

Popular Democratic Republic of Algeria
Ministry of High Education and Scientific Research
Abbes Laghrour University, Khenchela
Faculty of Natural and Life Sciences
Department of Molecular and Cellular Biology



الجزائرية الديمقراطية الشعبية الجمهورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة عباس لغرور خنشلة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم البيولوجيا الجزيئية و الخلوية

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER ACADÉMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème

Activité antibactérienne de l'huile essentielle de Romarin

Présenté par :

GHORABI Meryem

Devant le jury :

Présidente :	YAKHLEF Wahiba	M.C.B. Université de Khenchela
Directrice :	BENREDJEM Lamia	M.C.A. Université de Khenchela
Examinatrice :	BOUTARFA Soumia	M.C.B. Université de Khenchela

Année Universitaire: 2023/2024

Remerciements

Louange à Dieu le tout puissant qui m'a donné la santé, le courage et qui m'a guidé vers le savoir.

J'adresse mes sincères remerciements à ma Directrice de mémoire, Madame Benredjem Lamia pour son assistance précieuse, sa disponibilité constante, ses conseils avisés, ainsi que sa gentillesse du début à la fin de ce travail.

Je voudrais exprimer ma gratitude à Dr. YAKHLEF Wahiba qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens aussi à remercier Dr. BOUTARFA Soumia pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je tiens également à remercier les membres des laboratoires pédagogiques de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Abbès Laghrour - Khenchela pour leur aide et leurs conseils.

Dédicace

C'est avec un énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, Que je consacre ce travail:

À vous deux, mes chers parents, mon père Malik et ma mère Warda,

Je vous adresse cette dédicace avec tout mon amour et ma reconnaissance éternelle. Votre présence dans ma vie est un trésor inestimable, une source inépuisable d'inspiration et de bonheur. Votre amour est mon refuge, me protégeant des tempêtes de la vie. Que ces mots vous rappellent à quel point vous êtes précieux pour moi, aujourd'hui et toujours. Je vous aime plus que tout au monde.

À ma chère sœur Marwa et à mon frère bien-aimé Riadh,

À chaque tournant de la vie, dans les moments de joie comme dans les moments difficiles, votre présence constante a été mon roc, m'apportant réconfort et force. Vos encouragements, votre compréhension et votre présence ont été des piliers solides sur lesquels je me suis appuyé(e). Chaque moment partagé avec vous est une richesse que je chérirai toujours. Cette dédicace est un témoignage humble de ma gratitude éternelle pour votre amour, votre soutien et votre inspiration. Que notre lien fraternel soit toujours aussi fort, tissé avec les fils de l'amour, de la confiance et du respect mutuel.

Résumés

Le romarin est une plante aromatique couramment trouvée dans les régions méditerranéennes et est appréciée non seulement pour ses qualités culinaires mais aussi pour ses propriétés médicinales. Ses feuilles et ses fleurs contiennent divers composés bioactifs qui lui confèrent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Dans cette étude, l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin a été testée par la méthode d'ensemencement en masse sur des échantillons de viande blanche. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la mesure du taux de formation de méthémoglobine dans des échantillons de viande blanche. L'extraction de l'huile essentielle de la partie aérienne de la plante par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement de 0,4%. Les résultats microbiologiques ont révélé que l'huile essentielle de romarin possède une activité antibactérienne significative contre les Enterobacteriaceae sur une période de 7 jours, sans effet notable sur la flore mésophile aérobie totale. Les données indiquent un pouvoir antioxydant notable de l'huile essentielle de romarin, caractérisé par une réduction significative de la méthémoglobine pour une durée de 12 jours. L'impact de l'huile essentielle de romarin sur le pH des échantillons de viande blanche indique un effet stabilisateur de l'huile sur l'acidification de la viande qui se traduit par des valeurs proches de la neutralité au cours de la période de conservation. En ce qui concerne l'analyse phytochimique, effectuée à l'aide de chlorure de fer, elle a révélé la présence de deux composés bioactifs, à savoir les tanins et les phénols. Ainsi, l'huile essentielle de romarin présente un potentiel dans la conservation de la viande blanche.

Mots clés : activité antibactérienne, activité antioxydante, huile essentielle, pH, Romarin.

Title: Antibacterial activity of rosemary essential oil

Abstract

Rosemary is an aromatic plant commonly found in Mediterranean regions, valued not only for its culinary qualities but also for its medicinal properties. Its leaves and flowers contain various bioactive compounds that confer antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial properties. In this study, the antibacterial activity of rosemary essential oil was tested using the count plate method on white meat samples. The antioxidant activity was evaluated by measuring the rate of methemoglobin formation in white meat samples. The extraction of essential oil from the leaves of the plant by hydrodistillation yielded 0.4%. Microbiological results revealed that rosemary essential oil has significant antibacterial activity against Enterobacteriaceae over a period of 7 days, without notable effect on the total aerobic mesophilic flora. The data indicate a notable antioxidant power of rosemary essential oil characterized by a significant reduction of methemoglobin over a 12-day period. The impact of rosemary essential oil on the pH of white meat samples indicates a stabilizing effect on meat acidification, resulting in values close to neutrality during the storage period. Regarding the phytochemical analysis, performed using ferric chloride, the presence of two bioactive compounds, tannins and phenols, was detected. Thus, rosemary essential oil shows potential in preserving white meat.

Key words: antibacterial activity, antioxidant activity, essential oil, pH, Rosemary.

العنوان: النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي لإكليل الجبل

ملخص

إكليل الجبل هو نبات عطري يوجد عادة في مناطق البحر الأبيض المتوسط ويُقدّر ليس فقط لصفاته الطهوية بل أيضا لخصائصه الطبية. تحتوي أوراقه وزهوره على مركبات متنوعة نشطة بيولوجياً تُكسبه خصائص مضادة للأكسدة ، مضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات. في هذه الدراسة، تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لزيت إكليل الجبل الأساسي باستخدام طريقة الزرع الجماعي على عينات من اللحوم البيضاء. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة من خلال قياس معدل تكوين الميثيموغلوبين في عينات اللحوم البيضاء. أسفرت عملية استخراج الزيت الأساسي من أوراق النبات بواسطة التقطير المائي على عائد قدره 0.4 % بكشفت النتائج الميكروبيولوجية أن الزيت الأساسي لإكليل الجبل يمتلك نشاطاً مضاداً للبكتيريا ملحوظاً ضد *les Enterobacteriaceae* على مدار فترة 7 أيام، دون تأثير يُذكر على إجمالي البكتيريا المتوسطة الهوائية. تشير البيانات إلى قدرة مضادة للأكسدة ملحوظة لزيت إكليل الجبل الأساسي، تتميز بانخفاض كبير في مستوى الميثيموغلوبين لمدة 12 يوماً. يشير تأثير زيت إكليل الجبل العطري على الأس الهيدروجيني لعينات اللحوم البيضاء إلى وجود تأثير مثبت للزيت على تحمض اللحم، تمثل بقيم قريبة من الحيادية خلال فترة التخزين. أما بالنسبة للتحليل الكيميائي النباتي الذي أُجري باستخدام كلوريد الحديد، فقد كشف عن وجود مركبين نشطين بيولوجياً، وهما العفص والفينولات. وبالتالي ، فإن زيت إكليل الجبل الأساسي لديه القدرة على حفظ على اللحوم البيضاء.

الكلمات المفتاحية : نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة، زيت أساسي، الأس الهيدروجيني، إكليل الجبل.

Liste des abréviations

FTAM : Flore mésophile aérobie totale.

HE : Huile essentielle.

PCA : Plate Count Agar.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

S. typhimurium : *Salmonella typhimurium*.

UV : ultra-violet.

VRBG : Violet Red Bile Glucose.

Liste des tableaux

Tableau 1. Noms vernaculaires du Romarin.	6
Tableau 2. La Position systématique de Romarin.	6
Tableau 3. Effet antibactérien de l’huile essentielle de romarin sur les FTAM.	34

Liste des figures

Figure 1 . Le romarin.....	8
Figure 2. Fleurs et feuilles de romarin.	8
Figure 3. Fruit de romarin.	9
Figure 4. L'hydrodistillation	18
Figure 5. Distillation par entraînement à l'eau.....	18
Figure 6. L'hydrodiffusion.....	19
Figure 7. Extraction assistée par micro-onde.	20
Figure 8. Extraction au CO ₂ supercritique.	20
Figure 9. Le romarin.....	27
Figure 10. Dispositif d'extraction Type Clevenger.....	28
Figure 11. Effets antibactériens de l'huile essentielle de romarin sur les FTAM.....	35
Figure 12. Influence de l'huile essentielle de romarin sur les Enterobacteriaceae.	37
Figure 13. Variation du nombre d Enterobacteriaceae au cours du temps.....	38
Figure 14. Évolution du taux de méthémoglobine au cours du temps.	39
Figure 15. Variation des valeurs de pH en fonction du temps.	40
Figure 16. Réaction de détection de tanins dans l'huile de romarin.	41
Figure 17. Réaction de détection de Phénols dans l'huile de romarin.	41

Table des matières

Résumés

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Partie I: Etude Bibliographique

Chapitre I: Le Romarin

1.Présentation de la famille des Lamiacées..... 5

2.Le Romarin..... 5

2.1. Origine du nom 5

2.2. Systématique 6

2.3. Habitat et culture 7

2.3.1. Habitat 7

2.3.2. Culture..... 7

2.4. Description botanique 7

3.Les composants bioactifs 9

4.Domaine d'utilisation de la plante 10

4.1. En alimentation..... 10

4.2. En phytothérapie 11

4.3. En cosmétologie 11

5.Activités biologiques du romarin 12

5.1. Activité antibactérienne 12

5.2. Activité antivirale 12

5.3. Activité antioxydante 13

5.4. Activité anti inflammatoire..... 13

6.Effets indésirables de *Rosmarinus officinalis* 14

Chapitre II: Les huiles essentielles

1.Généralités sur les huiles essentielles..... 16

1.1. Définition des huiles essentielles..... 16

1.2. Localisation d'une huile essentielle dans la matière végétale 16

1.3. Fonctions dans la plante..... 16

1.4. Propriétés physiques et chimiques..... 17

2. Les techniques d'extraction.....	17
2.1. Hydrodistillation.....	17
2.2. Entraînement à la vapeur d'eau	18
2.3. L'hydrodiffusion	19
2.4. Extraction assistée par micro-ondes	19
2.5. Extraction au CO ₂ supercritique.....	20
2.6. Extraction par solvant organique.....	21
3. Composition chimique de l'huile essentielle du romarin.....	21
4. Conservation des huiles essentielles	22
5. Toxicité d'huile essentielle du romarin	22
6. Activités biologiques de l'huile essentielle de romarin	22
6.1. Activité antioxydante	22
6.2. Activité antibactérienne.....	23
6.3. Activité antifongique	23
6.4. Activité antiparasitaire.....	23

Partie II: Étude expérimentale

Chapitre III: Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal.....	27
2. Extraction de l'huile essentielle	27
3. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle.....	29
4. Evaluation des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin.....	29
4.1. Préparation d'échantillons	29
4.2. Activité antibactérienne.....	29
4.2.1. Milieux de culture	29
4.2.2. Méthode d'ensemencement en masse	29
4.2.3. Techniques de dénombrement.....	30
4.2.4. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	30
4.2.5. Dénombrement des Enterobacteriaceae	31
4.3. Evaluation de l'oxydation des protéines	31
4.4. Détermination du pH	32
5. Analyse phytochimique.....	32

Chapitre IV: Résultats et Discussion

Résultats

1.Rendement et caractéristiques organoleptiques	34
2.Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i>	34
2.1. La flore mésophile aérobie totale.....	34
2.2. Enterobacteriaceae.....	36
3.Evaluation de l'oxydation des protéines	39
4.Analyse du pH	40
5.Analyse phytochimique.....	41
Discussion	42
Conclusion	46
Références bibliographiques	47



Introduction

Introduction

L'utilisation répandue de produits chimiques comme additifs alimentaires pour la conservation de la viande s'avère très efficace lorsqu'elle est associée à la réfrigération, cette combinaison optimisant la stabilité et la qualité du produit, tout en maintenant sa fraîcheur et sa valeur nutritionnelle. Par exemple, une combinaison de tertio-butylhydroquinone et d'acide ascorbique peut contrôler efficacement la détérioration de la viande et des produits carnés (Pal *et al.*, 2022). Cependant, l'utilisation de ces conservateurs synthétiques suscite d'importantes préoccupations en raison de leur bio-incompatibilité, de leur non-biodégradabilité et de leur impact environnemental négatif, ainsi que des risques potentiels pour la santé humaine et animale, comme la carcinogenèse et la tératogenèse (Maurya *et al.*, 2021).

D'autre part, l'application d'huiles essentielles et d'extraits de plantes dans la conservation des produits carnés offre une alternative naturelle et efficace. Ces composés, entièrement naturels, présentent une activité biologique principalement axée sur la prévention de l'oxydation et de la prolifération des microorganismes (Aguiar Campolina *et al.*, 2023). En outre, ils présentent des caractéristiques respectueuses de l'environnement et bénéficient d'un statut généralement reconnu comme sûr. Les huiles essentielles, en particulier, se distinguent par leur faible toxicité résiduelle et leurs effets indésirables minimaux, ce qui les rend sûres pour la préservation des aliments (Maurya *et al.*, 2021).

La famille des Lamiacées représente la source la plus importante de plantes ayant un effet calmant et relaxant. Ses membres renforcent et stimulent également, et ont des effets spécifiques associés à un organe ou à un système particulier. Il a été démontré que les composés actifs présents dans les plantes de la famille des Lamiacées ont des effets antibactériens, antioxydants, antifongiques et antitumoraux naturels, ce qui suggère qu'ils peuvent être des alternatives viables aux produits synthétiques dans la thérapie de diverses maladies. Ainsi, les avantages avérés pour la santé humaine représentent la principale raison pour laquelle diverses espèces de plantes médicinales appartenant à la famille des Lamiacées sont de plus en plus exploitées de nos jours, dans diverses formulations (Cocan *et al.*, 2018).

