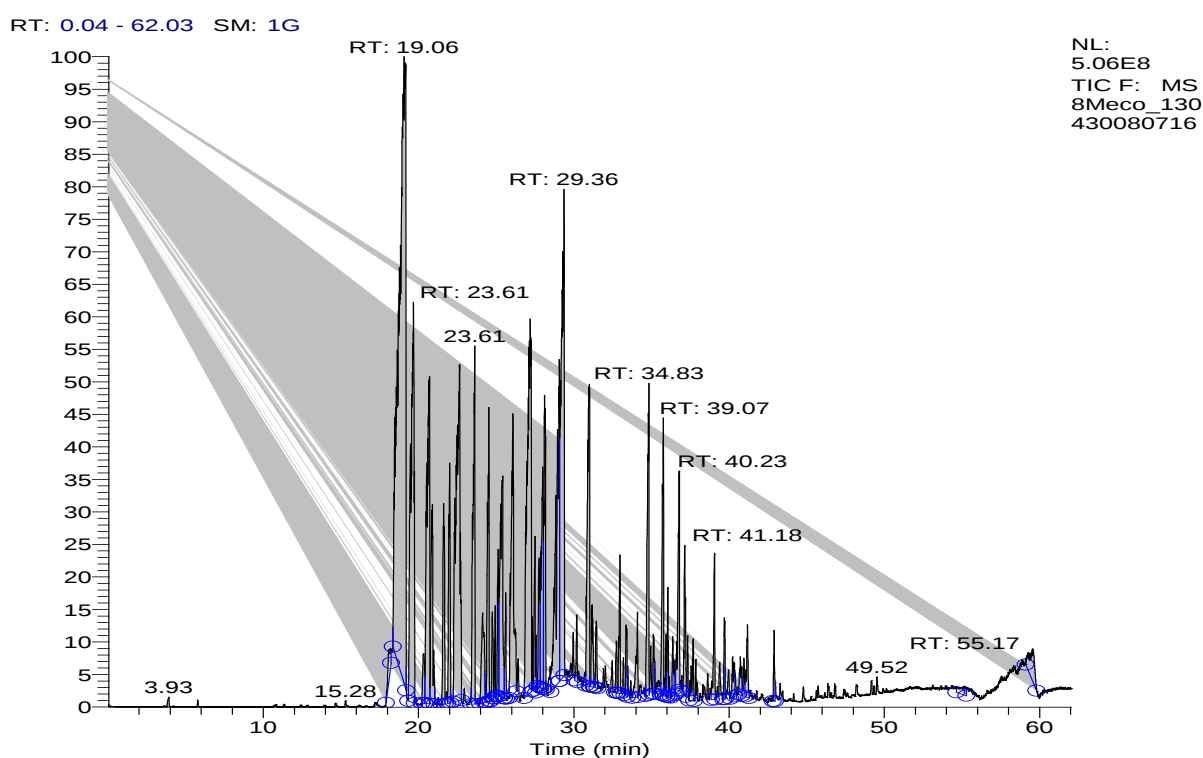


Figure 10: Chromatogramme des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (domestiqué)

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (domestiqué).

