



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie HOUARI BOUMEDIENE

FACULTE DE GENIE MECANIQUE ET DE GENIE DES PROCÉDES

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER

En Chimie Industrielle

Spécialité : Energétique des procédés

Présenté par :

Mme Naima SAHRAOUI

Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

*Extraction de l'huile essentielle d'origan :
Origanum glandulosum*

Soutenu le 06/07/2006, Devant le jury composé de :

Président :	Mme Z. BENDJAMA	Professeur (USTHB)
Directeur de thèse :	Melle C. BOUTEKEDJIRET	Professeur (ENP)
Examineurs :	Mme. F. BENTAHAR	Professeur (USTHB)
	Mr S. SEBIH	Professeur (USTHB)
	Mme A. HELLAL	Professeur (ENP)

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Phénomènes de transfert de la Faculté de Génie mécanique et de Génie des procédés de l'Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene, sous la direction scientifique du Professeur **F. BENTAHAR** qui a eu l'amabilité de m'accueillir au sein de son équipe de recherche.

Mes remerciements vont au Professeur **F. BENTAHAR** qui m'a orienté et prodigué ses conseils durant ce travail.

J'exprime particulièrement ma gratitude à ma Directrice de Thèse, **Melle C. BOUTEKEDJIRET**, Professeur à l'Ecole National Polytechnique d'El Harrach. Elle n'a ménagé aucun effort pour m'éclairer de ses précieuses orientations sans jamais manquer au devoir de disponibilité permanente qu'elle m'a témoigné.

Je sais gré à Mme **Z. BENDJAMA**, Professeur à l'USTHB, pour l'honneur qu'elle me fait d'avoir accepté de présider le jury du présent mémoire.

Je remercie également **Mme A. HELLAL**, Professeur à l'Ecole National Polytechnique, d'une part, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et m'avoir permis d'y réaliser une partie de ce travail et de profiter de ses remarques et recommandations fructueuses et, d'autre part, pour avoir accepté d'être Examinatrice dans ce jury.

Une partie de mon travail n'aurait pu s'accomplir, n'étaient-ce les encouragements du Professeur **S. SEBIH** qui m'a généreusement ouvert les portes du Laboratoire d'Analyses chromatographiques de la Faculté de Chimie. Je lui suis aussi reconnaissante de faire partie de mon jury de soutenance.

Je suis très heureuse d'exprimer ma gratitude à **Mme O. KHALFI** Chargée de cours à l'Institut National d'Agronomie d'El Harrach pour son aide et pour m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la réalisation d'une partie de cette étude.

Je ne saurais oublier les judicieux conseils dont j'ai souvent bénéficiés auprès de **Mr.Y.K. BENKAHLA**, Maître de Conférences à la Faculté de Génie mécanique et de Génie des procédés de l'USTHB.

Ma profonde amitié et ma reconnaissance vont à **Mmes N. DAHMANI** et **K. BOUMEDIEN** qui m'ont précieusement accompagnée lors de la réalisation de ma recherche.

Je ne saurais enfin terminer sans remercier tous les membres de l'équipe du Laboratoire des Phénomènes de Transfert pour l'ambiance de travail et de bonne humeur qu'ils m'ont permis de partager. Mes sincères amitiés vont à **N. CHEKIR** et **A. OUNNAR**.

SOMMAIRE

NOMENCLATURE

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------	---

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES	3
I.1. Définition	3
I.2. Répartition et localisation des huiles essentielles	3
I. 3. Propriétés physiques	7
I. 4. Composition chimique	7
I.4.1. Les terpènes	7
I.4.2. Les composés aromatiques	7
I.4.3. Les composés d'origines diverses	8
I.5. Utilisation des huiles essentielles	8
I.6. Procédés d'extraction	8
I.6.1. Procédés mettant en jeu la vapeur d'eau	8
a) Entraînement à la vapeur	9
b) Hydrodistillation	9
I.6.2. Expression	9
II. TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS A L'ORIGAN	9
II.1. Rendement en huile essentielle de l'origan	9
II.2. Composition chimique de différents types d'origan	10
II.3. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et leurs constituants	11
II.4. Propriétés antifongiques des huiles essentielles	14
II.4.1. Activité sur les moisissures	14
II.4.2. Activité sur la toxigenèse	15
II.5. Les propriétés antioxydantes	15
II.6. Les propriétés antivirales	15
II.7. Activité insecticide des huiles essentielles	15
II.7.1. Définition et évaluation de la toxicité	16
II.7.2. Phytothérapie dans la lutte contre les ravageurs de stocks	16
II.7.3. Insecte : <i>Rhizoperta dominica</i>	17
a) Description	17
b) Biologie	17
III. MODELISATION ET OPTIMISATION	18

CHAPITRE II : INSTALLATIONS EXPERIMENTALES ET METHODES DE MESURE ET CALCUL

I. DESCRIPTION DE L' APPAREILLAGE	21
I.1. Entraînement à la vapeur	21
I.2. Hydrodistillation	22
II. PARAMETRES INTERVENANT DANS LES PROCEDES D'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR ET PAR HYDRODISTILLATION	23

II.1. Les variables d'entrée	23
II.2. Les variables de sortie	23
III. INFLUENCE DES PARAMETRES OPERATOIRES	23
III.1. Etude paramétrique	23
III.2. Etude par plan d'expériences	24
IV. METHODES DE CALCUL ET DE MESURE	25
IV.1. Rendement en huile essentielle	25
IV.2. Mesure du taux d'humidité de la plante	26
IV.3. Porosité du lit	26
IV.4. Masse volumique	26
V. ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE	26
V.1. Identification de l'huile essentielle d' <i>Origanum glandulosum</i>	26
V.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle	28
VI. ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE	28
VI.1. Estimation de la DL50	30
VI.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles d'origan par contact	31
VI.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles d'origan par inhalation	32
VII. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES	32
VII.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles	32
VII.1.1 Aromatogramme	32
VII.1.2 Techniques des puits creusés	33
VII.1.3 Estimation de la concentration minimale inhibitrice	33
VII.1.4 Estimation de la concentration minimale bactéricide	33
VII.2. Microorganismes testés	34

CHAPITRE III : RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION

I. ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU	35
I.1. Caractérisation de l'huile essentielle d'origan	35
I.1.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'origan	35
I.1.2. Identification des constituants de l'huile essentielle d'origan	35
I.2. Etude de l'influence des paramètres opératoires	39
I.2.1. Influence du temps d'extraction	39
I.2.1.1. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle	39
I.2.1.2. Influence du temps d'extraction sur la composition en huile essentielle	41
I.2.2. Etude paramétrique	44
I.2.2.1. Influence de la masse de matière végétale	44
I.2.2.2. Influence du débit de vapeur d'eau	45
I.2.2.3. Influence de la porosité du lit	46
I.2.3. Etude par plan d'expériences	47
II. HYDRODISTILATION	53
II.1. caractérisation de l'huile essentielle d'origan	53
II.1.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'origan	53
II.1.2. Identification des constituants de l'huile essentielle d'origan	54
II.2. Etude de l'influence des paramètres opératoires	56
II.2.1. Influence du temps d'extraction	56

II.2.1.1. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle	56
II.2.1.2. Influence du temps d'extraction sur la composition en huile essentielle	58
II.2.2. Etude paramétrique	61
II.2.2.1. Influence de la masse de matière végétale	61
II.2.2.2. Influence du débit de vapeur d'eau	62
II.2.3. Etude par plan d'expériences	63
II.2.3.1. Analyse par le logiciel statgraphic plus	64
II.2.3.2. Evolution des effets individuels et conjugué des paramètres en fonction du temps	65
III. ETUDE COMPARATIVE DES PROCEDES D'EXTRACTION PAR ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU ET PAR HYDRODISTILLATION	67
III.1. Rendement	67
III.2. Cinétique	67
III.3. Analyse	67
IV. APPLICATIONS DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ORIGAN	69
IV.1. Activité insecticide de l'huile essentielle d'origan	69
IV.1.1. Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle d'origan	69
IV.2.1. Détermination des DL50 et CL50	73
IV.2.2. Détermination des DL90 et CL90	74
IV.2. Activité antimicrobienne	75
IV.2.1. Estimation de la concentration minimale inhibitrice	77
IV.2.2. Estimation de la concentration minimale bactéricide	79
IV.2.3. Cinétique d'inhibition de <i>Listeria monocytogenes</i>	80
CONCLUSION GENERALE	83

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Annexe 1 : détermination du taux d'humidité

Annexe 2 : caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle et masse volumique de la plante

Annexe 3 : reproductibilité des résultats et calcul d'erreur

Annexe 4 : activité insecticide

Annexe 5 : activité antimicrobienne

NOMENCLATURE

LETTRE LATINE

a	: identification à l'aide des spectres de masse	—
a_0	: moyenne des effets	—
a_1, a_2, a_k	: effet d'interaction simple	—
$a_{12}, a_{13}, \dots, a_{1k}$: effet d'interaction double	—
a_{12k}, \dots	: effet d'interaction triple	—
b	: identification par les indices de rétention	—
CL50	: concentration nécessaire pour tuer 50% de la population d'insecte	% V
CL90	: concentration nécessaire pour tuer 90% de la population d'insecte	% V
CMI	: concentration minimale inhibitrice	$\mu\text{L/mL}$
d_{20}^{20}	: densité à 20°C	—
DE50	: dose efficace moyenne qui varie le moins d'un échantillon à l'autre	% V
DL50	: dose nécessaire et suffisante pour tuer 50% de la population d'insecte	% V
DL90	: dose nécessaire et suffisante pour tuer 90% de la population d'insecte	% V
F_1	: fraction de l'huile essentielle récupérée après 2,5 minutes d'extraction	
F_2	: fraction de l'huile essentielle récupérée entre 2,5 et 5 minutes d'extraction	
F_3	: fraction de l'huile essentielle récupérée entre 5 et 10 minutes d'extraction	
H	: taux d'humidité	%
H. R	: humidité relative	
HE_t	: huile essentielle totale récupérée après 1h 30 minutes d'extraction	
h_{lit}	: hauteur du lit	cm
I_a	: indice d'acide	
IE	: indice d'ester	
I_p	: indice de rétention	—
k	: nombre de paramètres du plan factoriel 2^n	—
k_E	: constante de vitesse d'extraction (entraînement à la vapeur)	min^{-1}
k_H	: constante de vitesse d'extraction (hydrodistillation)	min^{-1}
m	: masse de matière végétale	g
m_{inf}	: niveau inférieur relatif à la masse	
m_m	: niveau inférieur moyen relatif à la masse	
m_{sup}	: niveau supérieur relatif à la masse	
M	: pourcentage de morts dans la population traitée	%
M_c	: pourcentage de mortalité corrigée	%
M_2	: masse du solvant	g
M_H	: masse humide de la matière végétale	g
M_{HE}	: masse d'huile essentielle	g
M_s	: masse de matière végétale sèche	g
M_t	: pourcentage de morts dans la population témoin	%
n	: différence du nombre d'atomes de carbone entre les alcanes	
n_D^t	: indice de réfraction à 20°C	
N	: nombre d'essais effectués	—
Q	: débit de vapeur d'eau	g/min
Q_{inf}	: niveau inférieur relatif au débit de vapeur d'eau	g/min
Q_m	: niveau moyen relatif au débit de vapeur d'eau	g/min
Q_{sup}	: niveau supérieur relatif au débit de vapeur d'eau	
R_{HE}	: rendement en huile essentielle	%

- dR_{HE}/dt	: vitesse d'extraction	min^{-1}
R_{∞}	: rendement en huile essentielle au temps infini	%
t	: temps de traitement	min
TL50	: temps létal qui donne 50% de mortalité	
tr (x)	: temps de rétention de soluté (x) étudié	
tr (z)	: temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbone qui précède (x)	
tr (z+n)	: temps de rétention de l'alcane à (z+n) atomes de carbone qui suit (x)	
V_1	: volume du pycnomètre vide	cm^3
V_2	: volume du solvant	cm^3
X_1	: variable centrée réduite correspondant la masse de matière végétale	-
X_2	: variable centrée réduite correspondant au débit de vapeur d'eau	-
X_3	: variable centrée réduite correspondant à la porosité du lit	-
Y	: fonction polynomiale relative au rendement en huile essentielle	
z	: nombre d'atome de carbone ($n = 1$)	
Z_j^{\max}	: niveau supérieur	
Z_j^{\min}	: niveau inférieur	
Z_j^0	: centre du plan au niveau fondamental	
ΔZ_j^0	: limite ou intervalle de variation suivant l'axe des Z_j	

LETTRES GRECQUES

μ	: centre de distribution	-
ε	: porosité du lit	-
ε_{inf}	: niveau inférieur relatif à la porosité	-
ε_{m}	: niveau moyen relatif à la porosité	-
ε_{sup}	: niveau supérieur relatif à la porosité	-
ϕ	: diamètre de la colonne	cm
ρ_s	: masse volumique de la matière végétale	g/cm^3
ρ_2	: masse volumique du solvant ajouté	g/cm^3
σ^2	: variance	-

ABREVIATION

AM	: Ampicilline
AMP B	: Amphotéricine B
AMX	: Amoxicilline
ATB	: Antibiotique
CG	: chromatographie en phase gazeuse
CG/SM	: chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
FID	: détecteur à ionisation de flamme
HE	: huile essentielle
IR	: indice de rétention
OFX	: Ofloxacin
OX	: Oxacilline
R_{ef}	: référence
UFC/mL	: unité formant colonie par millilitre de solution

Introduction générale

INTRODUCTION GENERALE

La relation entre l'homme et son milieu naturel remonte aux origines du monde. L'être humain a toujours puisé dans le monde végétal aussi bien pour sa nourriture que pour ses rites religieux. Très tôt, l'observation et les méthodes empiriques lui ont également appris à connaître et utiliser, notamment pour ses soins divers, les vertus médicinales des plantes et celles des huiles essentielles. L'usage des huiles essentielles de plantes comme remèdes constitue une thérapeutique basée sur un savoir médical accumulé au cours de plusieurs millénaires d'expérimentations.

Depuis l'antiquité, une grande variété de ces huiles était utilisée pour leurs parfums, leurs arômes et leurs propriétés de préservation des aliments. C'est au Moyen Orient ainsi qu'en Extrême Orient que les huiles essentielles ont d'abord été utilisées. La médecine « Ayurveda » originaire de l'Inde en fait un usage important. L'apparition de l'aromathérapie remonterait à 5000 ans avant J.C. Des hiéroglyphes évoquent des formules de préparations médicinales utilisées par les prêtres égyptiens. Cependant, les historiens grecs et romains n'ont mentionné que l'huile essentielle de térébenthine [1].

L'histoire des plantes aromatiques est associée, sur tous les continents, à l'évolution des civilisations (Egypte, Chine, Inde, Arabie, Grèce...). La première extraction de cèdre aurait été pratiquée par distillation en Egypte ancienne. C'est en Arabie que les techniques de distillation ont commencé et qu'elles ont aussi été perfectionnées. Au Moyen Âge, les Arabes redécouvrent la technique d'extraction des plantes aromatiques et contribuent largement au perfectionnement de cet art. Ce serait les croisés qui ont rapporté ces techniques en Occident. Les méthodes d'extraction par la vapeur restent encore les meilleurs procédés pour conserver les parfums des plantes aromatiques et leurs capacités thérapeutiques.

L'essor de la chimie, au XIX^{ème} siècle, marque une interruption dans l'évolution de l'usage des huiles essentielles qui s'éclipsent presque totalement au profit des substances de synthèse. De nos jours, près de 4000 substances odorantes ou gustatives artificielles sont fabriquées mais certains composants chimiques des huiles essentielles ne peuvent toujours pas être imités. L'arôme des huiles essentielles, qui se bonifie avec le temps, est, lui aussi, plus intéressant que celui des huiles synthétiques dont l'odeur n'évolue pas. En revanche, les vertus thérapeutiques et les odeurs issues du monde animal sont bien préservées grâce aux huiles de synthèse. L'ambre, le musc, la civette et le castoréum provenant du chevroton, du cachalot ou du castor respectivement sont largement utilisés en parfumerie.

Grâce à quelques grands noms qui ont permis une évolution des connaissances scientifiques et cliniques, l'utilisation des huiles essentielles connaît, cependant, actuellement, un renouveau et retrouve ses lettres de noblesse, un peu partout dans le monde.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche, peu étudié, peu exploité et forcément peu valorisé. Notre présent travail ambitionne modestement, à travers l'étude d'une plante en l'occurrence l'origan *Origanum glandulosum* (**Desfontaines**), de contribuer à lever une part du voile sur le profit que pourrait tirer notre pays de ses ressources végétales.

Origan, *Origanum glandulosum* (**Desfontaines**) en latin, zaateur en arabe et en berbère, est une plante aromatique et médicinale spontanée endémique du Tell algérien et en Tunisie. Vu la large distribution géographique de l'origan à travers le monde et son

immense variabilité génétique, la classification de ses différentes espèces et variétés a été très délicate. Dans sa révision du genre *Origanum*, **Letswaart** [2] a décrit 49 espèces appartenant à 10 sections différentes, deux de ces espèces sont spontanées en Algérie : *Origanum glandulosum* (**Desfontaines**) et *Origanum floribundum* (Mumby) [3]. *Origanum glandulosum* (**Desfontaines**) appartient à la famille des Lamiacée et la sous famille des Stachyoideae. C'est une plante herbacée caractérisée par son arôme agréable, elle est largement utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés sédatives, antispasmodiques, expectorantes et carminatives. Par ailleurs, des études menées sur d'autres espèces d'origan en l'occurrence *Origanum vulgare* [4, 5, 6, 7], *Origanum marjorana* [8, 4], *Origanum dictamnus* [4], *Origanum calcaratum* [9], *Origanum scabrum* [9] et *Origanum floribundum* [10] ont mis en évidence le caractère antibactérien, antifongique et antioxydant de leurs huiles essentielles.

Le choix de cette plante a été motivé par le fait que les travaux relatifs à cette espèce sont rares voire inexistants. Nous nous sommes donc proposés d'en extraire l'huile essentielle.

Nous réaliserons notre étude à l'aune des deux importants procédés d'extraction que sont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation et que nous optimiserons au moyen d'une étude paramétrique et par plan d'expériences. Nous étudierons par la suite les propriétés insecticides et antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite par l'entraînement à la vapeur d'eau.

Notre étude est articulée autour de trois chapitres. Consacré à la revue bibliographique, le premier chapitre présente les coupes histologiques de l'origan ainsi que des généralités sur les huiles essentielles et leurs activités antimicrobiennes et insecticides.

Quant au deuxième chapitre il est consacré à la présentation des installations expérimentales et des méthodes de mesures et de calcul des différents paramètres. La présentation et la discussion des résultats expérimentaux quant à eux feront l'objet du troisième chapitre.

Chapitre I :

Revue bibliographique

CHAPITRE I :

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. GENERALITES SUR LES HUILES ESSENTIELLES

I.1. Définition

Les huiles essentielles sont des composés de produits odorants et volatiles d'origine végétale obtenues par entraînement à la vapeur d'eau ou par expression à froid du péricarpe frais de certains Hespérides [11] mais cette définition est très restrictive et n'est pas toujours acceptée car elle exclue, d'une part, les produits odorants d'origine animale et, d'autre part, les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction. Elles occupent une place considérable sur le marché de la pharmacie, des produits d'hygiène, de l'industrie cosmétique, de la parfumerie ainsi que de nombreux secteurs de l'agroalimentaire.

Notons que la notion d'arôme est à la fois différente et plus vaste que celle des huiles essentielles puisqu'elle s'applique à tout principe odorant qui émane de substances naturelles ou qui est engendré par un processus physique, chimique ou enzymatique (café torréfié, viande grillée, poisson, fromage...).

I.2. Répartition et localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal avec des familles à haute teneur en matières odorantes. Dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes, la composition des essences pouvant varier d'un organe à l'autre. On obtient, par exemple, deux huiles essentielles différentes pour la feuille et la fleur du citronnier [12].

La production et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence de structures supérieures. Le plus souvent, celles-ci sont regroupées en poches chez les *Rustacées* et les *Myrtacées*, en canaux sécréteurs chez les *Apiacées* et les *Asteracées*, en poils sécréteurs chez les *Lamiacées*, ou en cellules à essence chez les *Lauracées* et les *Zingibéracées* [13]. Quantitativement, la teneur des plantes en huile essentielle est généralement faible ; elle est de l'ordre de 1% avec quelques exceptions comme dans le cas du bouton floral du giroflier où le taux en huiles essentielles atteint 15 % [14].

Dans beaucoup de plantes aromatiques, les huiles essentielles sont localisées dans les poils glandulaires qui se développent à la surface des feuilles et autres organes des plantes. Selon **Werker** et *al.*[15], ces poils pelletés contiennent une grande partie des huiles et sont désormais appelés "glandes".

Les huiles essentielles se séparent par synérèse, sous forme de petites gouttelettes qui confluent ensuite en plages plus ou moins étendues. Elles sont ensuite accumulées sous la cuticule, dans les glandes sécrétrices situées au niveau des deux épidermes. Ainsi, la cuticule joue un rôle important dans le stockage des huiles essentielles [16].

Basabalidis et *al.*[17], ont montré que les feuilles d'origan contiennent de nombreux poils glandulaires exogènes. Ils se présentent sur les deux faces et sont composés d'un pédicelle unicellulaire et d'une tête sécrétrice à 12 cellules produisant l'huile essentielle.

Pour mieux localiser l'huile essentielle de l'espèce étudiée (*Origanum glandulosum*), des coupes histologiques ont été réalisées par Krim au laboratoire de

biologie végétale de la Faculté de biologie de l'université des sciences et de technologie Houari Boumediene (USTHB).

Les coupes ont été réalisées au niveau de sommités fleuries, de feuilles et de tiges. Elles révèlent la présence de poils sécréteurs de différentes tailles (uni ou pluricellulaire), l'ensemble est couvert par un tissu de revêtement protecteur. Ce dernier recouvre aussi tous les organes aériens par une substance lipidique imperméable appelé cuticule.

Les coupes transversales effectuées au niveau de la feuille révèlent la présence sur les deux faces supérieure et inférieure de poils glandulaires plus nombreux au sommet qu'au niveau médian et basal. Ces poils glandulaires sont situés dans des cavités et protégés par des poils tecteurs pluricellulaires, (figures 1 et 2).

L'observation des coupes longitudinales réalisées au niveau de la tige met en évidence la présence des poils tecteurs et sécréteurs superficiels uniformément répartis.

Les coupes effectuées au niveau des sommités fleuries révèlent également la présence à la surface de poils glandulaires. Ces derniers sont plus nombreux comparés à ceux observés au niveau des coupes de la feuille et de la tige (figures 4 et 5).

En conclusion, nous pouvons confirmer que l'espèce étudiée est à sites exogènes.



(1) : Poil glandulaire ; (2) : La cuticule ; (3 et 5) : Cellules épidermiques de la face supérieure et inférieure respectivement ;
(4) : Parenchyme palissadique

Figure 1 . Coupe transversale d'une feuille basale d'origan à poil glandulaire vidé observée au microscope photonique (vu de profil G x 200).



Figure 2. Coupe transversale d'une feuille basale d'origan mettant en évidence un poil glandulaire observée au microscope photonique (vu de profil G x 200).

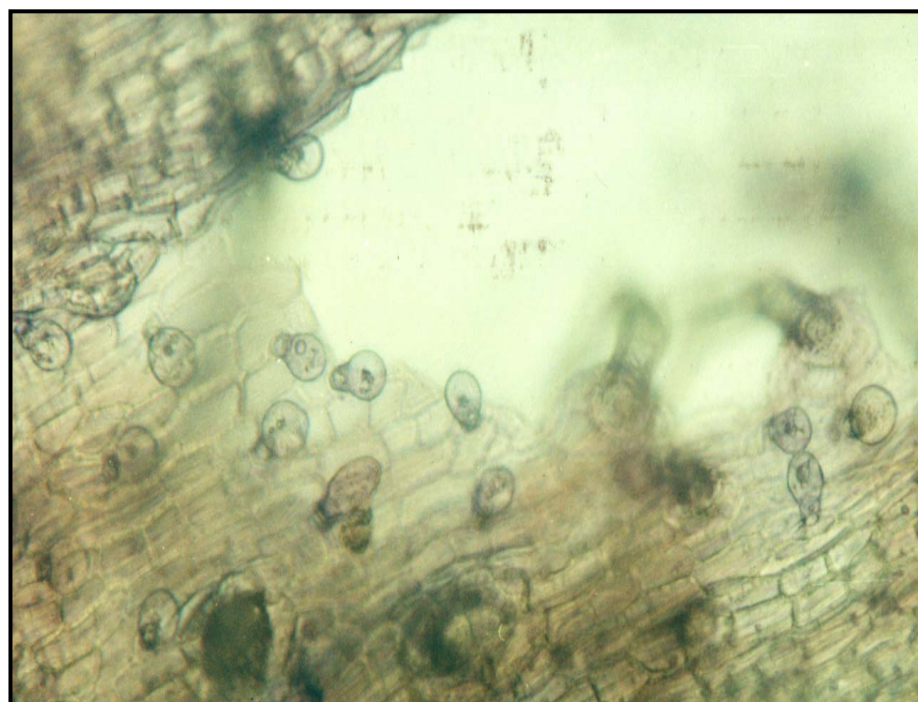


Figure 3. Coupe transversale d'une tige au sommet de l'origan mettant en évidence des poils bicellulaires de (G x100).



Figure 4. Coupe transversale d'une sommité fleurie mettant en évidence des poils bicellulaires (G x 200).



Figure 5. Coupe transversale d'une sommité fleurie mettant en évidence des poils glandulaires (G x 100).

I. 3. Propriétés physiques

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles présentent un certain nombre de caractères communs. Elles forment un groupe homogène quant à leurs propriétés physiques:

- Ce sont généralement des liquides à température ambiante ;
- Leur volatilité et leurs caractères odorants les opposent aux huiles fixes (lipides) ;
- Elles sont incolores à jaune pâle à quelques exceptions. telle que les huiles essentielles de camomille romaine (*anthémis nobilis*) dont la couleur bleu clair est due à la présence de chamazulène ;
- Leur densité est inférieure à l'unité ;
- Leur indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élevés ;
- Elles sont peu polaires donc peu solubles dans la plupart des solvants organiques ;
- Elles sont également très sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser pour former des produits résineux. [14]

I. 4. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes dont les constituants sont presque exclusivement de deux types: des composés terpéniques et des composés aromatiques [14].

Les composés terpéniques sont des produits du métabolisme secondaire. On distingue principalement les monoterpènes (C_{10}) et les sesquiterpènes (C_{15}). Plusieurs milliers de composés ont été décrits et sont classés selon leur nombre de cycles (composés acycliques, mono et bicycliques) et selon la nature des fonctions qu'ils portent (alcool, aldéhyde, cétone, éther-oxyde) [14].

Les composés aromatiques sont beaucoup moins fréquents ; ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent (acide, ester, phénol, éther phénolique) [14].

I.4.1. Les terpènes

Les terpènes rencontrés dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatiles, c'est à dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée. Ce sont les mono et sesquiterpènes.

Les monoterpènes: les carbures monoterpéniques sont presque toujours présents. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (α et γ -terpinène, p-cymène) ou bicycliques (pinène, camphène, sabinène). Ils constituent parfois plus de 90% des huiles essentielles (citrus, térébenthines). En plus de ces carbures, plusieurs molécules fonctionnalisées sont rencontrées telles que les alcools, les aldéhydes, les cétones, les esters, les éthers, les peroxydes et les phénols [13]. Les monoterpènes sont des stimulants du système immunitaire ayant une action révulsive sur la peau. Utile en cas de douleurs localisées, ils sont donc antalgiques à action percutanée.

Les sesquiterpènes constituent les mêmes familles chimiques rencontrées dans la série des monoterpènes à savoir les carbures (β -bisabolène, β -caryophyllène...), les alcools (farnesol, carotol), les cétones (nootkatone, β -vétivone), les aldéhydes (sinensales) et les esters (acétate de cédryle) [13]. Les sesquiterpènes sont légèrement hypotenseurs, colorants et anti-inflammatoires.

I.4.2. Les composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C_6-C_3) sont beaucoup moins fréquents que les précédents. Ce sont très souvent des allyles et propenylphénols, parfois

des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'*Apiaceae* (anis, fenouil, persil...).

I.4.3. Les composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînable lors de l'hydrodistillation tels que: les carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones [13].

I.5. Utilisation des huiles essentielles

Actuellement les huiles essentielles trouvent leur utilisation dans différents secteurs, Si celui de la parfumerie est leur débouché principal, ceux des produits d'hygiène et de la cosmétologie sont également de grands consommateurs, même si le coût, souvent élevé, des produits naturels conduit à privilégier les produits synthétiques. Certaines huiles essentielles sont aussi utilisées en nature dans l'industrie pharmaceutique, en particulier pour la préparation d'infusions et sous forme de préparations galéniques simples. De plus, elles servent à l'aromatisation de certaines formes médicamenteuses administrées par voie orale. Les essences naturelles constituent le support d'une thérapeutique particulière: l'aromathérapie. En effet, l'utilisation des huiles essentielles dans ce domaine représente plus de 2% du marché [18].

Les huiles essentielles trouvent également une application dans d'autres industries telles que les industries agro alimentaires comme arômes [19] et les industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des huiles essentielles).

S'agissant de l'origan objet de notre étude, il est utilisé en Italie comme condiment qu'on saupoudre sur les mets et les pizzas. En Grèce, toutes les espèces sauvages portent le nom collectif de Rigani et sont grillées avec la viande et le poisson, leur amertume contrarie l'effet indigeste de l'huile d'olive [20].

En Algérie, c'est une plante médicinale qui jouit d'une grande ferveur populaire. Ses propriétés sont multiples : sédatif, expectorant, antispasmodique, carminatif. On cueille les extrémités fleuries qu'on utilise en infusion comme remède de la toux et des affections des voies respiratoires ainsi que pour calmer les spasmes de l'estomac et les coliques. Ses extrémités fleuries contiennent une essence constituée de plusieurs composés dont le thymol et le carvacrol. Elle a des propriétés antibactériennes, anti-infectieuses et énergisantes. Elle est employée en phytothérapie, aromathérapie et parfumerie.

I.6. Procédés d'extraction

Plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles et des principes aromatiques végétaux sont à ce jour connues. Toutefois les normes liées à l'utilisation de ces essences limitent en général le choix de la méthode d'extraction. En effet, la localisation histologique des composés aromatiques dans le végétal ainsi que la destination finale du produit extrait peuvent orienter le choix technologique. Les méthodes d'extraction sont adaptées aux propriétés les plus importantes des huiles essentielles notamment leur volatilité dans l'air et dans la vapeur d'eau et leur solubilité dans les solvants organiques.

I.6.1. Procédés mettant en jeu la vapeur d'eau

Ces procédés sont basés sur le fait que la plupart des composés odorants volatiles (en particulier les huiles essentielles) contenus dans le végétal sont susceptibles d'être

entraînés par des aérosols de vapeur d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Ils ne sont donc ni retenus (par et dans les bio polymères de la plante), ni solubles dans l'eau. Il existe deux types de procédés : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation.

a) Entraînement à la vapeur

Appelé parfois « distillation à la vapeur », l'entraînement est une méthode de séparation et/ou de purification fondée sur les équilibres de changement d'état liquide/vapeur sans rectification et le plus souvent, en présence de vapeur d'eau. Il est applicable aux composés peu ou pas solubles dans l'eau et dotés d'une tension de vapeur assez importante vers les 100°C.

Les parties de la plante à distiller sont placées dans une colonne traversée par de la vapeur d'eau. L'huile essentielle du végétal est entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange huile essentielle et de vapeur d'eau est ensuite condensé. L'huile essentielle étant de densité plus faible que l'eau, elle surnage. Il est alors possible de la récupérer en la séparant de ce que l'on appelle l'hydrolat.

Cette technique d'extraction de l'huile essentielle garantit une excellente qualité du produit et préserve toutes ses vertus.

b) Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une technique très ancienne elle est basée sur le même principe que l'entraînement à la vapeur d'eau, la seule différence est que dans ce cas la matière végétale baigne dans l'eau. L'ensemble est porté à ébullition, la vapeur d'eau entraîne les éléments odorants et passe ensuite dans un système de refroidissement. On obtient à la fin un mélange d'eau plus l'huile essentielle. Les deux ayant des densités différentes et l'huile n'étant pas hydrosoluble, elle surnage et elle est récupérée par décantation. L'extraction se fait dans des conditions agressives vis à vis de l'huile essentielle qui peut subir l'influence de réactions secondaires (hydrolyse, élimination, cyclisation, réarrangement), favorisées par la température de 100°C, ainsi que la durée de l'hydrodistillation [21].

I.6.2. Expression

Cette méthode est employée pour des essences d'écorces de fruits tels la bergamote, le citron, l'orange. Les fruits sont pelés et l'écorce est pressée pour en obtenir l'essence. A ces méthodes s'ajoutent diverses manipulations telles que rectification, fractionnement, décoloration, qui améliorent et raffinent encore les nombreuses matières premières devant servir à la composition et à la fabrication des parfums. L'inconvénient majeur de cette méthode reste cependant les faibles valeurs de rendement obtenu. Néanmoins, elle présente l'avantage de donner des produits de haute qualité [22].

II. TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS A L'ORIGAN

II.1. Rendement en huile essentielle de l'origan

D'après **Garland [20]**, toutes les espèces d'origan renferment en quantité variable une huile essentielle fortement aromatique. On extrait environ 1,8 % d'huile essentielle à partir des feuilles et des sommités fleuries. Cependant, la qualité et la quantité de l'huile extraite varient selon la génétique de la matière végétale, la période de récolte, les procédés d'extraction et surtout les conditions de l'environnement.

Vokou et al [23], Kokkini et al [24] et Karousou [25] ont établi une classification des différentes espèces du genre *Origanum* en se basant sur le rendement en huile essentielle. A cet effet, trois groupes principaux peuvent être distingués :

- *Origanum calcaratum* : espèces ayant une teneur très faible en huile essentielle, généralement inférieure à 0,5%.
- *Origanum microphyllum* : espèces ayant une teneur qui varie entre 0,5 et 2 %
- *Origanum hirtum* : espèces très riches en huile essentielle, dont la teneur dépasse les 2 %.

II.2. Composition chimique de différents types d'origan

Les propriétés des huiles essentielles dépendent de leurs composants biochimiques. La complexité de chaque huile essentielle naturelle et pure (qui peut contenir de 10 à 250 composants) explique la polyvalence d'action de la plupart d'entre elles.

Néanmoins, un grand nombre de composants reste inconnu. Or, ce sont souvent ces molécules non identifiées, contenues à doses infinitésimales, qui font la différence entre les vraies huiles essentielles (les seules acceptables pour la santé humaine car elles contiennent le totum de la partie aromatique de la plante) et les essences (produits extraits des huiles essentielles dénaturées ou reconstituées). Le tableau I résume les résultats de l'étude de la composition chimique de plusieurs espèces d'origan et l'identification des composés majoritaires pour chaque échantillon analysé.

Tableau I : Principaux composés de certaines espèces d'origan.

Principaux composés	Espèces	Auteurs	Réf
Linalol, terpinen 4-ol binene hydrate.	<i>Origanum majorana</i>	Fisher et al., 1987	[26]
Carvacrol et/ou thymol	<i>Origanum hirtum</i> <i>Origanum onites</i>	Kokkini et Vokou, 1989 Kokkini et al., 1991 Vokou et al., 1988 et 1993 Ruberto et al., 1993	[27] [24] [23] [28]
thymol Carvacrol γ - terpinène p-cymène	<i>Origanum vulgare</i>	Lawrence, 1984 Prudent et al., 1995 Charai et al., 1996 Sivroupoulou et al., 1996 Kokkini et al., 1997 Russo et al., 1998 Daferera et al., 2000 Demetzos et Perdetzoglou, 2001 Marino et al., 2001	[29] [30] [31] [32] [27] [33] [4] [9] [34]
Carvacrol et thymol	<i>Origanum floridundum</i>	Hoppe, 1958	[35]
Carvacrol et thymol	<i>Origanum virens</i>	Hohmann, 1986	[36]
Carvacrol, terpinen 4-ol, α - terpinéol, γ -terpinène,p- cymène et thymol.	<i>Origanum compactum</i>	Benjilali, 1986	[37]

L'activité antimicrobienne a été rapportée dans plusieurs travaux de recherche. L'huile essentielle d'origan a un effet bactéricide contre *Erwina amylovora* (scortichni et Rossi,1993)[38] ainsi que beaucoup d'autres bactéries telles que *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus faecalis* [39].

Duke [40], Harborne et Baxter [41], déclarent que certaines propriétés médicinales de l'huile essentielle de l'origan pourraient être liées à la présence de certains composés, à savoir :

- γ -terpinène comme insectifuge ;
- caryophyllène comme bactéricide, fongicide et herbicide ;
- Carvacrol comme vermifuge anti- inflammatoire ;
- Bornéol comme antiseptique nématocide et inhibiteur de prostaglandine.

II.3. Propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et leurs constituants

Les premières expériences sur les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles ont été entreprises par **Boyle [42]**. Cependant, c'est au $\text{IX}^{\text{ème}}$ et $\text{XX}^{\text{ème}}$ siècle que les huiles essentielles ont connu une utilisation progressive dans le domaine médical [1].

Deans et Ritchie [43] ont étudié l'effet de 50 huiles essentielles de plantes sur 25 genres de bactéries à quatre concentrations différentes grâce à une méthode de contact direct en milieu solide qui est la méthode des puits. Sous leur forme non diluée, toutes les huiles essentielles inhibent au moins un genre bactérien. Les neuf huiles essentielles manifestant les propriétés inhibitrices les plus importantes sont les huiles essentielles de l'angélique, du laurier, de la cannelle, du clou de girofle, du thym, de l'amande amère, de la marjolaine, du piment et du géranium. Elles inhibent plus de 20 genres de bactéries testées.

Smith-Palmer et al. [44] ont étudié les propriétés antimicrobiennes de vingt et une huiles essentielles de plantes et deux essences contre cinq importantes bactéries pathogènes portées par les aliments dont *Campylococcus aureus*. Les résultats de leurs études montrent que les huiles de laurier, de la cannelle, du clou de girofle et du thym étaient les plus inhibitrices. La concentration bactériostatique est égale à 0.075% contre chacune des bactéries pathogènes.

Le tableau II regroupe un travail de synthèse effectué par **Burt [45]** sur les valeurs des concentrations minimales inhibitrices (C.M.I) d'huiles essentielles de plante testées contre certaines bactéries pathogènes.

