

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB de BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



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

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

Présenté par : M^{elle} MIMOUN Rania

Thème :

**Elaboration et application d'un réservoir à base
de polymère pour le stockage de l'huile
essentielle de l'origan**

Soutenu le 27/06 /2022

Devant le jury composé de :

Mme TOUAFEK.O	MCA	Université de Blida 1	Présidente
Mme KEZZIM.A	MCB	Université de Blida1	Examinatrice
Mr BOUTOUMI.H	Pr.	Université de Blida1	Promoteur

Promotion 2021/2022

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

رَفَعُ دَرَجَاتٍ مِّنْ نَّشَأٍ

وَفَوْقَ كُلِّ ذِي عِلْمٍ

عَلِيمٌ

RESUME

Le présent travail porte sur l'élaboration des réservoirs composites aptes à stocker les huiles essentielles, notamment les HEs extraites à partir d'origan en vue d'une libération prolongé dans une atmosphère septique.

Dans ce contexte l'hydrodistillation de l'origan a permis l'obtention d'une huile essentielle avec un rendement moyen de 1.77%. L'identification de cette huile par CG/SM a permis d'identifier 16 composés, dont les constituant majoritaires respectivement sont : p-Cymène (26.65%) suivi par le thymol (25.11%) puis γ -Terpinene (23.57%) et le carvacrol (12.05%).

En outre, une étude sur le stockage de cette HE sur une bentonite (non modifié (Na^+MMT) et organophile (OMMT)) a été menée avec succès. La mise au point de nouvelles membranes réservoirs composites argile/huile essentielle greffées sur un polymère alcool polyvinylique PVA sont présenter ainsi la modulation de la libération de cette huile essentielle en prolongeant son profil cinétique.

La caractérisation a été effectuée par analyse spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, l'IRTF à montrer une vibration des liaisons C-H de méthyle et méthylène, et une vibration de liaison C=C cela indique l'incorporation du l'HE dans les MMT, surtout après la modification organophile (dont elle possède une plus grande affinité avec l'HE).

Les résultats de la libération prolongée ont indiqué que l'HE pure non stocké a présenté un profil de libération très rapide, alors que, dans les échantillons de réservoirs composites encapsulés, cette libération se produit progressivement, à un taux presque constant.

L'activité antibactérienne a montré que l'huile essentielle d'origan ainsi toutes les membranes synthétisé possédant un spectre antibactérien considérable contre les bactéries testées notamment sur la souche : (*Staphylococcus aureus*).

Mots clés : *Origanum floribudum*, huile essentielle, montmorillonite, alcool polyvinylique, membrane réservoir composite, libération prolongé, activité antibactérienne

ABSTRACT

The present work deals with the elaboration of composite reservoirs suitable for storing essential oils, notably the EOs extracted from oregano species, for a prolonged release in a septic atmosphere.

In this context, the hydrodistillation of oregano allowed to obtain an essential oil with an average yield of 1.77%. The identification of this oil by GC/MS allowed identifying 16 compounds, of which the major constituents are respectively: p-Cymene (26.65%) followed by γ -Terpinene (23.57%) then thymol (25.11%) and carvacrol (12.05%).

On the other hand, a study on the storage of this HE on a bentonite (unmodified (Na+MMT) and organophilic (OMMT)) was successfully conducted. The development of new reservoirs composites membranes clay/essential oil supported in a polymer polyvinyl alcohol PVA are presented thus the modulation of the release of this essential oil by prolonging its kinetic profile.

The characterization was carried out by Fourier transform infrared spectroscopy analysis, the FTIR showed a vibration of methyl and methylene C-H bonds, and a vibration of C=C bond that indicates the incorporation of HE in MMT, especially after the organophilic modification (of which it has a greater affinity with HE).

The sustained release results indicated that pure unstored EO exhibited a very rapid release profile, whereas, in the encapsulated reservoirs composites samples, this release occurs gradually, at an almost constant rate.

The antibacterial activity showed that the essential oil of oregano as well as all the membranes synthesized possessing a considerable antibacterial spectrum against bacteria tested in particular on the strain: (*Staphylococcus aureus*).

Keywords: *Origanum floribudum*, essential oil, montmorillonite, polyvinyl alcohol reservoir composite membrane, prolonged release, antibacterial activity.

الملخص

يرتكز هذا البحث على تطوير اغشية مركبة مناسبة لتخزين الزيوت الطيارة خاصة تلك المستخلصة من نبتة الزعتر بهدف إطلاقها لفترات طويلة في محيط طفيلي.

وفي هذا السياق أتاح الاستخلاص بالتقطير الحصول على زيت أساسي بمتوسط محصول قدره 1.77 في المائة. أتاح تحديد هذا الزيت بواسطة CG/SM تحديد 16 مركبًا، غالبيتها على التوالي:

p-Cymene (26.65%) γ -Terpinene (23.57%) thymol (25.11%) carvacrol (12.05%)

من ناحية أخرى، فإن الدراسة حول تخزين هذا الزيت العطري على الطين (غير المعدل (Na + MMT) والعضوي (OMMT)) كالتالي بالنجاح. وبالتالي، فإن تطوير أغشية مركبة جديدة من الزيت العطري/ الطين مدعمة في البوليمر بولي فينيل الكحول PVA قد تم عرضه بغرض تعديل إطلاق هذا الزيت الأساسي من خلال إطالة انتشاره.

تم إجراء التوصيف بواسطة تحليل التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء، IRTF لإظهار اهتزاز روابط C-H للميثيل والميثيلين، واهتزاز ربط C = C يشير إلى دمج HE في MMT، خاصة بعد التعديل العضوي.

أشارت نتائج الإصدار الموسع إلى أن الزيت النقي غير المنفق كان إطلاقه سريع للغاية، بينما في عينات المركبات المغلفة، يحدث هذا الإطلاق تدريجيًا، بمعدل ثابت تقريبًا.

أظهر النشاط المضاد للبكتيريا أن زيت الزعتر العطري له خصائص مضادة للمكروبات وبالتالي فإن جميع الأغشية المركبة المصنعة لها طيف كبير من مضادات الميكروبات ضد البكتيريا التي تم اختبارها خاصة على السلالة: (المكورات العنقودية الذهبية).

الكلمات المفتاحية، *Origanum floribudum* الزيوت الطيارة، مونتوريلونيت، اغشية مركبة، كحول بولي فينيل، الاطلاق المطول، النشاط المضاد للبكتيريا.

REMERCIEMENTS

Gloire soit rendu au Dieu tout puissant créateur de toutes choses, le très miséricordieux pour tous ses bienfaits dont il m'a comblée et de m'avoir facilitée le chemin, et donner la persévérance pour réaliser ce modeste travail.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à mon promoteur, Monsieur BOUTOUMI Houcine, Professeur à la faculté de Technologie, pour son encadrement, sa confiance, son soutien et disponibilité, et ses précieux, judicieux conseils, qui m'ont permis à bien mener ce travail. Je suis grandement reconnaissante d'avoir pu bénéficier de votre expertise et votre savoir. Merci Monsieur pour votre confiance et vos encouragements, qu'Allah vous bénisse.

Mes remerciements s'adressent aux membres de jury Mme TOUAFEK.O et Mme KEZZIM.A d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

Mes vifs remerciements à Mme BOUCHAREB.DJ de m'avoir accepté d'effectuer l'extraction de l'huile essentielle au sein de sa microentreprise « BIOLERA ».

J'adresse mes remerciements à Mr METTAI docteur en Botanique à la faculté des sciences naturelles pour son aide à l'identification botanique de la plante.

Mes remerciements vont à l'ensemble du personnel CRAPC ou l'analyse CG/SM a été effectuée.

Je remercie infiniment Mme ABADA.L pour son aide précieuse au sein de laboratoire de chimie.

Aussi, Je voudrais bien adresser mes reconnaissances les plus sincères au corps professoral et administratif de l'université de Blida, pour la richesse et la qualité de leur enseignement et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements.

DEDICACES

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, le respect et la reconnaissance, c'est tout simplement que : Je dédie ce mémoire à :

A **Ma mère**, qui a œuvrée pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

A **mon père** qui m'a tout appris, pour les peines et les sacrifices qu'il s'est donné pour me voir réussir dans la vie, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mon cher frère **RAMDANE** pour sa compréhension, son encouragement, sa confiance et son assistance qui m'ont aidé à réussir. Ce travail soit le témoignage de ma reconnaissance et mon respect

De plus, a mes amis **Hind Rahma, Zakia, Nesrine, Samia** et **Lina**, pour le soutien qu'ils m'ont apporté.