Pics	TR (Min)	Composés identifiés	Surfaces (%)	Formules chimiques
1	18,07	Cis-Carène	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
2	18,08	Alpha-Pinène	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
3	19,06	Androst-1-en-3-one	33,62	C ₁₉ H ₂₈ O ₂
4	22,33	Trans-Carene	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
5	22,34	Bêta -Pinène	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
6	20,71	Androstan-17-one, 3-ethyl-3-hydroxy-, (5à)-	<0,37	C ₂₁ H ₃₄ O ₂
7	21,61	Alpha-Phellandrene	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
8	22,66	Cis-Z-à-Bisabolene époxyde	7,33	C ₁₅ H ₂₄
9	24,12	5-Caranol,	<0,37	---
10	24,75	O-Isopropenyltoluene	<0,37	C ₁₀ H ₁₂
11	24,93	Linalylphenylacetate	<0,37	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
12	24,94	Bêta-Pinène	<0,37	C ₁₀ H ₁₆
13	26,08	Adamantane	3,16	C ₁₀ H ₁₆
14	27,18	Coumarine	7,86	C ₉ H ₆ O ₂
15	27,49	Cis-Ocimene	0,94	C ₁₀ H ₁₆
16	27,75	Santolinaepoxide	<0,37	C ₁₀ H ₁₆ O
17	29,36	Anthraquinone	12,46	C ₁₄ H ₈ O ₂
18	31,00	Bornyl ester	3,45	C ₁₅ H ₂₆ O ₂
19	31,18	Trans-Thymol	0,63	C ₁₀ H ₁₄ O
20	31,45	Cis-Thymol	<0,37	C ₁₀ H ₁₄ O
21	32,98	Eugenol	0,78	C ₁₀ H ₁₂ O ₂
22	33,36	Alpha-Cubebene	0,41	C ₁₅ H ₂₄
23	33,38	Copaene	<0,37	C ₁₅ H ₂₆ O
24	34,83	Resibufogenin	2,48	C ₂₄ H ₃₂ O ₄
25	34,84	Caryophyllene-oxide	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
26	35,13	Trans-Caryophyllene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
27	35,14	Isocaryophyllene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
28	35,77	Azulene	1,85	C ₁₀ H ₈
29	35,94	Di-epi-alpha-cedrene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
30	35,95	Ylangene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
31	36,06	Alpha-Isodene	0,62	C ₁₅ H ₂₄
32	36,07	Bêta-Isodene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
33	36,08	Alpha-Guaiene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
34	36,09	Aristolene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
35	36,80	Bêta-Himachalene	2,22	C ₁₅ H ₂₄
36	36,81	Bêta-Guaiene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
37	37,15	Trans-Isodene	0,99	C ₁₅ H ₂₄
38	37,68	Cis-alpha-Bisabolene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
39	37,69	Trans-alpha-Bergamotene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
40	39,07	Alloaromadendreneoxide-(2)	0,74	C ₁₅ H ₂₄ O
41	39,69	Caryophylleneoxide	0,37	C ₁₅ H ₂₄
42	39,70	Alloaromadendreneoxide (1)	<0,37	C ₁₅ H ₂₄ O
43	40,23	Methyljasmonate	<0,37	C ₁₃ H ₂₀ O ₃
44	40,72	Andrographolide	<0,37	C ₂₀ H ₃₀ O ₅
45	40,73	Aromadendreneoxide	<0,37	C ₁₅ H ₂₄ O
46	41,18	Alpha-Bisabolene	1,19	C ₁₅ H ₂₄
47	41,19	Di-epi-bêta-cedrene	<0,37	C ₁₅ H ₂₄
48	41,20	Alpha -Bisabolol	<0,37	C ₁₅ H ₂₆ O

49	42,90	Bergamotol, Z- Alpha -trans-	0,39	C ₁₅ H ₂₄ O
50	42,91	3-Carene, 10-ol	<0,37	C ₁₀ H ₁₆ O
51	55,17	Phenanthrenone	<0,37	C ₁₄ H ₁₀

