



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

UNIVERSITE CHADLI BENDJEDID-ELTARF
DEPARTEMENT DE CHIMIE

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie analytique

Intitulé :

Valorisation Phytochimique D'une Plante Médicinale Locale :
Rosmarinus officinalis L.

Présenté par : **BENOUARET Malek**

Le : 15/ 06 / 2026

Devant le jury composé de :

| | | |
|-------------------|---------------------------|---|
| <i>Président</i> | Dr. FERDJANI Salim | Université Chadli Bendjedid-Eltarf |
| <i>Rapporteur</i> | Dr. TOUDERT Nadia | Université Chadli Bendjedid-Eltarf |
| <i>Examineur</i> | Dr. KLAI Nadia | Université Chadli Bendjedid-Eltarf |

Année Universitaire : 2025/2026

(وآخر دعواهم أن الحمد لله رب العالمين)

الحمد لله عند البدء وعند الختام فما تنهى درب ولا ختم جهد ولا تم سعي إلا بفضله

وقبل كل شيء اهدي بحث تخرجي

الى أعظم شخص واعز الناس على روعي. إلى من كل العرق جبينه ومن علمني ان الدنيا كفاح وسلاحها العلم والمعرفة وان النجاح لا يأتي الا بالصبر والاصرار. الى النور الذي انار دربي والسراج الذي لا ينطفئ نوره بقلبه ابدا من نبد الغالي والنفيس واستدميت منه قوتيواعتزازي بداتي (رحمك الله يا ابي).

الى من جعل الجنة تحت اقدامها وسهلت لي الشدائد بدعائها الى الانسانة العظيمة التي لا طالما تمنيت ان تقر عينها لرؤيتي ليوم كهذا من دعمتي بلا حدود واعطتني بدون مقابل لطالما سعت وناضلت لأجل راحتي ونجاحي (امي العزيزة)

اهديك هذا الانجاز الذي لولا تضحياتك لما تحقق.

الى نفسي الطموحة القوية التي تحملت كل العثرات واكملت رغم الصعوبات ابتدأت بطموح وانتهت بنجاح ثم الى من سعى لا تمام مسيرتي الجامعية

الى من قال فيهم رب الكون (سنشد عضدك بأخيك). خيرة ايامي وصفوتها وقرة عيني. من شددت عضدي بهمهم فكانوا ينابيع ارتوي منها الى الجدور التي افتخر بها بركة العمر والسند الدائم ادامكم الله لي ضلعا ثابتا كل باسمه ووسمه

الى من كانت اختا في الروح لا في الدم الى شريكة السنين والمواقف. الى من تحلت بالإخاء وتميزت بالوفاء والعطاء. عوني وسندي في هذا الطريق الى صديقة الخطوة الاولى والاخيرة. موضع الاتكاء في كل عثراتي والمشاعر المخلصة التي رزقني الله بها لا عرف من خلالها طعم الحياة (رحامنية وسام)

بن وارث ملاك

Remerciements

Je souhaite exprimer ma profonde gratitude à Madame ***TOUDERT Nadia***, mon encadrante, pour son accompagnement constant tout au long de l'élaboration de ce mémoire. Sa disponibilité, la pertinence de ses conseils, sa patience, ainsi que sa bienveillance et son professionnalisme exemplaire ont constitué un appui précieux et déterminant dans la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur ***Salah Eddine Djilani*** de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, pour l'accueil chaleureux qu'il m'a réservé au sein de son laboratoire (***LSBO***) et pour l'aide scientifique et technique qu'il m'a généreusement apportée.

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance envers la doctorante ***Néssaïbi Hanene*** de l'Université Chadli Bendjedid d'El Tarf et le docteur ***Zerrad Chaima*** de l'Université Badji Mokhtar-Annaba, dont le soutien et l'assistance ont été d'une grande valeur tout au long de la rédaction et la réalisation de ce mémoire.

Enfin, j'adresse mes sincères remerciements au président du jury, ***Dr Ferdjani Salim***, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi qu'à ***Dr Klai Nadia*** pour le temps et l'attention consacrés à l'examen de ce modeste mémoire.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à l'aboutissement de ce travail, je témoigne ma profonde reconnaissance et mes plus vifs remerciements.

تندرج هذه الدراسة في إطار تثمين إكليل الجبل البري (*Rosmarinus officinalis* L.) الذي جُمع من منطقة الطارف (الشط). وتركز على استخلاص مستقلباته الثانوية باستعمال ثلاث تقنيات مختلفة للاستخلاص، وهي النقع (Maceration)، واستخلاص سوكليت (Soxhlet)، والاستخلاص بالموجات فوق الصوتية، وذلك باستخدام أربعة مذيبات متزايدة القطبية هي: إيثر البترول، والكلوروفورم، وأسيتات الإيثيل، والن-بيوتانول. أظهر التحري الكيميائي النباتي النوعي وجود عدة مجموعات من المستقلبات الثانوية، لا سيما الفلافونويدات، والتانينات، والصابونينات، والدهون، بالإضافة إلى الستيرويدات والتربينات. كما بينت التحاليل الكمية أن طريقة الاستخلاص وقطبية المذيب تؤثران بشكل ملحوظ في محتوى المستخلصات من البوليفينولات الكلية والفلافونويدات. وقد أثبت الاستخلاص بالموجات فوق الصوتية أنه التقنية الأكثر كفاءة من حيث مردود الاستخلاص، حيث بلغ 8.4% بالنسبة للمستخلص المحضر بإيثر البترول. ومع ذلك، سُجل أعلى تركيز للبوليفينولات الكلية في مستخلص أسيتات الإيثيل المحضر بطريقة سوكلتي، يليه المستخلص الناتج عن النقع ثم المستخلص المحضر بالموجات فوق الصوتية. أما فيما يتعلق بالفلافونويدات، فقد تم تسجيل أعلى محتوى في مستخلص الن-بيوتانول المحضر بالموجات فوق الصوتية، يليه المستخلص المحضر بطريقة سوكلتي.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل (*Rosmarinus officinalis*)؛ الفحص الكيميائي النباتي؛ إجمالي البوليفينولات؛ إجمالي الفلافونويدات؛ النقع؛ الموجات فوق الصوتية؛ سوكلتي

Abstract

This study forms part of an effort to valorize wild rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) collected from the El Tarf region (El Chat). It focuses on the extraction of its secondary metabolites using three techniques: maceration, Soxhlet extraction, and ultrasound-assisted extraction, employing four solvents of increasing polarity—petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol. Qualitative phytochemical screening revealed the presence of several groups of secondary metabolites, including flavonoids, tannins, saponins, lipids, as well as sterols and terpenes. Quantitative analyses demonstrated that both the extraction method and solvent polarity significantly influence the contents of total polyphenols and flavonoids. Ultrasound-assisted extraction proved to be the most efficient technique in terms of yield, reaching 8.4% with the petroleum ether extract. However, the highest concentration of total polyphenols was obtained in the ethyl acetate extract prepared by Soxhlet extraction, followed by those obtained through maceration and ultrasound-assisted extraction. Regarding flavonoids, the highest content was measured in the n-butanol extract obtained via ultrasound-assisted extraction, followed by the Soxhlet extract.

Keywords: *Rosmarinus officinalis*; Phytochemical screening; Total polyphenols; Total flavonoids; Maceration; Ultrasounds; Soxhlet.

Résumé

Cette étude s'inscrit dans une démarche de valorisation du romarin sauvage (*Rosmarinus officinalis* L.) récolté dans la région d'El Tarf (El Chat). Elle porte sur l'extraction de ses métabolites secondaires au moyen de trois techniques d'extraction (macération, Soxhlet et extraction assistée par ultrasons), en utilisant quatre solvants de polarité croissante : l'éther de pétrole, le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. Le criblage phytochimique qualitatif a mis en évidence la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les lipides ainsi que les stérols et terpènes. Les analyses quantitatives ont révélé que la méthode d'extraction employée et la polarité du solvant exercent une influence significative sur les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes. L'extraction assistée par ultrasons s'est révélée la technique la plus performante en termes de rendement, atteignant 8,4 % pour l'extrait à l'éther de pétrole. Toutefois, la concentration la plus élevée en polyphénols totaux a été obtenue dans l'extrait à l'acétate d'éthyle préparé par Soxhlet, devant les extraits issus de la macération et de l'extraction assistée par ultrasons. Quant aux flavonoïdes, leur teneur maximale a été mesurée dans l'extrait au n-butanol obtenu par ultrasons, suivi de celui obtenu par la méthode Soxhlet.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*; Screening phytochimique; Polyphénols totaux; Flavonoïdes totaux ; Macération ; Ultrasons ; Soxhlet

Sommaire

| | |
|---------------------------------|------|
| Dédicace..... | VII |
| Remerciements..... | II |
| Résumé..... | III |
| Abstract..... | IV |
| ملخص..... | VII. |
| Table des matières | VII |
| Liste des figures | VII |
| Liste des schémas | X |
| Liste des tableaux | XI |
| Liste des abréviations | XII |
| Introduction générale..... | 1 |
| Références bibliographique..... | 3 |

PARTIE I

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

LES PLANTES MEDICINALES ET LES METABOLITES

| | |
|---|----|
| I.1. Les plantes médicinales | 4 |
| I .1.1. Fonctionnement des plantes médicinales..... | 4 |
| I.1.2. Drogue végétale et principe actif..... | 5 |
| I .1.2.1. La drogue végétale : | 5 |
| I .1.2.2. Le principe actif : | 5 |
| I .1.3. Différents groupes des principes actifs : | 5 |
| I .1.3.1. Les métabolites primaires : | 5 |
| I.1.3.2. Les métabolites secondaires : | 6 |
| I .1.4. Définition et classe des composés phénoliques | 6 |
| I .1.5. Structure chimique et classification | 8 |
| I.1.6. Rôles biologiques des composés phénoliques..... | 9 |
| I.2.Extraction et préparation des plantes médicinales : | 9 |
| I.3. Domaine d'application des plantes médicinales : | 10 |

| | |
|-----------------------------------|----|
| I.3.1. En médecine : | 10 |
| I.3.2.En cosmétique..... | 10 |
| I.1.3.3.En agriculture..... | 10 |
| I.1.3.4. En alimentation | 10 |
| Références bibliographiques | 11 |

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR *ROSMARINUS OFFICINALIS*

| | |
|---|----|
| II.1 Généralités et Historique sur <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 13 |
| II.2 Etymologie | 13 |
| II.3 Noms vernaculaire | 14 |
| II.4 Origine et aire géographique : | 14 |
| II.5 Classification botanique : | 18 |
| II.6 Description botanique : | 15 |
| II.7 Caractéristique : | 16 |
| II.8 Propriétés..... | 19 |
| II.9..Utilisation : | 19 |
| Références bibliographiques | 21 |

CHAPITRE III

LES METHODES D'EXTRACTION

| | |
|---|----|
| III.1.Méthodes d'extraction conventionnelle : | 22 |
| III.1.1.Extraction par solvant : | 22 |
| III.1.2 Techniques d'extraction avancées : | 25 |
| III.2 Comparaison des différentes techniques d'extraction | 26 |
| Références bibliographiques | 27 |

PARTIE II:

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|----|
| I.1 Introduction | 28 |
| I.2 Matière et matériel végétal | 29 |
| I.2.1 Récolte du matériel végétal : | 29 |
| I.2.2 Préparation de l'échantillon..... | 31 |
| I.2.3 Matériels et réactifs | 31 |

| | |
|--|----|
| I.3 Les méthodes d'extraction..... | 32 |
| 1. Macération..... | 32 |
| 2. Soxhlet..... | 32 |
| 3. Extraction par ultrasons..... | 33 |
| 4. Extraction liquide-liquide des extraits végétaux..... | 34 |
| I.4 Criblage Phytochimique : | 36 |
| 1. Alcaloïdes | 37 |
| 2. les flavonoïdes | 37 |
| 3. Tanins | 37 |
| 4. Saponines..... | 38 |
| 5. Lipides | 37 |
| 6. Stérols et terpènes : | 37 |
| 7. Test d'anthocyane | 37 |
| I.5 Dosage quantitatif : | 37 |
| I.5.1 Dosage des flavonoïdes totaux : | 37 |
| I.5.2 Dosage des poly phénols totaux..... | 39 |
| Références bibliographiques | 41 |

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|----|
| II .1 Screening Phytochimique..... | 42 |
| II.2 Comparaison des rendements d'extraction obtenus par les trois méthodes..... | 44 |
| II.3 Dosage des composés phénoliques..... | 45 |
| II.4 dosage des flavonoïdes totaux | 45 |
| II.5 Analyses quantitatives des flavonoïdes et polyphénols | 47 |
| Conclusion | 51 |

Liste des abréviations

| Abréviations | Signification |
|--------------------|---|
| J.-C | Jésus-Christ |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| OH | Groupe hydroxyle |
| -O-CH ₃ | Groupe méthoxy |
| UV | Ultraviolet |
| M | Mètre |
| cm | Centimètre |
| mm | Millimètre |
| Kg | Kilogramme |
| pH | potentiel hydrogène |
| CO ₂ | dioxyde de carbone |
| anti-VIH | anti-virus de l'immunodéficience humaine |
| AVC | Accident vasculaire cérébral |
| °C | degré Celsius |
| UAE | Ultrasound-Assisted Extraction |
| kHz | Kilohertz |
| min | Minute |
| % | Pourcentage |
| PUFA | Acides gras polyinsaturés |
| P | Pression |
| T | Température |
| G | Gramme |
| ml | Millilitre |
| H | Heure |
| W | Watt |
| R | Rendement |
| ME | Masse d'extrait |
| MP | Matière première |
| Nm | Nanomètre |
| µg | Microgramme |
| µg EAG/g MS | microgramme équivalent acide gallique par gramme de matière sèche |
| C | Concentration |
| V | Volume |

Liste des figures

CHAPITRE I

LES PLANTES MEDICINALES ET LES METABOLITES

| | |
|--|---|
| Figure I . 1. structure générale de l'acide phenol | 7 |
| Figure I.2.Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone..... | 8 |
| Figure I.3. Sturcture des coumarines | 8 |
| Figure I. 4. sturcture des anthocyanes..... | 9 |

