

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF-1
UFAS (ALGERIE)

THESE

Présenté à la faculté de technologie
Département de génie des procédés
Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Option : Génie des procédés pharmaceutiques

Par

Mme: ZAIBET Wafaa

Thème

**Composition chimique et activité biologique des huiles
essentielles de *Daucus aureus* (Desf) et de *Reutera lutea*
(Desf.) Maire, et leur application comme agents
antimicrobiens dans le polyéthylène basse densité (PEBD)**

Soutenue le: 08 / 10 /2016

Devant le jury composé de:

Président	Pr. Bounekhel Mahmoud	Professeur à l'université Ferhat Abbas. Sétif 1
Rapporteur	Pr. Laouer Hocine	Professeur à l'université Ferhat Abbas. Sétif 1
Examineurs	Pr. Baitiche Milad	Professeur à l'université Ferhat Abbas. Sétif 1
	Pr. Ouali Dehimi	Professeur à l'université de Boussaâda
	MCA. Benahmed Merzoug	MCA à l'université de Tébessa
	Pr. Zellagui Ammar	Professeur à l'université d'Oum Elbouaghi
Membre invité:	Pr. Boutahala Mokhtar	Professeur à l'université Ferhat Abbas. Sétif 1

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma mère et mon père qui me sont les plus chers

A mon époux Salim Boutahala

A mes enfants Meriem, Mohamed et Hichem

A toutes la famille Boutahala et Zaibet

A ma sœur Imen

A mes frères Reda, Samir, Seif, Issam, Wahid et Akram

A mon oncle Abdelrahman Haroun

A ma grande mère Saliha

Wafaa

Remerciements

Je remercie Dieux, le tout-puissant, qui m'a donné la force et le courage pour poursuivre mes études.

Je tiens cordialement à remercier mon directeur de thèse Monsieur le professeur **Laouer Hocine** de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, et d'avoir accepté encadrer ce travail, ainsi que pour sa gentillesse, son disponibilité, et pour ses conseils constructives.

Mes vifs remerciements vont également à Monsieur le professeur **Bounekhel Mahmoud** de l'Université de Sétif pour le grand honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance de thèse de doctorat.

J'exprime ma profonde reconnaissance au monsieur le professeur **Ouali Dehimi**, Madame le professeur **Baitiche Milad**, Monsieur le Docteur **Benahmed Merzoug** et le professeur **Zellagui Amar** pour avoir aimablement accepté de participer à ce jury.

Mes vifs remerciements à monsieur le professeur **Boutahala Mokhtar** d'avoir accepté d'être un membre invité de ce travail.

Je tiens à remercier monsieur le Professeur **Guido Flamini**, Université de l'Italy pour les analyses GC et GC/MS

Je remercie Madame le professeur **F. Sahli** qui m'a accueillie dans son laboratoire de bactériologie de C.H.U de Sétif afin de réaliser l'activité antibactérienne.

Monsieur le Docteur **Ramdani Messoud**, mercie d'avoir m'aider d'interpréter une partie de ce travail.

Mes vifs remerciements à monsieur le professeur **Riahi Farid** , **Guessoum Melia** pour leur aide dans la partie de polymere.

Je remercie sincèrement Madame le Docteur **Boulaacheb Nacira** de l'Université de Sétif pour l'identification du matériel végétal.

Je remercie de même tout le personnel du laboratoire de bactériologie du CHU de Sétif pour leur coopération et aide. Merci également à l'ingénieur du laboratoire **Sabrina** pour son aide au cours de ce travail.

Résumé:

Afin de proposer une méthode de purification de l'air des hopitaux basée sur les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles, nous avons sélectionné deux plantes *D. aureus* et *R. lutea*. L'extraction est effectuée par hydrodistillation. L'analyse des huiles essentielles est réalisée par CPG/SM. L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. L'analyse chimique de *D. aureus* de trois régions de l'Est d'Algerie (Sétif, Constantine et Oum Elbouaghi) a révélé la présence entre 45 et 58 constituants dominés par le sabinene (30.6%, 36.2%) pour l'huile essentielle *D. aureus* (Sétif, et Constantine). Alors que le constituant majoritaire de l'huile essentielle *D. aureus* (Oum Elbouaghi) est le α pinene (19,4%), L'huile essentielle de *R. lutea* est constituée principalement de 43 constituants dont les constituants majoritaires: sabinene (14.10%) et le 4-terpineol (13.59%). Les huiles de *D. aureus* (Sétif, Oum Elbouaghi) présentent une activité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*. L'huile essentielle de *R. lutea* présente un effet antibactérien moyen sur la croissance de *B. subtilis*, *S. aureus* et *C. albicans*. La phase vapeur des huiles essentielles des *D. aureus* et *R. lutea* c'est montrée active sur *S. aureus* et *C. albicans*. Le teste de l'activité antioxydante a montré que les deux huiles possèdent une activité antiradicalaire relativement faible par rapport à celle du BHT. La collection des huiles essentielles *D. aureus* est incorporée dans le polymère PEBD pour avoir des films qui ont des propriétés antimicrobiennes par la méthode de micro atmosphère (phase vapeur). Les techniques qui ont été utilisées pour la caractérisation des mélanges PEBD/EVA/*D. aureus*) sont: IRTF, DSC et teste de traction. L'étude de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA/*D. aureus* en phase vapeur, a montré que la phase volatile de l'huile essentielle *D. aureus* était active sur *S. aureus* et *C. albicans* et sur *B. subtilis*.

Mots clefs: huiles essentielles, activités antimicrobiennes, micro atmosphère, polymère, PEBD.

Abstract:

To provide a method for purifying air of hospitals based on the proprieties antimicrobial essential oils, we selected two plants *D. aureus* and *R. lutea*. The extraction is carried out by steam distillation. Analysis of the essential oils is performed by GC / MS. The antimicrobial activity is demonstrated by the diffusion method on agar medium. Chemical analysis of *D. aureus* from three sites in Eastern Algeria (Setif, Constantine and Oum Elbouaghi) revealed the presence between 45 and 58 constituents dominated by sabinene (30.6%, 36.2%) for the essential oil *D. aureus* (Setif and Constantine). While the major constituent of the essential oil *D. aureus* (Oum Elbouaghi) is α pinene (19.4%). The essential oil of *R. lutea* consists mainly of 43 components of which the majority compounds: sabinene (14.10%) and 4-terpineol (13.59%). Essential oils *D. aureus* (Setif, Oum Elbouaghi) exhibit antimicrobial activity on *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*. The essential oil of *R. lutea* has an average antibacterial effect on the growth of *B. subtilis*, *S. aureus* and *C. albicans*. The vapor phase of essential oils *D. aureus* and *R. lutea* has been active on *S. aureus* and *C. albicans*. The tests of antioxidant activity showed that both oils have a relatively low anti-radical activity compared to that of BHT. The collection of essential oils *D. aureus* is incorporated in the polymer to have LDPE Films that have antimicrobial properties by the method of micro atmosphere (steam phase). The techniques that were used for the characterization of blends (LDPE / EVA / *D. aureus*) are: FTIR, DSC and tests traction. The study of the antimicrobial activity of the blends LDPE/EVA/*D. aureus* showed that the volatile phase of essential oil *D. aureus* was active on *S. aureus*, *C. albicans* and *B. subtilis*.

Key words: essential oils, antimicrobial activities, micro atmosphere, polymer, LDPE

ملخص

لتوفير طريقة لتنقية هواء المستشفيات بناء على الخصائص المضادة للميكروبات للزيوت الطيارة ، اخترنا زيتين اساسيين *D. aureus* و *R. lutea*. استخلاص الزيوت كان بواسطة التقطير المائي. التحليل الكيميائي لزيت *D. aureus* (سطيف ، قسنطينة و ام البواقي) كشف عن وجود ما بين 45 و 58 مكون. يسيطر عليه Sabinene بـ (36.2%, 30.6%) بالنسبة لزيت *D. aureus* (سطيف و قسنطينة) اما بالنسبة لزيت *D. aureus* (ام البواقي) فالمكون الاساسي هو α pinene (19,4%). الزيت الاساسي *R. lutea* يتكون من 43 مكون اهمها Sabinene (14.10%) و 4-terpineol (13.59%). كما أظهرت النتائج أن كل من الزيتين *D. aureus* (سطيف و ام البواقي) يحمل نشاط ميكروبي ضد *S. aureus*, *E. coli* و *C. albicans*. أما الزيت *R. lutea* فله نشاطية ميكروبية ضد *S. aureus*, *C. albicans* و *B. subtilis*. باستخدام طريقة التبخير أبدى كلا الزيتين نشاطية ملحوظة ضد *S. aureus* و *C. albicans*. كما اظهرت اختبارات نشاط مضاد الاكسدة ان كلا الزيتين لديه نشاطية ضعيفة مقارنة بنشاطية مضاد الأكسدة المرجعي BHT. تم مزج الزيت الاساسي *D. aureus* في البوليمير (PEBD) للحصول على افلام لها خاصية ضد الميكروبات. التقنيات التي استخدمت لوصف المزيج (PEBD/EVA/D.aureus) هي IRTF, DSC و تجارب الشد. اظهرت الدراسة ان هذه الافلام لها فعالية ضد الميكروبات *S. aureus*, *E. coli* و *C. albicans* باستخدام طريقة التبخير.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الاساسية ، الانشطة المضادة للميكروبات، تقنية التبخير ، البوليمير ، البولي ايثيلين منخفض الكثافة .

Liste des abréviations

Abs: Absorbance

ACP: Analyse en Composantes Principales

ADN: Acide désoxyribonucléique

AFNOR: Association Française de Normalisation

AM: Agent Antimicrobien

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

APG: Angiospermes Phylogénétique Groupe

ATCC: American Type Culture Collection

BHT: Butyl- Hydroxyl-Toluène

BN: Bouillon Nutritif

°C: Degré Celsis

CCM: Chromatographie sur Couche Mince

CFU: Colony Forming Units

CIP: Centre Institut Pasteur de Paris

CI₅₀: Concentration Inhibitrice à 50%

CLHP: Chromatographie Liquide à Haute Performance

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

GN: Gélose Nutritive

CPG: Chromatographie Phase Gazeuse

CPG/SM: Chromatographie Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse

DO: Densité Optique

DPPH: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

EI: Impact d'Electron

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène

EVA: Ethylène/Acétate de Vinyle

FID: Detecteur à Ionisation de Flame

HE: Huile Essentielle

IRTF: Spectrométrie- Infra-Rouge par Transformée de Fourier

IA: Indice d'Acide

IE : Indice d'Ester

IPP: Diphosphate d'Isopentényle

IR: Indice de Réfraction

MH: Milieu de Mueller Hinton

Me OH: Methanol

min : minute

ml : millilitre

mm: millimètre

MPa: Méga Pascale

MRSA: Methicilin- Resistant *Staphylococcus Aureu*

NCCLS: National Comittee for Clinical Laboratory Standars

NCTC: National Collection of Type Cultures.

nm: nanomètre

PE: Polyéthylène

PE-BD: Polyéthylène Basse Densité

PE-HD: Polyéthylène Haute Densité

PE- MD: Polyéthylène à Moyenne Densité

PE- R: Polyéthylène Réticulé

PE-RHD: Polyéthylène Réticulé à Haute Densité

PE-TBD: Polyéthylène à Très Basse Densité

PE-UHPM: Polyéthylène à Masse Molaire Elevée

PP: Polypropylène

QMI: Quantité Minimale Inhibitrice

RI: Indice de Rétention

RMN: Résonance Magnétique Nucléaire

UFC: Unité Formant Colonie

μl: Microlitre

UV: Ultra-violet

WHO: World Health Organisation

Liste des figures

Figure 01:	<i>Daucus aureus</i>	5
Figure 02:	<i>Reutera lutea</i>	6
Figure 03:	Structure de l'unité isoprénique.....	10
Figure 04:	Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).....	11
Figure 05:	Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.....	12
Figure 06:	Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile (Hernandez, 2005).....	14
Figure 07:	Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau.....	15
Figure 08 :	Les étapes de l'extraction des huiles essentielles (Lucchesi, 2005).....	15
Figure 09:	Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles (Burt, 2004).....	24
Figure 10:	Structure d'un polymère.....	28
Figure 11:	Structure cristalline du polyéthylène.....	29
Figure 12:	Structure d'un polymère semi-cristallin.....	30
Figure 13	Ethylène/Acétate de Vinyle.....	34
Figure 14:	Carte géographique de la répartition des populations de <i>D. aureus</i> étudiée.....	37
Figure 15:	Appareil de distillation type Clevenger.....	39
Figure 16:	Technique de diffusion par disque.....	42
Figure 17:	Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).....	44
Figure 18:	Rendement des HE de <i>D. aureus</i> et de <i>R. lutea</i>	51
Figure 19:	Structures chimiques des composés majoritaires de <i>D. aureus</i>	57
Figure 20:	Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de <i>D.</i>	

	<i>aureus</i> (Sétif).....	58
Figure 21:	Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i> (Constantine).....	58
Figure 22	Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i> (Oum Elbouaghi).....	59
Figure 23:	ACP des huiles essentielles de <i>D. aureus</i> des différentes localités d'Algérie.....	61
Figure 24:	UPGMA des compositions chimiques de <i>D. aureus</i> des différentes localités d'Algérie.....	61
Figure 25:	Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de <i>R. lutea</i>	63
Figure 26:	Structures chimiques des composés majoritaires de <i>R. lutea</i>	63
Figure 27:	Les zones d'inhibitions de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 induites par l'huile <i>D. aureus</i> de Sétif (A) , d'Oum Elboaghi (B) et par les antibiotiques standards.	68
Figure 28:	Les zones d'inhibitions d' <i>E. coli</i> ATCC 25922 induites par l'huile <i>D. aureus</i> d'Oum Elbouaghi à la concentration de (A) 1/2 (v/v), (B) 1/5 (v/v) et par les antibiotiques standards.....	69
Figure 29:	Les zone d'inhibitions de <i>C. albicans</i> induites par l'huile <i>D. aureus</i> d'Oum Elbouaghi a la concentration de (A) 1/2 (v/v), (B) 1/5 (v/v) et par les antibiotiques standards.....	69
Figure 30:	Les zones d'inhibitions de <i>B. subtilis</i> induites par l'huile <i>D. aureus</i> de Constantine à la concentration de (A) 1/2 (v/v), (B) 1/5 (v/v) et par les antibiotiques standards.....	70
Figure 31:	Les zones d'inhibitions de <i>S. aureus</i> ATCC 25923 induites par l'huile <i>R. lutea</i> (A) à la concentration (1/2) (V/V), (B) à la concentration	

	(1/5) (V/V) et par les antibiotiques standard.....	76
Figure 32:	Les zones d'inhibitions de (A) <i>B. subtilis</i> , (B) <i>C. albicans</i> à la concentration de 1/2 (v/v), induites par l'huile <i>R. lutea</i>	76
Figure 33:	Effet de la vapeur de l'huile de <i>D. aureus</i> de Sétif sur <i>S. aureus</i>	82
Figure 34:	Effet de la vapeur de l'huile de <i>Reutera lutea</i> sur <i>S. aureus</i>	82
Figure 35:	Effet de la vapeur de l'huile <i>D. aureus</i> de Sétif sur <i>B. subtilis</i>	83
Figure 36:	Effet de la vapeur de l'huile <i>D. aureus</i> d Oum Elbouaghi sur <i>B. subtilis</i>	83
Figure 37:	Effet de la vapeur de l'huile <i>D. aureus</i> de Constantine sur <i>B. subtilis</i> .	84
Figure 38:	Effet de la vapeur de l'huile <i>D. aureus</i> d'Oum Elbouaghi sur <i>C. albicans</i>	84
	...	
Figure 39:	Effet de la vapeur de l'huile <i>R. lutea</i> sur <i>B. subtilis</i>	85
Figure 39:	Effet de la vapeur de l'huile <i>R. lutea</i> sur <i>C. albicans</i>	85
Figure 41 :	Evolution de l'activité antiradicalaire du BHT en fonction de la concentration.....	89
Figure 42:	Evolution de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle de <i>Daucus aureus</i> de Sétif en fonction de la concentration.....	89
Figure 43:	Evolution de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle de <i>Daucus aureus</i> d'Oum Elbouaghui en fonction de la concentration.....	90
Figure 44 :	Evolution de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle de <i>Daucus aureus</i> de Constantine en fonction de la concentration.....	90
Figure 45 :	Evolution de l'activité antiradicalaire de l'huile essentielle de <i>Reutera lutea</i> de Bejaia en fonction de la concentration.....	91
Figure 46:	Valeurs d'IC ₅₀	91

Figure 47	Spectre FTIR (a) PEBD/EVA (90/10) (W/W), (b) PEBD/EVA/ <i>D.aureus</i> (10%), (c) PEBD/EVA/ <i>D. aureus</i> (20%).....	93
Figure 48:	Thermogramme DSC du mélange PEBD/EVA, PEBD/EVA/ <i>D. aureus</i> (10%) et PEBD/EVA/ <i>D. aureus</i> (20%) à une vitesse de chauffe de 10°C/min.	94
Figures 49:	Courbes contrainte-déformation du PEBD/EVA (a), PEBD/EVA/ <i>D. aureus</i> (10%) (b), PEBD/EVA/ <i>D. aureus</i> (20%) (c).....	96
Figure 50:	Variation de la contrainte maximale en fonction de L'addition de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i>	96
Figure 51:	Variation de la contrainte minimale en fonction de l'addition de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i>	96
Figure 52 :	Variation du module d'élasticité en fonction du % de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i>	98
Figure 53	variation de la contrainte à la rupture en fonction du % de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i>	98
Figure 54:	Effet de la vapeur des films PEBD/EVA contenant 10% et 20% de l'huile <i>D. aureus</i> sur <i>S. aureus</i>	100
Figure 55:	Effet de la vapeur des films PEBD/EVA contenant 10% et 20% de l'huile <i>D. aureus</i> sur <i>B. subtilis</i>	100
Figure 56:	Effet de la vapeur des films PEBD/EVA contenant 10% et 20% de l'huile <i>D. aureus</i> sur <i>C. albicans</i>	100

Liste des tableaux

Tableau 01:	Résumé de formulation des films.....	46
Tableau 2:	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i> des trois régions (Sétif, Oum Elbouaghi et Constantine).	52
Tableau 3 :	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>R. lutea</i> (Bejaia).....	64
Tableau04:	Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i> par la méthode de diffusion sur gélose.....	67
Tableau 05:	Activité antimicrobienne de l'huile essentielle de <i>D. aureus</i> par la méthode de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	68
Tableau 06:	Activité antimicrobienne de <i>R. lutea</i> utilisant la méthode de diffusion sur gélose (DD) et la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	75
Tableau 07 :	Activité antibactérienne des antibiotiques standards exprimée par le diamètre d'inhibition en millimètre.....	77
Tableau 08:	Les quantités minimales inhibitrices des 'huiles essentielles de <i>Daucus aureus</i> de trois régions (Sétif, Oum Elbouaghi et de Constantine) et de <i>Reutera lutea</i> , +: Développement, -: pas de développement.....	79
Tableau09 :	Valeurs d'IC50 du BHT et des huiles essentielles.....	87
Tableau 10	Différentes grandeurs physiques obtenues du cycle de chauffage	95

Dédicaces	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

SOMMAIRE

Introduction.....	1
-------------------	---

Partie bibliographique

Chapitre I

Etude des plantes médicinales

I-1- Phytothérapie.....	3
I-2- Les différents types de phytothérapie.....	3
1- La phytothérapie:	3
2- La gemmothérapie	3
3- L'aromathérapie	3
4- Phytothérapie pharmaceutique.....	3
I-3- Description botanique de la famille des Apiacées.....	3
I-4- Botanique du genre <i>Daucus</i>	4
I-4-1- Usages traditionnels:.....	4
I-5- <i>Daucus aureus</i>	4
1-5-1. Description botanique.....	4
I.5.2. Systématique et nomenclature.....	5
I.5.3. Les principaux constituants chimiques.....	5
I.6. <i>Reutera lutea</i>	6
I.6.1. Description botanique.....	6
I.6.2. Systématique et nomenclature.....	6
I.6.3. Les principaux constituants chimiques de <i>Reutera lutea</i>	7

Chapitre II

Les huiles essentielles

II.1. Généralités sur les huiles essentielles.....	8
II.2. Définitions	8
II.2. Répartition, localisation et fonction.....	8
II.3. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	9
II.4. La toxicité des huiles essentielles.....	9
II.5. Composition chimique.....	9
II.5.1. Les composés terpéniques.....	10
II.5.1.1. Les monoterpènes.	11
II.5.1.2. Les sesquiterpènes.....	11

II.5.2. Les composés aromatiques.....	12
II.5.3. Les composés d'origines diverses.....	12
II.6. Chémotype	13
II.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	13
II.7.1 Hydrodistillation.....	13
II.7.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	14
II.7.3. Expression à froid.....	15
II.7.4. L'extraction au fluide supercritique.....	16
II.7.5. L'extraction par enflourage.....	16
II.7.6. Extraction assistée par micro-ondes.....	16
II. 8. Facteurs de variabilité des huiles essentielles.....	16
II.9. Les domaines d'application.....	17
II.9.1. Agro-alimentaire.....	17
II.9.2. Parfums et Cosmétiques.....	18
II.9.3. En pharmacie.....	18
II.9.4. Domaine médical.....	19
II.10. Les principales propriétés des huiles essentielles.....	19
II.10.1. Anti-infectieuses.....	19
II.10.2. Anti-inflammatoires.....	20
II.10.3. Régulatrices du système nerveux.....	20
II.10.4. Cicatrisantes.....	20
II.11. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles.....	21
II.11.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	21
II.11.1.2. Principe de la chromatographie en phase gazeuse.....	21
II.11.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM).....	22
II.11.3. Chromatographie liquide à haute performance.....	22
II.12. Activité antimicrobienne.....	22
II.12.1. Mécanismes de l'action antimicrobienne des huiles essentielles.....	23
II.12.2. Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles.....	25
II.12.2.1. Technique par contact direct.....	25
II.12.2.1.1. Méthode des disques.....	25
II.12.2.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	25
II.12.2.2. Méthode de microatmosphère.....	26
II.13. Activité antioxydante des huiles essentielles	26
II.13.1. Les radicaux libres.....	26
II.13.2. Origine de production des ERO	26
II.13.3. Les antioxydants.....	27

Chapitre III

Les polymères

III.1. Généralités sur les polymères.....	28
III.2. Polyéthylène (PE).....	28
III.3. Structure multi-échelle du matériau.....	29
III.3.1. Phase amorphe et phase cristalline.....	29
III.3.2. Morphologie semi-cristalline.....	30
III.4. Différents types de polyéthylène.....	30

III.5. Le Polyéthylène basse densité	31
III.5.1. Propriétés du PEBD.....	31
III.5.2. Domaines d'applications.....	32
III.6. Agents compatibilisants	32
III.7. Compatibilisation d'un mélange de polymères.....	32
III.7.1. Objectifs de la compatibilisation.....	33
III.7.2. Les différentes méthodes de compatibilisation.....	33
III.8. Copolymère d'Éthylène/Acétate de Vinyle (EVA).....	33
III.9. Synthèse bibliographique sur l'incorporation des huiles essentielles et des extraits des plantes dans les polymères.....	34

Partie expérimentale

Chapitre IV Matériel et méthodes

IV.1. Matériel.....	37
IV.1.1. Matériel végétal.....	37
IV.1.2. Les souches microbiennes utilisées	37
IV.1.2.1. Les bactéries.....	37
IV.1.2.2. Les champignons.....	38
IV.1.3. Les milieux de cultures.....	38
IV.1.4. Les antibiotiques.....	38
IV.1.5. Les antifongiques.....	38
IV.1.6. Matériel du test de l'activité antioxydante (test DPPH).....	38
IV.2. Méthodes expérimentales.....	39
IV.2.1. Extraction des huiles essentielles.....	39
IV.2.2. Calcul du rendement.....	40
IV.2.3. Analyse des huiles essentielles.....	40
IV.2.4. Techniques numériques d'analyse des données.....	41
IV.2.4. 1. Analyse en Composantes Principales (A.C.P.).....	41
IV.2.4. 2. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA).....	41
IV.2.5. Etude de l'activité antimicrobienne <i>in vitro</i> des huiles essentielles.....	41
IV.2.5.1. Technique par contact direct.....	42
IV.2.5.1.1. Méthode de diffusion.....	42
IV.2.5.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	43
IV.2.5.1.3. Technique de microdilution en milieu liquide.....	43
IV.2.5.2. Technique de micro-atmosphère.....	43
IV.2. 6. Test antioxydant.....	44
IV.2.6.1. Détermination du pourcentage d'inhibition.....	44
IV.2.7. Analyse statistique.....	45
IV.3. Matériaux et techniques expérimentales.....	45
IV.3.1. Matériaux utilisés.....	45
IV.3.1.1. Le polyéthylène basse densité.....	45
IV.3.1.2. L'éthylène acétate de vinyle (EVA).....	45
IV.3.1.3. Les agents antimicrobiens.....	45
IV.3.1.4. Solvant.....	46
IV.4. Mode opératoire et méthodes de caractérisations.....	46

IV.4.1. Incorporation des agents AM dans le polymère.....	46
IV.4.2. Préparation des films AM par compression.....	46
IV.5. Méthodes de caractérisations.....	47
IV.5.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	47
IV.5.2. Tests mécaniques des films AM.....	47
IV.5.2.1. Préparation des éprouvettes.....	47
IV.5.2.2. Test de traction.....	47
IV.5.3. Test thermique.....	48
IV.5.3.1. Analyse calorimétrique différentielle (DSC).....	48
IV.6. Etude de l'activité anti microbienne des films par la méthode de micro atmosphère....	48

Chapitre V

Résultats et discussion

V-1-Extraction des huiles essentielles.....	50
V-2-Analyse chimique des huiles essentielles.....	51
V.2.1 Composition chimique des huiles essentielles du <i>D. aureus</i> des trois stations.....	51
V.2.1.1. Variabilité chimique des huiles essentielles de <i>D. aureus</i>	59
V.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle <i>Reutera lutea</i> récolté de Bejaia.....	62
V. 3. Activité anti microbienne.....	66
V.3.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du <i>D. aureus</i>	66
V.3.2. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	70
V.3.3. Évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle <i>Reutera lutea</i>	73
V.3.4. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI).....	73
V.3.5. Détermination des quantités minimales inhibitrices.....	78
V.3.5.1. Technique de micro atmosphères.....	78
V.4. Activité antioxydante.....	86
V.4.1. Test anti-radicalaire (Test DPPH).....	86
V.5. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF).....	92
V.6. Analyse calorimétrique différentielle (DSC).....	94
V.7. Caractérisation mécanique.....	95
V.8. Etude de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA / <i>D. aureus</i>	98
Conclusion générale	
Références bibliographiques	
Annexe	

Introduction

L'infection microbienne dans les milieux hospitaliers et les laboratoires d'analyse de microbiologie est connue depuis longtemps. La majorité des populations ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi parce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité.