Tableau II : Concentrations minimales inhibitrices (C.M.I) approximatives de certaines huiles essentielles. [45]

Plante	Bactérie	C M I ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Auteurs	Réf
Romarin	<i>Escherichia coli</i>	4,5 – >10	Farag et al., 1989 Smith-Palmer et al., 1998 Hammer et al., 1999 Pintore et al., 2002	[46] [44] [47] [48]
	<i>Salmonella typhimurium</i>	>20	Hammer et al., 1999	[47]
	<i>Bacillus cereus</i>	0,2	Chaibi et al., 1997	[49]
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,4 – 10	Farag et al., 1989 Smith-Palmer et al., 1998 Hammer et al., 1999 Pintore et al., 2002	[46] [44] [47] [48]

Plante	Bactérie	C MI (µL/mL)	Auteurs	Réf
Origan	<i>L. monocytogenes</i>	0,2	Smith-palmer et al., 1998	[44]
	<i>E. coli</i>	0,5 – 1,2	Prudent et al., 1995	[30]
			Hammer et al., 1999	[47]
			Burt et Reinders, 2003	[50]
<i>S. typhimurium</i>	1,2	Hammer et al., 1999	[47]	
	<i>Staph aureus</i>	0,5 – 1,2	Prudent et al., 1995	[30]
			Hammer et al., 1999	[47]
Thym	<i>L. monocytogenes</i>	0,3	Smith-Palmer et al., 1998	[44]
	<i>E. coli</i>	0,4 – 1,25	Farag et al., 1989	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998	[44]
			Cosentino et al., 1999	[51]
			Hammer et al., 1999	[47]
<i>S. typhimurium</i>	0,45 – >20	Cosentino et al., 1999 Hammer et al., 1999	[51] [47]	
	<i>Staph aureus</i>	0,2 – 2,5	Farag et al., 1989	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998	[44]
			Cosentino et al., 1999 Hammer et al., 1999	[51] [47]
	<i>L. monocytogenes</i>	0,156 – 0,45	Firouzi et al., 1998 Smith-Palmer et al., 1998 Cosentino et al., 1999	[52] [44] [51]
Clou de girofle	<i>L. monocytogenes</i>	0,2	Smith-Palmer et al., 1998	[44]
	<i>E. coli</i>	0,4 – 2,5	Farag et al., 1989	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998	[44]
			Hammer et al., 1999	[47]
<i>S. typhimurium</i>	> 20	Hammer et al., 1999	[47]	
	<i>Staph aureus</i>	0,4 – 2,5	Farag et al., 1989 ;	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998	[44]
			Hammer et al., 1999	[47]
Sauge	<i>E. coli</i>	3,5 – 5	Farag et al., 1989	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998 Hammer et al., 1999	[44] [47]
	<i>S. typhimurium</i>	10 – 20	Shelef et al., 1984 ; Hammer et al., 1999	[53] [47]
	<i>Staph aureus</i>	0,75 – 10	Shelef et al., 1984	[53]
			Farag et al., 1989	[46]
			Smith-Palmer et al., 1998 Hammer et al., 1999	[44] [47]
Buisson de Thé	<i>E. coli</i>	2,5 – >80	Basole et al., 2003	[54]
	<i>Shigella dysenteria</i>	5 – >80	Basole et al., 2003	[54]
	<i>Staph aureus</i>	0,6 – 40	Basole et al., 2003	[54]
	<i>B. cereus</i>	5 – 10	Basole et al., 2003	[54]
Verveine des indes	<i>E. coli</i>	0,6	Hammer et al., 1999	[47]
	<i>S. typhimurium</i>	2,5	Hammer et al., 1999	[47]
	<i>Staphy aureus</i>	0,6	Hammer et al., 1999	[47]
Safran des indes	<i>E. coli</i>	> 0,2	Negi et al., 1999	[55]
	<i>B. cereus</i>	0,2	Negi et al., 1999	[55]

Ces études et beaucoup d'autres, comme celle de **Morris et al. [56]**, **Paster et al. [57]**, et **Canillac et Mourey [58]**, confirment les propriétés antibactériennes de certaines huiles essentielles. Cependant, les huiles essentielles des plantes sont souvent des mélanges complexes de différents composés dont certains, sinon tous, sont dotés de propriétés antimicrobiennes. Par conséquent, leurs propriétés antimicrobiennes varient également. Il est donc important de séparer et d'identifier les composants actifs présents dans une huile qui a des pouvoirs inhibiteurs.

Après séparation et identification des différents composés, **Katayama et Nagai [59]**, **Jay et Rivers [60]**, **Karapinar et Aktug [61]**, **Knobloch et al. [62]**, **Moleyar et Narasimham [63]**, **Conner [64]**, **Dorman et Deans [65]** et **Inouy et al. [66]**, ont démontré que différents constituants des huiles essentielles possèdent des activités antimicrobiennes. Les composants montrant un large spectre d'activité sont le thymol suivi du cavacrol, du α -terpinéol, du terpinène-4-ol, de l'Eugénol, du (\pm)-linalool, du (-)-thujone, du δ -3-carène, du β -pinène, du R(+)-limpnène, du α -pinène, du α -terpinène, du bornéol, du (+)-sabinène, du γ -terpinène, du citronellal, du terpinolène, du 1,8-cinéole, de l'acétate de bornyl, de l'éther méthyl carvacrol, du myrcène, du β -caryophyllène, de l' α -bisabolol, de l' α -humulène, du β -ocimène, de l'aromadendrène, du p-cymène.

Les résultats de l'étude de **Cosentino et al. [51]** sur les bactéries pathogènes, montrent que la croissance de *Escherichia coli* O157 : H7 (souche entérohémorragique), *Salmonella typhimurium*, et *Listeria monocytogenes* sont complètement inhibées par le thymol et le carvacrol. L'action bactéricide de ces deux composés d'huile essentielle est mesurée à différentes concentrations ; la plus faible est obtenue pour le thymol, qui inhibe complètement *Salmonella typhimurium* avec une concentration égale à 0,056 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Le tableau III regroupe la synthèse des travaux effectués par **Cosentino et al. [51]**, **Kim et al. [67]**, **Lambert et al. [68]**, **Pol et Smid [69]** et **Onawunmi [70]**. **Burt [45]** donne un intervalle approximatif de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des composants de certaines huiles essentielles des plantes utilisées dans des aliments, testées contre des bactéries pathogènes.

Tableau III : Valeurs approximatives de la concentration minimale inhibitrice (C.M.I), des constituants de certaines huiles essentielles. [45]

Composant de l'huile essentielle	Bactérie	CMI ($\mu\text{L}/\text{mL}$)	Auteur	Réf
α -Terpnéol	<i>Escherichia coli</i>	0,450 – >0,9	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>Salmonella typhimurium</i>	0,225	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,9	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>Listeria monocytogenes</i>	> 0,9	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>Bacillus cereus</i>	0,9	Consentino et al., 1999	[51]
Carvacrol	<i>E. coli</i>	0,225 – 5	Kim et al., 1995; Consentino et al., 1999	[67] [51]
	<i>S. typhimurium</i>	0,225 – 0,25	Kim et al., 1995; Consentino et al., 1999	[67] [51]
	<i>Staph. aureus</i>	0,175 – 0,450	Consentino et al., 1999 Lambert et al., 2001	[51] [68]
	<i>L. monocytogenes</i>	0,375 – 5	Kim et al., 1995a; Consentino et al., 1999; Pol and Smid, 1999)	[67] [51] [69]

Composant de l'huile essentielle	Bactérie	CMI ($\mu\text{L/mL}$)	Auteur	Réf
Citral	<i>B. cereus</i>	0,1875 – 0,9	Consentino et al., 1999 ; Pol and Smid, [1999]	[51] [69]
	<i>E. coli</i>	0,5	Onawunmi, 1989; Kim et al., 1995	[70] [67]
	<i>S. typhimurium</i>	0,5	Kim et al., 1995	[73]
	<i>Staph. aureus</i>	0,5	Onawunmi, 1989	[70]
	<i>L. monocytogenes</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
Eugénol	<i>E. coli</i>	1,0	Kim et al., 1995	[67]
	<i>S. typhimurium</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
	<i>L. monocytogenes</i>	> 1,0	Kim et al., 1995	[67]
Géraniol	<i>E. coli</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
	<i>S. typhimurium</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
	<i>L. monocytogenes</i>	1,0	Kim et al., 1995	[67]
Perillaldehyde	<i>E. coli</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
	<i>S. typhimurium</i>	0,5	Kim et al., 1995	[67]
	<i>L. monocytogenes</i>	1,0	Kim et al., 1995	[67]
Thymol	<i>E. coli</i>	0,225 – 0,45	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>S. typhimurium</i>	0,056	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>Staph. aureus</i>	0,140 – 0,225	Consentino et al., 1999 Lambert et al., 2001	[51] [68]
	<i>L. monocytogenes</i>	0,450	Consentino et al., 1999	[51]
	<i>B. cereus</i>	0,450	Consentino et al., 1999	[51]

II.4. Propriétés antifongiques des huiles essentielles

II.4.1. Activité sur les moisissures

Plusieurs chercheurs ont étudié l'effet des huiles essentielles des herbes et épices sur la croissance des champignons et leur *toxigenèse* [71 ;72;73 ;74 ;75 ;76 ;77 ; 78 ;79 ;80 ;81 ;82 ;83 ;84 ;85 ;86]. Les études de la croissance des champignons en présence d'huile essentielle se font principalement en milieu solide tandis que les études sur la production de mycotoxines sont faites en milieu liquide.

Hitokoto et al, [80] trouvent que l'eugénol et le thymol possèdent une forte activité inhibitrice. A 0,2g/L ; le thymol inhibe complètement la croissance de *A.ochraceus*, et à 0,4g/L, celle de *A. flavus* et de *A.versicolor*. L'eugénol inhibe complètement la croissance de *A.flavus* et de *A. versicolor* à 0,25g/L.

Tous les composés testés par **Knobloch et Pauli [62]** possèdent une activité antifongique. Ceux dont le coefficient phénolique est supérieur ou égal à 0,9, révèlent une activité fongicide, les autres ne sont que fongistatiques. Les composés dont les activités antifongiques sont les plus élevées sont l'isoeugénol, le cinnamaldéhyde, le carvacrol, l'eugénol et le thymol. Parmi les champignons, *Penicillium verrucosum var. cyclopium* semble être le plus résistant et *Penicillium viridicatum* le plus sensible.

Les résultats obtenus par **Giamperi et al, [79]** des analyses de l'activité antifongique de huit huiles examinées sur trois souches de champignons phyto-gènes : *phytophthora cinnamomi Rads*, *pyrenochaeta lycopersici Kleb*, et *Verticillium dahliae Kleb*, ont montré que les huiles les plus efficaces sont celles de : l'origan, la menthe poivrée, le thym et la coriandre. En fait, ils ont obtenu 100% d'inhibition de chacun des trois organismes phytopathogènes utilisés. Dans le cas de l'huile d'origan, cette inhibition est obtenue pour une CMI de 200 ppm, alors que pour l'huile du thym, cet effet est réalisé

avec 400 ppm. Lorsqu'il s'agit de la menthe poivrée et des essences de coriandre, le résultat est atteint avec 800 ppm.

Des recherches sur l'activité antifongique, ont montré que l'huile essentielle d'origan inhibe la croissance d'*Aspergillus ochraceus* et *Aspergillus flavus* [96], bloque la germination des spores et ralentit l'élongation mycélienne d'*Aspergillus italicum* et *Fusarium oxysporum* [11 ; 87].

II.4.2. Activité sur la toxigenèse

Hitokoto et al, [80] ont mis en évidence l'inhibition complète des *ochratoxines* d'A, *ochraceus* et des *stérigmatocystines* d'A. *versicolor* en présence de 0,25g/L d'eugénol et de 0,2g/L de thymol.

Farag et al, [46] ont montré que la production d'aflatoxines par *A.flavus* est inhibée par : 0,2g/L de thymol, 0,4g/L de cuminaldéhyde, 0,4g/L d'eugénol, 0,6g/L de carvone, 2g/L de bornéol, ou de thujone.

II.5. Les propriétés antioxydantes

Lagouri et al, [88] ont étudié l'activité antioxydante d'*Origanum hirtum* et d'*Origanum onites*, les résultats obtenus indiquent que l'effet antioxydant peut-être lié à la présence du carvacrol et du thymol.

II.6. Les propriétés antivirales

Les extraits éthanoliques d'*Origanum vulgare* se sont avérés efficaces contre le virus ECHO9 dans la culture de cellules des reins de singe en induisant la formation d'une substance interférant avec l'activité de ce virus [89].

II.7. Activité insecticide des huiles essentielles

Depuis que lui est apparue la nécessité de stocker les grains, l'homme a dû les protéger de toutes détériorations d'origine climatique, animale ou parasitaire. Cela consistait à créer artificiellement un biotope après avoir observé et pris en compte les diverses interactions entre les organismes biologiques et leur milieu. En effet, Les grains hébergent plusieurs sortes d'insectes pouvant réagir différemment selon la nature et l'état de la denrée, le taux d'humidité, la température du produit. Certaines espèces de ces insectes - les nécrophages et les parasites- abîment gravement les grains. Les diverses agressions subies par les stocks se répartissent en quatre groupes principaux :

- Les agressions d'origine biologique dues à des êtres vivants (rongeurs, oiseaux, insectes, acariens et micro-organismes).
- Les agressions d'origine enzymatique dues à des hydrolases qui vont tendre à dégrader les réserves biochimiques du grain.
- Les agressions d'origine biochimique et chimique très variées : dénaturations des protéines, dégradation de la structure de l'amidon, destruction des amidons.
- les agressions d'origine mécanique dues à des chocs entraînant des fissures ou des brisures.

La majorité des ravageurs agissant sur les produits entreposés sont de petite taille et difficilement identifiables par des non spécialistes [90].

II.7.1. Définition et évaluation de la toxicité

Il existe différentes méthodes de désinsectisation, en utilisant les insecticides chimiques ou alors en utilisant d'autres méthodes qualifiées de non polluantes, celles-ci font surtout partie de la lutte physique et de la lutte biologique.

Les pesticides sont des produits toxiques, mais la notion de toxicité est une notion relative. On peut donc considérer qu'est toxique toute substance qui après pénétration dans un organisme en une ou plusieurs fois très rapprochées provoque un trouble de façon passagère ou durable. Une substance toxique n'est pas forcément mortelle.

Pour évaluer la toxicité sur un déprédateur, il faut pratiquer des essais de toxicité appelés essais biologiques. Ces essais permettent de mesurer l'effet du pesticide sur le déprédateur. Ils ont pour but de mesurer l'effet du stimulus et de traduire son intensité en critères biologiques exploitables [91].

II.7.2. Phytothérapie dans la lutte contre les ravageurs de stocks

En 1862, **Delafond** constatait au microscope qu'une goutte d'huile essentielle de lavande, de citron, de fleur d'oranger, de cannelle, de moutarde, ou de thym tuait le sarcopte de la gale [92].

Plusieurs travaux ont été menés par **Raman [90]** pour déterminer l'effet protecteur des feuilles de certaines plantes telle que l'eucalyptus.

Les végétaux à propriétés insecticides sont utilisés sous plusieurs formes. Beaucoup de plantes aromatique et officinales sont testées sous forme de poudre pour lutter contre les ravageurs des denrées alimentaires. Selon **Modgil [93]**, la poudre de feuilles de menthe protège le blé stocké dans les différentes structures pendant six mois alors que les feuilles d'eucalyptus pendant cinq mois.

Gakuru [94], rapporte que les huiles essentielles d'eucalyptus et de basilic sont très efficaces contre un insecte ravageur des céréales.

D'après **Obeng et al. [95]**, le 1,8-cinéole se révèle toxique sur l'insecte *Sitophilus granarius*.

Les effets de quelques huiles essentielles sont répertoriés dans le tableau IV.

Tableau IV: Principaux effets des huiles essentielles utilisées dans la protection des stocks de denrées alimentaires. [96]

Méthode	Effets	Remarques
Huile d'arachide (5 ml/ kg)	Effets toxiques sur les embryons, à l'intérieur des œufs de bruches L'action persiste jusqu'à six mois	Méthode simple. L'huile d'arachide ne rancit pas rapidement. Pas d'incidence sur la capacité de germination
Huile de noix de coco (5 à 10 ml/kg)	Similaire à ceux de l'huile d'arachide	
Huile de palme (5 à 10 ml/kg).	Similaire à ceux de l'huile d'arachide	Dû à sa couleur rouge profond, l'huile de palme modifie l'aspect de la marchandise
Huile de sésame (5 ml/ kg)	Similaire à ceux de l'huile d'arachide	Similaire à ceux de l'huile d'arachide.
Huile de noyaux de neem (2à 3 ml/kg)	Huile de neem agit comme les autres huiles végétales	Huile de neem a un goût amer et devient rance en cours de stockage. Recommandé pour les semences

Selon **Regnault et Hamraoui [97]**, les plantes appartenant à la famille des Lamiacée, utilisées en solution dans l'eau sont les plus efficaces. Ces auteurs rapportent que plusieurs molécules (monoterpènes et polyphénols) synthétisées par ces plantes sont responsables de cette toxicité.

Selon **Pascual et Robledo [98]**, parmi un groupe de 50 espèces testées, trois extraits obtenus en utilisant des solvants organiques d'une polarité croissante, ont provoqué l'inhibition de la croissance de l'insecte *Tribolium castaneum*. Cette inhibition était significative quand les extraits étaient incorporés à la denrée à 0,05 %.

Les propriétés insecticides des plantes peuvent donc être considérées comme une alternative ou une méthode complémentaire des insecticides classiques pour combattre les déprédateurs.

L'une des applications de l'extraction de l'huile essentielle de l'origan est son utilisation dans la lutte contre l'insecte *Rhizoperta dominica* ravageur des denrées alimentaires stockées.

II.7.3. Insecte : *Rhizoperta dominica*

Le *Rhizoperta dominica* est un coléoptère de la famille des *Bostrichides*, appelé plus communément capucin des grains ou Petit perceur de céréales [99].

a) Description

Insecte de couleur brune, de forme cylindrique avec des cotés nettement parallèles, *Rhizoperta dominica* mesure entre 2,2 et 3,0 mm de longueur. Vue de haut sa tête demeure entièrement cachée par le prothorax qui l'encapuchonne et dont la surface dorsale, très bombée, s'orne de petites dents analogues à celles d'une râpe. Ce caractère est commun à tous les *Bostychides* lesquels, dans leurs immense majorité, sont des insectes xylophages et par là, se trouvent conduit à forer le bois.

b) Biologie

Rhizoperta dominica, dont l'Inde serait la patrie, est aujourd'hui une espèce cosmopolite, mais qui prolifère essentiellement dans les régions tropicales. Si l'espèce attaque les grains de nombreuses céréales, blé ou orge, elle évolue également, sous les climats chauds, aux dépens de multiples produits d'origine végétale comme les racines de manioc ou les tubercules de patates douces. Les adultes sont les principaux responsables de la destruction du germe et de l'albumen des grains. Ils se livrent à un véritable gaspillage car les imagos des capucins ne s'alimentent que d'une fraction de l'amande qu'ils ont réduite en farine.

Dans le tableau V, sont résumées les principales caractéristiques de *Rhizoperta dominica*.

Tableau V: Caractéristiques de *Rhizoperta dominica*. [99]

Adultes	taille : 2-3mm couleur : brune corps étroit et cylindrique tête cachée sous le prothorax muni de rugosité.
Larves	Vermiforme et pourvue de pattes, plus ou moins arqués et présentant l'aspect d'un minuscule ver blanc de Hanneton.
Dégâts	Surtout commis par les adultes qui réduisent en poudre le contenu du grain (germe et amande) avec les aspérités du thorax et leurs mandibules, mais ils ne consomment qu'une fraction de cette farine dont s'alimente les larves.
Longévité	Notables, même à températures élevées (32,3°C; 70°C H.R.) ; moyenne : 4 mois ; maximum : 8 mois.
Ponte	Nombres d'œufs déposés par les femelles. Moyenne 250 ; maximum : 600.
Durée du cycle évolutif le plus court	25 jours à 34°C (H.R.70% ; teneur en eau du grain : 14%).
Exigences hydriques	Entre 25°C et 36°C, peut se développer dans le grain ne contenant que 9% d'eau (H.R.30%)
Fourchettes de températures permettant le développement	21-22°C (H.R. compris entre 40% et 70% ; teneur en eau du grain compris entre 10% et 14%) -38,2°C (mêmes limites de teneur en eau que précédemment).

Remarque : H. R. est l'humidité relative.

III. MODELISATION ET OPTIMISATION

Afin de rentabiliser un procédé, il est recommandé de trouver les meilleures conditions d'utilisation. Une optimisation des paramètres opératoires est donc nécessaire. Pour ce faire, deux méthodes d'optimisation peuvent être utilisées :

- l'optimisation paramétrique ou classique ;
- l'optimisation par plan d'expériences.

L'optimisation paramétrique est la première étape de toute étude. Il s'agit d'observer les variations d'un seul paramètre -les autres étant fixés et d'en évaluer l'influence de ses variations sur l'ensemble du système. Pratiquement facile, cette méthode ignore les conséquences des interactions des divers paramètres sur l'expérience. Elle oblige également l'expérimentateur à réaliser un nombre considérable d'essais.

Lorsqu'on désire étudier l'influence d'un paramètre sur la réponse, il existe une stratégie efficace qui facilite l'organisation progressive de l'acquisition des connaissances. Elle minimise également le plus possible le nombre d'expériences sans sacrifier la qualité des résultats ; au contraire, elle cherche la meilleure précision possible. C'est l'étude par plan d'expériences [100] qui consiste à réaliser une série d'essais selon un programme systématique qui permet d'aboutir à un modèle mathématique moyennant le minimum d'essais [101,102].

L'un des plans le plus utilisé est le plan factoriel à deux niveaux, dit aussi plan factoriel 2^k , qui trouve généralement une application pour l'établissement des modèles

formels. Un tel plan nécessite 2^n essais correspondant au total des combinaisons des n variables. Afin de simplifier l'écriture de toutes les combinaisons, on définit généralement un nouveau système de coordonnées qui a pour origine l'intersection des valeurs moyennes entre les deux niveaux de chaque variable. Le domaine expérimental est alors transformé en un cube, centré à l'origine $(0,0,\dots,0)$, dont les sommets ont pour coordonnées $(\pm 1, \pm 1, \dots, \pm 1)$. Autour de l'origine, on admet que la grandeur étudiée est développable en fonction polynomiale. Les 2^n essais fournissent 2^n valeurs de la grandeur étudiée et permettent la détermination des 2^n coefficients de la fonction polynomiale qui est en fait le modèle recherché. Il existe d'autres plans où les variables occupent 3, 4 ou même m niveaux, on parlera alors des plans 3^n , 4^n ou m^n , ce qui aura pour effet de diviser le domaine expérimental en bloc, comptant chacun le même nombre d'essais [101, 103].

Dans le plan factoriel 2^n , les expériences sont conduites sur deux niveaux, un niveau supérieur et un niveau inférieur. Au cours de chaque expérience, il est possible de combiner entre k variables.

Soient Z_1, Z_2, \dots, Z_k les k variables pour simplifier l'écriture de toutes les combinaisons, on définit le nouveau système de coordonnées avec :

$$Z_j^0 = (Z_j^{\max} + Z_j^{\min}) / 2 \quad \forall j=1, k \quad (\text{I.1})$$

$$\Delta Z_j^0 = (Z_j^{\max} - Z_j^{\min}) / 2 \quad \forall j=1, k \quad (\text{I.2})$$

Où :

Z_j^{\max} : est le niveau supérieur, et Z_j^{\min} est le niveau inférieur.

Z_j^0 : le centre du plan au niveau fondamental, et ΔZ_j^0 la limite ou l'intervalle de variation suivant l'axe des Z_j .

On passe au système adimensionnel de coordonnées x_1, x_2, \dots, x_k en utilisant la formule suivante :

$$X_j = (Z_j - Z_0) / \Delta Z_j \quad \forall j=1, k \quad (\text{I.3})$$

Dans ce nouveau système, le niveau supérieur a pour valeur $(+1)$, le niveau inférieur (-1) , et les coordonnées du centre du plan sont nulles et coïncident avec l'origine des coordonnées.

Le fait d'attribuer la valeur (-1) au niveau bas du facteur et $(+1)$ au niveau haut revient à réaliser un changement d'unité de mesure et un changement d'origine qui permettent de traiter tous les facteurs de même manière. Les variables sont alors dites centrées réduites ou codées. Leur utilisation simplifie considérablement la présentation de la théorie des plans factoriels à deux niveaux qui peut être interprété géométriquement par un cube.

Pour des raisons de simplification, le modèle peut être considéré comme une fonction de degré 1, et le critère d'optimalité peut s'écrire :

$$Y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + \dots + a_kx_k + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + \dots + a_{1k}x_1x_k + a_{23}x_2x_3 + \dots + a_{2k}x_2x_k + \dots + a_{123}x_1x_2x_3 + \dots + a_{12k}x_1x_2x_k \quad (\text{I.4})$$

Avec :

- a_1, a_2, a_k : effet d'interaction simple ;
- $a_{12}, a_{13}, \dots, a_{1k}$: effet d'interaction double ;
- a_{12k}, \dots : effet d'interaction triple ;
- a_0 : moyenne des effets.

Les coordonnées de la planification factorielle des expériences 2^k peuvent être écrites suivant une matrice dont les propriétés sont tel que les effets simples et les effets d'interaction peuvent être calculés à partir des équations suivantes :

$$a_j = \left(\sum_{i=1..N} X_{ij} Y_i \right) / N \quad \forall j = 1 \text{ à } k \quad (\text{I.5})$$

$$a_{ij} = \left(\sum_{i=1..N} X_{ij} X_{lj} Y_i \right) / N \quad \forall j = 1 \text{ à } k \quad (\text{I.6})$$

$$a_0 = \left(\sum_{i=1..N} Y_i \right) / N \quad (\text{I.7})$$

Où N est le nombre d'essais effectués [101, 103].

Chapitre II :
Installation expérimentale et
Méthodes de mesures
et de calcul

CHAPITRE II :

INSTALLATIONS EXPERIMENTALES ET METHODES DE MESURES ET DE CALCUL

I. DESCRIPTION DE L'APPAREILLAGE

Pour extraire l'huile essentielle d'origan par entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation deux appareillages ont été utilisés.

I.1. Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur d'eau a été réalisé à l'échelle laboratoire à l'aide du dispositif expérimental schématisé par la figure 6. Celui-ci comprend un ballon d'une capacité de deux litres servant à produire la vapeur d'eau. Ce ballon est surmonté d'une colonne en verre contenant la matière végétale et reliée à un réfrigérant. La vapeur formée dans le ballon, passe dans la colonne contenant la plante et entraîne l'huile essentielle. Le distillat (mélange huile essentielle – eau) est récupéré dans un ballon de recette après condensation. Une extraction à l'éther diéthylique permet de séparer l'huile essentielle de l'eau.

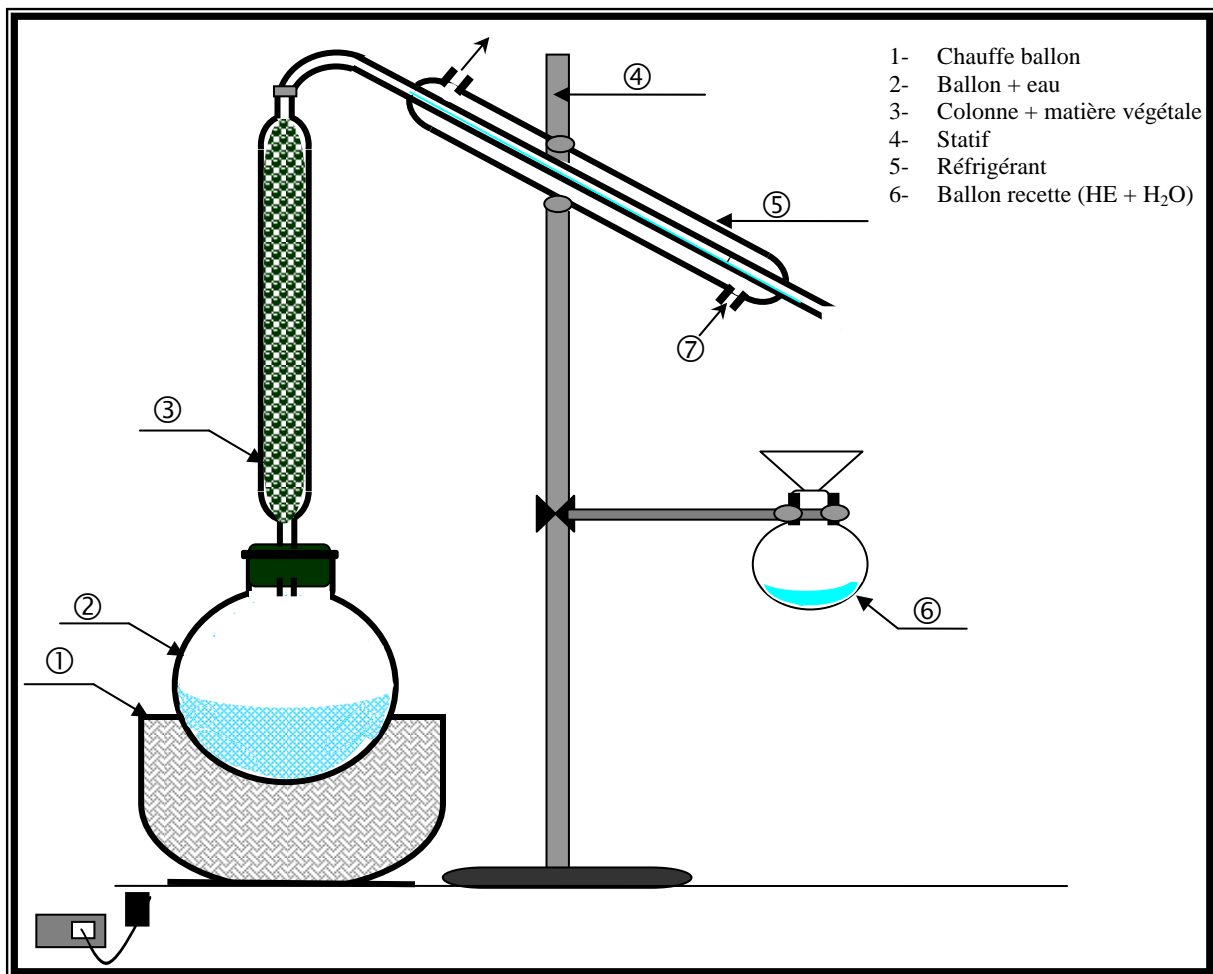


Figure 6. Dispositif expérimental de l'entraînement à la vapeur.

I.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation a été réalisée à l'échelle laboratoire à l'aide du dispositif expérimental schématisé par la figure 7. Il comprend un ballon d'une capacité de deux litres servant à contenir l'eau et la matière végétale. Ce ballon est relié directement à un réfrigérant. Le distillat est récupéré dans un ballon de recette. L'huile essentielle est séparée de l'eau par extraction à l'éther diéthylique.

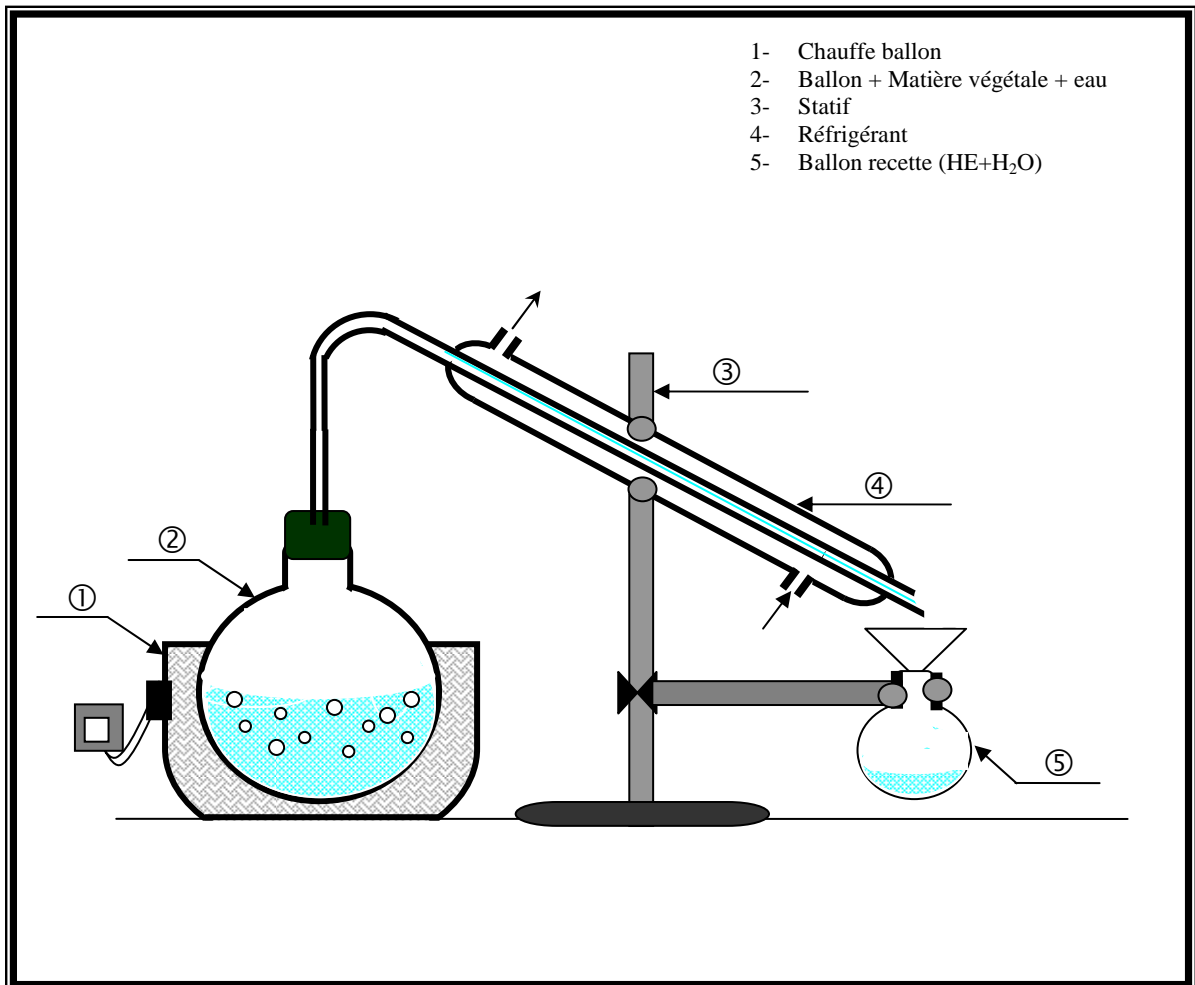


Figure 7. Dispositif expérimental de l'hydrodistillation.

L'origan utilisé pour les essais d'extraction provient de la région de Sétif. Il a été identifié à L'Institut National d'Agronomie d'Alger comme étant *Origanum glandulosum* (Desfontaines). Afin d'éliminer l'influence des paramètres autres que celui étudié, les essais ont été réalisés sur un même lot de plante, conservé dans les mêmes conditions et de même taux d'humidité. Par ailleurs, un échantillonnage de la plante a été réalisé selon la méthode de quartage et ceci afin d'utiliser un échantillon représentatif de la matière végétale.

II. PARAMETRES INTERVENANT DANS LES PROCÉDES D'EXTRACTION PAR ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR ET PAR HYDRODISTILLATION

Un système chimique ou physique peut être considéré comme étant une relation entre des causes (variables d'entrée) et des conséquences (réponses ou variables de sortie). Etudier un tel système consiste à estimer l'état ou l'évolution des grandeurs de sortie en réponse à une valeur ou à une variation des grandeurs d'entrée. [100].

II.1. Les variables d'entrée

Les variables d'entrée pouvant influencer sur l'entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation sont:

- **Les paramètres opératoires** : ils sont liés au procédé d'extraction. Parmi ces paramètres nous pouvons citer : le temps de traitement, le débit de vapeur, la masse de matière végétale à traiter etc.

II.2. Les variables de sortie

Les variables de sortie ou paramètres réponse sont de deux natures :

- **Les paramètres quantitatifs** : ils sont représentés par le rendement en huile essentielle.

- **Les paramètres qualitatifs** : ceux-ci représentent les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle (densité, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester, etc.) et la composition chimique.

III. INFLUENCE DES PARAMETRES OPERATOIRES

Afin d'évaluer l'influence des paramètres opératoires sur l'extraction de l'huile essentielle d'origan par entraînement à la vapeur et par hydrodistillation, deux méthodes ont été utilisées : l'étude paramétrique et l'étude par plan d'expériences factoriel 2^k . Les paramètres opératoires choisis sont ceux qui nous étaient facilement accessibles à savoir : le temps d'extraction, la masse de matière végétale à traiter, le débit de vapeur d'eau et la porosité du lit.

III.1. Etude paramétrique

Les domaines de variation des paramètres opératoire sont limités par l'installation expérimentale. Ils sont donnés dans les tableaux VI et VII.

Tableau VI : Domaine de variation des paramètres opératoires pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

Masse (g)	Débit de vapeur d'eau (g/min)	Porosité du lit
22	4,20	0,773
33	6,25	0,842
44	8,33	0,886

Tableau VII : Domaine de variation des paramètres opératoires pour l'hydrodistillation.

Masse de végétal (g)	Débit de vapeur d'eau (g/min)
11	4,20
22	
33	6,25
44	
50	8,33
55	

III.2. Etude par plan d'expériences

La planification des expériences a été réalisée en adoptant le plan factoriel à deux niveaux des variables étudiées 2^k .

Pour l'entraînement à la vapeur, nous avons opté pour le plan factoriel 2^3 , les trois paramètres étudiés étant la masse de végétal, le débit de vapeur d'eau et la porosité du lit. Quant à l'hydrodistillation, le plan adopté est le plan factoriel 2^2 , les paramètres choisis sont la masse de végétal et le débit de vapeur d'eau.

Les domaines de variations des paramètres pour les deux plans d'expériences sont donnés dans les tableaux VIII et IX.

Tableau VIII : Domaine de variation des paramètres opératoires pour l'entraînement à la vapeur (plan factoriel 2^3).

Paramètre	Niveau inférieur	Niveau supérieur
Débit (g/min)	4,20	8,33
Masse (g)	22	44
Porosité	0,77	0,84

Tableau IX : Domaine de variation des paramètres opératoires pour l'hydrodistillation (plan factoriel 2^2).

Paramètre	Niveau inférieur	Niveau supérieur
Débit (g/min)	4,20	8,33
Masse (g)	11	44

Les variables réelles sont remplacées par les variables centrées réduites (X_1, X_2, X_3) qui représentent, respectivement la masse de matière végétale, le débit de vapeur d'eau et la porosité du lit. Elles sont calculées à partir des relations suivantes :

X_1 : variable centrée réduite correspondant la masse de matière végétale

$$X_1 = \frac{m - m_m}{\Delta m} \quad (\text{II.1})$$

X_2 : variable centrée réduite correspondant au débit de vapeur d'eau

$$X_2 = \frac{Q - Q_m}{\Delta Q} \quad (\text{II.2})$$

X_3 : variable centrée réduite correspondant à la porosité du lit

$$X_3 = \frac{\varepsilon - \varepsilon_m}{\Delta \varepsilon} \quad (\text{II.3})$$

avec :

$$m_m = \frac{m_{\text{inf}} + m_{\text{sup}}}{2} \quad (\text{II.4})$$

$$Q_m = \frac{Q_{\text{inf}} + Q_{\text{sup}}}{2} \quad (\text{II.5})$$

$$\varepsilon_m = \frac{\varepsilon_{\text{inf}} + \varepsilon_{\text{sup}}}{2} \quad (\text{II.6})$$

$$\Delta m = \frac{m_{\text{sup}} - m_{\text{inf}}}{2} \quad (\text{II.7})$$

$$\Delta Q = \frac{Q_{\text{sup}} - Q_{\text{inf}}}{2} \quad (\text{II.8})$$

$$\Delta \varepsilon = \frac{\varepsilon_{\text{sup}} - \varepsilon_{\text{inf}}}{2} \quad (\text{II.9})$$

IV. METHODES DE CALCULS ET DE MESURES

IV.1. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (R_{HE}) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de matière végétale sèche utilisée. Il est calculé par la relation suivante :

$$R_{\text{HE}} (\%) = \frac{M_{\text{HE}}}{M_s} \times 100 \quad (\text{II.10})$$

Où :

- M_{HE} : la masse d'huile essentielle (g) ;
- M_s : la masse de la matière végétale sèche (g).