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR *ROSMARINUS OFFICINALIS*

| | |
|--|----|
| Figure. II. 1.La plante <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 13 |
| Figure. II. 2. Aspect morphologique du romarin..... | 15 |
| Figure. II. 3. Dessin de racine de <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 16 |
| Figure. II. 4. Photographie de tige de l'espèce <i>Rosmarinusofficinali</i> | 16 |
| Figure. II. 5. Représentation des feuilles de romarin..... | 16 |
| Figure. II. 6. Représentation morphologique des fleurs de <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 17 |
| Figure II. 7. Aspect morphologique du fruit de romarin..... | 18 |

CHAPITRE III

LES METHODES D'EXTRACTION

| | |
|--|----|
| Figure. III. 1 .Représentation de l'extraction par macération | 22 |
| Figure. III.2. Représentation de l'extraction par Infusion..... | 23 |
| Figure. III .3 .Décoctions des plantes | 23 |
| Figure. III.4 .Représentation schématique d'un appareil d'extraction Soxhlet classique. | 24 |
| Figure. III. 5 .schéma résumes Les différentes étapes Extraction liquide – liquide | 25 |
| Figure. III. 6. Principe de l'extraction assistée par ultrasons | 26 |

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I: MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|----|
| Figure I.. 2 Photo de <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 30 |
| Figure. I. 3 Situation géographique de la zone de récolte de la plante étudiée. | 30 |
| Figure. I. 4 Broyage de <i>Rosmarinusofficinalis</i> | 31 |
| Figure. I .5.Extraction des composés bioactifs de <i>Rosmarinusofficinalis</i> par macération. | 32 |
| Figure I...6 Extraction des composés bioactifs de <i>Rosmarinusofficinalis</i> par Soxhlet. | 33 |
| Figure. I. 7 Extraction des composés bioactifs de <i>Rosmarinusofficinalis</i> par ultrasons. | 34 |
| Figure I. 8 Extraction liquide-liquide des extraits végétaux de la plante. | 35 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure. I. 9 Schéma de protocole de dosage des flavonoïdes par la méthode colorimétrique (NaNO_2 – AlCl_3). | 38 |
| Figure I. 10 Schéma de protocole de dosage des polyphénols totaux par la méthode de Folin Ciocalteu | 40 |

CHAPITRE II:RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|----|
| Figure. II. 1. Résultat du test des flavonoïdes. | 42 |
| Figure II. 2. Résultat du test des tanins. | 43 |
| Figure. II. 3,Résultat du test des saponines | 43 |
| Figure. II 4. Résultat du test des lipides. | 43 |
| Figure. II. 5.Courbe d'étalonnage de l'acide gallique. | 45 |
| Figure. II. 6. Courbe d'étalonnage de la catéchine | 46 |
| Figure II.7 .Évaluation des teneurs en flavonoïdes et phénols totaux obtenus par macération. | 47 |
| Figure. II. 8. Évaluation des teneurs en flavonoïdes et phénols totaux obtenus parsoxhlet | 48 |
| Figure. II. 9 .Évaluation des teneurs en flavonoïdes et phénols totaux obtenus par les ultrasons | 48 |

Liste des tableaux

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR *ROSMARINUS OFFICINALIS*

| | |
|---|----|
| Tableau. II 1 Classification botanique de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. | 14 |
| Tableau. II 2 Différentes caractéristiques de Romarin | 18 |

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODE

| | |
|---|----|
| Tableau. I .1. Matériels et réactifs utilisés | 31 |
| Tableau. I .2. Durée des cycles d'extraction par Soxhlet..... | 33 |
| Tableau. I .3. Densité des solvants utilisés pour l'extraction liquide-liquide..... | 34 |

CHAPITRE II :

RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|--|----|
| Tableau. II. 1. Screening phytochimique de la partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> | 42 |
| Tableau. II. 2. Les rendements d'extraction obtenus par les trois méthodes. | 44 |
| Tableau II. 3 .Absorbances de l'acide gallique en fonction de leurs concentrations..... | 45 |
| Tableau. II. 4. Absorbances de la catéchine en fonction de leurs concentrations.. | 46 |
| Tableau. II .5 . Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de l'extrait de la partie aérienne de <i>Rosmarinus officinalis</i> | 47 |

Liste des schémas

CHAPITRE I

LES PLANTES MEDICINALES ET LES METABOLITES

| | |
|--|---|
| Schéma. 1 metabolite primaires..... | 6 |
| Schéma. 2 métabolites secondaires..... | 6 |

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODE

| | |
|---|----|
| Schéma. 1 Démarche expérimentale suivie dans cette étude..... | 29 |
|---|----|

Introduction

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales occupent une place importante dans les pratiques de soin en raison de leurs nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé humaine [1]. Elles constituent une source essentielle en phytothérapie, qu'elle soit traditionnelle ou moderne [2].

En général, la plante entière est rarement utilisée ; ce sont plutôt une ou plusieurs de ses parties qui sont exploitées, chacune pouvant présenter des usages spécifiques [3].

Outre leurs vertus thérapeutiques, ces plantes peuvent également être employées comme aliments ou condimentaires. On recense à travers le monde un très grand nombre de plantes médicinales.

L'Algérie se distingue par une richesse floristique remarquable, notamment en espèces végétales à usage médicinal, qui poussent souvent à l'état spontané, en particulier dans les régions montagneuses et steppiques [4].

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes intéressés à une espèce de la famille des Lamiacées (ou Labiées), reconnue à l'échelle internationale pour ses usages traditionnels [5]. Cette plante est largement employée comme condiment en cuisine, mais elle est également réputée pour ses nombreuses activités biologiques, notamment antimicrobiennes, antioxydant et pharmacologiques [5-7]. Il s'agit du romarin (*Rosmarinus officinalis*), connu en arabe sous le nom d'« Iklil el Djebel ».

Le choix de *Rosmarinus Officinalis* L., est venu du fait de sa large propagation et de sa grande utilisation par l'humanité en médecine traditionnelle en raison de ses diverses propriétés thérapeutiques.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de valoriser cette espèce par la réalisation d'un screening phytochimique ainsi que par le dosage des composés phénoliques des extraits obtenus à partir de quatre solvants de polarité croissante (éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol), préparés au moyen de trois techniques d'extraction : macération, Soxhlet et extraction assistée par ultrasons.

Notre manuscrit est structuré en deux parties principales.

La première partie, consacrée à l'étude bibliographique, comprend trois chapitres :

- Le premier chapitre présente les plantes médicinales ainsi que les principaux métabolites secondaires qu'elles renferment.
- Le deuxième chapitre est consacré à une étude bibliographique de la plante *Rosmarinus officinalis*.
- Le troisième chapitre porte sur les différentes méthodes d'extraction des composés bioactifs.

La seconde partie, dédiée à l'étude expérimentale, comporte deux chapitres :

- Le premier chapitre décrit les protocoles expérimentaux mis en œuvre pour la réalisation de cette étude.
- Le deuxième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus ainsi qu'à leur discussion.

Enfin, notre manuscrit se termine par une conclusion générale qui synthétise les travaux réalisés et propose des perspectives de recherche à développer ultérieurement.

Références bibliographiques

- [1]. Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1.
- [2]. Rane, P., Pujari, S., Patel, P., Gandhewar, M., Madria, K., & Dhume, S. (2013). Epidemiological study to evaluate the prevalence of dentine hypersensitivity among patients. *Journal of international oral health: JIOH*, 5(5), 15.
- [3]. Fabricant, D. S., & Farnsworth, N. R. (2001). The value of plants used in traditional medicine for drug discovery. *Environmental health perspectives*, 109(Suppl 1), 69.
- [4]. Chatelain, C., Medjahdi, B., & Benhouhou, S. S. (2018). eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa/eFlore of Magreb, an electronic florabased on the new flora of P. Quézel & S. Santa. *Ecologia mediterranea*, 44(2), 131-136.
- [5]. CHERIET, A., & DIFALLAH, N. (2024). Enquête ethnobotanique sur la toxicité des Lamiaceae utilisées en médecine traditionnelle dans la wilaya de Tiaret (Doctoral dissertation, Université ibn khaldoun-Tiaret).
- [6]. BOUAMRA, D., HARKATI, H., KHENTACHE, S., & BAKI, C. A. (2012, November). ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL EFFECT OF *Rosmarinus officinalis* L. EXTRACTS. In *Proceeding of the 2nd African Congress on Biology & Health University Ferhat Abbas Setif1* (Vol. 11, p. 210).
- [7]. Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus. Chimie*, 19(6), 754-765.
- [8]. Jahjah, S., AitAlla, K., Legssyer, M., Maouni, A., & Saidi, R. CO 12: *ROSMARINUS OFFICINALIS* L: A REVIEW OF ITS PHYTOCHEMISTRY, AND BIOLOGICAL ACTIVITIES. Comité d'organisation, 28.

PARTIE I :
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I :
LES PLANTES MEDICINALES ET LES
METABOLITES

I.1. LES PLANTES MEDICINALES

Il s'agit de plantes employées en médecine traditionnelle, dont plusieurs possèdent une valeur thérapeutique avérée. Leur efficacité résulte de leurs composés (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre ces différents principes actifs[1].

Les plantes médicinales sont prisées pour leurs propriétés bénéfiques à la santé humaine. Elles sont préparées et administrées sous diverses formes, telles que la décoction, l'infusion ou la macération, en utilisant une ou plusieurs parties de la plante (racines, feuilles, fleurs, etc.).

Selon l'OMS, plus de 20 000 plantes sont utilisées dans le monde pour leurs vertus médicinales, mais seulement 2 000 à 3 000 d'entre elles ont fait l'objet d'études scientifiques approfondies[1].

I.1.1.Fonctionnement des plantes médicinales

Au cours des dernières décennies, la recherche pharmaceutique a élucidé la composition chimique et les propriétés de nombreuses plantes médicinales. L'industrie pharmaceutique a ainsi réussi à synthétiser chimiquement un grand nombre de leurs composés actifs et à en découvrir de nouvelles combinaisons, au bénéfice des patients et de la préservation des ressources naturelles [2].

Chaque plante renferme des milliers de substances actives en quantités variables. Isolés, ces principes actifs manquent souvent d'efficacité ; en revanche, associés à d'autres constituants de la plante, ils expriment pleinement leur potentiel pharmacologique.

On parle alors de synergie : contrairement aux médicaments allopathiques, composés d'un seul principe actif, les préparations phytothérapeutiques exploitent l'ensemble des constituants végétaux.

Ces plantes exerceraient des effets à la fois curatifs et préventifs chez leurs utilisateurs.

Les premiers produits de la photosynthèse sont des métabolites primaires de faible masse moléculaire, tels que les oses (sucres), les acides gras et les acides aminés. Par la suite sont synthétisés les métabolites secondaires (ou spécialisés), dont certains présentent des vertus thérapeutiques[2].

I.1.2. Drogue végétale et principe actif

I.1.2.1. La drogue végétale

La drogue végétale désigne la partie de la plante ou, dans certains cas, la plante entière qui porte les propriétés thérapeutiques. Elle concentre la plus grande quantité de principe(s) actif(s) à l'origine des vertus médicinales. Ces drogues peuvent provenir des bourgeons, des sommités florales, des racines, des tiges, des graines, des feuilles ou des fruits[3].

I.1.2.2. Le principe actif

Les plantes, en général, et les plantes aromatiques, en particulier, se distinguent par deux types de métabolismes. Le métabolisme primaire produit en grandes quantités les constituants essentiels : sucres et leurs dérivés, lipides, ainsi que protéines. Le métabolisme secondaire, quant à lui, génère des composés en faibles quantités, mais aux applications variées, notamment d'intérêt pharmaceutique [4].

Les métabolites secondaires des plantes médicinales, mondialement reconnus pour leurs activités thérapeutiques tels que les composés phénoliques, restent loin d'être exploités à leur plein potentiel. Leur valorisation présente donc un intérêt socio-économique et thérapeutique majeur [4].

I.1.3 Différents groupes des principes actifs :

Les métabolites sont les molécules issues du métabolisme des végétaux (ou d'animaux). On distingue deux classes de métabolites :

A. Les métabolites primaires :

Ils sont caractérisés par leur caractère nécessaire et vital à la survie de la cellule ou de l'organisme[5].

Ils sont classés selon le schéma ci-dessous :

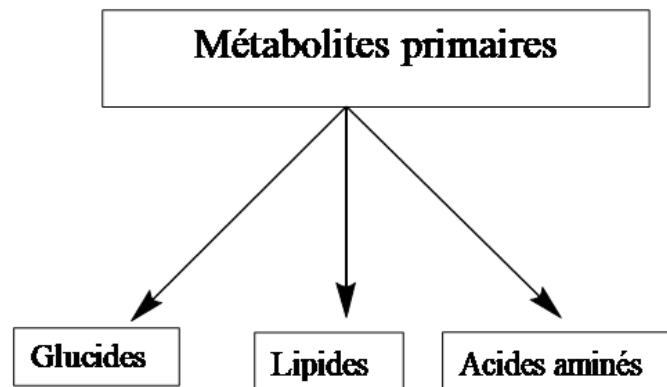


Schéma I.1 : Métabolites primaires

B. Les métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont caractéristiques des plantes supérieures et se répartissent en trois grandes familles chimiques (Schéma I.2) :

- Les composés phénoliques.
- Les terpénoïdes et stéroïdes.
- Les composés azotés ou alcaloïdes[5].

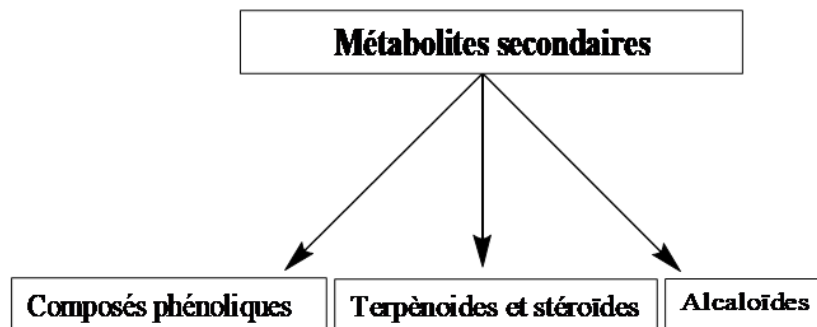


Schéma I.2 : Métabolites secondaires

I.1.4. Définition et classe des composés phénoliques

Les composés phénoliques, métabolites secondaires des plantes supérieures, se distinguent par un cycle aromatique substitué de groupements hydroxyles libres ou glycosylés. Ubiquitaires dans toutes les parties végétales (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines, bois), ils participent à des processus physiologiques essentiels : croissance cellulaire, rhizogenèse, germination et maturation des fruits.