Parmi les différents moyens à disposition pour empêcher un développement microbien, on peut citer les huiles essentielles. Ils sont des produits de composition complexe, renfermant des produits volatils contenus dans les végétaux. Toutes les parties de la plante en contiennent mais la plus importante quantité en huile essentielle se trouve au niveau des fleurs et des feuilles (Anonyme, 1991). Le principal procédé d'obtention est l'hydrodistillation.

Ces extraits de végétaux odorants sont l'objet de nombreuses recherches scientifiques dans le domaine médical et ils ont démontré leur efficacité pour le traitement de nombreuses pathologies. Au contraire de la grande majorité des agents antimicrobiens utilisés pour la désinfection de l'air, ces substances ne sont pas ou sont peu toxiques.

Par ailleurs, la maîtrise des infections bactériennes et fongiques devient complexe du fait de l'émergence de bactéries et de champignons résistants à de nombreux antibiotiques conventionnels. (Dramane *et al.*, 2010).

L'objet de cette recherche est la valorisation des deux plantes aromatiques à intérêt biologique et de proposer une solution possible aux problèmes liés aux infections microbiennes dans les milieux hospitalier. Pour ce faire, nous avons subdivisé notre travail de recherche en deux parties principales:

La première partie propose une mise au point bibliographique. Elle est divisée en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude des plantes médicinales. Le second chapitre traite la valorisation des ressources végétales par une meilleure connaissance de la composition chimique et de l'activité biologique des huiles essentielles. Le troisième chapitre

élucide l'étude des polymères. Dans la seconde partie (pratique), nous avons décrit en détail le matériel végétal, l'extraction des huiles essentielles ensuite, l'étude de son activité biologique et enfin incorporé les huiles essentielles dans le polymère pour avoir une activité antimicrobienne des films. Les résultats obtenus sont ensuite amplement discutés. Le manuscrit est achevé par une conclusion générale, la liste des références bibliographiques et l'annexe.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I
Etude des plantes médicinales

I-1 Phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de 2 mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mises à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composées on retrouve, dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique. La pharmacie utilise encore une forte proportion de médicaments d'origine végétale et la recherche trouve chez les plantes des molécules actives nouvelles, ou des matières premières pour l'hémi-synthèse (Bahorun, 1997).

I.2. Les différents types de phytothérapie

On peut distinguer différents types de thérapies par les plantes:

1. **La phytothérapie:** l'utilisation des différentes parties des plantes (racine, feuilles, fleurs...ou la plante entière) sous différents formes galéniques.
2. **La gemmothérapie:** l'utilisation des bourgeons de la plante.
3. **L'aromathérapie:** l'utilisation des huiles essentielles obtenues grâce à divers procédés d'extraction (Vernex-Lozet, 2011)
4. **Phytothérapie pharmaceutique:** utilise des produits d'origine végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules (Strang, 2006).

I.3. Description botanique de la famille des Apiacées

Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères, comprennent environ 3.000 espèces dans toutes les régions tempérés mais surtout dans l'hémisphère Nord. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres. Les plantes de la famille des Apiacées sont essentiellement des plantes herbacées annuelles, bisannuelles ou le plus souvent vivaces. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce a son inflorescence en ombelles composées.

L'appareil souterrain pérennant est très varié: racine pivotante, rhizome ou tubercule. La tige est ordinairement cannelée et creuse par résorption précoce de la moelle au cours de la croissance.

Les feuilles sont alternes, souvent très découpées. La majorité des Apiacées sont des plantes aromatiques grâce à leurs sécrétions d'huile essentielle.

I.4. Botanique du genre *Daucus*

Le genre *Daucus* comprend environ 30 espèces, annuelles, bisannuelles et vivaces. Le *Daucus* est considéré comme étant l'Ombellifère le plus difficile à définir, parmi les 3000 espèces de cette famille. Il est un genre de plantes herbacées de la famille des Apiacées (Ombellifères) dont l'espèce la plus connue est la carotte cultivée. Il est largement distribué à travers le monde. Les fleurs sont principalement blanches à cinq pétales, velus en dehors, à peine échancrés, avec une pointe recourbée en dedans. Les ombelles et les ombellules sont munies d'une collerette à plusieurs folioles simples, étroites et membraneuses. Le fruit est velu, plus de deux fois plus long que large, chaque moitié du fruit porte 5 côtes égales arrondies, peu saillantes (Bonnier, 1990; Camarda et al., 2008). *D. carota* (carotte) est la principale espèce du genre *Daucus*, les racines des carottes ont été signalées être dotées de propriétés médicinales, c'est à dire, des propriétés hypotensive, diurétique, carminative, stomachique, et hypolipémiant (Baytop, 1984; Bauer et al., 1990).

I.4.1. Usages traditionnels

Les plantes qui composent cette famille, ont de nombreux usages sur tout pour le traitement des troubles digestifs (Filliat, 2012). La carotte et le panais sont cultivés pour les racines comestibles. Le persil, l'aneth, le fenouil, le cumin, l'anis et le coriandre sont des herbes aromatiques; certaines espèces, telle que la ciguë, sont toxiques alors que d'autres sont utilisées en médecine, et quelques unes en horticulture.

I.5. *Daucus aureus*

I.5.1. Description botanique

Est une espèce à grandes feuilles régulièrement pennées. Les ombelles sont terminales, le chône pédonculé et grande (entre 8-10 cm), peu contractées à la fructification. Les rayons sont nombreux, légèrement inégaux. Les fruits sont allongés, de forme ovoïde 4 × 2 mm. La plante a 50 cm d'hauteur. L'espèce est présente en Algérie, au Maroc, en Italie, en Espagne en Egypte, au Palestine, en Syrie et en Liban.



Figure 01: *Daucus aureus* (Photo Zaibet, 2014).

I.5.2. Systématique et nomenclature

L'espèce *Daucus aureus* appartient au:

- Règne: plantae
- Division= Magnoliophyta
- Classe: Equisetopsida
- Ordre: Apiales
- Famille: Apiaceae
- Genre: *Daucus*

I.5.3. Les principaux constituants chimiques

A notre connaissance, il y a dans la littérature qu'une seule publication qui traite les huiles essentielles de la partie aérienne de cette espèce (Meliani et *al.*, 2013). Le composé majoritaire de l'huile essentielle de la partie aérienne *D. aureus* de l'Ouest d'Algérie (Tlemcen) a été rapporté comme étant le germacrene-D ($59.8\% \pm 8.6$).

Des études phytochimiques du genre *Daucus aureus* ont évoqué la présence des tannins, des flavonoïdes, des stéroïdes et des saponines (Djabou et *al.*, 2013).

I.6. *Reutera lutea*

I.6.1. Description botanique:

Plante vivace à souche épaisse à tige très ramifiée élevée 1-2 m. Feuilles toutes basales, pennatiséquées à 5-13 segments ovoïdes cunéiformes dentés hispides, longues de 15-30 cm, les caulinaires réduites à la gaine. Ombelle petite à 3-5 rayons capillaires. Involucre et involucelle nuls. Fleurs jaunes, graines ovoïdes de 5 mm environ, luisantes champs, cultures, broussailles C: à l'E d'oriéans ville 1E. Méd. 1 (= *Pimpinella* Desf., R. Fontanesi Boiss.) 1992. *R. lutea* (Desf.) Maire



Figure 02: *Reutera lutea* (Photo Zaibet, 2014).

I.6.2. Systématique et nomenclature

L'espèce *Reutera lutea* appartient au

- Règne: Plantae
- Division= Magnoliophyta
- Classe: Equisetopsida

- Ordre: Apiales
- Famille: Apiacea
- Genre: *Reutera*
- Espèce: *lutea* = *Pimpinella lutea* Desf. (syn *Reutera lutea*)

I.6.3. Les principaux constituants chimiques de *Reutera lutea*

Une étude antérieure de la partie aérienne de *Reutera lutea* a montré l'existence de deux flavonoides, le C-glucosides et l' isocoumarine (Makhloufi et *al.*, 2013).

Chapitre II
Etude des huiles essentielles

II. Généralités sur les huiles essentielles

II.1. Définitions

L'huile essentielle est un extrait végétal provenant des plantes dites: aromatiques qui contiennent donc dans leurs feuilles, fruits, graines, écorces, ou racines, un grand nombre de molécules aromatiques, qui constituent le ou les principes essentielles des plantes. Les huiles essentielles sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire résinioses de très odorantes, volatiles, souvent colorées : du jaune pâle au rouge foncé voir brun, en passant par le vert émeraude ou encore le bleu. Elles sont plus légères que l'eau (densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990). Ces essences sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau (Bardeau, 2009). La plante utilise l'huile pour favoriser la pollinisation, ou comme source énergétique, facilite certaines réactions chimiques et pour conserver l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Mohammedi, 2006).

II.2. Répartition, localisation et fonction

Les HE sont largement réparties dans le règne végétal dans un nombre limité de familles qui en sont particulièrement riches, par exemple chez les Myrtacées, les Lauracées, les Astéracées, les Apiacées, les Rutacées et les Lamiacées. Tous les organes végétaux peuvent renfermer des huiles essentielles: fleurs (bergamotier), feuilles (eucalyptus, laurier), racines (vétiver), écorces (cannelier), fruits (anis, agrumes, badiane), graines (muscade), rhizomes (gingembre) et bois (bois de rose).

Les quantités d'huiles essentielles produites par les plantes sont minimales, entraînant des rendements d'extraction extrêmement faibles, généralement inférieurs à 2 %. Il existe, cependant, des exceptions telles que le clou de girofle qui renferme plus de 15%.

Les structures anatomiques spécifiques spécialisées dans la sécrétion des huiles essentielles sont très diverses: poches sécrétrices schizogènes (Myrtacées) ou poches sécrétrices schizolyziques (Aurantiacées), elles peuvent aussi être des canaux sécréteurs (Conifères et Apiacées), poils sécréteurs (Lamiacées et Astéracées) et cellules sécrétrices isolées (Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées) (Belaiche, 1979 ; Paris et Hurabielle, 1981 Bruneton, 1999 ; Ghestem et *al.*, 2001). Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HE peut alors varier d'un organe à l'autre (Paris et Hurabielle, 1981).

II.3. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles

Toutes les HE sont volatiles, odorantes et inflammables. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de saffran. On trouve généralement les HE incolores ou jaune pâle à l'état liquide à température ordinaire. Les huiles essentielles sont solubles dans les alcools, dans les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques (Paris et Hurabielle, 1981 ; Bruneton, 1999; Ghestem *et al.*, 2001). Leur point d'ébullition est toujours supérieur à 100°C et dépend de leurs poids moléculaires par exemple les points d'ébullition du caryophyllène, du géraniol, du citral et du α -pinène sont 260°, 230°, 228° et 156°C respectivement, mais d'après Valnet (1984), ce point varie de 160°C à 240°C. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (Bruneton, 1999; Rhayour, 2002; Desmares *et al.*, 2008).

Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol ...) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000).

II.4. La toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène ou sesquiterpène pur, il est difficile (voire impossible) de parler de pharmacologie, pharmacocinétique ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une centaine de composés (Bruneton, 1993).

De plus, il n'existe pas encore d'études complètes et rigoureuses, de type partie toxicologique d'un dossier d'AMM. De nombreuses études sont réalisées par différents laboratoires, avec des objectifs différents, des conditions expérimentales très variables. Il est donc difficile de faire le point.

L'action de l'huile essentielle est assimilée à l'action de l'un de ces composants ou quelques-uns de ses composants, ainsi qu'à certains métabolites issus des biotransformations de ces composés.

II.5. Composition chimique

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée, prépondérants dans la plupart des essences. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences,

et des composés aromatiques dérivés du phenylpropane, retrouvé en tant que composé majoritaire dans quelques unes, telles que les essences d'anis, de cannelle, de girofle, etc....

II.5.1. Les composés terpéniques

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Les composés terpéniques sont issus d'une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique. Suivant le nombre entier d'unités pentacarbonés (C5) ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (isoprène) (fig.03), nous pouvons réaliser plusieurs classifications.

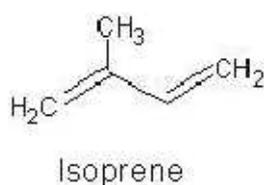


Figure 03: Structure de l'unité isoprénique

Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka in Lamarti *et al.* (1994). Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaîne isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones (Lamarti *et al.*, 1994).

Les terpènes sont constitués d'un mélange d'hydrocarbures et de composés oxygénés dérivés de ces hydrocarbures. Dans certaines huiles essentielles, les hydrocarbures prédominent (ex. l'essence de Térébenthine) dans d'autres, la majeure partie de l'essence est constituée de composés oxygénés. Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono – et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 1999) et leur confère un caractère volatil et est à la base de leurs propriétés olfactives (Pibiri, 2006). Il est à noter que l'odeur et le goût des huiles essentielles sont donnés par ces composés oxygénés. Parmi ces composés oxygénés, on note d'alcools (géraniol, linalol), d'esters (acétate de linalyle), d'aldéhydes (menthone, camphre, thuyone), les cétones, les éthers, les phénols et les peroxydes (Paris et Hurabielle, 1981; Svoboda et Hampson, 1999).

II.5.1.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes comportent deux unités d'isoprène (C_5H_8). Volatiles, entraînés à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable dont la majorité des constituants des HEs, parfois 90%. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocymène), monocycliques (terpène) ou bicycliques (pinène, sabinène). A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales: alcool (géraniol, menthol) aldéhydes (geranial, citronellal), cétones (carvone, menthone) et des esters (acetate de géranyle, acetate de linalyle).

II.5.1.2. Les sesquiterpènes

IL s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes. Elles contient plus de 3000 molécules comme par exemple: B-caryophyllène, B-bisabolène, α -humilène, α -bisabolol, farnesol (Bruneton, 1999; Hernandez-ochoa, 2005).

I. Terpenes

-Monoterpenes

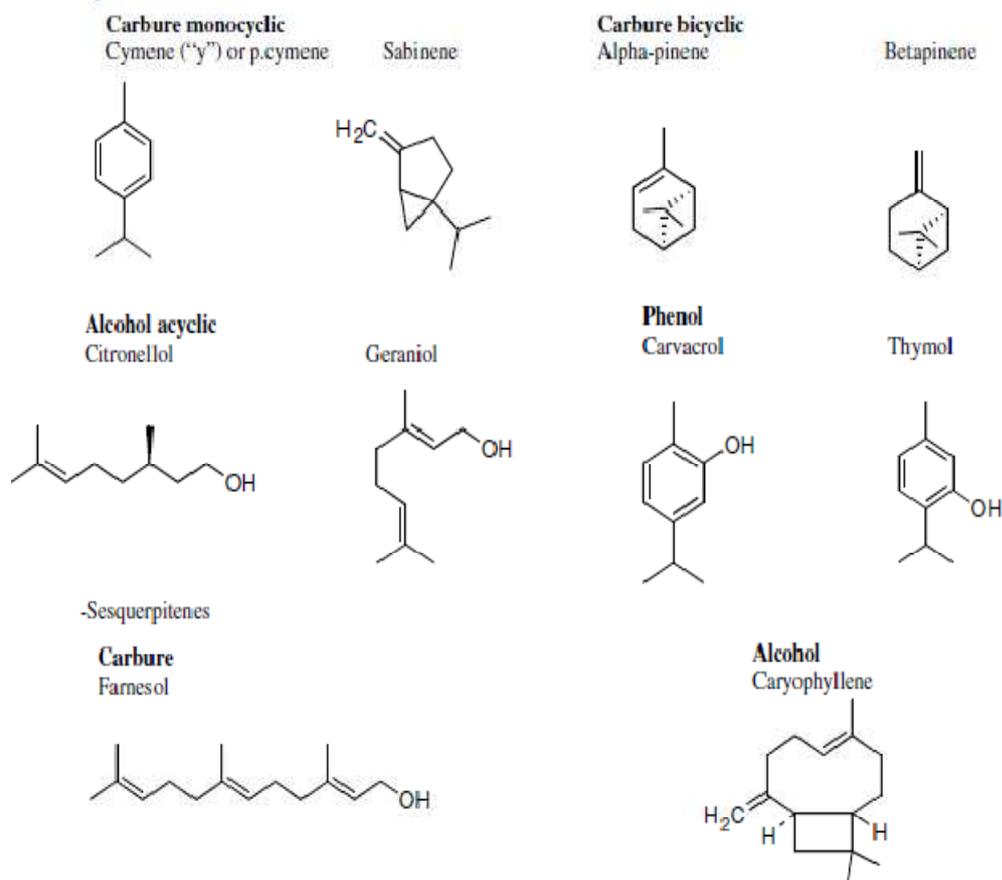


Figure 04: Structure chimique de quelques composés terpéniques des huiles essentielles (Bakkali et *al.*, 2008).

II.5.2. Les composés aromatiques

Contrairement aux composés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les huiles essentielles. Ces composés aromatiques constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Kunle et Okogun, 2003).

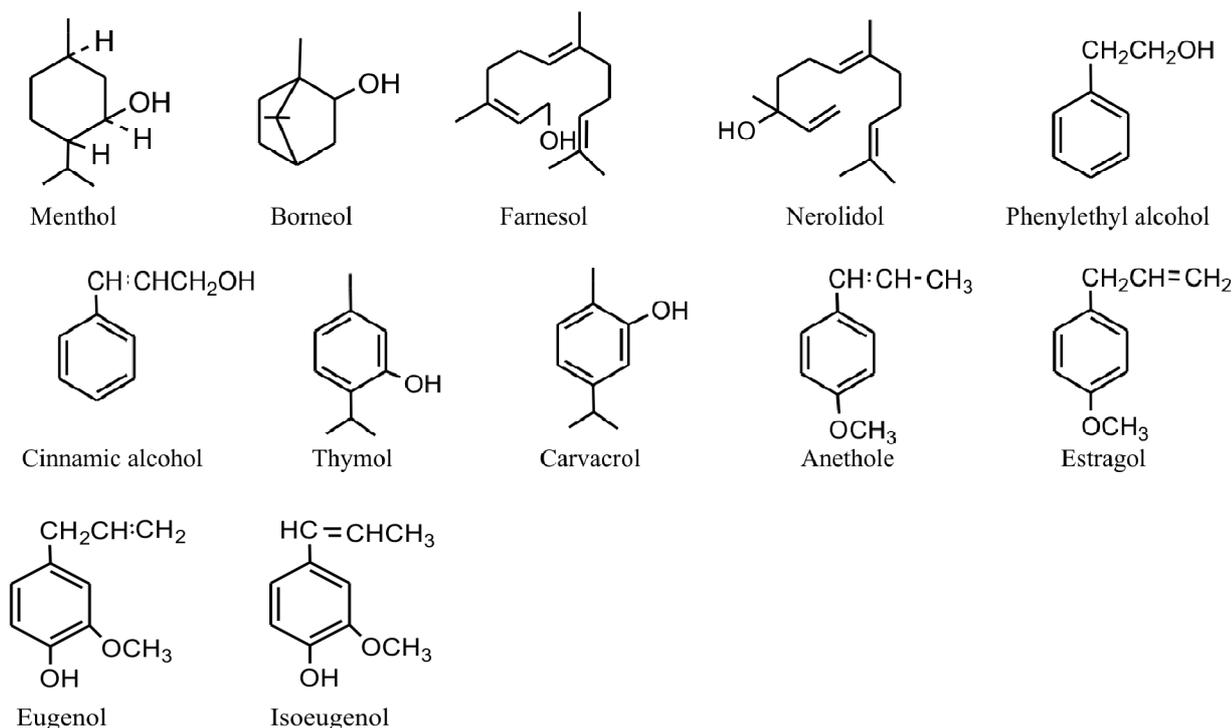


Figure 05: Structure chimique de quelques composés aromatiques des huiles essentielles.

II.5.3. Les composés d'origines diverses

Ces composés entrent également dans la constitution des huiles essentielles mais en faible proportion. Il s'agit de produits issus de la dégradation des acides gras et des terpènes. Des composés azotés et soufrés peuvent également se rencontrer dans les huiles essentielles mais d'une manière très rare (Bruneton, 1999; Svoboda et Hampton, 1999). Abou Zeid (1988) signale que le composé soufré le plus rencontré est l'allyle-isothiocyanate issu de la dégradation d'un glucoside sinigrósido qui se trouve dans les graines de Moutarde noire. Ce composé est incolore, fluide et de saveur piquante. Certaines plantes aromatiques produisent des huiles essentielles dont les composés terpéniques renferment l'élément nitrogène. Parmi ces composés on cite l'indole, extrait de l'huile

essentielle de Citron et des fleurs de Jasmin. Signalons enfin que, dans les Concrètes, il n'est pas rare de trouver des produits de masse moléculaire plus importante, non entraînés à la vapeur d'eau, mais extractibles par les solvants: homologues des phenyl propanes, diterpènes, etc. (Bruneton, 1999).

II.6. Chémotype

Au sein d'une même espèce la composition chimique de l'huile essentielle peut être différente: on parle alors de races chimiques ou de chémotypes. Il s'agit d'un polymorphisme chimique: une espèce peut être homogène au niveau de son caryotype et produire des huiles essentielles de compositions différentes. Garnero (1985) évoque le cas des thymes avec ses 7 chémotype est sans doute le plus connu, on peut aussi citer le cas de *Ocimum gratissimum* L., qui peut présenter 5 chémotypes: eugénol, méthyl-eugénol, linalol, β -caryophyllène, et géraniol (Charles et Simon, 1992). Charchari et Boutekedjret (1994), ont démontré que le rendement en huile essentielle et la teneur en principaux constituants de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Aso. récoltée en Algérie diffèrent selon le lieu de végétation de la plante. Il observe 2 chémotypes suivant la région de récolte: le type à α -thuyone caractérisant l'huile essentielle de la plante provenant de Ghardaïa et celui à α -thuyone-camphre et chrysanthénone caractérisant celle de la plante récoltée à Biskra, à Bordj Bou Arreridj et à Laghouat.

II.7. Procédés d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%), ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes. Une forte demande toujours plus exigeante basée sur différents phénomènes physiques: la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques d'extraction seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées et classées en deux catégories distinctes selon le produit final obtenu : une huile essentielle ou un extrait aromatique.

II.7.1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté

à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger.

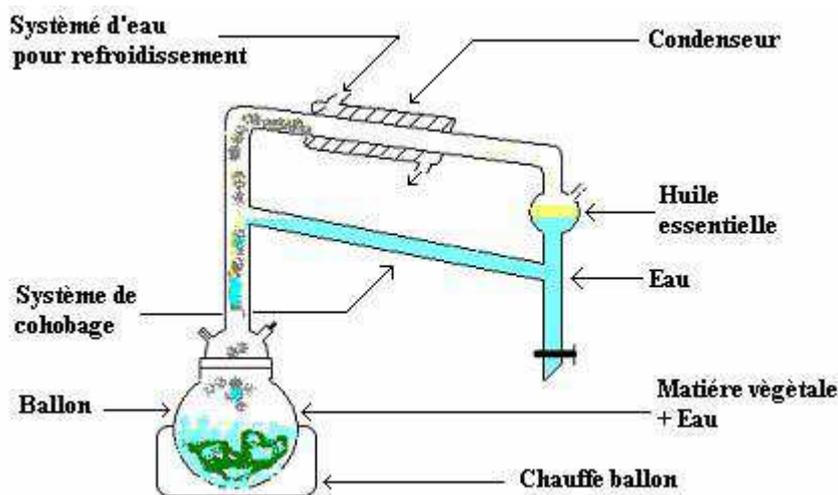


Figure 06: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile.

II.7.2. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles des plantes aromatiques. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter (Lagunez Rivera, 2006). La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille (fig. 07). Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle » (fig. 08). Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (l'huile essentielle). L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (Lucchesi, 2005). Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origine végétale restent identiques quelque soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation comme cela est explicité dans la Figure 07.

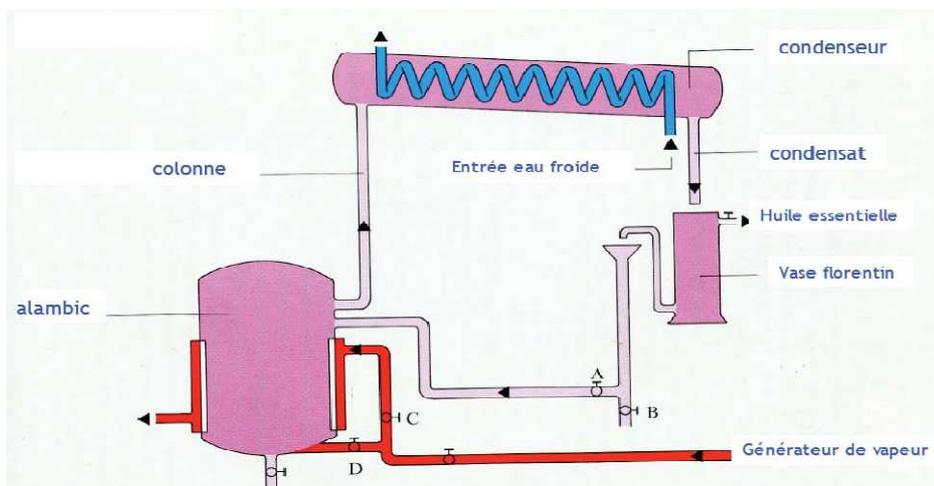


Figure 07: Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau

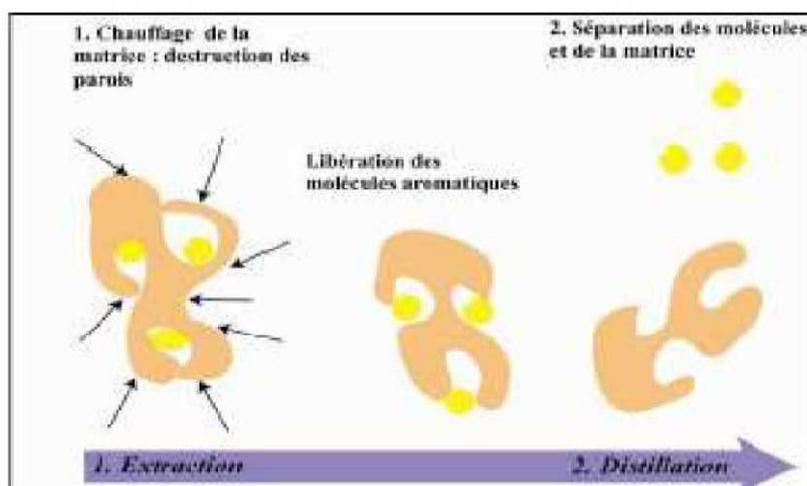


Figure 08 : Les étapes de l'extraction des huiles essentielles (Lucchesi, 2005).