Enfin, j'adresse mes remerciements les plus sincères à toute personne qui a contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

المخلص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

TABLES DES MATIERS

LISTES DES FIGURES

LISTES DES TABLEAUX

LISTES DES ABREVEATIONS

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 MONOGRAPHIE DE L' ORIGAN (<i>Origanum floribundum</i>).....	3
1.1 Introduction.....	3
1.2 Historique	3
1.3 Description de la famille Lamiaceae	4
1.3.1 Caractéristiques botaniques	4
1.3.2 Habitats et culture	6
1.3.3 Taxonomie du genre <i>Origanum</i>	6
1.4 Constituants de l'origan.....	7
1.5 Les huiles essentielles	8
1.6 Huiles essentielles d'origan	10
1.6.1 Composition de l'huile essentielle d'origan	10
1.6.2 Localisation cellulaire des huiles essentielle d'origan	12
1.7 Utilisations thérapeutiques de l'huile essentielle d'origan.....	13
1.8 Activités biologiques des huiles essentielles d'origan	13
1.8.1 Activité antimicrobienne	13
1.8.2 Activité antioxydante	14
1.8.3 Activité antivirale.....	15
1.8.4 Activité acaricide	15
CHAPITRE 2 LES RESERVOIRS COMPOSITES	16
2.1 Introduction.....	16
2.2 Procédés d'encapsulation et stockage en générale.....	16

2.3	Stockage et encapsulation des huiles essentielles	16
2.4	Les travaux antérieurs sur l'encapsulation des huiles essentielles.....	18
2.5	Les réservoirs avec composite d'argile/ huile essentielle	19
2.6	La montmorillonite (bentonite).....	19
2.6.1	Définition.....	19
2.6.2	Structure de la montmorillonite	20
2.6.3	Propriétés caractéristiques de la montmorillonite.....	21
2.6.4	Traitement organophile d'argile	22
2.7	Les supports polymériques pour les réservoirs MMT/HE	23
2.7.1	Les polymères naturels : (biopolymère).....	23
2.7.2	Les polymères synthétiques:.....	23
2.7.3	Le polyvinyle alcool PVA	24
2.8	Le phénomène de La libération prolongée (release)	26
2.8.1	Les méthodes d'étude de la libération.....	26
2.8.2	Condition et exigence de libération.....	28
CHAPITRE 3 MATERIELS ET METHODES		29
3.1	Extraction de l'huile essentielle d'organ	29
3.1.1	Matériels	29
3.1.2	Méthodes d'étude.....	31
3.2	Préparation des réservoirs composites PVA/MMT/HE	39
3.2.1	Produits utilisés.....	39
3.2.2	Mode opératoire de préparation des membranes réservoir composite PVA/HE/MMT	40
3.3	La libération prolongée (release)	45
3.3.1	Mode opératoire	45
3.4	Application antibactérienne	48
3.4.1	Activité antibactérienne de l'huile essentielle	48
3.4.2	L'activité antimicrobienne de membranes synthétisées	49
CHAPITRE 4 RESULTATS ET DISCUSSIONS.....		51
4.1	Extraction et rendement en huile essentielle	51
4.2	Résultats de la cinétique d'extraction.....	52
4.3	Caractérisation de l'huile essentielles	52
4.3.1	Caractéristiques organoleptiques	52
4.3.2	Indices physico-chimiques	53

4.3.3	Analyses chromatographiques et spectroscopiques d'HE d'origan	54
4.4	Caractérisation des membranes composites	59
4.4.1	Résultats du test de solubilité	59
4.4.2	Résultats d'adsorption de l'huile essentielle par (Na ⁺ MMT) et OMMT	60
4.4.3	Caractérisation des membranes Spectroscopie infra rouge	61
4.4.4	Caractérisation des membranes PVA/OMMT/HE.....	63
4.5	Résultats de la libération prolongée par fumigation	65
4.6	Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et les membranes PVA/Na ⁺ MMT/HE et PVA/OMMT/HE	67
4.6.1	Activité antimicrobienne de l'HE	67
4.6.2	Activité antibactérienne des membranes synthétisées	68
CONCLUSION.....		70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE.....		72
ANNEXES.....		80

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1: Espèce <i>Origanum floribundum</i>	5
Figure 1.2 : Air de distribution du genre <i>origanum</i>	7
Figure 1.3: Les constituants majeurs des huiles essentielles d' <i>O. floribundum</i>	12
Figure 1.4 Schéma de l'espèce subcuticulaire rempli de l'huile essentielle.	13
Figure 2.1 : Schéma représentatif de la montmorillonite sodique.	21
Figure 2.2 : Schéma représentatif de modification de la montmorillonite par échange cationique.	23
Figure 2.3 : Structure chimique d'alcool polyvinylique (PVA)	24
Figure 3.1 : Localisation de la région de Tazmalt	29
Figure 3.2 : Plante <i>Origanum floribundum</i> séché utilisé (feuillie et tiges)	30
Figure 3.3 : Montage légendé d'extraction de type Clevenger	32
Figure 3.4 : (a) Pycnomètre vide (b) pycnomètre rempli d'eau distillé (c) pycnomètre rempli d'HE	34
Figure 3.5 : Réfractomètre CARL ZEISS JENA	35
Figure 3.6: Spectrophotomètre type SHIMADZU	36
Figure 3.7 : Spectrophotomètre ATR-IRFT de marque Nicolat is10 FT-IR	37
Figure 3.8 : Chromomètre CG-SM.	38
Figure 3.9 : Représentation schématique de la méthode en solution (par voie humide)	40
Figure 3.10 : Solubilisation du PVA par montage a reflux	41
Figure 3.11: Schéma représentative de la préparation des membranes PVA/Na ⁺ MMT/HE	42
Figure 3.12: Schéma représentative du processus d'évaporation/adsorption de l'HE d'origan sur les MMT.	44
Figure 3.13 : Schéma représentatif de la méthode de libération prolongée par fumigation de l'HE non stocké dans les membranes synthétisées.	46
Figure 3.14: Schéma représentatif de la méthode de libération prolongée par fumigation de l'HE stocké dans les membranes synthétisées	46
Figure 3.15 : Tubes à essais contenant du coton +méthanol	47
Figure 3.16 : Principe de la méthode aromatoigramme	49
Figure 3.17: Principe de la méthode des puits	50
Figure 4.1 : Huile essentielle d'origan.	51
Figure 4.2: Cinétique d'extraction de l'HE d'origan	52
Figure 4.3 : Spectre UV-Visible de l'HE d' <i>O. floribundum</i>	54
Figure 4.4 : Spectre infrarouge de l'huile essentielle d'origan	55
Figure 4.5 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'origan.	56
Figure 4.6 : Les constituants de l'huile essentielle d' <i>origanum floribundum</i>	57
Figure 4.7 : Résultats de solubilité des membranes dans les différents solvants (a) : l'eau (b) : méthanol (c) : DMSO (d) : DMF.	59
Figure 4.8 : cinétique d'adsorption de l'HE d'origan sur le Na ⁺ MMT et le OMMT	60
Figure 4.9 : Spectres infrarouges du : (a) HE d'oigan, (b) Na ⁺ MMT, (c) Na ⁺ MMT/HE ..	61
Figure 4.10 : Spectre infrarouge de PVA, PVA/NA ⁺ MMT/HE, PVA-R/NA ⁺ MMT/HE .	61
Figure 4.11 : Spectre infrarouge du (a) : OMMT (b) : PVA/OMMT/HE	63
Figure 4.12: Résultats de libération par fumigation	65

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1: Appellation d'origanum floribundum.....	5
Tableau 1.2: Classification d'origanum floribundum.	6
Tableau 1.3 : Répartition géographique de deux espèces d'origan en Algérie.	7
Tableau 1.4: Principaux constituants volatiles de l'huile essentielle d'O. floribundum. ...	11
Tableau 2.1: Types d'encapsulation et stockage des HES	17
Tableau 3.1: Materiel biologiques utilisés.....	31
Tableau 3.2 : Les caractéristiques du polyvinyle alcool (PVA)	39
Tableau 3.3: Composition chimique de la bentonite naturelle de Maghnia	39
Tableau 3.4 : Les solvants utilisés pour le teste de solubilité	44
Tableau 4.1 : Les caractéristiques organoleptiques de l'HE d'origan.....	53
Tableau 4.2 : Indices physico-chimiques de l'HE d'origan	53
Tableau 4.3 : Compositions chimiques de l'HE d'origanum floribundum	56
Tableau 4.4 : Comparaison entre les teneurs (%) des composés majoritaires des HE d'origanum floribundum et glandulosum d'Algérie	57
Tableau 4.5 : Représentation des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'O.floribundum pur sur les différentes souches	67
Tableau 4.6 : Représentation des zones d'inhibition de l'HE d'O.floribundum stocké dans les membranes synthétisées sur les différentes souches	68

LISTE DES ABREVEATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ARN : Acide ribonucléique.

ATR : Attenuated total reflectance (Réflectance totale atténuée).

BHT : L'hydroxytoluène butylé ou 2,6-di-tert-butyl-4-méthylphénol.

BoHV-2 : Alphaherpèsvirus bovin 2.

CEC : Capacité d'échange cationique.