Les principales classes comprennent :

- Acides phénoliques (caféique, hydroxycinnamique, férulique, chlorogénique, etc.)
- Flavonoïdes.
- Tanins.
- Coumarines.

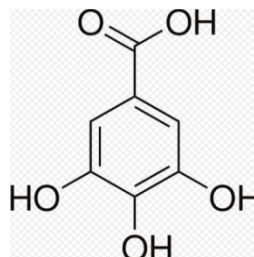
Ce sont des molécules biologiquement actives, largement employées en thérapeutique comme vasoconstricteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, antiradicalaires et antimicrobiens[6].

❖ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques (ou acides-phénols) sont des composés organiques portant au moins une fonction carboxylique et un groupe hydroxyle phénolique.

Ils se répartissent en deux grandes catégories :

- **Acides hydroxybenzoïques** : Ils dérivent de l'acide benzoïque et ont une structure de base de type C₆-C₁. Ces acides hydroxy-benzoïques sont très communs, aussi bien sous forme libre que sous forme d'esters ou d'hétérosides
- **Acides hydroxycinnamiques** : Ils ont une structure de base de type C₆-C₃. Les fonctions phénols (OH) de ces dérivés peuvent aussi être méthyles (-O-CH₃) [7].



FigureI.1 : Structure générale d'acide phénol

❖ Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes regroupent plus de 6 000 composés naturels quasi ubiquitaires chez les plantes vasculaires. Pigments responsables des colorations jaune, orange et rouge des organes végétaux, ils reposent tous sur une structure de base C₆-C₃-C₆ (15 atomes de carbone) : deux

cycles aromatiques (A et B, à 6 carbones chacun) reliés par une unité propanique centrale qui peut former ou non un hétérocycle pyrane (C) [8].

I.1.5 Structure chimique et classification

Les flavonoïdes sont des dérivés de la benzo- γ -pyrone. Selon la nature et la position des substitutions sur les cycles, ainsi que leur degré de saturation, on distingue plusieurs classes principales notamment : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanes, les isoflavones, les chalcones et les anthocyanidines [8].

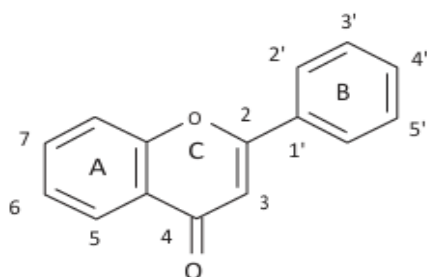


Figure I.2 : Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone

❖ Coumarines

Les coumarines, dérivées de structure C₆-C₃, appartiennent au groupe des benzo- α -pyrones (O'Kennedy et Thornes, 1997). Toutes sont substituées en position 7 par un hydroxyle. Présentes dans la nature à l'état libre ou sous forme de glycosides, plus de 1 000 coumarines naturelles ont été identifiées. Elles confèrent l'odeur caractéristique du foin [9].

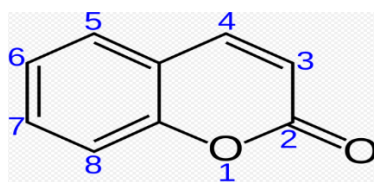


Figure I.3 : Structure des coumarines

❖ Anthocyanes

Les anthocyanes (ou anthocyanidines glycosylées) sont des pigments naturels hydrosolubles présents chez les plantes vasculaires. Leur solubilité dans les milieux aqueux élargit leurs applications industrielles. Responsables des colorations orange, rose, rouge, violette et bleue de nombreuses fleurs (tulipe, rose, orchidée) et fruits (pomme, baie, raisin), ces composés se distinguent particulièrement par leur puissante activité antioxydante, confirmée par de nombreuses études sur leurs propriétés biologiques [10].

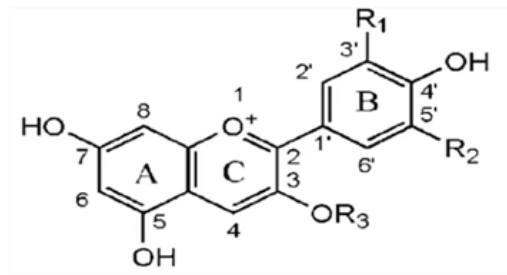


Figure I.4 : Structured'anthocyanes

I.1.6. Rôles biologiques des composés phénoliques

Le rôle des polyphénols dans la prévention de diverses pathologies, notamment les maladies cardiovasculaires telles que l'athérosclérose et les maladies coronariennes, ainsi que le diabète et certains cancers, a été largement étudié [11].

Ces composés présentent un large éventail d'activités biologiques, incluant des propriétés antimutagènes, antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoires, antiallergiques et antithrombotiques. Ils se distinguent également par leur puissant pouvoir antioxydant, leur permettant de neutraliser les radicaux libres [11].

Par ailleurs, les polyphénols peuvent influencer l'activité protéosomale, ce qui pourrait contribuer à leur effet protecteur contre les maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer[11].

I.2.EXTRACTION ET PREPARATION DES PLANTES MEDICINALES

L'exploration du monde des plantes médicinales met en évidence une richesse remarquable en principes actifs. Selon la méthode utilisée à savoir l'infusion, la décoction ou la macération...etc. L'extraction permet d'obtenir des composés aux propriétés spécifiques et aux effets bénéfiques sur la santé. En phytothérapie, ces techniques jouent un rôle essentiel pour optimiser l'extraction et valoriser pleinement les vertus thérapeutiques des plantes[12].

I.3.DOMAINE D'APPLICATION DES PLANTES MEDICINALES :

I. 3.1.En médecine :

La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour la semi-synthèse [13].

I.3.2. En cosmétique :

Des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène...etc.

I.3.3 En agriculture

Les huiles de quelques arbres comme l'arbre Azadirachta indica (se développe au subcontinent indien atteint 12 à 18 m de hauteur) ont des utilisations dans l'agriculture dans le contrôle de divers insectes et nématodes [13].

I.3.4.En alimentation

Assaisonnement des boissons, des colorants et des composés aromatiques.

Références bibliographiques

- [1] Ouled Cheikh Yahya, T. B. D. (2021). Evaluation de la conformité des tisanes conditionnées produites en Algérie (évaluation qualitative et quantitative).
- [2] Amroune, S. E. (2017–2018). Phytothérapie et plantes médicinales (Formation/Mémoire). Université des Frères Mentouri Constantine.
- [3] Limonier, A.-S. (2018). La phytothérapie de demain : les plantes médicinales au cœur de la pharmacie (Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille, France). 92 p.
- [4] Ben Bekrite, I., Bellel, H., & Grini, I. (2023/2024). La phytothérapie dans le traitement des plaies et brûlures dans la région d'Ain Témouchent, Algérie (Mémoire/Travail universitaire). Université Belhadj Bouchaib, Ain Temouchent, Algérie.
- [5] Mamadou, B. (2011). Étude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith, une plante médicinale africaine récoltée au Mali (Mémoire/Thèse, Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II, France) Disponible sur <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-0071956>
- [6] Belhadj-Tahar, S. (2017–2018). Caractérisation structurale de quelques métabolites secondaires issus de quelques plantes de la famille Amarantaceae du Sahara septentrional (Mémoire/Thèse, Université KasdiMerbah, Ouargla, Algérie).
- [7] Guessoum, B. (2021, 22 mars). Étude des extraits de la plante *Cyperus conglomeratus*, leurs activités biologiques et leurs efficacités inhibitrices de la corrosion (Doctorat de 3^e cycle, Université KasdiMerbah, Ouargla, Algérie).
- [8] Lahmad, S. (2020/2021). Composition phénolique, activité antioxydante et biologique des extraits d'*Euphorbiagranulata* Forssk. et *Euphorbiaretusa* Forssk. (Mémoire de Master 2, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie).
- [9] Yakhlef, W. (2019, 25 avril). Caractérisation des profils phénoliques et évaluation de l'activité antibactérienne du contenu phénolique des margines monovariétales (Thèse de doctorat en sciences, Université Larbi Ben M'Hidi, Oum El-Bouaghi, Algérie).
- [10] Ghanem, F., & Haggani, L. (2017, 18 juin). Effet de séchage au micro-onde et à l'étuve sur la composition phénolique et l'activité antioxydante de *Pistacialentiscus* (Mémoire de Master 2, Université A. Mira, Bejaia, Algérie).
- [11] Haroune, N., & Moumeni, L. (2011/2012). Évaluation de l'activité antioxydante et de la toxicité des alcaloïdes isoquinoléiques de *Fumaria officinalis* (Mémoire de Master 2, Université Abderrahmane Mira, Bejaia, Algérie).
- [12] Santé Énergie Vitalité. (s.d.). Les différentes méthodes d'extraction et de préparation des plantes en phytothérapie. Récupéré de <https://sante-energie-vitalite.fr/les-differentes-methodes-d-extraction-et-de-preparation-des-plantes-en-phytotherapie/>

Références bibliographiques

[13] Bensmira, W., &Meribai, H. (2018/2019). Valorisation des plantes aromatiques et médicinales (PAM) dans la wilaya de Constantine (Mémoire de Master 2, Université des Frères Mentouri, Constantine 1, Algérie).

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR **ROSMARINUS OFFICINALIS**

II.1. Généralités et Historique sur *Rosmarinus officinalis*

Les plantes ont toujours accompagné la vie quotidienne humaine, servant à l'alimentation, au soin et parfois aux cérémonies religieuses.

Rosmarinus officinalis L., l'une des plantes médicinales les plus étudiées pour la protection et le maintien de la santé, pousse spontanément dans le bassin méditerranéen et le sud-ouest de l'Asie. En Algérie, où elle est l'une des sept espèces couvrant plus de 100 000 hectares, cette plante commune orne jardins et parcs en bordures odorantes. Elle affectionne les sols calcaires, ensoleillés, de faible altitude et modérément secs, et se cultive traditionnellement comme haie vive[1].

Stimulant naturel puissant, le romarin détoxifie l'organisme, tonifie le foie, réduit le stress, soulage les troubles rhumatismaux, les ballonnements, les crampes gastriques et les aphtes. Dans l'Antiquité, il entrait dans la composition de « l'eau de la Reine de Hongrie », une préparation vinée. Les médecins arabes, pionniers de son exploitation, réalisèrent les premières extractions d'huile essentielle[1].



Figure II.1 : *Rosmarinus officinalis*

II.2. Etymologie

L'étymologie du romarin est multiple : du latin « ros marinus » (« rosée de mer »), du grec « rhapsmyrinos » (« buisson aromatique »), ou encore du latin « rhusmarinus » (sumac de mer). On le désigne aussi comme « herbe-aux-couronnes », et en provençal, « encensier »[2]

II.3. Noms vernaculaire

Iklil al jabal, Klil, Hatssalouban, Hassalban, Lazir, Azîr, Ouzbir, Aklel, Touzala.

Appellations régionales en Algérie[2] : En plus souvent

- Région de l'Est : Eklil
- Région de l'Ouest : Helhal
- Région du Centre : Yazir

II.4. Origine et aire géographique :

Rosmarinus officinalis L. pousse spontanément sur les côtes méditerranéennes et dans le sud-ouest de l'Asie, fréquemment cultivé comme haie dans les jardins. On le trouve également à l'état sauvage dans le sud de l'Europe, notamment sur les pentes montagneuses arides et ensoleillées d'Espagne, de Dalmatie, de Tunisie, du Maroc et du sud de la France.

Cette espèce affectionne particulièrement les sols calcaires, d'où sa présence caractéristique dans les garrigues et maquis, non loin de la mer. Buisson aromatique circum-méditerranéen de 1 à 2 m de haut, il colonise les collines sèches et les sols argileux drainés.

En Algérie, le romarin figure parmi les sept espèces végétales couvrant plus de 50 000 hectares sur le territoire national[3].

II.5 Classification botanique :

La classification de l'espèce *Rosmarinus officinalis* est comme suit[4] :

Tableau II.1 : Classification botanique de *Rosmarinus officinalis* L.

| | |
|---------------|----------------------------------|
| Règne | Plantes |
| Embranchement | Spermaphytes |
| Classe | Dicotylédones |
| Ordre | Lamiales (Labiales) |
| Famille | Lamiaceae |
| Genre | Rosmarinus |
| Espèce | <i>Rosmarinus officinalis</i> L. |

II.6 Description botanique :

Rosmarinus officinalis L. est un arbrisseau aromatique persistant reconnaissable à son odeur caractéristique, pouvant atteindre 2 m de hauteur, très rameux et toujours vert.

Ses feuilles persistantes, coriaces, sessiles, linéaires et entières (2,5-4 cm), présentent des bords enroulés : vertes et chagrinées sur la face supérieure, blanches-tomenteuses en dessous[5].

Les fleurs, bleu pâle à blanchâtre, subsessiles, s'insèrent en petites grappes axillaires et terminales :

- Calice bilabié, en clochette, pulvérulent ;
- Corolle bilabée à tube saillant, lèvre supérieure en casque bifide ;
- Deux étamines à filets saillants, insérées à la gorge de la corolle, anthères linéaires.

La tige est tortueuse, anguleuse et fragile ; la racine, profonde et pivotante. Le fruit est une baie ovale sèche et lisse (figure II.2).

Cette plante possède des propriétés stimulantes, antiseptiques et insecticides, et entre dans la composition de parfums.