Tel que :
$$M_s = (1 - H) \cdot M_H \quad (\text{II.11})$$

H : le taux d'humidité de la plante (%);
M_H : la masse humide de matière végétale (g).

IV.2. Mesure du taux d'humidité de la plante

Le taux d'humidité de l'origan a été déterminé en utilisant la méthode de distillation au xylène [57]. Le mode opératoire est présenté en Annexe 1.

IV.3. Porosité du lit

La porosité du lit a été calculée par le biais de l'équation suivante :

$$\varepsilon = 1 - \frac{4 \cdot M_s}{\rho_s \pi \phi^2 h_{\text{lit}}} \quad (\text{II.12})$$

Où :

M_s : la masse de matière végétale sèche (g);
φ et h_{lit} sont respectivement le diamètre de la colonne (cm) et la hauteur du lit de matière végétale (cm);
ρ_s : masse volumique de la matière végétale (g/cm³).

IV.4. Masse volumique

La masse volumique de la phase solide ou dispersée « ρ_s » a été mesurée par la méthode pycnométrique, et calculée par la relation suivante :

$$\rho_s = \frac{M_{\text{solide}}}{V_1 - V_2} \quad (\text{II.13})$$

où V₁ et V₂ sont les volumes respectifs du pycnomètre vide et du solvant ajouté ayant comblé le vide entre les particules. Le volume V₂ est déterminé par la relation suivante :

$$V_2 = \frac{M_2}{\rho_2} \quad (\text{II.14})$$

avec :

M₂ et ρ₂ la masse et la masse volumique du solvant ajouté.

Le mode opératoire est présenté en Annexe 2.

V. ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE

L'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* a été caractérisée par sa composition chimique et par quelques constantes physico-chimiques.

V.1. Identification de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*

La chromatographie en phase gazeuse (CG) est l'une des techniques d'analyse les plus utilisées aussi bien au laboratoire que dans l'industrie pour l'analyse qualitative ainsi que pour l'isolement et l'identification des constituants d'un mélange. Ainsi, elle est

devenue l'une des méthodes les plus importantes dans l'analyse des huiles essentielles et des produits naturels en général. En effet, les huiles essentielles sont d'une complexité telle qu'il est nécessaire de développer sans cesse des techniques de séparation de grande efficacité.

Dans le but d'identifier les éléments composant l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*, nous avons procédé à son analyse par chromatographie en phase gazeuse (CG) à l'aide d'un chromatographe HP6890 séries CG system équipé d'un détecteur FID et d'un intégrateur de type HP3395. Les conditions d'analyses sont les suivantes :

- Colonne : DB5 capillaire en Silice fondue (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m) ;
- Phase stationnaire en polyméthylsiloxane ;
- La température de la colonne est programmée de la manière suivante :
 - Température initiale : 60 °C pendant 8 min ;
 - Température finale : 250 °C ; pendant 15 min ;
 - Vitesse de chauffe : 2 °C/min ;
- Température du détecteur FID : 300°C ;
- Température de l'injecteur : 250 °C, Split : 1/30 ;
- Quantité injecté : 0,2 μ L ;
- Gaz vecteur : azote avec un débit de 0,5 mL/min.

L'analyse qualitative par (CG) a été complétée par des analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) en utilisant un appareil HP 5973 relié à un ordinateur HP. Les conditions d'analyse sont les suivantes :

❖ Chromatographie en phase gazeuse

- Colonne : DB5 capillaire en Silice fondue (30m x 0,32mm x 0,25 μ m);
- Phase stationnaire en polyméthylsiloxane ;
- Température de la colonne est programmée de la manière suivante :
 - Température initiale : 60 °C pendant 8 min ;
 - Température finale : 250 °C ; pendant 15 min ;
 - Vitesse de chauffe : 2 °C/min ;
- Température de l'injecteur : 250°C, Split 1/25 ;
- Quantité injecté : 0,2 μ L ;
- Gaz vecteur : hélium avec un débit de 0,8 mL/min ;

❖ Spectrométrie de masse

- Mode de ionisation : impact électronique
- Tension d'ionisation : 70Ev basse résolution
- Balayage automatique : 25 m/z à 350 m/z
- Courant de filament : 100 μ A.
- Tension d'accélération : 5 Kv
- Température de la source : 230°C
- Interface : couplage direct
- Pression : 10⁻⁶ Torr

L'identification des constituants de l'huile essentielle se fait par la comparaison de leurs spectres de masse avec les spectres de masse de la banque de données (NIST) et par le calcul de leurs indices de rétention.

Les huiles essentielles sont constituées d'un nombre très important d'isomères et/ou de groupements fonctionnels (hydrocarbures, acides, carboxyles, esters, aldéhydes) dont les spectres de masse sont souvent très voisins en impact électronique. L'utilisation des données de rétention en (CG) sera donc très utile comme méthode complémentaire à l'analyse effectuée par la spectrométrie de masse seule [104].

Les temps de rétention relatifs dépendent beaucoup des conditions expérimentales et n'ont pas d'étalons normalisés.

Les indices de rétention I_p , introduits par **KOVATS** en 1958, suscitent plus d'intérêts. Ils sont moins soumis à des variations d'une manipulation à une autre, car ils utilisent des grandeurs relatives à des étalons voisins des pics étudiés et analysés sous les mêmes conditions opératoires. L'indice le plus utilisé pour les huiles essentielles est celui préconisé par **Van Den Dool** et *al.* [105]. Il est basé sur le fait que la température de rétention et le temps de rétention varient linéairement avec le nombre d'atomes de carbone dans une série homologue.

L'indice de rétention d'un soluté donné peut être obtenu à partir du chromatogramme d'un mélange du soluté et au moins de deux alcanes normaux qui encadrent l'indice de rétention de ce soluté. Ceci revient à considérer les alcanes comme les étalons sur lesquels nous basons l'échelle des indices de rétention.

Par définition, l'indice de rétention d'un alcane normal est égal à 100 fois le nombre d'atomes de carbone présents dans le composé indépendamment du remplissage de la colonne, de la température et des autres conditions. Il est calculé par la relation suivante :

$$I_p(\%) = 100 z + \frac{\text{tr}(x) - \text{tr}(z)}{\text{tr}(z+n) - \text{tr}(z)} \times 100 n \quad (\text{II.15})$$

Avec :

tr (x) : temps de rétention de soluté(x) étudié,

tr (z) : temps de rétention de l'alcane à z atomes de carbone qui précède (x) ;

tr (z+n) : temps de rétention de l'alcane à (z+n) atomes de carbone qui suit (x) ;

n : différence du nombre d'atomes de carbone entre les alcanes (n = 1).

V.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle

La valeur commerciale d'une huile essentielle est la plupart du temps estimée d'après ses qualités organoleptiques (l'odeur en particulier) auxquels s'ajoutent un certain nombre de constantes appelées « Indices », d'où la mise en place de normes. Ces normes définissent deux types d'indices : les indices physiques (densité relative, pouvoir rotatoire, indice de réfraction,...) et les indices chimiques (indice d'acide, indice d'ester,...). Dans le cadre de notre travail, nous avons utilisé les normes AFNOR [106]. Les différents modes opératoires sont donnés en Annexe 2.

VI. ETUDE DE L'ACTIVITE INSECTICIDE DE L'HUILE ESSENTIELLE

Le but de cette étude est d'évaluer la toxicité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* et de ses fractions obtenues par entraînement à la vapeur d'eau sur un insecte ravageur de céréales : *Rhizopertha dominica*. Cet insecte provient d'un élevage de masse réalisé au laboratoire dans une étuve réglée à 33°C et une humidité relative de 60%. Les

insectes sont élevés sur du blé tendre, les adultes utilisés pour nos expériences sont âgés de trois à cinq semaines.

Pour réaliser cette étude nous avons effectués plusieurs essais en testant deux modes de toxicité différents :

- La toxicité par contact ;
- La toxicité par inhalation.
-

L'efficacité d'un produit biocide est évaluée par la mortalité. Cependant, le nombre d'individus dénombrés morts dans une population traités par un toxique n'est pas le nombre réel d'individus tués par ce toxique. Il existe, en fait, dans toute population une mortalité non provoquée par ce dernier. Les pourcentages de mortalité doivent être corrigés. La formule de Shneider-Orelli permet de corriger la mortalité, cela équivaut à un changement de variable :

$$M_c (\%) = \frac{M - M_t}{100 - M_t} 100 \quad (\text{III.16})$$

- $M_c (\%)$: le pourcentage de mortalité corrigée (nouvelle variable) ;
- M : le pourcentage de morts dans la population traitée ;
- M_t : le pourcentage de morts dans la population témoin.

Après avoir corrigé la mortalité, on détermine l'efficacité du produit utilisé. Celle-ci peut-être évaluée de deux manières :

La première consiste à déterminer la mortalité Y après un temps constant en fonction des doses croissantes du toxique $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ ce qui conduit à établir une courbe expérimentale représentative de la fonction $y = f(x)$. A partir de cette courbe on calculera la $DL50$, définie comme étant la dose létale qui donne 50% de mortalité.

Pour une distribution quelconque de seuil de tolérance, la $DL50$ satisfait à :

$$\int_0^Z f(z) dz = 0,5 \quad (\text{III.17})$$

Après transformation logarithmique des doses, la distribution devenue normale du seuil de tolérance x s'exprime par :

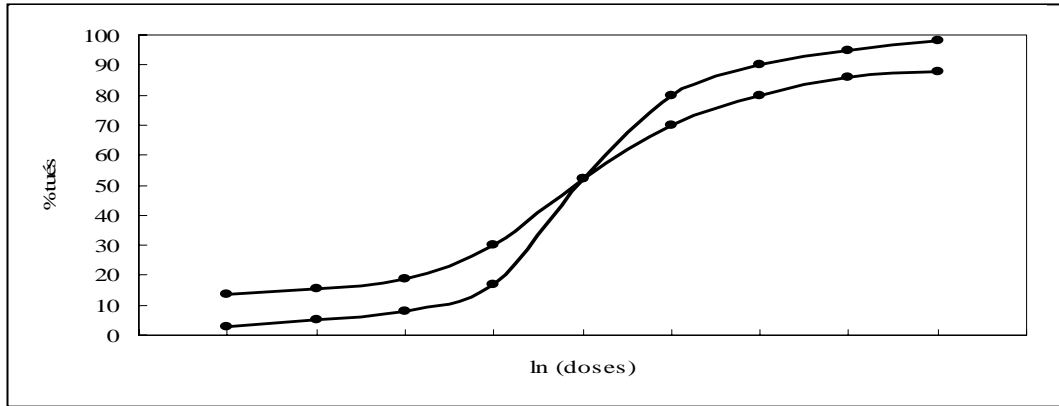
$$d_p = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x_i - \mu)^2}{2\sigma^2}} dx \quad (\text{III.18})$$

où μ est le centre de distribution, c'est-à-dire la valeur de la dose pour le seuil moyen de tolérance, ou seuil moyen d'efficacité.

Donc $\mu = \text{Ln} (DL50)$

et σ^2 est la variance de μ .

La $DL50$ à elle seule ne décrit pas pleinement l'efficacité d'un poison. Deux produits peuvent présenter la même $DL50$, avec une dispersion différente.



C'est la variance qui rend compte de cette dispersion : plus la variance est faible, plus grand est l'effet d'un changement de dose sur la mortalité.

VI.1 Estimation de la DL50

Pour estimer la médiane ($\ln(\text{DL50})$) et la variance (σ^2) de la distribution du seuil de tolérance, on se sert de la transformation en Probits des résultats expérimentaux, auxquels on applique l'équation précédente. Le Probit de la proportion P est l'abscisse qui correspond à une distribution normale de variance 1 et de moyenne 5.

Donc, par définition le Probit P est y, tel que :

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{y-5} e^{-\frac{u^2}{2}} du \quad (\text{III.19})$$

Ainsi, pour un stimulus x_0 , la proportion prévisible d'insectes tués :

$$P = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{x_0} e^{-\frac{(x_i-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx \quad (\text{III.20})$$

Des deux relations précédentes, il ressort que le probit de la proportion d'une population donnant une réponse linéaire avec la variable $\ln(\text{dose})$:

$$y = 5 + \frac{1}{\sigma}(x - \mu) \quad (\text{III.21})$$

Les valeurs numériques obtenues permettent de tracer empiriquement des diagrammes. Ces derniers ne permettent pas de tirer des conclusions valables sur le plan quantitatif ou d'effectuer des comparaisons entre les diverses expériences. Pour exploiter pleinement ces résultats, il est indispensable de recourir à une méthode statistique qui permet d'une part de tracer la courbe la plus vraisemblable et d'autre part d'évaluer le degré de signification du test. Pour caractériser l'efficacité d'une intensité d'un stimulus (la dose du produit) on peut choisir un effet standard, par exemple la dose efficace minimale, et la dose efficace maximale, mais ces deux doses représentent mal la population car elles sont situées aux extrémités de la courbe.

La DE50 est la dose efficace moyenne qui varie le moins d'un échantillon à l'autre et qui représente le plus grand nombre de cas dans une population (comme le proposent certains auteurs): c'est-à-dire la dose qui produit une réponse dans la moitié de la population. La DE50 est équivalente à la DL50 (cette dernière est la plus utilisée), qui est

la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié d'une population. On peut aussi se servir de la DL90 qui est la dose nécessaire et suffisante pour tuer 90% de la population. La DL50 est utile pour caractériser les pesticides dont la vocation est de se débarrasser au mieux des déprédateurs.

Afin de déterminer cette DL50, on trace les droites de régression. Les valeurs des pourcentages de mortalité sont transformées en Probit, et on trace ces nouvelles valeurs en fonction du logarithme népérien des doses. 50% de la mortalité correspond à la valeur 5 en Probit, de là on en déduit la DL50.

Le tableau XI donne la transformation des pourcentages de mortalité en Probit.

Tableau XI : transformation des pourcentages de mortalité en probit.

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	----	2,67	2,95	3,12	3,25	3,36	3,45	3,52	3,59	3,66
10	3,72	3,77	3,82	3,87	3,92	3,96	4,01	4,05	4,08	4,12
20	4,16	4,19	4,23	4,26	4,29	4,33	4,36	4,39	4,42	4,45
30	4,48	4,50	4,53	4,56	4,59	4,61	4,64	4,67	4,69	4,72
40	4,75	4,77	4,80	4,82	4,85	4,87	4,90	4,92	4,95	4,97
50	5,00	5,03	5,05	5,05	5,10	5,13	5,15	5,18	5,20	5,23
60	5,25	5,28	5,31	5,31	5,36	5,39	5,41	5,44	5,47	5,50
70	5,52	5,55	5,58	5,58	5,64	5,67	5,71	5,74	5,77	5,81
80	5,84	5,88	5,92	5,92	5,99	6,04	6,08	6,13	6,18	6,23
90	6,28	6,34	6,34	6,41	6,55	6,64	6,75	6,88	7,05	7,33
	0,00	0,10	0,10	0,20	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
99	7,33	7,33	7,37	7,41	7,51	7,58	7,75	7,75	7,88	

Exemples de calcul :

A 20% correspond un Probit de 4,16

A 25% correspond un Probit de 4,33

Nous procédons par interpolation linéaire lorsque nous devons déterminer des valeurs situées entre celles données dans la table. Nous avons déterminé les DL50 pour les deux modes testés et cela aussi bien pour l'huile essentielle totale de *l'Origanum glandulosum* que pour ces trois fractions étudiées. Les courbes et les résultats obtenus sont donnés au chapitre III

VI.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles d'origan par contact

Des papiers filtres de neuf centimètres de diamètre sont imprégnés avec 5 mL de solution d'huile essentielle d'une concentration donnée. Pour le témoin nous utilisons du solvant pur : l'acétone.

Après séchage, trente insectes sont déposés sur le papier filtre dans une boîte de pétri de neuf centimètres de diamètre et de 1,5 cm de hauteur. Les boîtes de Pétri sont recouvertes avec de la moustiquaire pour éviter la fuite des insectes. Cinq essais sont réalisés pour les différentes concentrations d'huile essentielle ainsi que pour le témoin. Après 48 heures, les insectes sont transférés dans des boîtes contenant 100 g de blé non traité. La mortalité des insectes est évaluée six jours après le traitement.

VI.3. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles d'origan par inhalation

Des papiers filtres de trois centimètres de diamètre sont imprégnés avec un volume de 2,5 mL de solution d'huile essentielle, d'une concentration donnée, et mis dans des couvercles de pots à vis. Après évaporation du solvant, les couvercles sont vissés hermétiquement sur les flacons contenant chacun trente insectes. Cinq essais sont réalisés pour les différentes concentrations d'huile essentielle ainsi que pour le témoin.

Après 48 heures d'exposition, les insectes sont transférés dans des boîtes contenant 10 g de blé non traité. La mortalité des insectes est alors évaluée six jours après l'opération suscitée.

VII. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE ET ANTIFONGIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

La recherche de l'activité antimicrobienne et antifongique des huiles essentielles consiste entre autre à estimer l'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries et levures) soumis à l'huile essentielle et ceci par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

VII.1. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Deux types de techniques par contact direct sont utilisés pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. La première est l'aromatogramme et la seconde est la technique des puits creusés. Ces tests ont été effectués suivant la méthode de **Cornner et Beuchat [64]**, **Adam et al. [71]** pour l'aromatogramme et la méthode de **Chao et al.[74]** pour celle des puits.

VII.1.1 Aromatogramme

Ce test est effectué par dépôt sur un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture microbienne de disque stérile de cellulose de 6 mm de diamètre (Whatman N 1) imprégné d'une quantité de 50 μ L d'huile essentielle. La lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres après 24 heures d'incubation (Figure 8).

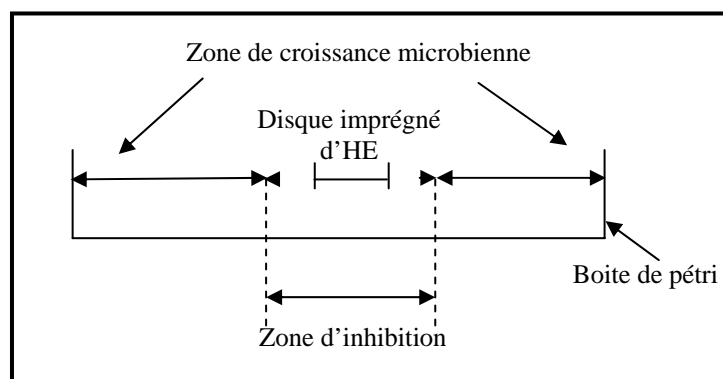


Figure 8. Aromatogramme sur boîte de pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.

VII.1.2 Techniques des puits creusés

Cette technique consiste à découper un trou (puits) circulaire de 6 mm de diamètre dans le milieu gélosé en utilisant un poinçon de gel et à y verser une quantité de 50 μ L d'huile essentielle (Figure 9). L'huile essentielle diffusant radialement crée une zone d'inhibition circulaire à la surface du milieu gélosé préalablement ensemencé avec une suspension microbienne.

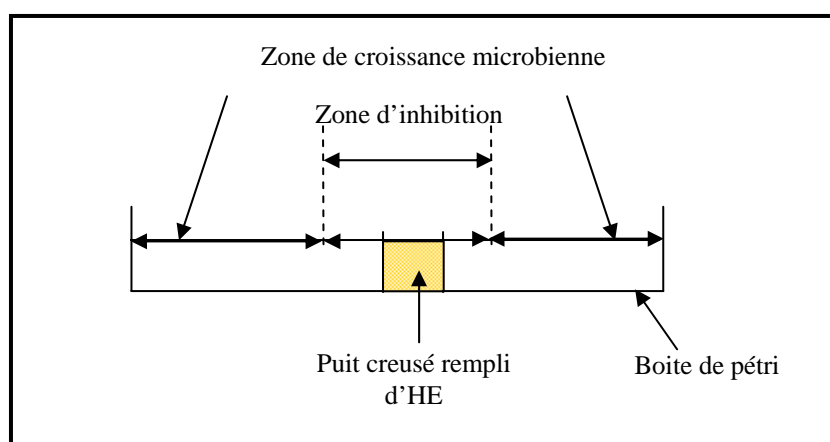


Figure 9. Diffusion radiale dans une boîte de pétri d'un puits creusé dans la gélose et rempli d'huile essentielle.

VII.1.3 Estimation de la concentration minimale inhibitrice

On prépare une série de flacon dans lesquels on répartit une même quantité de bouillon nutritif (5 mL). On ajoute à chaque flacon un même volume 1 mL de pré culture respectivement de *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*. Le premier flacon doit contenir 1 mL d'éthanol sans huile essentielle, il nous servira de témoin. On introduit des volumes croissants de la solution d'huile essentielle (solubilisée dans l'éthanol à 50 %) dans le reste des flacons, que nous mettons ensuite à l'étuve à 37°C. on mesure la densité optique des inoculum à 650 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 72 heures.

-Si la densité optique augmente, cela signifie qu'il y a une croissance bactérienne.

-Si la densité optique reste stable, cela signifie qu'il y a inhibition de la croissance bactérienne **Sahin et al.** [7].

VII.1.4 Estimation de la concentration minimale bactéricide

Nous avons repris les séries de flacons qui nous en servi à la détermination de la concentration minimale inhibitrice, contenant une concentration en huile essentielle bien déterminé de chaque bactérie considérée. Nous avons alors, effectué des séries de dilution allons jusqu'à 10^{-5} et cela pour chaque flacon.

La détermination du nombre de germes se fait par la méthode de dilution dont le processus est décrit dans le mode opératoire suivant :

Dans une série de 5 tubes à essai numérotés de 1 à 5 et contenant chacun 5 mL de bouillon nutritif plus 1mL de pré culture de *Listeria monocytogenes* ou *Escherichia coli*.

on ajoute à ce mélange un certain volume de la solution d'huile essentielle, la solution mère est ainsi obtenue. La dilution 10^{-1} est réalisée en prélevant 1 mL de la solution mère que l'on mélange aux 09 mL d'eau physiologique que contient le tube 2 et ainsi de suite...

En milieu stérile, devant un bec Benzène, on prélève 1 mL de chaque dilution à l'aide d'une pipette stérile. Cette dilution est étalée dans une boîte de pétri dans laquelle on verse la gélose nutritive (ensemencement en profondeur) puis séchée pendant 10 min.

Après une période d'incubation de 24 heures dans une étuve réglée à 37°C , le nombre de colonies obtenues est évalué dans chaque boîte.

La quantité de germes par ml de suspension bactérienne est déterminée en faisant la moyenne arithmétique des résultats obtenus du dénombrement des souches sur boîtes de pétri.

VII.2. Microorganismes testés

Le nombre de microorganismes testés est de cinq, quatre souches bactériennes et une levure. L'ensemble provenant de l'Institut Pasteur d'Alger.

Tableau X : Liste des germes étudiés

Souches de référence	Origine, année
<i>Staphylococcus aureus</i> -1-ATCC	Institut Pasteur d'Algérie 2004
<i>Staphylococcus aureus</i> -2-CC	Institut Pasteur d'Algérie 2005
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC	Institut Pasteur d'Algérie 2004
<i>Escheichia coli</i> -1-91-14-81.	Institut Pasteur d'Algérie 2004
<i>Escheichia coli</i> -2-ATCC	Institut Pasteur d'Algérie
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27.85.	Institut Pasteur d'Algérie 2004
<i>Klebsiella pneumoniae</i> -1-93.78.81	Institut Pasteur d'Algérie 2004
<i>Klebsiella pneumoniae</i> -2-ATCC	Institut Pasteur d'Algérie 2005
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC	Institut Pasteur d'Algérie 2005
<i>Candida albicans</i> ATCC	Institut Pasteur d'Algérie 2005

Chapitre III :

Résultats expérimentaux et discussion

CHAPITRE III :

RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION

Afin de contribuer à la valorisation des espèces végétales, nous nous sommes intéressés à l'extraction de l'huile essentielle d'origan. Les échantillons qui ont servi à nos essais proviennent de la région de Sétif. Ils ont été acquis en un seul lot, avant de procéder à l'opération de l'extraction, nous avons appliqué la méthode des quarts à nos échantillons afin d'obtenir des lots homogènes. Pour caractériser notre plante, quoique sèche, nous avons déterminé son taux d'humidité à l'aide de l'appareil de Dean et Stark ainsi que sa masse volumique. Les résultats sont consignés dans le tableau XII.

Tableau XII : Caractéristiques de l'origan.

Caractéristiques de la plante	Résultats
Taux d'humidité	$(7,49 \pm 0,06) \%$
Masse volumique	$(0,803 \pm 0,020) \text{ g/cm}^3$

L'extraction des huiles essentielles d'origan a été effectuée par entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation. Le tableau XIII regroupe l'ensemble des séries d'expériences entreprises lors de cette étude.

Tableau XIII : Etudes expérimentales.

Série	Thème	Type d'expériences
A	Extraction de l'huile essentielle	Par entraînement à la vapeur d'eau
		Par hydrodistillation
B	Caractérisation des huiles essentielles	- Densité - Indice de réfraction - Indice d'ester - Indice d'acide - Miscibilité à l'éthanol
	Composition chimique de l'huile essentielle	Analyse et identification de l'HE totale et de ses fractions par CG et CG/SM
C	Optimisation des procédés	- Etude paramétrique - Plan d'expériences
D	Application de l'huile essentielle	Activité insecticide
		Activité antimicrobienne

I. ENTRAINEMENT A LA VAPEUR D'EAU

Les huiles essentielles d'origan extraites par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation ont été soumises à une série de mesures de grandeurs physico-chimiques et d'analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

I.1. Caractérisation de l'huile essentielle d'origan

I.1.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'origan

Le tableau XIV regroupe les valeurs des constantes physico-chimiques ainsi que les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*.

Tableau XIV : Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*.

Constantes physiques	Valeurs mesurées	Constantes chimiques	Valeurs mesurées	Caractéristiques organoleptiques	
Densité à 20°C	0,945	Indice d'acide	32,99	Aspect	Liquide mobile
Indice de réfraction à 20°C	1,508	Indice d'ester	21,11	Couleur	Jaune claire
		Miscibilité à l'éthanol à 95%	1vol /1vol	Odeur	Agréable, aromatique légèrement épicée

Ces résultats sont les mêmes que ceux cités par **Belaiche [73]** rapportés dans le tableau XV à l'exception de la couleur de l'huile.

Tableau XV : Caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle d'origan d'Espagne d'après **Belaiche [73]**.

Huile essentielle	Couleur	Densité relative à 20°C	Indice de réfraction à 20°C
Origan d'Espagne	Brun foncé	0,945	1,508

I.1.2. Identification des constituants de l'huile essentielle d'origan

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis d'identifier 34 composés représentant 93,5% de l'huile essentielle. Le chromatogramme de l'huile essentielle est représenté par la figure 10 et les résultats sont regroupés dans le tableau XVI.

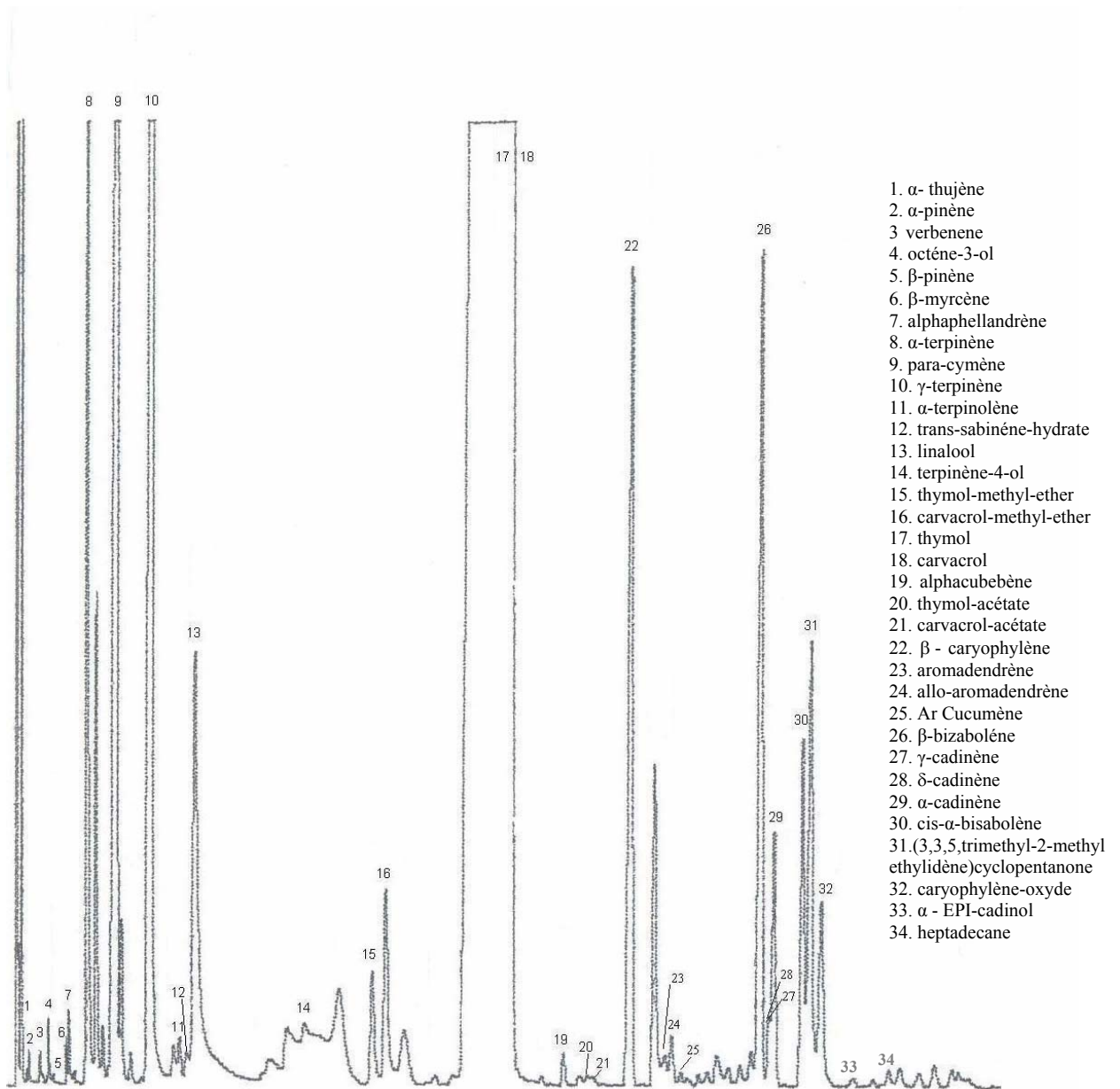


Figure 10. Chromatogramme de l'huile essentielle d'origan obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Tableau XVI : Composition chimique de l'huile essentielle d'origan obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.

Constituant	IR _{ref} [107]	IR échantillon	Teneur Relative (%)	Méthode d'identification	
				a	b
1. α - thujène	931	923	0,4	+	+
2. α -pinène	939	927	trace	+	+
3. verbenene	967	965	trace	+	+
4. octène-3-ol	978	974	trace	+	+
5. β -pinène	980	979	trace	+	+
6. β -myrcène	991	984	trace	+	+
7. α - phellandréne	1018	1007	trace	+	+
8. α -terpinène	1022	1018	1,1	+	+
9. p-cymène	1026	1032	7,9	+	+
10. γ -terpinène	1062	1056	5,1	+	+
11. α -terpinolène	1088	1078	trace	+	+
12. trans-sabinène-hydrate	1097	1089	trace	+	+
13. linalool	1098	1094	0,9	+	+
14. terpinène-4-ol	1177	1167	0,5	+	+
15. thymol-méthyl-éther	1235	1228	0,2	+	+
16. carvacrol-méthyl-éther	1244	1237	0,4	+	+
17. thymol	1290	1309	38,8	+	+
18. carvacrol	1298	1310	32,9	+	+
19. α - cubebène	1351	1345	trace	+	+
20. thymol-acétate	1355	1361	trace	+	+
21. carvacrol-acétate	1371	1373	trace	+	+
22. β - caryophyllène	1409	1409	1,4	+	+
23. aromadendrène	1439	1435	trace	+	+
24. allo - aromadendrène	1461	1468	trace	+	+
25. Ar - Curcumène	1483	1485	0,1	+	+
26. β - bizabolène	1509	1509	1,4	+	+
27. γ - cadinène	1513	1513	0,1	+	+
28. δ - cadinène	1524	1531	0,1	+	+
29. α - cadinène	1538	1537	0,4	+	+
30. cis - α -bisabolène	1533	1549	0,5	+	+
31. 3,3,5 - triméthyl-2,1- (méthyléthylidène) cyclopentanone	—	—	0,8	+	+
32. caryophyllène - oxyde	1581	1586	0,4	+	+
33. α – EPI - cadinol	1640	1634	trace	+	+
34. heptadécane	1700	1691	trace	+	--

Légende :

- a : identification à l'aide des spectres de masse ;
b : identification par les indices de rétention ;
traces < 0,05%.

L'examen de ce tableau révèle l'existence d'hydrocarbures monoterpéniques, de mono terpènes phénoliques et de sesquiterpènes. Les constituants majoritaires sont le thymol (38,8%), le carvacrol (32,9%), le p-cymène (7,9 %) et le γ -terpinène (5,1%).

Une comparaison a été effectuée entre la composition chimique de notre huile et celles d'huiles d'origan provenant de diverses régions de Sétif. La comparaison a porté sur la teneur en composés majoritaires à savoir : le p-cymène, le γ -terpinène, le thymol et le carvacrol.

Tableau XVII : Comparaison des teneurs relatives de quelques composés de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* de différentes régions de Sétif.

Composé	Régions				
	Teneurs relatives (%)				
	1	2	3	4	5
p-cymène	7,9	25,8	15,8	18,8	3,6
γ -terpinène	5,1	6,1	11,6	4,8	13,2
Thymol	38,9	36,7	37,8	10,7	7,7
Carvacrol	32,9	18,3	22,6	53,2	63,7

- 1 : *O.glandulosum* de Setif (notre échantillon) ;
 2 : *O.glandulosum* de Ouled Lyiche-Setif (Ruberto et al., 2002) [108] ;
 3 : *O.glandulosum* de Djebel Megriss- Setif (Ruberto et al., 2002) [108] ;
 4 : *O.glandulosum* de Anini- Setif (Ruberto et al., 2002) [108] ;
 5 : *O.glandulosum* de Tafat- Setif (Ruberto et al., 2002) [108] [108].

A la lumière de ces résultats, nous constatons que les composés majoritaires présents dans l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sont toujours les deux composés phénoliques : thymol et carvacrol. Nous remarquons que notre huile est différente, bien que provenant de la région de Sétif. En effet, les teneurs des constituants majoritaires de notre échantillon sont différentes de celles des autres échantillons sauf en ce qui concerne les teneurs en γ -terpinène et en thymol où elles sont comparables à celles de l'échantillon (2).

Ces différences dans la composition ne sont pas rares pour l'huile essentielle d'origan. Un comportement semblable est rapporté par Galletti et al. [109] pour 24 échantillons d'*Origanum vulgare ssp. Hirtum (Link) Letswaart* [2], collectés au sud de l'Italie. En effet, les facteurs climatiques, l'intensité du métabolisme des plantes, la différenciation, et l'activité sécrétoire des poils glandulaires affectent la synthèse et la sécrétion des huiles.

I.2. Etude de l'influence des paramètres opératoires

Afin de vérifier la reproductibilité de nos résultats, les expériences ont été reprises dans les mêmes conditions opératoires. L'erreur expérimentale sur le rendement en huile a été estimée et les résultats obtenus sont consignés dans l'Annexe 3.

I.2.1. Influence du temps d'extraction

La durée d'extraction est théoriquement le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans l'échantillon de matière végétale. Or, en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment auquel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine aussi la fin du processus d'extraction.

I.2.1.1. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau varie entre (1,60 % et 2,51%). Les variations du rendement en huile essentielle, représentées par la (figure 11), montrent que la durée d'extraction est relativement courte puisqu'au bout d'une heure et demie nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Le rendement augmente rapidement durant les 15 premières minutes, où plus de 92% de l'huile sont extraits, son évolution devenant plus lente par la suite.

Les observations des coupes des feuilles au microscope (chapitre I), ont montré que les sites renfermant l'huile essentielle sont superficiels et très abondants donc facilement accessibles à la vapeur d'eau (sites exogènes) ; c'est ce qui explique l'évolution rapide du rendement en début d'extraction. Le ralentissement observé par la suite (au-delà de dix minutes) correspondrait à l'épuisement de l'huile essentielle emmagasinée dans ces sites.

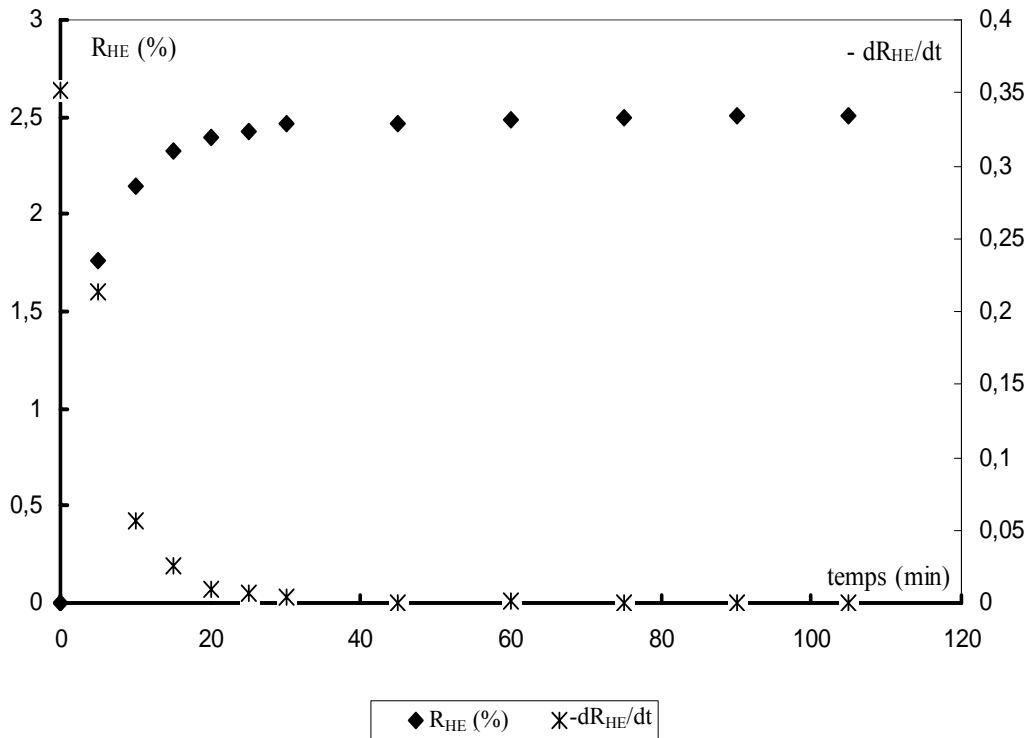


Figure 11 . Evolution du rendement de l'huile essentielle et de la vitesse d'extraction en fonction du temps.