Rosmarinus officinalis L. (romarin), une espèce végétale appartenant à la famille des Lamiacées, est communément connue sous le nom de romarin. Il est réputé pour être une source riche en huile essentielle avec des propriétés bénéfiques pour la santé humaine,

Introduction

utilisée dans la préparation des plats et comme conservateurs alimentaires. De plus, le romarin est utilisé en médecine traditionnelle pour la prévention et le traitement de diverses maladies humaines et animales. Les propriétés biologiques de cette plante sont liées aux composés produits par son métabolisme secondaire. De nombreuses études ont été menées pour analyser et identifier la composition chimique des huiles essentielles de romarin ainsi que leurs propriétés biologiques (Blank *et al.*, 2020).

Les huiles essentielles sont des produits naturels formant des complexes de composés chimiques. Elles se présentent sous forme de liquides volatils et aromatiques (Neves *et al.*, 2018), considérées comme des arômes ou des essences, et possèdent de nombreuses applications en raison de leurs propriétés médicinales et de leur importance dans les industries cosmétiques et alimentaires. Dotées d'un fort potentiel biologique, elles peuvent présenter des activités antioxydantes, antiseptiques, antimicrobiennes, antifongiques, anti-inflammatoires ou répulsives, entre autres (Rezende *et al.*, 2017).

L'objectif de cette étude est d'analyser l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de romarin dans le contexte de la conservation de la viande blanche.

Ce manuscrit est structuré en deux parties distinctes:

- La première partie, de nature bibliographique, est divisée en deux chapitres. Le premier traite du *Rosmarinus officinalis* et ses activités biologiques, suivi du deuxième chapitre qui présente des généralités sur les huiles essentielles.
- La deuxième partie, de nature expérimentale, est également divisée en deux chapitres. Le premier chapitre concerne le matériel et les méthodes, suivi du deuxième chapitre qui expose les résultats et discussion.

Enfin, ce mémoire se termine par une conclusion.



Partie I
Etude Bibliographique



Chapitre I
Le Romarin

1. Présentation de la famille des Lamiacées

La famille des Lamiacées, l'une des plus importantes familles de plantes, comprend une grande variété de plantes ayant des applications biologiques et médicales (Uritu *et al.*, 2018).

Les lamiacées constituent l'une des plus grandes familles botaniques, comprend environ 236 genres et plus de 6000 espèces. De nombreuses espèces de la famille des Lamiacées possèdent des huiles essentielles de haute qualité dans toutes les parties aériennes, en particulier dans les feuilles et les fleurs (Ebadollahi *et al.*, 2020).

Elle est répartie de manière plus ou moins cosmopolite, avec une concentration significative du bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale. Ces plantes sont principalement vivaces, bien que certaines soient annuelles. En Algérie, les Lamiacées jouent un rôle important dans la composition floristique. Elles se présentent sous forme d'arbustes, de sous-arbrisseaux ou de plantes herbacées, généralement odorantes, caractérisées par des tiges quadrangulaires et des feuilles opposées dépourvues de stipules. Ces caractéristiques morphologiques, associées à des propriétés aromatiques souvent marquées, facilitent l'identification de la famille (Mehalaine, 2018).

2. Le Romarin

2.1. Origine du nom

Le nom romarin dérive du mot latin signifiant "rosée" (*ros*) et "mer" (*marinus*), ou "rosée" (Colica *et al.*, 2018). Dans d'autres régions, on le surnomme "la Rose de mer" en latin *Rosa marina* qui a donné son nom au genre (Leplat, 2017). Le tableau 1 présente les noms arabes et berbères du Romarin ainsi que d'autres appellations régionales en Algérie.

Tableau 1. Noms vernaculaires du Romarin.

Région	Nom	Référence
Les noms arabes	klil, Hatssa, Loubon, hassalban	(Kherfi, 2013)
Les noms berbères	Iazir, Aziir, Ouzbir, Touzala	(Kherfi, 2013)
Appellations régionales en Algérie	Région de l'Est : Eklil Région de l'Ouest : Helhal Région du Centre : Yazir	(Fedjer, 2022)

2.2. Systématique

La classification botanique du genre *Rosmarinus* L. n'était achevée qu'au début du 20^{ème} siècle en raison de l'extrême variabilité des espèces. Le romarin appartient à la deuxième famille des labiées ou lamiacées (Tableau 2). Cette famille, est l'une des plus importantes de la flore d'Algérie, compte plus de 200 genres et 3500 espèces (Djoumi et Teffert, 2017).

Tableau 2. La Position systématique de Romarin (Quezel et Santa, 1963).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétales.
Ordre	Lamiales (Labiales)
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Rosmarinus officinalis</i>

2.3. Habitat et culture

2.3.1. Habitat

Le romarin est une plante spontanée de tout le bassin méditerranéen et plus particulièrement du littoral, tels que, Italie, Espagne, Algérie, Tunisie et Maroc (Hoefler, 1994).

Il fait partie des espèces végétales des écosystèmes terrestres qui se trouvent à l'état sauvage (Kamli *et al.*, 2017) , réparties dans de nombreux habitats entre 650 mètres et 1500 mètres (Loussouarn-Yvon, 2017).

2.3.2. Culture

R. officinalis est l'espèce la plus courante et cultivée dans de nombreuses régions. La plante est très tolérante à différentes conditions climatiques et types de sols (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Il apprécie un fort ensoleillement, une atmosphère sèche et des températures chaudes. Il se trouve principalement sur des terrains arides, calcaires et pauvres en nutriments et matières organiques tels que la garrigue, le maquis et la rocaille (Loussouarn-Yvon, 2017).

La plante pousse vigoureusement dans des sols fertiles mais avec moins d'arôme que lorsqu'elle pousse dans des sols sablonneux et caillouteux, où elle est très aromatique. L'espèce peut pousser dans des sols avec une large gamme de pH (4,5 à 8,7), bien que les meilleures conditions de croissance soient dans des sols basiques (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

2.4. Description botanique

Le romarin est une plante vivace et aromatique, un arbuste ligneux touffu avec des branches pleines de feuilles qui exhalent une odeur caractéristique, toujours vert de 1 à 2 mètres de hauteur selon les régions de répartition (Figure 1) (Oliveira *et al.*, 2019). Il peut vivre pendant 15-20 ans (Garzoli *et al.*, 2021) .



Figure 1. Le romarin (Makhloufi, 2013).

- **Les feuilles** : linéaires de 5 à 40 mm de long et de 1 à 5 mm de large, ressemblant en quelque sorte à de petites aiguilles de pin courbées, sont sessiles, opposées, étroites et coriaces, à bords enroulés en dessous, vertes à la face supérieure, velues et blanchâtres à la face inférieure (Figure 2) (Hoefer, 1994 ; Sharifi-Rad *et al.*, 2020).
- **Les fleurs** : fleurs bleu pâle, lilas ou blanchâtres, maculées de petites tâches violettes à l'intérieur, sont disposées en courtes grappes à l'aisselle des feuilles, sur la partie supérieure des rameaux (Figure 2) (Hoefer, 1994 ; Mouas, 2018). Ces petites fleurs sont visibles de Décembre à fin Avril, lors de la floraison (Masure, 2018).



Figure 2. Fleurs et feuilles de romarin (Datiles & Acevedo-Rodríguez, 2014)

- **Le fruit** : est un tétrakène brun foncé, lisse et globuleux, de 2,3 mm de long. Chaque akène renferme un embryon sans albumen (Figure 3) (Leplat, 2017).



Figure 3. Fruit de romarin (Messabhia *et al.*, 2022).

- **La tige** : ligneuse, à l'écorce grisâtre, écailleuse et fissurée, se divisant en rameaux opposés tortueux, nœuds distancés de 0,5 à 2 mm (Mouas, 2018).
- **Le système racinaire** : il possède un système racinaire dense et profond ce qui lui permet de puiser l'eau en profondeur (Loussouarn-Yvon, 2017).

3. Les composants bioactifs

Ils peuvent varier en fonction de différents facteurs tels que la variété de la plante, le stade phénologique de la plante, les conditions climatiques, le pays d'origine, l'emplacement, le moment de la récolte, les méthodes d'extraction et la partie de la plante étudiée (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

En effet, une grande variété de composants bioactifs utiles ont été isolée à partir des plantes de romarin (Leplat, 2017; Sharifi-Rad *et al.*, 2020 ; Blank *et al.*, 2020), y compris:

- l'huile essentielle
- les flavonoïdes
- les terpénoïdes : acide ursolique, acide oléanolique, α - et β -amyrines.
- les acides phénoliques : l'acide rosmarinique (appelé aussi tanin des labiées), acide caféique, acide chlorogénique.
- les diterpènes : l'acide carnosique et le carnosol.

La production de composants bioactifs par les plantes est liée aux mécanismes de défense des plantes contre les pathogènes et l'herbivore (Blank *et al.*, 2020).

4. Domaine d'utilisation de la plante

Le romarin est une plante aromatique qui a été largement étudiée pour ses composés biologiquement actifs et son utilisation précieuse dans l'alimentation, la phytothérapie et la cosmétologie (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

4.1. En alimentation

Depuis plus de vingt ans, les extraits de romarin sont utilisés dans l'industrie alimentaire, principalement pour préserver la viande, les huiles triglycéridiques ou les émulsions (Loussouarn-Yvon, 2017).

Le romarin est une bonne source naturelle de composés antioxydants. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire pour prévenir une éventuelle dégradation oxydative et microbienne des aliments (Bousbia, 2011). Plusieurs études ont démontré que les propriétés du romarin conduisent à d'excellents résultats sensoriels tout en réduisant l'oxydation des lipides après son ajout aux aliments (Nieto *et al.*, 2018).

Le romarin est également utilisé comme alternative aux additifs chimiques dans la préparation de la volaille, de l'agneau, du veau, des fruits de mer, des saucisses, des salades ainsi que des soupes et des chapelures. De plus, le romarin est employé comme épice dans les croustilles, les chips et les frites (Bousbia, 2011).

Les feuilles du romarin, fraîches ou séchées, sont employées dans la cuisine traditionnelle méditerranéenne en tant qu'herbes en raison de leur saveur intense, âcre et amère, dans de nombreux plats. Le romarin est une plante très riche en fer, calcium et vitamine B6, et constitue également une source de fibres (Colica *et al.*, 2018).

Le nectar des fleurs de romarin est spécialement récolté pour produire un miel très parfumé, connu sous le nom de "Miel de Narbonne" ou miel de romarin (Hoefler, 1994).

4.2. En phytothérapie

Le romarin peut s'utiliser de différentes manières en raison de la solubilité de ses principes actifs dans l'eau, dans l'alcool, dans l'huile et dans l'acide acétique du vinaigre (Leplat, 2017).

Des études pharmacologiques modernes ont indiqué que le romarin et ses composants, en particulier les dérivés de l'acide caféique tels que l'acide rosmarinique, ont diverses utilisations traditionnelles en ethnomédecine, notamment des applications analgésiques, anti-inflammatoires, anti-cancérogènes, anti-rhumatismales, spasmolytiques, anti-hépatotoxiques, athérosclérotiques, carminatives et cholérétiques, ainsi que dans l'amélioration du stress (Uritu *et al.*, 2018).

Il est utilisé également pour les coliques rénales et les ulcères gastriques, le diabète, les affections expectorantes, et la dysménorrhée (Diniz do Nascimento *et al.*, 2020). De plus, il stimule le fonctionnement de la vésicule biliaire, calme la toux, contribue au confort des personnes asthmatiques, soulage les migraines, ainsi que les céphalées, et possède des propriétés tonocardiaques, hypotensives, décongestionnantes veineuses, diurétiques et régulatrices hépatiques (Kamli *et al.*, 2017).

Le romarin (partie de plante non précisée) s'emploie aussi contre la paralysie et l'épilepsie et contre les phénomènes de débilité de tous genres (Hoefler, 1994).

Pendant la saison de croissance, les feuilles dégagent un arôme fort et rafraîchissant connu pour soulager la dépression (Shen *et al.*, 2023). De plus, les feuilles réduites en poudre sont utilisées comme répulsif naturel efficace contre les puces et les tiques (Uritu *et al.*, 2018).

Les feuilles séchées entières ou coupées de Romarin, sous forme liquide ou semi-solide, sont traditionnellement utilisées pour la gestion et le traitement des blessures, réduisant ainsi l'inflammation et améliorant la contraction des plaies (Leplat, 2017).

4.3. En cosmétologie

Le romarin a une utilisation très ancienne en cosmétologie. Il entre également dans la formulation des pommades dermiques, ainsi que dans la composition de parfums. Les extraits de romarin protègent la peau contre les lésions cutanées induites par les radicaux libres (Bousbia, 2011).

Cette plante est également utilisée pour offrir une protection à la peau contre les rayons UV et gamma (Uritu *et al.*, 2018), tout en jouant un rôle dans la gestion du processus d'anti-vieillesse cutané (Bousbia, 2011).

L'huile essentielle du Romarin, est utilisée dans la préparation de crèmes pour les soins de la peau (Castañeda *et al.*, 2015). Elle est également employée dans les huiles corporelles et sert à parfumer divers produits d'hygiène tels que les dentifrices et les savons (Leplat, 2017).

5. Activités biologiques du romarin

5.1. Activité antibactérienne

Le romarin a démontré son efficacité en inhibant la croissance de bactéries telles que *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et *Staphylococcus aureus* (Rafie *et al.*, 2017). Son activité a également été documentée contre *Mycobacterium intracellulare*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (Castañeda *et al.*, 2015).

En plus de son action inhibitrice, le romarin pourrait également contribuer à réduire la résistance aux médicaments de certaines bactéries. Son rôle implique de surmonter et de diminuer l'imperméabilité des membranes de ces bactéries. Cela représente une stratégie innovante pour contenir et éliminer les souches de bactéries résistantes (Rafie *et al.*, 2017).

D'après l'étude menée par Milyuhina *et al.* (2021), ils ont conclu que l'extrait éthanolique de *R. officinalis* L. possède une activité antimicrobienne prononcée contre des souches de bactéries à Gram positif et à Gram négatif.