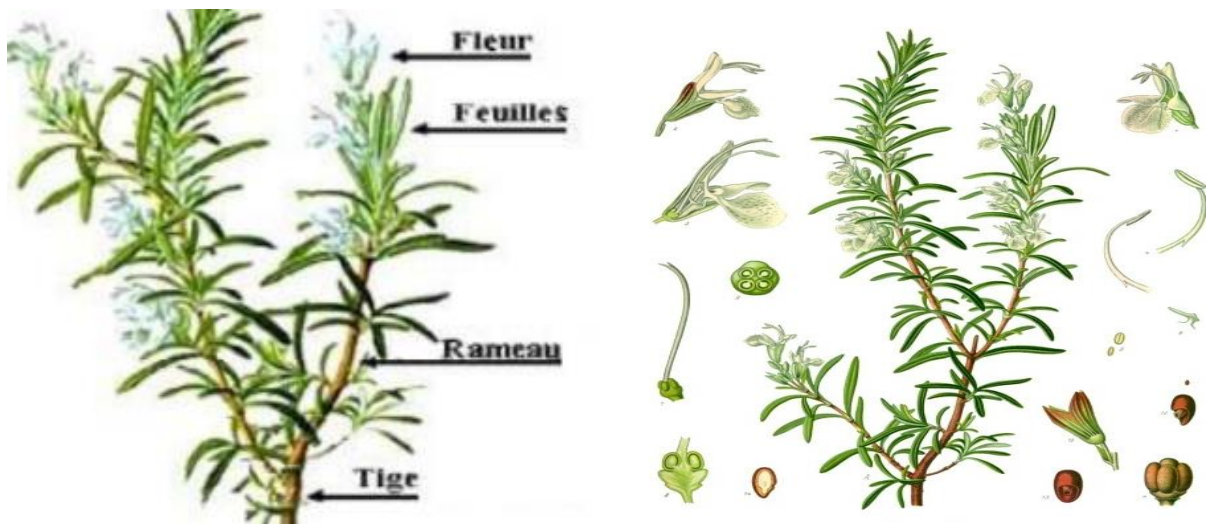


Figure II. 2 :Aspect morphologique du romarin

II.7. Caractéristiques

A-Partie souterraine

- Racines

La racine de *Rosmarinus officinalis* L., partie souterraine de la plante, est profonde et pivotante. Spécialisée dans l'absorption de l'eau et des sels minéraux ainsi que dans l'ancrage au sol, elle confère à l'espèce son excellente adaptation aux terrains secs et rocailloux méditerranéens[6].



Figure II3 : Racines de *Rosmarinus officinalis*.

B-Partie aérienne :

- Tige

Rosmarinus officinalis L. se présente comme un arbrisseau ou sous-arbrisseau de 0,5 à 2 m de hauteur. Sa tige, tortueuse, anguleuse et fragile, est fortement rameuse. L'écorce se développe de manière linéaire à cyme, simulant plus ou moins des épis[6].



Figure II4 : Tiges de l'espèce *Rosmarinus officinalis*

- Feuilles

Les feuilles de *Rosmarinusofficinalis* L. sont coriaces, persistantes, sessiles, linéaires, entières, avec des bords enroulés. Vertes et ponctuées sur la face supérieure, elles sont blanches-tomenteuses en dessous. Mesurant jusqu'à 3 cm de long sur 4 mm de large, les jeunes feuilles sont pubescentes sur les deux faces, tandis que les plus âgées sont glabres sur la face supérieure. Une nervure médiane enfoncée leur confère des stries caractéristiques (Figure II.5).



Figure II.5 : Représentation des feuilles de romarin

- Fleurs

Le romarin, herbe aromatique prisée, se récolte tout au long de l'année. Sans cueillette régulière, il produit de petites fleurs bleues : dès le printemps dans les régions tempérées, et de manière continue sur le pourtour méditerranéen[6].



Figure II.6 : Représentation morphologique des fleurs de *Rosmarinusofficinalis*.

- Fruits

Le fruit de *Rosmarinusofficinalis* L. est un tétrakène brun foncé, lisse et globuleux, mesurant 2 à 3 mm de longueur. Chaque akène contient un embryon sans albumen [6](FigureII.7).

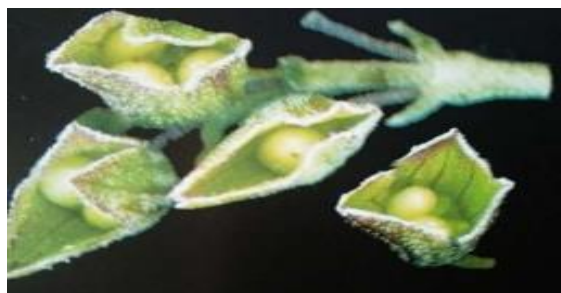


Figure II.7 : Aspect morphologique du fruit de romarin.

D'autres caractéristiques notables sont résumées dans le tableau suivant : [7].

Tableau II.2 : Différentes caractéristiques du Romarin

| | |
|--|--|
| Hauteur du produit | 33 cm |
| Largeur du produit | 18 cm |
| Profondeur du produit | 18cm |
| Poids du produit non packagé | 1kg |
| Désignation du produit en latin | Salviarosmarinus |
| Ph du sol | Tous PH |
| Hauteur à maturité | 1.5 m |
| Espacement | 0.5m |
| Plantation en climat | Méditerranéen |
| Période(s) de floraison | Printemps/été |
| Nom vernaculaire | Romarin |
| Exposition | Soleil |
| Information facultative supplémentaire | Conserver l'étiquette ou une photographie du végétal pour faciliter son identification |
| Informations sur les risques | Non concerné |
| Période de floraison | Avril, Mai, Juin |
| Croissance | Moyenne |
| Culture adaptée aux | jardiniers débutants |
| Cycle de culture | Vivace |
| Floraison parfumée | Oui |
| Rusticité | Rustique |
| Humidité du sol | Drainé |

| | |
|-------------------------|--|
| Végétation | Vivace |
| Couleur des fleurs | Bleu |
| Fréquence de l'arrosage | Laisser légèrement sécher le substrat en surface |
| Feuillage | Persistant |
| Période de récolte | Toute l'année |
| Hivernage | Protéger sous un épais paillage |
| Couleur de floraison | Bleu |

II.8. Propriétés

Rosmarinus officinalis L. est particulièrement apprécié pour ses propriétés digestives et détoxifiantes. Il stimule la sécrétion biliaire, facilitant ainsi la digestion et la purification de l'organisme. Antispasmodique grâce à ses flavonoïdes, il soulage ballonnements et douleurs abdominales ; ses acides phénoliques lui confèrent par ailleurs des effets diurétiques, favorisant l'élimination rénale de l'eau.

Énergisant naturel, il soutient le tonus cardiaque et renforce la résistance au stress. Antiseptique respiratoire, il calme la toux et décongestionne les voies aériennes en saison hivernale[8].

II.9. Utilisations

Cette plante médicinale offre de nombreuses vertus. Voici les principaux bienfaits santé du romarin[9] :

- ❖ Favorise la digestion, régule les lipides, améliore la circulation sanguine : cholagogue (aide à l'évacuation de la bile), antispasmodique.
- ❖ Diurétique : il réduit les risques de calculs rénaux ou de goutte et prévient les rhumatismes.
- ❖ Antistress, antifatigue : il prévient l'insomnie et permet de lutter contre le surmenage intellectuel.
- ❖ Action antioxydante : contre le vieillissement cellulaire

- ❖ Contre les affections de la peau : infections, plaies, nettoyage de la peau et des zones génitales.
- ❖ Accélère la pousse des cheveux.
- ❖ Permet de lutter contre certains agents pathogènes : antimycosique et antibactérien.
- ❖ Soulage les rhumatismes.
- ❖ La choline qu'il contient agit comme régulateur des lipides, au niveau du foie, et favorise la digestion.
- ❖ Ses vertus diurétiques facilitent l'activité rénale et participent à la prévention du rhumatisme.
- ❖ Ses propriétés antioxydantes stimulent l'activité cérébrale et améliorent la mémoire

Le romarin est également reconnu pour ses propriétés stimulantes, aidant les personnes souffrant de fatigue ou d'asthénie, tout en contribuant à prévenir l'insomnie. Ses qualités antiseptiques en font un excellent agent pour nettoyer la peau, traiter les zones sensibles ou intervenir directement sur les plaies infectées. Il est également efficace grâce à son action antitussive.

Références bibliographiques

- [1] De Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & De Oliveira, L. D. (2019). Rosmarinus officinalis L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1), 5.
- [2] Boumadjen, R., & Kimouche, S. (2018). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante du romarin (*Rosmarinus officinalis*) (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- [3] Bouquestour, M. (2020). Effet de la provenance sur la qualité chimique et microbiologique des extraits du romarin (*Rosmarinus officinalis* L.) (Mémoire de fin d'études). Université Saad Dahlab de Blida.
- [4] Benmansour, A. (2022). Romarin : Extraction des composants actifs et leurs effets antibactériens sur quelques souches bactériennes (Mémoire de Master). Université des Frères Mentouri Constantine 1.
- [5] Baghloul, F. (2019). Bio-décontamination en agro-alimentaire par des molécules bio-actives naturelles d'une plante médicinale : *Rosmarinus officinalis* (Thèse). Université Badji Mokhtar– Annaba.
- [6] Hammad, L., & Himed, L. (2020). Synthèse sur les activités biologiques de *Rosmarinus officinalis* L. (Mémoire de Master). Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- [7] Gamm Vert. Romarin – plante aromatique. <https://www.gammvert.fr/p/romarin-boi-80001871>
- [8] Ponroy. (n.d.). *Le romarin*. <https://www.ponroy.com/plantes/le-romarin>
- [9] Doctissimo. (2025, 17 mars). Romarin : indications, bienfaits et posologie. <https://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/romarin.htm>

CHAPITRE III

LES METHODES D'EXTRACTION

L'extraction de principe actif à haute valeur est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des molécules bioactives naturelles [1].

C'est la séparation sélective des parties actives des tissus végétaux des composants inactifs ou inertes à l'aide des solvants.

III. Méthodes d'extraction conventionnelle

III.1.1.Extraction par solvant

- **Macération**

La macération est une extraction à froid par immersion complète de la matière végétale dans le solvant. La drogue végétale est placée avec la totalité du solvant d'extraction dans un récipient fermé, laissé au repos pendant une durée déterminée. Le mélange est ensuite filtré et le marc pressé ; les extraits liquides obtenus sont mélangés puis clarifiés par décantation ou filtration [2].

Cette méthode présente des risques de fermentation ou de contamination bactérienne, particulièrement avec l'eau comme solvant, pouvant dégrader les principes actifs. Pour limiter ces inconvénients, la macération s'effectue dans un récipient étanche, à l'abri de la lumière, parfois au réfrigérateur[2].



Figure III.1 : Représentation de l'extraction par macération

- **Infusion**

L'infusion constitue la préparation galénique la plus simple. Elle s'obtient en versant de l'eau bouillante sur des fragments de plantes séchées, puis en maintenant une macération contrôlée

pour extraire les principes actifs thérapeutiques. Particulièrement adaptée à l'extraction de composés volatils ou thermolabiles (huiles essentielles, flavonoïdes), elle s'applique aux parties aériennes fragiles et finement broyées : feuilles, fleurs et graines [3].



Figure III. 2 : Représentation de l'extraction par Infusion.

- **Les décoctions**

La décoction est recommandée pour les racines (bardane, valériane, harpagophytum), écorces (cannelle) et tiges ligneuses (prêle), lorsque les principes actifs hydrosolubles sont peu accessibles. On verse de l'eau froide sur la drogue végétale coupée, moulue ou écrasée, puis on porte à ébullition (100°C) pendant 5 à 15 minutes, voire plusieurs heures selon la matrice. Le mélange est filtré après refroidissement.

Limites des infusions et décoctions : thermosensibles (destruction de certains actifs) et limitées aux composés hydrosolubles (exclusion des liposolubles). La macération complète souvent ces préparations aqueuses pour une extraction exhaustive des principes actifs [4].

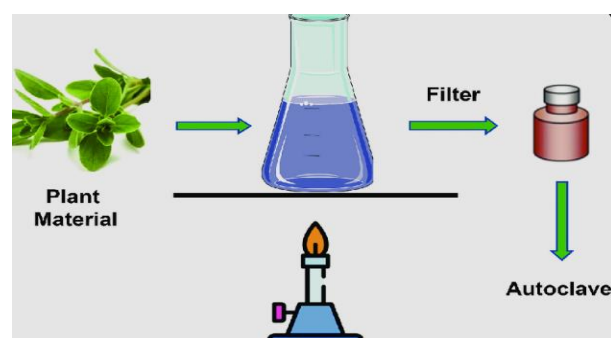


Figure III.3 : Décoctions des plantes

- **Extraction par Soxhlet**

L'extracteur Soxhlet offre les meilleurs rendements parmi les techniques classiques d'extraction. Son principe repose sur l'extraction continue des matières grasses de la drogue végétale par un solvant organique non polaire (éther de pétrole ou n-hexane).

L'appareil comprend un corps en verre, une cartouche en papier filtre épais, un tube siphon et un tube d'adduction. L'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant, avec l'échantillon en poudre dans la cartouche et un réfrigérant au sommet (chauffe-ballon avec agitation magnétique recommandé).

Lors du chauffage, les vapeurs de solvant se condensent, percolent à travers la matrice, s'accumulent jusqu'au siphon qui les renvoie enrichis dans le ballon. Ce cycle se répète jusqu'à épuisement. Après distillation du solvant, le résidu – principalement des triglycérides – est obtenu par cette méthode directe.

Cette Figure illustre le montage typique d'un extracteur Soxhlet, avec le ballon, l'extracteur, le siphon et le condenseur[5].

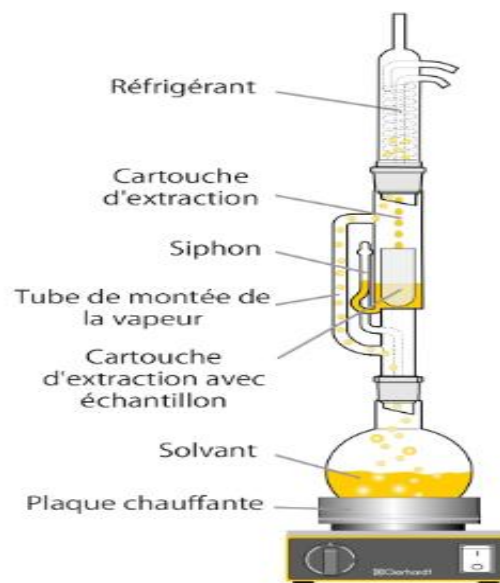


Figure III. 4 : Représentation schématique d'un appareil d'extraction Soxhlet classique.

