

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret  
Faculté sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la nature et de la vie.

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne.

Présenté par :

SEGHIR Lynda

YAHIAATENE Rima

Thème

Evaluation de l'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* de la région de Tiaret

Soutenu publiquement le 02/07/2019

**Jury**

**Grade**

**Président :** Mr KADDAR Bachir

MCB

**Encadreur :** Mr ALI-NEHARI Abdelkader

MCB

**Examineur :** Mme MEZOUAR Djamila

MCB

**Année universitaire 2018/2019**

# **Remerciement**

*Avant toute chose, je tiens à remercier mon miséricorde dieu qui nous a données la force et la patience.*

*On tient à exprimer nos sincères remerciements à notre encadreur Mr. ALI NEHARI AEK pour sa confiance, son soutien, son attention, ses bons conseils, ses qualités humaines pour tout cela, on tient à lui exprimer toute notre gratitude pour ces encouragements et surtout pour la grande patience qu'il a manifestée, on se trouve incapable de formuler nos remerciements à lui. Aujourd'hui on témoigne que on vous suit redevable et on vous remercie par l'occasion, pour avoir bien voulu examiner notre travail.*

*On remercie les membres de jury d'avoir bien voulu accepter de juger ce travail, nous sommes reconnaissante et en espérant être à la hauteur de votre confiance.*

*Nos sincères remerciements à Mr KADDAR. B pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de notre soutenance.*

*Nos remerciement également Mme MEZOUAR pour l'honneur qu'elle nous a réservé d'avoir acceptée d'examiner ce travail.*

*On voudrait ensuite exprimer toute notre gratitude, reconnaissance et remerciement à nos enseignantes M<sup>me</sup> BENARABA. R et M<sup>me</sup> BOUTHELDJA pour leur soutien et leur aide.*

*Nous tenons à remercier l'ensemble des enseignants du département SNV qui ont participé à notre formation de Master.*

*On souhaite également exprimer notre reconnaissance aux personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*Merci à tous et à toutes*

# **Dédicace**

*A la femme la plus courageuse, sensible, généreuse, à celle qui a su me donner amour et joie de vivre, à celle qui a toujours montrée affection et compréhension à mon égard, ma mère que j'aime.*

*A l'homme de courage et de force, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime.*

*A ceux qui m'ont aidé et m'ont donné joie et bonheur :*

*Mon frère Fayçal .*

*Ma sœur AYA.*

*Au défunt BOUBAKER qui a laissé un grand vide mai qui est toujours dans mon cœur.*

*A ma chère sœur et ma confidente Lynda.*

*Mes chères Chaima et Fatma .*

*A mes cousins et mes cousines que j'adore beaucoup.*

*A la famille SEGHIR surtout tata BAHRIA.*

*A mes amis les plus fidèles en particulier Hamama taher et kader .*

*A toute la promo Biotechnologie microbienne.*

*A ceux que j'ai eu la chance de connaître, dans les meilleurs et pires moments de ma vie.*

*A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment, je dédie ce modeste travail.*

**Rima**

# **Dédicace**

*Tout en espérant être à la hauteur*

*Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a transmis la vie, l'amour et le courage, à ma très chère maman toutes mes joies, mon amour et ma reconnaissance.*

*A mon très cher père pour qui je prie dieu ardemment pour la conservation de sa santé et de sa vie.*

*Qu'Allah vous protège pour nous.*

*A mon cher homme Mohamed Aly, qui m'a soutenu durant toute l'année et je prie dieu qu'il le garde pour moi et nous réunisse pour un long chemin commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle*

*Mes adorables frères et sœurs Mohamed Amine, Fatma et Aya je vous souhaite tout le bonheur du monde.*

*A mes beaux-parents tonton Tayeb et tata Assia Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, Puisse Dieu, le tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A ma confidente Ryma pour son soutien, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A mes chères amis Hamama, Taher et Kader et tous mes proches.*

*J'espère que vous trouviez dans ce travail toute ma reconnaissance et tout mon amour.*

***Lynda***

## *Table de Matière*

<b>Liste des Abréviations...</b>	i
<b>Liste des Tableaux</b>	ii
<b>Liste des Figures</b>	iii
<b>Résumés</b>	iv

### *1<sup>ère</sup> partie : Introduction Générale*

<b>Introduction</b>	1
---------------------	---

### *Partie expérimentale*

#### *Chapitre 1 : Matériel et Méthodes*

<b>I. Matériel et Méthodes</b>	P.7
1. Présentation de la région d'étude	P.7
2. Matériels biologiques	P.9
2. 1. Matériels végétales	P.9
2. 2. Matériel animale	P.10
2. 3. Matériels de laboratoire	P.11
2. 3. 1. Dispositif d'hydrodistillation	P.11
2. 3. 2. Le prétraitement de la plante	P.12
2. 4. Méthodologie de travail	P.13
2. 4. 1. Elevage des rats	P.13
2. 4. 2. Préparation des échantillons	P.14
2. 4. 3. Prétraitement par le CEP	P.15
2. 4. 4. Coupe histologique de la feuille avant et après traitement au CEP	P.16
2. 4. 5. Extraction des HE	P.16
2. 4. 6. Analyse des HE par HPLC	P.18
2. 4. 7. Etude de l'effet anti-inflammatoire des HE et de leurs hydrolats	P.18
2. 4. 8. Analyses statistiques	P.20

## ***Chapitre 2 : Résultats et discussions***

<b>II. Résultats et Discussions</b> .....	P.21
1. Caractéristiques des HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	P.21
2. Le rendement en HE .....	P.21
3. Coupe histologique de la feuille avant e après prétraitement .....	P.23
4. Résultats d'analyse des HE par HPLC .....	P.25
5. Résultats d'évaluation de l'effet anti-inflammatoire des HE .....	P.25
6. La toxicité des huiles essentielles .....	P.27
<b>Conclusion</b> .....	P.29
<b>Références bibliographiques</b> .....	P.31
<b>Annexe</b> .....	P.34

## Liste des abréviations

<b>AFNOR :</b>	: association française de normalisation
<b>C°</b>	: Degré Celsius
<b>CEP</b>	: champ électrique pulsée
<b>Cm</b>	: centimètre
<b>g</b>	: gramme
<b>HD</b>	: Huile diluée
<b>HE</b>	: huiles essentielles
<b>HP</b>	: Huile pure
<b>HPLC</b>	: Hight performance liquid chromatography
<b>KM</b>	: kilo mètre
<b>KV</b>	: Kilo volte
<b>m</b>	: mètre
<b>M</b>	: Masse sèche de la matière végétale utilisée.
<b>M'</b>	: Masse de l'HE obtenue après extraction.
<b>min</b>	: minute
<b>ml</b>	: millilitre
<b>nm</b>	: nanomètre
<b>R.OFFICINALIS</b>	: <i>Romarinus Officinalis</i>
<b>RD</b>	: rendement en huile essentielle
<b>t</b>	: temps
<b>Ul</b>	: microlitre
<b>um</b>	: micro mètre

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01 :</b>	Classification botanique de l'espèce végétale utilisée.....	P.10
<b>Tableau 02 :</b>	Caractéristiques de la matière végétale utilisée.....	P.15
<b>Tableau 03 :</b>	caractéristiques organoleptiques des HE obtenues.....	P.21
<b>Tableau 04 :</b>	Evolution de la taille de la zone d'inflammation durant le traitement....	P.26



## Liste des figures

<b>Figure 01 :</b>	Carte de la situation géographique de la wilaya de Tiaret .....	P.8
<b>Figure 02 :</b>	Photos originales de l'espèce végétale étudiée ( <i>Rosmarinus officinalis</i> ).	P.9
<b>Figure 03 :</b>	Rat Wistar (Photo originale).....	P.10
<b>Figure.4.a :</b>	Schéma du dispositif d'hydrodistillation type « Clevenger ».....	P.11
<b>Figure.4.b :</b>	Schéma de décantation des deux phases du distillat.....	P.11
<b>Figure 05 :</b>	Mode d'action des CEP sur une cellule .....	P.12
<b>Figure 06 :</b>	Elevage des rats (Photo Originale).....	P.13
<b>Figure 07 :</b>	Feuilles de <i>Rosmarinus officinalis</i> après séchage (Photo originale).....	P.14
<b>Figure 08 :</b>	Dispositif des Champs électriques pulsés « CEP » (Photo Originale).....	P.16
<b>Figure 09 :</b>	Procédé d'extraction et de récupération des HE (Photo Originale).....	P.17
<b>Figure 10 :</b>	Test de l'activité anti-inflammatoire chez les rats.....	P.19
<b>Figure 11 :</b>	Comparaison des rendements en HE (impact du traitement par le CEP)	P.22
<b>Figure 12 :</b>	Coupe histologique de la feuille non traitée par le CEP.....	P.24
<b>Figure 13 :</b>	Coupe histologique de la feuille traitée par le CEP.....	P.24
<b>Figure 14 :</b>	Comparaison des taux de guérison chez les traités et non traités.....	P.26

## *Résumé*

---

### *Résumé*

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante médicinale largement répandue dans la région de Tiaret. Elle est utilisée en phytothérapie pour leurs activités biologiques, car elle est riche en huile essentielle (HE), ce qui justifie leurs choix dans cette étude, dont l'objectif principal était d'évaluer leur effet anti-inflammatoire sur les rats. L'extraction par hydrodistillation a fourni des rendements relativement moyens. Afin d'augmenter le rendement de l'extraction des HE ; les feuilles du Romarin ont été exposée à un prétraitement par le champ électrique expulsé (CEP). Les résultats obtenus ont montré que le rendement en HE de la matière sèche traitée par les CEP est remarquablement plus élevé par rapport au rendement de celle non traitée. Les principaux composés trouvés dans ces HE, analysés par chromatographie sont ;  $\alpha$ -pinène (39 %), linalol (19 %),  $\gamma$ -terpinène (13 %) et le para-cymène (11 %). Les résultats du test de leur effet anti-inflammatoire, ont montré que le témoin a enregistré un taux de guérison de 70%. Tandis que les rats traités par l'hydrolat des HE ont enregistré le meilleur taux de guérison de plus de 82 %. Par contre, le traitement par les HE pures a donné un taux de guérison de 55% seulement. Ce qui peut être expliqué par l'effet de toxicité des HE pures.