5.2. Activité antivirale

Parmi les constituants actifs de romarin, c'est l'acide carnosique qui montre la plus grande activité anti-virus respiratoire syncytial (VRS) et qui est efficace contre les deux types du virus : A et B. De plus, l'acide carnosique inhibe l'activité d'une protéase du VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). L'acide carnosique supprime efficacement la réplication du VRS de manière dose-dépendante ainsi que l'expression des gènes viraux, sans induire la production d'interféron de type I (responsable de la réponse immunitaire antivirale contre le VRS, avec les interférons de type III), ou affecter la viabilité cellulaire. Ceci suggère qu'il affecte directement les facteurs viraux (Leplat, 2017).

5.3. Activité antioxydante

L'activité antioxydante du romarin dépend du stade de fructification, de la nature des extraits, de la méthode d'extraction, de la présence d'un inhibiteur, de l'effet synergique et de la concentration des composants actifs de l'extrait (Diniz do Nascimento *et al.*, 2020).

Les propriétés antioxydantes qui dépendent des stades de fructification sont directement liées à l'augmentation de la concentration de polyphénols, comprenant le carnosol, l'acide rosmarinique et l'hespéridine, ce qui améliore la capacité antioxydante de l'extrait.

L'acide carnosique, le carnosol, le rosmanol et l'épirosmanol sont les principaux diterpènes phénoliques responsables des propriétés antioxydantes du romarin. Ces composés, présents dans les feuilles, s'accumulent dans les membranes lipidiques des cellules où l'effet antioxydant est requis (Nieto *et al.*, 2018). Ses composés bioactifs peuvent être quatre fois plus efficaces que l'action des antioxydants artificiels (Bousbia, 2011).

Les composés phénoliques présents dans les extraits commerciaux de romarin agissent en tant qu'antioxydants primaires lorsqu'ils réagissent avec les radicaux lipidiques et hydroxyles pour les transformer en produits stables, tandis que l'un des aspects les plus significatifs de l'activité antioxydante du romarin est la relation entre les diterpènes et l'activité de capture des radicaux (Nieto *et al.*, 2018).

R. officinalis exerce son effet antioxydant à travers plusieurs voies métaboliques, notamment en prévenant la peroxydation lipidique causée par le stress oxydatif. De plus, le romarin réduit la quantité d'espèces réactives dans le corps et augmente l'activité des enzymes antioxydantes, renforçant ainsi la défense du corps contre les dommages oxydatifs (Rafie *et al.*, 2017).

5.4. Activité anti inflammatoire

Les composés carnosol et l'acide carnosique jouent un rôle clé dans l'activité anti-inflammatoire du romarin. Leur activité est neuf fois supérieure à celle de l'indométacine, un anti-inflammatoire courant.

L'huile essentielle et l'extrait de romarin inhibent puissamment la migration des leucocytes (globules blancs) dans l'organisme, réduisant ainsi leur concentration au niveau des sites d'inflammation entraînant une réponse anti-inflammatoire. De plus, l'extrait de romarin a

démontré une inhibition d'autres substances pro-inflammatoires telles que l'oxyde nitrique et les gènes associés à l'inflammation (Rafie *et al.*, 2017). Le constituant majeur le plus fréquent de l'huile essentielle de *R. officinalis*, l'eucalyptol (1,8-cinéole), présente des activités anti-inflammatoires et anti-nociceptives bien établies. Des études ont confirmé que son activité anti-inflammatoire se manifeste par la suppression de la production de cytokines pro-inflammatoires induite par les lipopolysaccharides, agissant sur le TNF- α , l'IL-6, le NF- κ B et l'IL-1 β , ainsi que par la réduction du stress oxydatif grâce à une activité de capture des radicaux libres et à la régulation des voies de signalisation (Diniz do Nascimento *et al.*, 2020).

6. Effets indésirables de *Rosmarinus officinalis*

R. officinalis peut devenir toxique et causer des maladies chroniques chez la population qui le consomme, en raison de facteurs tels que la fréquence d'utilisation, le nombre et la sensibilité des individus, en raison de la présence principalement de composés tels que le 2,6-diméthoxy trouvé dans l'extrait (Castañeda *et al.*, 2015).

À dose thérapeutique, les effets indésirables du Romarin sont rares. En cas de surdosage, le Romarin peut irriter la muqueuse intestinale et être à l'origine de crampes, spasmes et nausées. Si le surdosage est important, cela peut engendrer des saignements de l'utérus, des crises de convulsion voire un coma. De plus, des dermatites de contact allergique peuvent se développer chez les individus travaillant ou étant exposés au carnosol de la plante. L'utilisation traditionnelle du Romarin montre également des effets possibles sur le développement de l'embryon et des risques d'épisodes abortifs (Leplat, 2017).

En outre, les feuilles et les sommités fleuries du romarin peuvent provoquer des néphrites et des gastro-entérites à dose élevée (Hoefler, 1994).

A decorative scroll frame with a light gray border and rounded corners. The top and bottom edges are slightly curved, and the left and right sides have small circular details that look like the ends of a scroll.

Chapitre II

Les huiles essentielles

1. Généralités sur les huiles essentielles

1.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des mélanges naturels complexes de substances volatiles extraites de la plante par distillation à la vapeur ou hydrodistillation (Rezende *et al.*, 2017). Ce sont des liquides hydrophobes, lipophiles, contenant des composés phytochimiques volatils aromatiques (Al Khoury, 2021), stockés dans des tissus végétaux spécialisés (Mouas, 2018).

1.2. Localisation d'une huile essentielle dans la matière végétale

Les HE sont sécrétées dans différentes parties, variant selon la plante aromatique. Elles peuvent être obtenues à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs, de brindilles, d'écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits, mais également à partir de gommages qui s'écoulent du tronc des arbres (Toure, 2015). Ces huiles essentielles sont généralement stockées par la plante dans les cellules sécrétrices, les cavités, les canaux, les trichomes glandulaires ou les cellules épidermiques (Bouyahya *et al.*, 2017).

1.3. Fonctions dans la plante

Le rôle essentiel des HE au sein d'une plante n'est pas encore complètement éclairci. Les études menées dans ce sens suggèrent que ces essences constituent un moyen de défense contre les prédateurs tels que les micro-organismes, les champignons, les insectes et les herbivores, en modulant leurs comportements vis-à-vis des plantes. De plus, elles peuvent jouer un rôle important en tant que modérateurs des réactions d'oxydation intramoléculaire, protégeant ainsi la plante contre les agents atmosphériques. Les plantes aromatiques utilisent également les HE pour inhiber la germination et le développement d'autres espèces végétales dans leur voisinage, un phénomène connu sous le nom d'effet allélopathique (Bouyahya *et al.*, 2017). Les HE pourraient être également, des sources d'énergie lorsque l'activité de photosynthèse n'est plus suffisante (Deschepper, 2017).

1.4. Propriétés physiques et chimiques

Les HE forment un groupe très homogène en ce qui concerne leurs propriétés physico-chimiques qui sont les suivantes (Randrianarivelo, 2010 ; Rezende *et al.*, 2017; Martins, 2020 ; Szukalowski, 2022) :

- Les HE sont pour la plupart liquides à température ambiante, bien que certaines puissent être visqueuses, cristallisées ou beaucoup plus rarement solides.
- Elles sont incolores ou de couleur jaune clair et ont généralement une odeur.
- Elles sont inflammables, et ne contiennent aucun corps gras.
- Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée.
- De densité généralement inférieure à celle de l'eau, elles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques. Elles sont insolubles dans l'eau à qui elles communiquent néanmoins leur odeur.
- Elles sont volatiles à température ambiante bien que leur point d'ébullition soit relativement élevé (150 °C – 300 °C).
- Les huiles essentielles sont sensibles à l'oxygène atmosphérique et à la lumière, leur exposition entraînant l'altération des composés aromatiques qui les constituent.
- Pratiquement toutes les HE ont la capacité de traverser la peau et de se retrouver plus ou moins rapidement dans la circulation sanguine. Seul le temps de pénétration varie d'une huile essentielle à une autre.

2. Les techniques d'extraction

2.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation (Figure 4) est la méthode la plus utilisée pour extraire les HE et permet de les séparer à l'état pur tout en fournissant de meilleurs rendements (Alloun, 2013).

La plante est mise en contact avec de l'eau dans un ballon lors d'une extraction en laboratoire ou dans un alambic industriel, qui est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et les HE se séparent par différence de densité dans un vase à décantier. Cette méthode est recommandée pour les matières premières qui, de par leur nature, s'agglutinent facilement et empêchent ainsi la pénétration de la vapeur dans la masse végétale (Diass *et al.*, 2021).

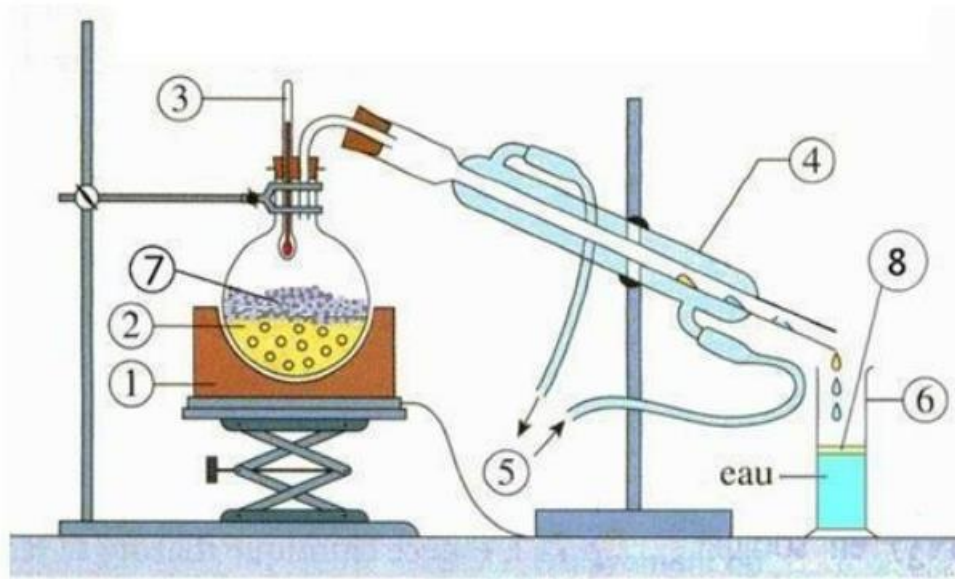


Figure 4. L'hydrodistillation (Mouas, 2018). 1: Chauffe-ballon, 2:Eau bouillante, 3:Thermomètre, 4:Réfrigérant à eau, 5:Arrivée d'eau froide et Sortie d'eau tiédie, 6:Essencier, 7:Végétal, 8:Huile Essentielle

2.2. Entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE. Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable (Figure 5). Les vapeurs saturées en composés volatils sont ensuite condensées puis décantées dans l'essencier, afin d'être séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, permet d'éviter certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant altérer la qualité de l'huile (Boukhatem *et al.*, 2019).

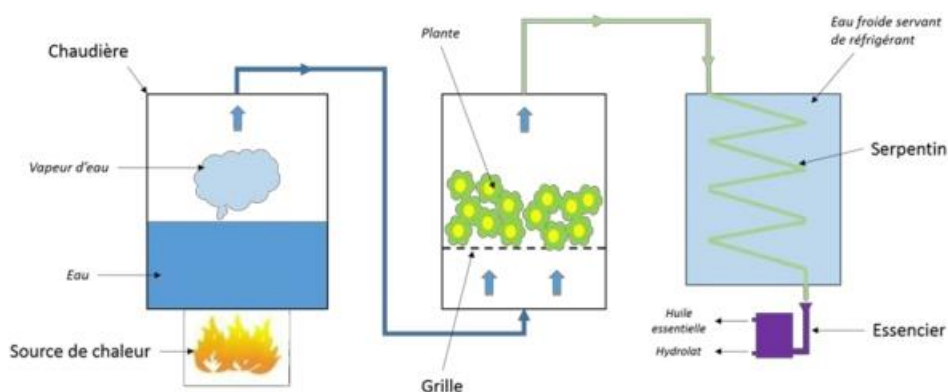


Figure 5. Distillation par entraînement à l'eau (Deschepper, 2017).

2.3. L'hydrodiffusion

Ce procédé utilise la vapeur d'eau pour entraîner les composés qui nous intéressent, mais à l'inverse de la distillation, la vapeur est ici injectée de haut en bas, à faible pression, à travers la masse végétale (Figure 6). L'hydrodiffusion permet une extraction plus rapide et moins coûteuse en énergie, mais au détriment de la qualité du produit final (Solène, 2012).

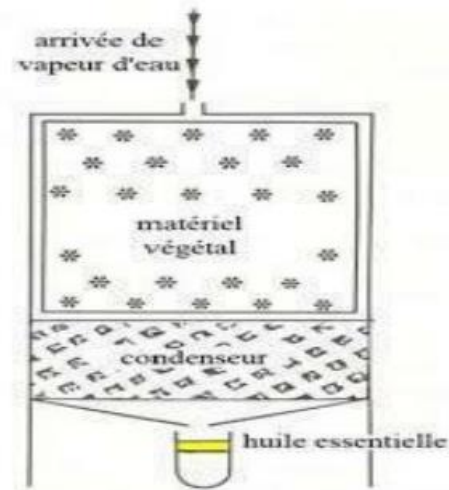


Figure 6. L'hydrodiffusion (Malki, 2014).

2.4. Extraction assistée par micro-ondes

Dans cette méthode, la matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par les micro-ondes. Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans la plante. Ensuite, la vapeur est récupérée et traitée de la même manière que dans les méthodes traditionnelles (Figure 7).

Cette technique présente plusieurs avantages, elle n'utilise pas de solvants chimiques, elle est économe en énergie, en temps et en investissement. De plus, elle préserve la qualité de l'huile essentielle, ce qui en fait une bonne alternative aux méthodes classiques d'extraction (Deschepper, 2017).