- **Extraction liquide -liquide**

L'extraction liquide-liquide est une technique physico-chimique de séparation et de concentration des composés organiques. Elle repose sur la partition d'un soluté entre deux phases liquides non miscibles : une phase aqueuse et une phase organique constituée d'un extractant dissous dans un solvant diluant.

Ses principaux inconvénients incluent la consommation massive de solvants organiques toxiques, les pertes d'extractants et de solvants, ainsi que les difficultés de séparation des phases par décantation[6].

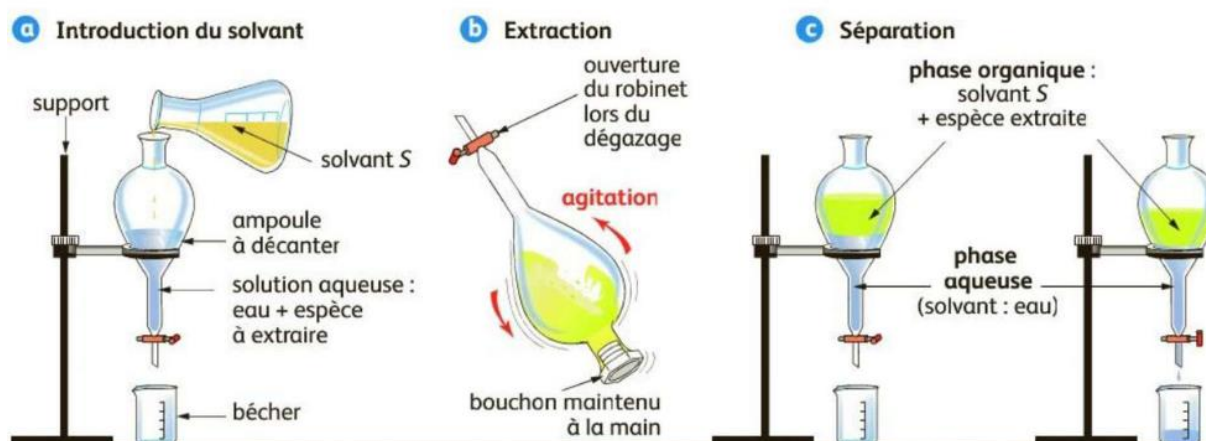


Figure III. 5 : Les différentes étapes de l'extraction liquide – liquide

III.1.2. Techniques d'extraction avancées

- **Extraction assistée par ultrason**

L'extraction par ultrasons (ou UAE - Ultrasound-Assisted Extraction) est une technique physico-chimique innovante aux multiples applications en pharmacognosie, pharmacie, cosmétique et agroalimentaire.

Son principe repose sur la cavitation acoustique : les fréquences supérieures à 20 kHz génèrent des cycles d'expansion/compression en milieu liquide, formant des bulles microscopiques près des parois cellulaires. L'implosion de ces bulles crée des microjets localisés (élévation de température et pression) qui fracturent les parois végétales, facilitant la pénétration du solvant et améliorant le rendement d'extraction[7].

Avantages majeurs :

- Température ambiante (20-25°C), préservant les composés thermolabiles (acides gras polyinsaturés, polyphénols, caroténoïdes, arômes) ;
- Temps réduits (3-30 min vs heures pour Soxhlet) ;
- Rendements supérieurs (jusqu'à +50-100%) ;
- Solvants réduits (économie verte).

Cette technique révolutionne l'extraction des métabolites secondaires fragiles (Wang et al., 2006).

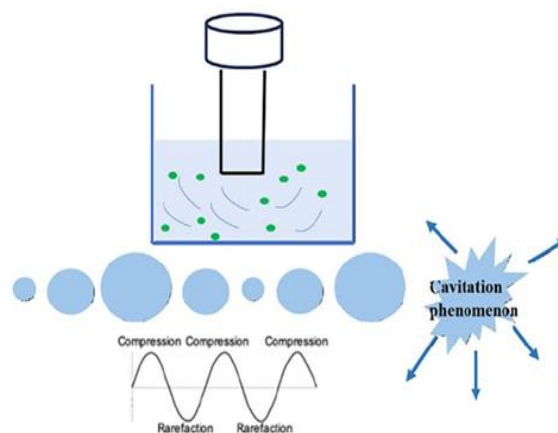


Figure III.6 : Principe de l'extraction assistée par ultrasons

III.2 Comparaison des différentes techniques d'extraction :

La comparaison entre les méthodes d'extraction classiques et modernes met en lumière des différences significatives en termes de rendement, d'efficacité, d'impact environnemental et de qualité des composés extraits. En général les méthodes modernes offrent des rendements plus élevés et une meilleure efficacité d'extraction[8].

Elles sont généralement plus respectueuses de l'environnement, utilisent moins de solvants et d'énergie[9]. De plus, la qualité des composés extraits, en termes de composition chimique et d'activité biologique est souvent supérieure avec les méthodes modernes.

L'analyse de ces critères, permet une meilleure compréhension des avantages et des inconvénients de chaque technique, facilitant ainsi le choix de la méthode la plus adaptée l'extraction de composés naturels spécifiques. Cette évaluation est essentielle pour optimiser les résultats en fonction des objectifs de recherche ou de production [10].

Références bibliographiques

- [1] Kemassi, A., &Meriga, M. (2018). Comparaison des méthodes d'extraction des principes actifs de quelques plantes médicinales (Mémoire de Master). Université KasdiMerbah, Ouargla.
- [2] Meriga, M., &Kemassi, A. (2018). Comparaison des méthodes d'extraction des principes actifs (Mémoire de Master). Université KasdiMerbah, Ouargla.
- [3] Samai, Z. (2023). Contribution à l'étude phytochimique et pharmacologique de quelques plantes du nord-est algérien (Thèse). Université Badji Mokhtar, Annaba.
- [4] Delran, P. (2014). *Les techniques d'extraction de plantes*. Bio Linéaires. https://www.biolineaires.com/les_techniques_d_extraction_de_plantes/
- [5] Guettai, N., &Hamdat, R. (2022). Extraction des huiles grasses du café : caractérisations et application (Mémoire de Master). Université KasdiMerbah, Ouargla.
- [6] Hamidi, D., &Kouarisouhila, K. (2019). Extraction, caractérisation et identification des composés chimiques d'une huile naturelle (Mémoire de Master). Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.
- [7] Azzouz, A. (2021). Optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrason des polyphénols de la plante Ephedra (Mémoire de Master). Université Abou-BekrBelkaid, Tlemcen.
- [8] Fang, X., Gu, S., Jin, Z., Hao, M., Yin, Z., & Wang, J. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted simultaneous extraction of three active compounds from the fruits of *Forsythia suspensa* and comparison with conventional extraction methods. *Molecules*, 23(9), 2115.
- [9] Kurhajec, S., Sabadková, D., Franc, A., &Vetchý, D. (2017). Extraktyakomodernálieková forma pre prírodnéliečivá. *Chemickélisty*, 111(4), 251–257.
- [10] Ayub, M., Goksen, G., Fatima, A., Zubair, M., Abid, M., & Starowicz, M. (2023). Comparison of conventional extraction techniques with superheated steam distillation on chemical characterization and biological activities of *Syzygium aromaticum* L. essential oil. *Separations*, 10(1), 27.

PARTIE II:
PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I :
MATERIEL ET METHODES

I.1 Introduction

Les polyphénols font l'objet de nombreuses recherches scientifiques en raison de leur intérêt biologique et de leur implication dans la protection des systèmes biologiques. Dans ce contexte, l'étude des composés phénoliques de *Rosmarinus officinalis* s'inscrit dans une démarche de valorisation d'une plante médicinale riche en métabolites secondaires.

Dans le cadre de l'étude de l'espèce végétale *Rosmarinus officinalis*, deux axes ont été retenus. Le premier concerne l'extraction des composés phénoliques à partir de cette plante selon trois méthodes complémentaires, à savoir la macération, l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction Soxhlet. Un criblage phytochimique a ensuite permis d'identifier les principales familles de métabolites secondaires présentes.

Le second axe porte sur l'étude quantitative des composés phénoliques et flavonoïdes par méthode colorimétrique, à travers le dosage des teneurs totales en polyphénols et en flavonoïdes, exprimées en mg/g de matière sèche, à l'aide des méthodes de Folin-Ciocalteu et du trichlorure d'aluminium, respectivement.

Notre démarche expérimentale est résumée dans le schéma ci-après (Schéma I.1)

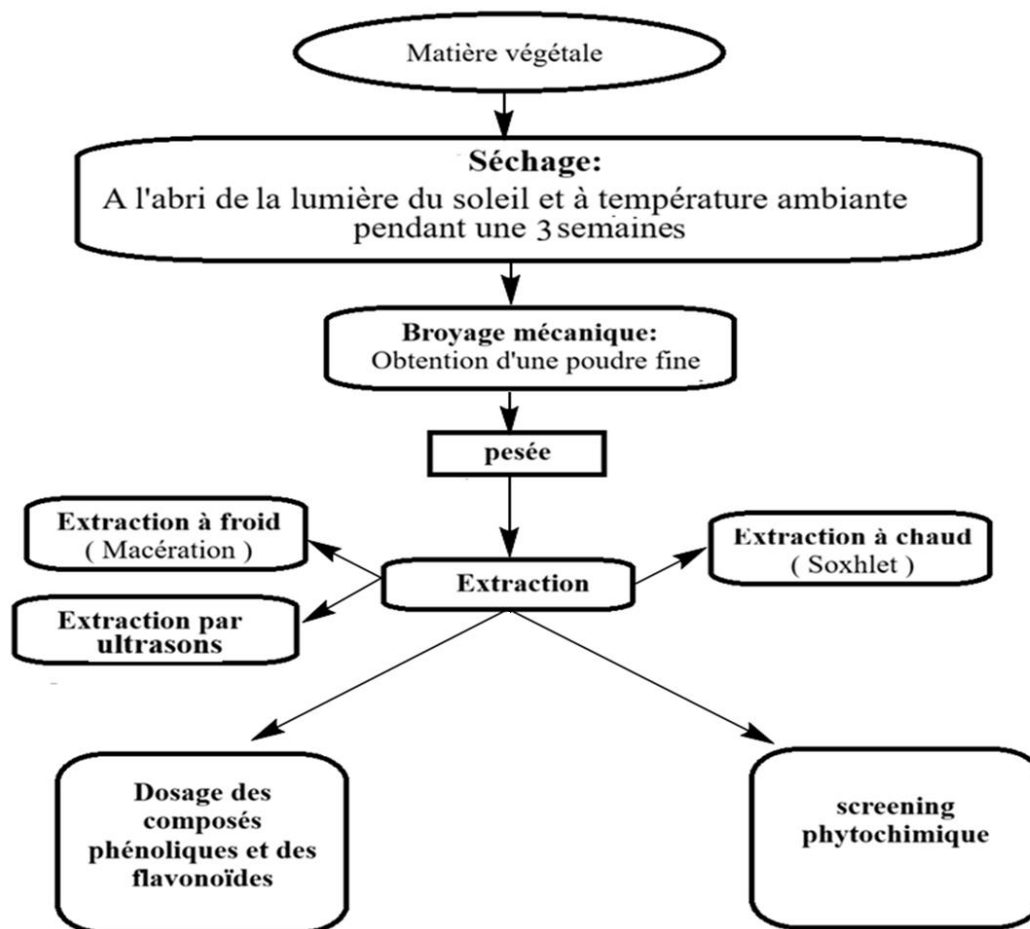


Schéma I. 1 : Démarche expérimentale suivie dans cette étude.

I.2.Matière et matériel végétal

I.2.1 Récolte du matériel végétal :

La collecte de la plante *Rosmarinus officinalis* a été réalisée dans les montagnes d'El Chat, situées dans la wilaya D'El Taraf, au nord-est de l'Algérie (figure I.1). La partie aérienne de la plante a été séchée à l'ombre, à température ambiante, pendant trois semaines, à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure I.2 : Photo de *Rosmarinus officinalis*.

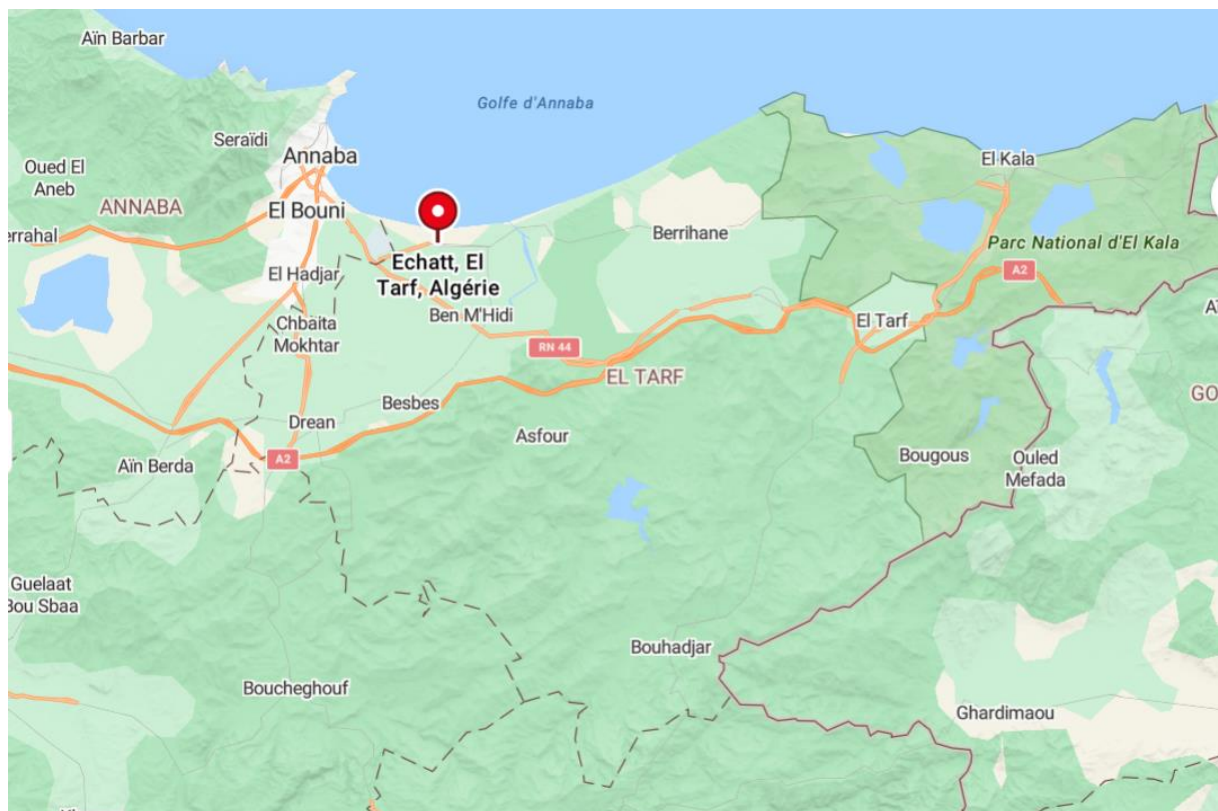


Figure I.3 : Situation géographique de la zone de récolte de la plante étudiée.