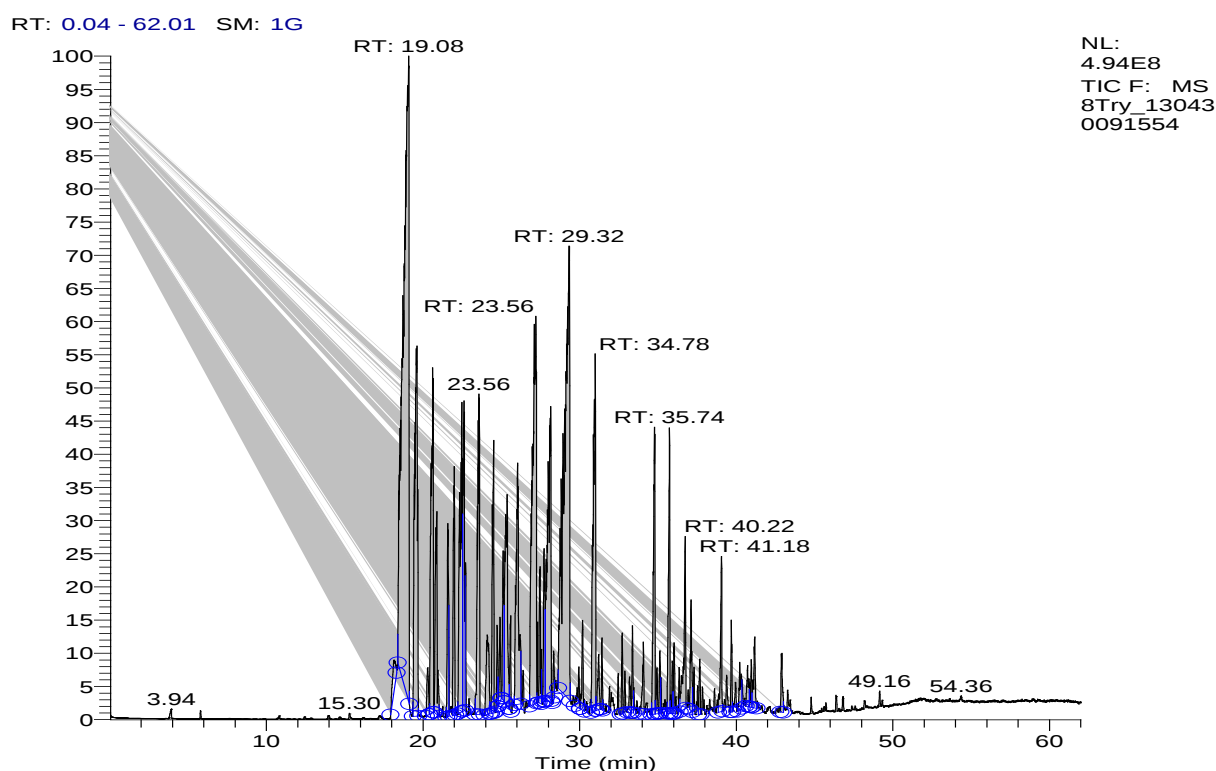


Figure 11: Chromatogramme des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (sauvage)

Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* (sauvage).

Pics	TR (Min)	Composés identifiés	Surfaces (%)	Formules chimiques
1	18,14	α -Carène	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
2	18,15	α -Phellandrene	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
3	19,08	Androst-1-en-3-one	23,03	C ₁₉ H ₂₈ O ₂
4	20,30	β -Carène	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
5	20,31	α -Pinène	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
6	20,62	Androst-1-en-3-one, 17-hydroxy-1-methyl-	6,32	C ₁₉ H ₂₈ O ₂
7	21,57	β -Phellandrene	1,43	C ₁₀ H ₁₆
8	22,00	Trans-4-Carene	1,72	C ₁₀ H ₁₆
9	22,48	Trans-3-Carene, 2-ol	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆ O
10	22,61	Cis-Z- α -Bisaboleneepoxyde	6,94	C ₁₅ H ₂₄
11	24,11	Cis-5-Caranol	< 0,31	---
12	24,12	P-Menth-4(8)-en-9-ol	< 0,31	C ₁₀ H ₁₈ O
13	24,73	O-Isopropenyltoluene	< 0,31	C ₁₀ H ₁₂
14	24,74	2,4-Dimethylstyrene	< 0,31	C ₁₀ H ₁₂
15	24,92	Linalylphenylacetate	< 0,31	C ₁₈ H ₂₄ O ₂
16	24,93	Tetrahydrofuran-2-ol, 3,4-di [1-butenyl]-	< 0,31	C ₁₂ H ₂₀ O ₂
17	25,59	Trans-5-Caranol	< 0,31	---