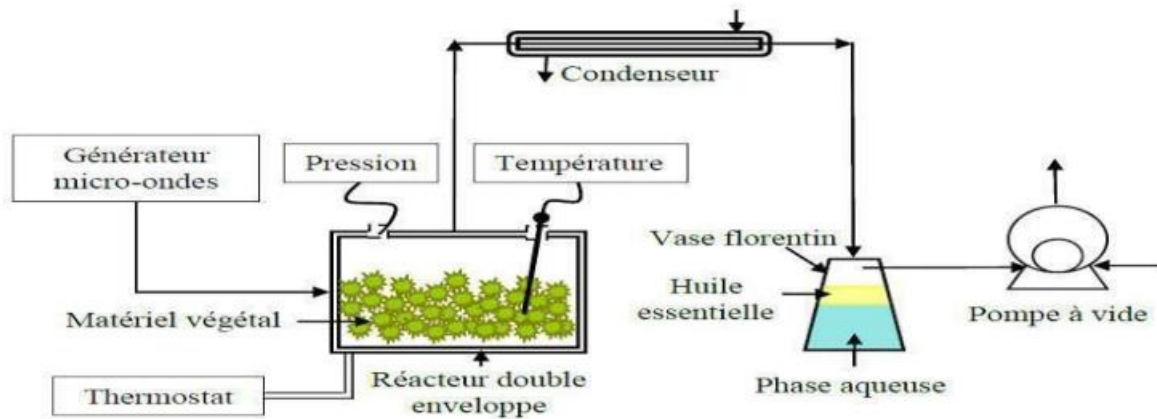


Figure 7. Extraction assistée par micro-onde (Belbessai, 2016).

2.5. Extraction au CO₂ supercritique

La technique repose sur la solubilité des constituants dans le CO₂ et son état physique. Grâce à cette propriété, il permet une extraction dans le domaine supercritique et une séparation dans le domaine gazeux. Dans cette méthode, un flux de CO₂ à haute pression fait éclater les poches d'essence et entraîne les huiles essentielles qui seront ensuite récupérées (Figure 8). L'extraction des huiles essentielles par CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et dans un temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes conventionnelles (Diass *et al.*, 2021).

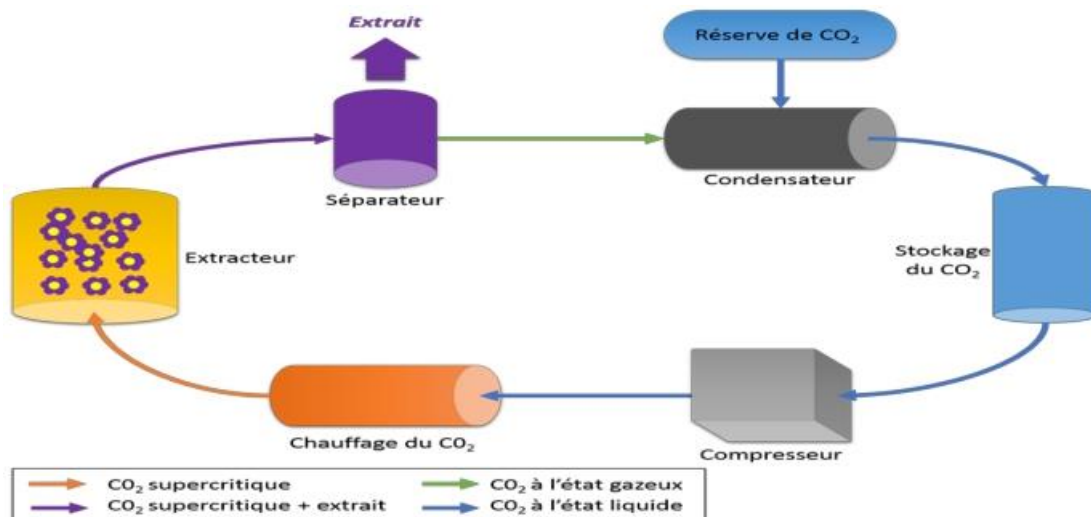


Figure 8. Extraction au CO₂ supercritique (Deschepper, 2017).

2.6. Extraction par solvant organique

Certains organes de végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation. Dans ces cas, d'autres méthodes d'extraction des composés odorants volatils sont nécessaires, telles que l'extraction par les solvants (Alloun, 2013). Cette méthode repose sur le fait que les essences aromatiques sont solubles dans la plupart des solvants organiques. L'extraction est réalisée dans des extracteurs de construction variée, en continu, semi-continu ou discontinu. Le processus consiste à épuiser le matériel végétal avec un solvant à bas point d'ébullition, qui sera ensuite éliminé par distillation sous pression réduite. L'évaporation du solvant produit un mélange odorant de consistance pâteuse dont l'huile est extrait par l'alcool. Les solvants les plus couramment utilisés sont des hydrocarbures aliphatiques (hexane, éther de pétrole), des hydrocarbures aromatiques (toluène), des alcools ou des solvants carbonylés, et moins fréquemment des hydrocarbures halogénés (dichlorométhane) (Djazer, 2014).

Le solvant choisi doit non seulement être autorisé, mais doit également être stable face à la chaleur, la lumière et l'oxygène. Sa température d'ébullition doit de préférence être basse pour faciliter son élimination, et il ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait (Bouadjemi, 2018). Cependant, un inconvénient majeur des solvants organiques est leur toxicité, ce qui limite les applications des extraits obtenus appelés « concrètes », notamment dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires (Deschepper, 2017).

3. Composition chimique de l'huile essentielle du romarin

Les composants principaux sont les suivants:

- **Hydrocarbures monoterpéniques** : Camphène, Verbénène, α -Pinène, β -Pinène, Limonène.
- **Monoterpènes oxygénés** : Linalool, Camphre, Bornéol, Verbénone, 1,8-cinéole (également appelé eucalyptol) (Sharifi-Rad *et al.*, 2020).

La composition chimique de l'huile essentielle peut varier selon la phase de développement et l'origine de la plante (Mehalaine, 2017).

4. Conservation des huiles essentielles

Les HE sont altérables et sensibles à l'oxydation, nécessitant une conservation dans l'obscurité et dans une ambiance humide (Kouache, 2019). De ce fait, il est nécessaire de les transférer dans des flacons étanches et de faible volume, filtrant les radiations IR (infrarouge) et UV (ultra-violet) : en acier inoxydable, en aluminium ou en verre coloré (bleu ou brun) avec des bouchons inertes (pas de liège). La durée de conservation d'une HE est de 12 à 18 mois, à une température maximale de 25°C (Leplat, 2017).

5. Toxicité d'huile essentielle du romarin

L'HE de romarin est neurotoxique (Leplat, 2017), notamment celle contenant du verbénone, ce qui rend son utilisation interne à éviter, car elle peut être toxique même à faible dose (Hay, 2015).

La consommation de grandes quantités d'HE de romarin peut être associée à une toxicité caractérisée par une irritation de l'estomac et de l'intestin, des réactions allergiques et cutanées, voire des dommages rénaux (Uritu *et al.*, 2018). De plus, l'inhalation d'huile essentielle de romarin est déconseillée en cas d'asthme, de coqueluche ou de laryngite striduleuse (une infection virale de l'enfant), car cela peut entraîner une irritation et occasionnellement des spasmes du larynx. L'usage externe de cette huile peut aggraver un bronchospasme et rarement provoquer une hypersensibilité de la peau. Par ailleurs, l'huile essentielle de romarin peut générer un effet de photosensibilité ou une dermatite allergique. En outre, il est essentiel de souligner que cette HE peut interagir avec d'autres médicaments, entraînant des effets indésirables (Hay, 2015).

6. Activités biologiques de l'huile essentielle de romarin

6.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante de l'HE de romarin pourrait être due à la synergie entre certains, voire tous les composants présents, même en faible quantité. En particulier, les monoterpènes oxygénés, tels que les molécules de bornéol et de camphre, qui possèdent des activités antioxydantes intéressantes, bien que leur concentration soit faible dans l'huile.

L'HE de romarin a démontré son efficacité pour contrôler l'oxydation dans les saucisses de Francfort et protéger les protéines de l'oxydation dans les galettes de viande. Ce comportement est très important pour contrôler les changements de couleur des produits carnés, principalement provoqués lorsque les pigments de l'hème sont oxydés (Nieto *et al.*, 2018).

6.2. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne des HE était généralement liée à leur teneur en molécules monoterpéniques (Ben Jemaa *et al.*, 2021).

L'huile de romarin possède une activité antibactérienne plus élevée contre les bactéries à Gram positif que contre les bactéries à Gram négatif (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Cette activité est liée à leur richesse en 1,8 cinéole, qui présente une efficacité antimicrobienne potentielle contre des micro-organismes tels que *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus pumilus*, *Salmonella poona* et *Escherichia coli*. En effet, le 1,8 cinéole (un terpène) cible la membrane cytoplasmique microbienne. Son mécanisme d'action probable est l'accumulation dans la membrane cellulaire, provoquant une perte d'intégrité membranaire, l'inhibition des enzymes respiratoires et la dissipation de la force proton-motrice (Ben Jemaa *et al.*, 2021).

6.3. Activité antifongique

La plante *R. officinalis* est une source de molécules antifongiques, telles que le 1,8-cinéole, qui favorise des altérations morphologiques chez *Aspergillus* spp, induisant la dégénérescence de la paroi cellulaire fongique (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Le romarin peut même prévenir le développement de biofilms fongiques hautement résistants. En enrobant des nanoparticules avec de l'HE de romarin, un nanobio-système a été produit, inhibant significativement l'adhérence et le développement de biofilms des souches fongiques de *Candida*. Cette stratégie représente une alternative nécessaire à la médecine traditionnelle dans le traitement des champignons résistants aux médicaments (Rafie *et al.*, 2017).

6.4. Activité antiparasitaire

L'HE de romarin possède une activité antileishmanienne très intéressante contre trois espèces : *Leishmania major*, *L. infantum* et *L. tropica* (Khaldoun & Moussaoui, 2022). Ses

composants permettent de réduire significativement le nombre d'amastigotes dans les macrophages par rapport à la solution témoin (Chellouai & Hamzi, 2022).

De plus, elle est utilisée dans la préparation d'un bain pour se débarrasser de *Phthirus pubis* (Hoefler, 1994), tandis que certains de ses constituants sont toxiques contre *Tetranychus urticae* (Diass *et al.*, 2021).



Partie II
Étude expérimentale

A decorative frame resembling a scroll, with a light gray border and rounded corners. The frame has a vertical strip on the left side and a small scroll-like detail at the top right corner.

Chapitre III

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

La matière première utilisée est la partie aérienne (feuilles) de la plante *Rosmarinus officinalis* (Figure 9), récoltée dans la région de Kais, Wilaya de Khenchela, au cours du mois de Février 2024. Les échantillons sont ensuite séchés à l'air libre, à l'abri de la lumière, pendant une période de 15 jours. Une fois la plante séchée, les feuilles sont séparées de leurs rameaux et conservées dans des sacs en papier propres en vue de leur utilisation ultérieure dans le processus d'extraction.

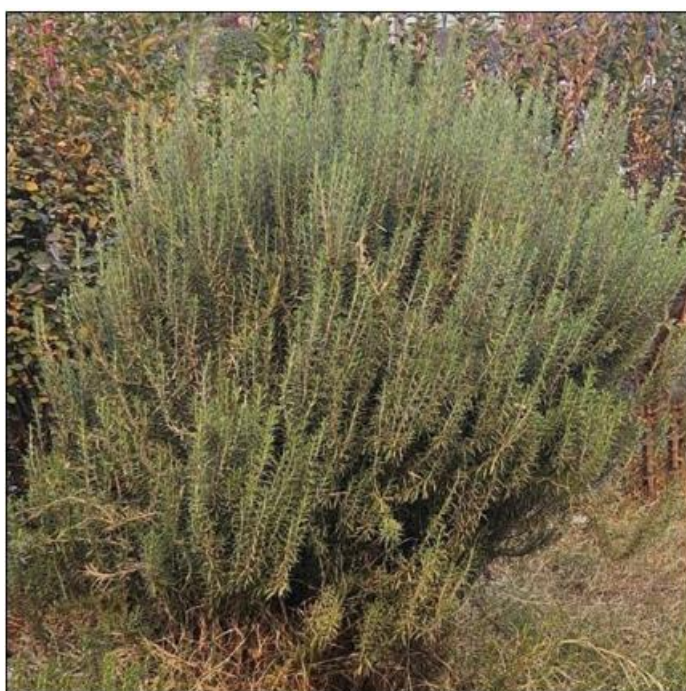


Figure 9. Le romarin (Photographie, 2024).

2. Extraction de l'huile essentielle

Les feuilles de la plante ont été broyées très fines et soumises à l'hydrodistillation par un dispositif de type Clevenger (Figure 10). L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles (HE). L'opération consiste à immerger 50 g de la masse végétale dans un grand ballon (1) en verre contenant 1 litre d'eau distillée. Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon (2). Les vapeurs chargées de l'huile essentielle passent à travers le tube vertical (3), puis à travers le réfrigérant (4) où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli au préalable d'eau distillée (5). L'HE obtenue est récupérée puis séchée par un

déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer les gouttelettes d'eau susceptible d'avoir été retenue dans l'huile. L'opération est réalisée pendant 3 heures. L'huile essentielle obtenue est conservée dans un flacon opaque à l'abri de la lumière et à une température de 4 à 6 C°.