**Mots clés :** *Rosmarinus officinalis*, huile essentielle, effet anti-inflammatoire, CEP

## *Abstract*

---

### *Abstract*

Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) is a medicinal plant widely found in the region of Tiaret. It is used as herbal medicine for their biological activities because it is rich in essential oil (EO), which justifies their choice in this study, whose main objective was to evaluate their anti-inflammatory effect on rats. Extraction by hydrodistillation has provided relatively an average yields. In order to increase the efficiency of extraction of EO; Rosemary leaves were exposed to pretreatment by the pulsed electric field (PEF). The results obtained showed that the EO yield of the dry matter treated by the PEF is remarkably higher compared to that of the untreated one. The main compounds found in these EO, analyzed by chromatographic are;  $\alpha$ -pinene (39%), linalool (19%),  $\gamma$ -terpinene (13%) and para-cymene (11%). The results of the test of their anti-inflammatory effect have showed that the witness rats recorded a cure rate of 70%. Whereas the rats treated with the hydrolate of EO recorded the best cure rate of more than 82%. In contrast, treatment with pure EO gave a cure rate of only 55%. It can be explained by the toxicity effect of pure EO.

**Key words:** *Rosmarinus officinalis*, essential oil, anti-inflammatory effect, PEF

### الملخص

إكليل الجبل هو نبات طبي موجود على نطاق واسع في منطقة تيارت. يستخدم في طب الأعشاب نظرا لأنشطته البيولوجية العديدة كونه غني بالزيوت الأساسية ، الشيء الذي يبرر اختيارنا له في هذه الدراسة ، والتي كان هدفها الرئيسي هو تقييم تأثيرها كمضادات للالتهاب على الفئران. أعطت عملية الاستخلاص مردود متوسط نسبيا من الزيوت الأساسية. ومن أجل رفع هذا المردود. تمت معالجة أوراق إكليل الجبل بواسطة الحقل الكهربائي المطرود . حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن مردود الزيوت الأساسية المستخلص من المادة الجافة التي تمت معالجتها كانت أعلى بشكل ملحوظ مقارنة مع ناتج المادة غير المعالجة. المركبات الرئيسية الموجودة في هذه الزيوت الأساسية المستخلصة، والتي تم تحليلها بواسطة الكروماتوغرافي هي :  $\alpha$ -بينين (39%) ، ينالول (19%) ، - $\gamma$ ترينين (13%) . باراسيمان (11%) كما أظهرت نتائج اختبار تأثيرها كمضاد للالتهاب ، أن الشاهد سجل معدل شفاء قدره 70٪. في حين سجلت الفئران التي عولجت بزيوت مخففة أفضل معدل علاج لأكثر من 82٪. في المقابل ، أعطى العلاج بالزيوت المركزة معدل شفاء 55٪ فقط. يمكن تفسير ذلك من خلال تأني سمية . بالزيوت المركزة النقية.

كلمات مفتاحية: إكليل الجبل ، الزيوت الأساسية ، الأثر المضاد للالتهاب، الحقل الكهربائي

المطرود

# ***Introduction Générale***

### **Introduction :**

Le monde végétal offre des ressources inépuisables tout au long du développement des civilisations humaines. Nous ne connaissons malheureusement qu'une infime partie de ce monde. Depuis les plus anciennes civilisations connues, les peuples partout dans le monde ont utilisés les plantes à des fins condimentaires, thérapeutique et cosmétiques. L'homme a toujours cherché dans les plantes des remèdes à ses douleurs.

Généralement chez les plantes médicinales, on distingue deux types de métabolismes qui comprennent l'ensemble de la fonction, primaire et secondaire permettant de fournir deux types de métabolites : métabolites primaires en quantité élevée tel que les sucres, lipides et protéines et les métabolites secondaires qui contrairement au primaires sont en faible quantité mais plus importants tel que les huiles essentielles qui sont synthétisées et sécrétées par l'intermédiaire des cellules ou des organes particuliers dans lesquelles elles restent localisées (**Bouderhem, 2014**). Ces derniers ont été bénéfiquement exploités par l'homme dans un large éventail d'applications.

Le Romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante aromatique, médicinale, condimentaire caractéristique du bassin méditerranéenne, et l'une des plantes les plus populaires en Algérie. Est un arbrisseau très odorant qui pousse à l'état sauvage ou cultivé de la famille des labiées (**Sardans et al, 2005**). Ces plantes ont des effets positifs sur la santé, c'est pourquoi il faut profiter pleinement des vertus de ce trésor naturel. Citons à titre d'exemple les huiles essentielles extraites du *Rosmarinus officinalis* qui a le pouvoir de traiter un grand nombre de maladies y compris les maladies dermique tout en sachant qu'elles contiennent des composants qui agissent sur l'épiderme (inflammation cutanée).

Les huiles essentielles (HE) sont localisées surtout dans les fleurs et les feuilles, mais on les trouve également dans le bois, les racines, les fruits et leur écorce. Elles sont synthétisées naturellement grâce à l'énergie solaire par les cellules sécrétrices des plantes médicinales (**Ait Benamara, 1996**). Elles sont des principes aromatiques obtenus exclusivement par distillation à la vapeur d'eau de plante et doivent être conservées à l'abri de la lumière et de l'air afin d'éviter l'oxydation. Elles sont utilisées à l'état brut ou purifié pour

## *Introduction générale*

---

des fins multiples, on les rencontre en pharmacie, en industrie alimentaire ainsi qu'en industrie cosmétique.

La composition chimique des HE est complexe. Plus d'une centaine de composés appartenant à plusieurs familles chimiques peuvent s'y retrouver. L'HPLC est une technique de séparation qui permet d'étudier la composition des HE. Elle a révélé la présence de certains constituants parmi les plus abondants dans différents huiles essentielles de romarin tels que l'alpha-pinène, le 1,8-Cinéole, la verbénone et le camphre (**Flamini et al, 2002**).

Nous ne pouvons parler des HE sans parler de leurs méthodes d'extraction. Plusieurs méthodes sont connues pour extraire les essences aromatiques des végétaux. Selon AFNOR ,1997 et ISO, 2000 : « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques ». Le choix du procédé d'extraction varie selon la matière végétale traitée, sa richesse en essence et la fragilité de celle-ci aux températures élevées et à l'action de l'eau (**Laiadhi, 2002**).

Dans le domaine de l'extraction des produits naturels et particulièrement des HE, la distillation reste la méthode d'extraction la plus utilisée. Cette méthode traditionnelle, sûre et peu coûteuse, est longue et consommatrice d'énergie et d'eau. Afin de permettre le maintien et le développement économique de cette filière, des progrès substantiels ont été accomplis pour : Améliorer les techniques d'extraction et/ou optimiser les procédés existants (**Bessah R, 2014**).

En effet, la recherche a permis le développement de technologies performantes et économiques telles que celles utilisant les fluides supercritiques, les ultrasons, les micro-ondes et les traitements électriques ou électrotechnologies (les champs électriques pulsés « CEP » et décharges électriques à hautes tensions « DEHT »). Contrairement aux autres technologies utilisées dans l'optimisation des procédés d'extraction et considérées comme énergivores et onéreuses ; celle des CEP est respectueuse de l'environnement puisqu'elle nécessite peu d'énergie et aucun agent chimique. Elle est rapide et efficace car la durée du traitement n'est que de quelques dizaines à centaines de millisecondes (**Ghnimi et al,**

2011). La technique consiste à appliquer des impulsions de champs électrique pour perméabiliser de manière transitoire ou permanente la membrane plasmique. L'efficacité de cet effet est aujourd'hui largement prouvée (Lebovka *et al*, 2012). Ainsi, les CEP sont une technologie non thermique et donc ne dégradent pas les molécules thermosensibles telles que les essences (Ghnimi *et al*, 2011).