18	27,20	Coumarine	7,83	C ₉ H ₆ O ₂
19	27,73	Bornéol	< 0,31	C ₁₀ H ₁₈ O
20	27,74	Santolinaepoxide	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆ O
21	27,75	Alpha-Santoline alcool	< 0,31	---
22	27,76	Ketone, 1,5-dimethylbicyclo[2.1.0]pent-5-yl methyl	< 0,31	C ₅ H ₆
23	29,32	Anthraquinone	13,46	C ₁₄ H ₈ O ₂
24	29,33	Pyridinophane	< 0,31	C ₂₁ H ₃₀ O ₉
25	29,95	Propylidene-	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
26	29,96	Santolinatriene	< 0,31	C ₁₀ H ₁₆
27	31,00	Bornyl ester	4,09	-
28	31,21	Alpha-Thymol	< 0,31	C ₁₀ H ₁₄ O
29	31,42	Beta-Thymol	0,31	C ₁₀ H ₁₄ O
30	33,18	Ylangene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
31	33,19	Alpha-Cubebene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
32	33,20	Cis-Copaene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₆ O
33	33,21	Alpha-Cedrene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
34	33,37	Bêta-Cubebene	0,71	C ₁₅ H ₂₄
35	33,38	Trans-Copaene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₆ O
36	33,39	Alpha-Isoledene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
37	33,40	Bêta-Isoledene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
38	34,78	Alpha-Guaiene	2,3	C ₁₅ H ₂₄
39	34,79	Bêta-Himachalene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
40	34,80	Alpha-Caryophyllene-(I1)	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
41	34,94	Cis-Cubebene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
42	35,12	Bêta-Caryophyllene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
43	35,13	Humulene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
44	35,74	Azulene	1,83	C ₁₀ H ₈
45	35,75	Bêta-Guaiene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
46	35,91	Di-epi-alpha-cedrene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
47	36,03	Cis-Isoledene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
48	37,67	Cis-alpha-Bisabolene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
49	37,68	Alpha-Farnesene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
50	39,06	Alloaromadendreneoxide	0,95	C ₁₅ H ₂₄ O
51	39,69	Caryophyllene	0,35	C ₁₅ H ₂₄
52	40,72	Andrographolide	< 0,31	C ₂₀ H ₃₀ O ₅
53	40,95	Caryophylleneoxide	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
54	41,18	Di-epi-bêta-cedrene	1,26	C ₁₅ H ₂₄
55	41,19	Alpha-Bisabolene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
56	41,20	Bêta-Cedrene	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄
57	42,91	Lanceol, cis	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄ O
58	42,92	Bergamotol, Z-alpha-trans-	< 0,31	C ₁₅ H ₂₄ O

Comme le montre les deux tableaux 3 et 4, les huiles essentielles obtenues n'ont pas la même composition. On note une différence de composition relativement importante, dans les huiles récupérées de romarin sauvage et celles de romarin domestiqué.

En effet les composés majoritaires de l'huile essentielle de romarin sauvage sont l'Androst-1-en-3-one (23,03 %), Androst-1-en-3-one-17-hydroxy-1-methyl- (6,32 %), Cis-Z- α -Bisaboleneepoxyde (6,94 %), Anthraquinone (13,46 %), Bornyl ester (4,09 %), α -Guaiene

(2,3 %) et coumarine (7,83 %). On remarque également que l'huile essentielle extraite du *rosmarinus officinalis* cueillie du jardin de la faculté des sciences Dhar El Mahraz, est composée principalement d'Androst-1-en-3-one (33,62 %), Cis-Z- α -Bisabolene epoxyde (7,33 %), Adamantane (3,16 %), coumarine (7,86 %), Anthraquinone (12,46 %), Bornyl ester (3,45 %), Resibufogenin (2,48 %) et β -Himachalene (2,22 %).

Ce résultat explique bien les fluctuations dans les valeurs des propriétés physico-chimiques des différentes huiles essentielles obtenues:

- Les composées oxygénées représentent respectivement (66,37 % pour la plante domestiqué et 55,2 % pour la plante sauvage) de la composition chimique de l'huile essentielle de romarin. Le taux de ces composées est relativement important dans l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis* domestiqué, aussi bien que dans l'autre sauvage avec une différence $\approx 10,3$ %.
- L'Androst-1-en-3-one se trouve dans l'HE du romarin domestiqué avec un pourcentage important (33,62 %) que dans le romarin sauvage (23,03 %), la différence est de 10,5 %. Donc on peut dire que la domestication favorise ce composées dans l'ensemble d'huile essentielle. Même chose pour le Cis-Z- α -Bisabolene epoxyde (7,33 %) trouvé dans l'HE domestiqué et l'autre (6,94 %) trouvé dans l'H.E sauvage mais avec une différence très faible de l'ordre de 0,39 %.
- Le β -Himachalene considéré comme un composant prédominant dans l'HE du romarin domestiqué avec (2,22 %), mais on le trouve dans l'H.E sauvage avec un taux très faible et qui est $< 0,31$ %. Des résultats similaires ont été retrouvés avec l' α -Bisabolene. Par contre on remarque que certains composés sont présents dans l'HE de romarin sauvage avec un pourcentage largement supérieur à celui de l'HE domestiqué avec des taux plus ou moins différents. Dans ce cas, on peut conclure que la domestication à un risque d'avoir des composées bien présentes mais avec des pourcentages très faibles.
- Pour l'azulene (1,83 % - 1,85 %) et la coumarine (7,83 % - 7,86 %), on constate qu'ils sont restés presque stables, n'ont pas subi de grandes modifications. Donc c'est pareil dans les HE sauvage et domestiqué (voir tableau 5).