I.2.2 Préparation de l'échantillon

La plante séchée a été pulvérisée dans un moulin à café, et les poudres obtenues conservées dans des flacons en verre hermétiques en attendant les analyses.



Figure I.4 : Broyage de *Rosmarinus officinalis*.

I.2.3 Matériels et réactifs

Tableau I.1 : Matériels et réactifs utilisés

| Matériels | Réactifs |
|------------------------------|--|
| Bain ultrasonique | Méthanol (CH ₃ OH)§ |
| Étuve | Acétate d'éthyle (CH ₃ COOCH ₂ CH ₃) |
| Rotavapeur | n-Butanol (C ₄ H ₉ OH) |
| Balance de précision | Chloroforme (CHCl ₃) |
| Plaque chauffante | Chlorure de fer (III) (FeCl ₃) |
| Agitateur | Éther de pétrole (C ₆ H ₁₄) |
| Ballon | Carbonate de sodium (Na ₂ CO ₃) |
| Réfrigérant | Acide chlorhydrique (HCl) |
| Micropipette | Hydroxyde d'ammonium (NH ₄ OH) |
| Papier filtre | Éthanol (C ₂ H ₅ OH) |
| Bécher | |
| Erlenmeyer (fiolle) | |
| Verre de montre | |
| Éprouvette graduée | |
| Pipettes | |
| Cristalliseur | |
| Tubes à essai | |
| Réfrigérateur | |
| Boîtes de Pétri | |
| Entonnoir | |
| Ampoule à décanter ; Spatule | |

I.3 Les méthodes d'extraction

•Macération

La poudre végétale séchée et broyée a été soumise à une extraction par macération. Une quantité de 7 g de poudre de la plante *Rosmarinusofficinalis* a été macérée dans 70 mL d'éther de pétrole dans un erlenmeyer de 100 mL. Le mélange a été agité de manière intermittente et maintenu à température ambiante pendant 24 heures.

Après cette période, le macérât a été filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman. Le marc restant dans l'entonnoir a été récupéré et utilisé pour une extraction hydroalcoolique. Pour cela, un mélange de 20 mL d'eau et 50 mL de méthanol a été ajouté au marc, puis le mélange a été laissé en macération pendant 48 h. Après ce temps, la solution obtenue a été filtrée puis concentrée à l'étuve à 35 °C afin d'éliminer le solvant.



Figure I.5 : Extraction des composés bioactifs de *Rosmarinusofficinalis* par macération

•Extraction par Soxhlet

La méthode de Soxhlet a été mise en œuvre en utilisant 30 g de poudre végétale, introduite dans une cartouche en cellulose, puis soumise à une extraction séquentielle avec deux solvants de polarité croissante : éther de pétrole, l'eau et méthanol.

Pour le premier cycle d'extraction Soxhlet, la quantité de poudre de *Rosmarinusofficinalis*(30g) a été placée dans la cartouche de l'appareil. Le ballon flask contenait 300 mL d'éther de pétrole comme solvant d'extraction. L'appareil a été mis en marche : le solvant a été porté à reflux, ses vapeurs condensées dans le réfrigérant ont percolé

à travers la poudre végétale, et le percolat enrichi en métabolites a été automatiquement siphonné vers le ballon collecteur.

Après ce premier cycle, la cartouche a été transférée dans un nouveau ballon contenant un mélange hydro alcoolique (210 mL d'éthanol + 90 mL d'eau) pour le deuxième cycle. Le processus de reflux et de siphonage a été répété. Cette séquence a été effectuée sur trois cycles au total afin d'assurer l'extraction exhaustive des composés phénoliques et des flavonoïdes. Le temps de chaque cycle est présenté dans le tableau 2. À l'issue de chaque cycle, les solvants ont été évaporés à l'étuve (35 °C), permettant d'obtenir un extrait concentré.

Tableau I. 2 : Durée des cycles d'extraction par Soxhlet.

| Cycle | Temps |
|-------|--------|
| 01 | 43 min |
| 02 | 35 min |
| 03 | 25 min |



Figure I.6 : Extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* par Soxhlet.

•Extraction assistée par ultrasons

L'extraction par ultrasons a été effectuée dans un bain à ultrasons (fréquence : 40 kHz ; puissance : 200 W), à température ambiante (30–35 °C). 7g de poudre de *Rosmarinus officinalis* ont été introduits dans une fiole jaugée de 100 mL contenant 70 mL d'éther de pétrole, puis soumis à une extraction assistée par ultrasons pendant 30 min afin de

faciliter la libération composés apolaires en perturbant les parois cellulaires [1]. Après filtration (séparation du filtrat et du marc), ce dernier a subi une extraction hydro alcoolique avec 50 mL de méthanol et 20 mL d'eau, sous ultrasons pendant 45 min. L'extrait filtré a été concentré à l'étuve (35 °C) pour évaporer les solvants.



Figure I.7 : Extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* par ultrasons.

Extraction liquide-liquide des extraits végétaux

L'extraction liquide-liquide repose sur la séparation de deux phases liquides immiscibles pour fractionner les composés végétaux selon leur polarité. Elle est particulièrement adaptée à l'isolement des phénols, flavonoïdes et autres métabolites secondaires[2].

Après l'obtention des extraits concentrés de la plante *Rosmarinus officinalis* par les différentes méthodes d'extraction (macération, ultrasons et Soxhlet), une extraction liquide-liquide a été réalisée à l'aide de quatre solvants de polarité croissante : éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol. La densité de ces solvants est présentée dans le **tableau I.3**.

Tableau I.3 : Densité des solvants utilisés pour l'extraction liquide-liquide.

| Solvants | Densité |
|------------------|---------|
| éther de pétrole | 0.65 |
| Chloroforme | 1.49 |
| acétate d'éthyle | 0.9 |
| n-butanol | 0.81 |
| L'eau | 1 |

Dans un premier temps, l'extrait hydro alcoolique a été introduit dans une ampoule à décanter, puis une première extraction a été réalisée par addition d'éther de pétrole. Le mélange a été agité vigoureusement, puis dégazé et laissé au repos afin de permettre la séparation des deux phases. La phase organique (supérieure) a été récupérée, tandis que la phase aqueuse (inférieure) a été conservée pour les extractions suivantes.

La phase aqueuse a ensuite été extraite successivement avec le chloroforme, puis avec l'acétate d'éthyle, en répétant les mêmes étapes d'agitation, de dégazage et de séparation des phases. Enfin, une dernière extraction a été réalisée avec le n-butanol, la phase organique correspondante a été récupérée et séchée à l'aide de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) afin d'éliminer l'eau résiduelle.

Enfin, la phase organique filtrée a été concentrée à l'étuve à $35\text{ }^\circ\text{C}$, fournissant un extrait sec stable prêt pour le criblage phytochimique, le dosage des polyphénols et flavonoïdes, et l'évaluation de l'activité antioxydante.



Figure I.8 : Extraction liquide-liquide des extraits végétaux de la plante.

- **Rendement d'extraction :**

Le rendement d'extraction a été déterminé selon l'équation :

$$R(\%) = \frac{MP}{ME} \times 100$$

- ME : masse de l'extrait obtenu (g)
- MP: masse initiale de poudre végétale utilisée (g)

I.4 : Criblage Phytochimique :

Le criblage phytochimique regroupe l'ensemble des méthodes physico-chimiques destinées à détecter et identifier les principales classes de métabolites secondaires des plantes. Les groupes phytochimiques majeurs, responsables des activités biologiques et évalués selon Harborne[3,4], sont les suivants :

Les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les anthocyanes, teste de lipide, les stérols et les terpènes.

Les protocoles d'identification pour chaque classe de composés sont décrits ci-dessous :

1. Alcaloïdes

Macérer 2 g de la poudre sèche dans 20 mL de HCl à 1%. Laisser l'ensemble en macération pendant 2 h. Après filtration, introduire 5 mL du filtrat dans un tube à essai et ajouter quelques gouttes de réactif de Mayer. L'apparition d'un précipité blanc-jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes [5].

2. Les flavonoïdes

Macérer 2g de poudre de la matière végétale dans 40ml de HCl dilué à 1% pendant 24h. Après avoir filtré le mélange, prendre 2 ml du filtrat et le rendre basique par l'ajout de NH₄OH. L'apparition d'une couleur jaune claire dans la partie supérieur du tube indique la présence des flavonoïdes [6].

3. Tanins

Prendre 2g de matériel végétal, les macérer pendant 2 heures dans éthanol C₂H₅OH à 1%. Filtrer puis ajouter quelques gouttes d'une solution de FeCl₃ à 2% (2g FeCl₃ dans 100ml de C₂H₅OH). L'apparition d'une couleur verte indique la présence des tanins [6].

4. Saponines

On prend 2g de matériel végétal dans 50ml de H₂O, on chauffe jusqu'à ébullition 30 min puis on filtre le mélange et on laisse refroidir. Quelques millilitres du filtrat sont mis dans un tube à essais puis on agite fortement dans le sens de la longueur du tube. L'apparition d'une mousse qui persiste quelques secondes indique la présence des saponines[6].

5. Lipides

3 g de poudre sèche sont macérés dans 50 mL d'hexane pendant 24 heures. Après filtration, le solvant est évaporé sous pression réduite à 40 °C. L'extrait obtenu correspond à un extrait lipidique brut (huile)[7].

6. Stérols et terpènes :

Prendre 2g de matériel végétal dans 30ml d'éther de pétrole, pendant 24 heures. Filtrer et évaporé dans l'étuve ; le résidu obtenu est dissout dans 0,5ml d'acide acétique et 0,5ml de CHCl₃. Puis 1ml de l'acide sulfurique concentré est ajouté. L'apparition d'un cercle violet ou marron est formée puis il devient gris, ce qui indique la présence des stérols et terpènes [8].

7. Test d'anthocyane :

1ml d'infusé à 10 % (10 g de poudre dans 100 mL d'eau) est prélevé. Quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré (HCl) sont ajoutées, ce qui entraîne un changement de couleur vers le rose-rouge. Ensuite, quelques gouttes d'hydroxyde d'ammonium (NH₄OH) sont ajoutées ; une seconde variation de couleur vers le bleu violacé est observée. Ces changements confirment la présence d'anthocyanes [9].

I.5 Dosage quantitatif

I.5.1 Dosage des flavonoïdes totaux

- Principe

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par méthode colorimétrique adaptée des protocoles classiques. Ce dosage repose sur la formation d'un complexe flavonoïdes-AlCl₃ produisant une coloration rosée dont l'intensité, proportionnelle à la concentration en flavonoïdes, est mesurée par spectrophotométrie. L'absorbance obtenue est rapportée à une courbe d'étalonnage établie avec la catéchine comme standard [10].

- **Protocole**

Dans des fioles jaugées contenant 4mL d'eau distillée, ont été ajoutés 1mL d'extrait ou de solution étalon de catéchine (25, 80, 120, 160, 200 et 250mg/L). À $t = 0$ min, 0.3mL de NaNO_2 5% (p/v) ; puis, après 5min, 0.3mL de AlCl_3 10% ; et enfin, 5 min plus tard, 2 mL de NaOH 1M. Le volume final a été porté à 10 mL avec 2,4 mL d'eau distillée, et le mélange vigoureusement agité.

L'absorbance de la solution rosée a été mesurée à 510 nm contre un blanc méthanolique en spectrophotométrie UV-Vis. La teneur en flavonoïdes totaux, exprimée en μg équivalents catéchine/g de matière sèche ($\mu\text{gEC/g MS}$), a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage de la catéchine. Les analyses ont été réalisées par triplicata.

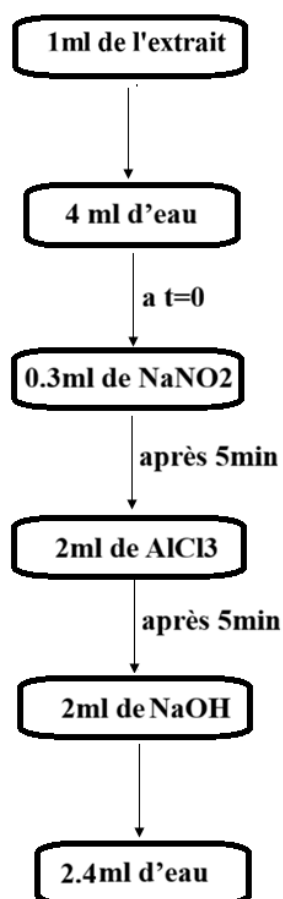


Figure I.9 : Schéma de protocole de dosage des flavonoïdes par la méthode colorimétrique ($\text{NaNO}_2\text{-AlCl}_3$).

I.5.2 Dosage des poly phénols totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu subit une réduction par les composés phénoliques en milieu alcalin, ce qui conduit à la formation d'un complexe bleu qui est mesuré à 765 nm. Les résultats sont exprimés en μg équivalents acide gallique par g de matière sèche végétale (μg EAG/g MS) [10, 11].

- **Protocole**

L'évaluation des taux des polyphénols totaux de l'extrait brut est réalisée en utilisant la méthode de Folin-Ciocalteu. Dans une fiole jaugée de 250 ml contenant initialement 2ml d'eau distillée, on introduit 1ml d'extrait de plante ou de la solution de l'acide gallique à des concentrations (25, 80, 120, 160, 200 ,250mg/l). Suite à l'ajout de 1,0 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et son agitation, la solution a été laissée en réaction pendant 5 min. Ensuite, 10,0 ml de Na_2CO_3 ont été introduite, puis le volume a été ajusté jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée. Après incubation de 90 min à température ambiante à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre contre un blanc (une solution de méthanol. La teneur en polyphénols des échantillons analysés sont déterminées par la relation suivante :

Teneur totale en polyphénols (μg EAG/g MS) = $(C \times V) / m$.