II.7.3. Expression à froid

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (*Citrus* sp.) par des procédés mécaniques à température ambiante. Le principe de la méthode est le suivant: les « zestes » sont dilacérés et le contenu des poches sécrétrices qui ont été rompues est récupéré par un procédé physique. Le procédé classique consiste à exercer sous un courant d'eau une action abrasive sur toute la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation. La plupart des installations industrielles permettent en fait la récupération simultanée ou séquentielle des jus de fruits et de l'huile essentielle.

II.7.4. L'extraction au fluide supercritique

Au delà du point critique, un fluide peut avoir la densité d'un liquide et la viscosité d'un gaz, d'où une bonne diffusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant, l'intérêt s'est porté initialement sur le dioxyde de carbone ce qui s'explique si l'on considère ses atouts: produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, strictement atoxique, facile à éliminer totalement, sélectif, aisément disponible, peu réactif chimiquement et peu coûteux. La méthode est utilisée maintenant pour préparer des extraits d'épices (gingembre, paprika, céleri), des arômes (thé noir, bois de chêne fumé) et des essences végétales pures (débarassées des terpènes, dépourvues d'intérêts olfactifs et oxydables, ou privées de certains constituants) (Bruneton, 1999).

II.7.5. L'extraction par enfleurage

Cette méthode d'extraction est utilisée dans le traitement des parties fragiles de plantes telles que les fleurs, qui sont très sensibles à l'action de la température. Elle met à profit la lyposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras. Le principe consiste à mettre les fleurs en contact d'un corps gras pour le saturer en essence végétale. Le produit obtenu est une pomade florale qui est ensuite épuisée par un solvant qu'on élimine sous pression réduite. Dans cette technique, on peut distinguer l'enfleurage où la saturation se fait par diffusion à la température ambiante des arômes vers les corps gras et la digestion qui se pratique à chaud, par immersion des organes végétaux dans le corps gras (Cordero et al., 2007).

II.7.6. Extraction assistée par micro-ondes

Extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatiles sont entraînés par la vapeur d'eau formé à partir de l'eau propre de la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques condensation, refroidissement, et décantation. Des études en démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tel que le gain de temps d'extraction, l'utilisation de petites quantités de solvant, et un rendement d'extraction élevé (Hemwimon et al., 2007)

II. 8. Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique de l'huile essentielle. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont

autant de facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques. Chez *Mentha piperita* par exemple, les nuits froides favorisent la formation de menthol alors que les nuits tempérées favorisent celle du menthofuranne (Bruneton, 1999). Les études portant sur la variation de la composition chimique des huiles en fonction du cycle circadien et des saisons sont nombreuses (Assad et al., 1997; Lopes et al., 1997). L'heure de la récolte du matériel végétal ainsi que le moment dans l'année sont en effet des facteurs importants. À titre d'exemple, il a été démontré que, la composition de l'huile essentielle de feuilles d'*Ocimum gratissimum*, varie considérablement en fonction de l'heure de la récolte (Vasconcelos et al., 1999).

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient également en fonction de la méthode d'extraction (khajeh et al., 2004 et 2005 ; Viljoen et al., 2006 ; Sefidkon et al., 2007). La durée de séchage affecte aussi bien le rendement que la composition (Yayi et al., 2004). Outre la composition, ces facteurs peuvent également avoir un impact sur la teneur en huile essentielle. Les *Citrus* par exemple ont une teneur plus importante en huile essentielle lorsque la température est élevée (Bruneton, 1999). Les fleurs de *Chrysanthemum coronarium* sont plus riches en huile essentielle sous l'effet de fertilisants (Alvarez-Castellanos et al., 2003).

II.9. Les domaines d'application

La composition chimique des huiles essentielles confère à ces extraits aussi bien des propriétés odorantes et aromatiques qu'antimicrobiennes. Ces caractéristiques offrent des débouchés importants dans de nombreux domaines industriels, que ce soit dans l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture.

II.9.1. Agro-alimentaire

L'ensemble des secteurs de l'agro-alimentaire sont consommateurs d'huiles essentielles: alcools, boissons non alcoolisées, confiserie, produits laitiers, produits carnés, sauces, soupes, snacks, produits de boulangerie mais également la nutrition animale (Bruneton, 1999). Les huiles essentielles ou leurs isolats sont employés aussi bien pour leurs propriétés antibactériennes qu'aromatisantes. Les premières permettent aux huiles essentielles de jouer le rôle de conservateurs alimentaires (Burt 2004; Tiwari et al., 2009). Cette application, déjà bien développée se renforce ces dernières années grâce à des décisions de sécurité importante ; par exemple la recommandation portant sur la réduction du sel dans les aliments pour limiter les problèmes cardio-vasculaires est préconisée par la World Health Organisation (WHO) en 2002. Ceci engage les industriels à trouver des additifs de substitution permettant d'assurer la sécurité alimentaire (Burt, 2004). De plus, la

tendance actuelle à consommer du « naturel » ainsi qu'un développement du goût de l'exotisme de la part de la population poussent les industriels à utiliser de plus en plus les huiles essentielles en temps qu'additifs aromatisants. Ce retour au naturel est lié à une prise de conscience générale tournée vers la protection de l'environnement avec, entre autres, la réduction de la consommation en produits phytosanitaires de synthèse et le développement de l'agriculture biologique. Dans ce contexte, les huiles essentielles constituent, une fois de plus, une voie d'intérêt et de recherche.

II.9.2. Parfums et Cosmétiques

Dans le domaine des parfums et cosmétiques, les huiles essentielles sont employées en tant qu'agents conservateurs grâce à leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'augmenter la durée de conservation du produit. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes qu'elles sont utilisées, notamment dans la formulation de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers (Aburjai and Natsheh, 2003). Pour constater l'ampleur de leur utilisation dans ce marché, il suffit d'étudier, chez soi, la composition des produits de consommation courante tels que les shampoings, savons, eaux de toilette, liquides vaisselle ou nettoyeurs de surface. A noter que le terme « huile essentielle » n'est pas employé; le Code de la santé publique (article R.5131-4 8°) impose, en effet, les mots « aroma » ou « parfum » (« fragrance » en anglais) qui englobent l'ensemble des compositions aromatiques ou parfumantes et leurs matières premières (AFSSAPS 2008). En plus des huiles essentielles, il peut s'agir de concrètes, d'absolues, mais également d'un ou plusieurs constituants extraits d'une huile essentielle, comme le limonène. Toutefois, dans le cas où la substance utilisée fait partie de la liste des 26 molécules identifiées comme étant susceptible d'entraîner des réactions allergiques telles que le citral, le géraniol ou linalool, sa dénomination (chimique, n°CAS, IUPAC) doit être inscrite parmi la liste des ingrédients.

II.9.3. En pharmacie

Les drogues à huiles essentielles sont utilisées en nature, en particulier pour la préparation d'infusion (menthe, mélisse, verveine, fleurs d'oranger... etc) et sous la forme de préparations galéniques simples et même pour l'aromatization des formes médicamenteuses destinées à la voie orale (Bruneton, 1999).

II.9.4. Domaine médical

L'emploi des huiles essentielles en thérapeutique est lié à leurs propriétés pharmacodynamiques diverses et souvent marquées. Parmi les plantes à huiles essentielles, on trouve les antiseptiques surtout employés dans les maladies des voies respiratoires ou urinaires, certaines sont eupeptiques et carminatives (régularisent la digestion), d'autres agissent comme stimulants du système nerveux central, pouvant provoquer des convulsions à hautes doses. Leurs actions antispasmodiques, cholérétiques, stomachiques et vermifuges ne sont pas non plus, à négliger. Les huiles essentielles renferment des substances antivirales (Herman, 1993). Les huiles essentielles de thym et de romarin ont été utilisées pour soulager la fatigue, les maux de tête, les douleurs musculaires et quelques problèmes respiratoires.

Elles ont aussi des propriétés antifongiques dues au menthol, au néomenthol, à la menthone et à l'acétate de menthyle. L'activité antifongique a été mise en évidence *sur Aspergillus flavus*, *Aspergillus sulphurens*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor fragilis*. L'activité antibactérienne a également été testée par Tassou et *al* en 1995 et par Bassole en 2003. Les huiles essentielles ont également des activités antioxydantes signalées par Özer et collaborateurs en 2007.

II.10. Les principales propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés (Purchon, 2001; Willem, 2002):

II.10.1. Propriétés Anti-infectieuse

-a- Propriétés antibactérienne

Les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de clou de girofle, d'origan ou de thym.

-b- Propriétés antivirale

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Hô, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan.

-c- Propriétés antifongique

Les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les huiles essentielles de cannelle, de clou de girofle ou de niaouli sont des antifongiques.

-d- Propriétés antiparasitaire

Les molécules aromatiques possédant des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le thym à linalol, la sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires.

-e- Propriétés antiseptique

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles possédant des fonctions aldéhydes ou des terpènes comme l'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*.

-f- Propriété insecticide

Certaines huiles essentielles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes comme le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle.

II.10.2. Propriétés anti-inflammatoires

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'huile essentielle de Gingembre.

II.10.2.1. Propriétés digestives

Les huiles essentielles de cumin (avec la molécule de cuminal), d'anis étoilé ou par exemple d' Estragon ont une action digestive et apéritive. Elles permettent la stimulation de la sécrétion des sucs digestifs. L'huile essentielle de menthe poivrée atténue les nausées.

II.10.3. Régulatrices du système nerveux**-a- Calmantes, anxiolytiques:**

Les aldéhydes type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de Verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil.

-b- Analgésiques, antalgiques:

Les huiles essentielles les plus connues pour leur action antalgiques sont les huiles essentielles d'Eucalyptus citronné, de Gingembre, de Lavande vraie.

II.10.4. Cicatrisantes.

Les huiles essentielles cicatrisantes sont les huiles essentielles de Ciste (*Cistus ladaniferus*), de Lavande vraie (*Lavandula vera*), d'Immortelle (*Helichrysum italicum*), de Myrrhe (*Commiphora*

myrrha). On utilise souvent un mélange de plusieurs huiles essentielles cicatrisantes avec une huile végétale comme l'huile d'amande douce.

II.11. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire aux industriels pour en contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation. En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur concerné, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante qui, malgré les développements constants des méthodes de séparation et d'identification, demeure une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques (Joulain, 1994).

II.11.1. Analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

II.11.1.2. Principe de la chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est la technique la mieux adaptée à l'analyse des huiles essentielles. C'est une méthode basée sur la séparation de composés à l'état gazeux suivant leur coefficient de partage entre une phase stationnaire liquide imprégnée sur un support solide inerte (colonne de chromatographie) et parcouru par une phase mobile gazeuse (le gaz vecteur) (Browning, 1971).

Le mélange de constituants est introduit en tête de colonne où il est vaporisé au niveau de l'injecteur; les différents constituants sont élués à travers la colonne à une vitesse qui dépend de la vitesse linéaire du gaz vecteur, de leur solubilité dans la phase stationnaire et de leur volatilité (Nguyen et *al.*, 1993). Les substances séparées, toujours sous forme gazeuse, quittent la colonne et traversent l'une après l'autre un détecteur qui signale la proportion de chaque substance sur un enregistreur intégrateur. L'enregistreur signale une succession de pics, caractérisés chacun par un temps de rétention et une aire. Le pouvoir de séparation dépendra de la longueur de la colonne, les séparations les meilleures étant obtenues avec des colonnes "capillaires" (de très faible diamètre, ~ 1 millimètre et de longueur pouvant aller jusqu'à 100 mètres).

La CPG permet à la fois une analyse qualitative et quantitative. L'inconvénient majeur de cette méthode provient de la nécessité de vaporiser les produits, ce qui peut entraîner des modifications structurales.

II.11.2. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GPC/SM)

Le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence dans le secteur particulier des huiles essentielles. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (De Maack et Sablier, 1994).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques, dans des conditions opératoires comparables (Desjobert et *al.*, 1997; Bruneton, 1999).

II.11.3. Chromatographie liquide à haute performance

La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) est largement utilisée comme technique analytique et préparative. Comme son nom l'indique, la phase mobile est liquide et non gazeuse.

Dans CLHP, l'échantillon doit être totalement soluble dans la phase mobile (solvant d'éluion). Celui-ci doit être poussé à haute pression (d'où la dénomination alternative de chromatographie liquide haute pression) afin d'assurer un débit constant dans la colonne et éviter toute perte de charge. La CLHP fait intervenir des mécanismes d'échange soluté/phase mobile/phase stationnaire, basés sur les coefficients de partage ou d'adsorption selon la nature des phases en présence. C'est une très bonne méthode pour étudier les constituants non volatils des concrètes et des absolues ou pour opérer des préfractionnements. On peut la coupler également à un analyseur de masse (Bruneton, 1999).

La CLHP n'est quasiment pas utilisée pour le dosage des HE sauf pour certains constituants qui ont un spectre UV caractéristique. Si des longues chaînes sont présentes il est nécessaire d'effectuer une séparation préalable pour éviter les problèmes de détection.

II.12. Activité antimicrobienne

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions

bénéfiques (ex: bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme (Khiati, 1998).

II.12.1. Mécanismes de l'action antimicrobienne des huiles essentielles

Les mécanismes par lesquels les huiles essentielles exercent leur activité antibactérienne sont peu connus, mais il y a un certain nombre de mécanismes proposés (Holley et Patel, 2005). L'action des huiles essentielles sur le développement des micro-organismes peut être expliquée par l'altération de la perméabilité membranaire des germes en perturbant les systèmes de transport ionique, le transport des électrons et la production d'énergie (Sikkema *et al.*, 1995; Chami, 2005; Oussalah *et al.*, 2006; Souza *et al.*, 2006).

L'effet des terpènes sur la membrane bactérienne est attribué à leurs propriétés lipophiles, à la force de leurs groupes fonctionnelles et à leur solubilité dans l'eau. Leur site d'action paraît sur la bicouche lipidique de la membrane cytoplasmique cellulaire. Cette altération de la membrane perturbe la régulation osmotique. L' α -pinène, le β -pinène et le limonène inhibent l'activité respiratoire chez le mitochondrie de la levure (Tepe *et al.*, 2005).

Sous l'action des monoterpènes testés par Pina-Vaz *et al.* (2004), les cellules ont montré une perte rapide de potassium, une lyse des sphéroplastes des levures avec une altération sévère de la membrane cellulaire et une solubilisation de la membrane observée par le microscope électronique. Un tel effet est en accord avec la nature biochimique des terpènes testés qui, probablement, agissent comme des solvants de la membrane cellulaire. L'effet du clérocidine (un diterpène à effet antibactérien) est testé sur la topoisomérase; il coupe l'ADN au niveau des guanines précédents le site de clivage de l'ADN, ce qui entraîne la distorsion de la double hélice de l'acide nucléique (Slamenova *et al.*, 2004).

Les alcools sont réputés de posséder une activité bactéricide plus prononcée que celle bactériostatique sur les cellules végétatives. Les terpènes-alcools peuvent agir sur la dénaturation des protéines, comme un agent solvant ou comme des agents déshydratants.

Lambert *et al.* (2001) in Burt et Reinders (2003), confirment que le carvacrol et le thymol, qui sont les constituants majeurs de l'huile essentielle d'origan, rendent la membrane cellulaire bactérienne perméable.

Les aldéhydes, notamment le formaldéhyde et le glutaraldéhyde, ont une forte activité sur les bactéries. Les aldéhydes conjugués à une double liaison carbonique forment un arrangement électronégatif très fort, ce qui peut expliquer leur activité. De tels composants électronégatifs interfèrent dans les processus biologiques impliquant le transfert des électrons et réagissent avec les

composants nitrogenés tels que les protéines et les acides nucléiques donc l'inhibition de la croissance bactérienne (Dorman et Deans, 2000; Holley et Patel, 2005).

Smith-Palmer *et al.* (2001) ont montré que les bactéries à Gram (+) sont plus sensibles à l'effet des huiles essentielles que les bactéries à Gram (-) qui se caractérisent par une membrane externe imperméable. Selon Cristiani *et al.* (2007), cette imperméabilité est due à la richesse de cette membrane en lipo-polysaccharides la rendant plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

D'autres études ont été effectuées sur la relation entre la présence de citral (mélange des isomères néral et géranial) dans le zeste des fruits des agrumes et l'inhibition de *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Geotrichum candidum* qui sont les principales moisissures responsables de la contamination des *Citrus* (Wuryatmo *et al.*, 2003). Cette inhibition est due à la présence d'un groupement carbonyle adjacent aux carbones α et β dans les aldéhydes insaturés α et β ; néral et géranial ; ceci polarise positivement le carbone β et l'aldéhyde peut agir en tant qu'agent d'alkylation direct capable de lier les groupes nucléophiles cellulaires (Cosentino *et al.*, 1999).

Kim *et al.* (1995) in Hulin *et al.* (1998) rapportent que les huiles essentielles semblent posséder plusieurs modes d'action sur les différents microorganismes. Ces modes d'action sont (Fig.09):

*interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité et la perte des constituants cellulaires.

*altération des différents systèmes enzymatiques dont ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

*destruction ou inactivation du matériel génétique.

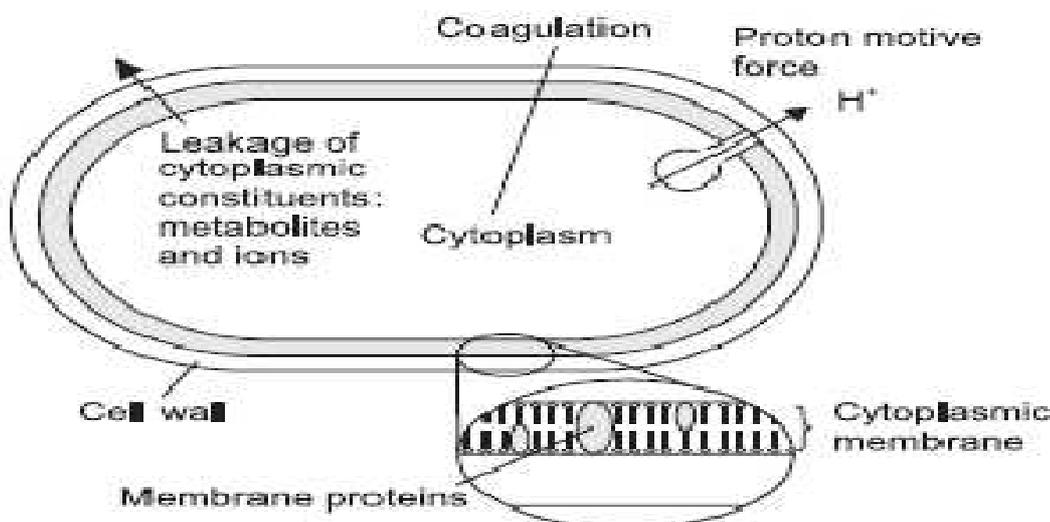


Figure 09: Sites d'action antibactérienne des huiles essentielles (Burt, 2004).

II.12.2. Techniques d'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles

II.12.2.1. Technique par contact direct

Les techniques par contact direct consistent à mettre en contact l'huile essentielle et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé (milieu solide) ou dans un bouillon (milieu liquide).

II.12.2.1.1. Méthode des disques

C'est une méthode ancienne mais toujours d'actualité. Elle permet l'estimation qualitative de l'effet de l'huile. La méthode consiste à déposer des disques de papier buvard, imprégnés d'une quantité définie de l'huile essentielle, ou de puits creusés dans la gélose et remplis de l'huile sur une gélose ensemencée d'une souche bien précise. Après une incubation à 37°C pendant 24 h, on mesure les diamètres des halos d'inhibition (Belaiche, 1979). Cette méthode sert en général à la présélection de l'activité antimicrobienne des HE car:

-Le diamètre d'inhibition n'est pas une mesure directe de l'activité antimicrobienne des HE, les différents constituants ne diffusent pas tous de la même manière dans le milieu gélosé.

-Le diamètre d'inhibition varie en fonction de la densité de l'inoculum et de l'épaisseur du milieu de culture. Il est donc nécessaire de standardiser ces conditions pour pouvoir comparer les résultats, ce qui n'est pas toujours le cas dans les différentes études réalisées sur le sujet (Hulin *et al.*, 1998).

II.12.2.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est enregistrée comme la plus petite dilution dans laquelle aucune croissance macroscopique n'est observée (Kuetze *et al.*, 2004).

1- CMI en milieu liquide

On repartit dans une série de tubes à hémolyse un volume constant de bouillon nutritif, qu'on ensemence avec un inoculum fixe de bactéries, puis on ajoute à ces tubes des quantités croissantes d'huile à étudier. Un tube témoin est laissé sans antibiotique. Après une 18 à 24 h d'incubation à 37°C, les tubes sont soigneusement examinés. Le tube témoin sans huile est uniformément trouble. Le premier tube de la série demeuré limpide indique précisément la CMI (Basole *et al.*, 2003).

II.12.2.2. Méthode de microatmosphère

Le disque imprégné de l'huile à étudier est déposé au centre géométrique du couvercle de la boîte de Pétri, et n'entre pas en contact avec la gélose. La boîte est fermée, couvercle en bas et placée dans une étuve à 37°C, au bout d'un certain temps de latence, les colonies microbiennes situées sur l'air d'évaporation de l'huile ont disparu. Si on prolonge l'expérience, on constate que toutes les colonies subissent le pouvoir bactéricide de l'huile qui a alors diffusé à toute la surface de la gélose (Belaiche, 1979). Chaque essai est répété en double. Après l'incubation, la croissance est comparée à celle du témoin. La quantité minimale inhibitrice est définie comme la plus petite quantité pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin sans produit (De Billerbeck et *al.*, 2002).

Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne réelle des HE. Elle montre seulement l'activité des constituants volatils à la température d'incubation (Hulin et *al.*, 1998).

II.13. Activité antioxydante des huiles essentielles

II.13.1. Les radicaux libres

Un radical libre est une molécule ou un atome ayant un ou plusieurs électrons non appariés, ce qui les rend extrêmement réactif (Vasant, 2004). L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé espèces réactives de l'oxygène (Favier, 2003).

L'appellation « dérivés réactifs de l'oxygène » n'est pas restrictive. Elle inclut les radicaux libres de l'oxygène proprement dit mais aussi certains dérivés oxygénés réactifs non radicalaires dont la toxicité est importante tel le peroxyde d'hydrogène H₂O₂.

II.13.2. Origine de production des ERO :

Les radicaux libres nocifs sont produits dans l'organisme au cours du métabolisme normal. Cette production augmente en rapport avec l'élévation de la consommation d'oxygène (Gauche et Hausswirth, 2006). Plusieurs mécanismes et systèmes responsables de la production de radicaux libres ont été identifiés jusqu'à présent, parmi eux nous citons :

- des fuites d'électrons au niveau de la chaîne respiratoire de la mitochondrie (Aurousseau, 2002);
- des processus inflammatoires produits par les cellules phagocytaires activées (Milan, 2004 ; Van Antwerpen, 2006);
- du système xanthine déshydrogénase/ oxydase activé lors d'ischémie-reperfusion (Li et *al.*, 2002 ; Valko et *al.*, 2004 ; Valko et *al.*, 2006);

- d'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV, la fumée de cigarette et le rayonnement (Tamer, 2003).

II.13.3. Les antioxydants

Les antioxydants sont des molécules ayant la capacité de neutraliser des radicaux libres qui sont responsables de nombreuses maladies. Les antioxydants sont des composés qui inhibent ou retardent le processus d'oxydation en bloquant l'initiation ou la propagation des chaînes de réactions oxydatives (Behera et *al.*, 2006).

Les antioxydants naturels ou synthétiques sont utilisés pour prévenir de nombreuses maladies (cardiovasculaires et neurodégénératives, inflammation, diabète...) et le vieillissement, dus à la formation exagérée des radicaux libres. Les antioxydants sont également utilisés dans les aliments pour retarder la détérioration, le rancissement ou la décoloration qui est souvent due à l'oxydation causée par la lumière, la chaleur et certains métaux (Méda et *al.*, 2005).

Chapitre III

Les polymères

III.1. Généralités sur les polymères

Un polymère (macromolécule), est constituée d'une chaîne de monomères. On distingue les **homopolymères** constitués de répétition d'une unique structure moléculaire (fig.10) et les **copolymères** constitués d'une répétition de plusieurs structures monomériques différentes ; (la plupart des polymères sont élaborés à partir d'un ou de deux types de monomères seulement).

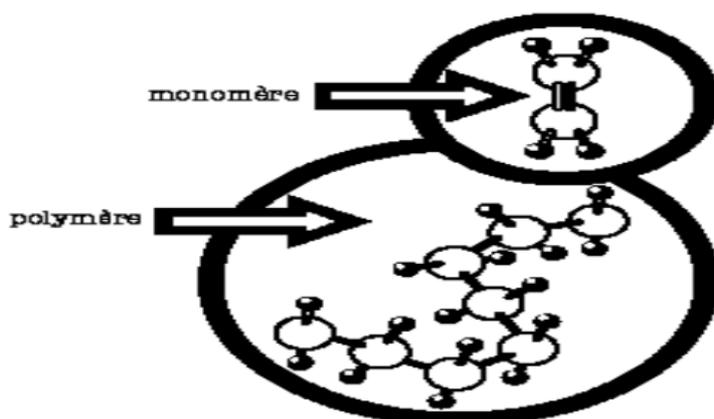
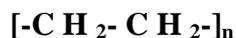


Figure 10: Structure d'un polymère

III.2. Polyéthylène (PE)

Le polyéthylène est un polymère thermoplastique de la famille de polyoléfines contenant uniquement des carbones hybridés de type sp^3 (Nicole, 2005). Sa molécule se présente sous forme de chaînes contenant 1000 à 2000 monomères. La formule chimique du polyéthylène est la suivante (Vonhippel, 1961):



Partiellement cristallin, le polyéthylène contient donc deux phases: la première amorphe dans laquelle les chaînes sont disposées de manière désordonnée et la deuxième cristalline dans laquelle les chaînes sont disposées de manière ordonnée formant ainsi des cristallites (Barlow, 1991; Boudou and Guastavino, 2002).