De même, la figure 11 montre l'évolution temporelle de la vitesse instantanée de l'huile essentielle d'origan calculée à partir des tangentes à la courbe donnant l'évolution du rendement en fonction du temps. Elle présente une allure décroissante caractérisée par une forte diminution de la vitesse durant les premières vingt minutes. Cela s'explique par un entraînement massif par la vapeur d'eau de l'huile essentielle située à la surface du végétal. On constate par la suite que la vitesse instantanée d'extraction tend à s'annuler. Au vu de ces résultats une durée de 15 minutes peut être fixée pour obtenir un rendement maximal.

Afin de déterminer l'ordre de la cinétique d'extraction, nous avons supposé que cette dernière suit une loi du premier ordre où la vitesse d'extraction s'écrit comme suit :

$$-\ln \left[1 - \frac{R}{R_{\infty}} \right] = k_E t \quad (\text{III.1})$$

où

k_E : la constante de vitesse d'extraction ;

R_{∞} : le rendement au temps infini en huile essentielle.

La représentation de $-\ln \left[1 - \frac{R}{R_{\infty}} \right]$ en fonction du temps met en évidence une droite de pente k , montrant ainsi que la vitesse d'extraction de l'huile essentielle évolue selon l'ordre 1 comme l'illustre la figure 12

La constante de vitesse a été trouvée égale à :

$$k_E = 0,1693 \text{ min}^{-1}$$

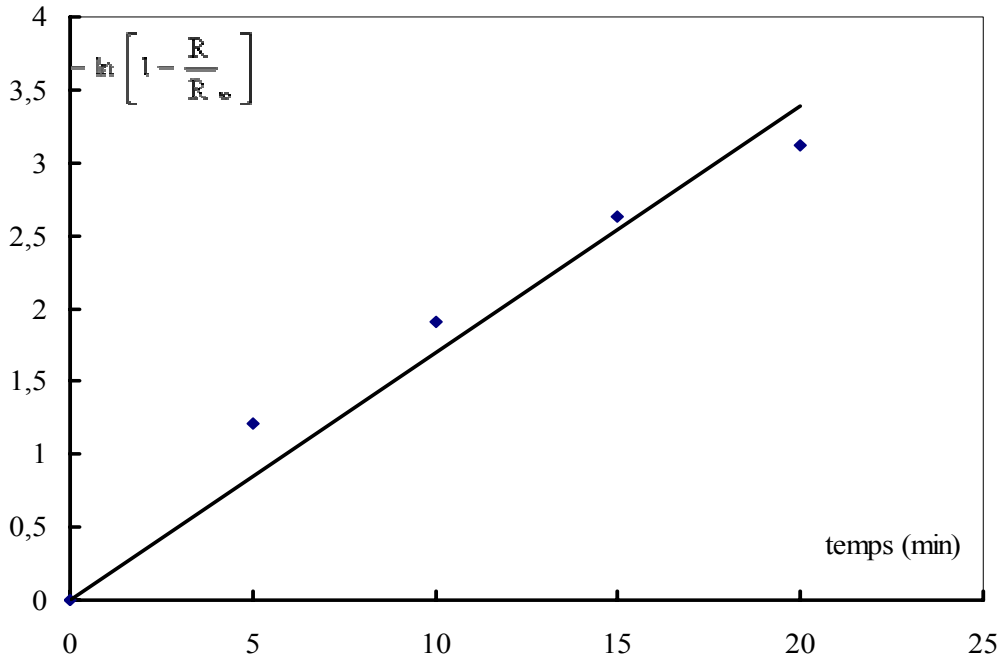


Figure 12: Evolution de $-\ln \left[1 - \frac{R}{R_{\infty}} \right]$ en fonction du temps.

I.2.1.2. Influence du temps d'extraction sur la composition en huile essentielle

Afin d'évaluer l'influence du temps d'extraction sur la composition en huile essentielle, celle-ci a été récupérée à des intervalles de temps réguliers et analysée par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions déjà citées ; ce qui nous a permis de suivre l'évolution en fonction du temps de la teneur des constituants majoritaires appartenant à différentes familles chimiques à savoir : le γ -terpinène et le para-cymène pour les monoterpènes, le carvacrol et le thymol pour les phénols et le β -caryophyllène pour les sesquiterpènes. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau XVIII et représentés respectivement par les figures (13 et 14).

Tableau XVIII : Teneurs relatives des constituants majoritaires de l'huile en fonction du temps.

Fraction	Classes chimiques		
	Teneurs relatives des monoterpènes (%)	Teneurs relatives des phénols (%)	Teneurs relatives des sesquiterpènes (%)
2,5	p-cymène : 9,2 γ -terpinène : 15,8	Thymol : 26,6 Carvacrol : 28,0	Caryophyllène : 1,6
	Total : 25,0	Total : 54,6	Total : 1,6
5	p-cymène : 2,9 γ -terpinène : 3,5	Thymol : 50,5 Carvacrol : 34,3	Caryophyllène : 1,3
	Total : 6,4	Total : 84,8	Total : 1,3
7,5	p-cymène : 1,6 γ -terpinène : 1,3	Thymol : 44,9 Carvacrol : 43,2	Caryophyllène : 1,1
	Total : 2,9	Total : 88,1	Total : 1,1
10	p-cymène : 1,8 γ -terpinène : 0,8	Thymol : 42,3 Carvacrol : 43,1	Caryophyllène : 1,6
	Total : 2,6	Total : 85,4	Total : 1,6
15	p-cymène : 1,0 γ -terpinène : 0,2	Thymol : 35,3 Carvacrol : 43,3	Caryophyllène : 2,3
	Total : 1,2	Total : 78,6	Total : 2,3
20	p-cymène : 0,5 γ -terpinène : 0,2	Thymol : 25,0 Carvacrol : 35,1	Caryophyllène : 4,2
	Total : 0,7	Total : 60,1	Total : 4,2
25	p-cymène : 0,1 γ -terpinène : tr	Thymol : 30,4 Carvacrol : 40,8	Caryophyllène : tr
	Total : 0,1	Total : 71,2	Total : tr
30	p-cymène : 0,1 γ -terpinène : 0,1	Thymol : 35,9 Carvacrol : 46,3	Caryophyllène : 1,2
	Total : 0,2	Total : 82,2	Total : 1,2
45	p-cymène : 0,1 γ -terpinène : 0,7	Thymol : 20,0 Carvacrol : 41,2	Caryophyllène : 1,9
	Total : 0,8	Total : 61,2	Total : 1,9
60	p-cymène : tr γ -terpinène : 0,00	Thymol : 1,4 Carvacrol : 3,1	Caryophyllène : 0,0
	Total : tr	Total : 4,5	Total : 0,00

L'examen de ce tableau montre que les constituants considérés sont récupérés dans l'ordre croissant de leur température d'ébullition. En effet, nous constatons que le p-cymène est récupéré en premier suivi du γ -terpinène, ces deux composés atteignent leur teneur maximale (9,2 %) et (15,8 %) respectivement dans la fraction récupérée après 2,5 minutes d'extraction. Vient ensuite, le thymol qui atteint sa teneur maximale (50,5 %) au bout de 5 minutes. Quant au carvacrol, sa teneur augmente pour atteindre (43,1 %) dans la fraction récupérée après 10 minutes d'extraction, elle diminue par la suite. Dans la fraction récupérée à 30 minutes, les teneurs en thymol et en carvacrol réaugmentent pour atteindre des valeurs de (35,9 %) et (46,3 %) respectivement. Ceci pourrait s'expliquer par l'extraction de sites n'ayant pas encore été atteint par la vapeur d'eau. Enfin la teneur maximale en caryophyllène est obtenue après 20 minutes d'extraction.

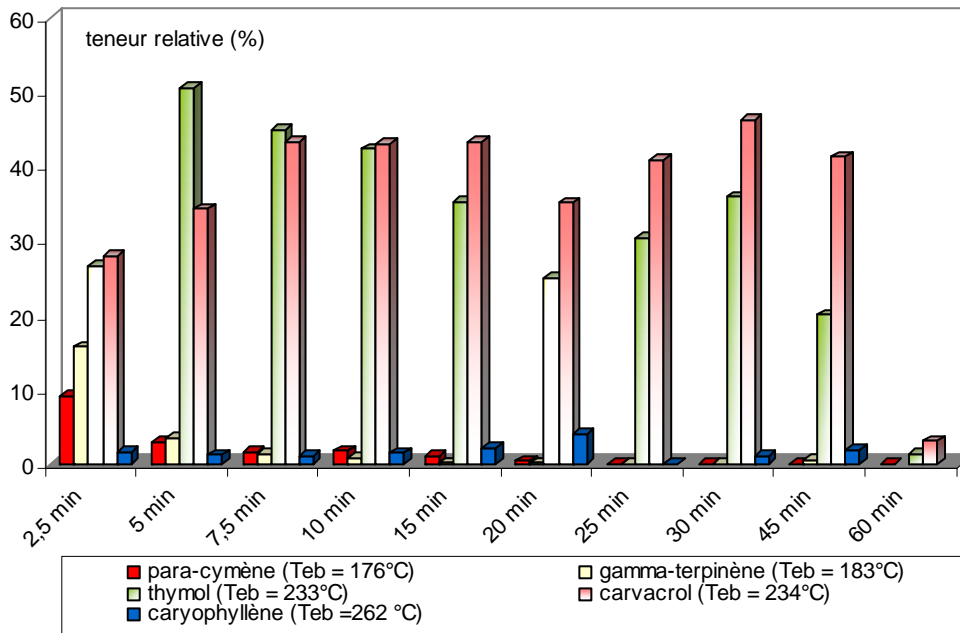


Figure 13 : Evolution de la teneur des composés majoritaires de l'huile essentielle en fonction du temps.

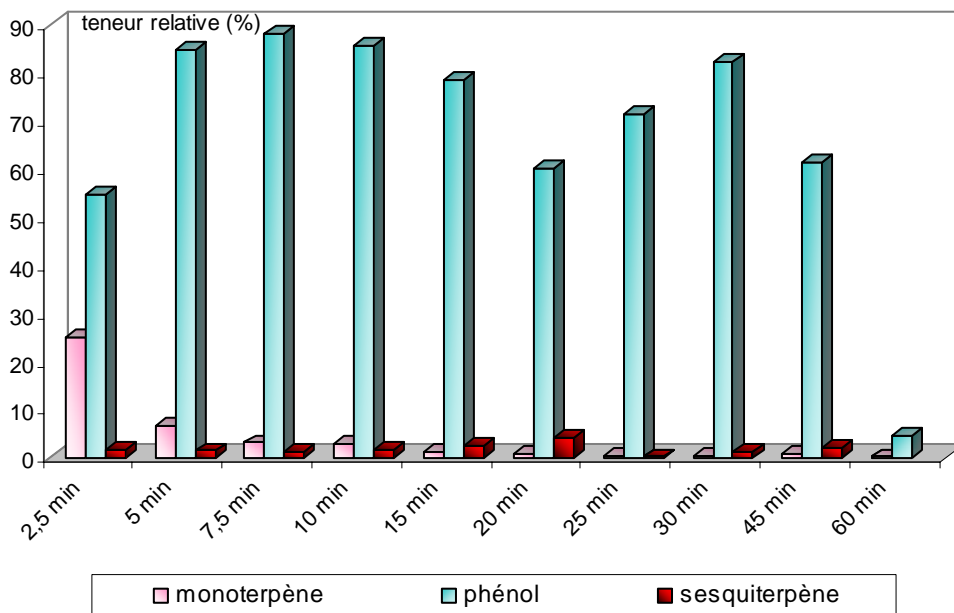


Figure 14 : Evolution de la teneur des principales classes chimiques de l'huile en fonction du temps.

Le fait que les constituants considérés soient récupérés dans l'ordre croissant de leurs températures d'ébullition, laisse supposer que l'entraînement à la vapeur d'eau est régi par les phénomènes de transfert de l'huile située à la surface de la plante et de son évaporation. Les résultats de cette étude présente un intérêt pratique. En effet, cette technique d'extraction par fractionnement offre la possibilité d'obtenir une huile essentielle de différentes qualités, particulièrement enrichie en certains constituants.

I.2.2. Etude paramétrique

Afin de mener cette étude, nous avons suivi l'évolution de trois paramètres : la masse de matière végétale, le débit de vapeur d'eau et la porosité du lit. Le temps d'extraction a été fixé à 1h30 minutes pour tous les essais.

I.2.2.1. Influence de la masse de matière végétale

Les essais ont été menés pour trois masses de végétal (22, 33, et 44 g). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XIX et illustrés par la figure 15.

Tableau XIX : Influence de la masse de matière végétale sur le rendement en huile essentielle.

Conditions opératoires	Masse de matière végétale m (g)	Rendement en huile R _{HE} (%)
t = 1h30min Q _m = 8,33 g/min ε = 0,842 H = 7,49 %	22	1,71
	33	1,90
	44	2,39

Nous constatons que le rendement augmente avec la masse de matière végétale, la valeur maximale étant obtenue pour une masse de (44g).

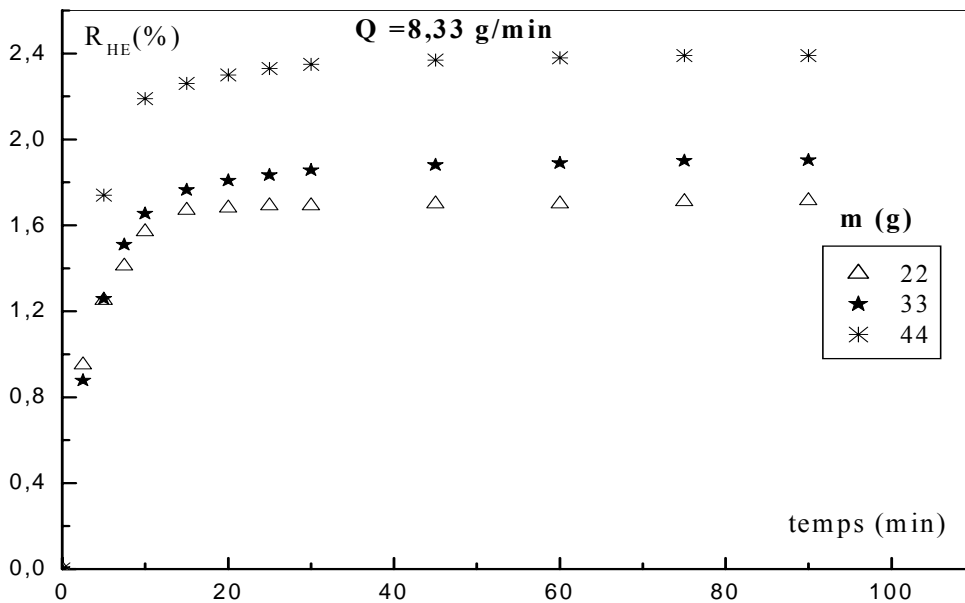


Figure 15. Evolution du rendement en fonction du temps pour différentes masses.

I.2.2.2. Influence du débit de vapeur d'eau

Afin d'évaluer l'influence du débit sur le rendement d'extraction, les essais ont été menés pour trois débits (4,20, 6,25 et 8,33 g/min). Les résultats des essais sont regroupés dans le tableau XX. L'évolution du rendement d'extraction en fonction du temps est illustrée par la figure 16.

Tableau XX : Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle.

Conditions opératoires	Débit de vapeur d'eau (g/min)	Rendement en huile R_{HE} (%)
t = 1h30min m = 44 g $\varepsilon = 0,842$ H = 7,49 %	4,20	1,89
	6,25	2,04
	8,33	2,39

Pour une masse de matière végétale constante et une même porosité du lit nous remarquons que le rendement en huile essentielle évolue en fonction du débit de vapeur d'eau. Plus le débit croît plus le rendement augmente. Cela pourrait être dû au fait que pour de faibles débits, il n'y a pas assez de vapeur d'eau et donc une partie d'huile essentielle n'est pas entraînée. Lorsque le débit croît, la quantité de vapeur d'eau augmente le contact matière végétale – vapeur d'eau est amélioré et par conséquent la quantité d'huile essentielle extraite augmente. Il semble que pour une masse de 44g et une porosité de 0,842, un débit de vapeur d'eau égal à 8,33 g/ min pourrait être plus rentable.

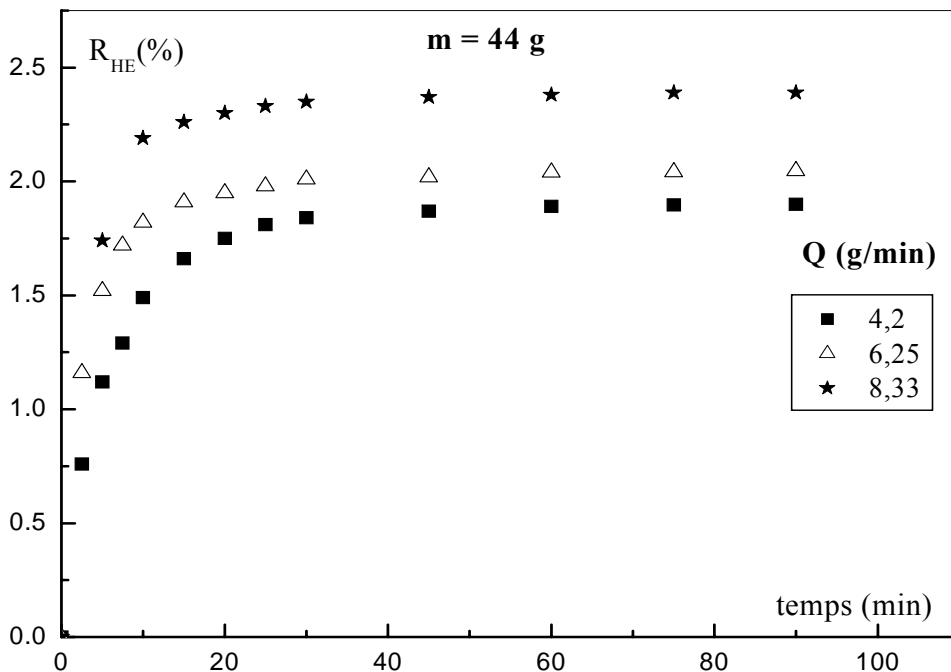


Figure 16 . Evolution du rendement en fonction du temps pour différents débits.

I.2.2.3. Influence de la porosité du lit

Afin de mener cette étude, nous avons opéré dans les conditions résumées dans le tableau XXI qui regroupe également les résultats obtenus. Ces derniers sont illustrés par la figure 17.

Tableau XXI : Influence de la porosité du lit sur le rendement en huile essentielle.

Conditions opératoires	Porosité du lit	Rendement en huile R_{HE} (%)
$t = 1h30min$	0,773	1,60
$m = 22 g$	0,842	1,71
$Q_m = 8,33 g/min$	0,886	2,51
$H = 7,49 \%$		

D'après les résultats du tableau XXI; nous constatons que l'augmentation de la porosité du lit a un effet positif sur le rendement en huile essentielle. En effet, ce dernier croît quant la porosité du lit augmente. Le maximum étant obtenu pour une porosité de 0,886. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que pour une faible porosité, donc un lit tassé, le passage de la vapeur d'eau entre les particules formant le lit est difficile, le contact végétal-vapeur d'eau est réduit d'où une extraction d'huile plus faible. Pour une porosité plus élevée, le lit est aéré, la circulation de la vapeur entre le végétal est améliorée et facilitée. Cela permet d'atteindre tous les sites contenant l'huile essentielle et d'obtenir de meilleurs rendements.

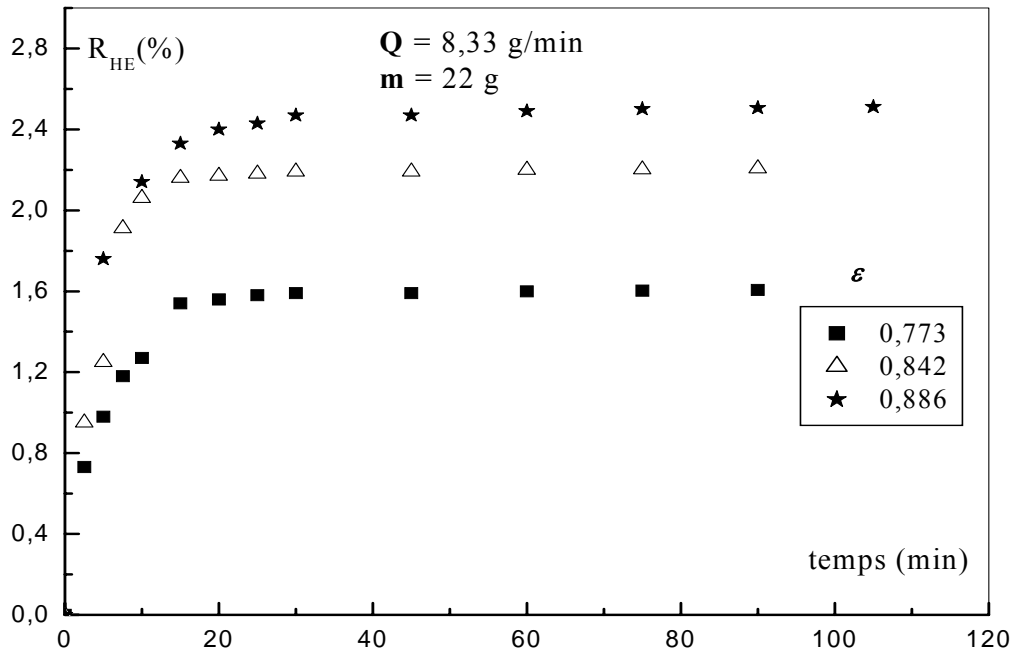


Figure 17. Evolution du rendement en fonction du temps pour différentes porosités.

Pour un temps de traitement de 1h 30 minutes et un taux d'humidité de (7,49 %), les conditions optimales obtenues par l'étude paramétriques sont donc les suivantes :

Masse de matière végétale à traiter : **m = 44 g**
 Débit de vapeur d'eau : **Q_m = 8,33 g/min**
 Porosité du lit : **ε = 0,886**

Rappelons que cette méthode ne permet d'évaluer que l'effet individuel de chacun des paramètres sur le rendement sans tenir compte de leurs interactions d'où la nécessité d'une étude par plan d'expériences que nous allons présenter ci-après.

I.2.3. Etude par plan d'expériences

A l'instar des résultats obtenus par l'étude paramétrique nous pouvons conclure que les principaux paramètres influençant le rendement en huile essentielle d'origan sont la masse de la matière végétale, le débit de vapeur d'eau et la porosité du lit. Par conséquent, nous avons choisi le plan factoriel des expériences à deux niveaux des trois paramètres étudiés, désigné par 2³. Nous avons fixé les valeurs minimales et maximales de ces trois paramètres et programmé huit essais correspondants au nombre total de combinaisons des deux niveaux des trois paramètres. Les niveaux inférieurs et supérieurs que nous avons attribués aux paramètres considérés, les conditions opératoires et les rendements en extrait obtenus pour chacun des huit essais du plan factoriel sont regroupés dans le tableau XXII.

Tableau XXII : Conditions opératoires de la planification des expériences.

Essai	Coordonnées réelles			Coordonnées réduites			Rendement (%)
	Masse (g)	Débit (g/min)	Porosité	X ₁	X ₂	X ₃	
1	44	8,33	0,842	+1	+1	+1	2,39
2	22	8,33	0,842	-1	+1	+1	1,71
3	44	8,33	0,773	+1	+1	-1	1,66
4	22	8,33	0,773	-1	+1	-1	1,60
5	44	4,20	0,842	+1	-1	+1	1,89
6	22	4,20	0,842	-1	-1	+1	1,95
7	44	4,20	0,773	+1	-1	-1	2,05
8	22	4,20	0,773	-1	-1	-1	1,97
Essais du point central	33	6,25	0,808	0	0	0	1,65
	33	6,25	0,808	0	0	0	1,64

Le rendement optimal en huile essentielle est obtenu pour l'essai (1) qui correspond aux valeurs suivantes des paramètres étudiés :

- en coordonnée réduite : (+1, +1, +1)
- en coordonnées réelles : - Masse de matière végétale à traiter : **m = 44 g**
 - Débit de vapeur d'eau : **Q = 8,33 g/min**
 - Porosité : **ε = 0,842**

Les essais au point central (0, 0, 0) nous ont permis d'évaluer la reproductibilité des résultats ; L'erreur expérimentale a été estimée égale à 0,01%.

L'élaboration d'une stratégie expérimentale de ce type permet en outre d'exprimer le rendement d'extraction comme fonction polynomiale du premier ordre par rapport aux variables X_1 , X_2 et X_3 . Après le traitement mathématique des résultats, nous avons abouti à l'expression suivante :

$$Y = 1,906 + 0,094 X_1 - 0,063 X_2 + 0,083 X_3 + 0,088 X_1 X_2 + 0,062 X_1 X_3 + 0,127 X_2 X_3 + 0,094 X_1 X_2 X_3 \quad (\text{III.2})$$

Les coefficients de l'équation III.2 correspondant aux effets d'interactions simples et conjuguées des paramètres, révèlent que la masse et la porosité ont un effet positif sur le rendement en huile essentielle contrairement au débit de vapeur d'eau qui a un effet négatif. Par ailleurs, l'interaction des deux paramètres conjugués X_2 et X_3 a un effet positif prédominant sur le rendement en comparaison avec l'interaction des couples (X_1, X_2) et (X_1, X_3) ainsi que l'interaction des trois paramètres $(X_1 X_2 X_3)$

Nous avons eu recours au logiciel statgraphic plus pour examiner les résultats du plan factoriel afin de confirmer et de compléter les résultats obtenus par l'étude classique. Les effets simples et conjugués des différents paramètres sont estimés et représentés sur les figures 18 à 24.

Les effets des paramètres représentent le passage d'un paramètre de son niveau inférieur à son niveau supérieur, pendant que les autres sont au niveau zéro. L'examen des figures 18 à 20, montre que les effets simples des deux paramètres masse et porosité influencent positivement le rendement tandis que le débit affecte négativement le rendement.

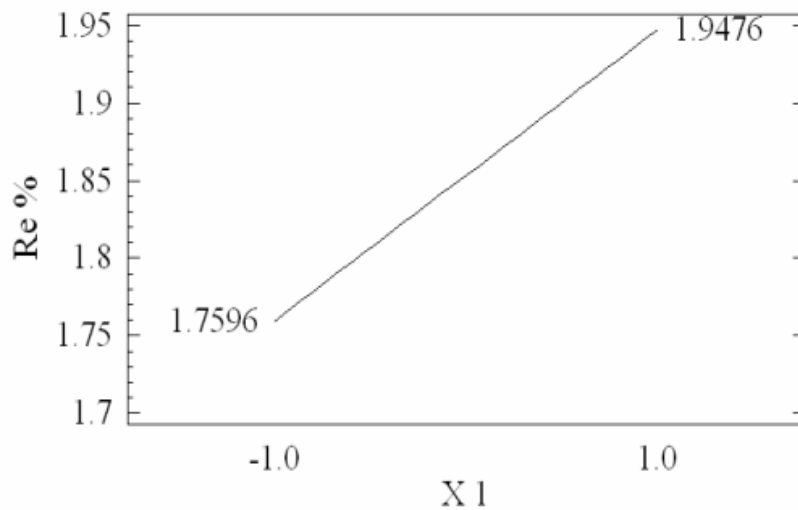


Figure 18. Effet simple de la masse de matière végétale sur le rendement en huile essentielle.

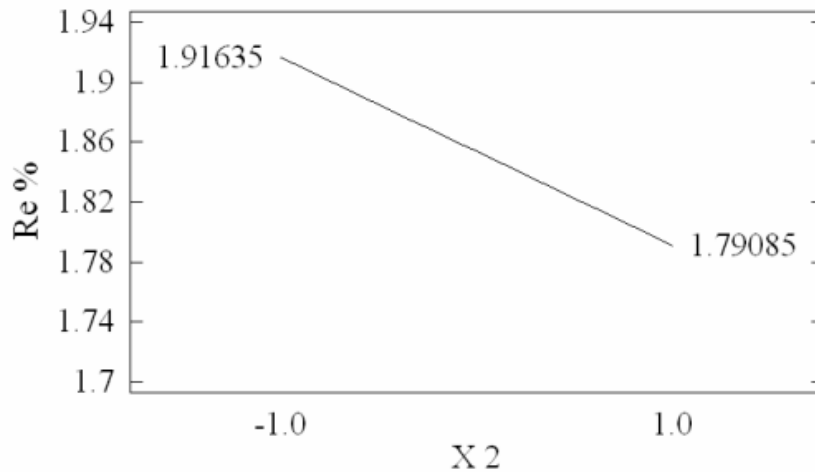


Figure 19. Effet simple du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle.

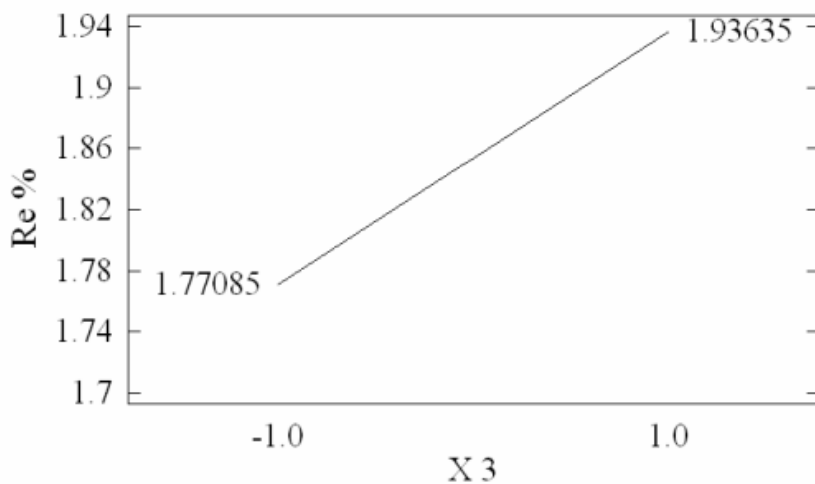


Figure 20. Effet simple de la porosité sur le rendement en huile essentielle.

Afin d'illustrer les effets d'interaction des trois paramètres étudiés à leurs niveau inférieur et supérieur, nous avons représenté leurs évolutions mutuelles deux à deux. Ces effets sont significatifs lorsque les signes des pentes de leurs courbes sont différents, il y a donc interaction entre les paramètres considérés. La figure 21, donnant la représentation graphique des effets relatifs aux interactions masse-débit montre que les pentes des courbes sont de signe contraire, l'interaction entre ces paramètres est donc significative. Les mêmes observations sont valables pour les effets interactions débit-porosité figure 23. Par contre, la figure 22 qui présente l'évolution des effets relatifs aux interactions masse-porosité révèle des pentes de même signe, par conséquent, les interactions de ces effets ne sont pas significatives. Concernant l'effet d'interaction des trois paramètres, les pentes sont de signe contraire (deux à deux), ce qui signifie qu'il y a interaction entre eux.

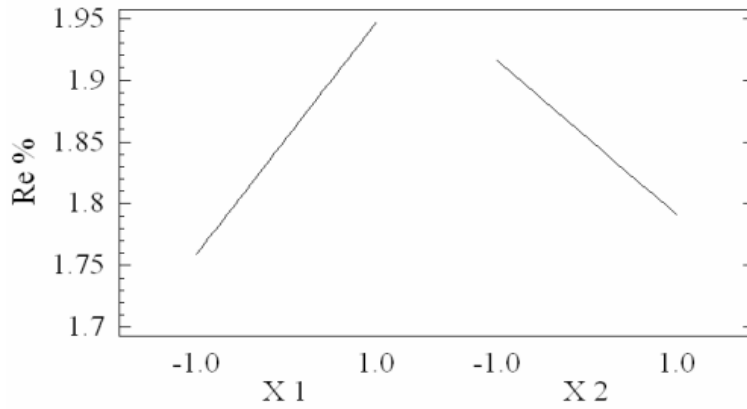


Figure 21 . Effet d'interaction masse - débit sur le rendement en huile essentielle.

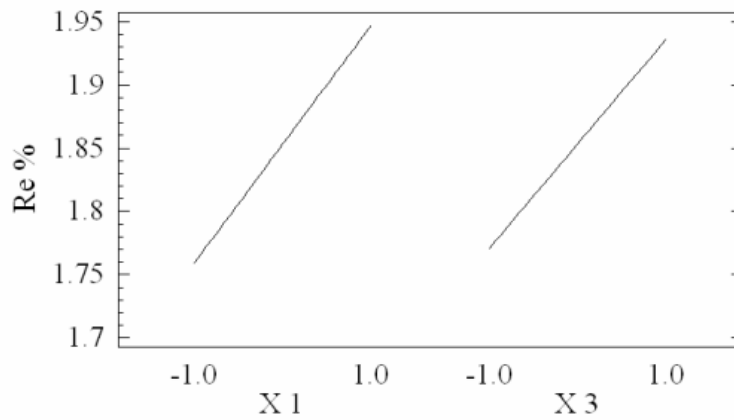


Figure 22. Effet d'interaction masse - porosité sur le rendement en huile essentielle.

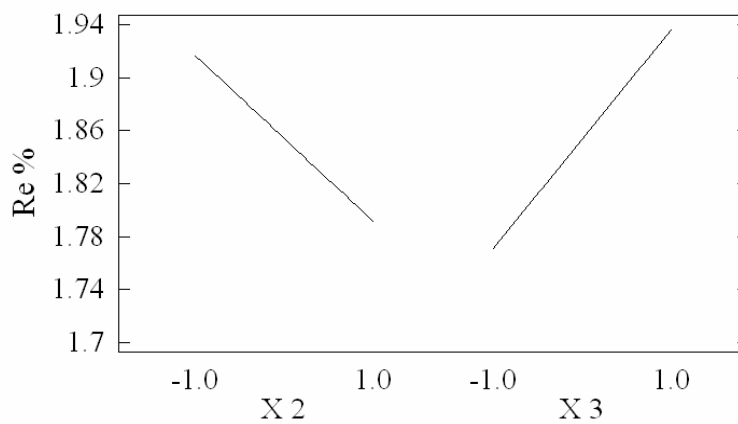


Figure 23. Effet d'interaction débit - porosité sur le rendement en huile essentielle.

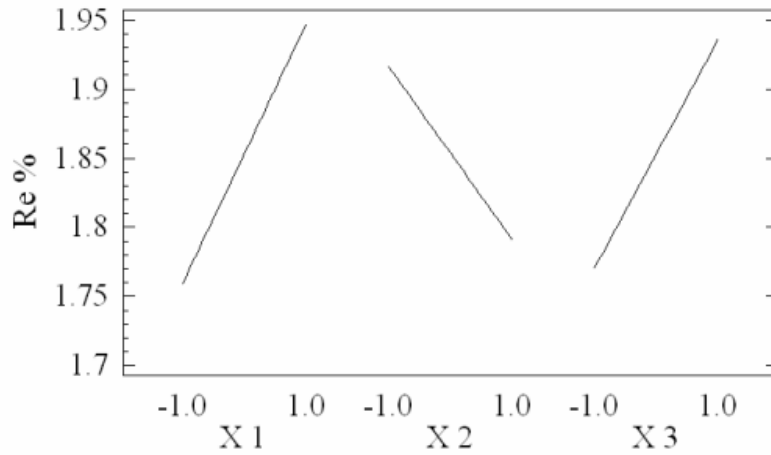


Figure 24. Effet d'interaction masse- débit - porosité sur le rendement en huile essentielle.

Les surfaces de réponse sont des représentations graphiques à trois dimensions de la réponse du système étudié en fonction de deux paramètres, le troisième étant fixé à son niveau zéro (central). Ce type de représentation permet de rechercher des régions expérimentales pour lesquelles la réponse est optimale. Les figures 25 à 27 représentant respectivement les variations du rendement en fonction des effets conjugués masse- débit, masse-porosité et débit – porosité, montrent qu'ils influent positivement le rendement.

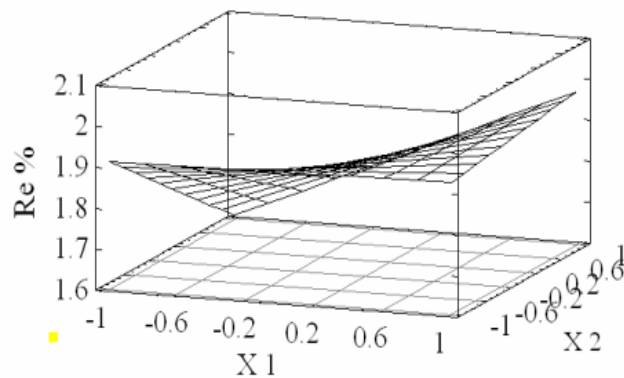


Figure25. Surface de réponse correspondant au couple masse-débit.

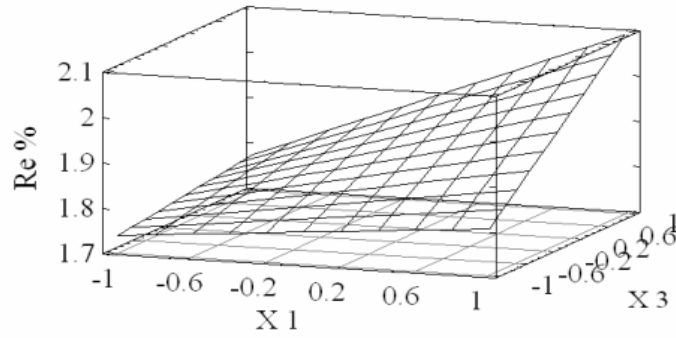


Figure 26. Surface de réponse correspondant au couple masse-porosité.

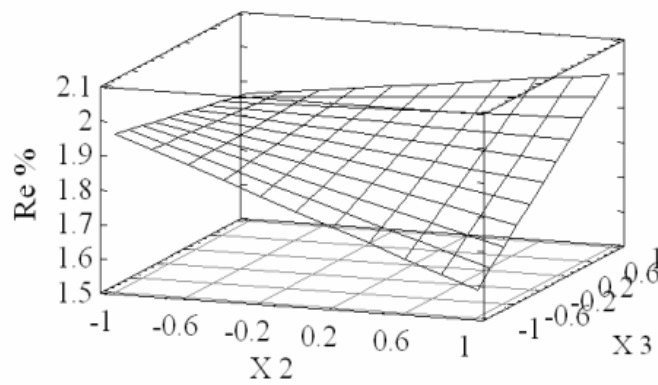


Figure 27. Surface de réponse correspondant au couple débit-porosité.