C = concentration équivalente en acide gallique (mg/l),

V = volume total de l'extrait (l),

m = masse de l'échantillon (g, matière sèche).

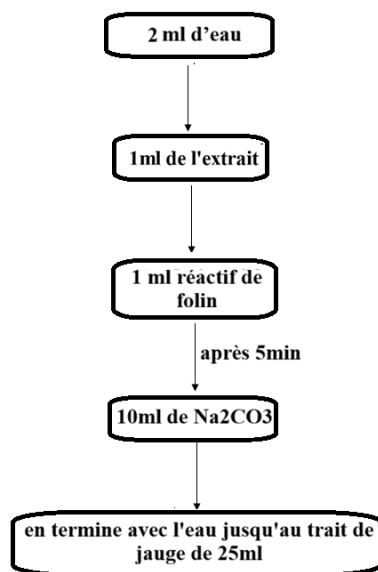


Figure I.10 : protocole de dosage des polyphénols totaux par la méthode de FolinCiocalteu

Références bibliographies

- [1]. Y.-W. Lin, C.-L.Tsai, C.-J.Chen, P.-L.Li, and P.-H. Huang, "Insights Into the Effects of Multiple FrequencyUltrasoundCombinedWithAcidTreatments on the Physicochemical and Thermal Properties of Brown RicePostcooking," LWT 188 (2023): 115423.
- [2]. Usman, I., Hussain, M., Imran, A., Afzaal, M., Saeed, F., Javed, M., ...& A. Saewan, S. (2022). Traditional and innovativeapproaches for the extraction of bioactive compounds. International Journal of Food Properties, 25(1), 1215-1233.
- [3]. Harbone, J.B. (1984): Phytochemical Methods a guide to modern technique of plants analysis, Chapman et Hall, 2 nd ed. London.
- [4]. Mammass, B., Rachid, B., Lahbib, F., Mohammed, H., Abdelhafed, E., & Mohamed, A. (2025). Phytochemical screening and in vitro evaluation of antioxidant and antibacterial activity of aqueous and organic extracts of the Moroccan endemic medicinal plant *Zygophyllumgaetulum*. International Journal of Environmental Studies, 82(1), 330-347.
- [5]. Harborne, J.B. (1994): The flavonoids: Advances in research since 1986. Chapman & Hall, Cambridge.
- [6]. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, 3rd ed., Chapman & Hall, London, 1998.
- [7]. Bouquet, A. (1972) : Travaux et documents de L'ORSTOM, N° 13, ORSTOM, Paris.
- [8]. Razafindrambao, R.S. (1973) : Travaux et documents de l'ORSTOM, N° 25 ORSTOM. Paris
- [9]. O., Joseph-Privat, O., Louis-Clément, O. E., Guy-Stéphane, P., Cheikna, Z., JeanBernard, B. O. N. G. U. I., ... &Edouard, T. A. (2016). Phytochemical screening, evaluation of antioxidant and antimicrobialproperties of *Erythrophleumivorense* A. Chev (Leguminosae) and *Megaphrynummacrostachyum*Benth (Marantaceae), medicinal plants from Gabon.International Journal of Biosciences, 8(6), 43-53.
- [10].Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. NOV'AE-Ingénierie et savoir-faire innovants, (spécial Cahier des techniques), 79-82.
- [11]. Vl, S. (1999). Analysis of total phenols and otheroxidationsubstrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteureagent.Methods in Enzymology, 299, 152-178.

CHAPITRE II:
RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 Screening Phytochimique

Les tests préliminaires de caractérisation, réalisés sur notre plante (la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis*), nous ont permis de mettre en évidence la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, également désignés comme groupes phytochimiques. Tous les résultats sont présentés dans le **tableau II.01**.

Tableau II.1 : Screening phytochimique de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis*

| | |
|---|-----|
| Alcaloïdes | - |
| les flavonoïdes | +++ |
| Tanins | +++ |
| SAPONINES | +++ |
| Lipides | +++ |
| Stérols et terpènes | + |
| Test d'anthocyane | - |
| +++ : Très présent + : présent - : absent | |



Figure II.1 : Test des flavonoïdes.



Figure II.2 : Test des tanins.



Figure II.3 : Test des saponines



Figure II.4 : Test des lipides.

D'après le tableau II.1, on remarque que la plante étudiée est riche en métabolites secondaires. On constate une forte présence des flavonoïdes, des tanins et des saponines constituent les groupes les plus fréquents, tandis que les stérols et terpènes sont présents en quantité modérée. En revanche, les alcaloïdes et les anthocyanes sont absents.

II.2 Comparaison des rendements d'extraction obtenus par les trois méthodes

Les rendements de chaque méthode ont été calculés selon la formule

$$R = (m_{\text{extrait}} / m_{\text{poudre}}) \times 100.$$

Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau II.2**.

Tableau II.2 : Rendements d'extraction obtenus par les trois méthodes

| | R Acétate % | R Chloroforme % | R Ether de pétrole % | R N-butanol % |
|-------------------|-------------|-----------------|----------------------|---------------|
| Macération | 2.2 | 2.25 | 2 | 2.47 |
| Soxhlet | 0.51 | 0.9 | 0.23 | 0.63 |
| Ultrasons | 2.4 | 2.49 | 8.4 | 2.7 |

Les résultats présentés montrent clairement que les rendements d'extraction varient en fonction de la méthode utilisée et de la nature du solvant.

La méthode par ultrasons donne les meilleurs rendements pour la plupart des solvants, avec une valeur particulièrement élevée pour l'éther de pétrole (8,4 %). Cette efficacité peut s'expliquer par le phénomène de cavitation, qui favorise la rupture des parois cellulaires et facilite la libération des composés.

La macération présente des rendements intermédiaires (2–2,5 %), ce qui indique une extraction correcte mais limitée, probablement en raison de l'absence d'agitation intensive et de la lente diffusion des solutés.

En revanche, la méthode Soxhlet montre les rendements les plus faibles (0,23–0,9 %). Cela peut être attribué à l'effet de la température élevée, susceptible de dégrader certains composés thermosensibles ou d'entraîner la perte de composés volatils.

II.3 Dosage des composés phénoliques

On prépare des solutions filles de concentrations respectives (25, 80, 120, 160, 200 et 250 mg/L). En suivant le protocole décrit ci-dessus, on obtient les absorbances correspondantes à chaque concentration d'acide gallique (**Tableau II.3**).

Tableau II.3 : Absorbances de l'acide gallique en fonction de leurs concentrations.

| C (mg/l) | 25 | 80 | 120 | 160 | 200 | 250 |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance | 0,374 | 0,509 | 0,590 | 0,680 | 0,758 | 0,859 |

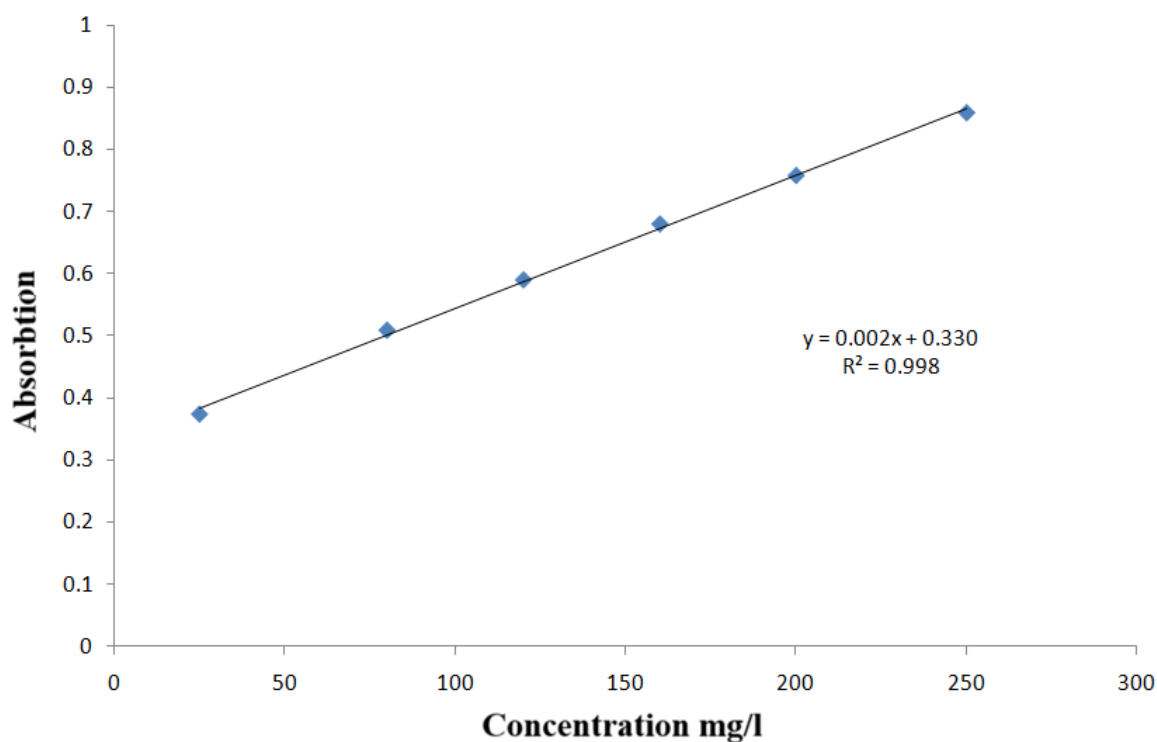


Figure II.5 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II.4 Dosage des flavonoïdes totaux

On prépare des solutions filles de concentrations respectives (25, 80, 120, 160, 200 et 250 mg/L). En suivant le protocole décrit ci-dessus, on obtient les absorbances correspondantes à chaque concentration de l'acatéchine (**Tableau II.4**).

Tableau II.4 : Absorbances de la catéchine en fonction de leurs concentrations.

| C (mg/l) | 25 | 80 | 120 | 160 | 200 | 250 |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Absorbance | 0,594 | 0,645 | 0,671 | 0,676 | 0,697 | 0,740 |

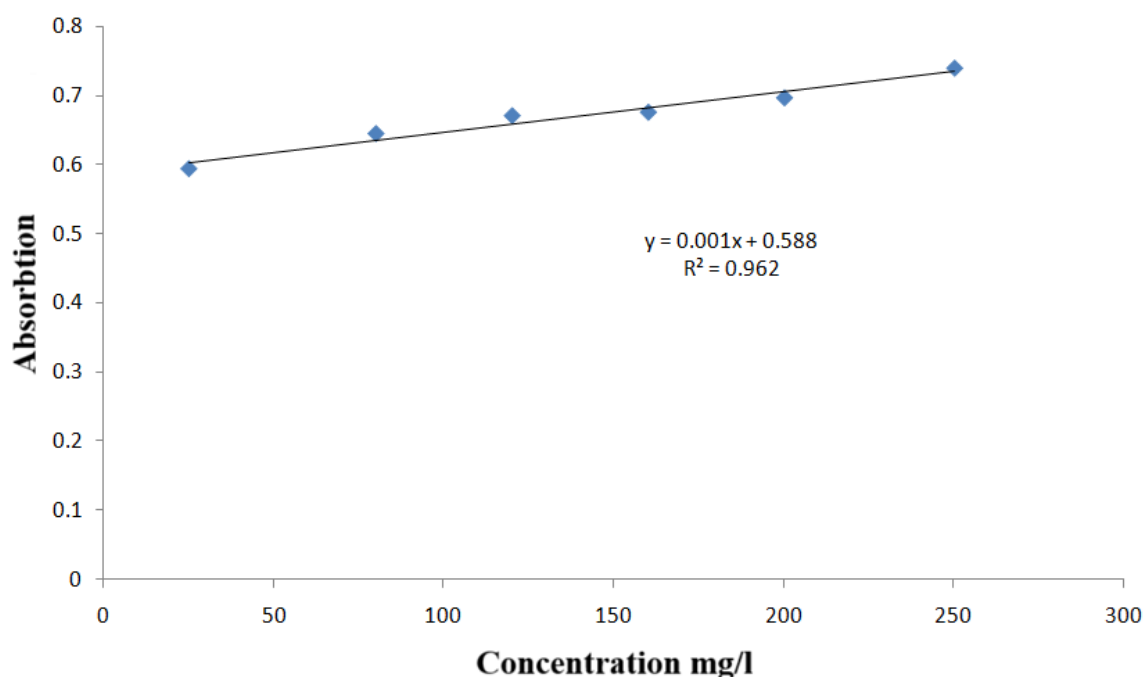


Figure II.6 : Courbe d'étalonnage de la catéchine

En se basant sur les valeurs d'absorbance des solutions d'extrait (extrait de la partie aérienne), ayant réagi, et comparées à la solution étalon en équivalent d'acide gallique et en équivalent de catéchine comme décrit ci-dessus, les résultats de l'analyse spectrophotométrique des composés phénoliques totaux et flavonoïdes totaux sont résumés dans le tableau 05 et sont représentés par Les figures II.7-II.9 pour les trios méthodes. La teneur en composés phénoliques est exprimée en micro grammes équivalents à l'acide gallique ($\mu\text{g GAE}$) et la teneur en flavonoïdes est exprimée en micro gramme équivalents à la catéchine. Ces résultats se rapportent à 1 gramme de matière sèche et les valeurs représentent les moyennes de trois mesures \pm déviation standard [1].