CPG : La chromatographie en phase gazeuse.

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance.

CG/MS : Chromatographie en phase gazeuse couplé avec la spectroscopie de masse.

CG/FID : Chromatographie en phase gazeuse couplé au mode de détection par ionisation de flamme.

CTAB : Bromure de cetyltriméthylammonium.

DMF : N, N-Diméthylméthanamide.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : Diphénylpicrylhydrazine.

EVA : Ethylène-acétate de vinyle.

FTIR : spectromètres infrarouges à transformée de Fourier.

HEs : Huiles essentielles.

HEO : Huile essentielle d'origan.

HSV : Herpèsvirus simplex.

IR : Spectroscopie infra rouge.

MMT : Montmorillonite.

Na⁺MMT : Montmorillonite sodique.

O. floribundum : *Origanum floribundum*.

OMMT : Montmorillonite organophile.

PCL : Polycaprolactone.

PLA : Acide polylactique.

PVA : Polyvinyle alcool.

PVA-R : Polyvinyle alcool réticulé.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

UV-VIS : Spectroscopie ultraviolet-visible.

INTRODUCTION

A l'heure actuelle, les agents infectieux et pathogènes sont considérés comme des problèmes récurrents dont les traitements appropriés sont inadaptés, car ces pathogènes possèdent une certaine résistance. Ce qui fait, l'apparition des nouveaux fléaux nous impose à chercher de nouvelles molécules capables d'être utiles pour les traiter. Ces molécules sont rencontrées dans les huiles essentielles notamment l'HE extrait de l'espèce d'origan qui représente une source inépuisable de produits naturels doués de propriétés biologiques assez marquées.

Alors, Il est nécessaire de mettre en évidence les effets bénéfiques maximaux et prolongés des HEs dans des différents domaines dans lesquels ces produits trouvent une utilité [1].

Cependant, leur utilisation directe peut être limitée par leurs propriétés inhérentes, et leur instabilité aux conditions environnementales. Par conséquent, de nombreuses études recherchent les enveloppes protectrices des HEs et leurs préparations complexes pour réussir à faire ressortir leurs propriétés biologiques [2].

Le stockage et l'adsorption des HEs sur un support (argile généralement) sont des techniques couramment utilisées. Elles permettent d'immobiliser les composés les plus volatils de l'huile essentielle, de stabiliser cette dernière et de la protéger (contre la lumière, l'oxygène et la température) ainsi que de moduler sa libération en prolongeant son profil cinétique. Aussi, dans une optique de réduction des coûts pour l'industriel, l'encapsulation d'actifs coûteux comme les huiles essentielles permet de diminuer les concentrations introduites sans affecter l'efficacité du produit fini [3].

Par conséquent, la mise au point de systèmes de diffusion efficaces permettant de libérer les huiles essentielles de manière continue à une dose constante pendant une période prolongée, quelles que soient les conditions environnementales, ainsi que la détermination du moment approprié d'application sont des étapes très importantes [4].

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence de nouvelles membranes réservoirs composites argile/huile essentielle supportées dans un polymère alcool polyvinylique PVA pour le stockage de l'huile essentielle extraite à partir d'origan ainsi que la valorisation du système réservoir composite dans des diverses applications notamment l'application antimicrobienne.

La présente étude s'articule sur quatre chapitres :

Le premier chapitre porte sur l'étude de l'espèce d'Origan (*Origanum floribundum*) ainsi ses huiles essentielles et leurs activités biologiques ;

Le second chapitre présente les différents réservoirs composites destinés au stockage des huiles essentielles ;

Le troisième chapitre traite les matériels utilisés et les méthodes adoptées dans les différentes études ;

Le dernier chapitre est consacré à l'analyse des résultats expérimentaux ainsi leurs discussions.

Les résultats obtenus feront l'objet d'une interprétation et d'une confrontation avec ceux des travaux précédemment publiés, aboutissant à une conclusion générale avec proposition de quelques perspectives.

CHAPITRE 1

MONOGRAPHIE DE L'ORIGAN (*Origanum floribundum*)

1.1 Introduction

Une grande variété de plantes aromatique est connue et appréciées pour leur teneur en HEs qui sont des mélanges complexes de composés volatils. Les espèces d'origan sont parmi les plus répandues. L'origan est le nom utilisé pour désigner une grande variété de plantes qui possèdent une saveur et une odeur particulière. [5] Au minimum, 61 espèces et 17 genres appartenant à six familles botaniques différentes sont connus sous le nom d'origan. Au sein de la famille des *Lamiaceae* se trouvent les plantes appartenant aux genres *Origanum* [6]. En outre, Il existe des données indiquant que les huiles essentielles d'origan (HEO) pourraient exercer des effets positifs sur la santé humaine.

Dans ce chapitre, cette étude est consacrée à la présentation d'origan afin de mettre en évidence ses caractéristiques botaniques, la composition chimique de son huile essentielle et aussi les différentes activités biologiques de cette dernière.

1.2 Historique

Depuis plus de 4 000 ans, l'origan est utilisé par les guérisseurs du monde entier pour traiter une grande variété d'affections et renforcer la capacité de l'homme à combattre la maladie. [7]

L'origan et ses huiles essentielles depuis longtemps été appelés "les antibiotiques de la nature", "le prince des herbes" et même le "miracle méditerranéen" en raison de leur liste infinie de bienfaits potentiels. Certaines sources lui attribuent le nom de l'herbe, qui était également connue sous le nom de "Majoram sauvage" dans les temps anciens. [8]

La Grèce est le premier endroit connu où l'origan a été utilisé, son nom vient des mots grecs *oros*, qui signifie "montagne", et *ganos*, qui signifie "joie" la joie des montagnes. [8]

Les Romains ont découvert l'origan lorsqu'ils ont envahi la Grèce. Leur amour de sa saveur et sa facilité de culture ont contribué à sa diffusion en Europe et en Afrique du Nord.

L'origan s'est ensuite retrouvé en Chine. Il y était utilisé à des fins médicinales. Les Chinois croyaient qu'il aidait à combattre la fièvre, les vomissements et les troubles de l'estomac. À l'époque élisabéthaine, on croyait que l'origan favorisait la bonne chance et la guérison [7].

L'origan n'est devenu populaire aux États-Unis qu'après la Seconde Guerre mondiale, lorsque les soldats ont été exposés à son utilisation culinaire en Europe.

1.3 Description de la famille Lamiaceae

Lamiaceae, ou Labiatae, également connue sous le nom de famille de la menthe ou de l'ortie morte, dans l'ordre des Lamiales, est une famille de plantes à fleurs dicotylédones, avec une distribution mondiale, principalement dans les régions méditerranéennes et en Asie du Sud-Ouest. La Lamiaceae élargie contient environ 236 genres et a été déclarée contenir 6900 à 7200 espèces. Cette famille est particulièrement importante pour l'homme en raison des plantes utiles pour leur saveur, leur parfum ou leurs propriétés médicinales. [9].

1.3.1 Caractéristiques botaniques

1.3.1.1 Description du genre origanum

Le genre *Origanum* communément nommé origan, est une herbe aromatique largement utilisée dans le monde, très répandue en Asie. Faisant partie de la famille des Lamiaceae, elle possède de nombreuses tiges dressées à la section carrée et ramifiées [10].

L'origan est une plante épicée, c'est une herbe à feuilles vivaces de la classe des dicotylédones [11], avec 25-85 cm de long, et des feuilles opposées de 1-4 cm de long pointues à l'extrémité, vertes sur les deux faces, les feuilles inférieures sont pétiolées et les feuilles supérieures sont presque sessiles. Sa fleur est à 3-4 mm de longueur, et porte des épis érigés. Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, légèrement membraneuse glabre ou quelques fois pubescente, de couleur rouge-violacé ou parfois glauque.

Elle pousse depuis le niveau de la mer jusqu'à 4000 m d'altitude, principalement sur les substrats calcaires. L'origan est implanté au début du printemps, les plantes étant réparties à 30 cm de distance dans un sol nettement sec, en plein soleil. La floraison s'effectue entre juin et Aout, chaque fleur produit à maturité 4 graines. Les sommités fleuries sont parsemées de petites glandes contenant les huiles essentielles qui donnent à la plante son arôme et saveur. L'origan se cultive dans une limite de pH comprise entre 6,0 et 9,0, avec une zone privilégiée entre 6,0 et 8,0 [10].

L'origan préfère les terrains fertiles et meubles à tendance calcaire. Il support très bien la sécheresse et le froid.

1.3.1.2 Description de l'espèce *origanum floribundum*

O. floribundum est une plante à tiges dressées, rameuses généralement poilues, quelques fois glabres. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté (jusqu'à 30 paires par tige), généralement ovales et à pointe émoussée elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes (jusqu'à 800 par cm²). L'*O.floribundum* a une corolle de couleur rose pourpre avec des lèvres sensiblement égales [11].



Figure 1.1: Espèce *Origanum floribundum* [12].