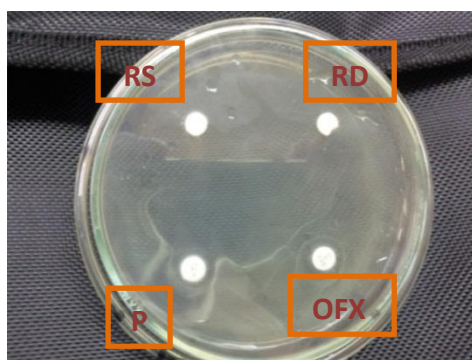
La variation détectée dans la composition chimique de l'huile essentielle de *rosmarinus officinalis* issue de la région Guercif et l'autre domestiqué issue du jardin de la FSDM-Fès, est liée à plusieurs paramètres tels que : le facteur environnemental, la nature du sol, les conditions climatiques et géographiques qui changent d'une région à l'autre, et à la période de la cueillette.

Tableau 5: Etude comparative de la composition de l'huile essentielle du *rosmarinus officinalis* sauvage et domestiqué.

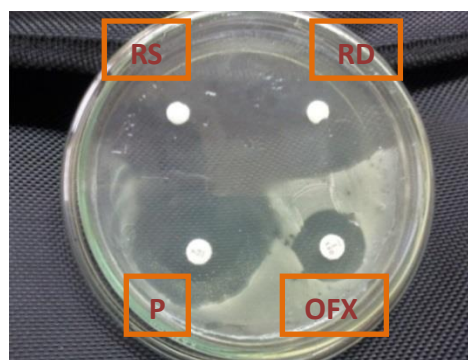
Les composés	Aire en %		TR (min)	
	Sauvage	Domestiqué	Sauvage	Domestiqué
Androst-1-en-3-one	23,03	33,62	19,08	19,06
Cis-Z- α -Bisaboleneepoxyde	6,94	7,33	22,61	22,66
Adamantane	—	3,16	—	26,08
Coumarine	7,83	7,86	27,20	27,18
Cis-Ocimene	—	0,94	—	27,49
Bornyl ester	4,09	3,45	31,00	31,00
Trans-Thymol	—	0,63	—	31,18
Eugenol	—	0,78	—	32,98
α-Cubebene	< 0,32	0,41	33,21	33,36
Resibufogenin	—	2,48	—	34,83
Azulene	1,83	1,85	35,74	35,77
α-Isoledene	< 0,32	0,62	33,39	36,06
β-Himachalene	< 0,32	2,22	34,79	36,80
Trans-Isoledene	—	0,99	—	37,15
Alloaromadendreneoxide-(2)	—	0,94	—	39,07
Caryophyllene	0,35	0,37	39,69	39,69
α-Bisabolene	< 0,32	1,19	41,19	41,18
Bergamotol, Z- α -trans-	< 0,32	0,39	42,92	42,90
β-Phellandrene	1,43	—	21,57	—
Trans-4-Carene	1,72	—	22,00	—
Anthraquinone	13,46	12,46	29,32	29,36
β-Cubebene	0,71	—	33,37	—
α-Guaïene	2,3	< 0,37	34,78	36,08
Alloaromadendreneoxide	0,95	—	39,06	—
Di-epi-bêta-cedrene	1,26	—	41,18	—

En ce qui concerne le nombre total des composés trouvés chez le romarin domestiqué est de 51 composés moins que l'autre sauvage qui contient 58 composés