II. HYDRODISTILLATION

Le second procédé utilisé dans l'étude de l'extraction de l'huile essentielle d'origan est l'hydrodistillation. Nous avons procédé aux mêmes séries de mesures et d'analyse pour l'huile essentielle extraite par hydrodistillation que pour celle effectuées pour l'huile extraite par entraînement à la vapeur d'eau.

II.1. Caractérisation de l'huile essentielle d'origan

II.1.1. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle d'origan

Nous regroupons dans le tableau XXIII les valeurs des constantes physico-chimiques de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* obtenue par hydrodistillation.

Tableau XXIII : Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle d'origan extraite par hydrodistillation.

Constantes physiques	Valeurs mesurées	Constantes chimiques	Valeurs mesurées	Caractéristiques organoleptiques	
Densité	0,920	Indice d'acide	2	Aspect	Liquide mobile
Indice de réfraction	1,493	Indice d'ester	3	Couleur	Jaune brun
		Miscibilité à l'éthanol à 95 %	1vol / 1vol	Odeur	Agréable, aromatique légèrement épicée

Nos résultats peuvent être comparés à ceux trouvés dans la littérature portant sur des analyses effectuées sur l'*Origanum glandulosum* extrait par hydrodistillation et provenant d'autres régions d'Algérie comme l'illustre le tableau XXIV.

Tableau XXIV : Propriétés physico-chimiques et organoleptiques de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation d'espèces d'*Origanum glandulosum* d'Algérie.

Caractéristiques		Huile essentielle	
		<i>O.glandulosum</i> de Bejaia	<i>O.glandulosum</i> de Larbaa
organoleptique	Aspect	Liquide mobile	Liquide mobile
	Couleur	Jaune claire	Rouge orangé
	Odeur	Caractéristique, agréable, aromatique, phénolique avec un fond légèrement épicé	
physique	Miscibilité à l'éthanol	1 vol d'huile essentielle dans 1 vol d'éthanol à 80 %	
	Indice de réfraction à 20°C	1,420	---
	Densité relative à 20°C	0,912	0,894
chimique	Indice de phénol	38 %	56%

Les résultats obtenus pour notre huile essentielle sont légèrement différents de ceux rapportés dans le tableau XXIV mais restent du même ordre de grandeur.

II.1.2. Identification des constituants de l'huile essentielle d'origan

L'identification des constituants de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* récupérée par hydrodistillation a été réalisée en utilisant la chromatographie en phase gazeuse (CG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) dans les mêmes conditions que l'huile obtenue par entraînement à la vapeur d'eau, et cela afin de pouvoir comparer les résultats obtenus par les deux procédés. Nous avons identifié 36 constituants représentant 92 % de l'huile essentielle. Le chromatogramme de l'huile essentielle est représenté par la figure 28, les résultats de l'identification des composés sont regroupés dans le tableau XXV.

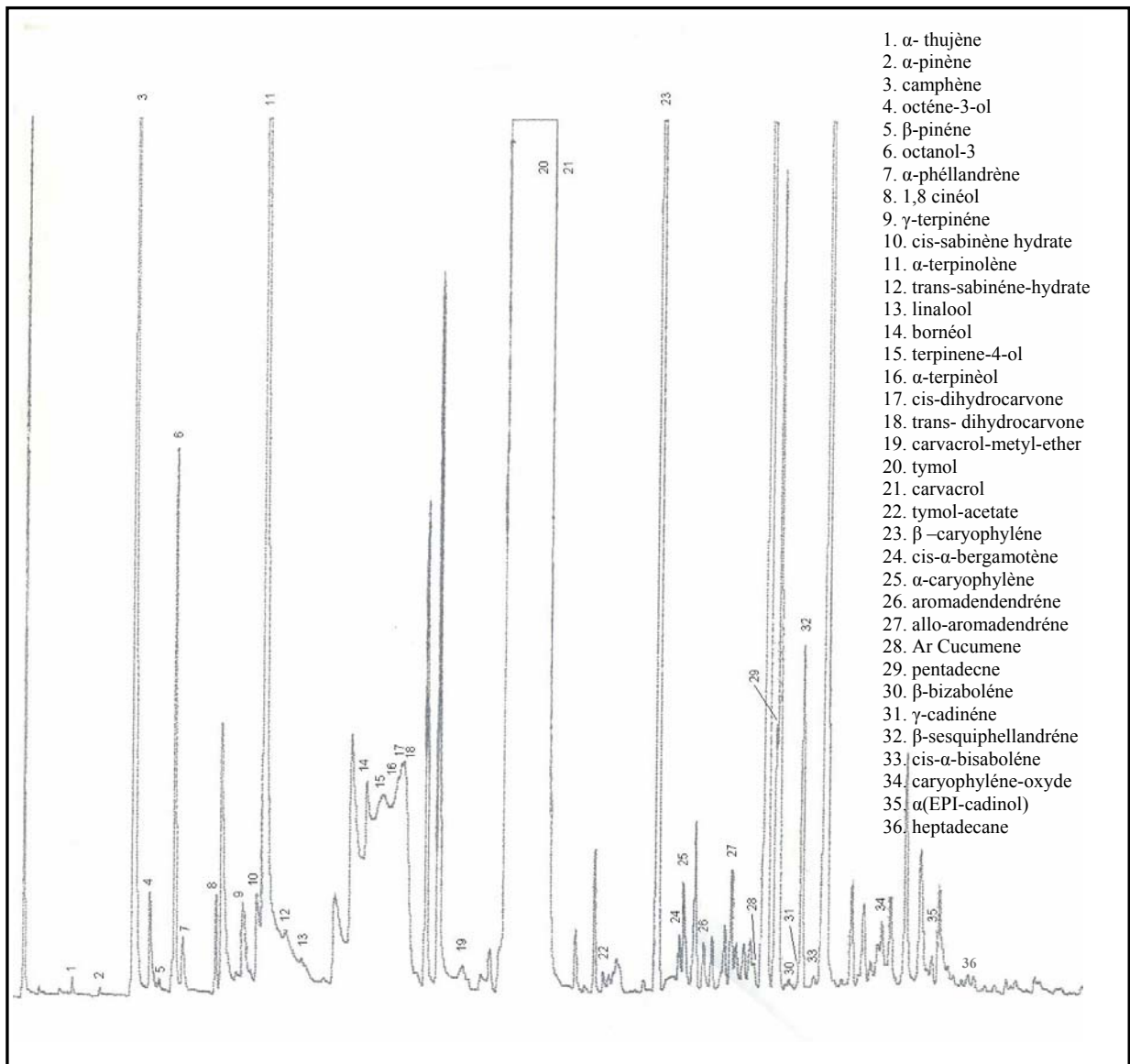


Figure 28. Chromatogramme de l'huile essentielle d'origan obtenue par hydrodistillation.

Tableau XXV : Composition chimique de l'huile essentielle d'origan obtenue par hydrodistillation.

Constituant	IR _{Ref} [107]	IR échantillon	Teneur relative (%)	Méthode d'identification	
				a	b
1. α - thujène	931	928	trace	+	+
2. α -pinène	939	936	trace	+	+
3. camphène	957	957	0,7	+	+
4. octène-3-ol	978	971	trace	+	+
5. β -pinène	980	979	trace	+	+
6. octanol-3	993	992	0,2	+	+
7. α -phéllandrène	1005	999	trace	+	+
8. 1,8-cinéole	1033	1033	trace	+	+
9. γ -terpinène	1062	1060	0,1	+	+
10. cis-sabinène hydrate	1068	1068	trace	+	+
11. α -terpinolène	1088	1088	0,9	+	+
12. trans-sabinène-hydrate	1097	1103	trace	+	+
13. linalool	1098	1115	trace	+	+
14. bornéol	1165	1166	0,2	+	+
15. terpinène-4-ol	1177	1178	0,5	+	+
16. α -terpinéol	1189	1186	0,1	+	+
17. cis-dihydrocarvone	1192	1190	0,2	+	+
18. trans- dihydrocarvone	1192	1195	0,4	+	+
19. carvacrol-méthyl-éther	1244	1241	trace	+	+
20. thymol	1290	1298	48,6	+	+
21. carvacrol	1298	1310	38,9	+	+
22. thymol-acétate	1355	1355	0,1	+	+
23. β -caryophyllène	1404	1401	1,0	+	+
24. cis- α -bergamotène	1415	1412	trace	+	+
25. α -caryophyllène	1418	1419	trace	+	+
26. aromadendrène	1439	1439	trace	+	+
27. allo-aromadendrène	1461	1462	trace	+	+
28. Ar- curcumène	1483	1483	trace	+	+
29. pentadécane	1500	1502	trace	+	+
30. β -bizabolène	1509	1510	trace	+	+
31. γ -cadinène	1513	1512	trace	+	+
32. β -sesquiphellandrène	1524	1522	0,1	+	+
33. cis- γ -bisabolène	1533	1531	trace	+	+
34. caryophyllène-oxyde	1581	1581	trace	+	+
35. α -(EPI)-cadinol	1640	1643	trace	+	+
36. heptadécane	1700	1701	trace	+	+

Légende :

- a : identification à l'aide des spectres de masse ;
- b : identification par les indices de rétention ;
- traces < 0,05 %.

L'examen du tableau XXV montre que de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation contient plus de 87% de phénols. En effet, les constituants majoritaires sont le thymol et le carvacrol avec (48,6 %) et (38,9 %) respectivement.

Nous avons comparé la composition chimique de notre huile avec celle du genre *Origanum* d'autres régions d'Algérie [110, 111].

La comparaison a porté sur la teneur en composés majoritaires à savoir : le p-cymène, le γ -terpinène, le thymol et le carvacrol. Les résultats sont donnés dans le tableau XXVI.

Tableau XXVI : Comparaison des teneurs relatives de quelques composés de l'huile essentielle du genre *Origanum*.

Composé/région	Teneurs relatives (%)		
	01	02	03
p-cymène	---	10,40	10,59
γ -terpinène	0,1	10,00	14,89
thymol	48,6	53,10	20,41
carvacrol	38,9	11,50	40,53

01 : *O.glandulosum* de Sétif (notre échantillon) ;

02 : *O glandulosum* (Algérie) (Boutekedjiret. C et al) [110] ;

03 : *O.floribundum* (Azoudj, 1999) [111].

Au vu de ces résultats, nous constatons que les composés majoritaires présents dans l'huile essentielle du genre *Origanum* extraite par hydrodistillation sont essentiellement deux composés phénoliques : le thymol et le carvacrol. Si l'on compare les teneurs en thymol, nous remarquons que notre huile se rapproche de l'échantillon (02), alors que pour le carvacrol, elle est comparable à l'échantillon (03). Quant aux à la composition en p-cymène et en γ -terpinène, notre échantillon est totalement différent des autres.

II.2. Etude de l'influence des paramètres opératoires

II.2.1. Influence du temps d'extraction

L'influence du temps d'extraction a porté aussi bien sur le rendement que sur la composition de l'huile essentielle. Nous avons maintenu la même durée d'extraction que pour celle fixée dans le cas des extractions par entraînement à la vapeur d'eau à savoir 1h30 minutes.

II.2.1.1. Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle

L'hydrodistillation d'origan donne un rendement en huile essentielle qui varie entre (0,76 et 1.82 %) ;

La figure 29 illustre les variations du rendement en huile essentielle et montre que celui-ci augmente rapidement durant les 25 premières minutes où plus de (93 %) de l'huile sont extraits, son évolution devient plus lente par la suite.

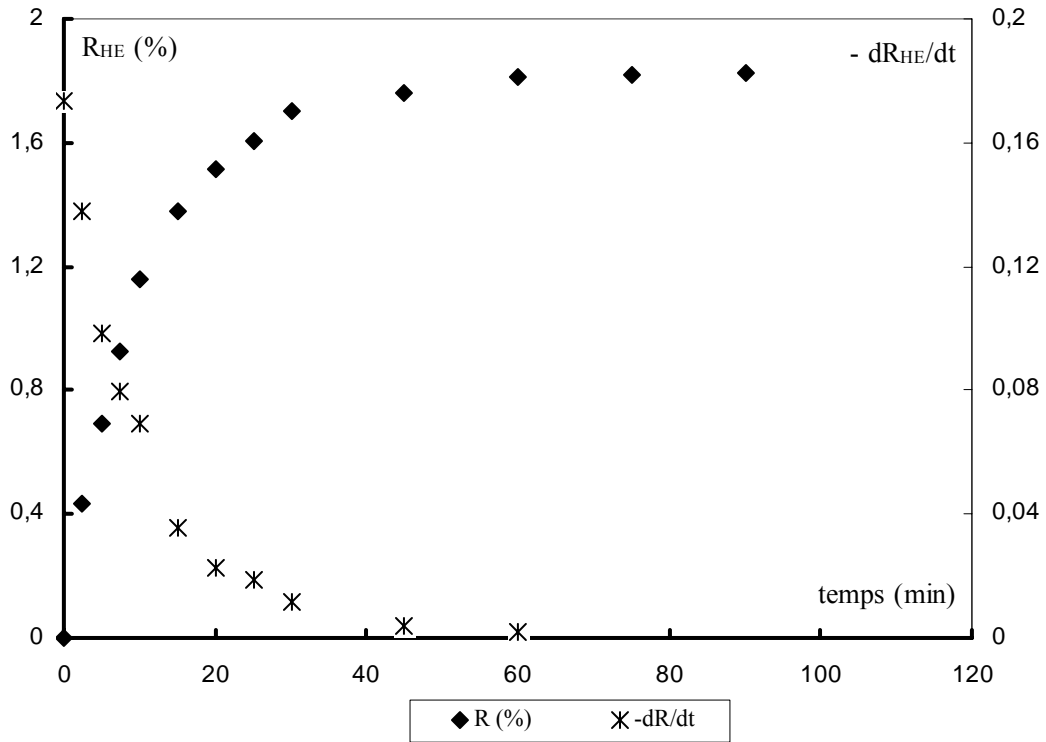


Figure 29. Evolution du rendement en huile essentielle et de la vitesse en fonction du temps.

De même, la figure 29 montre l'évolution temporelle de la vitesse instantanée d'extraction de l'huile essentielle. Elle présente une allure décroissante caractérisée par une diminution rapide de la vitesse durant les trente premières minutes. Cela s'explique par le fait que l'huile est emmagasinée dans des sites situés à la surface du végétal (comme rapporté par les observations au microscope des coupes histologiques des feuilles) donc facilement accessibles à la vapeur d'eau. Une durée de 30 minutes peut être fixée pour obtenir un rendement optimal.

Nous avons supposé que l'extraction de l'huile essentielle d'origan par hydrodistillation suit également une loi cinétique du premier ordre. Afin de justifier cela, nous avons tracé la courbe qui vérifie la loi qui régit l'équation suivante :

$$- \ln \left[1 - \frac{R}{R_{\infty}} \right] = k_H t$$

où

k_H : est la constante de vitesse d'extraction.

R_{∞} : le rendement au temps infini en huile essentielle.

La représentation de $-\ln \left[1 - \frac{R}{R_{\infty}} \right]$ en fonction du temps met en évidence une droite de pente k , montrant ainsi que la vitesse d'extraction de l'huile essentielle évolue selon l'ordre 1 comme l'illustre la figure 30.

La constante de vitesse a été trouvée égale à :

$$k_H = 0,0897 \text{ min}^{-1}$$

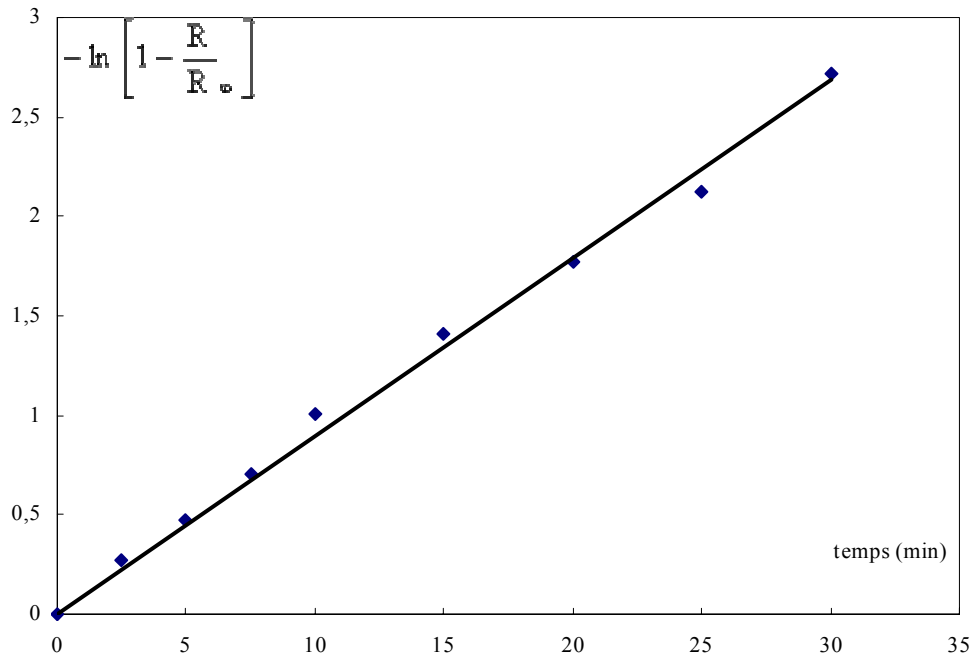


Figure 30 . Evolution de $-\ln\left[1 - \frac{R}{R_\infty}\right]$ en fonction du temps.

II.2.1.2. Influence du temps d'extraction sur la composition en huile essentielle

Pour suivre l'influence du temps d'extraction sur la composition de l'huile essentielle obtenu par hydrodistillation, celle-ci à été récupérée à des intervalles de temps bien définis et analysée par chromatographie en phase gazeuse dans les conditions suscitées. Nous avons suivi l'évolution de la teneur relative de quelques constituants majoritaires de l'huile en fonction du temps appartenant à différentes familles chimiques à savoir : le carvacrol, le thymol, le β -caryophyllène et un composé non identifié noté inconnu. Les résultats des analyses sont regroupés dans le tableau XXVII et représentés par les figures 31 et 32.

Tableau XXVII : Teneurs relatives des constituants majoritaires en fonction de temps.

Fraction Temps (min)	Classes chimiques	
	Teneurs relatives des phénols (%)	Teneurs relatives des sesquiterpènes (%)
2,5	thymol : 38,1 carvacrol : 28,0	β -caryophyllène : 0,9 inconnu : 0,6
	Total : 66,1	Total : 1,5
5	thymol : 38,3 carvacrol : 50,5	β -caryophyllène : 0,1 inconnu : 0,5
	Total : 88,8	Total : 0,6
7,5	thymol : 37,8 carvacrol : 52,9	β -caryophyllène : 0,5 inconnu : 0,4
	Total : 90,7	Total : 0,9
10	thymol : 33,5 carvacrol : 58,6	β -caryophyllène : 0,7 inconnu : 0,7
	Total : 92,1	Total : 1,4
15	thymol : 39,9 carvacrol : 51,2	β -caryophyllène : 0,7 inconnu : 0,8
	Total : 91,1	Total : 1,5
20	thymol : 38,1 carvacrol : 51,1	β -caryophyllène : 1,2 inconnu : 1,0
	Total : 89,2	Total : 2,2
25	thymol : 33,2 carvacrol : 52,7	β -caryophyllène : 1,8 inconnu : 2,5
	Total : 85,9	Total : 4,3
30	thymol : 33,8 carvacrol : 54,2	Caryophyllène : 1,2 inconnu : 2,2
	Total : 88,0	Total : 3,4
45	thymol : 19,3 carvacrol : 51,3	β -caryophyllène : 3,2 inconnu : 6,0
	Total : 70,6	Total : 9,2
60	thymol : 14,1 carvacrol : 42,1	β -caryophyllène : 3,3 inconnu : 7,9
	Total : 56,2	Total : 11,2
90	thymol : 10,5 carvacrol : 36,1	β -caryophyllène : 1,7 inconnu : 6,5
	Total : 46,6	Total : 8,2

L'examen de ce tableau montre que le thymol est récupéré en premier avec une teneur optimale avoisinant les (38 %) durant les cinq premières minutes d'extraction. Cette teneur diminue puis augmente à (39,9 %) dans la fraction récupérée après quinze minutes de traitement. La teneur maximale du carvacrol est atteinte après dix minutes d'extraction. Le β -caryophyllène est obtenu en plus grande proportion entre quarante cinq minutes et une heure, alors que le composé inconnu atteint une teneur maximale de (7,9 %) après une heure de traitement. Ces résultats montrent que les constituants considérés sont récupérés dans l'ordre croissant de leur température d'ébullition, ce qui laisse supposer que l'hydrodistillation est régi par des phénomènes de transfert de l'huile située à la surface de la plante et de son évaporation.

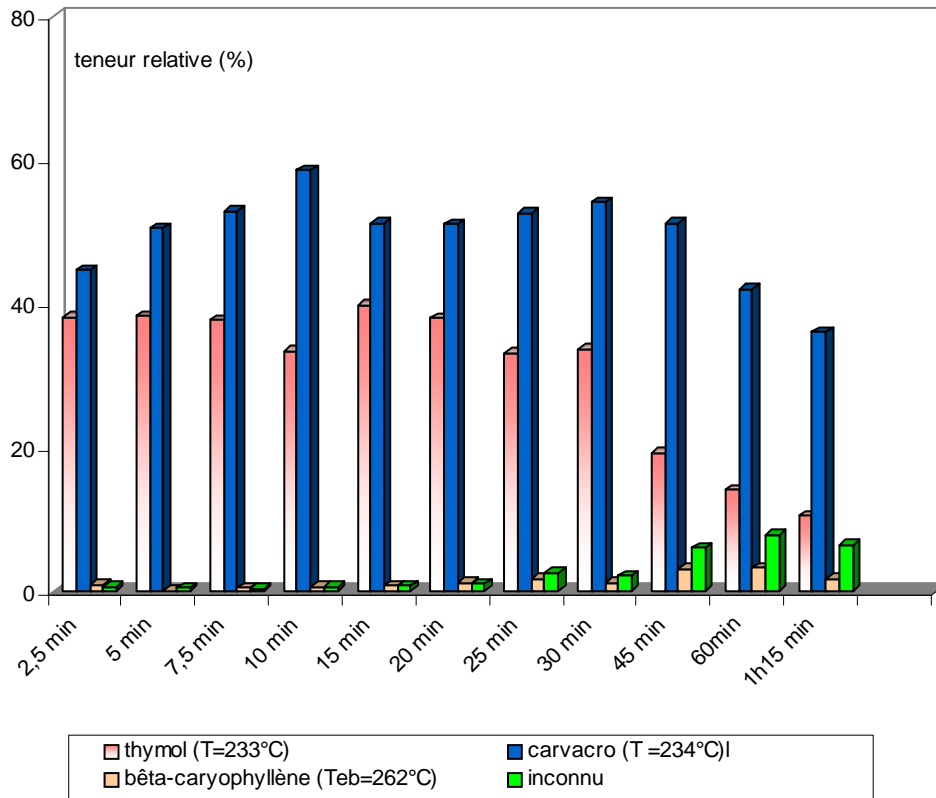


Figure 31. Evolution de la teneur relative des composés majoritaires au cours de l'hydrodistillation.

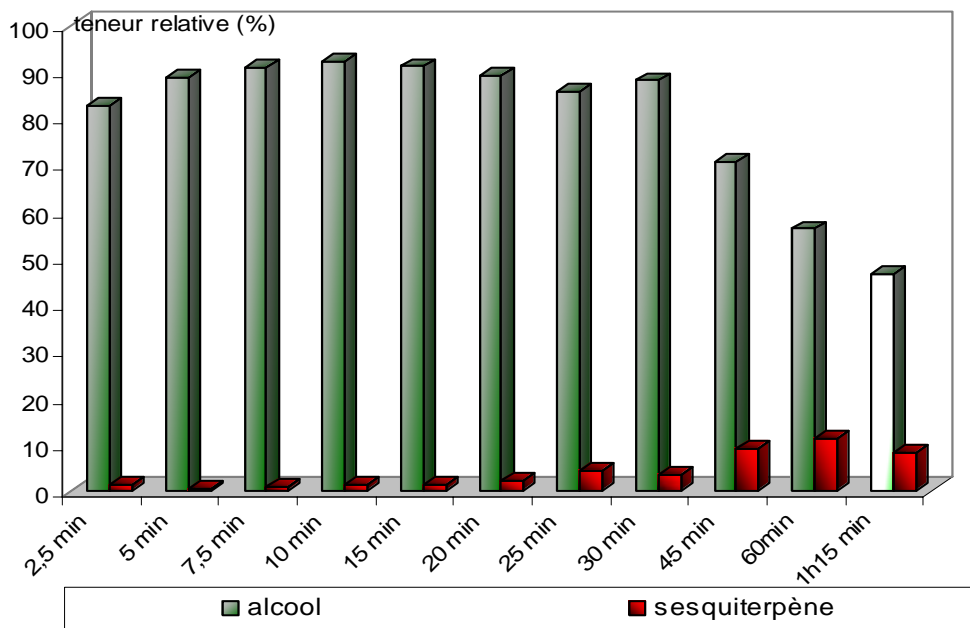


Figure 32. Variations des teneurs relatives des principales classes chimiques au cours de l'hydrodistillation.

II.2.2. Etude paramétrique

Afin de mener cette étude nous avons suivi l'évolution de la variation de deux paramètres opératoires à savoir: la masse de matière végétale et le débit de vapeur d'eau. Le temps d'extraction a été fixé à 1h 30 min pour tous les essais.

Pour vérifier la reproductibilité de nos résultats, les essais ont été repris dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats de ces expériences sont consignés dans l'Annexe 3.

II.2.2.1. Influence de la masse de matière végétale sur le rendement en huile essentielle

Pour évaluer l'influence de la masse de matière végétale sur le rendement d'extraction, nous avons mené des essais avec six masses différentes (11, 22, 33, 44, 50 et 55g). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XXVIII et illustrés par la figure 33.

Tableau XXVIII : Influence de la masse de matière végétale sur le rendement en huile essentielle.

Conditions opératoires	Masse de matière végétale m (g)	Rendement en huile R _{HE} (%)
t = 1h30 min Q _m = 8,33 g/min H = 7,49 %	11	0,76
	22	0,78
	33	0,99
	44	1,02
	50	1,21
	55	1,82

Au vu de ces résultats, nous constatons qu'à débit de vapeur d'eau constant l'augmentation de la masse du végétal a un effet positif sur le rendement en huile essentielle. En effet, lorsque celle-ci croît, le rendement en huile essentielle augmente jusqu'à atteindre **1,82 %**.

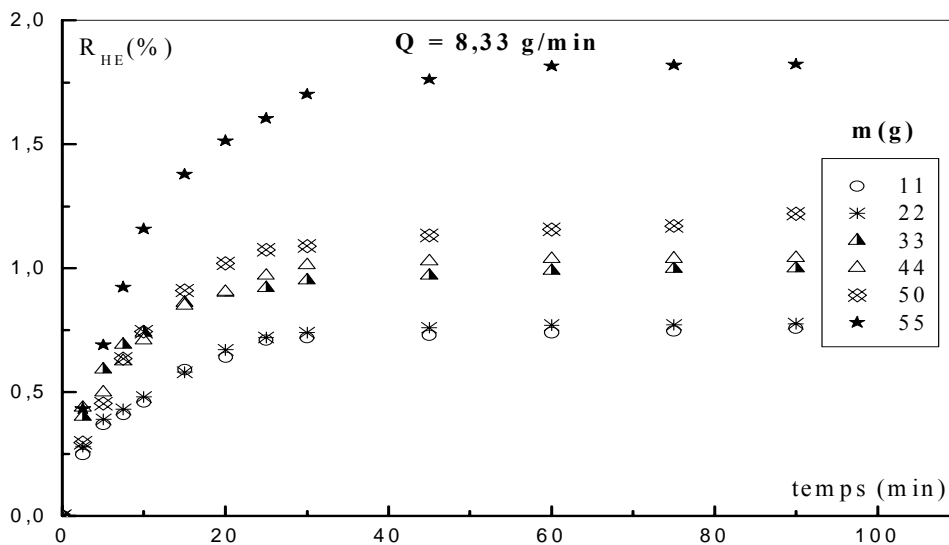


Figure 33. Evolution du rendement en fonction du temps pour différentes masses de matière végétale.

II.2.2.2. Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle

Afin d'évaluer l'influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement d'extraction, les essais sont menés pour trois débits (4,20 ; 6,25 et 8,33 g/min) et une masse de 44 g de végétal. Les résultats des essais réalisés sont donnés dans le tableau XXIX et représentés par la figure 34.

Tableau XXIX : Influence du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle.

Conditions opératoires	Débit de vapeur d'eau (g/min)	Rendement en huile R_{HE} (%)
t = 1h30 min m = 44 g H = 7,49 %	4,20	1,33
	6,25	<u>1,38</u>
	8,33	1,02

A priori, le rendement d'extraction devrait augmenter avec le débit. Cependant, nos résultats montrent que le rendement augmente pour atteindre une valeur maximal pour un débit de (6,25 g/min) puis il diminue comme l'illustre le tableau XXIX. Donc le débit de vapeur d'eau influence négativement le rendement en huile essentielle. Ceci pourrait être dû à la création de chemins préférentiels. Une partie de la vapeur est perdue pour des valeurs élevées de débits.

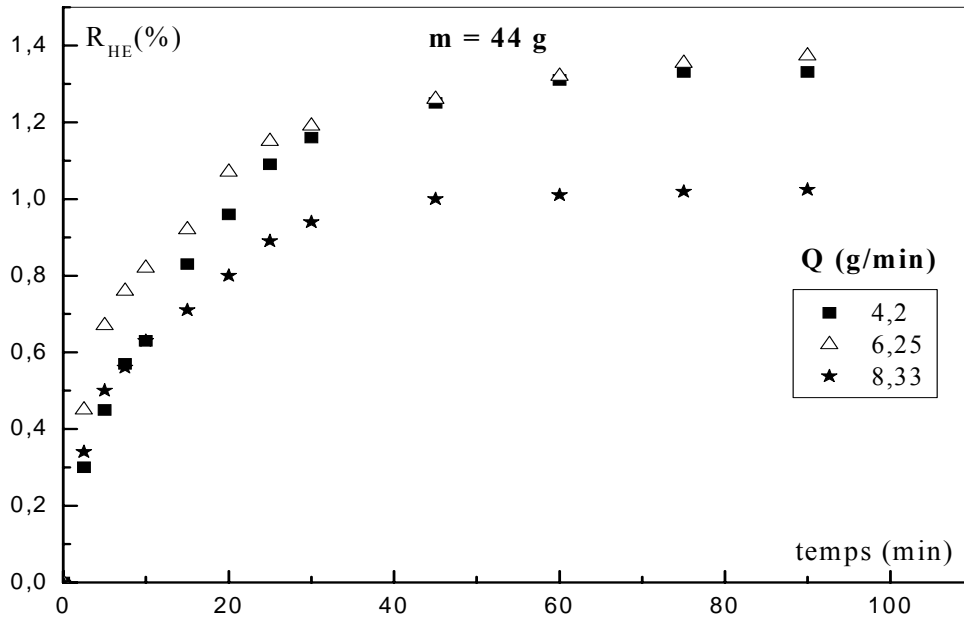


Figure 34. Evolution du rendement en fonction du temps pour différents débits de vapeur d'eau.

Pour un temps de traitement de 1h 30 minutes et un taux d'humidité de (7,49 %), les conditions optimales obtenues par l'étude paramétriques sont donc les suivantes :

Masse de matière végétale à traiter : $m = 55 \text{ g}$
 Débit de vapeur d'eau : $Q_m = 6,25 \text{ g/min}$

Rappelons que cette méthode ne permet d'évaluer que l'effet individuel de chacun des paramètres sur le rendement sans tenir compte de leurs interactions, d'où la nécessité d'une étude par plan d'expériences que nous allons présenter ci-après.

II.2.3. Etude par plan d'expériences

Les essais programmés par le plan d'expérience factoriel 2^2 sont au nombre de quatre. Ils ont été menés sur un même lot de plante, dont le taux d'humidité est de (7,49%). Les résultats obtenus par cette étude sont regroupés dans le tableau XXX.

Tableau XXX: Rendements en huile essentielle obtenus pour les essais du plan factoriel 2^2 .

Essais	Coordonnées réelles		Coordonnées réduites		Rendement R_{HE} (%)
	Masse (g)	Débit (g/min)	X_1	X_2	
1	44	8,33	+1	+1	1,04
2	11	8,33	-1	+1	0,76
3	44	4,20	+1	-1	1,33
4	11	4,20	-1	-1	0,82
Essais du point central	27,5	6,25	0	0	1,28
	27,5	6,25	0	0	1,27

Au vu des résultats du tableau XXX, nous remarquons que pour une même valeur de débit le rendement en huile essentielle augmente avec la masse, alors qu'il diminue quand le débit augmente pour une même valeur de masse.

Le rendement optimal en huile essentielle est obtenu pour l'essai (3) qui correspond aux valeurs suivantes des paramètres étudiés.

- en coordonnée réduite : (+1, -1)
- en coordonnées réelles : - Masse de matière végétale à traiter : $m = 44 \text{ g}$
 - Débit de vapeur d'eau : $Q = 4,20 \text{ g/min}$

Les essais au point central nous ont permis d'évaluer la reproductibilité des résultats ; L'erreur expérimentale a été estimée égale à 0,01%.

Par ailleurs, le traitement des résultats du tableau XXX donne un système de quatre équations à quatre inconnues exprimant les variations du rendement Y en fonction de X_1 et X_2 pour chaque expérience et dont la résolution a permis de déterminer les coefficients de l'équation du rendement qui s'écrira alors :

$$Y = 0,988 + 0,198 X_1 - 0,088 X_2 - 0,058 X_1 X_2 \quad \text{(III.3)}$$

Les valeurs des coefficients de cette équation permettent d'évaluer l'influence sur le rendement en huile essentielle des effets individuels et conjugué des paramètres étudiés.

Nous relevons que l'effet simple de la masse de matière végétale sur le rendement est positif, contrairement au débit de vapeur d'eau qui a un effet négatif. Ce dernier interagit avec la masse de matière végétale ce qui donne un effet négatif sur le rendement.

II.2.3.1. Analyse par le logiciel statgraphic plus

L'analyse des résultats du plan factoriel 2^2 par le logiciel statgraphic plus nous a permis de représenter les effets individuels et conjugué des paramètres étudiés ainsi que la surface de réponse correspondant à l'effet conjugué masse- débit de vapeur d'eau (figures 35, 36 et, 37).

Les effets des paramètres représentent le passage d'un paramètre de son niveau inférieur à son niveau supérieur, pendant que les autres sont au niveau zéro. L'examen des figures 35 et 36 montre que l'effet simple de la masse est positif alors que l'effet du débit est négatif sur le rendement. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par l'étude paramétrique.

Comme le montre la figures 37, les effets d'interaction des deux paramètres étudiés à leurs niveaux supérieur et inférieur sont significatifs car les signes de leur pentes sont différents, il y'a donc interaction entre les paramètres considérés.

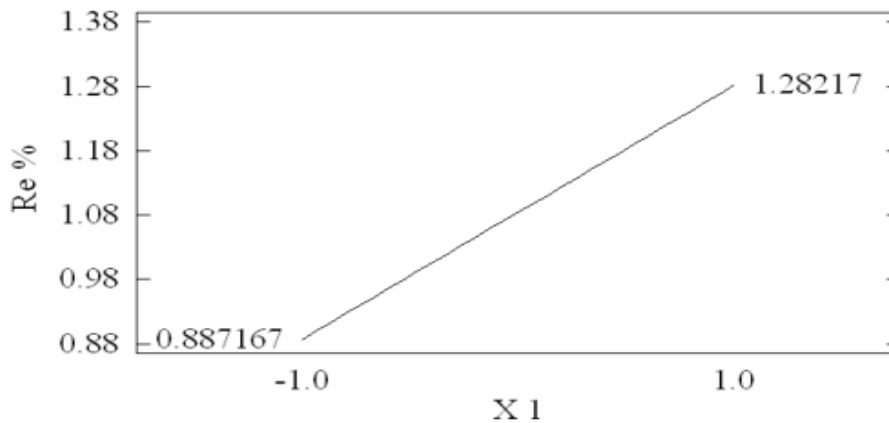


Figure 35. Effet simple de la masse de matière végétale sur le rendement en huile essentielle.

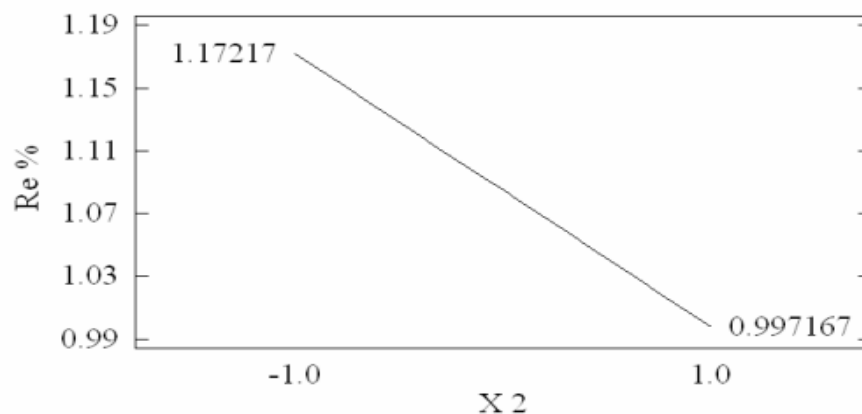


Figure 36. Effet simple du débit de vapeur d'eau sur le rendement en huile essentielle.

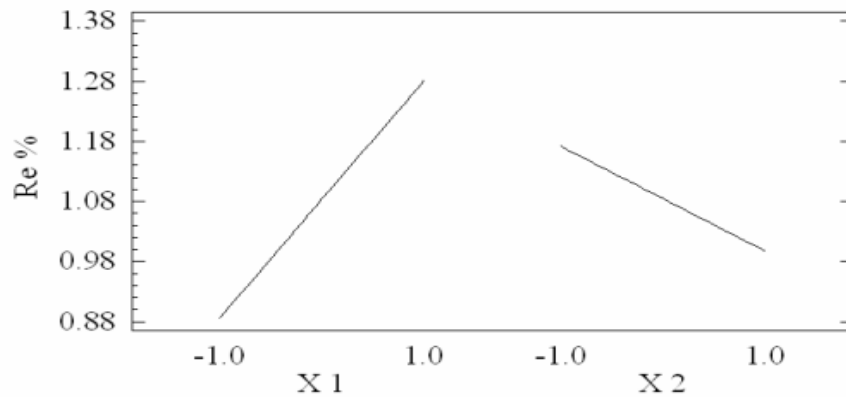


Figure 37. Effet d'interaction entre la masse et le débit de vapeur sur le rendement en huile essentielle.

La figure 38 représentant les variations du rendement en fonction de l'effet conjugué masse-débit de vapeur d'eau, montre que le rendement augmente avec la masse, le maximum se situe autour des valeurs voisines de (+1). A l'inverse, l'effet du débit est négatif sur le rendement : lorsque le débit augmente le rendement diminue.