L'inflammation est la réponse immédiate du corps aux dommages causés à ses tissus et à ses cellules par des agents pathogènes, des stimuli nocifs tels que des produits chimiques ou des blessures physiques. L'inflammation aiguë est une réponse à court terme qui entraîne généralement une guérison, les leucocytes s'infiltrant dans la région endommagée, éliminent le stimulus et réparent le tissu. L'inflammation chronique en revanche est une réponse prolongée, dérégulée et inadaptée qui implique une inflammation active, une destruction des tissus et des tentatives de réparation des tissus. Une telle inflammation persistante est associée à de nombreuses affections humaines chroniques notamment les allergies, l'athérosclérose, le cancer, l'arthrite, et les maladies auto-immunes (Vasey, 2013).

L'utilisation des anti-inflammatoires chimiquement synthétisés représente des dangers ainsi que des effets secondaires sur la santé humaine pour cela il est important de chercher des techniques afin de remplacer les méthodes actuelles. Cette recherche tourne vers l'utilisation des huiles essentielles précisément celle de *Rosmarinus officinalis* pour leur pouvoir anti-inflammatoire naturel (Jucelia *et al*, 2011).

Dans le cadre d'une contribution à la valorisation de notre patrimoine végétale, la présente étude a pour objectif principal, l'évaluation de l'effet anti-inflammatoire des huiles essentielles extraites de *Rosmarinus officinalis* récoltés de la région de Tiaret. D'une autre part, étudier l'impact ou l'influence du prétraitement par le CEP sur le rendement de l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes étudiées.

La première partie de cette étude couvre la zone d'étude, le matériel et les méthodes utilisées, la deuxième est consacrée aux résultats et à la discussion. En fin, la dernière partie est dédiée à la conclusion.

Pour pouvoir atteindre notre objectif, la présente étude s'articule autour de trois volets :

1. Prétraitement des échantillons de la plante médicinale *R.officinalis* par CEP :

- *Evaluation des changements probables à travers des coupes histologiques.*



## *Introduction générale*

---

2. Extraction des huiles essentielles à partir *R.officinalis* :

- *Comparaison des rendements d'extraction avec et sans prétraitement.*
- *Analyse par HPLC des HE extraites.*

3. Application des HE extraites sur les rats sujets d'une inflammation pour tester leurs effets :

- *Préparation des échantillons des HE extraites (Différentes concentrations).*
- *Induction des inflammations cutanées chez les rats.*
- *Evaluation de l'effet anti-inflammatoire des HE appliquées.*

***Partie  
expérimentale***

# **Chapitre 1**

## **Matériels et Méthodes**

## **I. Matériels et Méthodes :**

Le but de notre travail est la valorisation des plantes aromatiques spontanées de la région de Tiaret à travers l'utilisation de leurs HE comme agents biologiques dans la lutte contre les inflammations. Le travail commence par la cueillette de l'espèce de la plante médicinale : le Romarin « *R. officinalis* ». Puis, l'extraction de leur HE par le procédé de l'hydrodistillation et enfin l'application de ces huiles sur l'espèce de rat choisi dans notre étude, il s'agit des femelles « *Wistar* » par contact direct et l'évaluation de leur effets anti-inflammatoire.

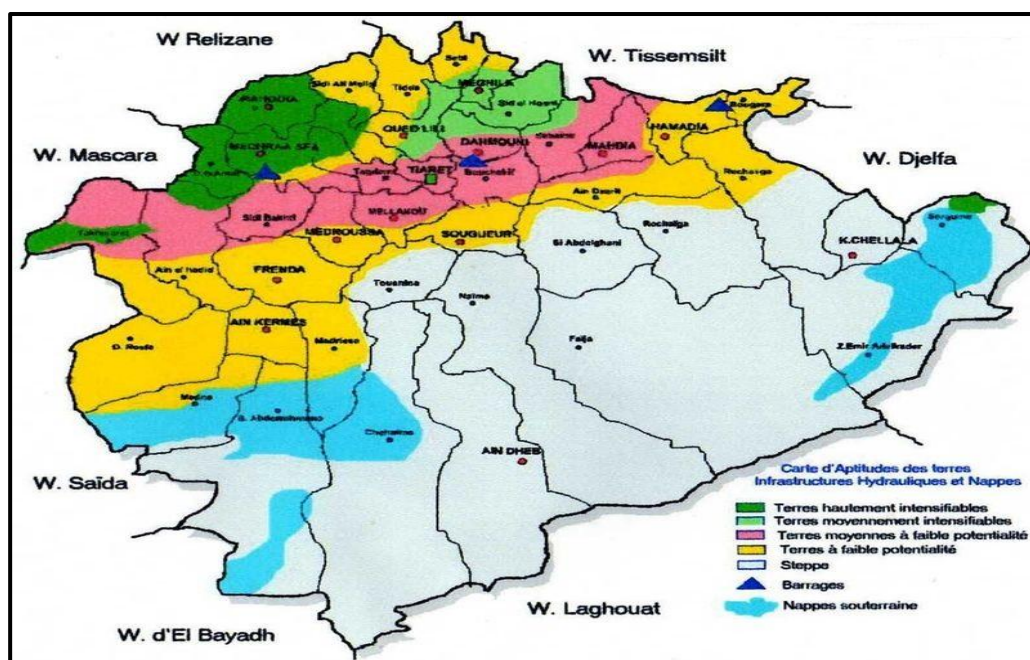
Afin d'étudier la possibilité d'augmenter le rendement de l'extraction des HE ; une partie des feuilles du Romarin sera exposée à un prétraitement par le CEP.

### **1. Présentation de la région d'étude :**

La wilaya de Tiaret, située à l'ouest de pays, couvre une superficie de 20399,10 km<sup>2</sup> et s'étend sur une partie de l'Atlas tellien au Nord et sur les hauts plateaux au centre et au Sud. Elle est limitée par plusieurs wilayas à savoir: les Wilayas de Tissemsilet et Relizane au Nord ; Laghouat et El-Bayadh au Sud ; les Wilayas de Mascara et Saida à l'Ouest ; la Wilaya de Djelfa à l'Est (Figure 01).

Elle se trouve à 1150 m d'altitude, son climat se caractérise par 02 périodes à savoir : un hiver rigoureux et un été chaud et sec avec une température moyenne de 37,2°C. Généralement, la wilaya de Tiaret reçoit 300 à 400 mm de pluie par an, avec une fluctuation saisonnière de la pluviométrie allant de 157 mm en hiver à 31 mm en été. Elle appartient à l'étage bioclimatique semi-aride inférieur à hiver frais où le climat est du type méditerranéen. Le relief qui est hétérogène, est matérialisé par :

- Une zone de montage au Nord ;
- Des hautes plaines au Centre ;
- Des espaces semi-arides au Sud (68,44%).



**Figure 01 :** Carte de la situation géographique de la wilaya de Tiaret (Achir et Hellal; 2016).

La wilaya recèle d'importantes potentialités naturelles et notamment 1.609.900 Ha de terres agricoles, 142.966 Ha de zones steppiques et d'une zone forestière de 142.422 Ha. La superficie agricole totale est répartie à raison de 704.596 Ha agricoles utiles dont 14.561 Ha en irrigué et un million d'hectares en steppe, parcours, alfa et forêts. Elle est dominée par le système «céréales- élevage » dont l'intégration constitue l'essentiel de la production agricole et de la croissance économique (Achir et Hellal; 2016).

Le milieu steppique est caractérisé par des altitudes élevées (1100 m en moyenne), les plus hautes steppes atteignent 1300 m et les plus basses oscillent entre 1000 et 1100 m, ce qui indique que les dénivellations sont peu importantes, soit moins de 200 m. Le substrat est à dominance calcaire. L'espace steppique est caractérisé par l'aridité du climat et la faiblesse des précipitations. Il est très sensible à la désertification où la couverture végétale est fortement dégradée (Achir et Hellal; 2016).

## 2. Matériels biologiques :

### 2.1. Matériels végétales :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est le Romarin (*Rosmarinus officinalis*). Le Romarin est une plante vivace annuelle et arbustive qui peut atteindre 1.50 M de hauteur. Ses longues feuilles vertes et odorantes. La floraison a lieu de mois de février jusqu'en mai, les fleurs qui se présentent en grappes varient de bleu pâle au violet (Mahboubi, 2014).

La récolte des plantes sous leurs formes fraîches a été effectuée durant le mois de Février et Mars 2019 dans le chef-lieu de la Wilaya de Tiaret.

La quantité du Romarin récoltée pour être utilisée dans notre étude était de **10 Kg**.



**Figure 02** : Photos originales de l'espèce végétale étudiée (*Rosmarinus officinalis*).  
(*a* : Plante du romarin, *b* : Feuilles séchées).

**Tableau 01:** Classification botanique de l'espèce végétale utilisée.

<i>Rosmarinus officinalis</i> (L)	
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Spermatophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Sous classe</b>	<i>Asteridae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Lamiales</i>
<b>Famille</b>	<i>Lamiaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Officinalis</i>

## 2.2. Matériel animale :

Espèce de rats (*Wistar*) élevées au niveau de l'animalerie de l'Université de Tlemcen.

Un nombre de 10 rats de sexe femelle.