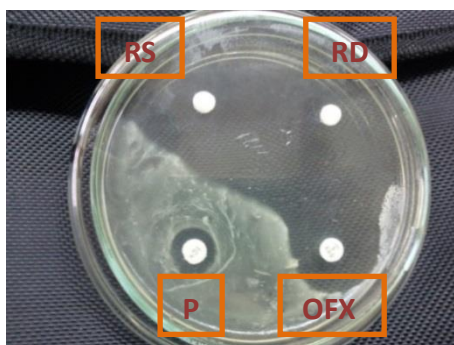
2 - Activités antibactériennes:



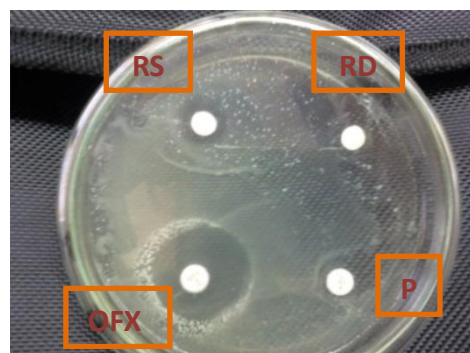
Acinetobacter baumannii.



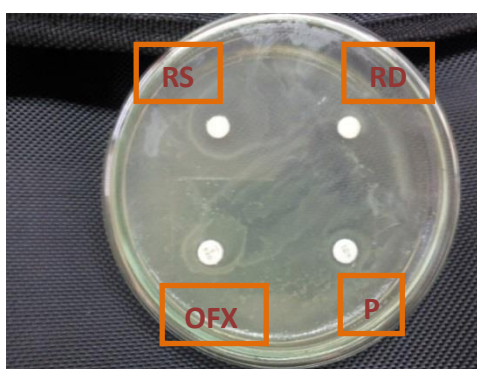
Staphylococcus aureus.



Pseudomonas aeruginosa.



Klebsiella pneumoniae.



Escherichia coli.

Figure 12: activité antibactérienne des huiles essentielles.

L'activité antibactérienne a été évaluée par la méthode de diffusion en milieu solide sur des bactéries Gram négatif (*Escherichia coli*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Klebsiella pneumoniae*) et des bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) c'est la seule bactérie utilisée dans ce test qui est de Gram positif. Les diamètres d'inhibition varient de 9 à 60 mm pour les feuilles de *Rosmarinus officinalis* domestiqué et de 12 à 64 pour les feuilles de *Rosmarinus officinalis* sauvage.

L'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* domestiqué inhibe la *Staphylococcus aureus* (gram positif) avec une zone d'inhibition de 34 mm, et tous les germes à gram négatif avec des zones d'inhibitions variant de 9 à 60 mm. *Acinetobacter* et *Pseudomonas aeruginosae* sont les plus inhibées, et *Esherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* est la moins sensible. D'après le tableau 6 on peut constater que le *Pseudomonas aeruginosae* est plus sensible à l'HE domestiqué deux fois plus que l'autre sauvage avec une différence de 28 mm.

L'huile essentielle des feuilles de *Rosmarinus officinalis* sauvage inhibe la *Staphylococcus aureus* (gram positif) avec une zone d'inhibition de 36 mm mieux que l'effet des HE du romarin domestiqué avec une différence de 2 mm, et tous les germes à gram négatif avec des zones d'inhibitions variant de 12 à 64 mm. *Acinetobacter*, *Esherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosae* sont les plus inhibées, et *Klebsiella pneumoniae* est la moins sensible. Dans ce ca on remarque que l'*Acinetobacter* est plus sensible à l'HE du romarin sauvage qu'à l'HE du romarin domestiqué avec une différence de 30 mm. L'*Esherichia coli* a montré une sensibilité à l'HE du romarin sauvage deux fois plus que le domestiqué. Pour *Klebsiella pneumoniae* on ne note pas une grande différence, ce germes est sensible pour les deux HE avec une variation de 3 mm.

On peut dire que cette différence qu'on voie entre l'effet des huiles de romarin sauvage et domestique est dû aux composés qui sont présents avec des pourcentage important dans les huiles de romarin domestique mieux que le sauvage, ou bien on peut lier cette action a d'autre composés qui sont présents dans le romarin domestiqué et disparus dans l'autre sauvage. Et vice versa.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques montre que toutes les souches sont sensibles à la pénicilline et à l'oflaxacine. Cette sensibilité varie d'un antibiotique à l'autre et d'une souche à une autre.