1.3.1.3 Classification de l'espèce

Appellations :

Tableau 1.1: Appellation d'*origanum floribundum*.

Nom Anglais	Origano
Nom français	Origan
Nom arabe	الزعر
Nom latin	<i>Origanum floribundum</i>

Classification Systématique

Tableau 1.2: Classification d'*origanum floribundum* [13].

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta (plante vasculaire)
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Asteridae
Série	Superovariées tétracycliques
Super ordre	Tubiflorales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous -famille	Népétoideées
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum floribundum</i>

1.3.2 Habitats et culture

L'*O. floribundum* originaire d'Afrique du Nord, il colonise les terrains secs et chauds, les broussailles, les garrigues et les pâturages, surtout en montagne, Il pousse de préférence sur les sols calcaires et chauds. L'origan se multiplie par division de touffe au printemps ou éventuellement par semis. On le récolte à la floraison, en été. Les parties utilisées sont les fleurs, les tiges et les feuilles [11].

1.3.3 Taxonomie du genre *Origanum*

1.3.3.1 Dans le monde

Le genre *Origanum* comprend 49 taxons de rangs d'espèces, sous espèces ou de variétés. Ces taxons sont répartis en 10 sections, 38 espèces et 6 sous-espèces, Le genre *Origanum* est largement présent des îles Canaries et des Açores, à l'Europe du Nord et jusqu'à l'est de l'Asie mais la région méditerranéenne représente son aire de distribution la plus importante [14].

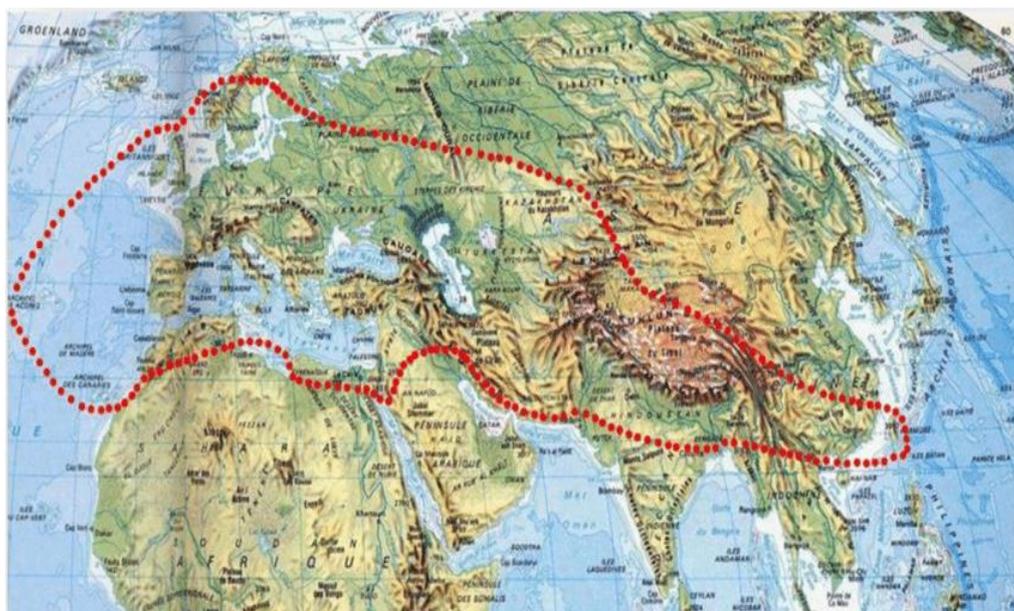


Figure 1.2 : Aire de distribution du genre *origanum* [14].

1.3.3.2 En Algérie

L'origan est représenté par deux espèces : *origanum glandulosum* et *origanum floribundum*, cette dernière est d'ailleurs une espèce endémique Algérienne. Selon la classification du genre établie par Letswaart 1980 les deux espèces appartiennent aux sections *origanum vulgare* L subsp *glandulosum* Desf et *Elongastipica* [14].

Tableau 1.3 : Répartition géographique de deux espèces d'origan en Algérie [15].

Espèces	Section	Localisation
<i>Origanum glandulosum</i> <i>Desfontaines</i>	O.vulgare L. subsp glandulosum Desf	- Commune dans tout le tell. -Endémique Algéro-Tunisienne. - Pousse dans les garrigues et broussailles.
<i>Origanum floribundum</i> <i>Munby</i>	Elongastipica	-Espèce rare. Pousse dans la partie nord centrale (kabylie, Medéa, Blida). -Endémique d'Algérie. -Pousse en pâturage et en montagne .

1.4 Constituants de l'origan

Huile essentielle (1.5, à 3%), sucres amers, caféine, tanins (8%), acides phénoliques et flavonoïdes, polyphénol, dérivés de l'acide hydroxycinnamique, 4 substances antiasthmatiques, 6 substances expectorantes, 6 substances hypotensives, 19 substances bactéricides (jusqu'à 8,8 % du poids sec) [11].

Dans cette étude on va se concentrer sur les huiles essentielles de cette espèce.

1.5 Les huiles essentielles

Sont définie comme des liquides huileux, odorant, et volatiles généralement de composition complexe extraits de plantes aromatiques. Elles peuvent être biosynthétisées dans différents organes végétaux comme métabolites secondaires. Cependant, leurs rendements d'extraction varient selon les espèces et les organes. Elles restent cependant très faibles (environ 1%), ce qui en fait des substances rares de grande valeur.

Les HEs sont biosynthétisées, accumulées et stockées dans des structures histologiques spécialisées, les glandes sécrétrices. Il existe deux types de glandes sécrétrices : celles qui sont situées à la surface des plantes avec une sécrétion exogène et celles situées à l'intérieur de la plante, dans les organes internes, et dont la sécrétion endogène [16].

Les huiles essentielles possèdent plusieurs propriétés physicochimiques :

À température ambiante, les huiles essentielles sont **liquides** et volatiles, c'est ce qui les rend entraînables à la vapeur et particulièrement odorantes [17]. La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et varie en fonction de leur composition chimique [18]. Elles possèdent **un indice de réfraction** souvent élevé, et sont douées de **pouvoir rotatoire** [19].

L'extraction des huiles essentielles de la matière végétale peut être réalisée au moyen de nombreux et divers procédés, basés sur des techniques conventionnel/ classique: Distillation, Expression, Enflourage, Incision ou plus avancées/innovantes : extraction sous irradiation micro-ondes ou par ultra-sons. La distillation reste la méthode la plus prise du fait qu'elle est facile à mettre en œuvre on constate :

➤ L'hydrodistillation :

Le principe d'extraction est basé sur la distillation azéotropique. En effet, à la pression atmosphérique et lors du processus d'extraction (chauffage), les molécules d'eau et d'HE forment un mélange hétérogène qui atteint sa température d'ébullition à un point bas proche de 100°C alors que pour les constituants des HEs ce point est très élevé, le mélange HE/eau est ensuite distillé simultanément. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées, dans ce cadre un appareil Clevenger est utilisé [10].

➤ Entraînement à la vapeur d'eau :

Le matériel végétal, dans ce cas, n'est en contact avec l'eau, se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat [20].

La qualification et la quantification des HEs produites sont nécessaires pour assurer leur bonne qualité. Différentes méthodes d'analyse, classiques et modernes, sont utilisées pour l'analyse des HEs produites, on distingue :

- Les techniques chromatographiques :

Chromatographie en phase gazeuse CPG, La volatilité et la polarité des constituants des huiles essentielles ont rendu la CG la méthode de choix, dans la plupart des cas, le CG est couplé à des modes de détection par ionisation de flamme ou par spectrométrie de masse. CGMS ou CG/FID des outils appropriés pour la caractérisation des HEs. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) qui est une technique polyvalente et sensible pour détecter les substances volatiles des huiles essentielles ainsi que les substances thermolabiles et moins volatiles. [21].

- Les analyses spectroscopiques :

Les techniques UV-Vis, qui fournit des informations spectrales simultanément pour chaque pic chromatographique, en raison de leur variabilité et de leur sélectivité. La spectroscopie ATR-IRTF, offre une méthode analytique alternative écologique, directe et rentable pour le contrôle de la qualité des huiles essentielles. La résonance magnétique nucléaire RMN, fournit des informations précises et individuelles sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule. [22]

- Le chémotype :

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente. "Biochimiquement

différent'' : deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes, mais aussi des toxicités très variables. La non-connaissance de cette notion capitale et le manque de précision laissent la porte ouverte aux échecs thérapeutiques et à la toxicité de certaines d'entre elles [23].

1.6 Huiles essentielles d'origan

Les HEs et les extraits d'origan sont largement utilisés dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et pour aromatiser et préserver plusieurs produits alimentaires. En moyenne, on extrait environ 1.8 % d'HEs à partir des feuilles et des sommités fleuries [24].