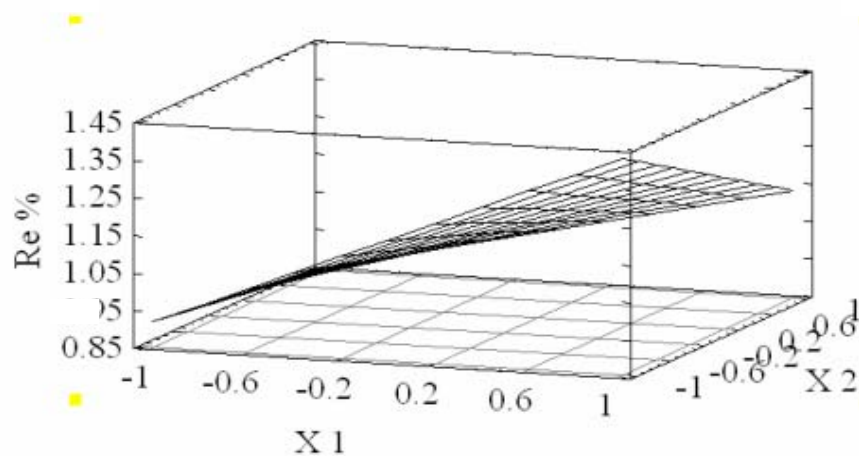


Figure 38. Surface de réponse correspondant au couple masse-débit.

II.2.3.2. Evolution des effets individuels et conjugué des paramètres en fonction du temps

Compte tenu des résultats obtenus et afin de rentabiliser le procédé d'extraction par hydrodistillation de l'origan, le traitement mathématique des résultats obtenus nous a permis de suivre l'évolution au cours du temps des effets individuels et conjugué des

paramètres étudiés pour le domaine expérimental choisi. La figure 39 présente l'évolution temporelle de ces effets sur le rendement en huile essentielle.

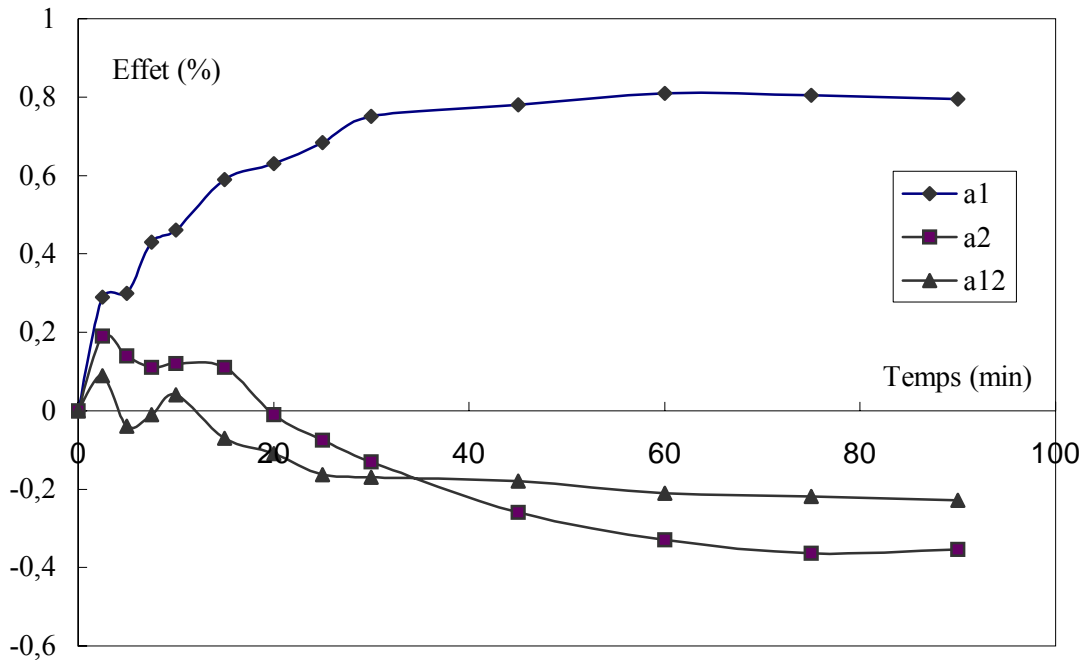


Figure 39. Variation en fonction du temps des effets individuels de la masse de matière végétale (a_1), du débit de vapeur d'eau (a_2) et de l'effet conjugué masse-débit (a_{12}).

La figure 39, traduisant l'évolution temporelle des effets individuels et conjugué de la masse de matière végétale et du débit de vapeur d'eau, sur le rendement en huile essentielle, montre que l'effet individuel de la masse est positif et croissant durant la première demi-heure puis devient constant par la suite. D'autre part, le débit a une influence positive pendant les quinze premières minutes puis s'annule à vingt minutes pour devenir négatif pour le reste de l'extraction. Quant à l'effet conjugué de ces deux paramètres, il tourne autour de la valeur zéro au début de l'extraction, pour devenir négatif et décroissant au delà de dix minutes.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que les valeurs croissantes de la matière végétale paraissent être avantageuses car elles permettent de minimiser la quantité de vapeur en améliorant le rendement en huile essentielle.

Par ailleurs, la durée d'extraction pourrait être limitée à 30 minutes valeur pour laquelle plus de 93 % d'huile sont récupérés.

III. ETUDE COMPARATIVE DES PROCÉDES D'EXTRACTION PAR ENTRAÎNEMENT A LA VAPEUR D'EAU ET PAR HYDRODISTILLATION

Notre étude ayant portée sur la mise en œuvre de l'extraction de l'huile essentielle d'origan par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation. Nous nous sommes proposés de comparer les résultats obtenus par ces deux procédés. La comparaison a porté sur le rendement en huile, la cinétique d'extraction et sa composition.

III.1. Rendement

L'entraînement à la vapeur d'eau donne des rendements qui varient entre (1,60 % et 2,51%), alors que les rendements d'hydrodistillation varient entre (0,76 et 1.82 %). Ces valeurs sont faibles comparées à celles obtenues par l'entraînement à la vapeur d'eau. Cela est peut être dû à la solubilisation d'une partie d'huile essentielle dans l'eau. Nous avons aussi remarqué que lors des essais d'hydrodistillation, la plante surnage à la surface de l'eau ; il est donc possible qu'une partie des sites de l'huile essentielle n'a pas été atteinte par la vapeur d'eau ce qui a entraîné une diminution du rendement.

III.2. Cinétique

L'étude de l'influence du temps d'extraction sur le rendement et la composition de l'huile essentielle a montré que le procédé d'hydrodistillation est plus lent que celui de l'entraînement à la vapeur d'eau. Il faut 30 minutes pour extraire plus de 93 % de l'huile pour hydrodistillation alors que 15 minutes sont suffisantes pour extraire plus de 92 % d'huile en ce qui concerne l'entraînement à la vapeur d'eau, ce qui représente un gain de 50% en terme de temps.

L'étude de l'évolution en fonction du temps de la teneur des constituants majoritaires de l'huile essentielle, a montré qu'ils sont récupérés dans l'ordre croissant de leurs températures d'ébullition aussi bien pour l'hydrodistillation que l'entraînement à la vapeur d'eau ; ce qui laisse supposer que ces deux procédés sont régis par les mêmes phénomènes de transfert de l'huile située à la surface de la plante et de son évaporation

III.3. Analyse

Le tableau XXXI résume les constituants identifiés dans l'huile récupérée par l'entraînement à la vapeur et l'hydrodistillation. L'examen de ce tableau, montre que qualitativement, l'huile essentielle extraite par hydrodistillation est comparable à celle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Néanmoins des différences sont observées dans les teneurs des différents constituants identifiés. En effet, l'huile d'hydrodistillation est caractérisée par de faibles teneurs en hydrocarbures monoterpéniques. Par ailleurs, nous constatons que le pourcentage des phénols est très élevé avec un total de 71,7% pour l'entraînement à la vapeur d'eau et de 87,5 % pour l'hydrodistillation. Les teneurs des sesquiterpènes sont du même ordre de grandeur pour les deux procédés.

Tableau XXXI : Constituants identifiés dans l'huile récupérée par entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation.

Constituants	Teneurs relatives (%)	
	Entraînement à la vapeur	hydrodistillation
α – thujène	0,4	trace
α – pinène	trace	trace
Camphène	----	0,7
Verbenene	trace	----
octène-3-ol	trace	trace
β – pinène	trace	trace
β – myrcène	trace	trace
octanol-3	----	0,2
α – phéllandrène	trace	trace
α – terpinène	1,1	---
P – cymène	7,9	---
1,8 cinéol	---	trace
γ -terpinène	5,1	0,1
Cis-sabinène-hydrate	---	trace
α -terpinolène	trace	0,9
Trans-sabinène-hydrate	trace	trace
Linalool	0,9	trace
Borneol	---	0,2
Terpinène-4-ol	0,5	0,5
α -terpinéol	---	0,1
cis-dihydrocarvone	----	0,2
Trans-dihydrocarvone	-----	0,4
Thymol-méthyl-ether	0,2	----
Carvacrol-méthyl-ether	0,4	trace
Thymol	38,8	48,6
Carvacrol	32,9	38,9
α - cubebène	trace	----
Thymol acetate	trace	0,1
Carvacrol-acetate	trace	---
β –caryophyllène	1,4	1,0
cis- α -bergamotène	---	trace
α -caryophyllène	---	trace
Aromadendrène	trace	trace
Allo- aromadendrène	trace	trace
Ar-curcumène	0,1	trace
Pentadécane	---	trace
β –bizabolène	1,4	trace
γ - cadinène	0,1	trace
δ - cadinène	0,1	---
α - cadinène	0,4	---
β sesquiphélandrène	---	0,1
Cis- α -bizabolène	0,5	trace
3,3,5-triméthyl-2,1-(méthyléthylidène) cyclopentanone	0,8	---
Oxyde de caryophyllène	0,4	trace
α -(EPI)-cadinol	trace	trace
Heptadécane	trace	trace

IV. APPLICATIONS DE L'HUILE ESSENTIELLE D'ORIGAN

Les huiles essentielles trouvent des applications dans divers domaines, telles que les industries pharmaceutiques, agroalimentaires, cosmétiques etc. Dans ce travail, nous nous sommes proposés d'évaluer l'activité insecticide et antimicrobienne de l'huile essentielle d'origan.

IV.1. Activité insecticide de l'huile essentielle d'origan

Pendant plusieurs années, l'homme a eu recours à l'utilisation de produits insecticides de synthèse, ce qui a provoqué de nombreux problèmes sur l'environnement en général et sur les denrées alimentaires stockées en particulier. Parmi les problèmes engendrés par cet abus, le développement d'une résistance des insectes ravageurs vis-à-vis de ces produits.

De nombreuses recherches ont été menées dans ce sens, afin d'arriver à remplacer ces produits de synthèse par des produits naturels, comme moyen de lutte contre ces prédateurs.

De part les huiles essentielles qu'elles renferment, de nombreuses plantes sont reconnues comme possédant des propriétés insecticides. Leurs actions toxiques par fumigation et par contact ont été à maintes reprises prouvées.

Dans le but de valoriser la flore spontanée algérienne, nous nous sommes proposés d'évaluer l'activité insecticide de l'huile essentielle d'origan que nous avons extrait par entraînement à la vapeur. Cette application a porté sur l'huile essentielle totale et ses fractions que nous avons définies comme suit :

- HE_t : huile essentielle totale récupérée après 1h 30 minutes d'extraction;
- F₁ : fraction de l'huile essentielle récupérée après 2,5 minutes d'extraction;
- F₂ : fraction de l'huile essentielle récupérée entre 2,5 et 5 minutes d'extraction;
- F₃ : fraction de l'huile essentielle récupérée entre 5 et 10 minutes d'extraction.

IV.1.1. Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle d'origan

Le but de cette étude est l'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* sur le *Rhizopertha dominica* : insecte ravageur de céréales. Pour ce faire, nous avons testé deux modes de toxicité à savoir : le mode par contact et le mode par inhalation. Les résultats obtenus par ces techniques sont illustrés par les figures (40 et 41).

Ces figures montrent que lorsque les concentrations en huile essentielle totale et celles des fractions augmentent, le pourcentage de mortalité des insectes augmente et cela aussi bien pour le mode de contact que pour le mode inhalation. Le maximum de mortalité obtenue pour l'HE_t, F₁, F₂, F₃ sont respectivement (79,65 ; 81,32 ; 99,06 et 76,97%), pour le mode par contact et (16,23 ; 50,87 ; 82,99 et 60,00 %V), pour le mode par inhalation et cela pour la dose de (6,24 %V). De plus, la plus grande mortalité : (99,06 %) pour le mode contact et (82,99 %) pour le mode inhalation, est obtenue pour la fraction F₂ avec la concentration de (6,24 %V)

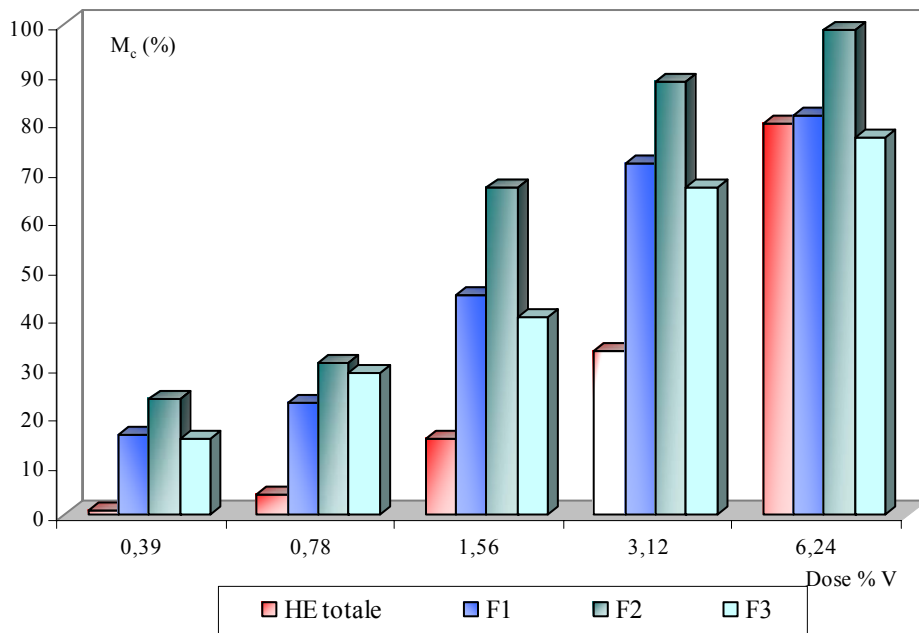


Figure 40. Evolution du pourcentage de mortalité corrigée des tests de toxicité par contact en fonction de la concentration de l'huile essentielle totale et de ces fractions.

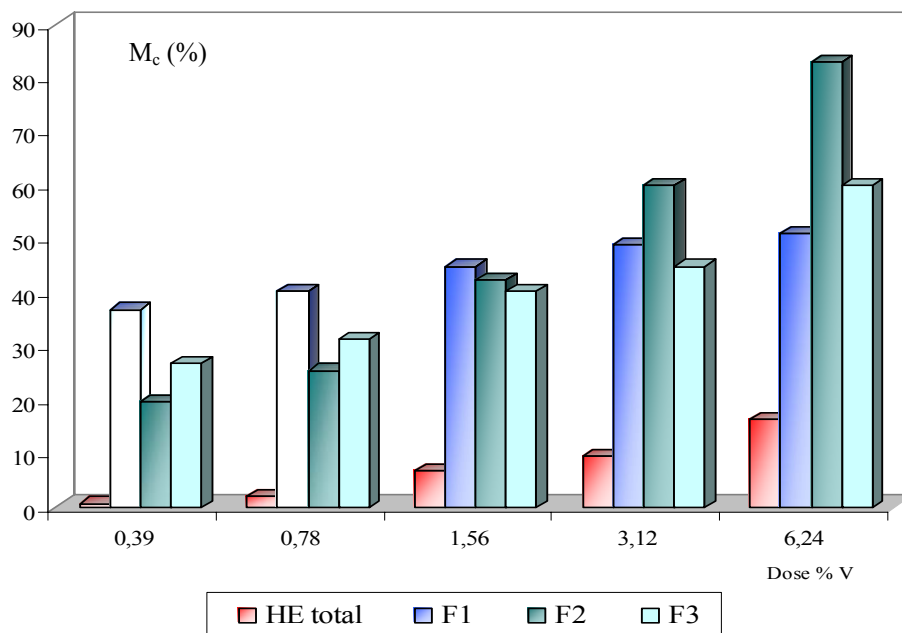


Figure 41. Evolution du pourcentage de mortalité corrigée des tests de toxicité par inhalation en fonction de la concentration de l'huile essentielle totale et de ces fractions.

Par ailleurs, nous avons comparé les résultats obtenus par ces deux modes de toxicité en représentant le taux de mortalité en fonction des concentrations de l'huile essentielle et de ces fractions sur les figures 42 et 43.

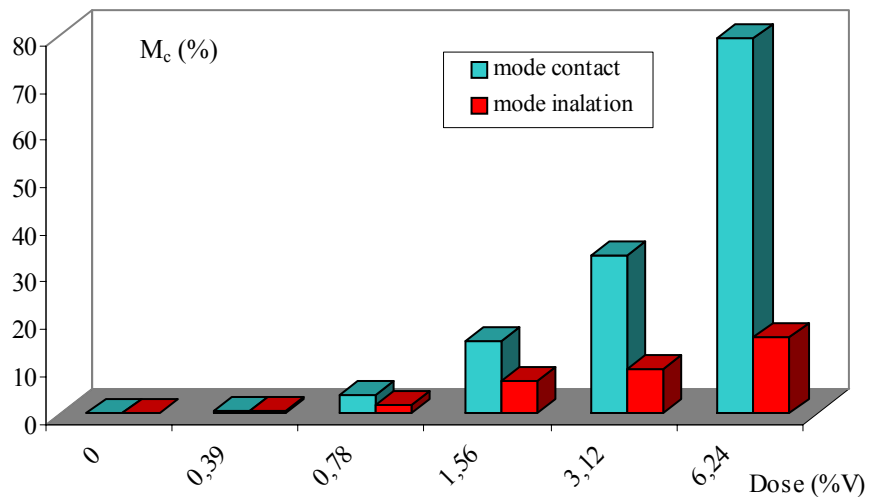


Figure 42. Variation de la mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'huile essentielle totale.

La figure 42 montre que les résultats de mortalité obtenus avec l'huile essentielle totale sont relativement faibles pour les doses de (0,39 ; 0,78 ; et 1,58 %V) qui sont successivement de (0,66 ; 4,02 et 15,4 %) pour le mode contact et (0,66 ; 2,00 et 6,69 %) pour le mode d'inhalation. Cependant cette mortalité augmente pour les doses de (3,12 et 6.24 % V) pour le mode de contact avec un résultat de (33,46 et 79.65%) successivement mais gardent des valeurs assez faibles pour le mode d'inhalation avec (9,53 et 16,23 %) successivement.

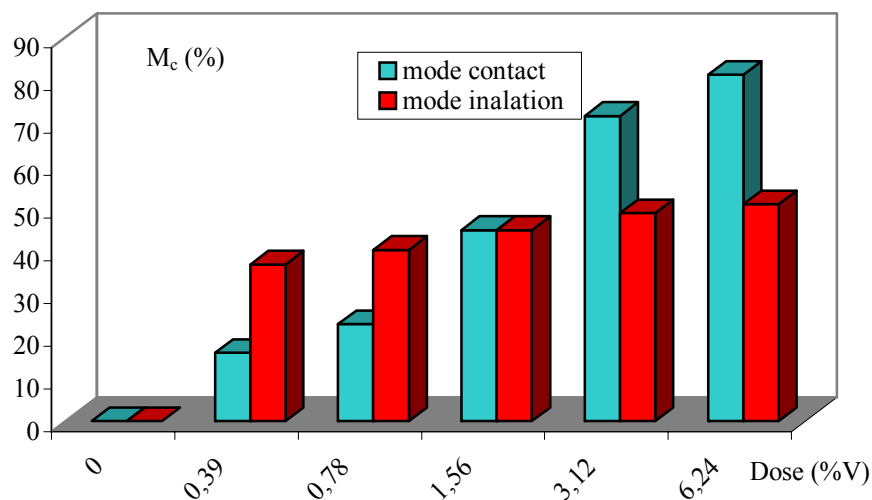


Figure 43. Variation de la mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'huile essentielle pour la fraction F₁.

La figure 43 regroupe les résultats obtenus pour la fraction F₁ pour les deux modes de toxicité. Ces résultats montre que le pourcentage de mortalité pour cette fraction est

nettement plus élevé en comparaison aux résultats obtenus par l'huile essentielle totale et cela pour les deux modes de toxicité.

La mortalité des insectes dans la fraction F_1 augmente proportionnellement avec les concentrations. Le mode de toxicité par contact marque des valeurs de (16,06 ; 22,75 ; 44,84 ; 71,62 et 81,32) pour les doses de (0,39 ; 0,78 ; 1,58 ; 3,12 et 6,24%V) successivement. Par contre, le mode de toxicité par inhalation a enregistré des pourcentages de mortalité de (36,80 ; 40,20 ; 44,84 ; 48,86 et 50,87 %) successivement pour les mêmes concentrations.

Toutefois, les résultats obtenus pour le mode par contact pour toutes les concentrations testées sont supérieurs par rapport à ceux résultant du mode de toxicité par inhalation excepté pour la concentration de (1,58 %V) où le taux de mortalité est le même.

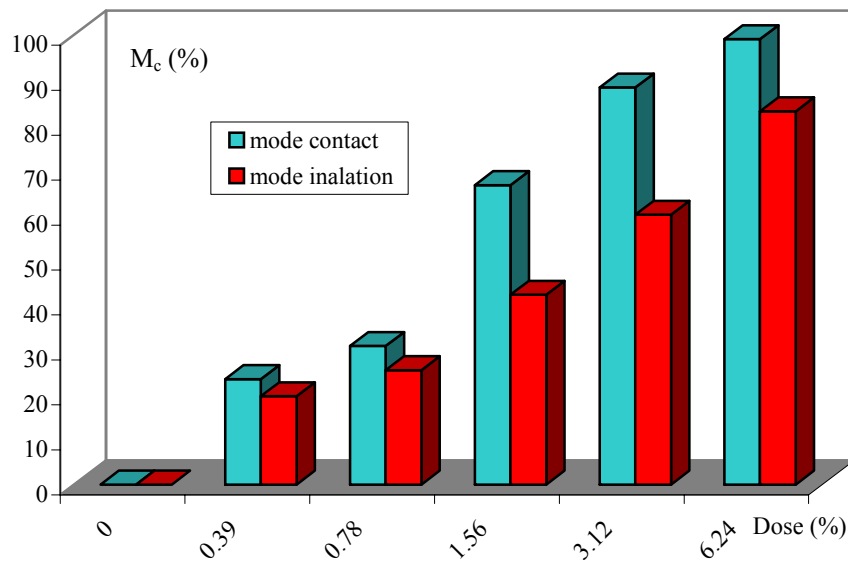


Figure 44. Variation de la mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'huile essentielle pour la fraction F_2 .

La figure 44 représente la variation du pourcentage de mortalité du *Rhizopertha dominica* en fonction des concentrations de la fraction F_2 pour les deux modes de toxicité et montrent que le plus grand taux de mortalité est obtenu pour le mode contact avec des valeurs de (23,43 ; 30,79 ; 66,60 ; 88,30 ; et 99,06 %). Alors que pour le mode inhalation les résultats relevés sont de (19,60 ; 25,43 ; 42,20 ; 60,00 et 82,99 %) pour les différentes concentrations considérées successivement. Nous remarquons que cette fraction marque le taux de mortalité le plus élevé pour les deux modes de toxicité cela pourrait être dû à la présence de thymol et de carvacrol à des teneurs relatives élevées de (50,50 %) et (34,32 %) respectivement.

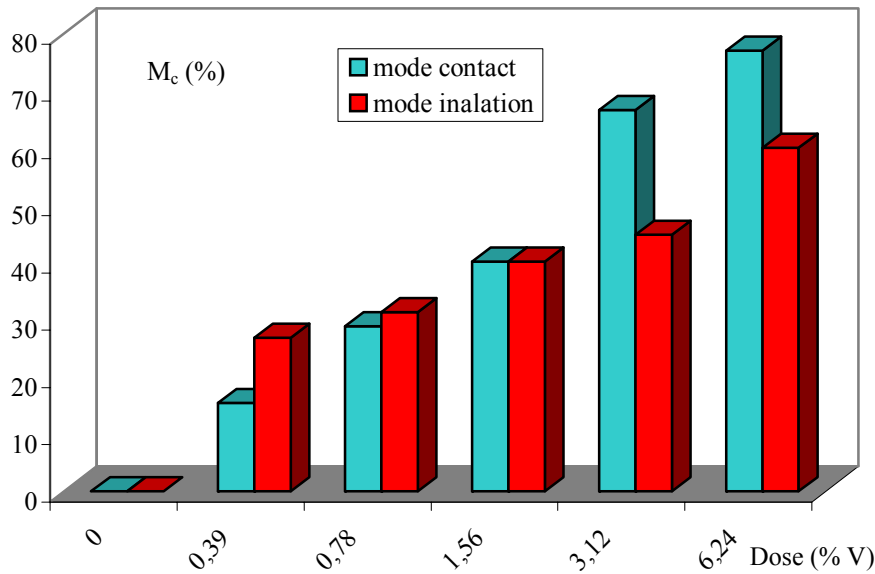


Figure 45. Variation de la mortalité corrigée en fonction des concentrations de l'huile essentielle pour la fraction F₃.

De même, La figure 45 illustrant les résultats des tests réalisés avec la fraction F₃ pour les deux modes de toxicité considéré, montre que, la mortalité des insectes pour le mode de toxicité par contact est toujours élevé en comparaison avec le mode de toxicité par inhalation avec des taux de (15,39 ; 28,78 ; 40,16 ; 66,60 et 76,97 %) pour le contact et (26,77 ; 31,30 ; 40,16 ; 44,84 et 60,00 %) pour le mode inhalation et cela pour des concentrations de (0,39 ; 0,78 ; 1,58 ; 3,12 et 6.24 %V) successivement.

A la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que le mode de toxicité par contact et la fraction de l'huile essentielle F₂ à une concentration de (6,24%V) extraite entre 2,5 et 5 minutes sont les plus efficaces quant à leur application vis-à-vis de l'insecte *Rhizopertha dominica*.

IV.1.2. Détermination des DL50 et CL50

L'efficacité d'un produit se mesure par sa *DL50*, défini comme étant la dose létale qui donne 50% de mortalité. Elle est représentée par un probit égal à 5, et est déduite à partir du tracé des droites de régression linéaire représentant le pourcentage de mortalité en Probits en fonction du logarithme népérien des concentrations d'huile essentielle. Ces graphes sont regroupés dans l'Annexe 4. Le traitement de ces courbes nous a permis de déterminer les équations de ces droites qui sont regroupées dans le tableau XXXII Les valeurs des DL50 et CL50 sont résumées dans le tableau XXXIII.

Tableau XXXII : Equations des droites de régression linéaire représentant les Probits en fonction du logarithme des concentrations d'huile essentielle et de ses fractions.

Echantillon	Equation		Coefficient de régression (R^2)	
	Mode par contact	Mode par inhalation	Contact	Inhalation
Huile totale	$Y = 2,53 X + 3,54$	$Y = 1,17 X + 3,15$	0,96	0,98
F ₁	$Y = 1,69 X + 4,59$	$Y = 0,29 X + 4,78$	0,97	0,99
F ₂	$Y = 2,79 X + 5,16$	$Y = 1,46 X + 4,59$	0,95	0,96
F ₃	$Y = 1,48 X + 4,59$	$Y = 0,69 X + 4,62$	0,98	0,95

Tableau XXXIII : Doses et concentrations létales d'huile essentielle d'origan et de ses fractions pour avoir 50 % de mortalité.

Mode	Contact DL50 (% V)	Inhalation CL50 (% V)
Huile totale	1,78	4,86
F ₁	1,27	2,14
F ₂	0,94	1,32
F ₃	1,31	1,73

L'analyse des résultats de ce tableau nous permet d'aboutir aux conclusions suivantes :

- Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus précédemment ;
- Le mode de toxicité par contact est plus efficace que le mode de toxicité par inhalation et ce pour l'huile essentielle totale ainsi que ces fractions. Les doses d'huile nécessaires pour avoir 50 % de mortalité des insectes sont faibles et particulièrement pour le mode de toxicité par contact
- Les valeurs de la DL50 et CL50 obtenue pour la fraction F₂ sont les plus faibles, ce qui confirme que cette fraction est la plus efficace contre *Rhizopertha dominica*.

IV.1.3. Détermination des DL90 et CL90

La DL90 d'un produit, représentée par un probit égal à 6,28, est la dose létale qui donne un pourcentage de 90% de mortalité. Elle est déduite à partir du tracé des droites de régression linéaire représentant le pourcentage de mortalité en Probits en fonction du logarithme népérien des doses d'huile essentielle. Ces graphes sont regroupés dans

l'Annexe 4 et les valeurs des DL90 et CL90 de l'huile essentielle d'origan et de ses fractions sont regroupées dans le tableau XXXIV.

Tableau XXXIV: Doses et concentrations létales d'huile essentielle d'origan et de ses fractions pour avoir 90 % de mortalité.

Mode	Contact DL90 (% V)	Inhalation CL90 (% V)
Huile totale	2,95	14,51
F1	2,72	—
F2	1,52	3,18
F3	3,12	11,08

A l'instar des DL90 et des CL90, ces résultats montrent que :

- Le mode contact est plus efficace que le mode de toxicité par inhalation et ce pour l'huile essentielle totale ainsi que ses fractions.
- Les doses d'huile nécessaires pour avoir 90 % de mortalité des insectes sont plus faibles pour le mode contact que pour le mode inhalation.
- Dans ce cas également, les valeurs de la DL90 et CL90 obtenue pour la fraction F₂ sont les plus faibles, ce qui confirme que cette fraction est la plus efficace contre *Rhizopertha dominica*.

Il ressort de cette étude et de ces résultats, que l'huile essentielle expérimentée présente des effets insecticides sur *Rhizopertha dominica*. Cette propriété pourrait se révéler d'un intérêt certain dans la protection des cultures et la préservation des denrées stockées.

IV.2. Activité antimicrobienne

La plupart des plantes doivent leur action thérapeutique à un ou plusieurs principes actifs que l'on peut isoler et analyser chimiquement. Dans un premier temps, nous avons étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'origan obtenue par entraînement à la vapeur d'eau. Pour cela, deux souches bactériennes ont été testées à savoir : *listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* en appliquant la méthode des puits creusés. Notre choix s'est basé sur les résultats obtenus par une étude préliminaire sur l'huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur d'eau. La gamme de micro-organismes utilisés est présentée dans le tableau X chapitre II.

Les résultats des tests effectués permettent de faire une comparaison entre la sensibilité des souches à des antibiotiques (ATB) connus (témoin comparatif), et leur sensibilité à l'huile essentielle.

La souche est considérée comme sensible vis-à-vis de l'huile essentielle si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au diamètre critique supérieur de l'antibiotique témoin (M) ; elle est considérée comme résistante vis-à-vis de l'huile

essentielle si le diamètre de zone d'inhibition est inférieur au diamètre critique inférieur de l'antibiotique témoin (m).

- $\emptyset \geq M$: souche sensible ;
- $\emptyset < m$: souche résistante;
- $M \leq \emptyset < m$: souche intermédiaire.

Nous avons regroupé dans le tableau XXXV les résultats des tests antimicrobiens de l'huile essentielle d'origan vis-à-vis de la gamme de bactérie considérée.

Tableau XXXV : sensibilité des bactéries et levure à l'huile essentielle d'origan

	Germe	Zone maximale d'inhibition (mm)		
		Témoin (AT B) M	m	Huile essentielle (origan)
Bactéries à Gram négatif	<i>Escherichia coli-1</i>	17	11	18
	<i>Klebsiella pneumoniae-1</i>	21	14	50
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	16	7
Bactéries à Gram positif	<i>Staphylococcus aureus-1</i>	20	20	35
	<i>Staphylococcus aureus-2</i>	20	20	35
	<i>Enterococcus faecalis</i>	17	11	10
	<i>Listeria monocytogenes</i>	21	14	55
Levure	<i>Candida albican</i>	20	10	17

AM: Ampicilline ; AMX: Amoxicilline ; OFX: Oflaxacine ; OX: Oxacilline; AMP B: Amphotéricine B ; ATB: Antibiotique.

Les bactéries Gram négatif comme le montre le tableau XXXV sont sensibles mais à des degrés différents, vu les diamètres des zones d'inhibition qui varient d'une souche à l'autre.

Pour la souche *Klebsiella pneumoniae*, on remarque que le diamètre de zone d'inhibition est très important. La souche manifeste une sensibilité relativement élevée en comparaison avec *Escherichia coli-1* et *Pseudomonas aeruginosa*.

La même constatation peut être faite pour les bactéries à Gram positif. En effet, *Listeria monocytogenes* enregistre un diamètre d'inhibition très important par rapport à *Staphylococcus aureus-1*, *Staphylococcus aureus-2* et *Enterococcus faecalis*.

Nous avons, par voie de conséquence, choisi de poursuivre l'expérience pour comparer les bactéries *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* en raison de leurs sensibilités opposées.

Afin de confirmer ces résultats, des essais sur boîte de Pétri ont été entrepris selon la méthode des puits. Pour cela, une préculture des deux bactéries a été réalisée dans du bouillon nutritif et incubée pendant 72 heures à une température de 37°C. La croissance microbienne est suivie en faisant des lectures de l'absorbance à 650 nm à intervalles de temps réguliers. Les résultats sont donnés dans l'annexe 5.

Après 24 heures d'incubation, l'observation des boîtes de Pétri, a montré que l'huile essentielle d'origan a une meilleure activité antimicrobienne vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*. En effet pour une concentration de 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de solution d'huile essentielle, la quantité de germe recouvrant la surface de la boîte de Pétri a été complètement inhibée, alors que pour *Escherichia coli*, l'inhibition de la croissance est totale pour 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de solution. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Burt [45]** qui a montré que l'huile essentielle d'origan a un effet inhibiteur appréciable sur *listeria monocytogenes*.

IV.2.1. Estimation de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice est la plus faible concentration de l'huile essentielle capable d'inhiber le développement de la culture d'un germe donné **Sahin et al. [7]**.

La détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI permet de connaître la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes vis a vis d'un composé donné.

Suite aux résultats précédents, nous avons tenté d'estimer la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu liquide pour chaque souche par un suivi de l'évolution de l'inhibition bactérienne en fonction de la concentration en huile essentielle. Le mode opératoire est donné au chapitre II. Les figures 46 et 47 illustrent les résultats obtenus.

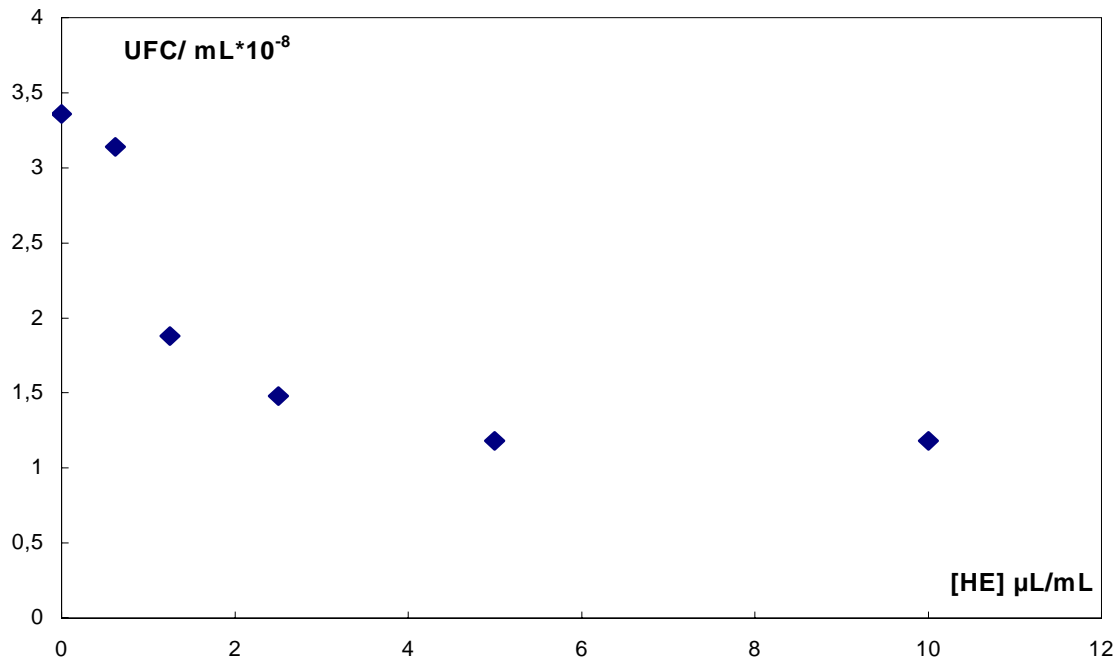


Figure 46. Evolution de l'inhibition de la croissance microbienne de *Escherichia coli* en fonction des concentrations en huile essentielle d'origan.

La figure 46 montre que lorsque la concentration en huile essentielle d'origan augmente, le nombre de bactéries diminue. En effet, pour les concentrations de 0,625 $\mu\text{L}/\text{mL}$ et 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, nous avons obtenu successivement $3,14 \cdot 10^{+8}$ UFC/mL et $1,88 \cdot 10^{+8}$ UFC/mL. Cette dernière valeur diminue jusqu'à $1,48 \cdot 10^{+8}$ UFC/mL pour une concentration de 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Pour des concentrations de 5 $\mu\text{L/mL}$ et 10 $\mu\text{L/mL}$, on constate une absence d'évolution bactérienne traduite par une stabilité du nombre des micro-organismes obtenue qui avoisine $1,18 \cdot 10^{+8}$ UFC/mL. Cette stabilité s'explique par l'inhibition de la croissance de *Escherichia coli*.

Ces observations permettent de déduire une concentration minimale inhibitrice de l'origan, pour *Escherichia coli* de l'ordre de 5 $\mu\text{L/mL}$ de solution tandis que les résultats trouvés par **Prudent et al.** [30], **Hammer et al.** [47], **Burt et Reinders** [50] montrent une concentration minimale d'huile essentielle d'origan pour la souche *Escherichia coli* variant entre 0,5 $\mu\text{L/mL}$ et 1,2 $\mu\text{L/mL}$.