**Figure 03:** *Rat Wistar* (Photo originale).

## 2.3. Matériels de laboratoire :

### 2.3.1 Dispositif d'hydrodistillation :

L'extraction des HE a été réalisée par la technique d'hydrodistillation dans un dispositif de type « Clevenger » (Figure 04). Le principe du procédé est basé sur la mise en contact direct du matériel végétal avec de l'eau dans un ballon placé au-dessus d'une source de chaleur. Le ballon est lié directement à un tube réfrigérant incliné, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargée de gouttelettes d'HE. Le condensat est recueilli par la suite dans une ampoule à décanter. Après séparation des deux phases par décantation, l'HE est récupérée dans des flacons en verre et conservées à 4 °C et à l'abri de la lumière.

*a**b*

**Figure 04:** *a* : Schéma du dispositif d'hydrodistillation type « Clevenger ». *b* : Schéma de décantation des deux phases du distillat.

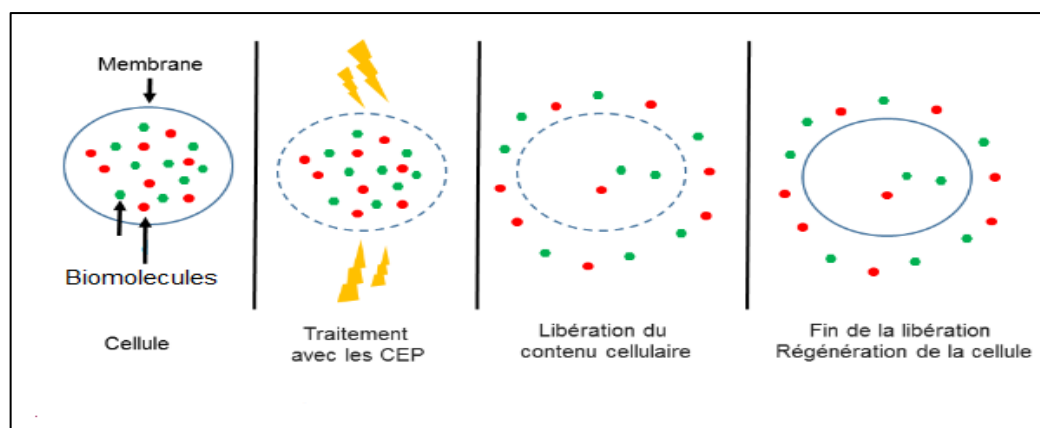


### 2.3.2. Le prétraitement de la plante :

Cette partie du travail vise à étudier la possibilité d'améliorer le rendement de l'extraction des HE pour une éventuelle production industrielle. Elle consiste à étudier l'impact d'un traitement aux CEP à haute ou moyenne tension sur l'amélioration du rendement de l'extraction des HE par la comparaison de deux échantillons identiques de la même espèce végétale avec ou sans traitement par CEP.

#### ↗ Principe de la technique :

Ce traitement permet d'endommager les membranes et/ou les parois cellulaires de la matière végétale de manière électrique facilitant ainsi la libération des composés intracellulaires vers le milieu extérieur (**Bellebna et al, 2014**) révèlent que l'exposition d'une cellule biologique (végétale, animale et microbienne) à un champ électrique de forte intensité (kV/cm) sous forme d'impulsions très courtes ( $\mu\text{s}$  à ms) induit la formation des pores temporaires ou permanents sur la membrane cellulaire. Ce phénomène va provoquer la perméabilisation de la membrane cellulaire, c'est-à-dire une augmentation de sa perméabilité et si l'intensité du traitement est suffisamment élevée, la désintégration de la membrane cellulaire se produit. L'état perméable se définit par la diffusion (restreinte) des milieux intra et extracellulaires à travers la membrane.



**Figure 05:** Mode d'action des CEP sur une cellule (**Davaux, 2016**).

## **2. 4. Méthodologie de travail :**

### **2.4.1. Elevage des rats :**

Un bon élevage de souris est essentiel pour la santé et la productivité de l'animal. Le maintien de conditions propres et stables garde les animaux à l'abri d'infections et de contaminations. Il fournit aussi un environnement sans stress pour les souris, ce qui n'est pas seulement humain, mais encourage également un comportement normal.

Quant au Régime alimentaire, dans leur habitat naturel, les souris sont principalement végétariennes. Elles affectionnent les glucides, et choisiront les grains de céréales à toute autre nourriture .Au labo, la nourriture de souris est fournie sous forme de pellets. En plus des glucides, les pellets incluent un équilibre de graisse, protéine, vitamines et minéraux. La composition précise de la nourriture peut varier en fonction de l'effort et des conditions expérimentales. Typiquement, la nourriture et l'eau sont disponibles à la demande: les souris y ont accès à tout moment et quand elles veulent.



**Figure 06:** Elevage des rats (Photo Originale).

**2.4.2. Préparation des échantillons :**

La plante fraîche du *R.officinalis* a été récoltée du chef-lieu de la ville de Tiaret (Tableau 2). Après la récolte, La plante est nettoyée et séchée à une température ambiante pendant 15 jours, sur du papier journal. La partie utilisée (les feuilles) est récupérée dans des sacs en papier propres avant d'être broyées au fur et à mesure de leur utilisation pour l'extraction des HE.

Il est à signaler que l'identification botanique a été faite par les enseignants botanistes de la faculté SNV de l'université d'IBN KHALDOUN de Tiaret.



**Figure 07** : Feuilles de *Rosmarinus officinalis* après séchage (Photo originale).

Tableau 02 : Caractéristiques de la matière végétale utilisée.

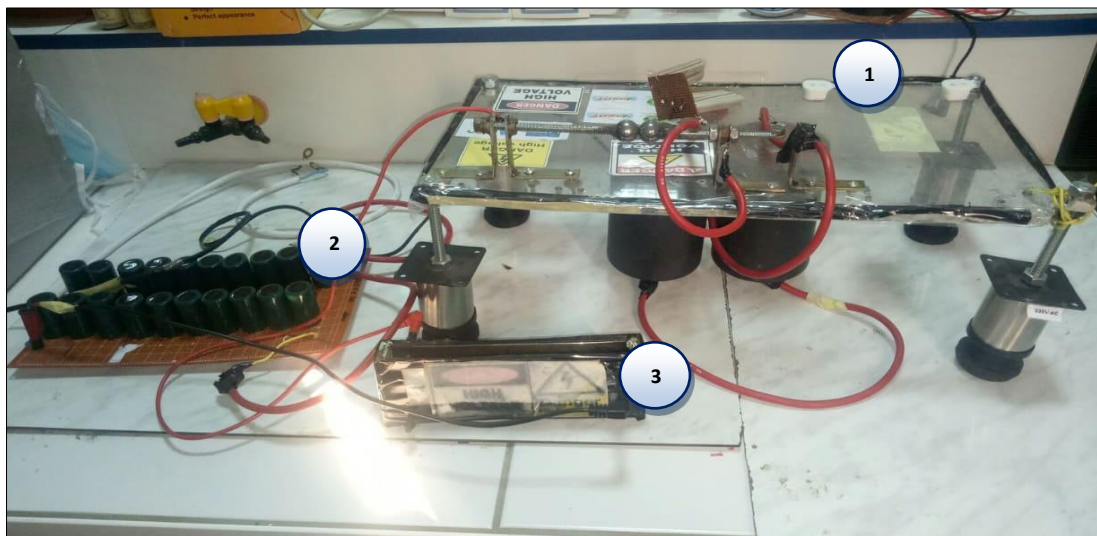
Espèces	Période de récolte	Poids Matière sèche totale	Parties utilisées	Provenance
<i>Rosmarinus officinalis</i> « Sans traitement »	Mars/Avril	100g	Feuilles	Ville de Tiaret
<i>Rosmarinus officinalis</i> « Traitée par CEP »		100g		

#### 2.4.3. Prétraitement par le CEP :

Le prétraitement a été réalisé au niveau du laboratoire pédagogique de génie électrique au niveau de l'Université Stambouli Med de Mascara.

Les feuilles de l'espèce étudiée, destinée à subir le prétraitement est partagée en deux échantillons de 100 g, un échantillon fut placé directement dans le dispositif d'hydrodistillation (sans prétraitement, à fin de pouvoir évaluer l'effet du traitement aux CEP) dans le même dispositif type « Clevenger », les 100 g restants fussent aspergés d'eau distillée pour le passage dans le dispositif des CEP (Figure 8). L'humidification de la matière sèche sert à assurer la conductivité au cœur de l'échantillon. Le mélange (matière sèche+ eau) est placé dans la chambre de traitement constituée de deux électrodes planes en aluminium placées verticalement. La distance entre les électrodes a été réglée à 2 cm. Le traitement est réalisé en utilisant un générateur de CEP avec une intensité de 02 kV/cm de manière répétée (pulsé), pendant des temps très courts.

Le traitement a été réalisé sous des conditions en terme de nombre d'impulsions électriques N= 100 impulsions. La durée d'extraction des HE a été estimée à 45 min (Figure 9).



**Figure 08 :** Dispositif des champs électriques pulsés « CEP » (Photo Originale).

(1 : Eclateur, 2: Commutateur, 3 : Chambre de traitement).

#### 2.4.4. Coupe histologique de la feuille avant et après traitement au CEP :

L'étude histologique a pour objectif de constater la structure de la feuille et de mettre en évidence l'impact du traitement par le CEP sur les tissus de la plante. Une série de coupes transversales effectuées à l'aide d'une lame de rasoir, à défaut de microtome, au niveau de la feuille de *R.officinalis*. Elles sont placées ensuite dans des verres de montre contenant de l'eau distillée. Les plus fines sont alors sélectionnées pour la coloration.