III.3. Structure multi-échelle du matériau

III.3.1. Phase amorphe et phase cristalline

La phase amorphe se caractérise par l'absence d'ordre moléculaire à grande distance. En effet, les chaînes ont une conformation de pelote statistique car elles sont désordonnées et enchevêtrées (fig. 11). Dès lors, à l'état solide, elles ont la même conformation qu'à l'état fondu. Les enchevêtrements jouent un rôle important dans le comportement viscoélastique de la phase amorphe. En effet, lorsque le temps de la déformation est faible devant le temps caractéristique du polymère (temps de relaxation), les enchevêtrements sont considérés comme les nœuds d'un réseau tridimensionnel, ce qui donne naissance à un comportement de type élastique. Au contraire, si le temps de la déformation est élevé devant le temps de reptation des chaînes, les enchevêtrements peuvent se déplacer et le matériau présente un comportement de type visqueux (Rault, 2002).

Si un certain nombre de conditions sont réunies (régularité structurale et refroidissement lent) (Wunderlich, 1973, 1976; Monasse, 1990), le refroidissement d'un polymère semi-cristallin à partir de l'état liquide provoque une cristallisation de ses chaînes macromoléculaires. Dès lors, elles s'arrangent parallèlement les unes par rapport aux autres et un processus de repliement multiple d'une même chaîne en segments de longueur voisine se produit pour former les lamelles cristallines (fig. 11). La structure la plus stable du PE correspond à une maille orthorhombique (dont les paramètres de maille mesurés par Bunn en 1939 sont $a = 0,740$ nm, $b = 0,493$ nm et $c = 0,253$ nm) contenant des chaînes en zigzag plan (fig. 11).

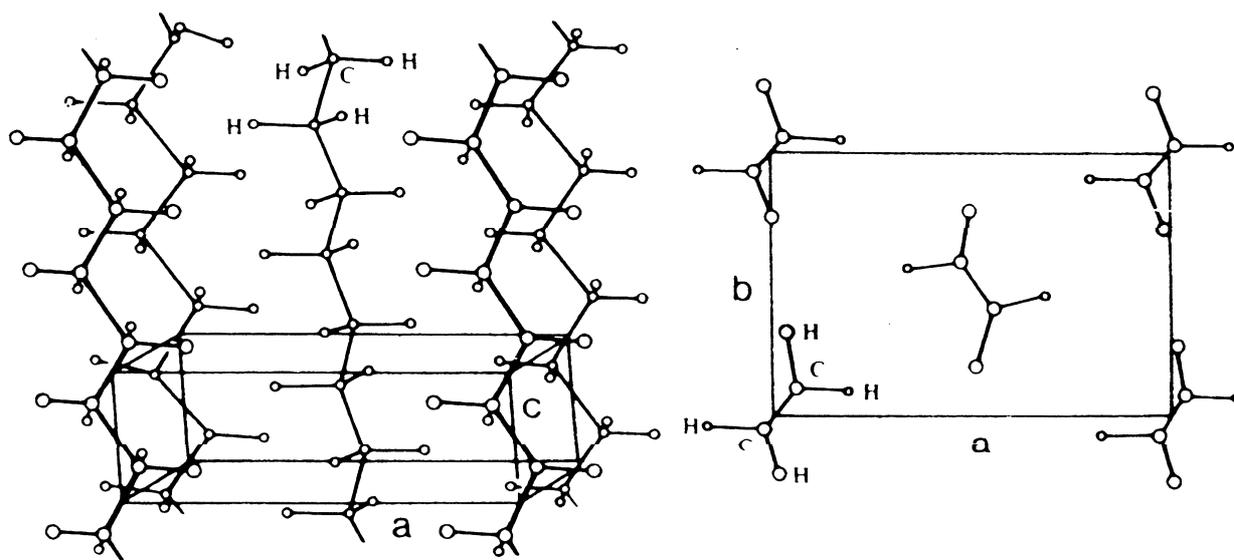


Figure 11: Structure cristalline du polyéthylène.

III.3.2. Morphologie semi-cristalline

La morphologie semi-cristalline du PE à haute densité se présente localement comme un ensemble de lamelles cristallines, séparées entre elles par une phase amorphe (fig.12).

Les deux phases sont liées entre elles par des segments de chaîne macromoléculaire appelés molécules de lien, car ces dernières peuvent participer à la formation de plusieurs lamelles cristallines en même temps (Monasse, 1990; Haudin, 1995; Nitta et Takayanagi 1999, 2000).

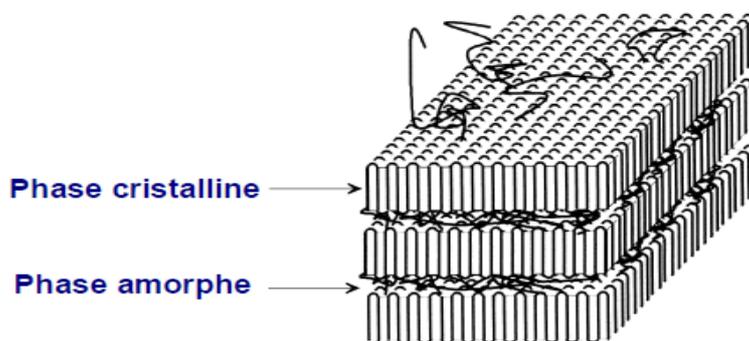


Figure 12: Structure d'un polymère semi-cristallin.

III.4. Différents types de polyéthylène

Les polyéthylènes sont classés en fonction de leur densité qui dépend du nombre et de la longueur des ramifications présentes sur les chaînes moléculaires il y a :

- Le polyéthylène basse densité (PE-BD) ou (en anglais, low-density polyethylene LDPE).
- Le polyéthylène basse densité linéaire (PE-BDL) ou (en anglais LLDPE, linear low density-polyethylene).
- Le polyéthylène haute densité (PE-HD) ou (en anglais, high-density Polyethylene HDPE).
- Le polyéthylène à masse molaire élevée (PE-UHPM) ou (en anglais, ultrahigh- molecular-weight polyethylene UHMWPE).
- Le polyéthylène réticulé (PE-R), ou (en anglais, cross-linked polyethylene PEX).
- Le polyéthylène réticulé à haute densité (PE-RHD) ou (en anglais high density cross-linked polyethylene HDXLPE).
- Le polyéthylène à moyenne densité (PE-MD) ou (en anglais MDPE, medium density polyethylene).
-

- Le polyéthylène à très basse densité PE-TBD, ou (en anglais VLDPE, very low density polyethylene).

III.5. Le Polyéthylène basse densité :

Polyéthylène basse densité a été découvert en 1933 par Fawcett et Gibson (Smedberg et *al.*, 2004). Ce matériau est constitué de chaînes macromoléculaires comprenant des ramifications latérales de longueurs variables (Fournie, 1990). La présence de ces ramifications dans la chaîne de polyéthylène influe sur les propriétés physiques (densité, flexibilité, viscosité,...), et favorise l'initiation de l'oxydation (Barlow, 1991).

La polymérisation du PEBD se fait à une pression comprise entre 1000 et 3000 atmosphères et à une température comprise entre 100°C et 300°C. Grâce à sa structure non polaire, le PEBD possède de bonnes propriétés diélectriques. Pour cela, il est utilisé comme un isolant dans la fabrication des câbles. La première tentative de son utilisation remonte à 1940 (Peschke and Von-Olshausen 1990)

III.5.1. Propriétés du PEBD

a. Propriétés physiques

Le PEBD est un polymère semi-cristallin, de densité située entre 0.91 et 0.92. Son taux de cristallinité est d'environ 43% à 50% et sa température de fusion cristalline est située entre 105°C et 115°C (Fournie 1990).

b. Propriétés chimiques

En général, le PEBD présente une bonne résistance chimique (Fuzessery, 1986), il est:

- Très résistant aux acides faibles.
- Résistant aux acides forts non oxydants.
- Très résistant aux bases fortes et faibles.
- Résistant aux solvants organiques au dessous de 80°C

c. Propriétés mécaniques

Le PEBD est un thermoplastique semi rigide très souple à faible épaisseur, ses propriétés mécaniques dépendent de la configuration des molécules et sont d'autant meilleures que le degré de polymérisation est plus élevé, ce polymère est très sensible à l'orientation comme tous les polyoléfines (Chretien, 1990). Nous pouvons citer selon Fusesserry (1996) entre autres:

- La résistance à la traction variant de 9 à 23 MPa.

- L'allongement à la rupture variant de 150% à 1000%.
- Le module d'élasticité en traction variant de 200 à 500MPa.

III.5.2. Domaines d'applications

Les propriétés spécifiques du PEBD lui ont offert des domaines d'application très vastes et très variés (Chretien, 1990) il peut être utilisé comme:

- Films pour emballage.
- Casier à bouteilles et caisses de manutention.
- Sacs à grande contenance.
- Films pour bâtiment.
- Objet domestiques: seaux, cuvettes, bassines, bacs...
- Jouets miniature, pèles et sceaux de plage.
- Attaches, fermetures, poignées pour cartons, sacs, cabas, poignées de guidon... etc.
- Pièces industrielles diverses: mécaniques, électriques...etc.
- Articles ménagers
- Recouvrement des cables «tuyau».
- Matériels d'hôpital: poches de perfusion, vases de nuit...

III.6. Agents compatibilisants

Les agents compatibilisants sont des molécules permettant d'augmenter l'affinité entre deux structures chimiques. Généralement, la faible affinité entre les deux structures peut être caractérisée par leur énergie de surface. L'angle de contact entre une certaine structure et un solvant, dont l'indice de polarité est connu, peut être un outil simple pour déterminer si deux structures sont compatibles. Plus spécifiquement, l'énergie de surface peut être discriminée selon sa nature: dispersive et polaire. La partie dispersive est liée aux moments dipolaires temporaires tandis que la partie polaire est la contribution des dipôles permanents causés par un déséquilibre d'électronégativité dans la structure moléculaire.

III.7. Compatibilisation d'un mélange de polymères

Les mélanges miscibles ne constituent qu'une minorité des cas rencontrés. Leur intérêt principal est qu'ils permettent d'étendre la fenêtre d'utilisation des homopolymères qui les composent. Les mélanges de polymères non miscibles sont beaucoup plus fréquents; ils se caractérisent par une structure multiphasique. Ces mélanges sont généralement incompatibles, du

fait de l'absence d'interactions favorables entre les chaînes de polymères constitutifs ce qui se traduit par des propriétés mécaniques très faibles (Nakason *et al.*, 2006).

Les méthodes d'amélioration de l'adhésion entre les phases, impliquent l'ajout d'un tiers-corps qui assure le contrôle et la stabilisation de la morphologie par réactions ou interactions entre fonctions ou sites actifs sur chacune des phases en présence.

III.7.1. Objectifs de la compatibilisation

Les trois effets principaux recherchés lors de la compatibilisation d'un mélange sont:

1. Diminution de la tension interfaciale pour faciliter la dispersion;
2. Stabilisation de la morphologie afin d'éviter l'évolution de celle-ci au cours d'étapes de transformation et de mise en œuvre du matériau ;
3. Augmentation de l'adhésion entre phases à l'état solide afin de favoriser notamment le transfert de contrainte entre les phases et donc améliorer les propriétés mécaniques du mélange.

En fonction de la méthode de compatibilisation choisie et du type de compatibilisant utilisé, chacun des trois objectifs précédents peut être plus ou moins bien atteint.

III.7.2. Les différentes méthodes de compatibilisation

Les deux stratégies les plus fréquemment utilisées dans la compatibilisation des mélanges de polymères non miscibles sont :

1. L'ajout d'un copolymère préformé, de nature et de structure adaptée, susceptible d'interagir avec chacune des phases;
2. La formation in-situ d'un copolymère par réaction chimique à l'interface entre les phases au cours de la préparation du mélange.

III.8. Copolymère d'Éthylène/Acétate de Vinyle (EVA)

L'EVA est le copolymère de l'éthylène et de l'acétate de vinyle (Fig.13), la quantité d'éthylène variant entre 60 et 90%. Pour les applications alimentaires, la quantité d'acétate de vinyle varie de 5 à 20%. L'acétate de vinyle est une molécule polaire et l'inclusion de ces monomères polaires dans la chaîne principale d'éthylène abaisse la cristallinité, améliore la flexibilité et résulte en de meilleures propriétés barrière à l'eau du film. Lorsque la teneur en acétate de vinyle augmente, la cristallinité du film diminue mais sa densité augmente (Selke *et al.*, 2004). Il s'agit d'un polymère souple, flexible, clair et brillant. Il présente de bonnes propriétés jouant le rôle

de barrière car il est résistant à de nombreux solvants organiques, il est également résistant aux basses températures, ainsi qu'au « stress, cracking » (capacité d'un matériau à se fissurer suite à diverses contraintes mécaniques ou physiques), et aux radiations UV. Grâce à son excellente capacité d'adhésion et à sa facilité de mise en œuvre, l'EVA est souvent utilisé au cours du procédé d'extrusion couchage et comme couche co-extrudée thermoscellable. Comme l'EVA possède une température de fusion basse, il doit être façonné à des températures relativement basses (150,205°C) et est principalement utilisé dans les emballages tels que les sacs de glaçons et les films d'emballage étirables pour la viande.

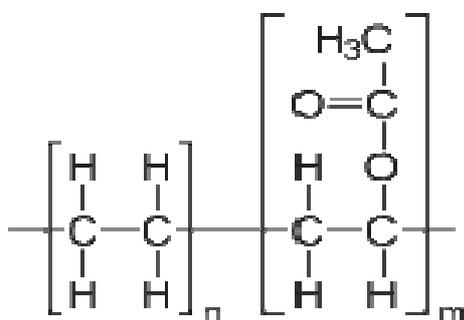


Figure 13: Ethylène/Acétate de Vinyle.

III.9. Synthèse bibliographique sur l'incorporation des huiles essentielles et des extraits des plantes dans les polymères

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits de plantes est connue depuis longtemps et de nombreux résultats de recherche ont été publiés sur l'activité des huiles essentielles des plantes contre les pathogènes d'origine alimentaire. Étant donné que les huiles essentielles sont riches en composés phénoliques et en molécules volatiles, elles possèdent un grand potentiel à inhiber un large spectre de micro-organismes. En général, les composants actifs des huiles essentielles de plantes inhibent les micro-organismes par un mécanisme induisant une perturbation de la membrane cytoplasmique et par conséquent un déséquilibre dans la force motrice protonique, le flux d'électrons, le transport actif et l'inhibition de la synthèse des protéines. Des exemples d'extraits de plantes et des huiles essentielles qui sont le plus largement incorporées dans l'emballage alimentaire sont le linalol, le thymol, le carvacrol, l'huile de clou de girofle, le cinnamaldéhyde et l'huile essentielle de basilic.

Ha et al. (2001) ont rapporté que le polyéthylène basse densité (PEBD) extrudé avec 0.5% et 1% d'extrait de pépin de raisin a prolongé le temps du stockage de la viande de bœuf de 9 à 14 jours à une température de 3°C. Cet extrait peut efficacement inhiber la croissance des bactéries pathogènes telles que *Listeria monocytogenes*. En outre, son activité antimicrobienne lorsqu'il est incorporé avec le film de protéine de soja comestible a montré un résultat positif avec la population de *Listeria monocytogenes* par la réduction de 1 log UFC/ml après 1 h d'incubation à 25°C. Cependant, *E. coli* et *S. Typhimurium* ont montré seulement une réduction entre 0,1 et 0,2 log (UFC/ml) respectivement (Sivarooban et al., 2008).

Muriel-Galet et al. (2012) ont étudié le polypropylène (PP) dont on a incorporé l'huile essentielle d'origan et de citral. En le comparant avec l'échantillon témoin (film de PP sans agent AM), il a été établi que l'huile essentielle d'origan a réduit le nombre d' *E. coli*, *Salmonella enterica* et *L. monocytogenes* entériques trouvés dans la salade par 1,4 log, 0,5 log et 0.36 log UFC/ml respectivement, après stockage sous température de 4°C. Par ailleurs, 5% d'huile de citral incorporée dans un film de PP était en mesure de réduire le nombre de *E. coli* et *Salmonella enterica* de 0,36 et de 0,41 log UFC / g, respectivement. Cependant, l'efficacité de l'huile essentielle de citral est moindre par rapport à celle de l'origan. Il a été rapporté que les huiles essentielles de Carvacrol et de citral sont plus efficaces contre les bactéries gram (-) en raison de leur forte affinité. En particulier, le carvacrol peut affecter les lipides de la paroi cellulaire des bactéries gram (-). Cependant, ceci n'était pas en accord avec certains chercheurs qui prétendaient qu'il n'y avait pas de différence entre l'efficacité antimicrobienne sur les bactéries gram (+) et gram (-) (Ouattara et al. 1997).

D'autres huiles essentielles incorporées dans les films ont été largement étudiées à savoir : l'isothiocyanate d'allyle (Nadarajah et al., 2005), le romarin (Han et al., 2007), l'huile d'ail (Gamage et al., 2009; Pranoto et al., 2005) et de cinnamaldéhyde (Han et al., 2007). Nadarajah et al. (2005) ont rapporté que l'huile d'isothiocyanate d'allyle a été efficace contre *E. coli* sur les galettes de viande hachée avec une réduction de 3 log UFC / g dans les 10 jours de stockage. Le film contenant l'huile d'ail présente une efficacité remarquable lorsqu'une forte concentration de l'huile d'ail a été utilisée. Gamage et al. (2009) ont trouvé que le film en matière plastique avec 1,2% en poids / poids d'huile d'ail a inhibé la croissance de microbes sur la germination, alors qu'aucune activité anti microbienne n'est observée lorsque des quantités de 0.6, 0.8 et 1.0% en poids / poids d'huile d'ail ont été incorporées. Cependant, l'huile d'ail a été signalée pour réduire efficacement le nombre de bactéries gram (-) et gram (+) lorsqu'elle est utilisée en petite quantité dans les films comestibles, où

0,2% poids / poids d'huile d'ail a été incorporé dans des films d'alginate inhibant ainsi la croissance de *S. aureus* et *B. cereus* (Pranoto et al., 2005).

Les huiles essentielles ont également été incorporées dans des films à base de protéines pour évaluer leur performance AM. Seydim et Sarikus (2006) ont préparé des films à base d'isolat de protéine de lactosérum contenant de 1 à 4.0 % (poids/volume) de romarin, d'origan et d'huile essentielle d'ail pour tester l'efficacité des agents antimicrobiens contre *S. aureus* (ATCC 43300), *E. coli* O157: H7 (ATCC 35218), *L. monocytogenes* (NCTC 2167), *Lactobacillus plantarum* (DSM 20174) et *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076). Les chercheurs ont découvert que lorsque la concentration de l'huile essentielle d'ail dans ces films a été augmentée à 3% (poids/v), une inhibition significative a été observée contre toutes les souches testées. Les huiles d'ail et d'origan ajoutées aux films présentaient des zones d'inhibition plus grandes sur *S. aureus*, *S. enteritidis*, *L. monocytogenes*, *E. coli* et *L. plantarum* par rapport aux films contenant des huiles essentielles de Romarin. En outre, l'addition de 1,5% (poids / poids) d'huile d'origan prolonge la durée de conservation de la viande par un facteur de 2, tout en minimisant les changements dans la couleur de la viande bovine.

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

Chapitre IV
Matériel et méthodes

IV.1. Matériel

IV.1.1. Matériel végétal

Les parties aériennes de *Daucus aureus* sont récoltées de trois régions différentes, de Sétif, d'Oum El Bouaghi et de Constantine en juin 2011 (fig. 14), pendant la période de floraison puis elles sont débarrassées des impuretés, ensuite séchées à l'ombre à une température ambiante. Enfin, elles sont coupées en parties très fines.

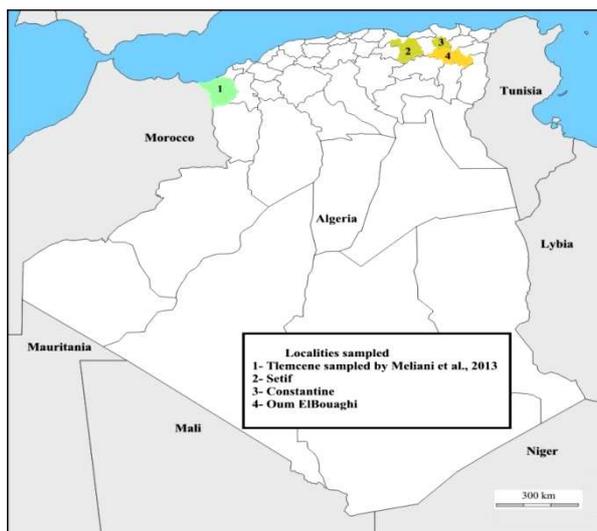


Figure 14: Carte géographique des zones de cueillette des populations de *D. aureus* étudiée.

Reutera lutea est recueillie de la montagne de Gouraia (Bejaia) en juin 2011 à une altitude de 609 m (36°46'14.02'' N ; 5°04'57.16'' E); puis elle est traitée de la même manière que les précédentes plantes.

IV.1.2. Les souches microbiennes utilisées

IV.1.2.1. Les bactéries

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC), gracieusement fournies par le laboratoire de microbiologie du centre hospitalo Universitaires (CHU) de Sétif puis conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant de la gélose inclinée.

Les bactéries à Gram –

Escherichia coli ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Les bactéries à Gram +

Staphylococcus aureus ATCC 25923, SARM (*S. aureus* métycilline résistant) ATCC 43300, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Listeria innocua* (CLIP 74915).

IV.1.2.2. Les champignons

La levure *Candida albicans* ATCC est obtenue du laboratoire de microbiologie appliquée Université Ferhat Abbas Sétif 1.

IV.1.3. Les milieux de cultures

La culture des bactéries a nécessité l'utilisation du milieu de culture Mueller Hinton agar (MH) qui a pour provenance (Fluka) ainsi que les milieux de culture, la gélose nutritive et le bouillon nutritif qui proviennent de l'institut Pasteur d'Alger. Pour la culture des levures, le milieu utilisé est celui de Sabouraud additionné de chloramphénicol. La composition chimique de ces milieux de culture se trouve en annexe.

IV.1.4. Les antibiotiques

Les disques d'antibiotiques utilisés comme des témoins positifs pour toutes les bactéries sont: le ciprofloxacine (CIP), la benzilpencilline (P), le furane (FT), la ticarciline (Tic), la gentamicine (GM), l'oxaciline (OX), la vancomycine (VA), la pipéracilline (PIP), l'imipénème (IPM), l'amiKacin (AN), l'amoxicilline+ clavulanic acid (AMC), la nalidixic acid (NA), le kanamycine (K), le ceftriaxone (CRO). Tous les antibiotiques proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger et la charge de chaque disque est mentionnée dans l'annexe.

IV.1.5. Les antifongiques

Les disques d'antifongiques utilisés pour l'antifongogramme est la nystatine (NY) qui provient du fabricant Bio-Rad (voir annexe).

IV.1.6. Matériel du test de l'activité antioxydante (test DPPH)

Le test *in vitro* de l'activité antioxydante de nos huiles essentielles a nécessité comme matériel, un spectrophotomètre UV-visible, qui permet en mesurant, à une longueur d'onde précise (la longueur d'onde d'absorption maximale de la molécule ou du complexe qu'elle forme avec un réactif, λ_{\max}), l'intensité de cette absorption (densité optique, DO) par rapport à un témoin de concentration connue, de déterminer la quantité de la molécule présente dans un échantillon, un

radical libre qui est le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), un antioxydant standard qui est le butyl-hydroxy toluène (BHT) et un solvant comme le méthanol. Le BHT et le DPPH ont pour provenance Sigma Aldrich USA.

IV.2. Méthodes expérimentales

IV.2.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation en se servant du dispositif d'extraction type Clevenger (fig.15).

Le matériel végétal est coupé en parties très fines (2-5mm). Ces dernières sont introduites avec de l'eau distillée dans un ballon de cinq litres puis le tout est porté à ébullition pendant 4 heures. Les vapeurs chargées d'huile; en traversant un réfrigérant se condensent en gouttelettes. En raison de la différence de densité, l'huile surnage à la surface de l'eau distillée. L'HE obtenue est récupérée puis séchée par un déshydratant, le sulfate de sodium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenu dans l'huile. L'huile essentielle obtenue est conservée dans des flacons opaques bien scellés à l'abri de la lumière et à une température de 4 à 6 C°.



Figure 15 : Appareil de distillation type Clevenger.

IV.2.2. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la plante sec à traiter (Afnor, 1986). Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante

$$R = P_B / P_A \times 100$$

Ou R : Rendement de l'huile essentielle en %, P_B : Poids de l'huile en g; P_A : Poids de la plante sec en g

IV.2.3. Analyse des huiles essentielles

Les analyses de la composition chimique des huiles essentielles de *D. aureus* des trois régions ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse (CPG/FID) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/MS) à colonne apolaire. Les analyses ont été effectuées à l'aide d'un gaz chromatographe Varian (modèle CP-3800) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) couplé à un détecteur sélectif de masse Varian saturn 2000 qui fonctionne en mode impact d'électron (EI) à 70 eV.

Le gaz chromatographe est équipé d'une colonne capillaire de DB-5 (de 30 m de longueur par 0.25 mm de diamètre et d'une épaisseur de 0.25 μ m): Le gaz vecteur est l'hélium avec un flux de 1ml/min (la pression pour les deux colonnes est de 25 psi); la température du four a été programmée de 60 à 240°C/min et maintenue fixée pendant 40min. La température de l'injecteur (mode split, ratio 1/30) est de 220°C. La température du détecteur à ionisation de flamme (FID) a été fixée à 250°C et dans l'analyseur GC/MS, la température de ligne de transfert est de 240°C. Les constituants des huiles essentielles sont identifiés par comparaison de leurs spectres de masse et leurs indices de rétention (RI) avec ceux des substances pures enregistrées dans la littérature ou avec ceux de la base de données élaborée par le laboratoire à partir de substances authentiques (Davies, 1990; Stenhagen et al. 1974).