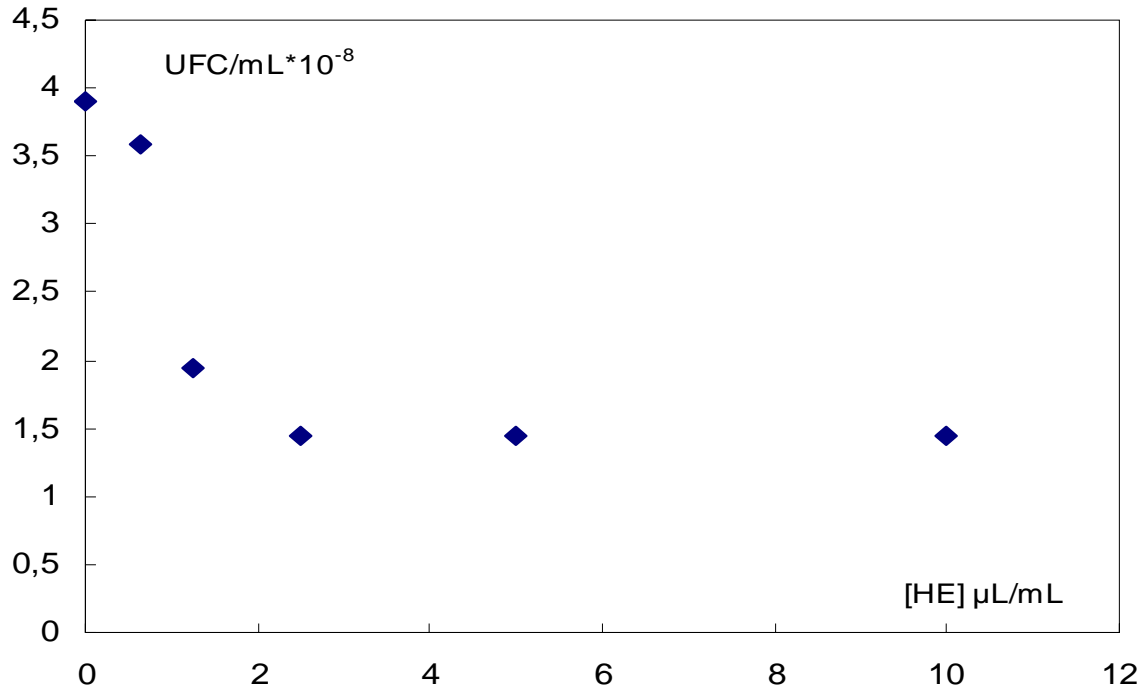


Figure 47. Evolution de l'inhibition de la croissance microbienne de *Listeria monocytogenes* en fonction des concentrations de l'huile essentielle d'origan.

De même, la figure 47 montre une évolution identique de l'inhibition *Listeria monocytogenes*. Pour un volume de 0,625 $\mu\text{L/mL}$, nous avons obtenus $3,59 \cdot 10^{+8}$ UFC/mL. Cette valeur chute pour atteindre $1,95 \cdot 10^{+8}$ UFC/ml pour une valeur de 1,25 $\mu\text{L/mL}$ de solution d'huile essentielle. Pour un volume de 2,5 $\mu\text{L/mL}$, le nombre de micro-organismes atteint une valeur de $1,45 \cdot 10^{+8}$ UFC/ml qui reste constante pour les concentrations de 5 $\mu\text{L/mL}$ et 10 $\mu\text{L/mL}$, ce qui laisse supposer que la croissance bactérienne est inhibée. Nous pouvons déduire que la concentration minimale inhibitrice de l'origan, pour *Listeria monocytogenes* est de 2,5 $\mu\text{L/mL}$ de solution d'huile essentielle.

Les résultats obtenus par cette étude montrent que *Listeria monocytogenes* est plus sensible à l'huile essentielle d'origan que *Escherichia coli*. En effet, une concentration de 2,5 $\mu\text{L/mL}$ de solution d'huile essentielle d'origan suffit pour inhiber *Listeria monocytogenes*, tandis que *Escherichia coli* est inhibée par 5 $\mu\text{L/mL}$ de solution. A ce propos, **Smith-Palmer et al.** [44] ont montré que la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle d'origan pour la souche *Listeria monocytogenes* est égale à 0,2 $\mu\text{L/mL}$.

Nous remarquons que les valeurs trouvées lors de nos tests sont nettement plus élevées que celles rapportées par **Prudent et al. [30]**, **Hammer et al. [47]**, **Burt et Reinders [50]** pour *Escherichia coli* et par **Smith-Palmer et al. [44]** concernant *Listeria monocytogenes*, cela pourrait être dû au fait que les huiles essentielles testées proviennent de différents origan et donc de compositions différentes

Après avoir estimé les concentrations minimales inhibitrices, nous avons essayé de déterminer les valeurs des concentrations minimales bactéricides pour les deux souches étudiées sur milieu solide.

IV.3.2. Estimation de la concentration minimale bactéricide

Fréquemment, la concentration minimale inhibitrice n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après disparition du composé inhibiteur. Ceci a amené à définir un autre paramètre : la concentration minimale bactéricide CMB. Elle correspond à la concentration en inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale sur un inoculum donné en un temps donné.

Nous avons donc repris les séries de flacons qui nous ont servi à la détermination de la concentration minimale inhibitrice et qui contiennent une concentration en huile essentielle bien déterminée de chaque bactérie considérée. Nous avons alors effectué une série de tests en milieu solide afin de déterminer les concentrations minimales bactéricides de l'huile essentielle d'origan inhibant les deux souches considérées suivant le protocole expérimental donné dans le chapitre II. L'évolution de l'inhibition de la croissance microbienne d' *Escherichia coli* et de *Listeria monocytogenes* en fonction des concentrations de l'huile essentielle d'origan est représentée par les figures 50 et 51 successivement.

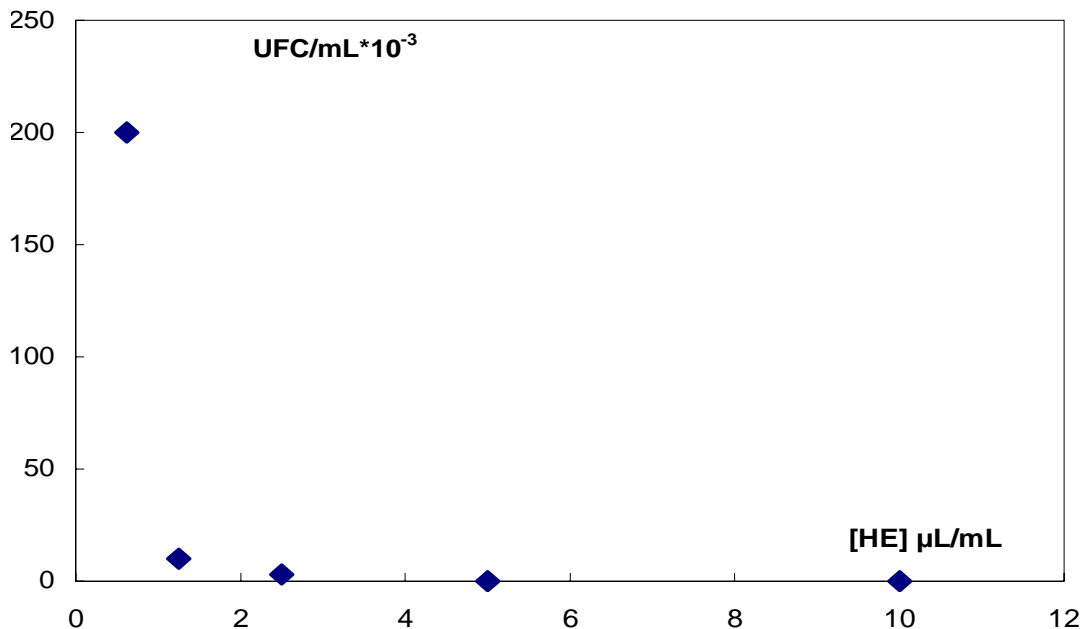


Figure 48. Evolution de la mortalité de *Escherichia coli* en fonction des concentrations de l'huile essentielle d'origan.

Pour les valeurs de 0,625 µL/mL et 1,25 µL/mL, nous avons obtenu successivement $2 \cdot 10^5$ UFC/mL et 10^4 UFC/mL. A une solution de 2,5 µL/mL d'huile essentielle correspond $3 \cdot 10^3$ UFC/mL. Ces valeurs deviennent nulles pour les concentrations de 5µL/mL et 10 µL/mL comme l'illustre la figure 50.

Le même résultat est observé concernant l'évolution de *Listeria monocytogenes* en fonction des concentrations de l'huile essentielle. Ainsi, pour un volume de 0,625 $\mu\text{L}/\text{mL}$, nous avons obtenus 120 10^{+3} UFC/mL. Cette valeur diminue pour atteindre 65 10^{+3} UFC/mL pour une valeur de 1,25 $\mu\text{L}/\text{mL}$. Pour un volume de 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$, 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ et 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$, le nombre de micro-organismes atteint une valeur nulle.

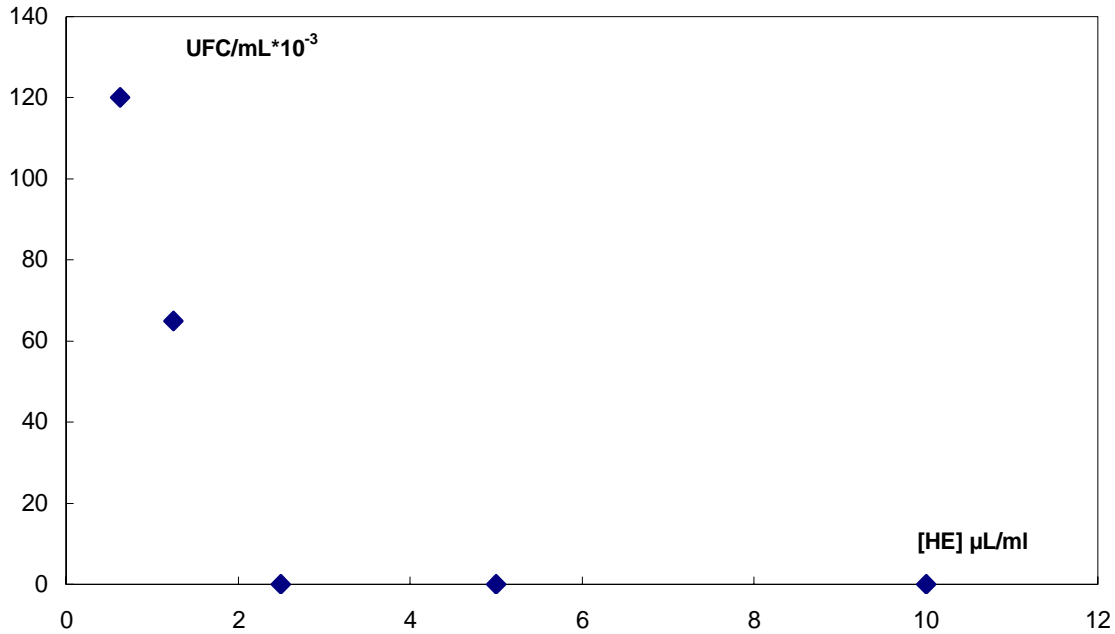


Figure 49 : Evolution de mortalité *Listeria monocytogenes* en fonction des concentrations de l'huile essentielle d'origan.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons conclure que la concentration minimale bactéricide de l'origan, qui inhibe *Escherichia coli* est de 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ et celle qui élimine *Listeria monocytogenes* est de 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de solution.

Cette dernière étude nous a permis de déterminer les valeurs des concentrations minimales bactéricides et de confirmer que *Listeria monocytogenes* est plus sensible à l'huile essentielle d'origan que *Escheichia coli* et que leurs CMI sont égales à leurs CMB. En effet, une concentration égale à 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ de solution d'huile essentielle d'origan suffit pour inhiber et éliminer *Listeria monocytogenes*, alors qu'il faut 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour inhiber et éliminer *Escherichia coli*.

IV.3.3. Cinétique d'inhibition de *Listeria monocytogenes*

Nous nous sommes proposés de suivre la cinétique d'inhibition de *Listeria monocytogenes* par l'huile essentielle d'origan, pour une concentration bactéricide de 2,5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pendant 4 heures. La figure 50 schématise les résultats obtenus.

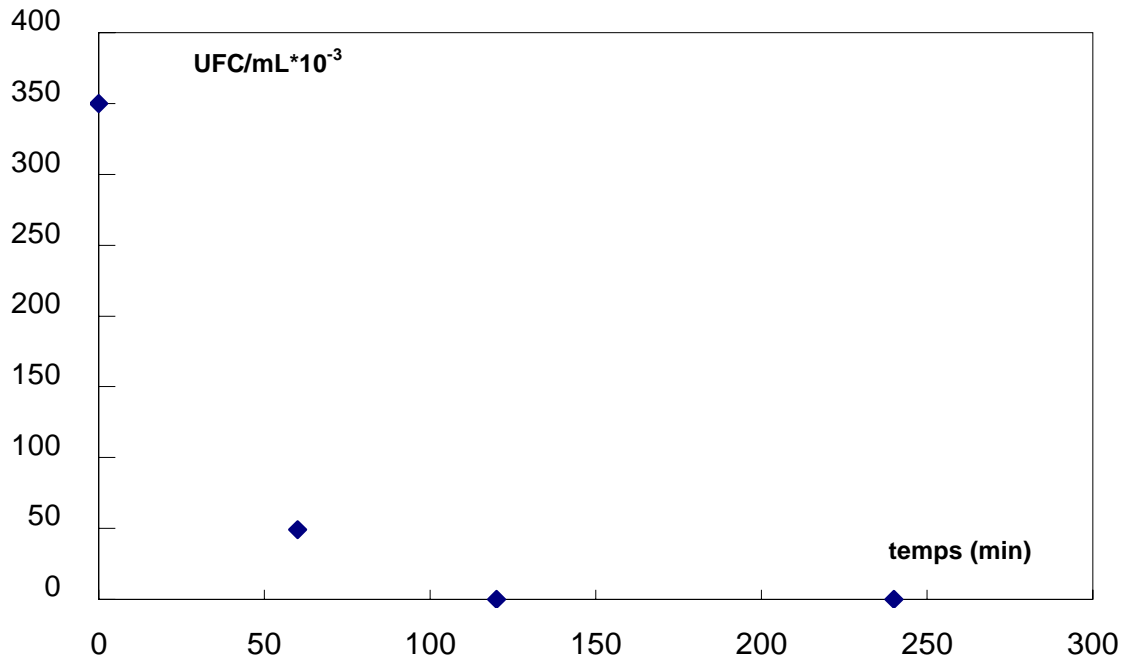


Figure 50 : Evolution de la cinétique d'inhibition de *Listeria monocytogenes* en fonction du temps.

A la lumière des résultats de la figure 50, il apparaît que la première heure se caractérise par une très forte mortalité de bactéries, qui passe de $350 \cdot 10^{-3}$ à $49 \cdot 10^{-3}$ UFC/mL. Au-delà de la première heure, le nombre de bactéries continue à diminuer mais de manière moins prononcée jusqu'à atteindre une valeur nulle. En effet, après deux heures de mise en contact de *Listeria monocytogenes* avec l'huile essentielle, nous constatons l'absence totale de bactéries. Par conséquent, deux heures de contact avec une concentration de $2,5 \mu\text{L/mL}$ de l'huile essentielle d'origan suffisent pour éliminer *Listeria monocytogenes*.

Conclusion générale

CONCLUSION GENERALE

L'objectif visé par ce travail était d'étudier deux procédés d'extraction à savoir l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation et leur application à la récupération de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum*. Aussi, nous avons abordé, au cours de cette étude, deux aspects :

- le premier, technologique, consacré à l'évaluation de l'influence de différents paramètres opératoires sur le rendement et la composition de l'huile essentielle récupérée par ces deux procédés ;

- le second est dévolu à l'étude de l'activité insecticide et antimicrobienne de l'huile essentielle récupérée par entraînement à la vapeur d'eau.

L'aspect technologique de l'entraînement à la vapeur d'eau et de l'hydrodistillation a été abordé à travers des essais réalisés à l'échelle laboratoire. L'entraînement à la vapeur d'eau donne des rendements qui varient entre (1,60 % et 2,51%), alors que les rendements d'hydrodistillation varient entre (0,76 et 1,82 %). Ces valeurs sont faibles comparées à celles obtenues par l'entraînement à la vapeur d'eau. Cela est peut être dû à la solubilisation d'une partie d'huile essentielle dans l'eau. Nous avons aussi remarqué que lors des essais d'hydrodistillation, la plante surnageait à la surface de l'eau ; il est donc possible qu'une partie des sites de l'huile essentielle n'a pas été atteinte par la vapeur d'eau ce qui a entraîné une diminution du rendement.

L'utilisation des méthodes chromatographiques CG et CG/SM a permis de déterminer la composition chimique de l'huile essentielle, ce qui a conduit à l'identification de 36 composés dans l'huile récupérée par entraînement à la vapeur d'eau et 34 composés dans celle obtenue par hydrodistillation. Par ailleurs, des différences dans la composition des huiles récupérées par les deux procédés ont été constatées. En effet, les constituants majoritaires de l'huile récupérée par entraînement à la vapeur d'eau sont le thymol (38.8%), le carvacrol (32.9%), le p-cymène (7.9 %) et le γ -terpinène (5.1%), alors que pour l'huile d'hydrodistillation les constituants majoritaires sont le thymol (48,6%) et le carvacrol (38,9%). L'huile d'hydrodistillation est caractérisée par de faibles teneurs en hydrocarbures monoterpéniques.

L'étude de l'influence du temps d'extraction sur le rendement et la composition de l'huile essentielle a montré que le procédé d'hydrodistillation est plus lent que celui de l'entraînement à la vapeur d'eau. Il faut 30 minutes pour extraire plus de 93 % de l'huile par hydrodistillation alors que 15 minutes sont suffisantes pour extraire plus de 92 % d'huile en ce qui concerne l'entraînement à la vapeur d'eau, ce qui représente un gain de 50% en terme de temps. De plus, l'étude de la cinétique d'extraction a révélé un ordre égal à 1 pour les deux procédés.

Concernant la cinétique d'extraction des constituants majoritaires de l'huile essentielle, il semble que ces derniers sont extraits dans l'ordre de leur température d'ébullition aussi bien pour l'entraînement à la vapeur d'eau que pour l'hydrodistillation.

D'autre part, une optimisation des deux procédés d'extraction a été menée en utilisant deux méthodes : l'optimisation classique qui consiste en une étude paramétrique et une optimisation par plan d'expériences. Des conditions optimales pour les paramètres opératoires étudiés sont proposées.

L'activité insecticide a porté sur l'évaluation de la toxicité de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* et de trois de ses fractions sur un insecte ravageur de céréales : le *Rhizopertha dominica*. Deux modes de toxicité ont été testés à savoir : le mode par contact et le mode par inhalation. Les résultats obtenus montrent que le pourcentage de mortalité de l'insecte augmente avec la concentration de l'huile et de ses fractions et cela aussi bien pour le mode de toxicité par contact que pour le mode de toxicité par inhalation. De plus, les échantillons testés sont plus toxiques par contact que par inhalation. Par ailleurs, les pourcentages de mortalité obtenus en testant les fractions de l'huile essentielle sont plus importants que ceux obtenus en utilisant l'huile totale ; ce qui suggère que ces dernières sont plus toxiques. Parmi les trois fractions testées, la fraction F2 (récupérée entre 2,5 et 5 minutes d'extraction), s'est révélée la plus toxique, pour les deux modes de toxicité. L'examen de sa composition chimique révèle la présence de 50,5% de carvacrol, ce qui laisse supposer que ce produit pourrait être le principe actif de cette fraction. Des tests plus approfondis sont à envisager pour confirmer ou infirmer cette hypothèse.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en testant l'action de l'huile essentielle sur deux souches bactériennes à savoir : *listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*. Le suivi de l'évolution de l'inhibition de la croissance microbienne de ces deux souches en fonction des concentrations de l'huile essentielle d'origan a d'une part montré que le nombre de bactéries diminue avec l'augmentation de la concentration de l'huile et d'autre part permis de déterminer les concentrations minimales inhibitrices pour les deux souches. Les résultats obtenus, montrent que *Listeria monocytogenes* est plus sensible à l'huile essentielle d'origan que *Escherichia coli*. En effet, une solution de 2,5 µL/mL d'huile essentielle d'origan suffit pour inhiber *Listeria monocytogenes*, alors qu'il faut le double de cette concentration pour inhiber *Escherichia coli*. Enfin, les concentrations minimales bactéricides pour les deux souches étudiées ont également été déterminées.

En plus, d'appliquer et de standardiser des procédés d'extraction et d'analyse somme toute classiques, l'étude de l'extraction de l'huile essentielle d'*Origanum glandulosum* nous a permis de tirer des conclusions importantes sur les questions de rendement et de composition chimique de l'huile essentielle ainsi que sur ses propriétés antibactériennes et insecticides. Les résultats de cette recherche, laissent entrevoir les grandes possibilités que peut offrir cette huile, notamment pour les secteurs de l'agriculture et des industries agro-alimentaires et pharmaceutiques ; particulièrement en Algérie où cette plante pousse de manière spontanée. C'est là un champ de recherche-développement qui mériterait toute l'attention des scientifiques, des pouvoirs publics et des acteurs économiques, d'autant plus qu'un tel renouveau d'intérêt répond parfaitement bien aux lancinantes préoccupations écologiques et environnementales du monde d'aujourd'hui.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Guenther. E.

The essential oils. Ed D. Van Nostrand, New York (1948).

[2] Letswaart. J. H.

A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). Thèse Doctorat, Leiden Botanical Series 4, Leiden University Press, The Hague (1980).

[3] Santa. S, Quezel. P.

Nouvelles flores d'Algérie et des régions désertiques méridionales, Ed. C.N.R.S, Tome II, pp. : 17-22. Paris (1963).

[4] Daferera D.J, Ziogas, B.N, Polissiou, M.G.

GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungioxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 48, pp. : 2576-2581 (2000).

[5] Giamperi. L, Fraternali. D, Ricci. D.

The in vitro action of essential oils on different organisms. *Journal of Essential Oil Research* , Vol. 14 pp. : 312-318 (2002).

[6] Horne. D, Holm. M, Oberg. C.

Antimicrobial effects of essential oils on *Streptococcus pneumoniae*. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 13 pp. : 387-392. (2001).

[7] Sahin. F, Gulluce. M, Daferera. D, Sokmen. M, Polissiou. M, Agar. G, Oze. H.

Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Journal of Food Control*, Vol. 15, pp. : 549-557. (2004).

[8] Ben Hamida-Ben Azzedine. N, Abdelkéli. M. M.

Antibacterial screening of *Origanum marjorana* L. Oil from Tunisia. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 13 pp. : 295-297 (2001).

[9] Demetzos. C, Perdetzoglou. D. K.

Composition and antimicrobial studies of the oils of *Origanum calcaratum* Juss. and *O. Scabrum* Boiss. et Heldr. from Greece. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 13, pp. : 460-462 (2001).

[10] Tomaino. A, Cimino. F, Zimbalatti. V, Venuti. V, Sulfaro. V, De Pasquale. A, Saija. A.

Influence of heating on antioxidant activity and the chemical composition of some species essential oils. *Food Chemistry*, Vol. 89, pp. : 549-554. (2005).

[11] Shimoni. M, Reuveni. R, Ravid. U.

Growth inhibition of plant pathogenic fungi by essential oils, Hassadeh, Vol.74 (3), pp.: 306-308, (1993).

[12] Bravo. R, Delmas. M, Gaser. A.

Extraction des huiles essentielle. *Information chimie* N°298 pp. : 179-183 (1988).

[13] Bruneton. J.

Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. tech.& doc, lavoisier, Paris pp. : 469-488 (1999)

[14] Seguin. E, Ghestem. A, Ovecchioni. M.

Le préparateur en pharmacie, Botanique-Pharmacognosie-phytothérapie-Homeopathie, Ed. Tec & Doc. Paris, pp. : 143-146 (2001).

[15] Werker. E, Putievsky. E, Ravid. U.

The essential oils and glandular hairs in different chemotypes of *Origanum vulgare L.*, *Journal Annals of Botany*, Vol. 55, pp.793-801. (1985).

[16] Perrin. A, Colson. M.

L'appareil sécréteur chez les menthes : modalités de stockage des essences dans les glandes à têtes pluricellulaires ; les menthes en France ; aspects scientifiques, économiques et industriels. Université Claude Bernard, pp. : 200-205. Lyon, (1985).

[17] Bosabalidis. A, Gabrieli. C, Niopas. I.

Flavone aglicones in glandular hairs of *Origanum x intetcedens*, *Phytochemistry*, Vol. 49 (6), pp. : 1549-1553. (1998).

[18] Van de Braak. S. A. A. J, Leijten. G. C. J. J.

Essential Oils and Oleoresins : A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, pp. : 116 (1999).

[19] Oosterhaven. K, Poolman. B, Smid. E. J.

S-carvone as a naturel potato spouts inhibiting, fungistatic and bacteristatic compound. *Industrial Crops and Products*, Vol. 4, pp. : 23-31.(1995).

[20] Garland. S.

Le livre des herbes et des épices. Ed. Fernand Nathan, Paris, p. 288 (1980).

[21] Benhabiles. N. E.

Comparaison des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : extraction et étude analytique. Thèse de Magister, Département de Génie Chimique, ENP, Alger (1995).

[22] Caree. P.

Précis de technologie et chimie industrielle (Tome III) Ed, J Bailler et fils (1953).

[23] Vokou. D, Kokkini. S, Bessiere. J. M.

Origanum onites (Lamiceae) in Greece : Distribution, volatile oil yield, and composition. *Econ. Vol. 42*, pp. : 407- 412. (1988).

[24] Kokkini. S, Vokou. D, Karousou. R.

Morphological and chemical variation of *Origanum vulgare L.* in Greece. *Botanica. Chronica*, Vol. 10, pp. : .337-346. (1991).

[25] Karousou. R.

Taxonomic studies on the Genus *Origanum* (Labiatae): Distribution, morphology, Essential oils. Thèse de Doctorat, University of Thessaloniki, Greece (1995).

[26] Fisher. N, Nitz. S, Drawert. F.

Original flavour compounds and the essential oil composition of majoram (*Majoram hortensis* Moench). *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 2, pp. : 55-61.(1987).

[27] Kokkini. S, Karousou. R, Dardioti. A, Krigas. N, Lanaras. T.

Autumn essential oils of Greek oregano. *Phytochemistry*, Vol. 44 (5),pp. : 883-886 (1997).

[28] Ruberto, G, Biondi. D, Cianci. P, Geraci. C.

Antimicrobial activity and chemical composition of Essential oils from Sicilian Aromatic Plants. *Flavours and Flagrance Journal*, Vol. 17, pp. : 251-254.(1993).

[29] Lawrence. B. M, Reynolds. R. J.

The botanical and chemical aspects of oregano. *Perfumer & Flavorist*, Vol. 9, pp. : .41-51 (1984).

[30] Prudent. D, Perineau. F, Bessiere. J. M, Michel. G. M, Baccou. J. C.

Analysis of the essential oil wild oregano from Martinique (*Coleus aromaticus* Benth.) – evaluation of its bacterioatatic and fungistatic propeties. *Journal of essential Oil Research* Vol. 7, pp. : 165-173 (1995).

[31] Charai. M, Faid. M.

Chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *Origanum majorana* L. and *O. compactum* Benth. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 8, pp. : 657-664 (1996).

[32] Sivroupoulou. A, Pananikolaou. E, Nikolaou. C, Kokkini. S.

Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 44, pp. : 1202-1205 (1996).

[33] Russo. M, Galletti. G. C, Bocchini. P, Carnacini. A.

essential oil chemical composition of wild populations of Italian oregano spice (*Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* (Link) Letswaart) : A preliminary evaluation of their use in chemotaxonomy by cluster analysis : 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46, pp. : 3741-3746 (1998).

[34] Marino. M, Bersani. C, Comi. G.

Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from Lamiacea and Compositatae. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 67, pp.: 187-195 (2001).

[35] Hoppe. H. A.

Drogenkunde 7. De Gruyter et Co, Hamburg, pp. : 622- 624 (1958)

[36] Hohmann. B.

Zwei weniger bekannte Gewuerzkraeuter *Origanum virens* and *Coridothymus capitatus*. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung-Forschung*, Vol. 138 (4), pp. : 212-216 (1986).

[37] Benjilali. B, Richard H. M, J, Bartaux. O.

Study of essentials oils of two species of Moroccan oregano *Origanum compactum* and *Origanum elongatum*. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, Vol. 19 (1), pp. : 22-26 (1986).

[38] Scortichni. M, Rossi. M. P.

In vitro behaviour of *Erwinia amylovora* towards some natural products showing bactericidal activity. *Acta Horticultura*, Vol. 338, pp. : 191-198, (1993).

[39] Biodi. D, Cianci. P, Geraci. C, Ruberto. G.

Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from sicilian aromatic plants. *Flavor and Fragrance Journal*, Vol. 8, pp. : 331-337 (1993).

[40] Duke. J. A.

Handbook of Biologically Active Phytochemicals and Their Activities. CRC Press, Boca Raton, Ann Arbor, Tokyo (1992).

[41] Harborne. J, et Baxter. H.

Phytochemical Dictionary, a Handbook of Bioactive Compounds from Plants. Taylor & Francis, London, Washington. (1993).

[42] Boyle. W.

Spices and essential oils as preservatives. *The American Perfumer and essential Oil Review*, Vol. 66, pp. : 25-28 (1955).

[43] Deans. S.G, Ritchie. G.

Antimicrobial Properties of Plant Essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 5, pp. : 165-180 (1987).

[44] Smith-Palmer. A, Stewart. J, Fyfe. L.

Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Food Microbiology*, Vol. 26, pp. : 118-122 (1998).

[45] Burt. S.

Essential oil: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review, *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 94 pp. : 223-253 (2004).

[46] Farag. R. S, Daw. Z. Y, Hewedi. F. M, El-Baroty. G. S. A.

Antimicrobial activity of Some Egyptian Spice Essential Oils. *Journal of Food Protection*, Vol. 52 (9), pp. : 665-679 (1989).

[47] Hammer. F. A, Carson. C. F, Riley, T. V.

Antimicrobial activity of essential oils other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 86, pp. : 985-990. (1999).

[48] Pintore. G, Usai. M, Bradesi. P, Juliano. C, Boatto. G, Tomi. F, Chessa. M, Cerri. R, Casanova. J.

Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*, Vol. 17, pp. : 15-19 (2002).

[49] Chaibi. A, Ababouch. L. H, Belasri. K, Boucetta. S, Busta. F. F.

Inhibition of germination and vegetative growth of *Bacillus cereus* T and *Clostridium botulinum* 62 A spores by essential oils. *Food Microbiology*, Vol. 14, pp. : 161-174 (1997).

[50] Burt. S. A, Reinders. R. D.

Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. *Food Microbiology*, Vol. 36 (3), pp. : 162-167 (2003).

[51] Cosentino. S, Tuberoso. C. I. G, Pisano. B, Satta. M, Mascia. V, Arzeidie. E, Palmas F. In-Vitro antimicrobial Activity and Chemical Composition of Sardinian *Thymus* Essential Oils. *Letters in Applied*, Vol. 29, pp. : 130-135. (1999).

[52] Firouzi. R, Azadbakht, M, Nabinedjad, A.

Anti-listerial activity of essential oils of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, Vol. 52 (9), pp. : 665-667 (1998).

[53] Shelef. L. A, Jyothi. E. K, Bulgarelli. M. A.

Growth of enterpathogenic and spoilage bacteria in sage-containing broth and foods. *Journal of Food Science*, Vol. 49, pp. : 737-740, (1984).

[54] Basole. I. H. N, Ouattara. A. S, Nebie. R, Outtara. C. A. T, Kabore. Z. I, Traore. S. A.

Chemical Composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Phytochemistry* Vol. 62, pp. : 209-212. (2003).

[55] Negi. P. S, Jayaprakasha. G. K, Jagan Rao Mohan. L, Sakariah, K. K.

Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 47, pp. : 4297-4300 (1999).

[56] Morris. J. A, Khettry. A, Seitz. E. W.

Antibacterial activity of aroma chemical sand essential oils. *Journal of American Oil Chemistry Society*, Vol. 56, pp. : 595-603 (1972).

[57] Paster. N, Juven. B. J, Shaaya. E, Menasherov. M, Nitzan. R, Weisslowiez. H. Ravid. U.

Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 11, pp. : 33-37 (1990).

[58] Canillac. N. et Mourey. A.

Comportement de *Listeria* en présence d'huiles essentielles de sapin et de pin. *Science Aliments*, Vol. 16, pp. : 403-411 (1996).

[59] Katayama. T, Nagai. I.

Chemical significance of the volatile components of spices in the food preservative viewpoint-IV. Structure and antibacterial activity of terpenes. *Bull. Jap. Soc. Science. Fish*, Vol. 26, pp. : 29-32 (1960).

[60] Jay. J. M, Rivers. G. M.

Antimicrobial activity of some food flavouring compounds. *Journal. Food Safety*, Vol. 6, pp. : 129-139. (1984).

[61] Karapinar. M, Aktug. S. E.

Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 4, pp. : 161-166 (1987).

[62] Knobloch. K, Pauli. A.

Inhibitory effects of essential oil components on growth of food-contamination fungi. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung-Forschung*, Vol. 185, pp:10-13 (1987).

[63] Moleyar. V, Narasimham. P.

Antibacterial activity of essential oil components. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 16, pp. : 337-342 (1992).

[64] Conner. D. E, Beuchat. L. R.

Effects of essential oils from plants on growth of food spoilage yeasts. *Journal of Food Science*, Vol. 49, pp. : 429-434 (1984).

[65] Dorman. H. J, Deans S. G.

Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 88, pp. : 308-316 (2000).

[66] Inouy. S, Takizwa. T, Yamaguchi. H.

Antimicrobial activity of Essential Oils and their Major Constituents Against Respiratory Tract Pathogens by Gaseous Contact. *Journal.of Antimicrobial. Chemotherapy*, Vol. 47, pp. : 565-573 (2001).

[67] Kim. J, Marshall. M. R, Wei. C. I.

Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, pp. : 839-2845 (1995).

[68] Lambert. R. J. W, Skandamis. P. N, Coote. P, Nychas. G. J. E.

A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 91, pp. : 453-462 (2001).

[69] Pol. I. E, Smid. E. J.

Combined action of nisin and carvacrol on *Bacillus cereus* and *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 29, pp. : 166-170 (1999).

[70] Onawunmi. G. O.

Evaluation of the antimicrobial activity of citral. *Letters in Applied Microbiology*, Vol. 9, pp. : 105-108 (1989).

[71] Adam. K, Sivropolou. A, Kokkini. S, Lanaras. T, Arsenakis. M.

Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46 (6), pp. : 1739-1745 (1998).

[72] Baratta. M.T, Dorman. H. J. D, Deans. S. G, Figueiredo. A. C, Barrroso. J. G.et Ruberto. G. Antimicrobial and Antioxydant Properties of Some Commercial Essential Oils. *Flavour and Fragrance. Journal*, Vol. 13, pp. : 235-244 (1998).

[73] Belaiche. T, Tantaoui-Elaraki. A, Ibrahimy. A.

Etude comparative des effets simultanés de trois terpènes sur trois moisissures. *Science Aliments*, Vol. 16, pp. : 537-543 (1996).

[74] Chao. S.C, Young. D. G, Oberg. G. J.

Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 12, pp. : 639-649 (2000).

[75] Deans. G, Baratta. M. T, Dorman. D. H. J, Biondi. D. M, Ruberto. G.

Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activities of Laurel, Sage, *rosemary*, *Oregano* and Coriander Essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 16, pp. : 618-627 (1998).

[76] Dubey. N. K, Mishra. A. K.

Evaluation of Some Essential Oil for their toxicity against Fungi Causing deterioration of Stored Food Commodities. *Applied Environnement Microbiology*, pp. : 1101-1105 (1994).

[77] Elgayyar. M, Draughon. F. A, Golden. D. A, Mount. J. R.

Antimicrobial activity of Essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*, Vol. 64 (7), pp. : 1019-1024 (2001).

[78] Faid. M, Charai. M, Mosaddak. M.

Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Two Aromatics Plants: *Origanum majorana L.* and *O.compactum Benth.* *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 8, pp. : 657-664 (1996).

[79] Giamperi. L, Fraternali. D, Ricci. D.

The in vitro action of essential oils on different organisms. *Journal of Essential Oil Research* , Vol. 14 pp. : 312-318 (2002).

[80] Hitokoto. H, Morozomi. S, Wauket. T, Sakai. H.

Inhibitory effects of spices on growth and toxin production of toxigenic fungi. *Applied Environnement Microbiology*, Vol. 39, pp. : 818-822 (1980).

[81] Hsieh P. C, Mau. J. L. Huang. S. H.

Antimicrobial effect of various combination of plant extracts. *Journal of Food Microbiology*, Vol. 18, pp. : 35-43 (2001).

[82] Montes-Belmont. R, Carvajal. M.

Control of *aspergillus flavus* in Maize with Essential Oils and Their Components. *Journal of Food protection*, Vol. 61 (5), pp. : 616-619 (1998).

[83] Müller-Riebau. F, Berger B, Yegen O.

Chemical Composition and Fungitoxic Properties to Phytopathogenic Fungi of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 43, pp : 2262-2266 (1995).

[84] Nguyen-The. C, Campo. J. D, Amiot. M. J.

Antimicrobial effect of rosemary extract. *Journal of Food protection*, Vol. 63 (10), pp : 1359-1368 (2000).

[85] Tiwari. R, Dikshit. R. P, Chandan. N. C.

Inhibition of growth and aflatoxin B1 production of *Aspergillus parasiticus* by spice oils
Journal of Food Science Technology, Vol. 20, pp. : 131-133 (1983).

[86] Vargas. I, Sanz. I, Moya. P, Prima-Yufer. E.

Antimicrobial and antioxidant Compounds in the Nonvolatile fraction of expressed orange essential oil. *Journal of Food protection*, Vol. 62 (8), pp. : 929-932 (1999).

[87] Tantaoui-Elaraki. A, Ferhout. F, Errifi. A.

Inhibition of the fungal asexual reproduction stages by three Moroccan essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 5 (5), pp. : 535-545.(1993).

[88] Lagouri. V, Blekas. G, Tsimidou. M, Kokkini. S, Boskou. D.

composition and antioxidant activity of essential oils from oregano plants grown wild in Greece. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung-Forschung*, Vol. 197, pp. : 20-23 (1993).

[89] Skwarek. T, Tynecka. Z, Glowniak. K, Lutostanska. E.

Plants inducers of interferons. *Herba Polonica*, Vol.40 (1-2), pp. : 42-49(1994).

[90] Raman. K.V.

Les teignes des pommes de terre. *Bull d'information tech*, (1987).

[91] Cavelier.

Cours de phytopharmacie générale. Institut National d'Agronomie, Alger (1975).

[92] Gatineau. S.

Les huiles essentielles, thérapeutique naturelle. *Revue Française apiculture*, (1985).

[93] Modgil. R, Samuels. R.

Efficacy of mint and eucalyptus leaves on physico-chemical characteristics of stored wheat against insect infestation. *Nahrung*, (1998).

[94] Gakuru. S, et Fouabi. K.

Compared effect of four plant essential oils against coupea weevil *callosobruchus maculates* F and rice weevil *sito philusoryzae* L. *Tropicultura*, Vol. 13 (1995).

[95] Obeng Ofori. D, Reichmuth. Ch, Bekele. J, Hassana. C.I.A.

Biological activity of 1,8-cinéole, a major component of essential oil of *Ocimum* Kenyanse (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*, (1997).

[96] Gwinner. R, Harmisch. J, et Muck. O.

Manuel sur la manutention et la conservation des grains après la récolte. Ed. GTZ Eshborn, (1996).

[97] Regnault-Roger. C, Hamraoui. A.

Defence against phytophagous insects by aromatic plant allelochemicals. *Acta Botanica Gallila*, (1997).

[98] Pascual. M, Villalabos. A.