II.5 Analyses quantitatives des flavonoïdes et polyphénols

Tableau II.5 : Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux de *Rosmarinus officinalis*.

| Teneur en polyphénols T µg EAG/g MS | | | | Teneur en flavonoïdes T µg EC/g MS | | | |
|--|-------------|---------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|---------------------|------------|
| Macération | | | | | | | |
| acétate | chloroforme | éther de pétrole | N-butanol | acétate | chloroforme | éther de pétrole | N-butanol |
| 97,5 ±4,62 | 45,82 ±0,14 | 32,78±0,71 | 203,21 ±0,5 | 54,57±1,14 | 11,42 ±0,42 | 5,57±0,57 | 82,85±0,14 |
| Soxhlet | | | | | | | |
| 121,92±2,35 | 14 ±0,21 | 14,28±0,07 | 217,14±1,01 | 66,57±0,28 | 2,57 ±0,42 | 5,14±0,57 | 85,28±0,42 |
| Ultrasound | | | | | | | |
| 80 ±1,5 | 14,57 ±1,43 | 6,78±0,85 | 17 ±0,57 | 36±1,42 | 6,05 ±1,68 | 3,42 ±0,57 | 90,86±2,14 |

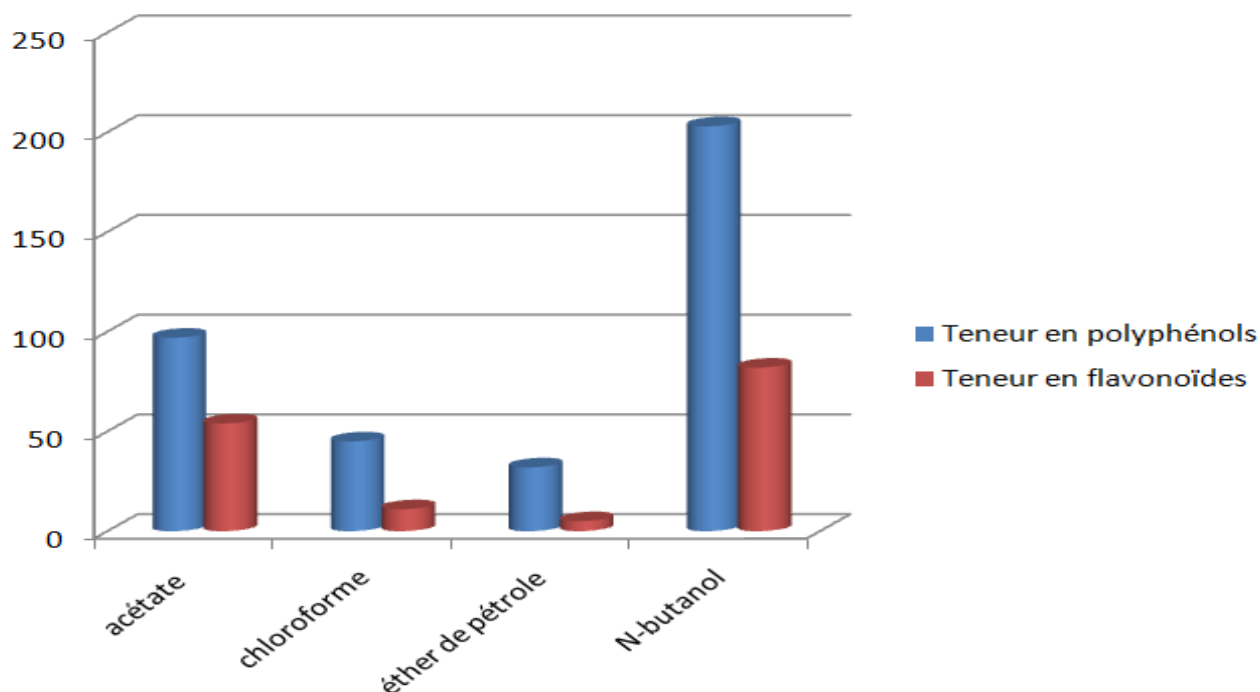


Figure II.7 : Évaluation des teneurs en flavonoïdes et phénols totaux obtenus par macération

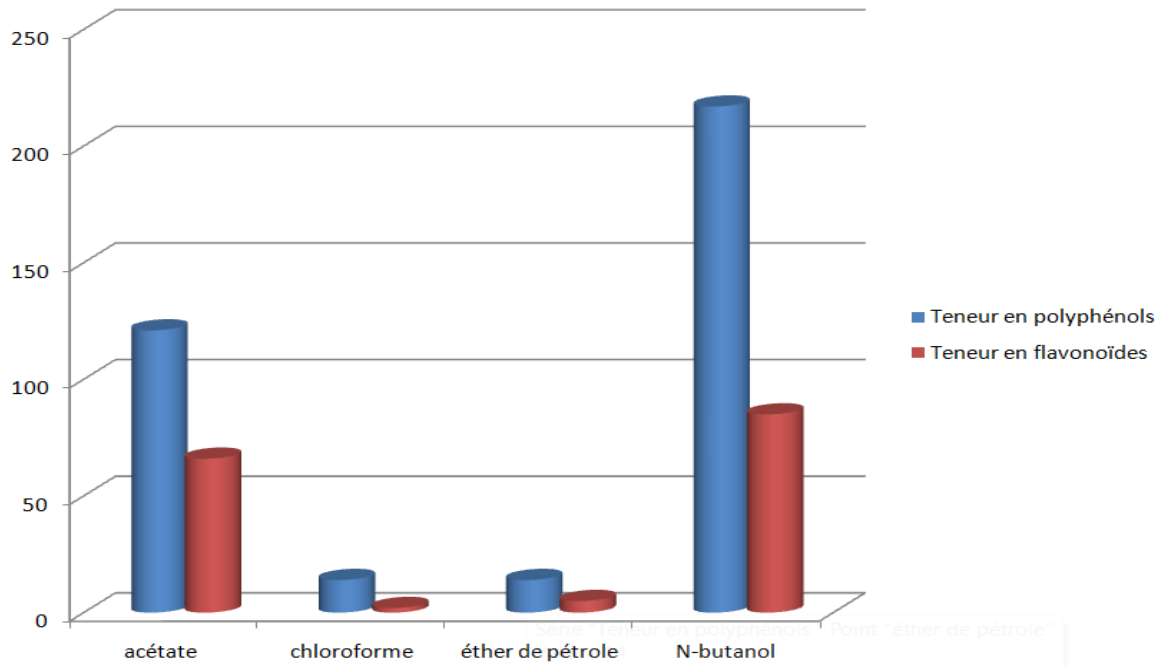


Figure II.8 : Évaluation des teneurs en flavonoïdes et phénols totaux obtenus par soxhlet.

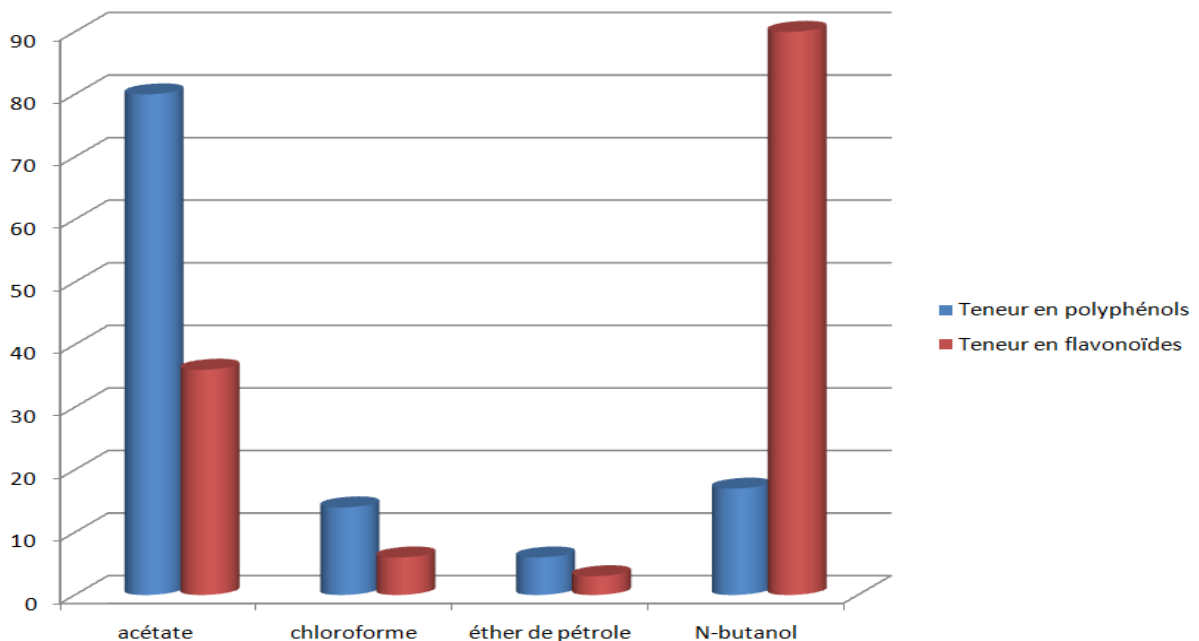


Figure II.8 : Évaluation des teneurs en flavonoïdes et en composés phénoliques totaux obtenus par extraction assistée par ultrasons.

Discussion

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes varient considérablement en fonction de la méthode d'extraction utilisée ainsi que de la polarité du solvant employé.

Concernant les polyphénols totaux, les extraits obtenus avec le n-butanol présentent les teneurs les plus élevées pour les méthodes de macération ($203,21 \pm 0,5 \mu\text{g EAG/g MS}$) et de Soxhlet ($217,14 \pm 1,01 \mu\text{g EAG/g MS}$). Cette forte concentration peut être attribuée à la polarité intermédiaire du n-butanol, qui favorise l'extraction des composés phénoliques. Des résultats similaires ont été rapportés dans plusieurs études montrant que les polyphénols sont généralement plus solubles dans les solvants polaires ou semi-polaires.

L'extraction par Soxhlet a permis d'obtenir la plus forte teneur en polyphénols, notamment dans la fraction n-butanolique et dans l'extrait à l'acétate d'éthyle ($121,92 \pm 2,35 \mu\text{g EAG/g MS}$). Cette efficacité peut être expliquée par l'action combinée de la température élevée et du renouvellement continu du solvant, favorisant une meilleure diffusion des composés bioactifs à travers les parois cellulaires végétales.

La macération a également donné des rendements appréciables en polyphénols, particulièrement avec le n-butanol et l'acétate d'éthyle. Toutefois, les valeurs obtenues restent légèrement inférieures à celles du Soxhlet, ce qui pourrait être lié à l'absence de chauffage et à une extraction moins exhaustive.

En revanche, la méthode par ultrasons a montré une baisse significative de la teneur en polyphénols, notamment dans les fractions chloroformique ($14,57 \pm 1,43 \mu\text{g EAG/g MS}$), éther de pétrole ($6,78 \pm 0,85 \mu\text{g EAG/g MS}$) et n-butanolique ($17 \pm 0,57 \mu\text{g EAG/g MS}$). Cette diminution pourrait être due à une durée d'extraction insuffisante ou à une éventuelle dégradation de certains composés phénoliques sous l'effet des phénomènes de cavitation.

Pour les flavonoïdes, la même tendance générale est observée. Les fractions obtenues avec le n-butanol présentent les concentrations les plus élevées pour les trois méthodes d'extraction, avec des valeurs de $82,85 \pm 0,14$, $85,28 \pm 0,42$ et $90,86 \pm 2,14 \mu\text{g EC/g MS}$ respectivement pour la macération, le Soxhlet et les ultrasons. Ces résultats indiquent que les flavonoïdes présents dans l'échantillon possèdent une polarité compatible avec celle du n-butanol.

L'extraction Soxhlet a permis d'obtenir la teneur la plus élevée en flavonoïdes dans l'extrait à l'acétate d'éthyle ($66,57 \pm 0,28 \mu\text{g EC/g MS}$), suivie de la macération ($54,57 \pm 1,14 \mu\text{g EC/g MS}$), tandis que l'extraction assistée par ultrasons a donné une valeur plus faible ($36 \pm 1,42 \mu\text{g EC/g MS}$). Cette différence confirme l'influence de la température sur la solubilisation et la diffusion des flavonoïdes.

Les extraits obtenus avec le chloroforme et l'éther de pétrole présentent les plus faibles teneurs en polyphénols et en flavonoïdes quelle que soit la méthode d'extraction. Cela s'explique par la faible polarité de ces solvants, qui limite l'extraction des composés phénoliques généralement polaires.

Dans l'ensemble, les résultats montrent que le n-butanol constitue le solvant le plus efficace pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes, tandis que la méthode Soxhlet apparaît comme la technique d'extraction la plus performante pour la récupération de ces métabolites secondaires. Ces observations soulignent l'importance du choix du solvant et de la technique d'extraction dans la valorisation des composés bioactifs d'origine végétale.

Références bibliographiques :

[1]. Djilani, A., Toudert, N., & Djilani, S. (2011). Evaluation of the hypoglycemic effect and antioxidant activity of methanol extract of *Ampelodesmum mauritanicum* roots. *Life Sciences and Medicine Research*, 31, 1-6.

Conclusion

Au terme de cette étude portant sur la valorisation du romarin sauvage (*Rosmarinus officinalis* L.) récolté dans la région d'El Tarf, plus précisément à El Chat, il apparaît que cette espèce constitue une source importante de composés bioactifs présentant un intérêt potentiel dans les domaines pharmaceutique, thérapeutique et agroalimentaire.

Le criblage phytochimique réalisé a révélé la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires, notamment les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les lipides ainsi que les stérols et terpènes. Ces résultats confirment la richesse chimique du romarin et justifient son utilisation traditionnelle dans diverses applications médicinales.

L'étude comparative des différentes méthodes d'extraction (macération, Soxhlet et extraction assistée par ultrasons) a montré que l'efficacité de l'extraction dépend étroitement de la technique employée ainsi que de la nature du solvant utilisé.

Les analyses quantitatives ont mis en évidence des variations notables des teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes selon les conditions d'extraction. L'extraction assistée par ultrasons a permis d'obtenir le meilleur rendement d'extraction (8,4 %), démontrant l'intérêt de cette technique moderne, rapide et efficace.

Par ailleurs, les teneurs les plus élevées en polyphénols totaux ont été enregistrées dans la fraction n-butanolique obtenue par Soxhlet, tandis que les concentrations les plus importantes en flavonoïdes ont également été observées dans les extraits n-butanoliques, particulièrement ceux issus de l'extraction assistée par ultrasons.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus mettent en évidence le potentiel du romarin sauvage comme source naturelle de molécules bioactives. Ils soulignent également l'importance du choix de la méthode d'extraction et du solvant pour optimiser la récupération des composés phénoliques d'intérêt. Cette étude constitue ainsi une base scientifique pour de futures recherches visant à approfondir la caractérisation chimique des extraits, à évaluer leurs activités biologiques et à promouvoir la valorisation de cette ressource végétale locale dans différents secteurs d'application.