1.6.1 Composition de l'huile essentielle d'origan

Les HEO sont des mélanges très complexes de composés, dont les principaux constituants sont des terpènes, généralement des mono- et sesquiterpènes. Les principaux terpènes identifiés dans les différentes espèces d'origan sont : le carvacrol, le thymol, γ -terpinène et p-cymène, tandis que le terpinène-4-ol, le linalol, le β -myrcène, l'hydrate de trans-sabinène et le β -caryophyllène sont également présents. La proportion de ces composants et d'autres dans l'HEO au sein d'une même espèce définit le chémotype [25].

Généralement, le chémotype est nommé d'après le composant principal de l'HE, par exemple, carvacrol, thymol, β -citronellol, 1,8-cinéole, etc. La teneur en carvacrol des différents chémotypes d'origan est variable et elle peut atteindre jusqu'à 74% [26].

La composition chimique des HEs obtenues à partir de feuilles-fleurs, de tiges et de racines d'*O. floribundum* été étudié, Un total de 37 composés a été identifié dans les huiles de feuilles-fleurs, 11 dans les huiles de tiges et 29 dans les huiles de racines. Le carvacrol, le thymol et la caryophylline ont été trouvés dans les HEs des trois parties de l'origan, En outre, le p-cymène et le β -caryophyllène ont été trouvés dans la fleur de la feuille. Tandis que le spathulénol a été identifié dans les HEs de la tige et le valencène dans les racines. [27].

Il est également important de mentionner que les constituants et la concentration des composés du HEO varient généralement en raison d'une large diversité de facteurs tels que les espèces, les parasites, les conditions du sol, la saison de récolte, l'emplacement géographique, les conditions climatiques et de croissance La méthode de séchage de l'origan, la technique d'extraction et la partie anatomique de la plante utilisée pour l'extraction influencent également le rendement et la composition des HEs [28].

Tableau 1.4: Principaux constituants volatiles de l'huile essentielle d'*O. floribundum* [29].

Elément biochimique	Composés
Hydrocarbures monoterpéniques	Camphène, δ -3-carène, p-cymène, Limonène, Myrcène, cis-ocimène, transocimène, α et β -phellandrène, α et β pinène, Sabinène, α et δ terpinène, Terpinolène, α -thujène.
Hydrocarbures sesquiterpéniques	Alloaromadendrène, Aromadendrène, trans α -bergamotène, β -bisabolène, cis γ -bisabolène, bicyclogermacrène, β -bourbonène, δ et γ -cadinène, Calaménène, β -caryophyllène, iso-caryophyllène, Germacrène-D, α copaène, α -cadinol, β -élémente, α -farnesène, α -humulène, α -muurolène, γ -muurolène
Ethers	Carvacrylméthyléther, cinéole-1,8, Epoxy-4,5-p-menthène1, Thymylméthyléther.
Alcool	Bornéol, p-cyménol-8, Géraniol, Hexèn-3-ol-1, Linalol, Octanol-3, Octèn1-ol-3, Terpinèn-1-ol-4, α -terpinéol, cis-thujanol-4, trans-thujanol-4
Phénol	Thymol, Cavacrol
Aldéhydes	Cuminaldéhyde, trans-héxèn-2-al, Géranial, iso-géranial, Néral
Cétones	Camphre, Carvone, cis-dihydrocarbène, trans-dihydrocarbène, Fenchone, Octanone-3, α -thujone, Undécane-2.
Esters	Acétate de bornyle, Acétate de carvavryle, Acétate de géranyle, acétate de linalyle.

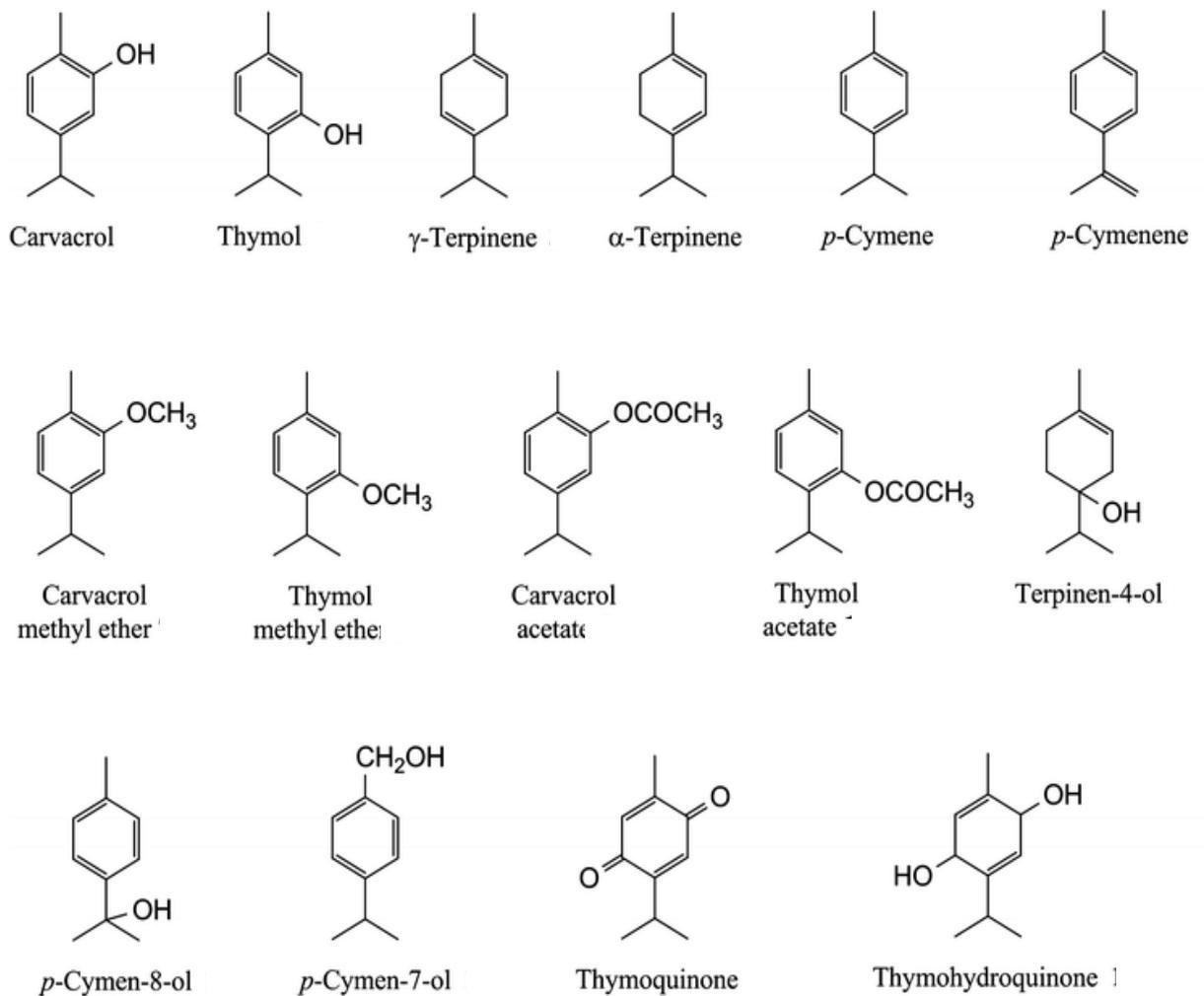


Figure 1.3: Les constituants majeurs des huiles essentielles d'*O. floribundum* [30].

1.6.2 Localisation cellulaire des huiles essentielle d'origan

Elles sont situées à la surface des deux faces de la feuillies, tige et fleur notamment à la base du calice et dans l'épiderme externe de la corolle.

Les cellules sécrétrices sont attachées à l'épiderme par une cellule basale. L'HE s'accumule dans l'espace ou cavité subcuticulaire [31].

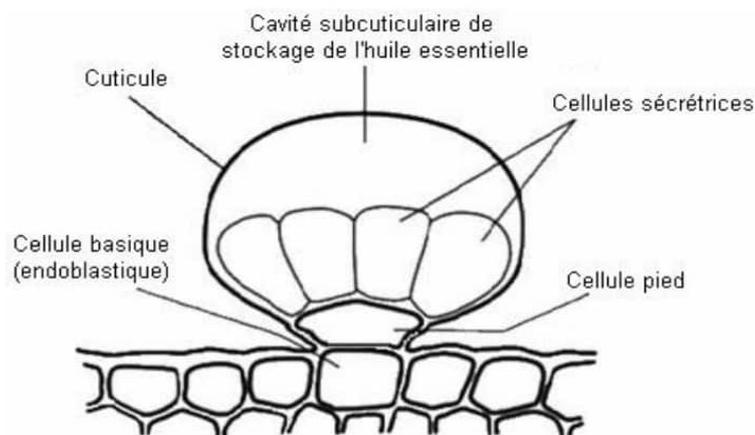


Figure 1.4: Schéma de l'espace subcuticulaire rempli de l'huile essentielle [32].