La séparation et l'identification des constituants de l'huile de *R. lutea* de Bejaia a été effectuée à l'aide d'un gaz chromatographe (Shimadzu GCMS-QP2010). Masse quadripolaire Agilent (modèle 5973 Network) qui fonctionne en mode impact d'électron à 70 eV. Le gaz chromatographe est équipé d'une colonne capillaire de Teknokroma (5MS, de 30 m de longueur par 0.25 mm de diamètre et d'une épaisseur de 0.25 μ m): le vecteur est l'hélium avec un flux de 1.03 ml/min; la température du four a été programmée de 60 à 280°C/min et maintenue fixée pendant

5min. Les constituants des huiles essentielles sont identifiées par comparaison de leurs spectres de masse et leurs indices de rétention (RI) avec ceux des substances pures enregistrées dans la littérature (Adams et al, 2001 ; Lawrence, 1988) ou avec ceux de la base de données élaborée par le laboratoire à partir de substances authentiques. Les bases de données WILEY, NIST 147 et FFNSC sont utilisées pour l'identification des composés.

IV.2.4. Techniques numériques d'analyse des données

IV.2.4. 1. Analyse en Composantes Principales (A.C.P.)

L'analyse en composantes principales (ACP) est une méthode statistique d'analyse des données (initialement de statistique descriptive) qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre les variables aléatoires. Donc le but est de comprendre et de visualiser comment les effets de phénomènes à priori isolés se combinent ?. Lorsqu'on veut compresser un ensemble de N variables aléatoires, les n premiers axes de l'ACP est un meilleur choix, du point de vue de l'inertie expliquée. Si on décide de ne retenir que les deux premiers axes de l'ACP, on pourra alors projeter notre nuage sur un plan, et le visualiser. Même si l'ACP est majoritairement utilisée pour visualiser des données, il ne faut pas oublier que c'est aussi un moyen de décorrélérer les données, les axes qui ne sont pas utilisés c'est de l'information perdue c'est une classification des données en amas (clusters) corrélées.

IV.2.4. 2. Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA)

L'UPGMA est le nom d'un algorithme destiné à la construction d'un arbre phylogénétique. Cette méthode permet la transformation d'une matrice de distances (entre différents organismes, populations, ou séquences de nucléotides) en un arbre enraciné. C'est la méthode la plus simple de construction d'arbre. A l'origine, elle a été développée pour construire les phénogrammes taxonomiques (arbres qui reflètent les similitudes phénotypiques entre unités taxonomiques), mais elle est employée aussi pour construire les arbres phylogénétiques si les taux d'évolution sont approximativement constants parmi les différentes lignées.

IV.2.5. Etude de l'activité antimicrobienne *in vitro* des huiles essentielles

L'étude qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est réalisée par la technique du contact direct et par la technique de micro-atmosphère.

IV.2.5.1. Technique par contact direct

Les techniques par contact direct consistent à mettre en contact l'huile essentielle et les micro-organismes, puis à observer la croissance de ces derniers. Le contact peut avoir lieu en milieu gélosé (milieu solide) ou dans un bouillon (milieu liquide).

IV.2.5.1.1. Méthode de diffusion

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de Rios et *al.* (1988). Elle consiste à déposer un disque stérile, imbibé d'huile essentielle 10 μ l de chaque dilution à la surface de la gélose (20 ml de gélose). Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h. Après ce délai, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés autour de chaque disque (fig. 16). Les géloses sont préparées au préalable dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre, l'épaisseur de la gélose est de 4 mm. L'ensemencement des milieux se fait par écouvillonnage selon les recommandations de l'OMS (Rahal et *al.*, 2005). L'incubation des levures se fait à une température de 37°C pendant 24h. Pour savoir si l'effet des huiles est bactéricide ou bactériostatique, un prélèvement à partir de la zone d'inhibition est transféré dans un tube contenant du bouillon nutritif. Ce dernier est incubé dans une étuve à 37°C pendant 18 h puis examiné à l'œil nu. Un milieu trouble indique un effet bactériostatique, tandis qu'un milieu clair indique un effet bactéricide de l'huile testée.

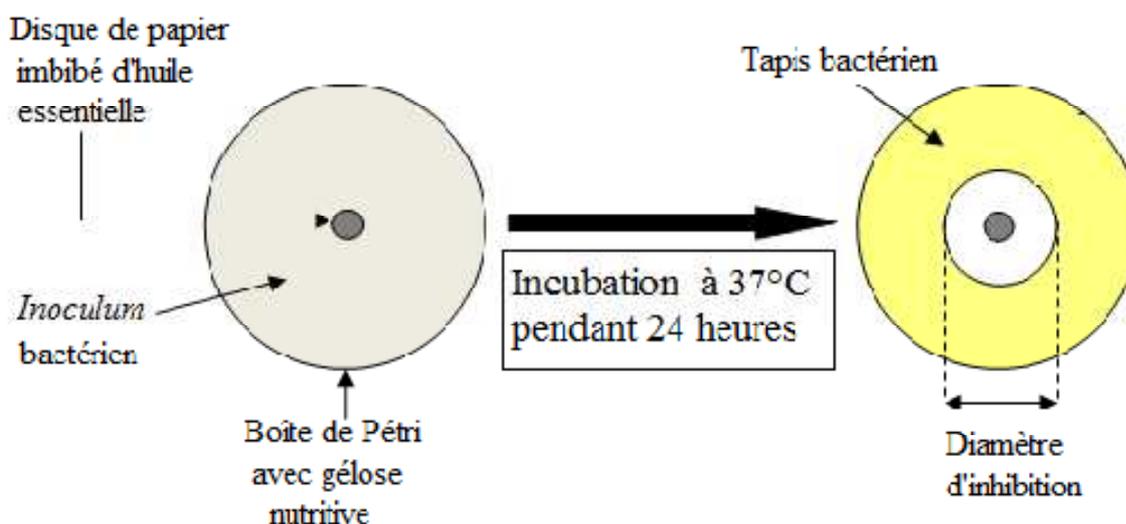


Figure 16: Technique de diffusion par disque.

IV.2.5.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), correspond à la plus faible concentration en huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne. Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en huile essentielle.

IV.2.5.1.3. Technique de microdilution en milieu liquide

La technique utilisée est une modification de la méthode de Basole et *al.* (2003). Les huiles essentielles à tester sont dissoutes dans des microtubes stériles, contenant du DMSO, de manière à générer une gamme des dilutions. La gamme de concentration est alors reproduite dans une microplaque à 96 puits. 50 μL de chaque dilution sont transférés dans les puits de la microplaque, qui contiennent chacun 150 μL de milieu MHB inoculé avec 10^6 UFC.mL⁻¹. Les concentrations finales de la gamme ainsi générée sont comprises entre 0.81 et 8.1 mg.mL⁻¹ pour l'huile essentielle *R. lutea* et entre 0.97 et 6.46 mg.mL⁻¹ pour les huiles essentielles de *D. aureus*. La gentamicine et la nystatine sont utilisées comme contrôles positifs, le DMSO comme contrôle négatif. Après 18 heures d'incubation à 37°C, la CMI de l'huile essentielle est déduite à partir du premier puits de la gamme dépourvu de croissance bactérienne. Chaque test est réalisé trois fois au cours de trois expériences successives.

IV.2.5.2. Technique de micro-atmosphère

Cette technique permet d'étudier l'effet de la phase volatile des huiles essentielles sur les microorganismes. Des milieux de culture gélosés sont coulés dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. Ces géloses sont inoculées à partir d'une suspension bactérienne ou fongique. L'ensemencement se fait par écouvillonnage, un papier filtre de 9cm de diamètre stérilisé est placé au fond du couvercle de chaque boîte de Pétri. Juste avant la fermeture de la boîte l'huile est déposée à la surface du papier. Pour chaque huile testée les dépôts sont de 0 (témoin), 10, 20, 40, et 80 μl . Les boîtes sont immédiatement fermées et placées renversées. La croissance est observée pendant 7 jours. La quantité minimale inhibitrice (QMI) est définie comme la plus petite quantité d'huile essentielle pour laquelle aucune croissance n'est visible comparativement au témoin.

Cette méthode ne quantifie pas l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, elle montre seulement l'activité des constituants volatiles à température d'incubation (Hulin et *al.*, 1998).

IV.2. 6. Test antioxydant

Le pouvoir antioxydant de huiles essentielles a été testé par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2- Diphenyl-1-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par Que et *al.* (2006), avec quelques modifications. Ce radical (fig. 17) libre stable possède une coloration violette foncée, lorsqu'il est réduit, la coloration devient jaune pâle.

Protocole

600µl de chacune des solutions méthanoliques des huiles essentielles testées à différentes concentrations sont mélangées avec 600µl d'une solution méthanolique de DPPH (0.004%).

Après une période d'incubation de 30minutes à la température de laboratoire, l'absorbance est lue à 517nm. L'inhibition du radical libre DPPH par BHT (butylhydroxytoluène) a été également analysée avec la même concentration pour la comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydante pour le BHT et pour les huiles essentielles (Pourcentage d'inhibition, IC₅₀). Tous les essais ont été effectués en triplicate.

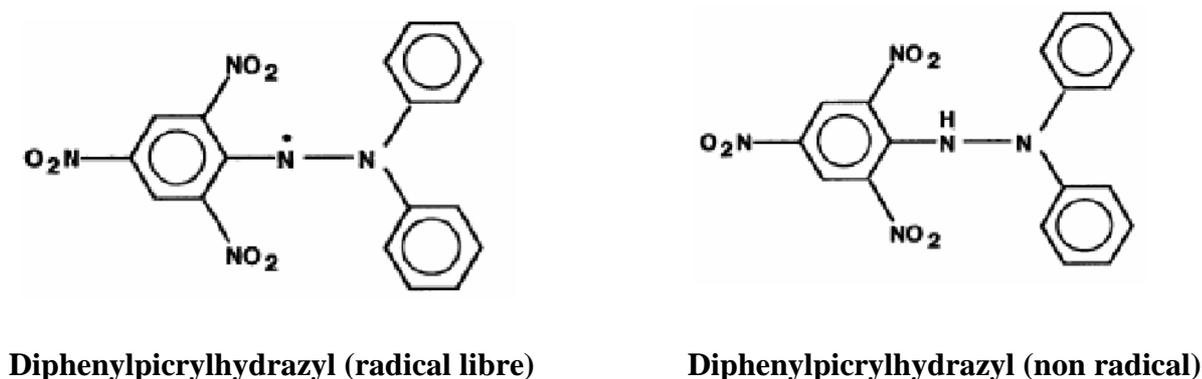


Figure 17 : Forme libre et réduite du DPPH (Molyneux, 2004).

IV.2.6.1. Détermination du pourcentage d'inhibition

Selon Sanchez-Moreno (2002), l'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

$$I \% = (A \text{ blanc} - A \text{ échantillon}) / A \text{ blanc}$$

A blanc : Absorbance du blanc (contenant tous les réactifs excepté le composé d'essai), et A échantillon : Absorbance du composé d'essai.

Calcul des IC₅₀

IC₅₀ ou concentration inhibitrice de 50% (aussi appelée EC₅₀ pour efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées (Sanchez-Moreno et Godoy, 2009).

IV.2.7. Analyse statistique

Les résultats du test de l'activité antioxydante effectué *in vitro* sont exprimés en moyenne ± standard de déviation (SD).

IV.3. Matériaux et techniques expérimentales

IV.3.1. Matériaux utilisés

Les polymères utilisés dans cette étude sont :

IV.3.1.1. Le polyéthylène basse densité de la firme Repsol ayant les caractéristiques suivantes :

Grade: 2008 FG.

Densité:0.92.

Indice de fluidité:0.75g/10min.

Température de fusion:115-120°C.

Forme:..... granulés translucides.

IV.3.1.2. L'éthylène acétate de vinyle (EVA)

EVA: MIRAVITHEM D23 EA, densité = 0.935

Pourcentage d'acétate de vinyle ~ 12%; produit par LEUNA - WERKE, Germany.

IV.3.1.3. Les agents antimicrobiens (AM)

Les agents AM utilisés dans nos expériences sont: des huiles essentielles *D. aureus* collectées de trois stations (Sétif, Oum El-Bouaghi et Constantine), et incorporées dans la matrice de polymère avec des proportions de 10% et 20%.

IV.3.1.4. Solvant

Le solvant utilisé dans nos expériences est l'éthanol.

IV.4. Mode opératoire et méthodes de caractérisations

IV.4.1. Incorporation des agents AM dans le polymère

Des mélanges de PEBD/EVA/ *D. aureus* ont été préparés on faisant varier le taux de l'huile essentielle de *D. aureus* comme le montre le tableau suivant:

Tableau 01: Résumé de formulation des films

Poids de PEBD (g)	Poids de l'EVA (g)	Poids de <i>D. aureus</i> (g)	<i>D. aureus</i> (%)
1.8	0.2	0.00	0 (témoins)
1.8	0.2	0.20	10
1.8	0.2	0.40	20

Avant d'être mélangés, des granulés de PEBD et des granulés de l'EVA ont été broyés sous forme de poudre en utilisant un broyeur de laboratoire. L'agent AM dissout dans l'éthanol a été ajouté et mélangé directement pour assurer l'uniformité du mélange à la température ambiante.

IV.4.2. Préparation des films AM par compression

Les différentes formulations préparées ont été soumises à un essai de compression afin d'obtenir des films ayant une épaisseur de 1 mm en utilisant une presse hydraulique du type **CARVER**. Un moule dur en acier chromé de 2mm en épaisseur a été placé entre les deux plateaux de la presse. La température des plateaux supérieure et inférieure est fixée à 120°C. La formulation du polymère a été placée au centre du moule entre les deux plateaux. Une fois que la fusion est atteinte, une force de compression est appliquée progressivement jusqu'à 1044 KPa. Après l'opération de pressage, les films ont été immédiatement enveloppés dans une feuille d'aluminium pour éviter la perte de l'agent antimicrobien. L'épaisseur des films a été mesurée à l'aide d'un Pied à coulisse.

IV.5. Méthodes de caractérisations

IV.5.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'ondes absorbées par le matériau et les intensités de l'absorption (Chavanne et *al.*, 1986; Viale et *al.*, 1972; Bernstein et Cooper., 1988; Wojtkowaik et Chabanel, 1983). Les longueurs d'ondes auxquelles on constate des pics d'absorption, sont caractéristiques des groupes chimiques présents dans le matériau analysé.

L'intensité de l'absorption à la longueur d'onde caractéristique est reliée à la concentration du groupe chimique responsable de l'absorption.

Pour nos essais, nous avons utilisé un spectromètre infrarouge de type Jasco FT/IR-4200 installé au Laboratoire d'électrochimie de Sétif.

IV.5.2. Tests mécaniques des films AM

IV.5.2.1. Préparation des éprouvettes

Les éprouvettes destinées aux essais mécaniques (traction) ont été moulées par compression à l'aide d'une presse hydraulique à plateaux de type **CARVER**. Les formulations des polymères ont été placées en excès dans les cavités du moule entre deux feuilles d'aluminium intercalées entre deux plaques métalliques, et pressées ensuite à 120 °C.

IV.5.2.2. Test de traction

Un essai de traction est une expérience de physique qui permet de mesurer le degré de résistance à la rupture d'un matériau. Les éprouvettes de test de traction, fabriquées selon la norme ASTM 527-1 dimension (115 x 12.5 x 1mm), sont soumises à l'essai à l'aide d'un appareil de traction de type Testometric 25 KN.

Après avoir fixé la longueur initiale à la valeur de 115 mm, l'éprouvette est encastrée entre les deux mors dont l'un est fixe, et relié à un capteur de force et l'autre est mobile, relié à un système d'entraînement ayant une vitesse d'étirage de 100 mm/min. On enregistre sous forme de courbe l'allongement et la force appliquée, que l'on convertit ensuite en déformation et contrainte.

Les principaux paramètres qu'on peut tirer de cette courbe sont :

- Le module de Young ou module d'élasticité (E)
- La résistance à la traction ou contrainte à la rupture σ_r
- L'allongement à la rupture qui mesure la capacité d'un matériau à s'allonger sous charge avant sa rupture, propriété intéressante dans l'application des polymères dans les films et les sacs.

- Et la contrainte maximale σ_m qui est représentée par un maximum de la courbe de traction.

Une moyenne de trois essais a été effectuée pour chaque composition du mélange.

IV.5.3. Test thermique

IV.5.3.1. Analyse calorimétrique différentielle (DSC)

Cette technique est utilisée pour étudier les différentes transitions thermiques des polymères lorsqu'ils subissent une variation de température. Son principe de fonctionnement est de mesurer la différence de flux de chaleur entre un creuset contenant l'échantillon et un creuset vide de référence, en fonction de la température (Kampf, 1986; cartier, 1986). Lorsqu'une différence de température est générée entre l'échantillon et la référence, le calorimètre ajuste la puissance d'entrée de manière à réduire cette différence. Un signal proportionnel à la puissance fournie à l'échantillon (ou à la référence) est enregistré. Les mesures ont été effectuées au moyen d'un calorimètre différentiel à balayage de marque "NETZSCH.DSC 200 PC" avec des échantillons de 10 mg dans la gamme de température allant de 50°C à 250°C, pour une vitesse de chauffage de 10°C/min. Les enthalpies de fusion ΔH_m ont été évaluées à partir de l'aire des pics de fusion. Le taux de cristallinité X_c est alors déterminé par la relation:

$$X_c \% = \frac{\Delta H_f}{\Delta H_0} \times 100$$

X_c (%): Taux de cristallinité;

ΔH_f : Enthalpie de fusion expérimentale;

ΔH_0 : Enthalpie de fusion d'un échantillon 100% cristallin, avec ΔH_0 de PEBD est 276 J/g. (Lei et al., 2009).

Les mesures calorimétriques ont été effectuées afin de déterminer les caractéristiques thermiques des matériaux telles que les températures de fusion (T_f), enthalpie de fusion ΔH_f ainsi que le taux de cristallinité X_c .

IV.6. Etude de l'activité anti microbienne des films par la méthode de micro atmosphère

L'activité anti microbienne des films a été évaluée par la méthode de micro atmosphère. Elle consiste à déposer un film de diamètre 6cm au centre du couvercle d'une boîte de Pétri, sans que le film entre en contact avec la géloseensemencée par les micro-organismes. Pour chaque film testé, la concentration de l'huile essentielle incorporée dans les films des polymères est de 0% (témoin), 10% et 20%. La boîte est hermétiquement fermée et placée le couvercle en bas à l'étuve à 37°C.

Il se produit une évaporation des substances volatiles dans l'enceinte de la boîte et les cellules sensibles de l'inoculum sont inhibées. La lecture du test porte donc sur la croissance ou non de l'inoculum (Benjlali et *al.*, 1986).

Chapitre V
Résultats et discussion

V.1. Rendement des huiles essentielles

L'hydrodistillation des parties aériennes de *D. aureus* des trois régions (Sétif, Oum Elbouaghi et de Constantine) a fourni des rendements en huiles essentielles de l'ordre de 0.15 %, 0.16%, 0.13% (w/w) (Fig. 18). Ces rendements peuvent être considérés les plus faibles comparativement à ceux obtenus par hydrodistillation à partir de la partie aérienne de la plante *D. setifolius* (Laouer et al., 2013) et d'*A. crinitus* qui est de 0.3% (Elkolli, 2008), mais très proche de celui obtenu par Meliani et al. (2013) qui a été estimé entre 0.01% et 0.2% de la partie aérienne et 0.1% des racines pour *D. aureus* récolté de 14 locations de l'Ouest d'Algérie. Ils sont aussi proches du rendement de *D. crinitus* obtenu par Bendiabdellah et al. (2012) qui est de 0.15%. Ils sont cependant supérieurs au rendement des feuilles de *D. gingidium* L. ssp. *gingidium* obtenu par Flamini et al. (2007) qui est de 0.04%. Ils sont aussi inférieurs au rendement des ombelles (floraison et mures) d'*A. carota* subsp. *halophilus* obtenu par Tavares et al. (2008) qui est de 0.4% (v/w) et 0.6% à 1% (v/w) respectivement.

Par rapport aux autres espèces déjà étudiées de la même famille, nos rendements sont considérés comme faibles comparés à celui obtenu des fruits mûrs séchés de *D. carota* (originaire de la France) qui varient de 0,4 % à 0,8 %. Ils varient également pour la même espèce qui est originaire de l'Allemagne de 0,8 à 1,6 % (Garnero, 1996). *D. crinitus* a donné un rendement de 0.3 %. Cette valeur est inférieure à celles des autres *Daucus* étudiés.

Le rendement en huile du *D. carota* de la Corse (la plante fraîche) est de 0.6 % (Gonny et al., 2004). Roop et al. (1989) rapportent que le rendement des feuilles fraîches de *D. carota* var. *sativa* est de 0.07 %. Le rendement en huile des tiges de *D. carota* du Japon est de 0.45 % (Hiromu et al., 1989). *D. reboudii* Coss. a fourni un rendement en huile de 0.4 % (Djarri et al., 2006).

Des valeurs plus petites sont obtenues par Yin et al. (2006) pour les huiles de différentes parties de *D. carota* de la Chine. Elle est de 0.27 % pour les feuilles, de 0.07% pour les tiges et de 0.01 % pour les racines. Un rendement de 0.2 % est obtenu à partir des tiges de *D. carota* de l'Inde (Grover et al., 1978).

En ce qui concerne la couleur des huiles *D. aureus* (Sétif, Oum Elbouaghi et Constantine), elles ont une couleur vert pâle, verte et jaune, respectivement. Des caractères similaires à l'huile essentielle *D. aureus* de Constantine ont été rapportés pour l'huile *D. crinitus* à une couleur jaune clair et une odeur caractéristique.

La partie aérienne de *R. lutea* a donné un rendement en huile essentielle de 0.3% (w/w) Fig 18, de couleur verte et une odeur aromatique. Ce rendement par rapport aux autres espèces étudiées de la même famille dans notre laboratoire, est considéré comme faible comparé à celui obtenu par Lamamra, (2010) qui est de l'ordre de 1.1% pour *Athamanta sicula*, mais très proche de celui obtenu par Elkolli, (2008) qui a été estimé à 0.3% pour *D. crinitus*. Il est à signaler que l'ensemble de ces huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation dans un Clevenger pendant 4 heures d'extraction.

Ces différences sont dues, Selon Bakkali et *al.* (2008), à plusieurs facteurs: la technique d'obtention, les facteurs environnementaux (la température et l'humidité), l'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, la période et le lieu géographique de cueillette, le stade de la croissance et les conditions de culture de la plante.

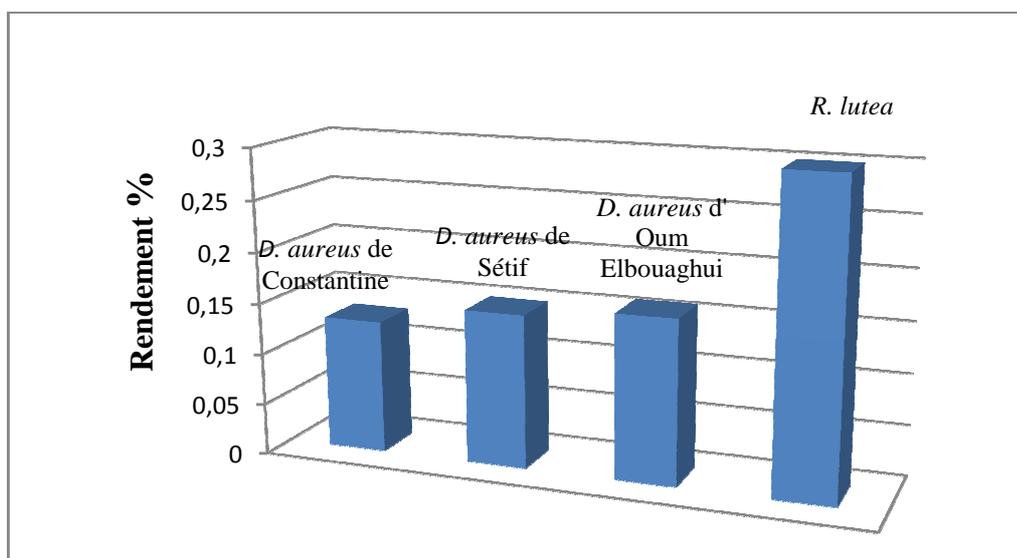


Figure 18: Rendement des HE de *D. aureus* et de *R. lutea*.

V.2. Analyse chimique des huiles essentielles

V.2.1 Composition chimique des huiles essentielles de *D. aureus* des trois stations

Après l'extraction des l'huiles essentielles des parties aériennes par hydrodistillation, la composition des l'huiles essentielles a été déterminée par CPG/FID et CPG/SM. Les résultats sont regroupés dans le tableau 2

L'analyse des huiles essentielles des parties aériennes de *D. aureus* récoltées dans les trois stations (Sétif, Oum Elbouaghi, et Constantine) nous a permis l'identification entre 45 et 58 composés avec des pourcentages variant de 82.2 à 94.1 % de la composition chimique globale (fig.20. 21. 22). Leurs indices de rétention et de leur pourcentage relatif sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Composition chimique de l'huile essentielle de *D. aureus* des trois régions (Sétif, Oum Elbouaghi et Constantine).