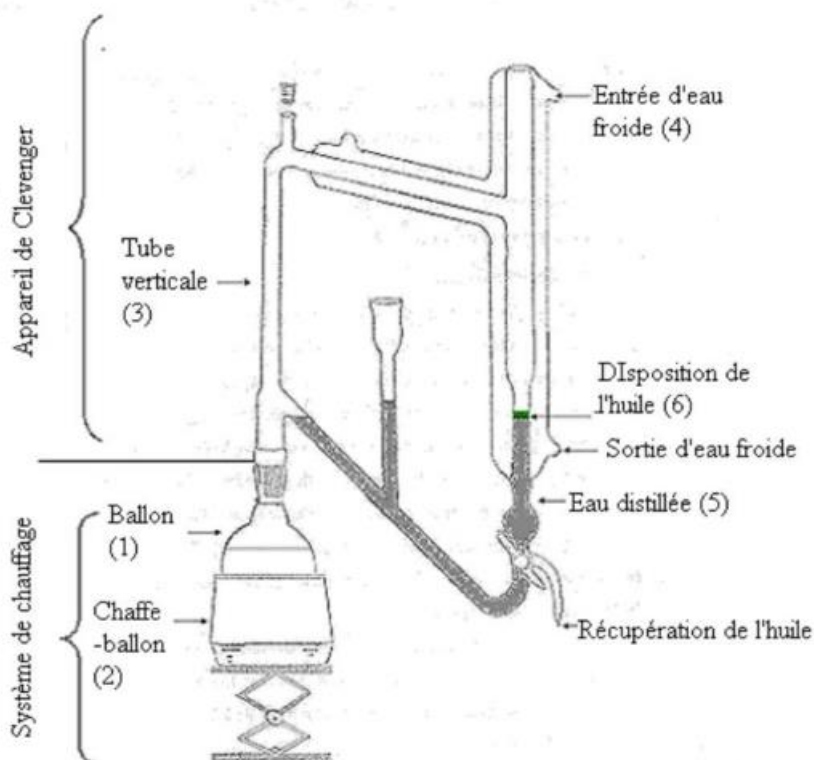


Figure 10. Dispositif d'extraction Type Clevenger.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante:

$$R (\%) = (m_H / m_{MV}) \times 100$$

R (%) : Rendement en huile essentielle.

m_H : la masse d'H.E obtenue.

m_{MV} : la masse de la matière végétale sèche.

3. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle

Les caractéristiques organoleptiques suivantes ont été déterminées: apparence, couleur, odeur et goût après extraction.

4. Evaluation des activités biologiques de l'huile essentielle du romarin

4.1. Préparation d'échantillons

Les échantillons de viande blanche (Poulet) ont été obtenus du marché. Des morceaux de 1 g de viande blanche ont été préparés avec une lame stérile et divisés en deux lots : le premier correspondait au contrôle (sans traitement), et le deuxième a été traité avec 0.01% d'huile essentielle. Les différents échantillons ont été conservés à 4°C pendant 12 jours et le suivi de la qualité microbiologique et des paramètres physicochimiques a été réalisé à intervalle de 3 jours. Cela permet de surveiller les changements microbiologiques et physicochimiques au fil du temps, fournissant ainsi des informations sur la stabilité et la sécurité des échantillons de viande traités à l'huile essentielle.

4.2. Activité antibactérienne

4.2.1. Milieux de culture

Les milieux de culture utilisés sont les suivants:

- le milieu PCA (Plate Count Agar) a été utilisé pour le dénombrement de la flore mésophile aérobie totale;
- le milieu gélose glucosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBG, Violet Red Bile Glucose) a été utilisé pour le dénombrement des Enterobacteriaceae.

4.2.2. Méthode d'ensemencement en masse

La méthode d'ensemencement qui a été utilisée pour permettre le dénombrement des colonies apparues est la méthode d'ensemencement en masse.

❖ Principe

Un ensemencement en masse est le plus souvent réalisé afin de dénombrer des micro-organismes. Un volume de 1 ml d'inoculum est dispersé dans le fond d'une boîte de Pétri et le milieu de culture est ensuite coulé par-dessus.

❖ Mode opératoire

1 ml de la suspension et de ses dilutions décimales successives sont déposés dans des boîtes de Petri stériles. Ensuite, une première couche de milieu de culture est coulée par-dessus et homogénéisée avec des mouvements circulaires. Après solidification, la boîte est recouverte d'une deuxième couche de 5 ml de milieu de culture en surfusion. L'incubation est réalisée après solidification de la deuxième couche.

4.2.3. Techniques de dénombrement

Le nombre de micro-organismes par gramme d'échantillon est calculé à partir du nombre de colonies obtenues sur les boîtes contenant moins de 300 colonies selon la formule suivante:

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{mL} \times (n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

- N : nombre d'UFC par gramme ou par mL de produit initial.
- \sum colonies : sommes des colonies des boîtes interprétables
- V mL : volume de solution déposé (1 mL).
- n_1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.
- n_2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue.
- d_1 : facteur de la première dilution retenue.

4.2.4. Dénombrement de la flore mésophile aérobique totale

Après ensemencement selon la méthode d'ensemencement en masse, les boîtes sont incubées à 30 °C pendant 48h (ISO 4833-2:2013).

4.2.5. Dénombrement des Enterobacteriaceae

Le dénombrement est effectué par comptage des colonies après incubation à 37 °C pendant 24h (ISO 21528-2:2004).

4.3. Evaluation de l'oxydation des protéines

L'évaluation du potentiel d'oxydation se réalise par la mesure du taux de formation de méthémoglobine dans l'échantillon de viande.

❖ Principe

La méthode décrit la détermination de la concentration des pigments héminiques dans la viande. Les absorbances de l'extrait sont mesurées à 572, 565, 545 et 525 nm et les concentrations totales, ainsi que les concentrations relatives, des formes de pigments oxydés, oxygénés ou réduits sont calculées (Krzywicki, 1982).

❖ Mode opératoire

Cinq grammes d'échantillon de viande blanche traités avec 0,01 % d'huile essentielle ont été homogénéisés avec 25 ml de tampon potassium phosphate 0.04 M (K_3PO_4) (pH 6.8) pendant 10 s dans la glace. Après avoir retiré l'échantillon de la glace, une incubation pendant 1 heure à une température de 4°C a été réalisée suivie d'une centrifugation à 4500 g pendant 30 minutes. Le surnageant a été filtré avec un filtre Watman n°1. Cela permettra d'éliminer les particules solides et d'obtenir un liquide clair, prêt pour la mesure de la densité optique. Cette dernière a été mesurée avec un spectrophotomètre-UV- visible aux longueurs d'onde spécifiées (à 525 nm, 545 nm, 565 nm et 572 nm). Finalement le pourcentage de la méthémoglobine (MetMb %) a été déterminé selon la formule suivante:

$$\text{MetMb \%} = [- 2.51 (A_{572}/A_{525}) + 0.777 (A_{565}/A_{525}) + 0.8 (A_{545}/A_{525}) + 1.098] \times 100$$

4.4. Détermination du pH

❖ Principe

La mesure s'effectue directement à l'aide d'un pH-mètre étalonné sur une solution de l'échantillon de viande blanche traité avec de l'huile essentielle.

❖ Mode opératoire

Cinq grammes d'échantillon de viande blanche traités avec 0,01 % d'huile essentielle ont été homogénéisés avec 50 mL d'eau distillée. Après filtration avec un papier filtre Whatman™ numéro 1, le pH du filtrat a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre (Ben Hsouna, 2022).

5. Analyse phytochimique

❖ Principe

L'analyse phytochimique de l'huile essentielle de romarin a été réalisée en utilisant du chlorure de fer pour déterminer la présence ou l'absence de deux composés, les tanins et les phénols.

❖ Mode opératoire

- **Tanins** : La présence de tanins a été déterminée en traitant 2 ml d'huile essentielle de romarin avec une solution à 1 % de chlorure de fer. La formation de précipités brun verdâtre indique la présence de tanins (Selvaraj, 2014).
- **Phénols** : 1 ml d'huile essentielle de romarin a été mélangé avec 2 ml d'eau distillée, suivi de l'ajout de 3 à 4 gouttes de chlorure de fer (10 %). La formation d'une couleur bleu-vert confirme la présence de phénols (Selvaraj, 2014).

A decorative border resembling a scroll, with a light gray outline and small circular details at the corners and ends, framing the chapter title.

Chapitre IV

Résultats et Discussion

Résultats

1. Rendement et caractéristiques organoleptiques

L'huile essentielle a été extraite des feuilles de romarin par un hydrodistillateur de type Clevenger. Le rendement obtenu était de 0,4% et l'huile présentait les caractéristiques organoleptiques suivantes:

- aspect: liquide
- couleur: incolore
- odeur: épicée
- goût: épicé

2. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis*

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin dans le contexte de la conservation de la viande blanche a été réalisée par dénombrement pour les deux types de flore bactérienne : la flore mésophile aérobie totale et les Enterobacteriaceae.

2.1. La flore mésophile aérobie totale

Les résultats de l'évaluation de la flore mésophile aérobie totale, obtenue après incubation à 30°C pendant 48 heures à partir des échantillons de viande blanche prélevés à différents moments (J0, J5, J7, J12) et dans différentes conditions (témoin, huile essentielle) sont présentés dans le tableau 3 et la figure 11.

Tableau 3. Effet antibactérien de l'huile essentielle de romarin sur les FTAM.

Conditions	Nombre de bactéries (UFC/g d'échantillon)			
	J0	J5	J7	J12
Témoin	> 300	> 300	> 300	> 300
Huile de romarin	> 300	> 300	> 300	> 300

Résultats

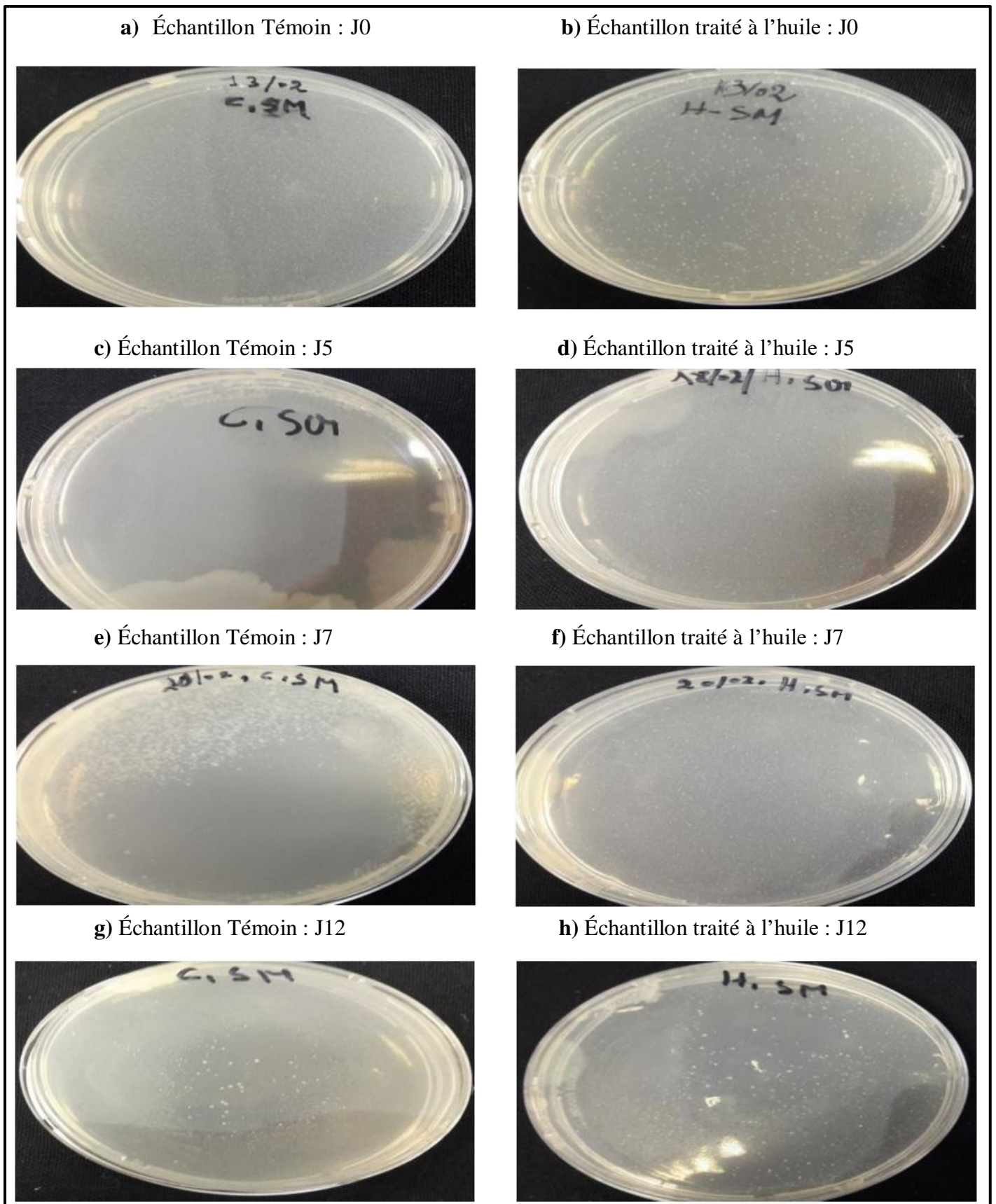


Figure 11. Effets antibactériens de l'huile essentielle de romarin sur les FTAM

Résultats

❖ **Tendance générale de la flore mésophile aérobie totale**

Conformément au tableau 3, les valeurs de la flore mésophile aérobie totale étaient généralement élevées dans toutes les conditions et à tous les moments, suggérant une prolifération abondante de bactéries pour tous les traitements, les rendant ainsi innombrables.

❖ **Impact des huiles essentielles**

Les échantillons traités avec l'huile essentielle n'ont pas montré de réduction significative de la flore mésophile aérobie totale par rapport au groupe témoin. Ainsi, il semble que l'huile de romarin ne possède pas d'activité antibactérienne contre ce groupe de bactéries.

2.2. Enterobacteriaceae

Dans ce segment, une évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile de romarin sur les Enterobacteriaceae sera présentée. Les données proviennent d'échantillons de viande prélevés à différents moments (J0, J5, J7, J12) et dans différentes conditions expérimentales (témoin, huile essentielle) après une incubation à 37°C pendant 24 heures (Figure 12).