1.7 Utilisations thérapeutiques de l'huile essentielle d'origan

L'origan est un condiment très répandu depuis l'antiquité, et ses huiles essentielles sont reconnues pour leurs diverses propriétés.

Les HEs et les extraits d'origan sont utilisés dans le monde entier pour leurs activités médicinales contre les troubles respiratoires, digestifs et urinaires, ainsi que contre les caries dentaires et la polyarthrite rhumatoïde. [33] elles sont employées pour rétablir la santé respiratoire et soulager une situation inquiétante due à une glycémie anormale ou d'une leucémie. Elles sont appropriées pour soigner les obstructions du poumon, la rate, la toux et l'ictère (jaunisse). Les huiles essentielles d'*O.floribundum* contiennent des composés fortement bioactifs qui ont des effets acaricides et insecticides [34].

1.8 Activités biologiques des huiles essentielles d'origan

Diverses études ont été menées afin de déterminer et d'évaluer les propriétés biologiques des HEs d'origan. La majorité des recherches se sont concentrées sur l'activité antimicrobienne, antioxydante, antiseptique, acaricide et antivirale. Il convient de mentionner que les différences dans la composition des HEs d'origan peuvent modifier l'activité biologique [35].

1.8.1 Activité antimicrobienne

Les HEs d'origan, étaient inhibiteurs de la croissance de toutes les souches microbiennes testées, à savoir les bactéries Gram-positifs, et les bactéries Gram-négatifs, ainsi que pour les levures, Les propriétés antimicrobiennes des HEs ont été en grande partie attribuées à la présence des composants phénoliques. [36] Le thymol et le carvacrol,

par exemple, semblent rendre la membrane de la cellule perméable et être légèrement plus actifs contre des bactéries à Gram-positif que les bactéries à Gram-négatif [37].

Par ailleurs, l'origan peut être utilisé comme antimicrobien naturel alternatif pour le stockage des aliments. Par conséquent, l'huile de base d'*O. floribundum* était capable de prévenir le développement de certaines espèces d'*Aspergillus* impliquées dans les aliments. [10].

L'HE d'origan s'est révélé prometteuse dans la prévention des maladies d'origine alimentaire causées par des agents pathogènes tels que *E. coli*, *Listeria*, *Salmonella* et *Shigella dysenterae* avec plus de recherche, l'HE d'origan et d'autres herbes médicinales pourraient être les remèdes de choix pour lutter contre les infections, car de plus en plus de souches de bactéries deviennent résistantes aux antibiotiques.

Une équipe de chercheurs a constaté que l'*O. floribundum* était efficace contre 41 souches de *listeria monocytogenes*, une bactérie que l'on trouve dans les aliments contaminés et qui peut causer une infection grave qui affecte principalement les personnes âgées et les femmes enceintes [38].

L'activité antifongique des HEs a été déjà montrée pour de nombreux travaux. Sur les levures, l'effet antimicrobien des essences de Thym, d'Origan et de Sarriette se traduit par une diminution de la taille des colonies de *Saccharomyces cervisiae* [39].

1.8.2 Activité antioxydante

L'origan est couramment utilisé comme un additif alimentaire sain contenant des substances phénoliques massives avec des caractères antioxydants. De plus, l'origan pourrait protéger contre les lésions pulmonaires et la toxicité hépatique. [10]

Le genre origan a une teneur plus élevée en thymol sont celles qui présentent la meilleure activité de piégeage des radicaux. Il a été démontré que les HEs d'*O.floribundum* ont une activité de captation du radical DPPH par rapport à l'antioxydant synthétique BHT [40].

Les HEs d'*O floribundum* ont démontré leur efficacité en tant qu'antioxydants et pourraient avoir le potentiel de ralentir l'oxydation lipidique.

1.8.3 Activité antivirale

Des études ont montré que l'huile essentielle d'origan et son principal composant, "le carvacrol" étaient efficaces contre les virus à ARN et à ADN. Cette double efficacité présente des avantages par rapport aux médicaments antiviraux (synthétiques) courants, qui n'agissent généralement que sur les virus à ARN ou à ADN ou qui peuvent même être spécifiques à un seul virus ou groupe de virus. Il a été démontré que les huiles essentielles d'anis étoilé et d'*O. floribundum* présentent une forte activité anti-HSV-1 in vitro [41].

En outre, le BoHV-2, un autre herpesvirus classé dans le genre *Simplexvirus*, a également été efficacement inhibé par l'huile essentielle d'origan. Il a été constaté des réductions significatives du MNV et du calicivirus félin (deux substituts non enveloppés du norovirus humain) traité avec des huiles essentielles d'*O. floribundum* [42]. Une étude a montré également un effet antiviral des HEs d'origan et de Girofle sur le virus de la maladie de Newcastle (*Paramyxovirus*) et sur l'Herpes simple [43].

1.8.4 Activité acaricide

Durant les dernières décennies, quelques monoterpénoïdes ont été considérés comme de bonnes alternatives aux pesticides synthétiques conventionnels pour de nombreuses raisons. D'une part, leurs constituants ont été identifiés comme étant de bons insecticides, acaricides et répulsifs aux insectes. D'autre part, les monoterpénoïdes sont relativement peu toxiques sur les vertébrés et les autres organismes. Les huiles essentielles d'origan et leurs constituants présentent plusieurs modes d'action: activités répulsives et anti-appétantes, inhibition de la mue et de la respiration, réduction du développement et de la fécondité, perturbation de la formation de la cuticule non ciblés. Une étude a montré que les huiles essentielles extraites à partir d'*O. floribundum* possèdent une activité acaricide par contact contre l'acarien ravageur *T. urticae* grâce à la présence du carvacrol qui présente une activité importante contre plusieurs acariens et phytopathogènes [44].

CHAPITRE 2

LES RESERVOIRS COMPOSITES

2.1 Introduction

Dans ce chapitre, le concept des réservoirs composites est mis en évidence. L'objectif est de montrer l'utilisation potentielle de ces hybrides (argile/huiles essentielles) encapsulés dans du PVA (réservoir composite) comme libération prolongé pour diverses applications (antibactériennes par exemple)

2.2 Procédés d'encapsulation et stockage en générale

L'encapsulation est un procédé qui a pour but de piéger une substance ou un mélange de substances précis à l'aide de matériaux adaptés. Les substances qui feront l'objet d'une encapsulation peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Généralement, ce sont des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux et qui ont une action bien ciblée. Il peut aussi s'agir de substances dont on souhaite modifier l'état comme par exemple la transformation d'un liquide en solide.

Quant aux matériaux d'encapsulation, ils sont principalement des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des molécules amphiphiles pour leur double polarité, ou bien des matériaux argileux. Généralement, les produits d'encapsulation se présentent sous deux formes différentes :

Soit une capsule : « particule réservoir » comportant un actif liquide ou solide au cœur de sa structure. Le cœur est entouré d'un matériau enrobant constituant une membrane solide ;

Soit une sphère : particule comportant un réseau polymérique ou lipidique continu constituant une matrice dans laquelle un composé actif finement y est dispersé à l'état de molécules, de particules fines et solides, ou de gouttelettes de solution [45].

2.3 Stockage et encapsulation des huiles essentielles

Il n'existe pas de système universel d'encapsulation pour une substance active donnée. En effet, lorsque l'actif à protéger est un complexe de molécules, tels que les extraits naturels, les contraintes et les difficultés de développement sont importantes. Les différences entre les composés (hydrophilie/hydrophobicité, différences de masses moléculaires, fonctions chimiques diverses, etc.) vont conduire à des différences d'interaction avec le ou les matériaux de recouvrement, entraînant par exemple des

rendements d'encapsulation variables. De nombreuses méthodes d'encapsulation ont été développées afin de s'adapter à divers types de substances actives et matériaux enrobants. Ces différentes méthodes permettent d'obtenir des particules aux caractéristiques variées (taille, épaisseur de la paroi, perméabilité) permettant de moduler la libération de la substance active [45].

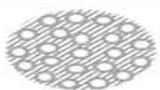
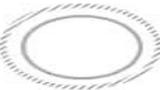
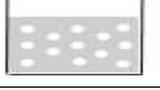
L'encapsulation d'huiles bioactives par diverses méthodes (par exemple, installées ou utilisées de manière interdépendante avec des systèmes d'HE), a été réalisée en raison de leur faible solubilité dans l'eau, de leur forte saveur organoleptique et de leur faible stabilité, mais aussi pour leur protection contre l'oxygène, la lumière, l'humidité et la chaleur, et les utilisations prévues

Par conséquent, L'encapsulation est considérée comme une méthode efficace pour préserver la qualité des substances sensibles et améliorer les systèmes de libération des huiles essentielles, permettant une libération contrôlée et prolongée des substances actives.