	Populations	Constantine	Sétif	Oum Elbouaghi
Rendements %		0.16	0.15	0.13
Nombre des composants	RI	58	58	45
Total identifié		90.1	82.9	94.1
2-heptanone	890	0.2	0.2	0.4
<i>n</i> -nonane	899	7.9	8.0	18.3
α -thujene	931	1.5	1.2	1.1
α -pinene	939	6.3	5.5	19.4
camphene	954	0.1	0.2	0.6
thuja-2.4(10)-diene	957	0.2	0.2	0.5
benzaldehyde	962	tr	tr	tr
1-heptanol	970	tr	tr	tr
sabinene	977	36.2	30.6	3.1
β -pinene	980	0.2	1.8	12.0
3-octanone	988	-	tr	tr
myrcene	992	1.0	0.8	1.0
δ -2-carene	1001	-	0.4	-
octanal	1003	tr	tr	tr
α -phellandrene	1005	0.9	tr	3.4
α -terpinene	1018	2.5	1.5	0.2
<i>p</i> -cymene	1027	3.1	1.2	12.2
limonene	1031	1.3	1.5	3.5
(<i>Z</i>)- β -ocimene	1041	tr	-	-
(<i>E</i>)- β -ocimene	1051	tr	tr	-
γ -terpinene	1062	4.2	2.8	0.5
<i>cis</i> -sabinene hydrate	1069	0.2	0.4	tr
1-octanol	1072	tr	tr	0.3

terpinolene	1089	1.5	0.8	0.4
2-nonanone	1092	tr	tr	tr
3-nonanol	1094	tr	-	tr
<i>n</i> -undecane	1099	-	-	tr
linalool	1000	0.4	0.8	0.4
nonanal	1103	0.2	0.1	0.6
β -thujone	1115	tr	tr	tr
<i>cis</i> - <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	1122	0.4	0.6	tr
α -campholenal	1126	0.4	0.3	1.6
<i>cis</i> - <i>p</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	1138	tr	-	-
<i>Trans</i> -pinocarveol	1140	0.6	0.7	0.8
<i>Cis</i> -verbenol	1142	-	0.4	0.4
<i>trans</i> -verbenol	1144	0.2	tr	0.8
β -pinene oxide	1158	tr	0.1	-
(<i>E</i>)-2-nonenal	1160	0.2	0.3	0.5
pinocarvone	1163	0.3	0.2	1.5
δ -terpineol	1166	0.2	0.2	0.2
4-terpineol	1178	6.0	4.4	0.5
<i>p</i> -cymen-8-ol	1184	0.2	0.1	3.0
α -terpineol	1190	0.2	0.2	tr
Myrtenal	1193	0.6	0.5	1.8
decanal	1204	-	-	tr
<i>trans</i> -piperitol	1206	0.3	0.3	0.2
cuminaldehyde	1240	tr	tr	0.2
carvone	1243	tr	tr	0.5
carvotanacetone	1248	tr	-	tr
geraniol	1256	tr	0.5	-
(<i>E</i>)-2-decenal	1262	tr	-	tr
isobornyl acetate	1285	0.1	tr	0.4
<i>Trans</i> -sabinyl acetate	1291	-	0.2	-
thymol	1293	tr	-	0.2
<i>trans</i> -pinocarvyl acetate	1298	-	-	tr
(<i>E,E</i>)-decadinal	1315	tr	-	tr
α -cubebene	1351	tr	-	0.2
α -longipinene	1353	-	-	tr
piperitenone oxide	1363	tr	-	-

α -copaene	1376	0.3	tr	0.4
β -bourbonene	1384	0.1	-	tr
Geranyl acetate	1386	-	3.9	-
β -cubebene	1390	0.3	tr	0.2
β -elemene	1394	tr	-	-
α -cedrene	1409	tr	-	-
β -cedrene	1418	0.2	0.2	0.2
β -copaene	1429	tr	-	-
γ -elemene	1433	tr	-	-
aromadendrene	1440	tr	-	-
(<i>E</i>)-geranylacetone	1452	tr	-	tr
<i>Trans</i> -muurola-3.5-diene	1454	tr	-	-
α -humulene	1456	tr	tr	tr
alloaromadendrene	1461	tr	-	tr
β -acoradiene	1471	tr	-	-
γ -muurolene	1480	0.1	-	tr
germacreneD	1482	0.2	0.2	0.1
<i>Ar</i> -curcumene	1484	0.3	-	tr
<i>Cis</i> - β -guaiene	1490	0.1	0.2	-
viridiflorene	1493	-	-	tr
bicyclogermacrene	1494	0.2	0.4	-
α -muulorene	1499	0.1	0.3	tr
germacrene A	1503	tr	0.2	-
δ -amorphene	1505	tr	-	-
β -bisabolene	1509	0.3	0.2	0.3
δ -cadinene	1524	1.4	0.4	0.4
α -cadinene	1538	tr	0.1	-

α -calacorene	1542	0.2	0.2	tr
α -agarofuran	1546	0.1	-	-
elemol	1550	-	0.3	-
longipinanol	1569	0.8	0.4	-
spathulenol	1576	1.0	0.8	0.5
<i>trans</i> -sesquisabinene hydrate	1579	0.1	0.2	-
caryophyllene oxide	1581	0.4	0.4	0.6
β -oplopenone	1606	0.3	0.6	-
humulene epoxide	1608	0.2	tr	0.2
1.10-di- <i>epi</i> -cubenol	1614	2.8	3.4	0.2
helifolen-12-al	1620	0.2	0.3	-
<i>epi</i> - α -cadinol	1641	0.7	tr	tr
cubenol	1643	tr	0.5	-
α -cadinol	1654	0.9	0.7	0.3
<i>cis</i> -calamenen-10-ol	1661	tr	0.1	-
occidentalol acetate	1678	0.8	0.3	-
eudesma-4 (15).7-dien-1- β -ol	1688	0.2	0.5	-
juniper camphor	1692	-	0.5	-
hexahydrofarnesylacetone	1845	0.2	tr	-
Monoterpene hydrocarbons		59.0	49.1	57.9
Oxygenated monoterpenes		10.1	13.8	12.5
Sesquiterpene hydrocarbons		3.8	2.4	1.8
Oxygenated sesquiterpenes		8.5	9.0	1.8

Apocaroténoids	0.2	–	–
Non-terpene derivatives	8.5	8.6	20.1

Les huiles essentielles de *D. aureus* (Sétif, et Constantine) contiennent du Sabinene (30.6%, 36.2%), α -pinene (5.5%, 6.3%) et γ -terpinene (2.8%, 4.2%), respectivement, comme constituants majoritaires. Alors que les constituants majoritaires de l'huile essentielle de *D. aureus* (Oum Elbouaghi) sont l' α pinene (19,4%), *p*-cymene (12.2%), β -pinene (12.0%), limonene (3.5%), α -phellandrene (3.4%) et le sabinene (3.1%). Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par Laouer et al. (2012) pour l'huile essentielle de l'espèce *Daucus setifolius* Desf. et ceux de Flamini et al. (2007) pour l'huile de l'espèce *D. gingidium* L. (feuilles et fruits) ou les monoterpènes hydrocarbonés présentent 66.2% et 87.8% respectivement. De même, dans l'huile des feuilles et des fruits de l'espèce *D. glaber* Forssk, Mansour et al. (2004), ont trouvé que les monoterpènes représentent des pourcentages de 43.9%, 58.3%, et 61.5% respectivement. Pinili et al. (1995) ont prouvé la présence du sabinene (26.8-60.6%) et du α -pinene (10.8-12.2%) comme composés majoritaires dans l'huile essentielle de l'espèce *D. carotagumnifer* qui provient de l'Espagne. Par contre, Meliani et al. (2013) ont trouvé que les huiles essentielles de la partie aérienne et de la racine de l'espèce *D. aureus* qui provient de l'Ouest d'Algérie contiennent les sesquiterpènes hydrocarbonés (62.5%) et les sesquiterpènes oxygénés (59.6%) respectivement comme composants principaux.

Malgré la présence d'un nombre important de monoterpènes oxygénés, le 4-terpénole apporte une contribution modeste dans les huiles essentielles de *D. aureus* de Sétif et de Constantine avec un taux de 4.4% et 6.0% respectivement, contre de très faibles concentrations en linalool, trans-pinocarveol, trans-piperitol et δ -terpénole avec des taux respectifs de (0.8%, 0.4%), (0.7%, 0.6%), (0.3%, 0.3%) et (0.2%, 0.2%), par contre dans l'huile de *D. aureus* (Oum Elbouaghi) le 4-terpénole est présente en faible concentration avec un teneur de 0.5%.

S'agissant des sesquiterpènes hydrocarbonés, leur présence est nettement moins importante que les monoterpènes hydrocarbonés. On notera des teneurs variant entre 1.8%, 2.4% et 3.8% respectivement pour les huiles de *D. aureus* (Oum Elbouaghi, Sétif, et Constantine). Les alcools sesquiterpéniques présents dans ces HE *D. aureus* Sétif et Constantine, montrent des teneurs respectives de 9% et 8.5%. Nous constatons que la contribution des sesquiterpènes (hydrogénés et oxygénés) à la composition totale de *D. aureus* (Oum Elbouaghi) est faible.

Les alcools sesquiterpéniques, carotol et daucol, comme dans l'huile essentielle (feuilles et fruits) *D. carota* ssp *maximus* recueillis dans la région d'Akar, au Nord du Liban, sont totalement absents (Saad et al., 1995). Ces deux composés caractéristiques sont présents dans l'huile de *D. carota* de l'Inde (Cheema et al., 1975), dans l'huile de *D. carota* (Garnero, 1996), dans l'huile de *D. carota* provenant du Japon (Hiromu et al., 1989), dans l'huile de *D. carota* de la Pologne (Staniszewska et al., 2005) et dans l'huile de *D. carota* de l'Italie (Mazzoni et al., 1999). L'étude a montré que la composition chimique des huiles essentielles obtenues à partir des différentes régions étaient qualitativement et quantitativement presque identique pour les deux huiles essentielles de Sétif et de Constantine. Pour l'huile essentielle de *D. aureus* (Oum Elbouaghi) les composants non terpéniques sont révélés plus important 20.1% par rapport aux deux autres huiles de Sétif, et de Constantine (8.6 et 8.5%), respectivement.

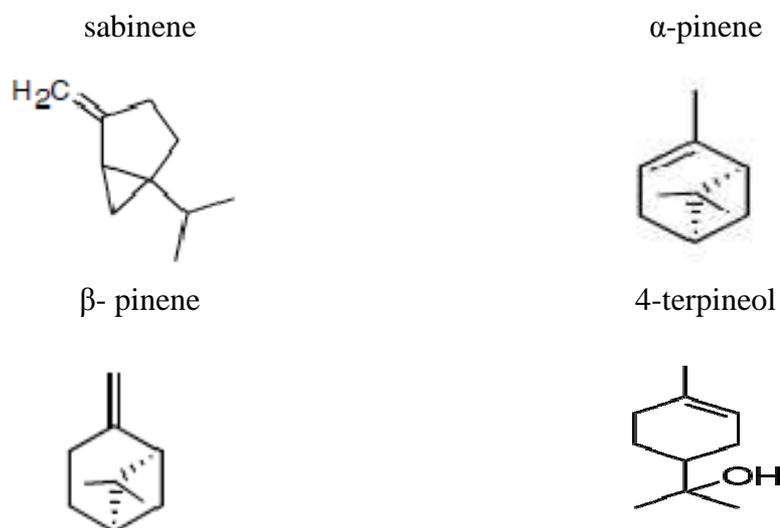


Figure 19: Structures chimiques des composés majoritaires de *D. aureus*.

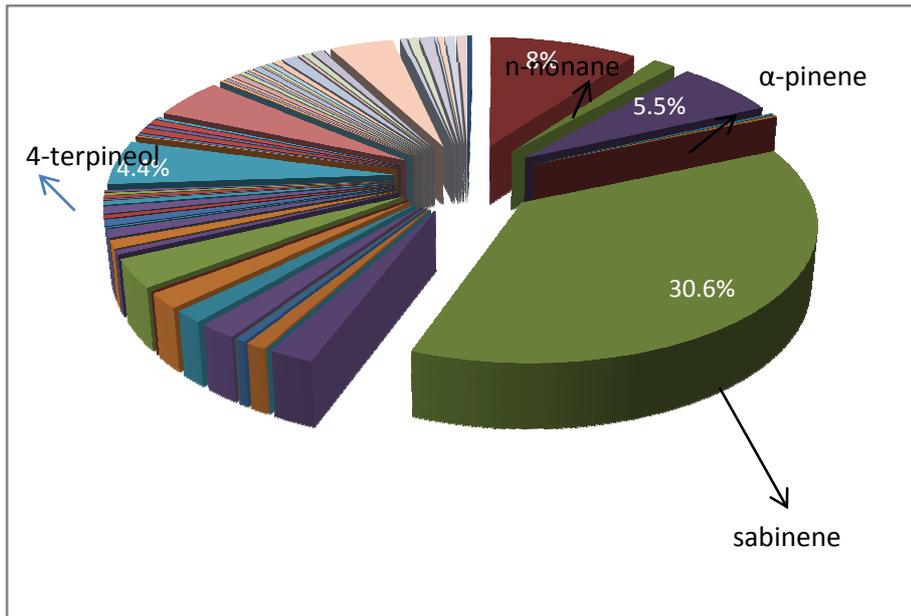


Figure 20: Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de *D. aureus* (Sétif).

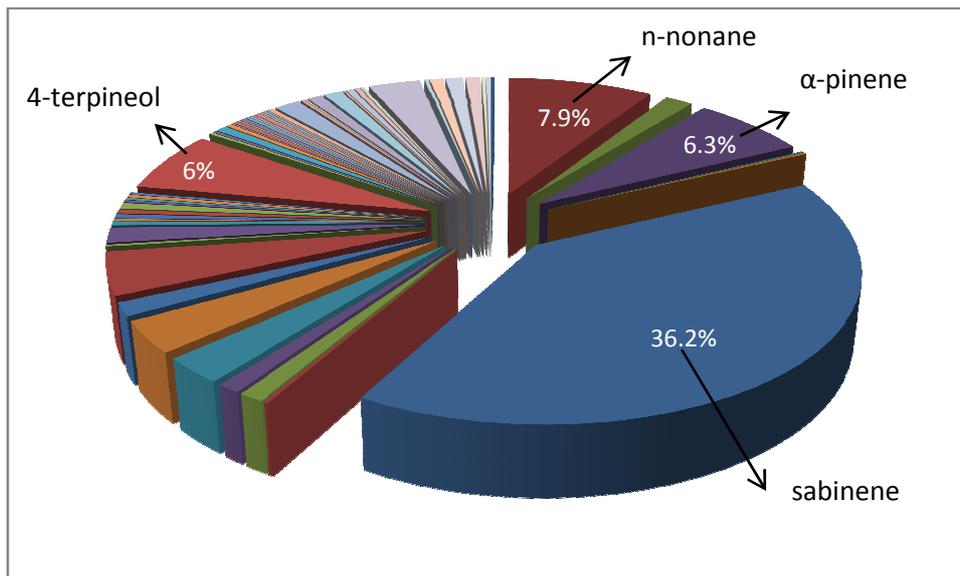


Figure 21: Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de *D. aureus* (Constantine).

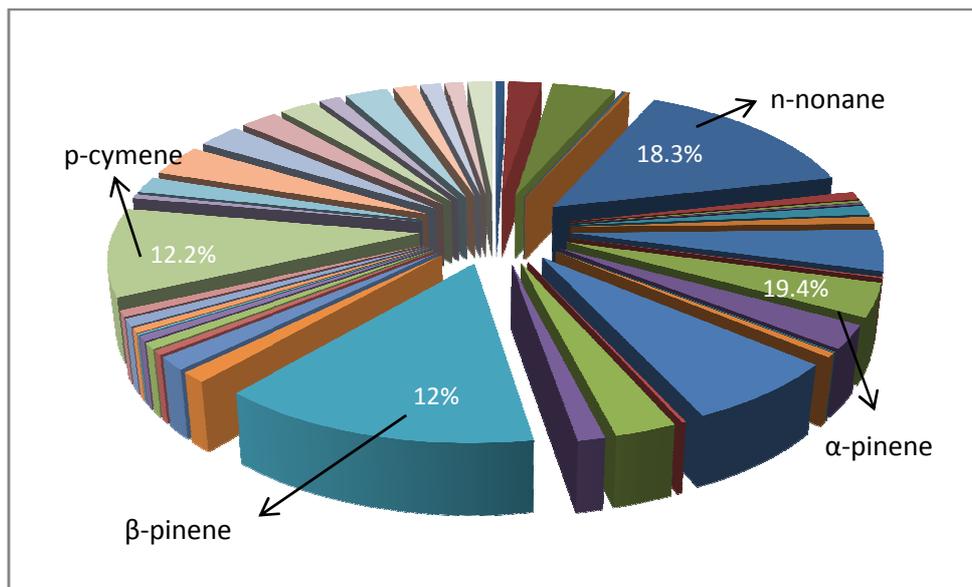


Figure 22: Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de *D. aureus* (Oum Elbouaghui).

V.2.1.1. Variabilité chimique des huiles essentielles de *D. aureus*

Afin d'identifier les relations entre les abondances des composés organiques volatils et les origines géographiques, l'analyse en composantes principales (ACP) et l'analyse de cluster UPGMA (distance de Manhattan) ont été appliquées à une matrice reliant les compositions des huiles essentielles des sites d'échantillonnage.

L'analyse en composantes principales (ACP) a présenté trois axes comprenant 92.05% de la variation totale (fig. 23). Il regroupe les populations en deux groupes, le groupe de L'Est Algérien et le groupes de l'Ouest Algérien et il a permis de reconnaître quatre types distincts des huiles essentielles.

Le premier groupe était représenté par les populations de l'Ouest Algérien. Ce groupe est divisé en deux sous-groupes. Les populations (S1-S7) sont originaires des montagnes de Tlemcen et ont été caractérisées par des quantités très élevées de germacrene-D ($59.8\% \pm 8.6$). Alors que les populations (S8-S14), dans lequel des quantités inférieures de germacrene-D ($19\% \pm 8.7$) et des quantités plus élevées des composés sesquiterpenes oxygénés tels que spathulenol ($6.2\% \pm 2.1$), l'oxyde de caryophylène ($7.8\% \pm 1.5$), (Z)-a-santalol ($4.9\% \pm 1.1$), viridiflorol ($4.2\% \pm 1.2$), cadin-4-èn-7-ol ($4.5\% \pm 0.8$).

Le deuxième groupe formé par trois populations situées à l'Est Algérien (Sétif, Oum Elbouaghi et Constantine). L'analyse statistique regroupe les échantillons des huiles essentielles de ces groupes qui sont caractérisés par un taux de germacrene-D très faible, et est également divisé en deux sous groupes ; le sous groupes d'Oum Elbouaghi qui est riche en α -pinene (19.4%) et β -pinene (12.0%), opposant le sous groupe formé par les populations de Constantine et de Sétif, avec la présence d'un taux élevé de sabinene (36.2 et 30.6%) et de 4-terpineol (6.0 à 4.4%).

Nous avons constaté que tous les composants présentent une grande variabilité quantitative et qualitative. La variabilité des terpénoïdes reflète l'hétérogénéité de la structure génétique de *D. aureus*.

L'analyse de cluster UPGMA (distance de Manhattan) (fig. 24), montre la présence de deux groupes chose qui confirme les résultats obtenus des analyses ACP.

Ces résultats suggèrent que cette variabilité observée dans la composition des huiles essentielles peut être attribuée aux différentes localités géographiques, le climat, la saison de récolte, la partie distillée de la plante et aussi la technique pour le traitement (Moghaddam et al., 2007; Weaver et al., 1994). Il y'a un autre facteur important qui influe la composition chimique des huiles essentielles qui est le patrimoine génétique de la plante. Hanover (1992) fournit la preuve que les chémotypes terpéniques sont fortement contrôlés par des facteurs génétiques. L'analyse de classification hiérarchique montre que les huiles de *D. aureus* récoltés dans l'Est de l'Algérie (Sétif, Oum Elbouaghi et Constantine) sont chimiquement distincts des huiles de *D. aureus* récoltés dans l'Ouest de l'Algérie (Tlemcen) et représente deux nouveaux chémotypes riche en sabinene-4-terpineol, et le α -pinene- β -pinene

V.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de *Reutera lutea* récolté de Bejaia

Nous avons étudié pour la première fois les composés volatiles de *R. lutea* extrait par hydrodistillation en utilisant la chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). L'examen des résultats des analyses (tableau 03) fait apparaître que l'huile essentielle de *R. lutea* est constituée de 47 composés dont 43 sont identifiés ce qui correspond à 98.52% de la totalité de l'huile (fig. 25). Les composés majoritaires identifiés lors de l'analyse de l'HE de *R. lutea* sont le sabinene (14.10%), δ - elemene (9.47%), δ - terpinene (6.76%), α -terpinene (4.43%), α - pinene (3.79%), *p*- cymene (3.57%), β - elemene (3.40%), α -chamigrene (2.59%), α -humulene (2.53%), trans-caryophyllene, (2.22%), δ - cadinene (1.98%) et α -thujene (1.94%). Nous avons révélé dans cette analyse, la présence de monoterpène oxygéné tels que: 4-terpineol 13.59% qui apporte la meilleure contribution. Le myrtenol, α -terpineol et menth-2-en-1ol (trans-para) sont présents dans la composition de l'échantillon mais avec des taux faibles dans l'ordre: 1.40%, 1.14% et 1.16%. Tous ces derniers ont été identifiés en comparant leurs indices de rétention avec ceux de la littérature (voir le tableau 3).

Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par Jarban et *al.* (2009) pour l'huile des fleurs de l'espèce *D. carota* ssp.*maritimus* poussant en Tunisie où le sabinene (51.6%) et le 4-terpineol (11.0%) présentent comme composants majoritaires. De même, l'analyse de l'huile essentielle de *Zornia diphylla* (L.) de l'Inde a révélé la présence du sabinene (43.1%) et le 4-terpineol (13.2%) comme composants majoritaires (Arunkumar et *al.*, 2014).

En règle générale, les différences observées dans la composition chimique des différentes huiles peuvent être la conséquence de plusieurs facteurs. Ces facteurs peuvent inclure des différences dans les conditions climatiques, les lieux géographiques et les types des sols (Cheng et *al.*, 2006 et 2009). Les stress biotiques et abiotiques exercent une influence considérable sur la production de plusieurs métabolites secondaires des plantes (Jaleel et *al.*, 2008). La sécheresse est l'un des plus importants facteurs du stress abiotiques (Dosh et Mohanty, 2001), ce qui affecte la croissance des plantes, la photosynthèse des feuilles (Flexas et *al.*, 2004) et modifie les propriétés biochimiques des plantes (Zobayed et *al.*, 2007). De la même manière, les changements dans la composition chimique des huiles essentielles étaient rapportés selon le type du sol (Gouyon et *al.*, 1986). Tableau 3 regroupe les 43 composés que nous avons réussi à identifier, ils présentent 97.3% de la composition totale de l'huile essentielle de *R. lutea*.

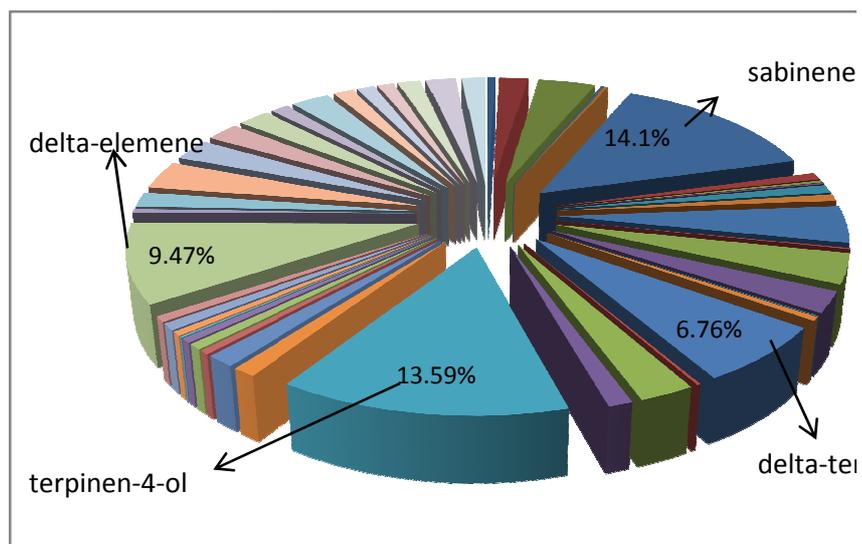
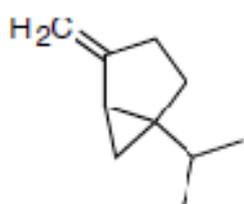
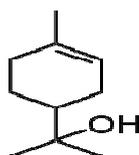


Figure 25: Pourcentage des composés chimiques de l'huile essentielle de *R. lutea*.

sabinene



4-terpineol



δ-Elemene

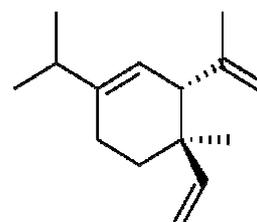


Figure 26: Structures chimiques des composés majoritaires de *R. lutea*.

Conclusion générale

Les huiles essentielles possèdent d'importantes activités antimicrobiennes et peuvent substituer avec succès les antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants (Jonkers, 1999). Nos études de recherche ont pour objectif la valorisation de deux huiles essentielles à savoir de *D. aureus* de trois régions de l'Est d'Algérie (Sétif, Constantine et Oum Elbougghi), et de *Reutera lutea* de Bejaia, par l'étude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de ces deux plantes. Ensuite de proposer une solution pour lutter contre les infections microbiennes dans les lieux hospitaliers et les laboratoires d'analyse par incorporation de ces huiles essentielles dans le polymère PEBD, qui sera par la suite utilisé comme sacs poubelles.

Les huiles essentielles de la partie aérienne de *D. aureus* et de *Reutera lutea* ont été extraites par hydro distillation. Les rendements en huiles essentielles de *D. aureus* des trois régions (Sétif, Oum Elbougghi et de Constantine) sont de l'ordre de (0.15 %, 0.16%, 0.13%) (w/w) et celui de *R. lutea* est de 0.3% (w/w).

Les résultats de l'analyse chimique de la composition des huiles essentielles des parties aériennes de *D. aureus* récoltées dans les trois stations (Sétif, Oum Elbougghi, et Constantine) par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, nous a permis l'identification entre 45 et 58 composés avec des pourcentages variant de 82.2 à 94.1 % de la composition chimique globale. Les huiles essentielles de *D. aureus* (Sétif, et Constantine) contiennent du Sabinene (30.6%, 36.2%), α -pinène (5.5%, 6.3%) et γ -terpinène (2.8%,4.2%), respectivement, comme constituants majoritaires. Alors que les constituants majoritaires de l'huile essentielle de *D. aureus* (Oum Elbougghi) sont le α - pinène (19,4%), *p*-cymène (12.2%), β -pinène (12.0%), limonène (3.5%), α -phellandrene (3.4%) et le sabinène (3.1%). L'analyse statistique a montré la présence de deux chemotypes pour les huiles essentielles de *D. aureus* des trois régions, qui sont dominés par (α -pinène- β -pinène) et (sabinène-4-terpèneol).