Résultats

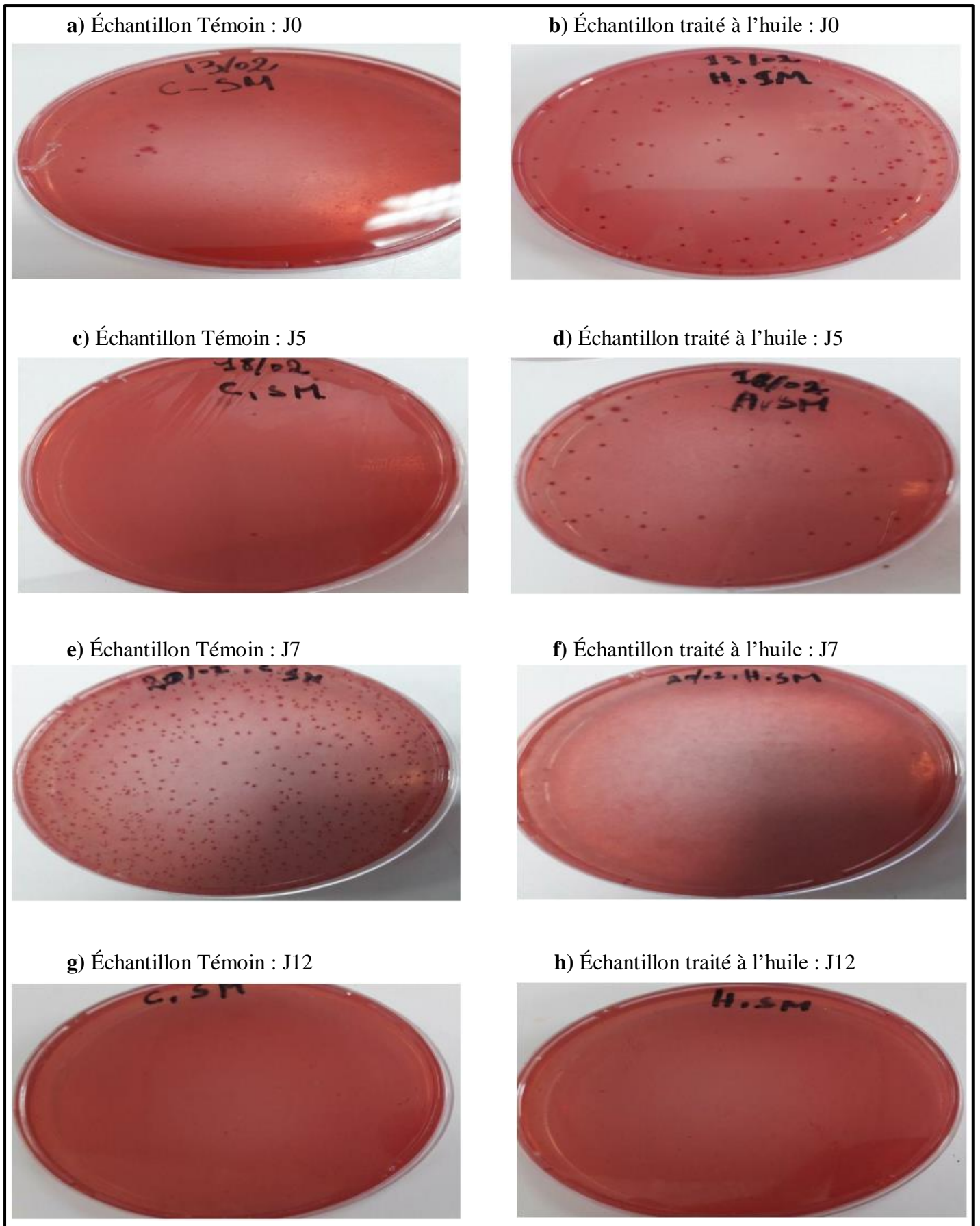


Figure 12. Influence de l'huile essentielle de romarin sur les Enterobacteriaceae.

Résultats

➤ Dénombrement des enterobacteriaceae

Le nombre d'Enterobacteriaceae par gramme d'échantillon est calculé à partir du nombre de colonies obtenues sur les boîtes contenant moins de 300 colonies. Les résultats de calcul sont illustrés dans la Figure 13.

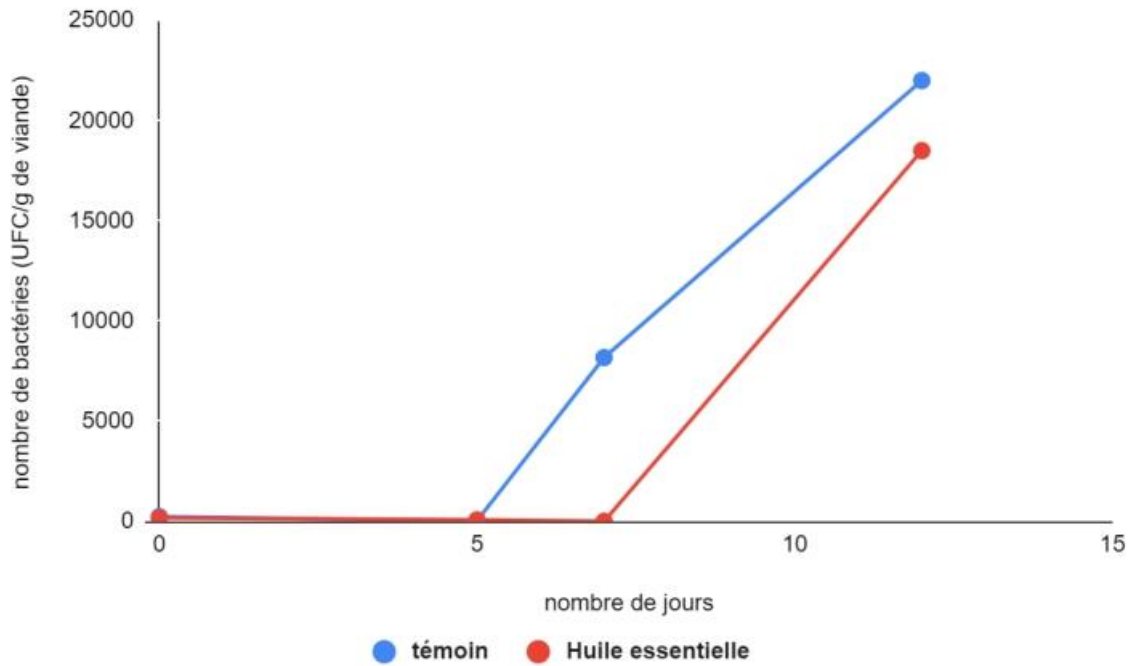


Figure 13. Variation du nombre d'Enterobacteriaceae au cours du temps.

Résultats

❖ Tendance générale de la croissance des Enterobacteriaceae

D'après la figure 13, la croissance bactérienne dans le groupe témoin est généralement élevée, suggérant une croissance non inhibée des bactéries. Cependant, les groupes traités avec l'huile de romarin présentent des valeurs de croissance plus basses à J7 par rapport au groupe témoin.

❖ Impact de l'huile essentielle de romarin

L'huile de romarin semble avoir un effet inhibiteur sur la croissance des Entérobactéries, comme en témoignent les valeurs de croissance plus faibles par rapport au groupe témoin à ces moments précis, notamment à J7.

3. Evaluation de l'oxydation des protéines

Une évaluation de l'activité antioxydant de l'huile essentielle de romarin dans le cadre de la conservation de la viande a été étudiée. L'objectif de cette analyse est de comprendre l'efficacité d'huile de romarin dans la préservation de la viande en examinant leur activité antioxydante à différents stades de traitement.

➤ Le pourcentage de méthémoglobine dans les échantillons de viande.

Les résultats des calculs sont représentés graphiquement dans la Figure 14.

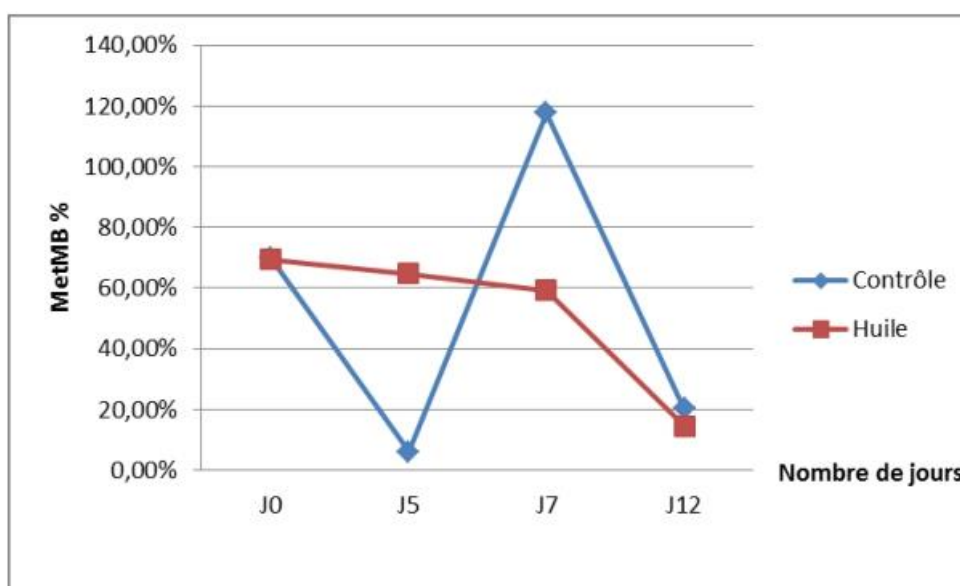


Figure 14. Évolution du taux de méthémoglobine au cours du temps.

Résultats

❖ Evolution générale de l'activité antioxydante

Suivant la figure 14, dans le groupe témoin, une augmentation significative du pourcentage de méthémoglobine entre J0 et J7, suivie d'une baisse marquée à J12, suggère une certaine instabilité des niveaux de méthémoglobine. En revanche, dans le groupe traité avec de l'huile de romarin, les pourcentages de méthémoglobine présentent une tendance générale à la diminution tout au long de l'expérimentation, avec des valeurs inférieures à celles du groupe témoin généralement à chaque intervalle de temps.

❖ Impact des huiles de romarin

Cette observation suggère un effet potentiellement bénéfique de l'huile de romarin sur la réduction de la méthémoglobine dans les échantillons de viande (activité antioxydante), ce qui pourrait être important dans le cadre du processus de conservation de la viande.

4. Analyse du pH

Le pH est un paramètre crucial dans la conservation des aliments, y compris la viande. Dans cette étude, les variations de pH des échantillons de viande traités avec de l'huile de romarin, ainsi que des échantillons témoins non traités (groupe témoin), ont été examinées. Les résultats sont illustrés par la Figure 15.

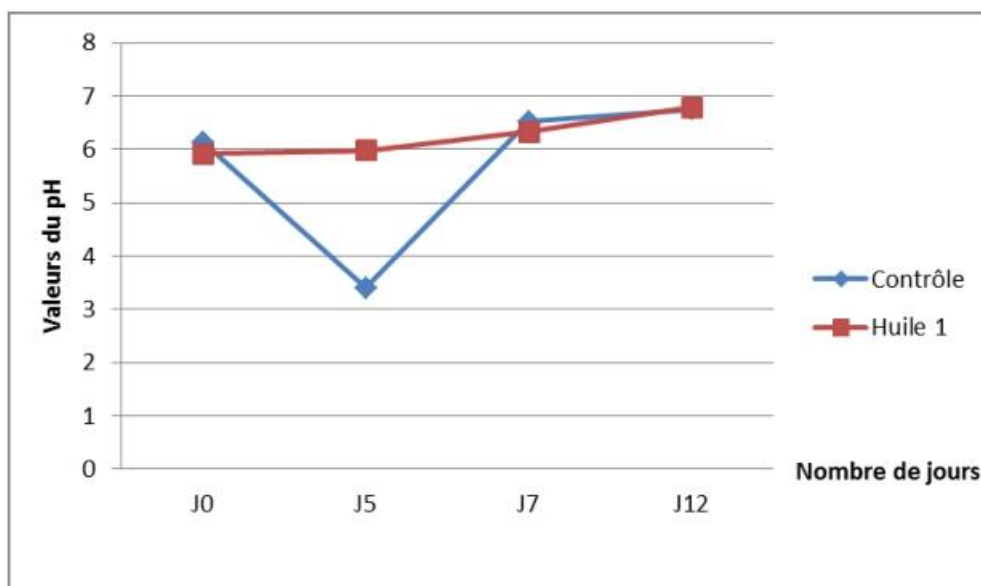


Figure 15. Variation des valeurs de pH en fonction du temps.

Résultats

❖ Évolution générale des valeurs de pH

Selon la figure 15, dans le groupe témoin, il y a une variation du pH entre J0 (6,13) et J5 (3,40), indiquant une acidification marquée. Cependant, le pH semble se rétablir aux jours suivants (J7 et J12), approchant les niveaux de départ (J0). En revanche, les échantillons traités avec l'huile de romarin ont montré des variations moins prononcées du pH au fil du temps. Ces échantillons ont maintenu des valeurs de pH plus proches de la neutralité, ce qui suggère un effet stabilisateur de l'huile de romarin sur l'acidification de la viande, ce qui pourrait contribuer à sa conservation et à sa qualité.

5. Analyse phytochimique

L'objectif de cette analyse phytochimique de l'huile essentielle de romarin était de déterminer la présence ou l'absence de deux composés, les tanins et les phénols. Les résultats obtenus sont manifestés dans les figures 16 et 17.



Figure 16. Réaction de détection de tanins dans l'huile de romarin.



Figure 17. Réaction de détection de Phénols dans l'huile de romarin.

Discussion

Cette étude porte sur l'évaluation de l'activité biologique de l'huile essentielle de romarin dans le contexte de la conservation de la viande blanche suivie d'une analyse phytochimique.

La viande est l'un des aliments les plus périssables et est un excellent substrat pour la croissance de bactéries pathogènes telles que *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus* et *Listeria monocytogenes*, ainsi que des bactéries de détérioration comme *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae et les bactéries lactiques (Sani *et al.*, 2017). L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin contre la flore de détérioration de la viande blanche a été confirmée par une diminution significative du nombre d'Enterobacteriaceae, qui constituent une famille bactérienne hétérogène très importante (Pilly, 2013). Actuellement, la famille des Enterobacteriaceae comprend 100 espèces répertoriées. Les plus fréquemment isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Pilet *et al.*, 1975). Ces résultats concordent avec l'étude d'El Bayomi *et al.* (2023), qui ont démontré que les échantillons de viande de lapin réfrigérés traités avec une combinaison de 1 % de chitosane (CH) et 0,2 % d'huile essentielle de romarin présentaient une réduction significative des populations d'Enterobacteriaceae. Cette diminution notable des Enterobacteriaceae indique l'efficacité antimicrobienne de l'huile essentielle de romarin, contribuant ainsi à améliorer la qualité microbiologique et à prolonger la durée de conservation de la viande pendant le stockage réfrigéré. D'après Siroli *et al.* (2020), l'utilisation d'huile essentielle de romarin (à une concentration de 0,05 %) sur la viande de bœuf et de poulet s'est avérée capable d'inhiber la croissance d'*Escherichia coli*. Par ailleurs, en 2024, Befi Kinki *et al.* ont découvert que l'incorporation de romarin dans les échantillons de viande hachée a entraîné une réduction significative du nombre total de bactéries, y compris les Salmonelles et les coliformes, retardant ainsi leur croissance pendant toute la période de stockage. De même, une étude menée par Stojanović-Radić *et al.* (2018), a révélé que l'huile essentielle de romarin avait un bon effet de préservation sur le poulet frais grâce à un traitement par trempage, pouvant efficacement inhiber la croissance des bactéries de dégradation et étant particulièrement efficace contre *Salmonella enteritidis*.