Ainsi, le stockage des HE dans des formulations à base d'argile ou de polymères, par exemple des micelles, des micro- et nanocapsules, des films des membrane ou des hydrogels, est prévue pour assurer une diminution de la volatilité, une meilleure stabilité et une solubilité dans l'eau et ralentir le transfert de masse des composés volatils vers le milieu extérieur, De cette façon, les propriétés de ces substances actives sont maintenues inchangées ou même augmentées en efficacité, et un contrôle sur la libération des molécules encapsulées est assuré [46].

En effet, pour l'encapsulation des HES quatre types peuvent être répertoriés, comme suit :

Tableau 2.1: Types d'encapsulation et stockage des HES [47].

	Les particules générées par une matrice où les HE sont dispersés
	Les capsules avec une membrane entourant un noyau où résident les HE
	Les complexes, où les HE sont stabilisés dans des cavités par des interactions chimiques
	Les gouttelettes créées par une simple émulsion dans des surfactants.

2.4 Les travaux antérieurs sur l'encapsulation des huiles essentielles

Mina Voli'c et al. Ont réalisé une étude pour la préparation d'un support d'huile essentielle de thym, qui est connue pour ses propriétés expectorantes, carminatives, myorelaxantes et diurétiques. Le système polymère-huile essentielle de thym, basé sur le mélange d'alginate et d'isolat de protéine de soja (SPI), a été réalisé en émulsionnant l'huile essentielle de thym dans une solution aqueuse de mélange d'alginate de sodium-SPI, suivie d'une atomisation par extrusion électrostatique, puis d'une réticulation avec des ions Ca^{2+} . Le composite a été choisi pour combiner la sensibilité au pH de l'alginate avec la bioactivité et les propriétés émulsifiantes du SPI. Le nouveau système était capable de délivrer l'HE au niveau intestinal. La formation d'une microsphère complexe avec une efficacité d'encapsulation du thym de 72-80% a été confirmée [48].

Un système polymère naturel/synthétique à base d'alginate de sodium et de poly (alcool vinylique) (PVA) incorporé aux huiles de cannelle, de clou de girofle ou de lavande a été testé par la procédure d'électrospinning pour la fabrication de fibres nanométriques antibactériennes. L'étude a été réalisée, car les deux polymères ont d'excellentes propriétés biocompatibles, tandis que les HEs étudiées ont les propriétés antibactériennes requises. L'étude a confirmé l'augmentation de la viscosité de la solution de polymère après l'incorporation des HEs, ainsi que de bonnes propriétés antibactériennes contre *Staphylococcus aureus* pour toutes les huiles testées. Les données obtenues ont souligné le potentiel des fibres à être utilisées pour les pansements et en tandem pour la synergie avec les antibiotiques [49].

Selon W Ramos-Torres et al. Des microsphères de chitosan et des microsphères hybrides de chitosan avec 2,5, 5 et 10% de palygorskite (argile) ont été préparées avec succès par la méthode d'émulsion et utilisées comme matrices pour la libération contrôlée de thymol. La morphologie des microsphères hybrides dépend significativement de la quantité de palygorskite incorporée dans le système. Les résultats obtenus ont démontré que les microsphères hybrides présentent des profils de libération de thymol plus lents et plus soutenus que les microsphères de chitosane vierge, ce qui est attribuable aux interactions de thymol avec les groupes fonctionnels de la palygorskite et de la matrice. Sur la base des résultats expérimentaux, il a été conclu que les microsphères hybrides chargées de thymol pourraient être des candidats potentiels pour la libération contrôlée de thymol en tant que système potentiel pour les applications de lutte contre les parasites dans les ruches [50].

Alana Gabrieli de Souza et al. ont évalué l'effet synergique de l'huile essentielle de thym et de la montmorillonite (MMT) (appelée composé hybride), incorporés dans de l'amidon thermoplastique (TPS). Les hybrides TPS ont montré une structure amorphe qui permet la diffusion de l'HE dans les films. Les films hybrides TPS ont montré un comportement antimicrobien contre *E. coli* en raison de l'effet synergique du MMT et de l'HE, qui a entraîné de forts effets antimicrobiens. Les résultats ont démontré qu'un composé hybride est une bonne option pour les films antimicrobiens à base d'amidon destinés aux aliments frais tels que les fruits et légumes [51].

2.5 Les réservoirs avec composite d'argile/ huile essentielle

Les minéraux argileux tels que la kaolinite, halloyisite, nacrite, nontronite, etc. ont été largement utilisés comme supports d'huiles essentielles (HE) pour diverses applications telles que l'emballage alimentaire et les applications agricoles.

La montmorillonite, le type d'argile le plus étudié pour ces applications, c'est une argile stratifiée alumine-silicate hydratée constituée d'une structure sandwich d'une feuille octaédrique d'hydroxyde d'aluminium à bords partagés entre deux couches tétraédriques de silice. Des cations interchangeables, tels que Na^+ et Ca^{++} , sont présents dans l'argile [52].

2.6 La montmorillonite (bentonite)

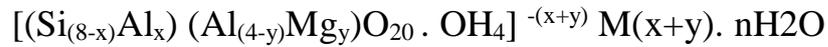
2.6.1 Définition

Parmi les différents nanocharges et différents minéraux argileux existant, une attention particulière a été portée aux charges lamellaires de type montmorillonite (MMT), pour l'élaboration de composites. Surtout depuis le succès des travaux des chercheurs de TOYOTA sur l'amélioration des propriétés mécaniques et thermiques du nylon-6 après un ajout de seulement 5 % en masse de montmorillonite [53].

L'argile qui fait l'objet de notre travail est également connue sous le nom "Bentonite". Elle désigne généralement une poudre minérale constituée essentiellement de montmorillonite (famille des smectites). La montmorillonite, décrite pour la première fois par Mauduyt (1847), dans la localité de Montmorillon (dans la Vienne en France) [54].

En Algérie, les gisements de bentonite les plus importants économiquement se trouvent dans l'Oranie (ouest Algérien). On relève en particulier la carrière de Maghnia (Hammam Boughrara) dont les réserves sont estimées à un million de tonnes et de celle de Mostaganem (M'zila) avec des réserves de deux millions de tonnes

Actuellement la structure communément adoptée de la montmorillonite est celle proposé par Edelman et al. [52] dont la formule générale de la demi-maille est la suivante :



Où :

8-x : Proportion de Si substituée par Al tétraédrique.

4-y : Proportion d'Al dans la couche octaédrique substitué par Mg.

M (x, y): Cations échangeables dans l'espace interfoliaire

2.6.2 Structure de la montmorillonite

La structure de la montmorillonite a été définitivement établie à partir des travaux de Hofmant. Endel et Wilm. Marchal, est constitué de deux couches de tétraèdres centrées sur le silicium entre les quelles se trouve une couche octaédrique centrée sur l'aluminium. Deux couches sont séparées par l'espace interfoliaire dont l'épaisseur est de l'ordre de 14Å, épaisseur qui peut varier selon la teneur en eau (9.8Å pour une montmorillonite séchée à 110°C)

Les particules de la MMT possèdent une structure lamellaire ayant une épaisseur d'environ 1 nm et une longueur qui varie entre 30 nm jusqu'à plusieurs microns. Ces caractéristiques intrinsèques leur confèrent un facteur de forme très élevé ce qui rend l'utilisation de cette nanocharge très intéressante. En effet, la raison de ce choix réside dans le fait que cette nanocharge est bon marché et elle présente la particularité d'avoir de très importantes surfaces d'échange qui peuvent atteindre une valeur de 700 m²/g [56].

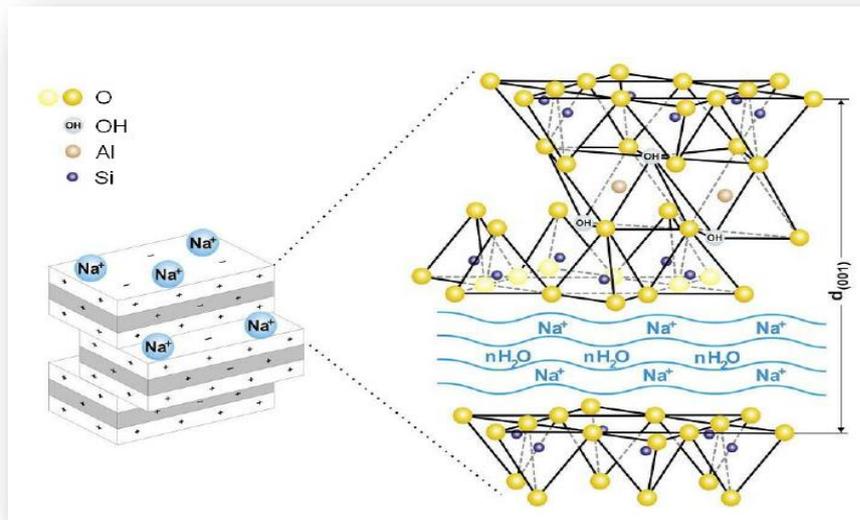


Figure 2.1 : Schéma représentatif de la montmorillonite sodique [57].