Les zones d'inhibition de la pénicilline sont comprises entre 7 et 32 mm et celles de l'oflaxacine de 8 à 25 mm. *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosae* sont les souches plus sensibles aux antibiotiques (voir tableau 6).

Tableau 6 : *Activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis sauvage et domestiqué (Zones d'inhibition en mm).*

Extraits	Zones d'inhibition (mm)				
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>
Romarin D	34	34	60	9	9
Romarin S	64	36	32	12	20
Pénicilline	7	32	11	10	9
Oflaxacine	14	17	25	21	8

Conclusion

Cette étude comparative de la composition des produits obtenus, à partir de l'extraction par hydrodistillation de *rosmarinus officinalis* sauvage cueilli de la région de Guercif, et l'autre domestiqué au sein du jardin de la faculté des sciences Dhar el Mahraz, montre une grande différence qualitative et quantitative.

L'étude quantitative a révélé que les huiles essentielles obtenues à partir de *rosmarinus officinalis* sauvage sont très élevée et représente 2 %, et supérieur à celui de *rosmarinus officinalis* domestiqué qui représente 0,87 %. Qualitativement, les différentes huiles obtenues ont des compositions chimiques différentes.

L'étude de l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles de romarin sur des souches de bactéries gram positif et gram négatif montre que ces huiles possèdent une activité antibactérienne surtout contre le *Staphylococcus aureus*, et *Pseudomonas aeruginosae*.

Perspectives

Comme perspective dans la continuité de ce travail, il serait intéressant de

- Etudier plus en détail le rôle de la domestication sur la composition chimique et le rendement pour d'autres plantes aromatiques et médicinales.
- Réaliser différents types d'extraction pour avoir la méthode optimale qui donne le bon rendement en huiles essentielles.
- Isoler les molécules naturelles responsables des activités biologiques
- Réaliser des tests sur une large gamme de microorganismes

Références Bibliographiques

Agriculture & Agrobusiness Intégrés, 2005. Filière des plantes aromatiques et médicinales note de synthèse. 9 p.

Ayadi S., Jerribi C. et Abderrabba M., 2011. Extraction et étude des huiles essentielles de *rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie. Journal de la Société Algérienne de Chimie, 21(1), p: 25-33.

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

Bhar H. et Balouk A., 2011. Les Plantes Aromatiques et Médicinales: ces plantes odorantes qui soulagent la douleur!, collaboration avec le Centre de Recherche Forestier et l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques.

Boira H. et Blanquer A., 1998. Environmental factors affecting chemical variability of essential oils in *Thymus piperella* L. Biochemical Systematic and Ecology, 26:811-822.

Boukhatem M. N., Hamaidi M. S., Saidi F., Hakim Y., 2010. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). Revue « Nature et Technologie ». n° 03. Pages 37 à 45.

Bourel C., 1993. Analyse chimique, activités biologiques et antioxydantes d'extraits de plantes aromatiques sélectionnées. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse.

Chemat F., Abert Vian M. et Dangles O., 2007. International Journal of Essential Oil Therapeutics 1.

Chevallier A., Larousse 2001. Encyclopedia of Medicinal Plants (2nd Edition).

Confédération Suisse, 2009. Les huiles essentielles. Département fédéral de l'intérieur DFI, Office fédéral de la santé publique OFSP, Unité de direction Protection des consommateurs.

Djoghla A. et Jackson P. W., 2009. Convention sur la diversité biologique: Rapport sur la conservation des plantes.

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.

Denny E.F.K., 1991. Field distillation for herbaceous oils, Denny, Mc Kenzie Associates.

Derwiche E., Benziane Z., Chabir R., Taouil R., 2011. In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *rosmarinus officinalis* grown in morocco. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Vol 3, Issue 3, p: 89-95.

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

Endrias A., 2006. Bio-raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à *Hibiscus sabdarif* Ja L. et à *Artemisia annua*. Thèse N° 2340, Docteur de l'institut national polytechnique de Toulouse.

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

Grysole J., 2004. La commercialisation des huiles essentielles. Manuel pratique des huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 139-141.

Guidebook for Export to Japan, 2011. P: 1-16.