##### ↻ **La double coloration des coupes :**

La technique utilisée est celle de la double coloration ou Carmino-vert d'Iode. Le but recherché par cette technique, est de mettre en évidence les deux types de tissus existants dans la structure histologique de la feuille de *R.officinalis*.

##### ↻ **Analyse des résultats et observation :**

Les meilleures coupes anatomiques ont été choisies pour déterminer les différents tissus sous microscope.

#### 2.4.5. Extraction des HE :

L'extraction des HE a été réalisée au laboratoire pédagogique de biochimie de la faculté SNV de l'université IBN KHALDOUN à Tiaret par la méthode d'hydrodistillation sur un dispositif de type « Clevenger ».

Dans un ballon on met 40 g de la matière végétale séchée, avec 250ml d'eau distillé, puis l'eau contenu dans le ballon est porté à ébullition, les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent dans le réfrigérant ; pour se condenser dans une boule de recueil. On obtient une solution (le distillat) où l'huile surnage l'eau. Cette solution est mise dans une ampoule à décanter pendant 24 heures où les deux phases se séparent suite à la différence de densité. Les huiles obtenues sont conservées dans des flacons de 10 ml entourées de papier aluminium pour les protéger de la lumière à une température de 4°C pour éviter toute dégradation des HE due à l'action de l'air et de la lumière.

*a**b**c*

**Figure 09:** Procédé d'extraction et de récupération des HE (Photo Originale).

*a* : Hydrodistillation type « Clevenger », *b* : Collecte du condensat dans une ampoule à décanter, *c* : Séparation des deux phases et récupération de l'HE.

- **Calcul du rendement en HE :**

Selon Afnor (1986) le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre la masse d'HE obtenue après l'extraction (M') et la masse sèche du matériel végétal utilisée (M). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné selon la formule suivante :

$$Rd \% = (M' / M) * 100$$

#### **2.4.6. Analyse des HE par HPLC :**

L'analyse des HE par HPLC a été réalisée en utilisant un chromatographe liquide de marque Waters. Equipé d'une pompe type Waters 600E, d'un auto-injecteur Waters 717, d'un détecteur à barrette diodes. Un logiciel Waters Empower 2 pour contrôler la pompe, l'auto-injecteur, la température de la colonne et le système à barrette de diodes. Les longueurs d'ondes utilisées étaient de 284 et 329 nm pour la quantification des polyphénols. La séparation chromatographique s'effectue avec une colonne Purospher Star RP-18 (250 x 4 mm D.I. ; dont la dimension des particules est de 5 µm (VWR)), et est munie d'une pré-colonne RP-18 (4 x 4 mm D.I.). La colonne et la pré-colonne sont toutes deux maintenues à la température de 37°C. La phase mobile dont le débit est de l'ordre de 1 ml /min, est constituée de : Solvant A: contenant 0,5 % acide acétique et Solvant B : 100 % d'acétonitrile. Une programmation des solvants a été effectuée selon **Bousbia, 2011**.

Le volume d'échantillon injecté est de l'ordre de 20 µL. Les analyses sont tri-répliquées et la moyenne seule est reportée. Des standards externes ont été utilisés pour la quantification et les valeurs sont exprimées en mg/ 100 g.

#### **2.4.7. Etude de l'effet anti-inflammatoire des HE et de leurs hydrolats :**

- **Objectif :**

Tester et évaluer l'effet anti-inflammatoire des HE du romarin et de leurs hydrolats vis-à-vis de l'inflammation chez les rats par contact direct. Pour chaque application trois (03) essais ont été effectués.

- **Mode d'évaluation :**

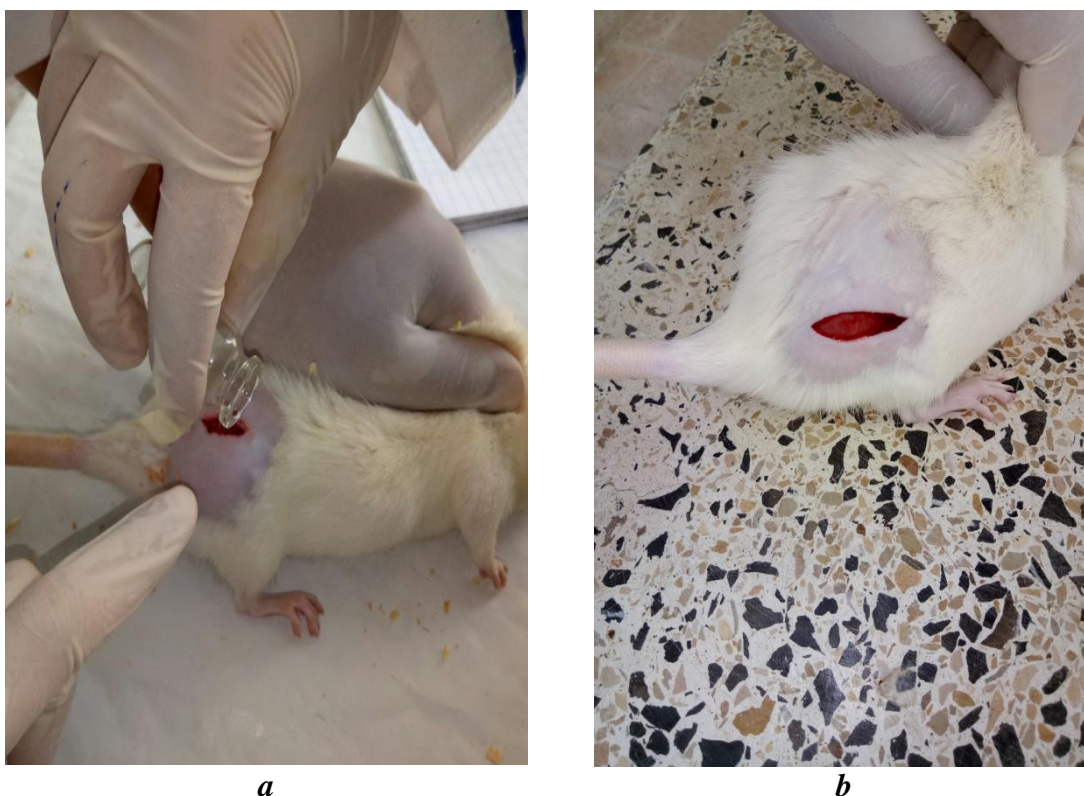
L'activité anti-inflammatoire des HE étudiées est évaluée par l'observation de la zone d'inflammation, dans ce sens des essais témoins sans traitement ont été mis en place également.

- **L'induction de l'inflammation :**

L'induction de l'inflammation a été réalisée dans deux endroits différents chez les rats. Une au niveau des oreilles par écrasement et l'autre au niveau de la partie supérieure du fessier de l'animal en effectuant une lésion (Figure 10 a).

- **Réalisation des tests :**

L'application HE sur les rats a été réalisée par contact direct en les aspergeant d'HE moyennant d'une micropipette (Figure 10 b). La dose choisie pour chaque essai est de 50  $\mu$ l équivalent à une goutte d'HE ou d'hydrolat. La première lecture des résultats s'est faite chaque une demi-heure après l'application jusqu'à la disparition totale de l'inflammation.



**Figure 10** : Test de l'activité anti-inflammatoire chez les rats.  
(*a* : Application des HE et leurs hydrolats; *b* : Induction de l'inflammation).



**2.4.8. Analyses statistiques :**

L'analyse consiste à tester si les différences de variation dans chaque test s'écartent de manière significative de la valeur 0.

L'ANOVA est souvent utilisée pour plans à mesures répétées lorsque nous mesurons plusieurs fois une même grandeur, en l'occurrence : l'effet anti-inflammatoire des différentes HE et de leurs hydrolats sur les rats.

# **Chapitre 2**

## **Résultats et Discussions**

## II. Résultats et discussions :

Dans ce chapitre on vise à mettre en évidence les résultats obtenus après application comme cité jadis dans la partie matériels et méthodes, ainsi qu'interpréter ces derniers.

### 1. Caractéristiques des HE de *R.officinalis* :

Parmi les caractéristiques des HE l'odeur et la couleur qui donnent une idée préalable sur les HE, leur concentration et même leur effet.

**Tableau 03** : caractéristiques organoleptiques des HE obtenues.

Propriétés	Huiles Essentielles	
	<i>Avec prétraitement</i>	<i>Sans prétraitement</i>
Couleur	Jaune foncé	Jaune claire
Odeur	Puissante	Moins puissante

### 2. Le rendement en HE :

Selon AFNOR (1986) le rendement des HE est le rapport la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale sèche. Calculé par la formule suivante :

$$\text{Rd}\% = (M/M') \times 100$$

*M'* : Masse de l'HE obtenue après extraction.

*M* : Masse sèche de la matière végétale utilisée.