La composition chimique de l'huile essentielle de la partie aérienne de *R. lutea* a révélé la présence de 43 composés ce qui correspond à 98.52% de la totalité de l'huile. Les composés majoritaires identifiés lors de l'analyse de l'HE de *R. lutea* sont le sabinène (14.10%), δ - elemène (9.47%), δ - terpinène (6.76%). Ainsi nous avons révélé dans cette analyse, la présence de monoterpène oxygéné tels que: 4-terpèneol (13.59%) qui apporte la meilleure contribution.

Les huiles essentielles de *D. aureus* (Oum Elbougghi, et Sétif) testées par la méthode des disques sur cinq souches ATCC se sont montrées actives sur *Staphylococcus aureus* avec une zone

d'inhibition (14 ± 0.9 mm) et (26 ± 0.0 mm) respectivement et sur *E. coli* ATCC 2592 avec une inhibition moyenne 13 ± 0.4 et 10 ± 0.4 mm respectivement. L'activité de l'HE de *D. aureus* d'Oum Elbouaghi a montré une activité sur *C. albicans*, avec une zone d'inhibition 12 ± 0.4 mm.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles des parties aériennes de *D. aureus* été confirmée par le dosage de bouillon de microdilution. Les résultats les plus prometteurs étaient obtenus à partir de l'huile de la partie aérienne de *D. aureus* d'Oum Elbouaghi qui avait la valeur de CMI la plus faible ($0,97$ mg/mL) contre *S. aureus*, il a également montré un effet antimicrobien contre *E. coli* et *C. albicans* avec une CMI de $1,81$ et 2.54 mg/mL, respectivement. Cette activité est due à la forte concentration de sabinene en huiles essentielles de *D. aureus* de Sétif et Constantine (30.1% et 36.4%) respectivement.

La méthode de contact directe montre que l'huile essentielle de *R. lutea* présente un effet antibactérien moyen sur la croissance de *B. subtilis*, *S. aureus* et *C. albicans* avec des diamètres d'inhibitions 13 ± 0.94 mm, 12 ± 0.94 mm et 15 ± 0.81 mm respectivement à la dilution 1/2. La levure *C. albicans* est la plus sensible avec de CMI égale à 2.31 mg/mL. Alors que cette huile est avérée inactive contre les *P. aeruginosa*. L'activité antimicrobienne de l'huile *R. lutea* pourrait, en partie, être associée à ses principaux composants (sabinene et terpinene-4-ol).

La phase vapeur des huiles essentielles de *D. aureus* et de *R. lutea* s'est montrée active sur *B. subtilis* à partir de 40 μ L. L'huile de *D. aureus* de Constantine et d'Oum Elbouaghi était active sur *C. albicans* à partir de 40μ l et 80μ l respectivement.

Le teste de l'activité antioxydante a montré que les deux huiles possèdent une activité antiradicalaire relativement faible par rapport à celle du BHT ($IC_{50}= 41,3 \pm 0,40$ (μ g/mL)). L'huile essentielle de *D. aureus* de Sétif est le plus efficace sur le radical DPPH (713 ± 0.04 (μ g/ml)). Il est suivi par l'huile de *D. aureus* de Constantine (783 ± 0.16 (μ g/ml)) et finalement par L'huile de *D. aureus* d'Oum Elbouaghi (970 ± 0.53 (μ g/ml)). Alors que pour l'huile de *R. lutea* la valeur d' IC_{50} est de (269 ± 0.22 μ g/ml).

Pour résoudre le problème de contamination de l'air des hôpitaux, au moins partiellement. La collection des huiles essentielles de *D. aureus* est incorporé dans le polymère PEBD pour avoir des films qui ont des propriétés antimicrobienne par la méthode de micro atmosphère (phase vapeur). De nombreuses techniques ont été utilisées pour la caractérisation des mélanges PEBD/EVA/ *D. aureus* (0% , 10% et 20% de l'huile de *D. aureus*), telle que IRTF, DSC, et une caractérisation mécanique (traction). L'évaluation de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA/*D. aureus* a été faite par la méthode de micro atmosphère.

A la fin de cette étude plusieurs conclusions peuvent tirées:

Tout d'abord la spectroscopie infrarouge (IRTF) des mélanges PEBD/ EVA/ *D. aureus* a montré l'absence de toute réaction dans ces mélanges.

La caractérisation calorimétrique différentielle (DSC) a montré que la taille des domaines cristallins, du PEBD ne sont pas affectées par la présence de l'huile essentielle de *D. aureus*.

La caractérisation mécanique (traction) a montré que l'ajout de 10% et 20% de l'huile essentielle de *D. aureus* provoque la chute de la contrainte maximale (σ_y) et minimale à la rupture (σ_r), le module d'élasticité(E) et l'allongement à la rupture (ϵ_r %).

L'étude de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA/*D. aureus* en phase vapeur, a montré que la phase volatile de huile essentielle de *D. aureus* était active sur *S. aureus* et *C. albicans* à partir de 20% et sur *B. subtilis* à partir de 10% de l'huile.

Les perspectives dégagées de cette étude sont multiples: faire un fractionnement de ces huiles pour savoir les molécules responsables de cette activité; Elargir la gamme des souches microbiennes; Etudier une plante qui a vraiment une activité antimicrobienne importante sur les souches microbiennes afin de l'incorporer dans le polymère PEBD; En plus étudier d'autres propriétés biologiques de ces plantes, à savoir les propriétés: anti-inflammatoire, antivirale et autres.

Annexe

Annexe I :

Les milieux de culture

MH agar :

-Infusion de viande de bœuf déshydraté.....	300g
-Hydrolysat de caséine.....	17.5 g
-Amidon de maïs.....	1.5 g
-Agar Agar.....	13 g
-Eau distillée qsp.....	1000 ml

Sabouraud simple

-Peptone Chapoteau.....	10 g
-Gélose	20 g
-Glucose.....	20 g
-Eau distillée.....	1000 ml

Sabouraud+Clormphénicol

-Milieu de Sabouraud	
-Cloramphécol.....	0.5%

Bouillon nutritif

-Peptone.....	5 g
-Extrait de viande.....	1 g
-Extrait de levure.....	2 g
-Chlorure de Sodium.....	5 g
-Eau distillée.....	1000 ml

Annexe III :

Les antibiotiques

Antibiotique	Sigle	Charge du disque (µg)
Benzilpencilline	P	6
Ticarcilline	TIC	75
Gentamicine	GM	10
Amikacine	AN	30
Furane	FT	300
Ciprofloxacine	CIP	5
Oxaciline	OX	5
Vancomycine	VA	30
Acide nalidixique	NA	30
Kanamycin	K	30UI
Pipéracilline	PIP	75
Terramycine	TM	10
Amoxilline+acide clavulinique	AMC	20+10
ceftriaxone	CRO	25

Références bibliographiques

- Abi-Ayad M., Abi-Ayad F. Z., Lazzouni H. A., Rebiahi S. A. (2011)- Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen). Journal of natural product of plant resour, 1 (1):33-36.
- Abou-Zeid A. M., Altalhi, A. D. and Abd El-Fattah, R. I. (2008)- Fungal Control of Pathogenic Fungi Isolated From Some Wild Plants in Taif Governorate, Saudi Arabia. Malaysian Journal of Microbiology, 4(1): 30-39.
- Aburjai T., Natsheh F. M. (2003)- Plants used in cosmetics. Phytotherapy Research, 17: 987-1000.
- Adams R. P. (2001)- Identification of essential oils component by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Illinois.
- AFNOR. (1986)- Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris. 57 p.
- AFSSAPS Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles 2008.
- Ahmad M., Benjakul S., Prodpran T., Agustini T. W. (2012)- Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids, 28: 189-199.
- Alvarez-Castellanos P. P., Pascual-Viñalobos M. J. (2003)- Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of *Chrysanthemum caronarium* (Asteraceae) cultivated in Spain. Industrial Crops and Products, 17: 77-81.
- Anonyme. (1991)- La filière: plantes, extraits, huiles essentielles. L'échiquier des années 90. Ed. Octaedre. Coneseil. Toulouse. 5-10.
- Arunkumar R., Nair S. A., Rameshkumar K. B., Subramoniam A. (2014)- The Essential Oil Constituents of *Zornia diphylla* (L.) Pers, and Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of the Oil. Records of Natural Product, 8 (4): 385-393.
- Assad Y. O. H., Torto B., Hassana H. A., Njagi P. G. N., Bashir N. H. H., Mahamat H. (1997)- Seasonal variation in the essential oil composition of *Commiphora quadricincta* and its effect

- on the maturation of immature adults of the desert locust, *Schistocerca gregaria*.
Phytochemistry, 44: 833-841.
- Aurousseau B. (2002)- Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA Productions Animals, 15 (1): 67-82.
- Bahorum T. (1997) - Substances naturelles actives: la flore Mauricienne une source d'approvisionnement Potentielle. AMAS. Food and Agricultural. Research Courriel. Réduit. Mauritius.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008) – Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46: 446-475.
- Barrero A. F., Herrador M. M., Artega J. F., Akssira M. (2005)- Chemical composition of the essential oils of *Pistacia atlantica* Desf. Journal of Essential Oil Research, 17(1): 52-54
- Barlow A. (1991)- The chemistry of polyethylene insulation", IEEE, Electrical Insulation Magazine, 7(1): 8-19.
- Bassole I. H. N., Ouattara A. S., Nebie R., Ouattara C. A. T., Kabore Z. I., Traore S. A. (2003)- Chemical composition and antibacterial activities of essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. Phytochemistry 62: 209-212.
- Bauer K., Garbe D., Surburg H. (1990)- In commen Fragrance and Flavor Materials, preparation, Properties and Uses, 2nd edn, VCH, Weinheim, P 142.
- Baytop T. (1984)- Treatment with plants in Turkey. Istanbul Univ. Publ. No. 3255, Istanbul. (in Turkish).
- Behera J. N., Rao J. (2006)- A Ni²⁺ (S = 1) Kagome Compound Templated by 1,8 Diazacubane .American of Chemistry Society, 128 (29), 9334 -9335.
- Belaiche P. (1979) - Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme .éd. Maloine. Paris.

- Bendiabdellah A., Dib M. A., Djabou N., Allali H., Tabti B., Costa J, Muselli A. (2012)- Biological activities and volatile constituents of *Daucus muricatus* L. from Algeria. Chemistry Central Journal, 6: 48-58.
- Benjlali B., Tantaoui-Alaraki A., Ayadi A., Ihlal M. (1984).- Method to study antimicrobial effects of essential oils: application to the antifungal activity of six Moroccan essences. Journal of food protection, 47 (10): 748-752.
- Benjlali B., Tantaoui-Elaraki A., Ismaïli-Alaoui M., Ayadi A. (1986) – Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. Plantes médicinales et phytothérapie, 20 (2): 155-167.
- Bernadet M. (2000)- Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed. Dangles. In Benzeggouta N., 2005. Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister, Université de Constantine, 110p.
- Bernstein B. S., Cooper A. R. (1988)- Méthodes analytiques sensibles de diagnostic précoce du vieillissement dans une isolation solide sous contrainte de tension. CIGRE, 1: 1-6.
- Bonnier G. (1990) - La grande flore en couleur .Ed. Belin. Paris.
- Bortolomeazzi R., Sebastianutto N., Toniolo R., and Pizariello A. (2007)- Comparative evaluated of the antioxidant capacity of smoke flavouring phenols by crocin bleaching inhibition, DPPH radical scavenging and oxidation potential. Food Chemistry, 100(4): 1481-1489.
- Boudou L., Guastavino J. (2002)- Influence of temperature on low-density polyethylene films through conduction measurement. Journal of Physics D: Applied Physics, 35: 1555-1561.
- Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Senhajiskli N., Abrini J. (2005) – L'effet antibactérien in vitro de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* vis-à-vis de souches d'origines cliniques. Nouvelles Tendances dans l'Ingénierie Biomédicale. 11: 142-149.
- Bruneton J. (1993)-Pharmacognosie Phytochimies Plantes médicinales.Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p 915.

- Bruneton J. (1999)- Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales. 2ème édition. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Browning D. R. (1971)- Chromatographie, Masson & Cie, Paris, 164 p.
- Burt S. (2004)- Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.
- Burt S. A., Reinders R. (2003)- Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157:H7. Letters in Applied Microbiology, 36: 162–167.
- Camarda L., Di Stefano V. and Pitonzo R. (2008) - Chemical composition of essential oils from *Athamanta sicula*. Chemistry of Natural compounds, 44 (4):532-533.
- Carson C. F., Mee B. J., Rilley T. V. (2002)- Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46(6): 1914-1920.
- Cartier H. (1986)-, Plastiques, Technique de l'Ingénieur.
- Chami F. (2005)- Evaluation *in vitro* de l'action antifongique des huiles essentielles d'origan et de girofle et de leurs composés majoritaires *in vivo* application dans la prophylaxie et le traitement de la *Candidose Vaginale* sur des modèles de rat et de souris immunodéprimés. *Thèse de doctorat*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 266 p.
- Chanchal C. (2001)- Clinical aromatherapy: The medicinal value of volatiles oils, MNIMH, AHG, p 1-18.
- Charchari S., Boutekedjret C. (1994)- Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* Assé provenant de différentes régions d'Algérie, Rivista Italiana EPPOS, 13: 631-633.
- Charles D. J., Simon J. E. (1992)- A new geraniol chemotype of *Ocimum gratissimum*. Journal of Essential Oil Research, 4: 231-234.
- Chavanne M., Jullien A., Beaudoin G. J., Flamand. E. (1986)- Chimie organique, Edition Modulo.

- Cheema A. S., Dhillon R. S., Gupta B. C., Chhabra B. R., Kalsi P. S., Agric P. (1975). Chemical investigation of the terpenoids from *Daucus carota*. L stammenden Terpenoide. Reiche Aromen Koerperpflegem, 25 (5): 138-144.
- Cheng S. S., Chua M. T., Chang E. H., Huang C. G., Chen W. J., Chang S. T. (2009)- Variations in insecticidal activity and chemical compositions of leaf essential oils from *Cryptomeria japonica* at different ages. Bioresource Technology, 100: 465-470.
- Cheng S. S., Liu J. Y., Hsui Y. R., Chang S.T. (2006)- Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*). Bioresource Technology, 97: 306-312.
- Christopher. G. (1991)- Monoterpenes; An easily accessible but neglected class of natural product. Journal of Chemical Education, 68: 267- 268 .
- Cordero C., Bicchi C., Joulin D., Rubiol P. (2007)- Identification quantitation and method validation for the analysis of suspected allergens in fragrances by comprehensive two dimensional GC coupled with quadrupole MS and with FID. Journal of Chromatographie A, 1150: 37-49.
- Cosentino S., Tuberoso C. L., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzedi E. and Palmas F. (1999) – In vitro antimicrobial activity and chemical composition Sardinian Thymus essential oils. Letter Applied Microbiology, 29(2) : 130-135.
- Cretien M. G. (1990)- initiation aux plastiques et aux matériaux composites, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- Cristiani M., D'Arrigo M., Mandalari G., Castelli F., Sarpietro M. G., Micieli. D. (2007)- Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55: 6300-6308.
- Damnjanovic B. M. (2000) -M. Sc. Thesis, Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade, (in Serbian).

- Dash S., Mohanty N. (2001)- Evaluation of assays for the analysis of thermo tolerance and recovery potentials of seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal Plant Physiology*, 158: 1153-65.
- Davies N. W. (1990)- Gas chromatographic retention indexes of monoterpenes and sesquiterpenes on methyl silicone and carbowax 20 M phases. *Journal Chromatography*, 503:1–24
- Davoud S., Sima T., Mehran G., Saeedeh S. A., Mostafa S. N. (2013)- Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 98: 1127– 1136.
- De Billerbeck V. G., Roques C., Vanière P., Marquier P. (2002)- Activité antibactérienne et antifongique des produits à base d’huiles essentielles. *Hygiène*, 10 (3): 248-251.
- De Maack F., Sablier M. (1994)- Couplage chromatographiques avec la spectrométrie de masse. Dossier: P2614. vol papier n°: TA3. Bases documentaires, Techniques d’analyse.
- De Souza E. L., Stamford T. L. M., Lima E.O., Trajano V. N., Filho J. M. B. (2005) – Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48(4): 559-566.
- Deans S.G., Ritchie G. (1987) - Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5:165-180.
- Deba F., Xuan T. D., Yasuda M., Tawata S. (2008) – Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* L. var. *Radiata* *Food Control*, 19: 346-352.
- Delamare A. P. L., Ivete A., Luciana A.S., Sergio E. (2007) – Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in south Brazil. *Food Chemistry* 100: 603-608.
- Delaquis P. J., Stanich K., Girard B., Mazza G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fraction of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oil. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1-2): 101-109.

- Denyer S. P., Hugo W. B. (1991)- Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. Mechanisms of action of chemical biocides: their study and exploitation. Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom, pp.171-187.
- Desjobert J. M., Bianchini A., Tommy P., Costa J., Bernardini A. F. (1997) – Etude d’huiles essentielles par couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Application à la valorisation des plantes de la flore Corse. *Analysis*, 25 (6) : 13-16.
- Desmares C., Laurent A., Delerme C. (2008)- Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. *AFSSAPS*. Anatole, France, 18p.
- Djabou N., Meliani N., Dib M. E. A., Bendiabdellah A, Allali H., Tabti B. (2013)- Preliminary phytochemical screening and antioxidant activities of solvent extracts from *Daucus aureus* Desf., from Algeria. *International Journal of Traditional and Herbal Medicine*,1: 41-44.
- Djarri L., Medjroubi K., Akkal., Elomri A., Seguin E. and Verité P.(2006)- Composition of the essential oil of aerial parts of an endemic species of the Apiaceae of Algeria, *Daucus reboudii* Coss. *Flavour Fragment Journal*, 21: 647-649.
- Dorman H. J. D., Deans S. G. (2000)- Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* , (88): 308-316.
- Dramane S., Witabouna K. M., Kagoyire K. (2010)- Evaluation des activités antimicrobiennes et anti-radicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d’ivoire. *European journal of scientific research*, (40): 307-317.
- Du W. X., Olsen C. W., Avena-Bustillos R. J., McHugh T. H., Levin C. E., Friedman M. (2009)- Effects of allspice, cinnamon and clove bud essential oils in apple films on antimicrobial activities against *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Science*, 74(7):M372-M378.
- Dugo G., Di Giacomo A. (2002)- The genus *Citrus*, Taylor & Francis Publishing, London, 642 pages.

- Duke J. (2009) – Phytochemical and ethnobotanical database. USDA- ARS- NGRI, Belsville Agricultural research center (<http://www.Ars-grin.gov/duke/>).
- Edris A. E., Frrag E. S. (2003)-Antifungal activity of Peppermint and sweet Basil essential oils and their major aroma constituents on some plant pathogenic fungi from the vapor phase. *Nahrung Food*, 47(2): 117-121.
- El Kolli M. (2008) – Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Anthemis pedunculata* Desf., d'*Anthemis punctata* Vahl. et de *Daucus crinitus* Desf. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- El Zakhem M. (2003)- Effets antifongiques des huiles essentielles extraites de l'*Origanum syriacum* L. et de *Salvia libanotica* Boiss et Gaill contre les *Candida* : *albicans*, *holmii*, et *famata*. Mémoire de Diplôme d'Études Approfondies (DEA) en Agroalimentaire et Assurance-Qualité. Institut National Agronomique Paris-Grignon (INA-PG).
- Favier A. (2003) – Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*, 108-115.
- Filiat P. (2012) - Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs, These de docteur en pharmacie diploma d'état. Université Joseph Fouries, Faculté de Pharmacie de Grenoble.
- Flamini G., Cioni P. L., Maccioni S. and Baldini R. (2007)- Composition of the essential oil of *Daucus gingidium* L. ssp. *Gingidium*. *Food Chemistry*, 103 (4): 1237–1240.
- Flexas J., Bota J., Loreto F., Cornic G., Sharkey T. D. (2004)- Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6: 269-279.
- Fournie R. (1990)-Les isolants en électrotechnique. Essais, mécanismes de dégradation, applications industrielles”, Edition Eyroles, Paris.
- Fusesserry S. (1996)-Polyéthylènes basse densité, Techniques de l'Ingénieur, Publication A 3310.

- Gamage G. R., Park H. J., Kim K. M. (2009)- Effectiveness of antimicrobial coated oriented polypropylene/polyethylene films in sprout packaging. *Food Research International*, 42: 832-839.
- Garnero J. (1985)- Les problèmes rencontrés au cours de l'obtention des huiles essentielles : le cas des huiles des labiées (1ère partie). *Phytotherapy*, 13: 5-8.
- Garnero J. (1996)- Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. 17(4): 1167-1170.
- Gauhe E., Hauswirth C. (2006)- Stress oxydant, complémentation nutritionnelle en antioxydants et exercice. *Movement & Sport Sciences*, 2 (58): 43-66.
- Georgetti S. R., Casagrande R., Di Mambro V. M., Azzolini Ana E. C. S., Fonseca Maria J. V. (2003)- Evaluation of the antioxidant activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. *AAPS Pharma Science*, 5 (2): 5p.
- Ghestem A., Seguin E., Paris M., Orecchioni A. M. (2001) - Le préparateur en pharmacie. Dossier 2, -Botanique, Pharmacognosie, Phytothérapie, Homéopathie. Ed. TEC et DOC, Paris.
- Glisic S. B., Misic D. R., Stamenic M. D., Zizovic I. T., Asanin R. M., Skala D. U. (2007)- Supercritical carbon dioxide extraction of carrot fruit essential oil: Chemical composition and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 105 (1): 346-352.
- Gonny M., Bradesi P., Casanova J. (2004)- Identification of the components of the essential oil from wild Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. *Flavour and Fragrance Journal*, 19: 424-433.
- Gouyon P. H., Vernet P., Guillerm J. L and Valdeyron G. (1986)- Polymorphisms and environment. The adaptive value of the oil polymorphisms in *Thymus vulgaris* L. *Heredity*, 57: 59-66.
- Grover G. S. and Rao J. T. (1978)- *In vitro* antimicrobial studies of the essential oil of *Daucus carota*. *Indian Drugs and Pharmaceuticals Industry*, 13 (1): 39-40.

- Ha J. U., Kim Y. M., Lee D. S. (2001)- Multilayered antimicrobial polyethylene films applied to the packaging of ground beef. *Packaging Technology and Science*, 14, 55e62. <http://dx.doi.org/10.1002/pts.537>.
- Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V. (1999)- Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86: 985–990.
- Hamouda T., Baker J. R. (2000)- Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric Gram-negative bacilli. *Journal of Applied Microbiology*, 89: 397-403.
- Han J. H., Castell-Perez M. E., Moreira R. G. (2007)- The influence of electron beam irradiation of antimicrobial coated LDPE/polyamide films on antimicrobial activity and film properties. *Food Science and Technology*, 40: 1545-1554.
- Hannover J. W. (1992)- Applications of terpene analysis in forest genetics. *New Forests*, 6: 159-178.
- Haudin J. M. (1995)- Structure et morphologie des polymères semi-cristallins, Introduction à la mécanique des polymères, Edité par G'Sell C. et Haudin J.M., Institut National polytechnique de Lorraine, Nancy, France, 97-115.
- Hemwimon S., Pavasant P., Shotiprux A. (2007)- Microwave assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda Citrifolia*. *Separation and Purification Technology*. 54: 44-50.
- Herman Alex W., Cochrane N. A., Sameoto D. D. (1993)- Detection and Abundance Estimation of Euphausiids Using an Optical Plankton Counter. *Marine Ecology Progress Series*, 94: 165-173.
- Hernandez Ochoa L. R. (2005) – Substitution de solvants et matières actives de synthèse par une combine « solvant/actif » d'origine végétale. Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- Hiromu K., Kenichi S. and Mitsuo M. (1989) - Composition of essential oil of Kakushitsu (*Daucus carota* L. and *Carpesium abrotanoides* L). *Nippon Nogei Kagaku Kaishi*, 63 (2): 185-188.
- Hogan D. and Kolter L., (2003) – why are bacteria refractory to antimicrobials ? *Current Opinion in Microbiology*, 5 : 472-477.

- Holley R. A., Patel D. (2005)- Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, 22: 273–292.
- Hulin V., Mathot A. G., Mafart P., Dufossé L. (1998) - Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'aromes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.
- Inouye S., Tsuruoka., Watanabe M., Takeo K., Akao M., Nishiyama Y., Yamaguchi H. (1998.)- Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses*, 43 (1): 17–23.
- Jabrane A., Ben jannet H., Harzallah-skhir F., Mastouri M., Casanova J., Mighri Z. (2009)- Flower and Root Oils of the Tunisian *Daucus carota* L. ssp. *maritimus* (Apiaceae): Integrated Analyses by GC, GC/MS, and ¹³C-NMR Spectroscopy, and in vitro Antibacterial Activity. *Chemical Biodiversity*, 6: 881-889.
- Jaleel C. A., Sankar B., Murali P. V., Gomathinayagam M., Lakshmanan G. M. A., Panneerselvam R.(2008)- Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 62: 105-111.
- Jamroz N. U. (2003)- Determination of vinyl acetate (VA) content of ethylene-vinyl acetate (EVA) copolymers in thick films by infrared spectroscopy. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 25: 84-87.
- Jiménez A., Fabra M. J., Talens P., Chiralt A. (2013)- Phase transitions in starch based films containing fatty acids. Effect on water sorption and mechanical behavior. *Food Hydrocolloids*, 30: 408–418.
- Jonkers D., Van Den Broek E., Van Dooren I., Thijs C., Dorant E., Hageman G., Stobberingh E. (1999)- Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 43: 837-839.
- Joulain. D. (1994)- Modern methodologies applied to the analysis of essential oil and other complex natural mixture : use and abuse. *Perfumer & Flavorist*, 19: 5-17.