Discussion

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de romarin contre les Entérobactéries a été confirmée par une autre recherche menée par Hammer *et al.* (1999), qui ont démontré que ce produit présente une efficacité à diverses concentrations pour inhiber la croissance des pathogènes d'origine alimentaire, tels que *S. typhimurium*.

La flore aérobie mésophile totale est composée d'un ensemble de microorganismes mésophiles et aérobies se développant en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C, elle constitue un indicateur microbiologique permettant d'évaluer la charge bactérienne globale présente dans un aliment ou sur une surface (Bonnefoy, 2002; Guignard, 2021). Les résultats de l'étude montrent que le romarin ne possède pas une activité antibactérienne efficace contre les FTAM. Ces conclusions sont en concordance avec celles de Zerai *et al.* (2006), qui ont constaté que l'incorporation de romarin dans les échantillons d'anguille fumée n'a pas entraîné de réduction de la FTAM. En revanche, les résultats obtenus sont loin d'être comparables à ceux trouvés par Gumus et Gelen (2023), qui ont montré que l'incorporation d'huile essentielle de romarin dans les rations alimentaires des poulets a entraîné une réduction significative des comptages de bactéries aérobies mésophiles totales tout au long du stockage dans la viande de pilon, ainsi que dans la viande de blanc de poulet. Il est important de noter que les différences de sensibilité des microorganismes testés aux huiles de romarin peuvent être attribuées à plusieurs facteurs, notamment la composition de l'huile essentielle de romarin, la souche bactérienne testée, le pH du produit alimentaire et la température de stockage du produit testé (Burt, 2004). L'efficacité de l'huile essentielle augmente avec la diminution du pH de l'aliment, de la température de stockage, ainsi que de la quantité d'oxygène dans l'emballage (Caillet et Lacroix, 2007). Burt (2004) a constaté qu'une teneur élevée en graisse peut réduire sensiblement l'action des huiles essentielles dans les produits carnés. Par formation d'une couche protectrice de graisse autour des bactéries ou bien la fraction lipidique dans l'aliment peut absorber l'agent antimicrobien en diminuant sa concentration et son efficacité.

Parmi les antioxydants naturels, le romarin a été largement reconnu comme l'une des espèces ayant la plus forte activité antioxydante. Il est bien établi que cette activité des extraits de romarin en médecine et dans l'industrie alimentaire est attribuable à la présence d'huiles antioxydantes et de composants phénoliques (Bakirel, 2008). L'huile de romarin possède un pouvoir de la réduction de l'oxydation de la myoglobine due à leur capacité antioxydante qui assure la stabilité de la couleur et une meilleure apparence à la viande.

Discussion

L'oxydation de l'oxymyoglobine rouge en métmyoglobine est la principale cause des changements de couleur de la viande (Smeti *et al.*, 2013).

Des études supplémentaires ont confirmé l'activité antioxydante de romarin. Jiang Lei *et al.* (2018) ont étudié l'effet de l'ajout d'extraits de romarin au salami. Leurs résultats ont montré que ces extraits, avec des fractions massiques appropriées, pouvaient efficacement prévenir le processus d'oxydation des lipides et des protéines dans le salami. Ils agissent en tant que piègeurs efficaces de radicaux libres et d'antioxydants naturels, démontrant ainsi une bonne activité antioxydante. De même, Mohamed et Mansour (2012), ont constaté que l'ajout d'huiles essentielles de romarin à des galettes de bœuf congelées inhibe efficacement le processus d'oxydation. Également, un grand nombre d'études ont prouvé que l'ajout raisonnable d'huile essentielle ou d'extraits de romarin peut inhiber efficacement la formation de produits d'oxydation lors de la transformation et du stockage des produits carnés, et garantir la qualité sensorielle des produits, avec un bon effet antioxydant (Dai & Liu, 2021).

Dans leur étude de 2005 sur l'évaluation comparative de l'activité antioxydante de 11 huiles essentielles sur les aliments, Sacchetti et ses collègues ont démontré l'efficacité des huiles essentielles de romarin en tant qu'agents antioxydants, confirmant ainsi leur potentiel bénéfique dans la préservation des aliments. En outre en 2014, Aouadi et ses collaborateurs, ont montré que l'administration alimentaire d'huile essentielle de romarin aux agneaux améliore la capacité antioxydante globale du muscle, renforçant ainsi l'idée que le romarin peut jouer un rôle significatif dans la réduction des dommages oxydatifs et dans l'amélioration de la qualité nutritionnelle des produits alimentaires.

Le pH est un paramètre crucial dans la conservation des aliments, y compris la viande. Un pH compris entre 5,4 et 5,6 peut être considéré comme une caractéristique souhaitable de la viande, Cependant, lorsque le pH de la viande atteint 6,9 cela signale le début de l'obscurcissement, indiquant une détérioration potentielle de la qualité et une augmentation du risque de contamination microbienne (Befa Kinki *et al.*, 2024). Les résultats de cette étude sont cohérents avec ceux de Befu Kinki *et al.* (2024), qui ont rapporté une stabilité du pH des échantillons de viande hachée en présence de l'huile essentielle de romarin pendant la période de stockage à 4°C.

Discussion

La plante de romarin possède des matières précieuses et odorantes. Les plus importants de ces composés sont le tanin, les matières amères, les composés phénoliques et les flavonoïdes (Rashidaie Abandansarie *et al.*, 2019). Les résultats des tests de caractérisation phytochimique de l'huile essentielle de romarin ont révélé la présence de tanins et de phénols. Ces conclusions sont en accord avec les travaux de Fadili *et al.* (2015), qui démontrent que le romarin est une plante naturellement riche en tanins, notamment les tanins galliques et catéchiques, ainsi qu'en phénols totaux. Rashidaie Abandansarie *et al.* (2019) ont observé une augmentation significative des niveaux de phénols dans les saucisses de poulet après l'ajout de l'extrait de romarin, suggérant une présence substantielle de composés phénoliques dans cette plante, ce qui pourrait contribuer à ses effets bénéfiques sur la qualité et la conservation des aliments. En outre, Edrah *et al.* (2017) ont également indiqué une teneur élevée en tanins dans l'extrait de romarin.

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est principalement due aux composés phénoliques, qui désorganisent la membrane cellulaire et libèrent les composants intracellulaires (El Bayomi *et al.*, 2023; Sharma *et al.*, 2017). De nombreuses études ont confirmé que les extraits de romarin et son huile essentielle sont fréquemment utilisés comme agents antibactériens en raison de leurs propriétés antimicrobiennes, attribuées principalement à l'acide carnosique et à l'acide rosmarinique, les ingrédients actifs les plus courants des acides phénoliques (Dai & Liu 2021). Également, l'efficacité du romarin dans la stabilité antioxydante de la viande est principalement liée à la présence dans sa composition polyphénolique des diterpènes, de l'acide carnosique et du carnosol, ainsi que du composé caféoyl et l'acide rosmarinique (Jordán *et al.*, 2014).

Conclusion

Le présent travail est dédié à l'évaluation *in vivo* de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles de *R. officinalis* liée à la conservation de la viande blanche. En conclusion, un rendement d'extraction de 0,4 % a été obtenu. Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que l'huile essentielle de *R. officinalis* exerce une action inhibitrice sur les entérobactéries pour une période de 7 jours, cependant, aucun effet n'a été observé sur la flore mésophile aérobie totale.

Les résultats de l'activité antioxydante ont démontré une activité significative de l'huile essentielle caractérisée par une réduction notable de la méthémoglobine au cours de 12 jours de conservation. En ce qui concerne l'impact de l'huile essentielle de romarin sur le pH des échantillons de viande blanche, les données indiquent un effet stabilisateur de cette huile sur l'acidification de la viande. En outre, l'analyse phytochimique de l'huile essentielle de romarin a indiqué la présence des tanins et des phénols. Ainsi, cette étude a montré que l'huile essentielle de romarin représente un moyen innovant pour l'industrie de la viande permettant de prolonger naturellement la durée de conservation des viandes blanches.

Références bibliographiques

- **Aguiar Campolina, G., das Graças Cardoso, M., Rodrigues-Silva-Caetano, A., Lee Nelson, D., Mendes Ramos, E. (2023).** Essential oil and plant extracts as preservatives and natural antioxidants applied to meat and meat products: A Review. *Food technology and biotechnology*, 61(2) : 212–225
- **Al Khoury, A. (2021).** Utilisation de composés issus de plantes contre la mycotoxinogénèse fongique (modèle de l'Aflatoxine B1). Thèse de Doctorat, Université Saint-Joseph (Beyrouth). 224 p.
- **Alloun, K. (2013).** Composition chimique et activités antioxydante et Antimicrobienne des huiles essentielles de L'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la Sauge (*Salvia officinalis* L.) et de la Rue des Montagnes (*Ruta montana* L.). Thèse de Doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique-Alger. 119 p.
- **Aouadi, D., Luciano, G., Vasta, V., Nasri, S., Brogna, D. M., Abidi, S., Priolo, A., Salem, H. B. (2014).** The antioxidant status and oxidative stability of muscle from lambs receiving oral administration of *Artemisia herba alba* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Meat Science*, 97(2) : 237–243.
- **Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, O. Ü., Ülgen, S. G., Yardibi, H. (2008).** *In vivo* assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*, 116(1) : 64–73.
- **Befa Kinki, A., Atlaw, T., Haile, T., Meiso, B., Belay, D., Hagos, L., Hailemichael, F., Abid, G., Elawady, A., Firdous, N. (2024).** Preservation of minced raw meat using rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and basil (*Ocimum basilicum*) essential oils. *Cogent Food & Agriculture*, 10(1) : 2306016.
- **Belbessai, S. (2016).** Approche de modélisation de l'extraction des huiles essentielles basée sur les phénomènes de surface : Application des cinétiques du premier et second ordre. Mémoire de Master. École Nationale Polytechnique-Alger. 57 p.

- **Ben Jemaa, M., Mejdj, S., Falleh, H., Serairi beji, R., Ksouri, R. (2021).** Phytochemical components and antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from native Tunisian *Thymus capitatus* and *Rosmarinus officinalis*. *Nutrition et Santé, 10*: 62-71.
- **Blank, D., Alves, G., Nascente, P., Freitag, R., Cleff, M. (2020).** Bioactive compounds and antifungal activities of extracts of Lamiaceae species. *Journal of Agricultural Chemistry and Environment, 9* : 85–96.
- **Bonnefoy, C., Guillet, F., Leyral, G., Verne-Bourdais, E. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire, science des aliments. Edition Doin, Paris, France. 105 p.
- **Bouadjemi, K. (2018).** Etude comparative des différentes parties de la plante Romarin «*Rosmarinus officinalis*» par rapport aux pouvoirs antibiotiques sur le yaourt. Mémoire de Master, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 68 p.
- **Boukhatem, M., Ferhat, A., Akameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Agrobiologia, 9(2)* : 1653-1659.
- **Bousbia, N. (2011).** Extraction des huiles essentielles riches en antioxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires. Thèse de doctorat, Université d'Avignon. 176 p.
- **Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbau, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., Abrini, J., Dakka, N. (2017).** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie, 16(S1)* : 173-183.
- **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology, 94(3)* : 223–253.
- **Caillet, S., Lacroix, M. (2007).** Les huiles essentielles: leurs propriétés antimicrobiennes et leurs applications potentielles en alimentaire. *INRS-Institut Armand-Frappier, RESALA, 1(8)* : 1–8.

- **Castañeda, D., Rivera, A., Islas-Rodríguez, E., Portillo-Reyes, R., Muñoz-Rojas, Jesús., Hernández-Aldana, F., Martínez-Carrera, D. (2015).** Chemical properties and bactericidal activity of *Rosmarinus officinalis* and *Origanum x majoricum*. *Journal of Agricultural and Biological Science*, 10(10) : 390–393.
- **Chellouai, S., Hamzi, A. (2022).** Étude de l'effet antimicrobien des huiles essentielles De: Sauge, Thymus Et Romarin (étude Comparative). Mémoire de Master, Université Larbi Tebessi-Tebessa. 73 p.
- **Cocan, I., Alexa, E., Danciu, C., Radulov, I., Galuscan, A., Obistioiu, D., Morvay, A. A., Sumalan, R. M., Poiana, M. A., Pop, G., Dehelean, C. A. (2018).** Phytochemical screening and biological activity of Lamiaceae family plant extracts. *Experimental and therapeutic medicine*, 15(2) : 1863–1870.
- **Colica, C., Di Renzo, L., Aiello, V., De Lorenzo, A., Abenavoli, L. (2018).** Rosmarinic Acid as Potential Anti-Inflammatory Agent. *Reviews on Recent Clinical Trials*, 13(4) : 240-242.
- **Dai, P., Liu, H. (2021).** Research on the biological activity of rosemary extracts and its application in food. *E3S Web of Conferences*, 251 : 02034.
- **Datiles, M. J., Acevedo-Rodríguez, P. (2014).** *Rosmarinus officinalis* (rosemary). *CABI Compendium*, 47678.
- **Deschepper, R. (2017).** Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat, Université d'Aix- Marseille. 173 p.
- **Diass, k., Brahmi, F., Mokhtari, O., Abdellaoui, B., Hammouti, B. (2021).** Biological and pharmaceutical properties of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula officinalis* L. *Materials Today: Proceedings*, 45 : 7768-7773.
- **Diniz do Nascimento L., Barbosa de Moraes, A. A., Santana da Costa, K., Pereira Galúcio, J. M., Taube, P. S., Leal Costa, C. M., Cruz, J.V., Aguiar Andrade, E.H., Guerreiro de Faria, L. J. (2020).** Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: new findings and potential applications. *Biomolecules*, 10(7) : 988.