↗ **Rendement obtenu sans prétraitement :**

$$M' = 100 \text{ g} \quad M = 0,28 \text{ g}$$

Nous avons obtenu le résultat suivant :

$$\text{Rd}\% = (0,28/100) \times 100 = \mathbf{0,28 \%}$$

**↪ Rendement obtenu avec prétraitement :**

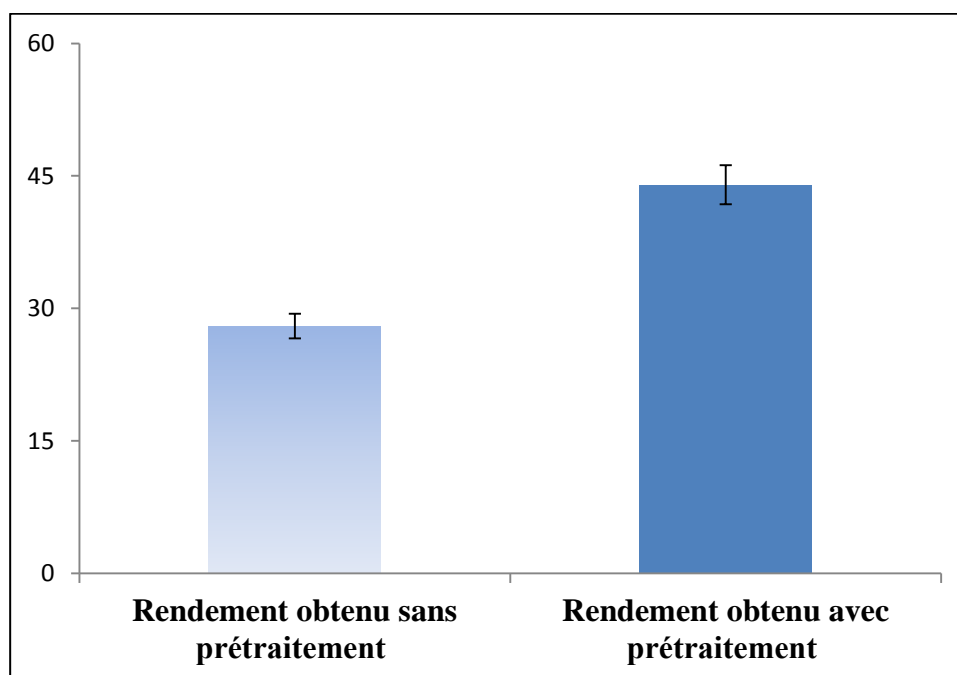
$$M' = 100 \text{ g} \quad M = 0,44 \text{ g}$$

Nous avons obtenu le résultat suivant :

$$\text{Rd}\% = (0,44/100) \times 100 = \mathbf{0,44 \%}$$

**↪ Comparaison des rendements :**

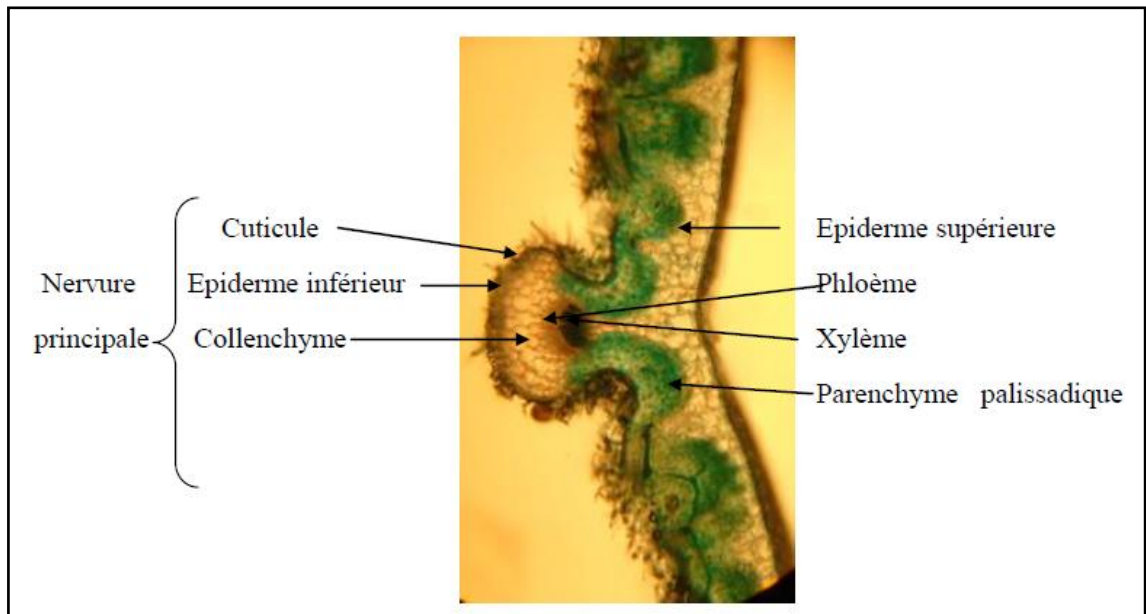
Les résultats obtenus ont montré que le rendement en HE de la matière sèche traitée par les CEP est remarquablement plus élevé par rapport au rendement de celle non traitée. Où, un rendement de 0,44 % a été enregistré pour un nombre d'impulsion ( $N = 100$ ). Considérant un rendement de 0,28 % chez la plante non traitée, le prétraitement a pu doubler le rendement d'extraction (Figure 11). Cette amélioration va contribuer à valoriser toute production de bioactifs à l'échelle industrielle.



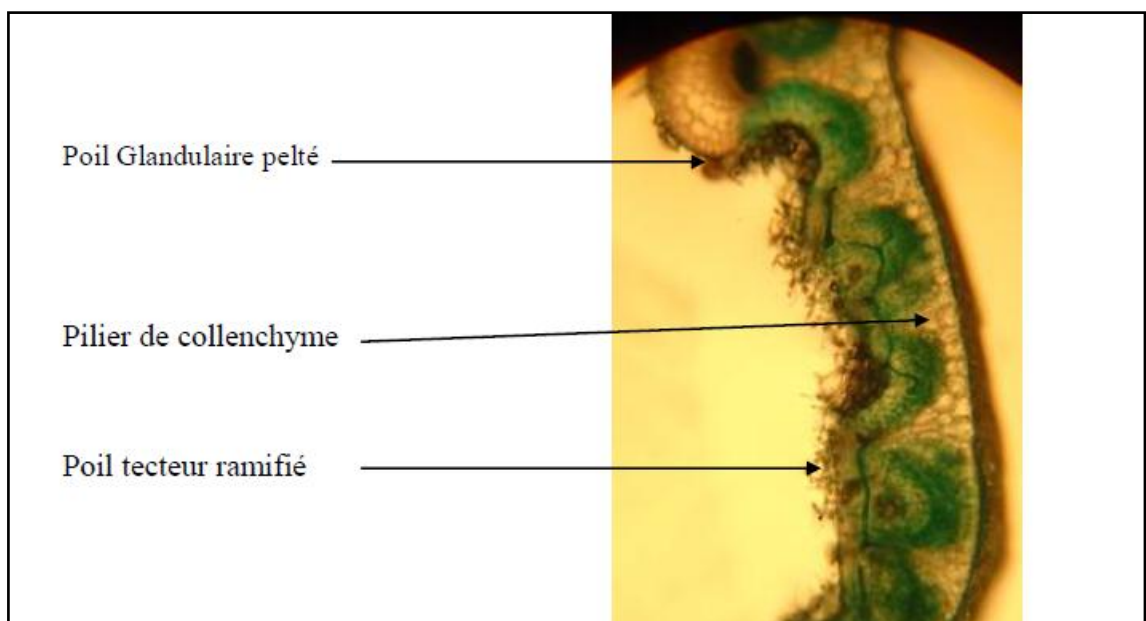
**Figure 11 :** Comparaison des rendements en HE (impact du traitement par le CEP).

**3. Coupe histologique de la feuille avant et après traitement au CEP :**

L'étude histologique permet de comprendre le comportement morphologique et physiologique des espèces végétales vivantes dans un biotope naturel. Dans notre étude, les coupes histologiques des feuilles réalisées, ont pour objectif de constater la structure de la feuille avec ou sans traitement par le CEP afin de mettre en évidence l'impact de ce traitement sur les tissus de la plante. L'observation des coupes transversales de feuilles de cette espèce non traitées (Figure 12) et traitées (Figure 13) au microscope optique a permis de ne constater aucune différence dans les structures des tissus (Cuticule, épiderme, Parenchyme, Sclérenchyme, phloème, etc). Ce qui favorise la possibilité de ne pas avoir un effet négatif du CEP sur la structure des tissus de la plante qui va subir une extraction par la suite. Toutefois, d'autres études dans le même sens sont nécessaires pour confirmer ou démentir ce constat. Il est à signaler que le *R.officinalis*, possède des feuilles étroites avec un feutrage dense de poils tecteurs à la face abaxiale, c'est une adaptation à la sécheresse pour cette plante méditerranéenne (Douzet, 2007).