Screening for anti-insect activity in mediteranean plants. *Industrial Crop and Products*. (1998).

[99] Institut technique des céréales et des fourrages.

Les insectes et les acariens des céréales stockées, Ed. Normes et techniques; (1978).

[100] Goupy. J.

La méthode des plans d'expériences, optimisation. Ed. Bordas, Paris, (1988).

[101] Degea. P, Girault. M.

Analyse de variance et plans d'expériences, Ed. Wiley inter science, (1972).

[102] Voutchkov. L, Yontchev. H.

Planification et analyse des expériences. Ed Technica, Sofia. (1979).

[103] Trambouse. P, Wauquier. J. P.

Le développement des procédés de raffinage et pétrochimie, Ed. Technip, Paris, (1975).

[104] Guenther. E.

Essential oil, Ed R.E.Krieger. (1972).

[105] Van Den Dool. H, Kratz. F D.

Journal of Chromatography, Vol. 11, pp. : 453, (1963).

[106] Afnor.

Association française de normalisation, détermination physico-chimique des huiles essentielles, .Ed. Afnor, Paris (1982).

[107] Adams. R. P.

Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy, Allured Publishing Co, Carol Stream, IL (1995).

[108] Ruberto. G, Baratta. M. T, Sari. M, Kaabeche. M.

Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Silician Aromatic Plants, *Flavours and Fragrance Journal*, Vol. 8, pp. : 331-337, (2002).

[109] Galletti. G. C, Russo. M, Bocchini. P, Carnacini. A.

Essential Oil Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare ssp. Hirtum (Link) letsweert*) : A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. I. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 46. pp. : 3741-3746 (1998).

[110] Boutekedjiret. C, Sahraoui. N, Bentahar. F, Bessiere. J. M.

Isolation de l'huile essentielle d'origan par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation. *Congrès International Sur Les Plantes Médicinales : CIPM 2005. Errachidia. Maroc, 16-19 Mars 2005.*

[111] Azzoudj. S.

Valorisation des huiles essentielles de quelques espèces d'*Origanum* et *Thymus* spontanées en Algérie. Mémoire d'Ingénieur, Institut d'agronomie, Blida (1999).

[112] Salah. R.

Préparation d'oligosaccharides à partir d'une biomasse marine : La chitine, Mémoire de Magister, Département de Génie de l'Environnement, E.N.P, Alger, (2005).

[113] Benyoussef. E-H, Zouaghi. N, Belabbes. R, Bessiere. J-M.

Etude botanique des graines de nigelle d'Algérie et analyse de leur huile essentielle. Rivista Italia Eppos, Vol. 33, pp. : 15-19 (2001).

[114] Boutekedjiret. C.

Etude des procédés d'extraction appliqués à la récupération des essences de romarin. Transfert de matière et modélisation, Thèse de Doctorat d'Etat, Département de Génie Chimique, ENP, Alger, (1999).

[115] Goupy. J.

Technique de l'ingénieur, Traité de l'analyse Chimique et caractéristique. pp. : 5-10. (1992).

[116] Delaquis. P. J, Stanich. K, Girard. B, Mazza. G.

Antimicrobial Activity of Individual and Mixed Fractions of Dill, Cilantro, Coriander and *Eucalyptus* Essential Oils. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 74, pp. :101-109 (2002).

[117] Garnerro. M. J.

Récolte, séchage et stockage du matériel végétal, conditionnement, Hydrodistillation. Phytochemistry, pp. : 14-19. (1985).

[118] Gueoguiev. E.

Technologie des produits aromatiques naturels. Ed. Institut Supérieur de Technologie Alimentaire, Plovdiv, (1980).

[119] Gy. P.

Génie des procédés, analyses et caractérisation, Technique de l'ingénieur, (Tome I) pp. : 320, avril (2001).

[120] Krim. S.

Extraction de la concrète de romarin par circulation continue de solvant. Thèse de Magister, Département de Génie Chimique, USTHB, Alger, (2001).

[121] Ramrej. P, Alagumali. K, Hopziba. C. S. S.

Effect of leaf extract of *Origanum vulgare* (Fam Lamiaceae) on the hatching of eggs of *Meloidogyne incognita*. *Indian Journal of Nematology*, Vol. 21 (2), pp. : 56-157 (1991).

Annexes

ANNEXE 1 :

DETERMINATION DU TAUX D'HUMIDITE

Dans un ballon de 500 mL, nous introduisons 20 g ($\pm 0,0001$ g) de matière végétale. Nous versons ensuite 200 mL de toluène dans le ballon que nous surmontons d'un réfrigérant muni d'un récipient gradué. Ensuite, nous portons le mélange à reflux jusqu'au moment où le niveau d'eau se stabilise et le solvant surnageant l'eau dans le récipient devient limpide.

Vers la fin du dosage, nous augmentons la puissance de chauffe afin de récupérer toutes les gouttes déposées sur les parois du réfrigérant. Enfin, nous laissons le tout se refroidir et nous notons le volume d'eau dans le tube.

1 : Chauffe ballon.

2 : Mélange solvant (toluène)- matière végétale (*Origanum glandulosum*).

3 : Ballon.

4 : Tube de recette graduée.

5 : Entré d'eau.

6 : Réfrigérant.

7 : Sortie d'eau.

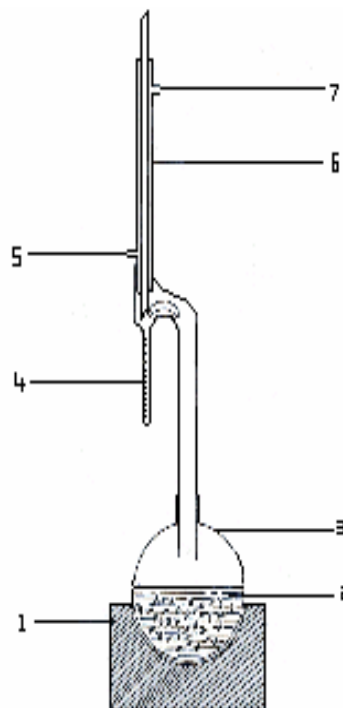


Figure (A.1.1) : Appareil de DEAN et STARCK

La teneur en eau dans la matière végétale est calculée par la formule suivante :

$$H = \frac{V \cdot d_{H_2O}}{M_H} \cdot 100 \quad \text{A1.1}$$

Avec :

H : taux d'humidité de la plante (%)

V : volume d'eau (mL)

M_H : masse de la matière végétale humide (g)

d_{H_2O} : densité de l'eau à 20°C égale à 0,998

$$H = \frac{1,5 \cdot 0,998}{20,0002} \cdot 100 = 7,495\%$$

Calcul d'erreurs :

$$\frac{\Delta H}{H} = \frac{\Delta V}{V} + \frac{\Delta M_H}{M_H} \quad \text{A1.2}$$

$$\frac{\Delta H}{H} = \frac{0,0125}{1,5} + \frac{10^{-4}}{20,0002} = 8,34 \cdot 10^{-3}$$

$$\Rightarrow \Delta H = 0,062\%$$

$$H = (7,495 \pm 0,062) \%$$

ANNEXE 2 :

CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE ET MASSE VOLUMIQUE DE LA PLANTE

I. DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES

I.1 Indices physiques

I.1.1 Densité relative d_{20}^{20} : (NF T75-113)

La densité relative d_{20}^{20} a été calculée à l'aide d'un pycnomètre (tube en verre) de 1 mL à une température de 20 °C. Cette densité est calculée par l'équation suivante :

$$d_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0} \quad (\text{A.2.I-1})$$

Où M_0 : Masse du pycnomètre vide, (g) ;
 M_1 : Masse du pycnomètre rempli d'eau distillée, (g) ;
 M_2 : Masse d'huile essentielle (g).

I.1.2 Indice de réfraction : (NF T75-112)

L'indice de réfraction n_D^{20} a été déterminé par lecture directe à l'aide d'un réfractomètre d'ABBE (**HERGESTELLTINDER**) en employant la lumière diffuse du jour. La température a été maintenue à 20 °C à l'aide d'un thermostat. L'indice de réfraction à la température de référence de 20 °C est calculé par la formule suivante :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004 (t' - t) \quad (\text{A.2.I-2})$$

où : $n_D^{t'}$: Valeur de la lecture obtenue à $T = t'$,
 t' : Température à laquelle a été effectuée la détermination de l'indice de réfraction en °C.

I.2 Indices chimiques

I.2.1 Indice d'acide : (NF T75-103)

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle. A une aliquote d'huile essentielle (0,28 g), sont ajoutés 5 gouttes de phénolphtaleine, ce mélange est neutralisé par KOH alcoolique à 0,1 N. L'indice d'acide est calculé par la formule suivante :

$$IA = \frac{5,61 \times V}{m} \quad (\text{A.2.I-3})$$

où : V : Volume en mL de KOH utilisé, (mL).
m : Masse en g de la prise d'essai (g).

I.2.2 Indice d'ester : (NF T75-104)

C'est le nombre en mg de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libérés par hydrolyse des esters contenus dans l'essence. A une aliquote d'huile essentielle (0,56 g), sont ajoutés 25 mL de KOH à 0,5 N dans l'éthanol à 95%. Ce mélange est porté à ébullition pendant 90 min. Après refroidissement, 20 mL d'eau distillée et 5 gouttes de phénolphthaleine sont ajoutés à ce mélange. Celui-ci est neutralisé par l'acide chlorhydrique 0,5 N. L'indice d'ester est calculé par la formule suivante :

$$IE = \frac{28,5 (V_0 - V_1)}{m} - IA \quad (\text{A.2.I-4})$$

où : m : Masse d'huile essentielle (g).
V₀ : Volume de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc, (mL).
V₁ : Volume en mL de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour la détermination de l'indice d'ester.

II. DETERMINATION DE LA MASSE VOLUMIQUE DE LA PLANTE

La masse volumique de la plante a été déterminée par la méthode dite du pycnomètre, qui consiste à introduire une masse « m » connue de la plante dans une éprouvette gradué qu'on remplit par la suite avec un solvant (toluène, xylène ou benzène) jusqu'à un certain volume.

La masse totale pesée est la somme de la masse du solide, de la masse du solvant dans les pores et de celles en excès.

$$\rho_S = \frac{m_S}{V_S} = \frac{m_S}{V_T - V_P} \quad (\text{A.2.II-1})$$

$$V_P = \frac{m_P}{\rho_{\text{toluène}}} = \frac{m_T - m_S - m_{\text{ex}}}{\rho_{\text{toluène}}} \quad (\text{A.2.II-2})$$

Soit :

m_T: masse totale

m_S : masse de la plante

m_{ex} : masse du toluène en excès

m_P : masse du toluène dans les pores.

V_p : volume du toluène emprisonné dans les pores

V_S : volume de la plante

V_T : volume total avec $V_T = V_S + V_P$

ρ_S : masse volumique de la plante et elle est définie comme étant le rapport de la masse de la plante sur son volume.

$$m_{ex} = V_{ex} \cdot \rho_{\text{toluène}} \quad \text{avec } \rho_{\text{toluène}} = 0,8 \quad \text{g/cm}^3$$

$$\text{D'où : } m_{ex} = V_{ex}$$

II.1 Erreur commise sur la détermination de la masse volumique de la plante :

De la relation AII.1 on aura :

$$\frac{\Delta \rho_S}{\rho_S} = \frac{\Delta m_S}{m_S} + \frac{\Delta V_T}{V_T - V_P} + \frac{\Delta V_P}{V_T - V_P} \quad (\text{A.2.II-3})$$

$$\frac{\Delta V_P}{V_P} = \frac{\Delta m_P}{m_P} + \frac{\Delta \rho_{\text{toluène}}}{\rho_{\text{toluène}}} = \frac{\Delta m_P}{m_P} \text{ car } \frac{\Delta \rho_{\text{toluène}}}{\rho_{\text{toluène}}} = 0 \quad (\text{A.2.II-4})$$

$$m_P = m_T - m_S - m_{excès} \Rightarrow \frac{\Delta m_P}{m_P} = \frac{\Delta m_T}{m_T} + \frac{\Delta m_S}{m_S} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}} \quad (\text{A.2.II-5})$$

D'où :

$$\Delta V_P = V_P \cdot \frac{\Delta m_P}{m_P} = V_P \left[\frac{\Delta m_T}{m_T} + \frac{\Delta m_S}{m_S} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}} \right] \quad (\text{A.2.II-6})$$

Finalement :

$$\frac{\Delta \rho_S}{\rho_S} = \frac{\Delta m_S}{m_S} + \frac{\Delta V_T}{V_T - V_P} + \frac{V_P \left[\frac{\Delta m_T}{m_T} + \frac{\Delta m_S}{m_S} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}} \right]}{V_T - V_P} \quad (\text{A.2.II-7})$$

ANNEXE 3 :

I. REPRODUCTIBILITE DES RESULTATS ET CALCUL D'ERREUR

Afin de vérifier la reproductibilité de nos résultats, les expériences ont été reprises dans les mêmes conditions opératoires aussi bien pour le procédé d'entraînement à la vapeur d'eau que pour l'hydrodistillation.

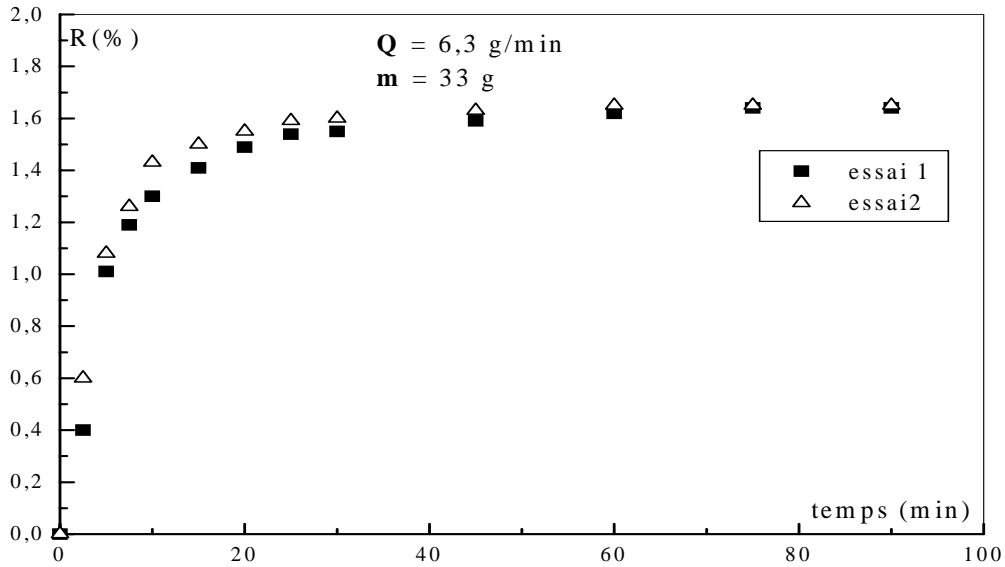
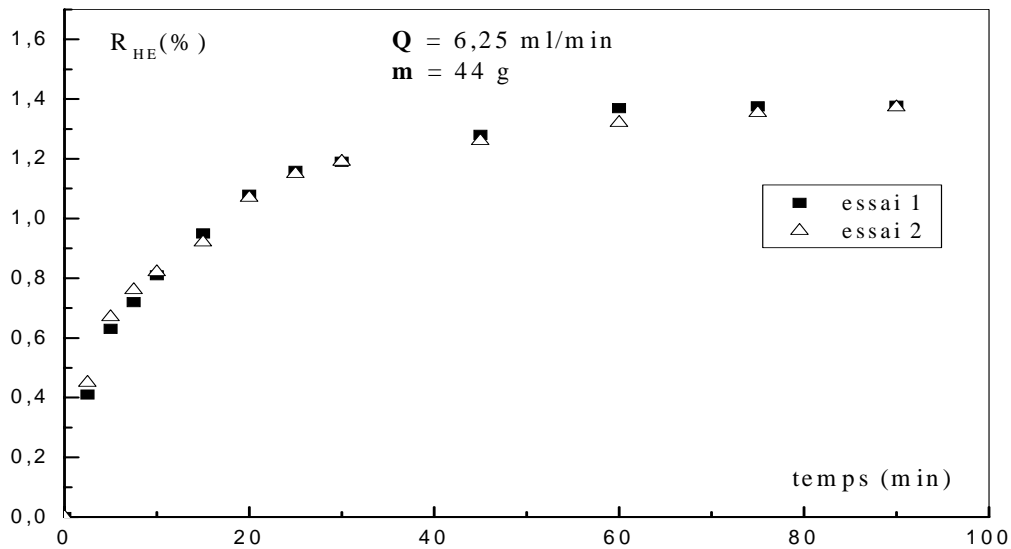


Figure.A.3.1. Reproductibilité des résultats pour les essais de l'entraînement à la vapeur



FigureA.3.2 .Reproductibilité des résultats pour les essais de l'hydrodistillation

II. CALCUL D'ERREUR

II 1.CALCUL D'ERREUR SUR LE RENDEMENT EN HUILE ESSENTIELLE (par rapport à la matière végétale sèche)

Le rendement en huile essentielle est donné par la relation suivante :

$$R_{HE}(t) = \frac{M_{HE}(t)}{M_s} . 100 \quad (A.3.II.1)$$

Il vient que :

$$R_{HE}(t_1) = \frac{M_{HE}(t_1)}{M_s} . 100 \quad (A.3.II.2)$$

$$R_{HE}(t_2) = R_e(t_1) + \frac{M_{HE}(t_2)}{M_s} . 100 \quad (A.3.II.3)$$

$$R_{HE}(t_N) = R_{HE}(t_{N-1}) + \frac{M_{HE}(t_N)}{M_s} . 100 \quad (A.3.II.4)$$

d'où

Le calcul d'erreur relative sur le rendement en huile essentielle sera donc :

$$\frac{\Delta R_{HE}(t_1)}{R_{HE}(t_1)} = \frac{\Delta M_{HE}(t_1)}{M_{HE}(t_1)} + \frac{\Delta M_s}{M_s} \quad (A.3.II.5)$$

$$\frac{\Delta R_{HE}(t_2)}{R_{HE}(t_2)} = \frac{\Delta M_{HE}(t_1)}{M_{HE}(t_1)} + \frac{\Delta M_{HE}(t_2)}{M_{HE}(t_2)} + \frac{\Delta M_s}{M_s} \quad (A.3.II.6)$$

$$\frac{\Delta R_{HE}(t_N)}{R_{HE}(t_N)} = \frac{\Delta M_s}{M_s} + \sum_{i=1}^N \frac{\Delta M_{HE}(t_i)}{M_{HE}(t_i)} \quad (A.3.II.7)$$

Comme $M_s = (1 - H) M_H$ (A.3.II.8)

L'expression de l'erreur relative sera :

$$\frac{\Delta R_{HE}(t_N)}{R_{HE}(t_N)} = \frac{\Delta M_H}{M_H} + \frac{\Delta H}{1 - H} + \sum_{i=1}^N \frac{\Delta M_{HE}(t_i)}{M_{HE}(t_i)} \quad (A.3.II.9)$$

d'où

L'expression de l'erreur absolue:

$$\Delta R_{HE}(t_N) = R_{HE}(t_N) \left(\frac{\Delta M_H}{M_H} + \frac{\Delta H}{1 - H} + \sum_{i=1}^N \frac{\Delta M_{HE}(t_i)}{M_{HE}(t_i)} \right) \quad (A.3.II.10)$$

ANNEXE 5:

ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

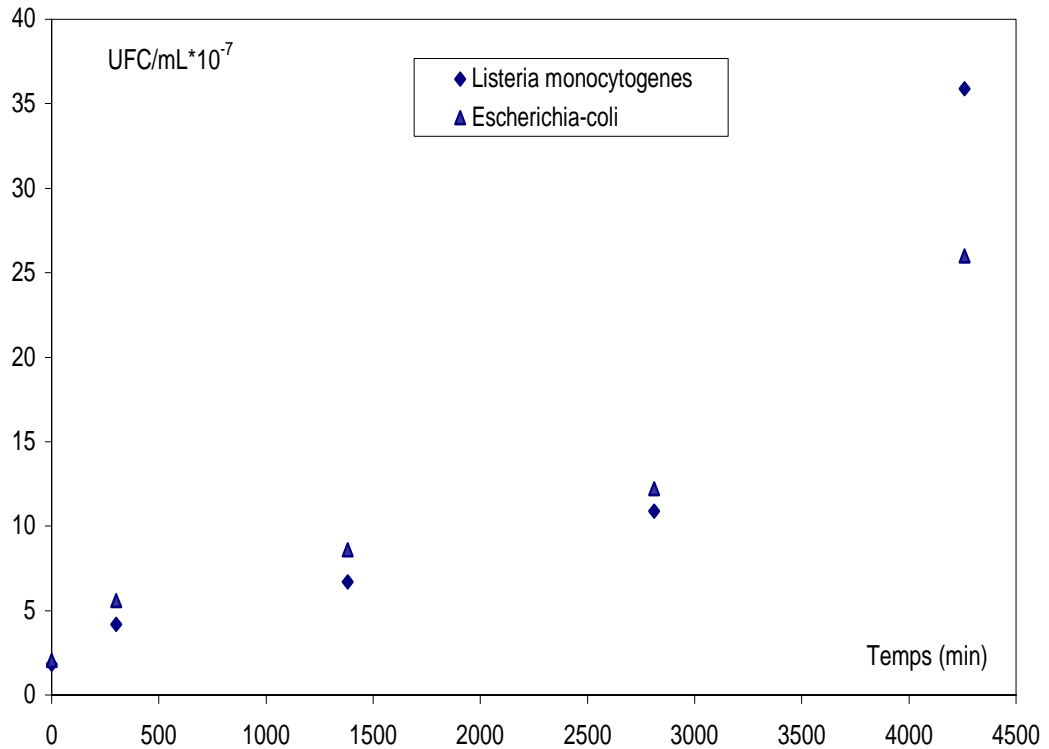
1. Evolution de la croissance de *listeria monocytogenes* et de *Escherichia coli* en fonction du temps

Figure A.5.1. Evolution de la croissance bactérienne de *Listeria monocytogenes* et de *Escherichia coli* en fonction du temps

2. Inhibition de la croissance des bactéries à différentes concentrations de l'huile essentielle d'origan.

La gélose nutritif est coulée dans des boîtes de pétri, puis séchée pendant 30 minutes. A partir de chaque pré culture de 72 heures, nous ensemençons 1 ml en surface, à raison de deux boîtes par essais pour chaque souche. Nous creusons des puits dans la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis nous retirons le disque de gélose du puit à l'aide d'une aiguille stérile.

Nous avons préparé une solution d'huile essentielle en diluant un volume de cette huile dans un volume égale d'éthanol. Nous distribuons ensuite cette solution dans les puits à quantités de volumes croissants. Nous avons placé les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Nous donnons à titre d'exemple les résultats obtenus pour *Listeria monocytogenes*.

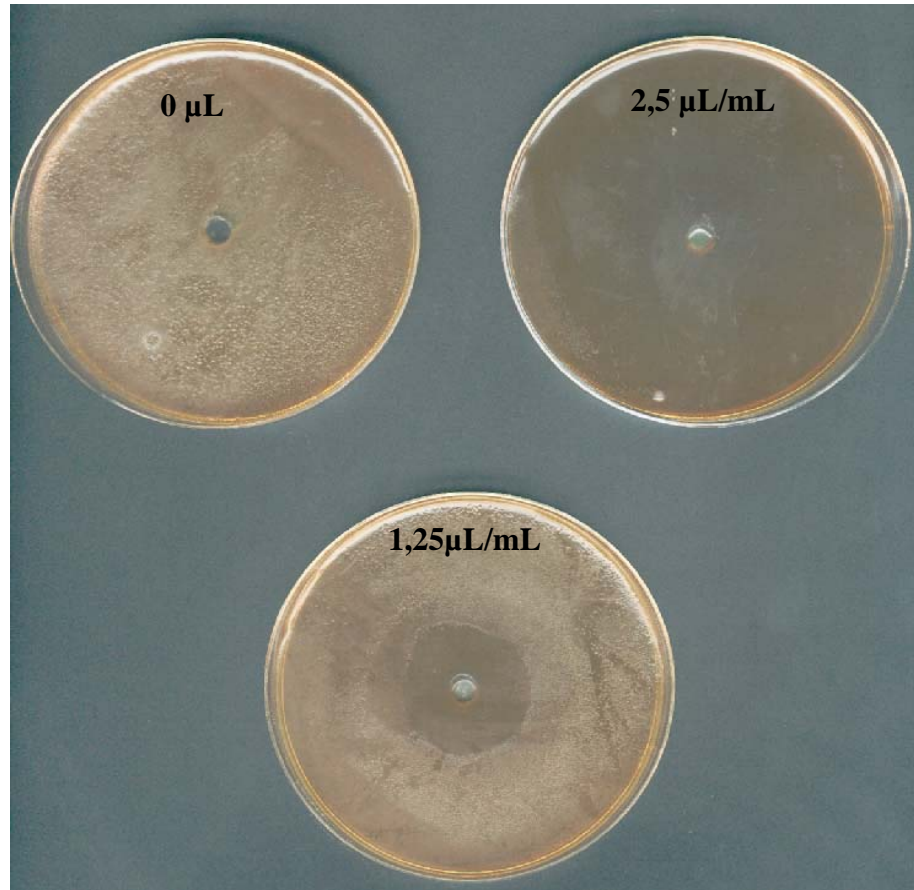


Figure A.5.2. Inhibition de la croissance de *listeria monocytogenes* pour différentes concentrations de l'huile essentielle d'origan.

3. Courbe d'étalonnage selon Mc Farland : cité par Salah.R. [112]

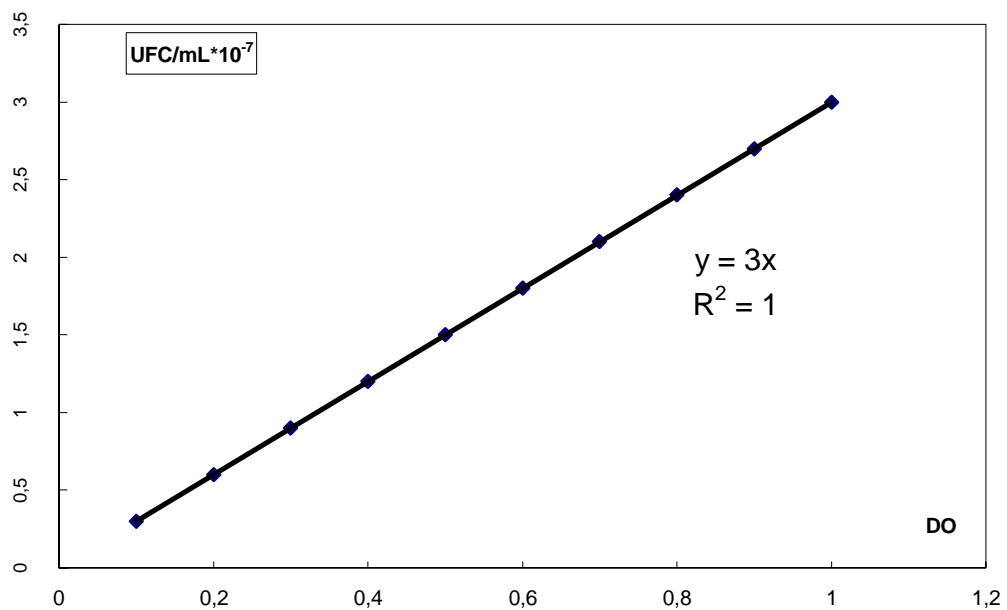


Figure A.5.3 : Concentration des bactéries selon Mc Farland

ANNEXE 5:

ACTIVITE ANTIMICROBIENNE

1. Evolution de la croissance de *Listeria monocytogenes* et de *Escherichia coli* en fonction du temps

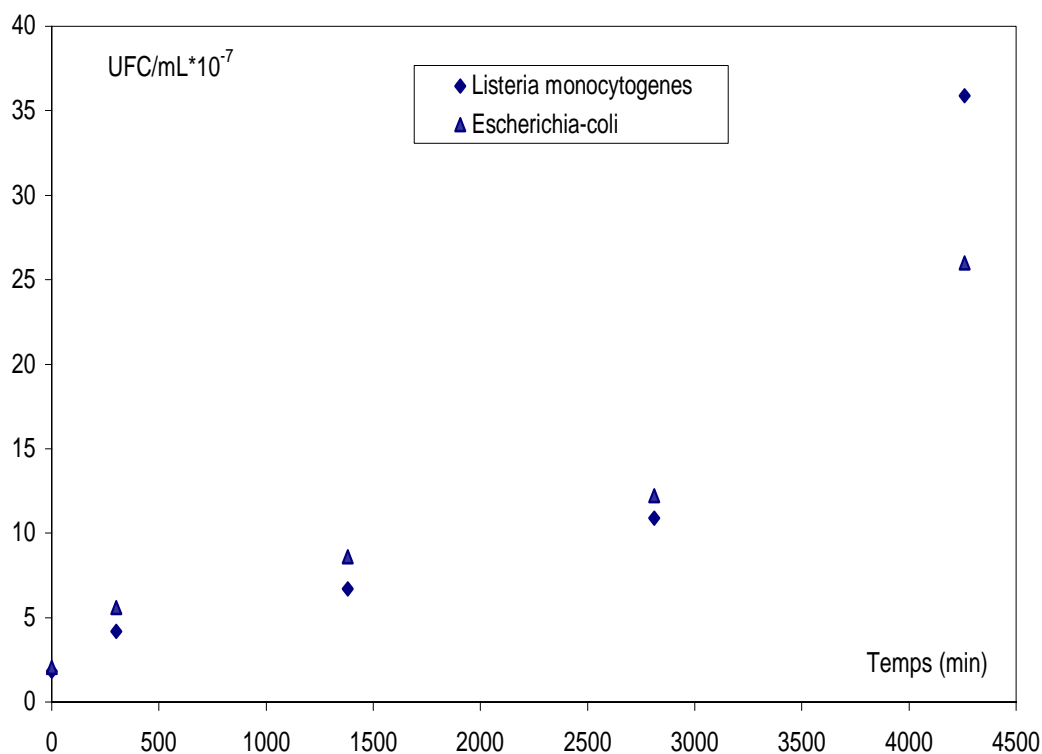


Figure A.5.1. Evolution de la croissance bactérienne de *Listeria monocytogenes* et de *Escherichia coli* en fonction du temps

2. Inhibition de la croissance des bactéries à différentes concentrations de l'huile essentielle d'origan.

La gélose nutritif est coulée dans des boites de pétri, puis séchée pendant 30 minutes. A partir de chaque pré culture de 72 heures, nous ensemençons 1 ml en surface, à raison de deux boites par essais pour chaque souche. Nous creusons des puits dans la gélose à l'aide d'une pipette Pasteur stérile puis nous retirons le disque de gélose du puit à l'aide d'une aiguille stérile.

Nous avons préparé une solution d'huile essentielle en diluant un volume de cette huile dans un volume égale d'éthanol. Nous distribuons ensuite cette solution dans les puits à quantités de volumes croissants. Nous avons placé les boites dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Nous donnons à titre d'exemple les résultats obtenus pour *Listeria monocytogenes*.

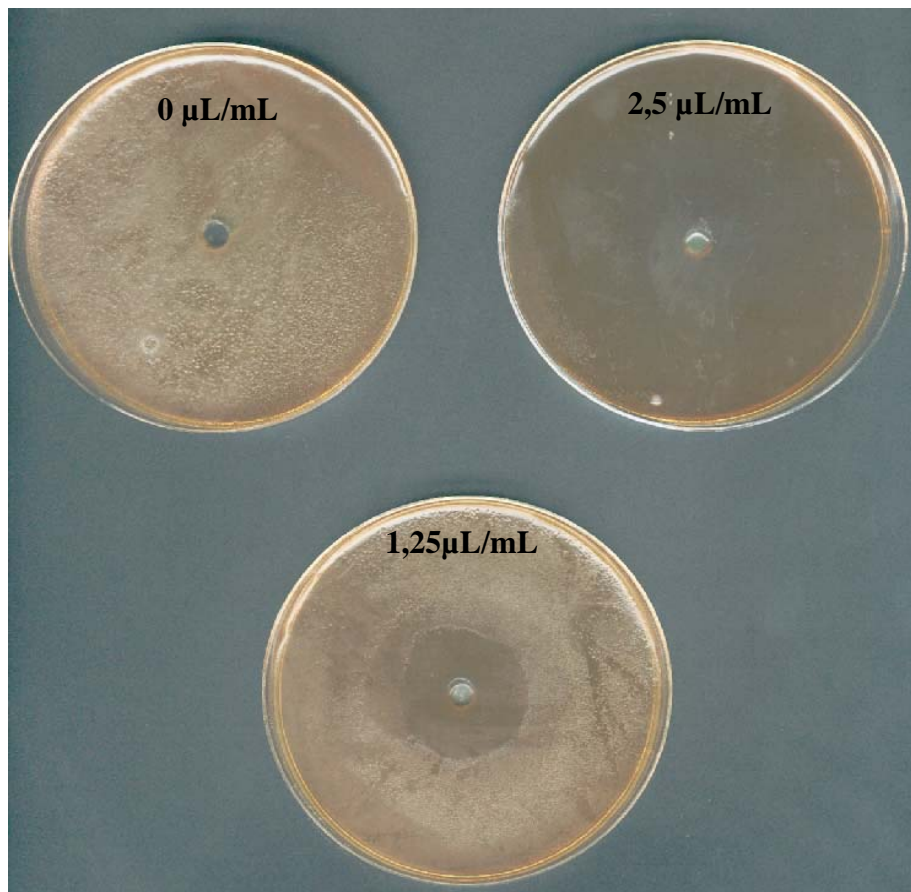


Figure A.5.2. Inhibition de la croissance de *listerea monocytogenes* pour différentes concentrations de l'huile essentielle d'origan.

3. Courbe d'étalonnage selon Mc Farland : cité par Salah.R. [112]

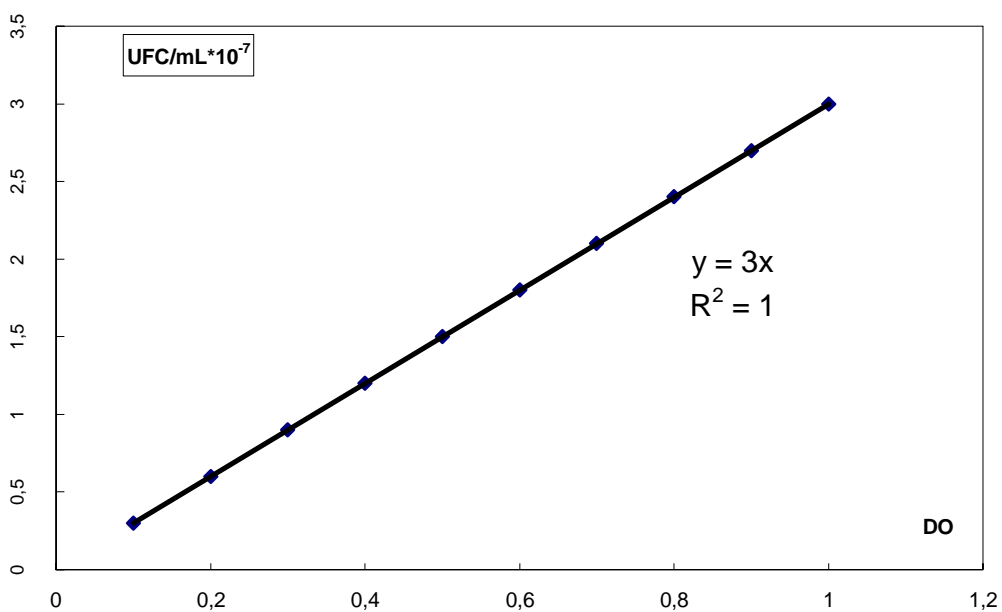


Figure A.5.3 : Concentration des bactéries selon Mc Farland

ملخص:

هذا العمل أنجز في إطار تقييم ثرواتنا النباتية المنتشرة في الجزائر و يقدم نتائج بحث اجري عن طرق استخلاص الزيوت الأساسية ل(اريغانوم غلونديلوزوم) ألا و هي الاستخلاص ببخار الماء، و التقطير المائي. كما تم تحديد التركيب الكيميائي بالكروماتوغرافيا الغازية و الخصائص الفيزيوكيميائية للزيوت الأساسية المستخلصة. و من جهة أخرى قوم تأثير طرق الاستخلاص على المرودود و نوعية المستخلصات. أدت الدراسة المعلمية، و الدراسة بالطريقة التخطيطية إلى الحصول على الشروط المثلى للاستخلاص. و أبرزت دراسة حركية الاستخلاص ببخار الماء و التقطير المائي سيرورة هذه الطرق. و قد تم عرض نموذج رياضي في كلتي الحالتين. و في الأخير تمت دراسة تأثير الزيت الأساسية المستخلصة ببخار الماء على النشاط البكتيري و النشاط الحشري و قد أظهرت هذه الأخيرة نتائج حسنة.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية – المكونات الكيميائية – التقطير ببخار الماء – الخصائص الفيزيوكيميائية - التقطير المائي – النشاط البكتيري - النشاط الحشري

RESUME :

Ce travail a été mené dans le cadre de la valorisation de la flore végétale spontanée qui pousse en Algérie. Il présente les résultats d'une recherche sur l'étude de deux procédés d'extraction, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation, et leur application à la récupération des extraits de l'origan : *Origanum glandulosum*.

Les huiles essentielles ainsi obtenues ont été caractérisées par leur composition chimique grâce à des analyses par CPG et par GC/SM et par la détermination de leurs propriétés physico-chimiques.

L'influence sur le rendement et la qualité des extraits, des paramètres liés aux procédés d'extraction, a pu être quantifiée. Des conditions optimales d'extraction obtenues suite à des études paramétriques et par plans d'expériences ont été dégagées.

L'étude cinétique de l'entraînement à la vapeur d'eau et de l'hydrodistillation a, d'une part, permis de mettre en évidence les différentes étapes intervenant lors de ces procédés, d'autre part, révélé un modèle mathématique dans chaque cas. Enfin, les applications insecticide et antibactérienne de l'huile essentielle obtenue par le procédé de l'entraînement à la vapeur ont été réalisées et a enregistré de bons résultats.

Mots clés : huile essentielle - *Origanum glandulosum* – hydrodistillation - entraînement à la vapeur caractéristiques physicochimiques- composition chimique -GC/SM- activités antimicrobienne-activités insecticide.

ABSTRACT :

This study was undertaken within the framework of the valorization of the spontaneous flora pushing in Algeria. It presents the main results of a research in the field of extraction of essential oil from Origan : *Origanum glandulosum*.

The essential oil have been extracted following two proceedings: steam distillation and water distillation were characterized as a function of the different components content by GC and GC/MS and their physical and chemical properties.

The effect of the process parameters and the nature of the raw material on the extract yield and quality were measured and optimal working conditions were obtained.

: Kinetic's study allowed to highlight the different steps occurring during the extraction and a mathematical model for each process of the extracts is given.

At the last, the applications of antibacterial and insecticidal activities of the essential oil obtained with steam distillation were study and unregistered good results.

Key words: essential oil - *Origanum glandulosum* – hydrodistillation – physico-chemical characteristics- chemical composition--GC/SM- antibacterial activity - insecticidal activity.