- Kalembe D., Kunicka A. (2003)- Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current. Medecinal Chemistry*, 10: 813-829.
- Karapandzova M., Stefkov G., Trajkovska-Dokic E., Kaftandzieva A and S. Kulevanova. (2011)- *Macedonia Pharmaceutical Bulletin*, 57: 25-36.
- Kampf G. (1986)- *Characterization of plastics by physical methods*”, Hanser Publishers, Munich.
- Karapandzova M., Stefkov G., Trajkovska-Dokic E., Kaftandzieva A., Kulevanova S. (2011)- Antimicrobial activity of needle essential oil of *Pinus peuce* Griseb. (Pinaceae) from Macedonian flora. *Macedonia Pharmaceutical Bulletin*, 57(1-2): 25-36.
- Kellner W., Kober W. (1954)- Possibilities of the use of ethereal oils for room disinfection. *Arzneimittel Forschung - Drug Research*, 4: 319-325.
- Khajeh M., Yamini Y., Sefidkon F., Bahramifar N. (2004) - Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86: 587-591.
- Khajeh M., Yamini Y., Bahramifar N., Sefidkon F., Pirmoradei M. R. (2005) - Comparison of essential oil composition of *Ferula assa.foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrosistillation methods. *Food Chemistry*, 91: 639-644.
- Khiati M. (1998)- *Guide des maladies infectieuses et parasitaires*. OPU, Alger.
- Kilibarda V., Nanusevic N., Dogovic N., Ivanic R., Savin K. (1996)- Content of the essential oil of the carrot and its antibacterial activity. *Pharmazie* , 51: 777-778.
- Kim J. M., Marshall M. R., Cornell J. A., Preston J. F., Wei C. I. (1995)- Antibacterial activity of carvacrol, citral, and geraniol against *Salmonella typhimurium* in culture medium and on fish cubes. *Journal of Food Science*, 60: 1364-1374.
- Kuete V., Penlap Ben V., Etoa F.X., Modjo S. L., Bogne P., Assob J. C., Lonsi D. (2004)- Activité antimicrobienne de l'extrait total et des fractions de jus de fruits de *Citrus medica* in (Rutaceaa). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaines*, 13: 91-101.

- Kulusic T., Radonic A., katalinic V. and Milos M. (2004)- Use of different methods for the testing activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85: 633-640.
- Kunle O., Okogum J., Egamana E., Emojevwe E., Shok M. (2003)- Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract. *Phytomedecine*, 10(1): 59-61.
- Lagunez-Rivera L. (2006) - Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Lahlou M. (2004)- Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*, 18: 435-448.
- Lamamra M. (2010)- Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif.
- Lamarti A., Badoc A., Deffileux G., Carde J. P. (1994) - Biogénèse des monoterpènes I-localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133: 69-78
- Lambert R. J. W., Skandamis P. N., Coote P., Nychas G. J. E. (2001)- A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91: 453-462.
- Lanfranchi D. A., Laouer H., El Kolli M., Prado S., Maulay-Bailly C., Baldovini N. (2010) Bioactive Phenylpropanoids from *Daucus crinitus* Desf. from Algeria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4): 2174-9.
- Laouer H., Bouheda A., Haroutounian S., Evergetis E., Bouhecrit M., Sahli F. (2013)- Chemical and biological study of essential oils of two populations of algerian *Daucus Setifolius* Desf. *Pharmacognosy communications*. Vol 3.

- Lawrence B. M., Mookherjee B. D and Willis B. J. (1988)- Flavours and Fragrances. A World Prospective, Development in Food Science 18. Els Sci Publisher, Amsterdam.
- Lei Y., oinling W., Clemons C. M., Guno W. (2009)-Phase structure and properties of poly (ethylene terephthalate) high density polyethylene based on recycled materials .Journal of Applied Polymer Science, 1113-1710.
- Li C Y., Jackson R. M. (2002)- Reactive species mechanisms of cellular hypoxia reoxygenation injury. American Journal of Physiology- Cell Physiology, 282: 227–241.
- Lopes N. P., Kato M. J., Aguiar Andrade H., Soares Maia J. G., Yoshida M. (1997)- Orcadian and seasonal variation in the essential oil from *Virola surinamensis* leaves. Phytochemistry, 46: 689-693.
- Lucchersi M. E. (2005)- Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles.Thèse d'Université de la Reunion.
- luicita L. R. (2006)- Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France
- Makhloufi E., Akkal S., Medjroubi K., Elomri A., Laouer H., Verité P and Seguin E. (2013) - Chemical constituents of the extract Algerian *Reutera lutea* (Desf.) Maire, (Apiaceae). Pharmacognosy Communications, Volume 3.
- Mann C. M., Cox S. D., Markham J. L. (2000)- The outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 contributes to its tolerance to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). Letters in Applied Microbiology, 30 (4): 294-297.
- Mansour E. S., Maatooq G. T., Khalil A. T., Marwan E. M. and Sallam A. A. (2004)- Essential Oil of *Daucus glaber* Forssk. Naturforsch, 59: 373-378.
- Marino M., Bersani C., Comi G. (2001)- Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiaceae and Compositae. International Journal of food microbiology, 67: 187-195.

- Maruzzella J. C., Sicurella N. A. (1960)- Antibacterial activity of essential oil vapors. *Journal of American Pharmaceutical Association Science Education*, 49: 692-694.
- Mazzoni V., Tomi F., Casanova J. (1999)- A daucane-type sesquiterpene from *Daucus carota* seed. *oil. Flavour Fragrance Journal*, 14: 268-272.
- Meda A. H. (2005)- *Tropical Medicine & International Health*, Blackwell Synergy, 11 (2): 136-143.
- Meliani N., Dib M. E. A., Djaboua N., Costab J., Allalia H., Tabti B, Muselli A. (2013)- Chemical composition and antimicrobial activity of *Daucus aureus* essential oils from Algeria. *Natural Product Communication*, 6: 835-840.
- Meliani N., Dib M. E. A., Allali H., Tabti B. (2013)- Comparative analysis of essential oil components of two *Daucus* species from Algeria and their antimicrobial activity. *International Research Journal of Biological Sciences*, 2(1): 22-29.
- Milane. H. (2004)- La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres ; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat en Sciences
Domaine : Pharmacochimie, Université Louis Pasteur Strasbourg I.
- Moghaddam M., Omidbiagi R., Sefidkon F. (2007)- Changes in content and chemical composition of *Tagetes minuta* oil at various harvest times. *Journal of Essential Oil Research*, 19(1): 18-20.
- Mohammedi Z. (2006) – Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magistère, Département de biologie, Faculté des sciences, UABB de Tlemcen.
- Moleyar V. and Narassimham P. (1992)– Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, 16: 337-342.
- Molyneux P. (2004) – The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26: 211-219.
- Monasse B. (1990)- *Les théories de la cristallisation des polymers*. *Annales de chimie*. Science des

Matériaux, 15: 173-220.

Moon J. K., Shibamoto T. (2009)- Antioxidant Assays for Plant and Food Components. Journal Of Agric Food Chemistry, 57:1655-1666.

Mukhopadhyay M. (2000)- Natural extracts using supercritical carbon dioxide, USA: CRC Press. 339 pages.

Muriel-Galet V., Cerisuelo J. P., Lopez-Carballo G., Lara M., Gavara R., Hernandez-Munoz P. (2012)- Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. International Journal of Food Microbiology, 157: 195-201.

Nadarajah D., Han J. H., Holley R. A. (2005)- Inactivation of Escherichia coli O157:H7 in packaged ground beef by allyl isothiocyanate. International Journal of Food Microbiology, 99: 269-279.

Nakaso C., Saiwari S., Kaesaman A. (2006)- Rheological properties of maleated natural rubber/polypropylene blends with phenolic modified polypropylene and polypropylene-g-maleic anhydride compatibilizers. Polymer testing, 25(3): 413-423.

Nicole K. B., Marc A. H. (2005)-Post-polymerization functionalization of polyolefins”, Chemical Society Reviews, 34: 267-275.

Nitta K. H., Takayanagi M. (1999)- Role of Tie molecules in the Yielding Deformation of Isotactic Polypropylene, Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, 37: 357-368

Nitta K. H., Takayanagi M. (2000)- Tensile yield of isotactic polypropylene in terms of a lamellar cluster model. Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, 38: 1037-1044.

Nguyen T. T. H., Nguyen X. D., Nguyen T. D., Vu N. L., Le T.C. (1993)- Study and Standardization of Eucalyptus essential oil. Tap Chi Duoc Hoc, 2: 18-20.

Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M. (2006)- Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*. Journal of Food Protection, 69 (5):1046-1055.

- Özer B. C., Özyörük H., Çelebi S. S., Yıldız A. (2007)- Amperometric enzyme electrode for free cholesterol determination prepared with cholesterol oxidase immobilized in poly (vinylferrocenium) film. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2): 262-265.
- Paris M & Hurabielle. (1981) – Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1.Masson. Paris. France.
- Pasquini D., Teixeira E. D. M., Curvelo A. A. D. S., Belgacem M. N., Dufresene A. (2008)-Surface esterification of cellulose fibres: processing and characterisation of low density polyethylene/cellulose fibres composites. *Composites Science Thecnology*, 68(1): 193-201.
- Perry J. J., Staley J.T., Lory S. Microbiologie. (2004)- Cours et questions de révision. Ed. Dunod.
- Peschke E., Von-Olshausen R. (1999)- Cable Systems for high and Extra-high Voltage, Erlangen and Munich, GmbH, Publicis MCD Verlag.
- Pina-Vaz C., Rodrigues A. G., Pinto E., Costa-de-Oliveira S., Tavares C., Salgueiro L., Cavaleiro C., Gonçalves M.J., Martinez-de-Oliveira J. (2004)- Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 18: 73–78.
- Pinilla M. G, Pérez-Alonso M. J, Velasco-Negueruela A. (1995)- Volatile constituents from fruits of *Daucus carota* L. ssp. *gummifer* Hook. fil. *Journal of Essential Oil Research*, 7: 433-435.
- Pranoto Y., Rakshit S. K., Salokhe V. M. (2005)- Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. *Swiss Society of Food Science and Technology*, 38: 859-865.
- Pranoto Y., Salokhe V. M., Rakshit S. K. (2005). Physical and antibacterial properties of alginate-based edible film incorporated with garlic oil. *Food Research International*, 38: 267-272.
- Purchon N. (2001)- La bible de l'aromathérapie. Edition Marabout.
- Quattara B., Simard R. E., Holley R. A., Piette G. J. P., Begin A. (1997)- Antibacterial activity of selected fatty acids and essential oils against six meat spoilage organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 37: 155-162.

- Que S., Linchun M., Xin P. (2006)- Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Research International*, 39: 581-587.
- Rahal K. (2005)- Standardisation de L'antibiogramme en Médecine Humaine à l'Echelle Nationale selon les recommandations de l'OMS, 4^{ème} édition, éd Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.
- Ranga Rao A., Sarada R., Baskaran V., Ravishankar G. A.(2009)- Identification of carotenoids from green alga *Haematococcus pluvialis* by HPLC and LC-MS (APCI) and their antioxidant properties. *Journal of Microbiology. Biotechnol*,19:1333–1341.
- Rault J. (2002)- Les polymères solides, Edition CEPADUES, Toulouse, France.
- Razzaghi-Abyaneh M., Shams-Ghahfarokhi M. K., Kawachi M., Eslamifar A., Schmidt O. J., Schmidt A., Allameh A., Yoshinari T. (2006)- Ultrastructural evidences of growth inhibitory effects of a novel biocide, Akacids^{®plus}, on an aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus*. *Toxicon*, 48: 1075-1082.
- Reichling J., Weseler A. Landvatter U., Saller R. (2002)- Bioactive essential oils used in phytomedicine as antiinfective agents: Australian tea tree oil and manuka oil. *Acta Phytotherapeutica*, 1: 26-32.
- Rhayour K. (2002)- Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- Rios J. L., Recio M. C., Villar A. (1988)- Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 23:127-149.
- Rojas-Graü M. A., Avena-Bustillos R. J., Olsen C., Friedman M., Henika P. R., Martin-Belloso O., Pan Z., Mchugh T. H. (2007)- Effects of plant essential oils and oil compounds on mechanical, barrier and antimicrobial properties of alginate-apple puree edible films. *Journal of Food Engineering*, 81: 634-641.

- Roop K. K., Onkar S. S., Akhileshwar S. (1989)- The essential oil from leaves of *Daucus carota* Linn. var. *sativa*. *Fragrances Flavours*, 11(4): 173-6.
- Ruberto G., Baratta M. T. (2000)- Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, (69): 167–174.
- Russel A. D. (1991) – Mechanisms of bacterial resistance to non-antibiotics: food additives and pharmaceutical preservatives. *Journal of Applied Bacteriology*, 71(3): 191-201.
- Saad H. E. A., El-Sharkawy S. H., Halim A. F. (1995)- Essential oils of *Daucus carota* ssp. *maximus* *Pharmaceutics Acta Helvetiae*, 70: 79-84.
- Salarbachi D., Tajik S., Ghasemlou M., Shojaee-Aliabadi S., Noghabi M. S., Khaksar R. (2013)- Characterization of soluble soybean polysaccharide film incorporated essential oil intended for food packaging. *Carbohydrate Polymers*, 98: 1127-1136.
- Sanchez-Moreno C. (2002)- Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Science and Technology International*, 8: 121-137.
- Sartoratto A. Machado A. L. M., Delarmelina C., Figueira G. M., Cristina M., Duarte T., Rehder V. L. G. (2004) – Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 275-280.
- Scherer R., Godoy H. T. (2009)- Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chemistry*, 112: 654-658.
- Sefidkon F., Abbasi K., Jamzad Z., Ahmadi S. (2007) – The effect of distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *Satureja rechingeri* jamzad. *Food chemistry*, 100: 1054-1058.
- Selke S. E. M., Culter J. D., Hernandez R. J. (2004)-*Plastics Packaging: Properties, Processing, Applications, And Regulations*, 2nd edn: Hanser Gardner Publications.
- Seydim A. C., Sarikus G. (2006)-. Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Research International*, 39: 639-644.

- Sikkema J., De Bont J. A. M., Poolman B. (1995)- Mechanism of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiological Reviews*, 59: 201–22.
- Sinha G. K., Gulati B. C. (1990)- Antibacterial and antifungal study of some essential oils and some of their constituents. *Indian Perfumer*, 34(2): 126–129.
- Sivarooban T., Hettiarachchy N. S., Johnson M. G. (2008)- Physical and antimicrobial properties of grape seed extract, nisin, and EDTA incorporated soy protein edible films. *Food Research International*, 41: 781-785.
- Slamenova D., Masterova I., Labaj J., Horvathova E., Kubala P., Jakubikova J., Wsolova L. (2004)- Cytotoxic and DNA-Damaging Effects of Diterpenoid Quinones from the Roots of *Salvia officinalis* L. on colonic and hepatic human cells cultured *in vitro*. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 94: 282–290.
- Smedberg A., Gustafsson B., Hjertberg T. (2004)- What is Crosslinked Polyethylene”, IEEE, International Conference on Solid Dielectrics, Vol.1: 415-418, Toulouse France, July 5-9.
- Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L. (2001)- The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *Food Microbiol*, 18(4): 463–70.
- Song M. J., Kim N. M. (2003)- Antimicrobial action of *p*-hydroxyphenyl acrylate. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 52: 107-113.
- Souza E. L., Guerr N. B., Stamford T. L. M., Lima E. O. (2006)- Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. *Revista Brasileira de Farmacognasia*, 87 (1): 22-25.
- Srivastava A., Shukla Y. N., Kumar S. (2000)- Recent development in plant derived antimicrobial constituents: A review. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences*, 22(2/3): 349 -405.
- Staniszewska M., Kula J. (2001). Composition of the essential oil from wild *carrot*. L. ssp. *carota* growing in Poland. *Journal of Essential Oil Research*, 13: 439-441.

- Staniszewska M., Kula J., Wieczorkiewicz M., Kusewicz D. (2005)- Essential Oils of Wild and Cultivated Carrots - the chemical composition and antimicrobial activity. *Journal of essential oil research*, 17(5): 579-583.
- Stenhagen E., Abrahamsson S., McLafferty F. W. (1974). *Registry of mass spectral data*. New York: John Wiley & Sons.
- Strang C. (2006) - *Larousse medical*. Ed Larousse.
- Svoboda K. P., Hompton J. B. (1999)- Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflamatoy and other related pharmacological activities. (<http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars>).
- Tamer Fouad M. D. (2003)- Free radicals, Types, sources and damaging reactions, *Internal Medicine Articles*. (<http://www.doctorslounge.com/primary/articles/>)
- Tassou C. C., Nychas G. J. E. (1995)- Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Plistacia ensticus* var. chia) on Gram-positive and Gram-negative bacteria in broth and in model food system. *Biodeterioration and Biodegradation*, 36: 411-420.
- Tavares A. C., Gonçalves M. J., Cavaleiro C., Cruz M. T., Lopes M. C., Canhoto J., Salgueiro L. R.(2008)- Essential oil of *Daucus carota* subsp. *halophilus*: Composition, antifungal activity and cytotoxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 129-134.
- Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. (2005)- Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, 90: 333–340.
- Tiwari B. K; Valdramidis V. P., O'Donnell C. P., Muthukumarappan K., Bourke P., Cullen P. J. (2009)- *Journal of agricultural and food chemistry* , 57: 5987–6000.
- Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C. J., Telser J. (2004)- Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266: 37–56.
- Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., Mazur M. (2006)- Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico Biological Interactions*, 160: 1–40.

- Valne T. J. (1984) - Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences des plantes. Maloine S.A. éditeur. Paris p 544.
- Van Antwerpen P. (2006)- Contribution à l'étude du pouvoir antioxydant de divers agents d'intérêt thérapeutique: Ciblage du système myeloperoxydase / peroxyde d'hydrogène /chlorure. Thèse de doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Académie universitaire Wallonie-Bruxelles.
- Vansant G. (2004) – Radicaux libres et antioxydants: principes de base. Symposium « Antioxydants et alimentation ». Institut Danone.
- Vasconcelos Silva M. G., Craveiro A.A., Abreu Matos F. J., Machado M. I. L., Alencar J. W. (1999)-Chemical variation during daytime of constituents of the essential oil of *Ocimum gratissimum*. *Fitoterapia*, 70: 32-34.
- Vernex-Lozet C. (2011) - Les possibilités de la phytothérapie en Geriatrie canine. Thèse de doctorat Université de Lyon.
- Viale F., Samat J., Metzger G. (1972)- Application de la spectroscopie infrarouge à l'identification et au contrôle des isolants utilisés dans l'industrie électrique", *R.G.E.*, Tome 81, N° 11: 746-756.
- Viljoen A. M., Denirci B., Baser K. H. C., Potgieter C. J., Edwards T. J. (2006) - Micro distillation and essential oil chemistry- a useful tool for detecting hybridisation in *Plectranthus* (lamiaceae). *South African Journal of Botany*, 72: 99-104.
- Vonhippel A. (1961)- Les diélectriques et leur application", traduit par M.Sausade, Edition Dunod, Paris.
- Wannissorn B., Jarikasseem S., Siviwangchai T., Thubthimthed S. (2005) – Antibacterial properties of essential oils from Thai medicinal plants. *Fitoterapia*, 76: 233- 236.
- Weaver D. K., Wells C. D., Dunkel F. V., Bertsch W., Sing S. E., Sriharan S. (1994)- Insecticidal activity of floral. foliar. and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Economic Entomology* , 87(2): 1718-1725.

- Weber F. J. and de Bont J. A. M. (1996)- Adaptation mechanisms of microorganisms to the toxic effects of organic solvents on membranes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 12: 225-245.
- Willem J. P. (2002)- *Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé*. Editions LMV.
- Wojtkowaik B, Chabanel M. (1983)- *Spectrochimie moléculaire*, Technique&Documentation. .
Connaissance de polyéthylène. Documentation technique de la société ELFATCHEM, octobre 1995.
- Wunderlich B. (1973)- *Macromolecular Physics, Volume 1: Crystal structure, morphology, defects*, Academic Press, New York.
- Wunderlich B. (1976)- *Macromolecular Physics, Volume 2: Crystal nucleation, growth, annealing*, Academic Press, New York.
- Wuryatmo E., Klieber A., Scott E. S. (2003)- Inhibition of *citrus* postharvest pathogens by vapor of citral and related compounds in culture. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 2637–40.
- Xianfei X., Xiaoqiang C., Shunying Z., Guolin Z. (2007) - Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Chaenomeles speciosa* from China. *Food Chemistry*, 100: 1312–1315.
- Yayi E., Gbenou J. D., Ahoussi L. A., Moudachirou M., Chalchat J. C. (2004)- *Ocimum gratissimum* L., Siège de variation chimiques complexes au cours du développement. *Comptes Rendus Chimie*, 7:1013-1018.
- Yin W., Ze-Li X., Hong-jun L., Xiang-ying M., Yong-li B. and Yu-xin L. (2006)- Components of Essential Oils in Different Parts of *Daucus carota L. var. sativa Hoffm* . *Chemical Research in Chinese universities*, 22 (3): 328-334
- Zobayed S. M. A., Afreen F., Kozai T. (2007)- Phytochemical and physiological changes in the leaves of St. John's wort plants under a water stress condition. *Environmental and Experimental Botany*, 59: 109-116.

ملخص:

لتوفير طريقة لتنقية هواء المستشفيات بناء على الخصائص المضادة للميكروبات للزيوت الطيارة ، اخترنا زيتين اساسيين *D. aureus* و *R. lutea*. استخلاص الزيوت كان بواسطة التقطير المائي. التحليل الكيميائي لزيت *D. aureus* (سطيف ، قسنطينة و ام البواقي) كشف عن وجود ما بين 45 و 58 مكون. يسيطر عليه Sabinene (30.6%, 36.2%) بالنسبة لزيت *D. aureus* (سطيف و قسنطينة) اما بالنسبة لزيت *D. aureus* (ام البواقي) فالمكون الاساسي هو α pinene (19,4%) . الزيت الاساسي *R. lutea* يتكون من 43 مكون اهمها Sabinene (14.10%) و 4-terpineol (13.59%). كما أظهرت النتائج أن كل من الزيتين *D. aureus* (سطيف و ام البواقي) يحمل نشاط ميكروبي ضد *S. aureus*, *E. coli* و *C. albicans*. أما الزيت *R. lutea* فله نشاطية ميكروبية ضد *S. aureus*, *C. albicans* و *B. subtilis*. باستخدام طريقة التبخير أبدأ كلا الزيتين نشاطية ملحوظة ضد *S. aureus* و *C. albicans*. كما أظهرت اختبارات نشاط مضاد الأكسدة ان كلا الزيتين لديه نشاطية ضعيفة مقارنة بنشاطية مضاد الأكسدة المرجعي BHT. تم مزج الزيت الاساسي *D. aureus* في البوليمير (PEBD) للحصول على افلام لها خاصية ضد الميكروبات. التقنيات التي استخدمت لوصف المزيج (PEBD/EVA/D.aureus) هي IRTF, DSC و تجارب الشد. أظهرت الدراسة ان هذه الافلام لها فعالية ضد الميكروبات *S. aureus*, *E. coli* و *C. albicans* باستخدام طريقة التبخير.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الاساسية ، الانشطة المضادة للميكروبات، تقنية التبخير، البوليمير ، البولي ايثيلين منخفض الكثافة .

Résumé:

Afin de proposer une méthode de purification de l'air des hopitiaux basée sur les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles, nous avons sélectionné deux plantes *D. aureus* et *R. lutea*. L'extraction est effectuée par hydrodistillation. L'analyse des huiles essentielles est réalisée par CPG/SM. L'activité antimicrobienne est mise en évidence par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. L'analyse chimique de *D. aureus* de trois régions de l'Est d'Algerie (Sétif, Constantine et Oum Elbouaghi) a révélée la présence entre 45 et 58 constituants dominés par le Sabinene (30.6%, 36.2%) pour l'huile essentielle *D. aureus* (Sétif, et Constantine). Alors que le constituant majoritaire de l'huile essentielle *D. aureus* (Oum Elbouaghi) est le α pinene (19,4%), L'huile essentielle de *R. lutea* est constituée principalement de 43 constituants majoritaires: sabinene (14.10%) et le 4-terpineol (13.59%). Les huiles de *D. aureus* (Sétif, Oum Elbouaghi) présentent une activité antimicrobienne sur *S. aureus*, *E. coli* et *C. albicans*. L'huile essentielle de *R. lutea* présente un effet antibactérien moyen sur la croissance de *B. subtilis*, *S. aureus* et *C. albicans*. La phase vapeur des huiles essentielles des *D. aureus* et *R. lutea* c'est montrée active sur *S. aureus* et *C. albicans*. Le teste de l'activité antioxydante a montré que les deux huiles possèdent une activité antiradicalaire relativement faible par rapport à celle du BHT. La collection des huiles essentielles *D. aureus* est incorporé dans le polymère PEBD pour avoir des films qui ont des propriétés antimicrobienne par la méthode de micro atmosphère (phase vapeur). Les techniques qui en été utilisées pour la caractérisation des mélanges PEBD/EVA/ *D. aureus* sont: IRTF, DSC et teste de traction. L'étude de l'activité antimicrobienne des films PEBD/EVA/*D.aureus* en phase vapeur, a montré que la phase volatile del' huile essentielle *D. aureus* était active sur *S. aureus* et *C. albicans* et sur *B. subtilis*.

Mots clefs: huiles essentielles, activités antimicrobiennes, micro atmosphère, polymère, PEBD.

Abstract:

To provide a method for purifying air of hospitals based on the properties antimicrobial essential oils, we selected two plants *D. aureus* and *R. lutea*. The extraction is carried out by steam distillation. Analysis of the essential oils is performed by GC / MS. The antimicrobial activity is demonstrated by the diffusion method on agar medium. Chemical analysis of *D. aureus* from three sites in Eastern Algeria (Setif, Constantine and Oum Elbouaghi) revealed the presence between 45 and 58 constituents dominated by sabinene (30.6%, 36.2%) for the essential oil *D. aureus* (Setif and Constantine). While the major constituent of the essential oil *D. aureus* (Oum Elbouaghi) is α pinene (19.4%). The essential oil of *R. lutea* consists mainly of 43 components of which the majority compounds: sabinene (14.10%) and 4-terpineol (13.59%). Essential oils *D. aureus* (Setif, Oum Elbouaghi) exhibit antimicrobial activity on *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*. The essential oil of *R. lutea* has an average antibacterial effect on the growth of *B. subtilis*, *S. aureus* and *C. albicans*. The vapor phase of essential oils *D. aureus* and *R. lutea* has been active on *S. aureus* and *C. albicans*. The tests of antioxidant activity showed that both oils have a relatively low anti-radical activity compared to that of BHT. The collection of essential oils *D. aureus* is incorporated in the polymer to have LDPE Films that have antimicrobial properties by the method of micro atmosphere (steam phase). The techniques that were used for the characterization of blends (LDPE / EVA / *D. aureus*) are: FTIR, DSC and tests traction. The study of the antimicrobial activity of the blends LDPE / EVA / *D. aureus* showed that the volatile phase of essential oil *D. aureus* was active on *S. aureus*, *C. albicans* and *B. subtilis*.

Key words: essential oils, antimicrobial activities, micro atmosphere, polymer, LDPE