**Figure 12** : Coupe histologique de la feuille non traitée par le CEP  
(Grossissement 10x10) .



**Figure 13** : Coupe histologique de la feuille traitée par le CEP  
(Grossissement 10x10).

#### 4. Résultats d'analyse des HE par HPLC :

Le *Rosmarinus officinalis* est l'espèce la plus répandue dans le bassin méditerranéen, parmi les autres espèces du genre *Rosmarinus*. Plusieurs recherches ont montré que la variabilité de la composition ainsi que du rendement en HE de romarin est due à des facteurs intrinsèques (génétique, sous-espèces et âge de la culture) ou à des facteurs extrinsèques comme le climat et les conditions de culture ou encore à la méthode d'extraction (Özcan et Chalchat, 2008 ; Varela *et al*, 2009). Dans notre étude, et selon les standards externes disponibles qui ont été utilisés pour la quantification des composés de l'HE du romarin, nous avons pu détecter quatre composés majoritaires dans les HE obtenus. Il s'agit de  $\alpha$ - pinène (39 %), linalol (19 %),  $\gamma$ -terpinène (13 %) et le para-cymène (11 %). Les mêmes résultats ont été trouvés par Flamini *et al.* (2002) qui a signalé un taux de (30,3 %) pour  $\alpha$ - pinène.

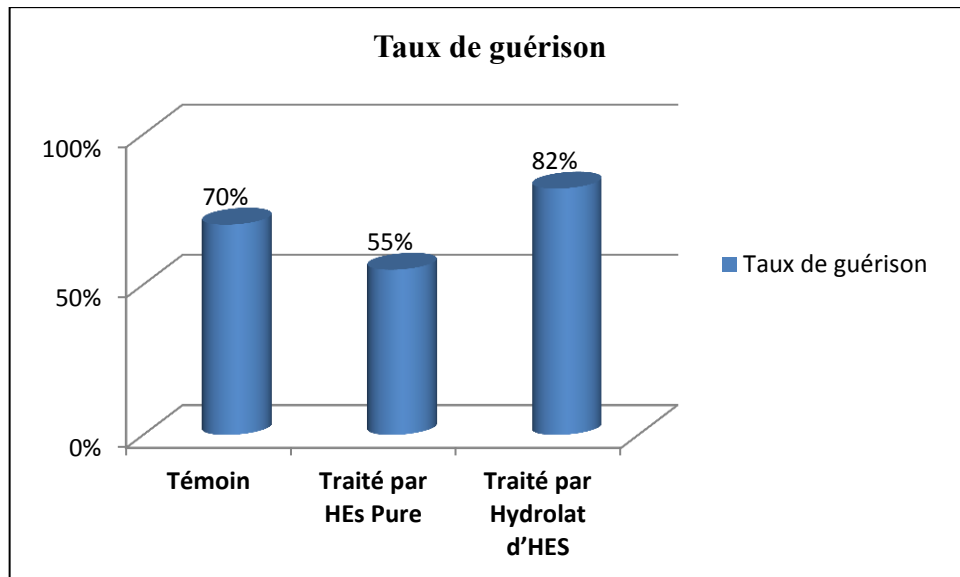
#### 5. Résultats d'évaluation de l'effet anti-inflammatoire des HE:

Les résultats d'évaluation de l'effet anti-inflammatoire des HE extraites du romarin sur les zones d'inflammation induite chez les rats sont présentés sur le tableau 04. Il a été remarqué que ne le témoin n'ayant subi aucun traitement durant les cinq (05) jours de test a enregistré un taux de guérison de 70% avec une cicatrisation des incisions. Quant au sujet traité par les huiles essentielles pures, on remarque que l'incision se réduit respectivement de 1.8 cm à 0.8 cm avec un taux de guérison de 55%. Tandis que le rat traité par l'hydrolat des HE a enregistré le meilleur taux de guérison de plus de 82% où la taille d'incision s'est réduit respectivement de 2,8 cm à 0.5 cm. Nos résultats sont en concordance avec les résultats trouvés par Štefan *et al*, 2008, qui a testé l'effet anti-inflammatoire des HE du *R.officinalis* par voie alimentaire chez les rats. Cet effet pourrait être lié hypothétiquement à une synergie de composés biologiquement actifs de l'huile essentielle de romarin, en particulier leurs effets antioxydants et antimicrobiens (Bozin *et al.* 2007).

Le rat traité par HE pure à représenter un certain retard le premier jour cela peut être due l'huile pure et leurs contacts avec des cellules. Cependant le rat traité par hydrolats présente une guérison rapide vu qu'il n'a pas un impacte de légère brulure sur les cellules contrairement aux huiles essentielles.

**Tableau 04 :** Evolution de la taille de la zone d'inflammation durant le traitement.

Durée de Traitement	Evolution de la taille de la zone d'inflammation (cm)		
	Témoin	Traité par HE Pure	Traité par Hydrolat d'HES
Jour 1	2.3	1.8	2.8
Jour 2	1.5	1.2	2
Jour 3	1.3	0.8	1.5
Jour 4	1	0.8	1.4
Jour 5	0.7	0.8	0.5
Taux de guérison	70%	55%	82%



**Figure 14 :** Comparaison des taux de guérison chez les traités et non traités.



## **6. La toxicité des huiles essentielles :**

Comme tous les médicaments, il existe pour chaque HE un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet (**Bakkali et al. 2008**). C'est le cas de tous les produits naturels, ce dernier ne donne pas une aptitude bénéfique.

De plus, l'usage excessif des huiles essentielles en application locale sur la peau ; en parfumerie ou en cosmétique, peut générer des effets indésirables des irritations, allergies voir photosensibilisation. C'est le cas de l'huile essentielle de Thym, d'Origan, de la Sarriette (huiles riches en thymol ou en carvacrol) qui sont connues pour leur pouvoir irritant et agressif (**Smith et al, 2000 ; Bakkali et al, 2008**) et ainsi phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines) (**Naganuma et al ; 1985**). En outre, l'absorption orale des HE riches en monoterpènes de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que l'on nomme une néphrotoxicité (**Cuic Marinier et al, 2013**).

Dans notre étude, le taux de guérison plus faible par rapport à celui du témoin peut confirmer cet effet de toxicité (Annexe 02). Il a été démontré aussi que les cétones comme l' $\alpha$ -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Franchomme et al, 1990**). Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers (**Homburger et al ; 1968**). C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (Sassafras), l'estragole (*Artemisiadracunculus*), la  $\beta$ -asarone (*acorus calamus*) et le méthyl-eugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hépatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs (**wiseman et al, 1987**).

***Conclusion***

### Conclusion :

Dans la présente étude, l'objectif principal était d'évaluer l'activité anti-inflammatoire des HE de la plante connue dans la médecine traditionnelle à savoir le Romarin. Cette espèce a été explorée d'avantage, soit en termes de productivité en HE, soit en termes d'études de leurs activités biologiques. L'extraction par hydrodistillation des HE à partir des parties aériennes de la plante étudiée : *R.officinalis*, a fourni des rendements relativement moyens. Afin d'étudier la possibilité d'augmenter le rendement de l'extraction des HE ; une partie des feuilles du Romarin a été exposée à un prétraitement par le CEP. Les résultats obtenus ont montré que le rendement en HE de la matière sèche traitée par les CEP est remarquablement plus élevé par rapport au rendement de celle non traitée.

L'analyse chromatographique des extraits d'HE a montré les profils et les taux des différents composants. Le *R.officinalis* renferme une HE à 45 composants monoterpéniques. Les principaux trouvés dans notre étude sont ;  $\alpha$ - pinène (39 %), linalol (19 %),  $\gamma$ -terpinène (13 %) et le para-cymène (11 %).

Pour ce qui est des résultats du test de leur effet anti-inflammatoire, il a été trouvé que le témoin sans traitement durant les cinq (05) jours de test a enregistré un taux de guérison de 70%. Tandis que les rats traités par l'hydrolat des HE ont enregistré le meilleur taux de guérison de plus de 82 %. Par contre, le traitement par les HE pures a donné un taux de guérison de 55% seulement. Ce qui peut être expliqué par l'effet de toxicité des HE pures.

Ainsi, la présente étude permet de conclure que la plante constitue une importante source en HE, douées de grandes activités anti-inflammatoire. De ce fait, les résultats de ce travail méritent d'être affinés et pour cela il serait intéressant d'identifier les principes actifs responsables de ces activités par des techniques analytiques performantes telles que le HPLC. Il serait également important de suivre cette étude par des applications in-vivo en étudiant la toxicité de ces substances, compléter ces activités par d'autres tests afin de mettre en évidence les possibles mécanismes moléculaires impliqués, et d'envisager l'étude d'autres activités biologiques telles que les activités antimicrobienne et anticancéreuse.

***Références  
Bibliographiques***

## Références bibliographiques

---

**ACHIR et HELLAL 2016** : réflexion sur les variations pluviométrique de la région de Tiaret (Algérie occidentale) durant la période : 1984- 2015 european scientific journal mois d'avril 2016 édition vol 12, No.11. p 498 (consulté sur <http://eujournal.org/index.php/esj/article/view/7275/6996>).

**AFNOR, 1986** : « Huiles Essentielles ». 2e édition, page 57.

**AFNOR, 1992** : les huiles essentielles du romarin, recueil des normes françaises.

**AIT BENAMARA.Y ; 1996** : Essai d'extraction de l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis.L*) thes,Ing, tiaret, p56 .