- **Djazer, H. (2014).** Extraction et analyse physico-chimique et effet antimicrobien des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique du romarin «*Rosmarinus officinalis* L.» de deux régions Blida et Djelfa. Mémoire de Master, Université Saad Dahleb-Blida. 98 p.
- **Djoumi, M., Teffert, M. (2017).** Evaluation chimique et microbiologique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Blida. Mémoire de Master, Université Saad Dahleb-Blida. 115 p.
- **Ebadollahi, A., Ziaee, M., Palla, F. (2020).** Essential oils extracted from different species of the Lamiaceae plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules*, 25(7) : 1556.
- **Edrah, S.M., Alafid, F., Imramovský, A., Altwair, K., Alkhumsi, S.I., Hrdina, R. (2017).** Phytochemical screening and antibacterial activity of *Genista microcephala* and *Rosmarinus officinalis* extracts from libyan's regions. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 8(4) : 52–56.
- **El Bayomi, R. M., Shata, R. H., & Mahmoud, A. F. A. (2023).** Effects of edible chitosan coating containing *Salvia rosmarinus* essential oil on quality characteristics and shelf life extension of rabbit meat during chilled storage. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(3) : 2464-2474.
- **Fadili, K., Amalich, S., N'dedianhoua, S. K., Bouachrine, M., Mahjoubi, M., El Hilali, F., Zair, T. (2015).** Teneurs en polyphénols et évaluation de l'activité antioxydante des extraits de deux espèces du Haut Atlas du Maroc: *Rosmarinus officinalis* et *Thymus satureioides*. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 17(1) : 24–33.
- **Fedjer, Z. (2022).** Etude ethnobotanique auprès de la population riveraine de Souk-Ahras Cas du romarin à Taoura et du figuier de barbarie à Sidi-Fredj. *Recherche Agronomique*, 20(1) : 43-60.
- **Garzoli, S., Laghezza Masci, V., Franceschi, S., Tiezzi, A., Giacomello, P., Ovidi, E. (2021).** Headspace/GC-MS Analysis and investigation of antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of essential oils and hydrolates from *Rosmarinus officinalis* L. and *Lavandula angustifolia* Miller. *Foods*, 10(8) : 1768.

- **Guignard, A. (2021).** Panorama des principaux dangers biologiques et assimilés d'origine alimentaire. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, 174(1) : 271–285.
- **Gumus, R., Gelen, S. U. (2023).** Effects of dietary thyme and rosemary essential oils on performance parameters with lipid oxidation, water activity, pH, color and microbial quality of breast and drumstick meats in broiler chickens. *Archives Animal Breeding*, 66(1) : 17–29.
- **Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of applied microbiology*, 86(6) : 985–990.
- **Hay, Y. (2015).** La complexité des simples - Caractérisations chimique et biologique de combinaisons hydrolats-huiles essentielles et huiles essentielles-huiles essentielles pour l'objectivation d'effets conservateurs de produits phytothérapeutiques. Thèse de Doctorat, Université de Toulouse. 197 p.
- **Hoefler, C. (1994).** Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., et notamment des jeunes pousses : activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine - Metz. 172 p.
- **Hsouna, A.B., Boye, A., Ackacha, B.B., Dhifi, W., Saad, R.B., Brini, F., Mnif, W., Kačániová, M. (2022).** Thiamine demonstrates bio-preservative and anti-microbial effects in minced beef meat storage and lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 Macrophages. *Animals*, 12(13) : 1646.
- **ISO 4833-2:2013.** ISO. Available online: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21528:-2:ed-1:v1:en>
- **ISO 21528-2:2004.** Microbiology of Food and Animal Feeding Stuff—Horizontal Methods for the Detection and Enumeration of Enterobacteriaceae—Part 2: Colony-Count Method. Available online: <https://www.iso.org/cms/render/live/en/sites/isoorg/contents/data/standard/05/95/59509.html>

- **Jiang Lei, J. L., Kang DaCheng, K. D., Zhang WanGang, Z. W., Zhou GuangHong, Z. G. (2018).** Antioxidant activity *in vitro* of rosemary extract and its inhibitory effect against lipid and protein oxidation in salami. *Food Science*, 39(13) : 68–73.
- **Jordán, M. J., Castillo, J., Bañón, S., Martínez-Conesa, C., Sotomayor, J. A. (2014).** Relevance of the carnosic acid/carnosol ratio for the level of rosemary diterpene transfer and for improving lamb meat antioxidant status. *Food chemistry*, 151 : 212–218.
- **Kamli, T., Errachidi, F., Eloutassi, N., Majid, H., Chabir, R., Bour, A. (2017).** Comparaison quantitative et qualitative des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* obtenues par différentes méthodes. *European Scientific Journal*, 13(21) : 172.
- **Khaldoun, L., Moussaoui, C. (2022).** Contribution à l'étude des rendements et des activités biologiques de l'huile essentielle *Rosmarinus officinalis* (iklil) de la région de Mécheria. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen. 66 p.
- **Kherfi, M. (2013).** Étude du pouvoir antimicrobien de deux huiles essentielles du (*Pelargonium graveolens*, *Rosmarinus officinalis*) et leurs utilisations comme conservateurs dans le «ro-llon ». Mémoire de Master, Université Saad Dahleb-Blida. 90 p.
- **Kouache, B. (2019).** Valorisation des huiles essentielles de Lamiaceae Algérienne (genre: *Organus* et *Thymus*). Thèse de Doctorat, Université Hassiba Benbouali-de chlef. 182 p.
- **Krzywicki, K. (1982).** The determination of haem pigments in Meat. *Meat Science*, 7 : 29–36.
- **Leplat, M. (2017).** Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille-France. 230 p.
- **Loussouarn-Yvon, M. (2017).** L'acide carnosique et le carnosol, deux super-antioxydants du Romarin (*Rosmarinus officinalis*): rôles, mécanismes, physiologie et applications. Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille-France. 180 p.

- **Makhloufi, A. (2013).** Etude Des Activités Antimicrobienne Et Antioxydante De Deux Plantes Médicinales Poussant À L'état Spontané Dans La Région De Bechar (matricaria Pubescens (desf.) Et Rosmarinus Officinalis L) Et Leur Impact Sur La Conservation Des Dattes Et Du Beurre Cru. Thèse de Doctorat, Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen. 166 p.
- **Malki, I. (2014).** Étude de transfert de matière lors de l'extraction des essences végétales. Mémoire de Master, École Nationale Polytechnique-Alger. 61 p.
- **Martins, A. (2020).** Les huiles essentielles antibactériennes : exemple du thym (*Thymus*). Thèse de Doctorat, Université de Picardie Jules Verne Ufr De Pharmacie. 118 p.
- **Masure, M. (2018).** Suivi du romarin dans la province de jerada au maroc : cartographie à partir de données secondaires et exploration de la couverture végétale pour l'estimation de la phytomasse. Mémoire de Master, Université de Liège-France. 73 p.
- **Maurya, A., Prasad, J., Das, S., Dwivedy, A. K. (2021).** Essential oils and their application in food safety. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5 : 653420.
- **Mehalaine, S. (2017).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de quelques plantes médicinales et amélioration de leur production en culture *in vitro*. Thèse de Doctorat, Université Larbi Ben M'hidi - Om-el-bouaghi. 134 p.
- **Messabhia, A., Soualmia, A., Guerdi, A. (2022).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*. Mémoire de Master, Université Larbi Tebessi-Tebessa. 82 p.
- **Milyuhina, A.K., Zabodalova, L.A., Kyzdarbek, U., Romazyayeva, I.R., Klyuchko, N.Y. (2021).** *In vitro* antibacterial and antioxidant activity of *Rosmarinus officinalis*. *E3S Web of Conferences*, 285 : 05012.
- **Mohamed, H. M., Mansour, H. A. (2012).** Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. *LWT-Food Science and Technology*, 45(1) : 79–87.

- **Mouas, Y. (2018).** Effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de Romarin *Rosmarinus officinalis* L. Thèse de Doctorat, Université Saad Dahleb - Blida. 165 p.
- **Neves, J.A Neves, J.A., Oliveira, R.C.M. (2018).** Pharmacological and biotechnological advances with *Rosmarinus officinalis* L. *Expert opinion on therapeutic*, 28(5) : 399–413.
- **Nieto, G., Ros, G., Castillo, J. (2018).** Antioxidant and antimicrobial properties of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*, L.): A Review. *Medicines*, 5(3) : 98.
- **Oliveira, J., Camargo, S., de Oliveira, L. (2019).** *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of biomedical science*, 26(1) : 5.
- **Pal, M., Devrani, M. (2018).** Application of various techniques for meat preservation. *Journal of Experimental Food Chemistry*, 4(01) : 2472–0542.
- **Pilet, C., Bourdon, J. L., Toma, B., Marchal, N. (1975).** Bactériologie médicale et vétérinaire; systématique bactérienne, Doin Éditeurs, Paris.
- **Pilly E. (2013).** Maladies Infectieuses Tropicales, 24^{ème} édition, Paris : Groupe Burlat. 227 p.
- **Quezel, P., Santa, S. (1962).** Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris, CNRS, tome 1 et 2. 1170p.
- **Rafie, H., Soheila, H., Grant, E. (2017).** *Rosmarinus officinalis* (Rosemary): A novel therapeutic agent for antioxidant, antimicrobial, anticancer, antidiabetic, antidepressant, neuroprotective, anti-Inflammatory and anti-Obesity treatment. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 1(4) : 1098-1103.
- **Randrianarivelo, R. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne d'une plante endémique de Madagascar *Cinnamosma fragrans*, alternative aux antibiotiques en crevetticulture. Thèse de Doctorat, Université d'Antananarivo- Madagascar. 179 p.
- **Rashidaie Abandansarie, S. S., Ariaai, P., Charmchian Langerodi, M. (2019).** Effects of encapsulated rosemary extract on oxidative and microbiological stability

of beef meat during refrigerated storage. *Food science & nutrition*, 7(12) : 3969-3978.

- **Rezende, D., Souza, R., Magalhães, M., Caetano, A., Carvalho, M., Souza, E., Guimarães, L., Nelson, D., Batista, L., Cardoso, M. (2017).** Characterization of the biological potential of the essential oils from five species of medicinal plants. *American Journal of Plant Sciences*, 8 : 154–170.
- **Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R. (2005).** Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. *Food chemistry*, 91(4) : 621–632.
- **Sani, M. A., Ehsani, A., Hashemi, M. (2017).** Whey protein isolate/cellulose nanofibre/TiO₂ nanoparticle/rosemary essential oil nanocomposite film: Its effect on microbial and sensory quality of lamb meat and growth of common foodborne pathogenic bacteria during refrigeration. *International journal of food microbiology*, 251 : 8–14.
- **Selvaraj, S., Chittibabu, C. V., Janarthanam, B. (2014).** Studies on phytochemical screening, antioxidant activity and extraction of active compound (Swertiamarin) from leaf extract of *Enicostemma littorale*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(4) : 240–244.
- **Sharifi-Rad, J., Ezzat, S., El Bishbishy, M., Mnayer, D., Sharopov, F., Kılıç, C., Neagu, M., Constantin, C., Sharifi-Rad, M., Atanassova, M., Nicola, S., Pignata, G., Salehi, B., Tsouh Fokou, P. V., Cruz-Martins, N. (2020).** Rosmarinus plants: Key farm concepts towards food applications. *Phytotherapy research*, 34(7) : 1474–1518.
- **Sharma, H., Kumar, S., Singh, T. P., Soni A., Sharma, A. (2017).** Role of essential oils in meat and meat products. In: Quality control and waste utilization for agriculture and dairy products, New India Publishing Agency. pp 93–108.
- **Shen, X., Zhou, M., Zhu, X., Zhang, J., Xu, J., & Jiang, W. (2023).** Chemical composition and antioxidant activity of petroleum ether fraction of *Rosmarinus officinalis*. *Heliyon*, 9(11) : e21316.

- **Siroli, L., Baldi, G., Soglia, F., Bukvicki, D., Patrignani, F., Petracci, M., Lanciotti, R. (2020).** Use of essential oils to increase the safety and the quality of marinated pork loin. *Foods*, 9(8) : 987.
- **Smeti, S., Atti, N., Mahouachi, M., Munoz, F. (2013).** Use of dietary rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils to increase the shelf life of Barbarine light lamb meat. *Small ruminant research*, 113(2-3) : 340–345.
- **Solène, J. (2012).** La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine-France. 147 p.
- **Stojanović-Radić, Z., Pejčić, M., Joković, N., Jokanović, M., Ivić, M., Šojić, B., Škaljac, S., Stojanović, P., Mihajilov-Krstev, T. (2018).** Inhibition of *Salmonella enteritidis* growth and storage stability in chicken meat treated with basil and rosemary essential oils alone or in combination. *Food control*, 90 : 332–343.
- **Szukalowski, L. (2022).** Cinétique de résidus d’huiles essentielles (*Levisticum officinale*, *Thymus satureioides*, *Rosmarinus officinalis*, *Eugenia caryophyllus*, *Pogostemon cablin*) dans le lait : étude expérimentale chez la vache laitière après application cutanée mammaire. Thèse de Doctorat, Universitaire Vétérinaire d’Oniris-France. 103 p.
- **Toure, D. (2015).** Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d’Ivoire. Thèse de Doctorat, Université Félix Houphouët Boigny- Côte d’Ivoire. 153 p.
- **Uritu, C., Mihai, C.T., Stanciu, G., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., Leon-Constantin, M.M., Stefanescu, R., Bild, V., Melnic, S., Tamba, B.I. (2018).** Medicinal Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. *Pain research & management*, 2018 : 1-44.
- **Zerai, T., Mestiri, F., Romdhane, M. S., Mejri, S. (2006).** Effet de l’addition du thym, du laurier et du romarin sur la conservation de l’anguille fumée. *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer de Salammbô*, 33 : 107–116.