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

Hernandez Ochoa L. R., 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant/actif » d'origine végétale. Toulouse. 224 p.

Ida Jean F., Collin G., Laparé M. C., Gagnon H., Jubinville N., Bangoura M., Mwingira B. A., Dubé S. et Musabyimana T., 2000. info-essences, bulletin sur les huiles essentielles et autres extraits végétaux. 8 p.

Iserin P., Masson M., Restellini J. P., Ybert E., De Laage de Meux A., Moulard F., Zha E., De la Roque R., De la Roque O., Vican P., Deesalle –Féat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J. et Botrel A., 2001. Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.

Jean. Bruneton, 1993. Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales, 2e édition. Technique documentation, Paris. p 406, 410

Kuete V., Penlap Beng V., Etoa F-X., Modjo S.L., Bogne P., Assob J. C., Lontsi D., 2004. Activités antimicrobiennes de l'extrait total et Des fractions de jus de fruit de citrus medica lin. (Rutaceae) Pharm. Méd. Trad. Afr. Vol.13, p : 91- 101.

Lagunez Rivera L., 2006. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse. 331p.

Lange D., 2004. Medicinal and Aromatic Plants: Trade, Production, and Management of Botanical Resources. University of Landau, Institute of Biology. P : 177-197.

Macheix J J., Fleuriet A. et Jay-Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed Presses polytechnologiques et universitaires romandes. p4-5.

Mansouri N., Satrani B., Ghanmi M., El Ghadraoui L. et Aafi A., 2011. Étude chimique et biologique des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea ssp. lycia* et *Juniperus phoenicea ssp. turbinata* du Maroc. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 15(3), p 415-424.

Marghache S., Hamza M. et Tabti B., 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie. Afrique SCIENCE 05(1), p: 67 – 81.

- Morin P. et Richard H**, 1985. Thermal degradation of linalyl acetate during steam distillation in proc, 4 Fh Weurman Flav. Res. Symp. Elsevier Science. Publ. B.V. Amsterdam., pp 563-576.
- Mouhssine N.**, 2012. Plantes aromatiques & médicinales Une richesse à valoriser. Le Matin Weekend 7-13 décembre. P : 12-15.
- Palà-paul J., Perez-Alonso M.J., Velasco-Negueruel A., Pala-paul R., Sanz J., and Conejero F**, 2001. Seasonal variation in chemical constituents of *Santolina rosmarinifolia* L.ssp *rosmarinifolia*. Biochemical Systematic and Ecology, 29: 663-672.
- Pibiri M. C.**, 2006. Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse N° 3311, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.
- Projet filière des plantes aromatiques et médicinales**, 2006. Agence Américaine pour le Développement International. 53p.
- Quezel P., Santa S.**, 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. (Ed). Paris, 565p.
- Smadja J.**, 2009. Les Huiles Essentielles. Colloque GP3A - Tananarive 2-3 juillet.
- Sebai M., Boudali M.**, 2012. La Phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel, infirmier de la sante publique. Institut de formation paramédical CHETTIA. 56p.
- SNDS Des PAM**, 2008. Stratégie nationale de développement du secteur des plantes aromatiques et médicinales au Maroc. Coordination : HCFLCD, Assistance Technique : USAID. 70 p.
- Talbaoui A., Jamaly N., Aneb M., Il Idrissi A., Bouksaim M., Gmouh S., Amzazi S., El Moussaouiti M., Benjouad A. et Bakri Y.**, 2012. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from six Moroccan plants. Journal of Medicinal Plants Research Vol 6 (31), pp. 4593-4600.
- Turgeon M.**, 2001. Profil des produits forestiers première transformation : huiles essentielles. Ministère des Ressources naturelles, Secteur des forêts, Direction du développement de l'industrie des produits forestiers. Québec.
- Vercauteren J.**, 2012. Cours de pharmacognosie.
- Weniger B.**, 2011. Ressources Médicinales et Alimentaires: Plantes à Huile Essentielle et Oléorésine. Cour de pharmacognosie et molécules naturelles bioactives. Faculté de Pharmacie, Université de Strasbourg.
- Yayi E., Joachin D. Gbenou, Léon A. Ahoussi, Moudachirou M. et Jean Claude Chalchat. C. R.**, 2004. Chimie 7. 1013–1018.