**Bellebna,Y, Ouiddir,R,Dey,Z,Miloudi,M and Timatine , A, 2014** ; « robust nesstesting of the juice extraction processusing a pulsed electrical field . International journal of environmental studies, N71, 360-371.

**BELLEBNA,Y,Ouiddir,R.,Dey,Z.,Miloudi,M.andTilmatine,A,2014** ; « Robustnesstesting of thejuice extraction process using a pulsed electrical field ». International Journal of Environmental Studies, N°71, 360–371.

**BESSAH R, 2014** : « Valorisation des déchets des industries des plantes aromatiques et médicinales » Division Bioénergie et Environnement – CDER ; N°33.

**BOUDERHEM AIDA ; 2014** : effet des huiles essentielles de la plantes *Laurusnobilis* sur l'aspect toxicologique et morphologique des larves des moustiques.

**BOUSBIA, N. (2011)**. Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Avignon).

**DAVAUX F 2016**« les champs électriques pulses : une technologie, deux applications pour l'œnologie. la grappe d'autan, N 105, janvier,p6

**FLAMINI G ; CIONI P,L ; MORELLI I ;MACCHIA M ; et CECCARINI L ; 2002** : main agronomie – productive characteristics of twoecotypes of *Rosmarinus officinalis L* ;and chemical composition of their essential oils .J.Agric . Food Chem ; vol.50, pp : 3512-3517.

**GHNIMI S, GRIMI N., CHALLAL R. et VOROBIEV E., 2011** :«Optimisation de l'extraction des composés phénoliques par champ électrique pulsé et décharges électriques de haute tension à partir des écorces et plaquettes fines d'épicéa commun (*Picea abies*) » Récents Progrès en Génie des Procédés – Numéro 101 – 2-910239-75-6, Ed. SFGP, Paris, France.  
**HepatocellularCarcinoma Induction by Diethylnitrosamine in Male Wistar Rats. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, Vol 10, 2009.**

**HOMBURGER, F ; BOGER, E , 1968**. The carcinogenicity of essential oils, flavors and spices : A review .cancer res.28, 2372-2374.

## *Références bibliographiques*

---

**JUCELIA p . 2011** : analysis of the anti-inflammatory properties of *Rosmarinus officinalis* L . in mice ; Department of Clinical Analysis food Chemistry 124 468-475.

**LAIDHI, H et TAABA, A, 2002** : extraction et analyse des huiles essentielles de trois espèces végétales de la steppe algérienne ; thèse ;DEUA ,Laghouat ; 47p .

**MAHBOUBI M 2014** : plantes médicinales de méditerranée d'orient, édition SABIL, p 137.

**NAGANUMA, M ; HIROSE, S ; NAKAYAMA, Y ; NAKAJIMA, K ; SOMEYA , T, 1985**, A study of the phototoxicity of lemon oil . Arch , dermatol. Res . 278, 31-36.

**Özcan M.M. et Chalchat J.C., (2008)** .Chemical composition and antifungal activity of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oil from Turkey. Inter. J. Food sci. nutri., Vol.59, pp : 691 – 698.

**VARELA F, NAVARRETE P, CRISTOBL R., FANLO M., MELEREO R, SOTOMAYOR J.A., JORDAN M.J., CABOT P., SANCHEZ DE RON D., CALYO R. Et CASES A., (2009)**. Variability in the chemical composition of wild *Rosmarinus officinalis* L. Acta Horti., Vol. 826, p: 167 – 174.

**VASEY** . Achevé d'imprimer le 1<sup>er</sup> mars 2013 sur les presses de l'imprimerie 'la source d'or ' 63039 clernont- Ferrand imprimeur n 16409.

**WISEMAN , R.W ; MILLER , EC ; Liem, A. 1987**. Structure – activity studies of the hepatocarcinogenicities of alkenylbenene derivatives related to estragole and safrole on administration to preweanling male C57BL-6J.C3H – HeJ F1 mice. Cancer Res ,47, 2275-2283.

# ***Annexes***

Annexe 01

Photos des rats après induction des inflammations



Induction de l'inflammation



Rat témoin



Rat traité par HP



Rat traité par HD



Annexe 02

Photos des rats après le traitement.



Rat témoin (dernière lecture).



Rat traité par HP (dernière lecture).



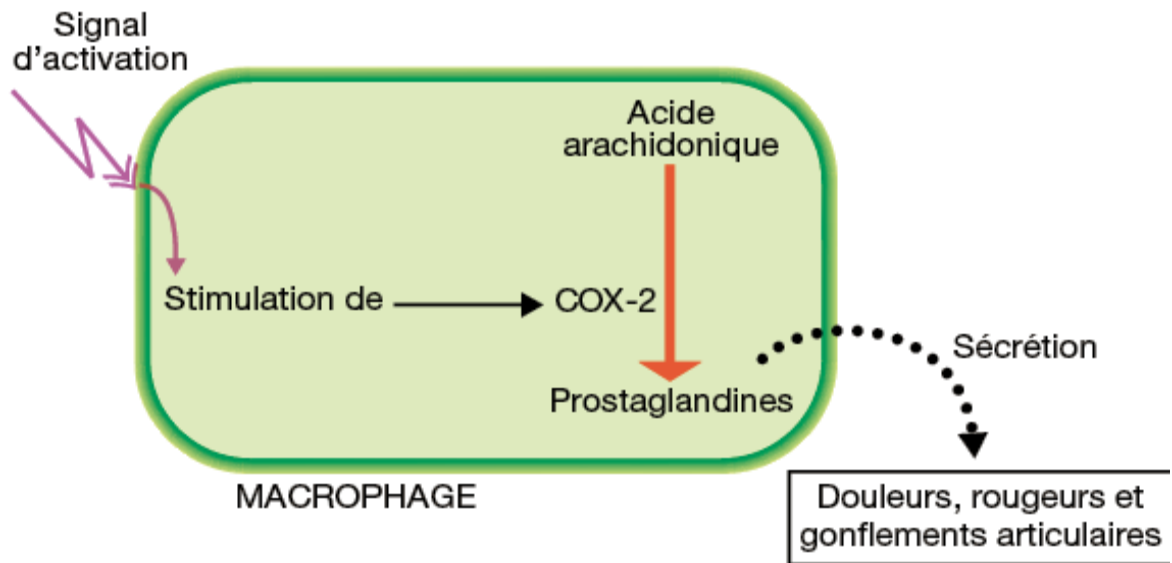
Rat traité par HD (dernière lecture).



Effet de toxicité des HE pures.

Annexe 03

Schéma simplifié de l'activation d'un macrophage.



Annexe 04

Fiche technique du Romarin.



## Fiche Technique

Production Peu Développée en Languedoc-Roussillon



# Filière Plantes Aromatiques & à Parfum

Septembre 2008

## Romarin

*Rosmarinus officinalis L.*

Rédigée par :

Mathias MONZIE  
Lycée Agricole de Rivesaltes

### Définition

Le romarin est un arbrisseau de la famille des Lamiaceae (Lamiacées), poussant à l'état sauvage sur le pourtour méditerranéen.

Il existe 3 espèces de romarin :

- *Rosmarinus officinalis* ou romarin commun, de population, qui présente une grande variabilité
- *Rosmarinus eriocalyx*
- *Rosmarinus eriocalyx ssp. tomentosus*

Ces trois espèces sont endémiques du bassin méditerranéen mais le romarin de population, *Rosmarinus officinalis* est la principale espèce présentant un intérêt agronomique. On compte aujourd'hui de nombreuses variétés et de nombreux clones de romarin officinal, sélectionnés pour leurs caractéristiques particulières.

Les principaux sont :

- Le clone pyramidal, à port érigé, tolérant au froid et moyennement concentré en huile essentielle (1,5 à 2 %)
- la variété SLT (sélection CRIEPPAM), moins tolérante au froid mais plus productive (huile essentielle 1,5 à 2 %)
- La variété VAU 3 (sélection CRIEPPAM), à teneur importante en huile essentielle (3,5 % environ)
- Les variétés du CNPMAI : CNPMAI 4, 8 et 12
- Le romarin verbénone. Ce romarin, dit romarin de Corse, est riche en verbénone (6 à 7 %) et en  $\alpha$ -pinène

Les principaux usages du romarin sont :

- Culinaires, comme aromate (sec, ou dans les bouquets garnis frais)
- Médicinal et cosmétique avec **l'huile essentielle**

A noter que le romarin est considéré comme une Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) et entre dans la composition du mélange du label rouge « herbes de Provence ».

### Potentiel des marchés

#### → Production

##### Production dans le monde

A l'échelle mondiale, environ **350 à 400 tonnes de romarin** ont été produites en 2004.

Les **pays méditerranéens** constituent le bassin de production historique du romarin. La Tunisie, l'Espagne, le Maroc et la Turquie figurent parmi les principaux pays producteurs.

D'autres zones du monde au climat adapté se sont également lancées dans la production de plantes aromatiques dont le romarin : Afrique du Sud, Zimbabwe, Italie, Albanie, Sud de la Chine, Californie, Mexique... Ces productions font pression sur les marchés.

##### Production en France

En 1998, la France produisait 150 tonnes de feuilles de romarin.

Aujourd'hui la principale zone productrice de plantes aromatiques est le sud-est : régions Rhône-Alpes (Drôme, Ardèche)