2.6.3 Propriétés caractéristiques de la montmorillonite

- Capacité d'échange cationique (CEC) :

La capacité d'échange cationique (CEC) pour un échantillon donné est le nombre de charges positives compensant les charges superficielles, elle est généralement exprimée en milliéquivalents pour 100 grammes d'argile.

La montmorillonite a la capacité d'adsorber certains cations et de les maintenir dans un état d'échange, cela signifie que ces cations intercalés peuvent être échangés par le traitement d'autres cations dans une solution aqueuse. La CEC d'une argile résulte de la substitution isomorphe des atomes d'aluminium de la couche octaédrique par des atomes de Mg^{2+} et Fe^{3+} et de la substitution de Si^{4+} par Al^{3+} dans la couche tétraédrique induisant un déficit en charge du feuillet qui est compensé par la présence des cations compensateurs, la montmorillonite a une capacité d'échange qui varie entre 80 et 150 meq/100g.

- Gonflement :

Le gonflement d'une argile est défini comme l'écartement des feuillets par l'entrée d'eau dans l'espace interfoliaire provoquant le gonflement de la montmorillonite. Il existe deux types de gonflements :

Gonflement interfoliaire : Dans le cas de la montmorillonite l'eau pénètre à l'intérieur des particules et s'organise en couches mono moléculaires ce qui permet l'augmentation de

la distance interfoliaire de 9,6 à 20 Å. Le gonflement interfoliaire intervient à l'échelle la plus petite de la structure argileuse mais peut présenter une ampleur très importante

Gonflement interparticulaire Appelé aussi le gonflement osmotique ou le gonflement macroscopique, macroscopique par rapport à l'eau qui prend une échelle macroscopique, il se produit lorsque l'énergie d'hydratation est suffisante pour franchir la barrière de potentiel due aux forces électrostatiques attractives entre les feuillets. Contrairement au gonflement interfoliaire, le gonflement interparticulaire a une ampleur assez limitée, mais affecte toutes les argiles

- Capacité d'adsorption :

Les montmorillonites sont utilisées comme des adsorbants à cause de leurs surfaces spécifiques très importantes qui pouvant varier de 600 à 800 m² /g pour la surface totale, la surface externe atteint les valeurs de 80 m² /g, ces surfaces sont caractérisées par une porosité très élevée, qui leur permettent de retenir des particules ioniques [58].

2.6.4 Traitement organophile d'argile

La modification des argiles permet de faire passer la surface des silicates de l'état hydrophile à l'état organophile et améliore leur compatibilité avec les matrices moins polaires.

Pour préparer une argile modifiée organiquement, les ions de sodium sont remplacés par différents agents de surface cationiques, les surfactants les plus couramment utilisés sont les ions alkylamines (composés d'alkyl ammonium quaternaire (fonctionnalités organiques)) Par un mécanisme d'échange cationique.

Les agents de surface cationiques pénètrent facilement dans la couche intermédiaire de la montmorillonite et un état d'intercalation peut se produire. Le cation ammonium peut avoir une longue queue hydrocarbonée et est appelé "tensioactif" en raison de sa nature amphiphile. La capacité d'échange cationique (CEC) indique l'importance de la charge négative sur l'argile montmorillonite.

Les modifications de surface contribuent également à réduire la tendance à l'agglomération de l'argile pendant la dispersion en réduisant les forces d'attraction entre les couches de polymère et les plaquettes d'argile, ce qui améliore la dispersion [59].

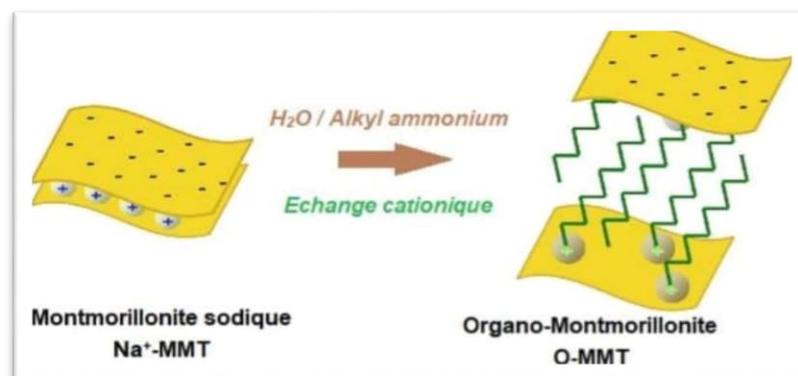


Figure 2.2 : Schéma représentatif de modification de la montmorillonite par échange cationique [60].

2.7 Les supports polymériques pour les réservoirs MMT/HE

2.7.1 Les polymères naturels : (biopolymère)

L'utilisation de composés macromoléculaires naturels pour l'encapsulation des HEs représente la première option, en raison de leur biocompatibilité, de leur biodégradabilité et de leur provenance de ressources naturelles renouvelables, dans un contexte de préoccupation croissante des conséquences environnementales et socio-économiques indésirables. Parmi les biopolymères les plus utilisés citons : l'alginate de sodium, les dérivés de cellulose le chitosane et le cyclodextrine [1].

2.7.2 Les polymères synthétiques

En outre, les polymères synthétiques biocompatibles et biodégradables constituent une alternative efficace aux matériaux de support qui couplent, incorporent et/ou encapsulent les HE à appliquer en médecine et en sciences pharmaceutiques. Différents composés polymères synthétiques biodégradables et biocompatibles ont été électrofilés en fibres à l'échelle nanométrique pour être utilisés dans le domaine biomédical, notamment comme supports pour la délivrance de médicaments.

L'EVA, le PCL, l'acide polylactique (PLA) et le polyvinyle alcool (PVA) sont les plus utilisés actuellement en raison de leur nature biodégradable, de leur hydrophilie et de leur stabilité chimique et thermique. Ils présentent également une bonne compatibilité avec les tissus, une bonne perméabilité aux solutés et une excellente aptitude à l'électrofilage. Par conséquent, ils ont fait l'objet de recherches intensives en tant que matrice pour diverses substances bioactives, dont les HEs [1].

Il est utile de préciser que le choix de polymère PVA dans notre travail est dû à sa disponibilité.

2.7.3 Le polyvinyle alcool PVA

2.7.3.1 Définition d'alcool polyvinyle (PVA)

L'alcool polyvinylique (PVA) est un polymère synthétique semi-cristallin, non toxique, C'est l'un des polymères hydrophiles les plus utilisés dans la pervaporation pour la déshydratation d'alcools et d'autres solvants organiques. Le PVA a une bonne résistance chimique et mécanique et sa nature filmogène en fait une option intéressante pour la synthèse membranaire [60].

Le PVA a été utilisé comme matériau principal pour synthétiser des composites polymères avec différentes charges, car la quantité importante de groupes hydroxyle sur son squelette carboné permet la formation de liaisons hydrogène avec les atomes accepteurs de liaisons hydrogène contenus dans la phase de renforcement. Les interactions de liaison hydrogène permettent une bonne dispersion des charges, qui est un facteur crucial déterminant les propriétés des composites polymères [60].

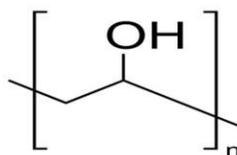


Figure 2.3 : Structure chimique d'alcool polyvinylique (PVA).

2.7.3.2 Obtention du polyvinyle alcool PVA

Le PVA ne peut pas être synthétisé directement à partir de son monomère vinyle alcool, cela est dû à l'instabilité du vinyle alcool qui se tautomérise en acétaldéhyde plus stable. [61].

Le PVA est obtenu au stade industriel par hydrolyse directe du poly (acétate de vinyle) (PVAc). Il est à mentionner que des PVOH, notamment ceux de tacticité élevée, peuvent être préparés au stade laboratoire par hydrolyse des poly (éthers de vinyle) correspondants

Le PVAc, comme précurseur du PVOH, est produit par polymérisation radicalaire de l'acétate de vinyle en masse, en solution, en suspension ou en émulsion, ces deux derniers procédés étant majoritairement employés. Les caractéristiques de ce PVAc précurseur, comme la masse molaire, l'indice de molécularité, le degré de branchements vont donc conditionner, au moins en partie, celles du PVOH résultant de l'hydrolyse.

Comme la majorité des polymères synthétisés par un mécanisme de polymérisation radicalaire, le PVA présente une structure atactique (les groupements hydroxyle ont une orientation aléatoire) [62].

2.7.3.3 Propriétés physico-chimiques du polyvinyle alcool

Les propriétés chimiques et physiques du PVA peuvent varier en fonction du pourcentage d'hydrolyse, qui définit la qualité du PVA et sa masse moléculaire [63]. Le PVA présente une résistance à la traction substantielle, une plus forte flexibilité, une dureté et des caractéristiques de barrière aux gaz et aux arômes.

Par rapport à tout autre polymère existant, le PVA présente des caractéristiques remarquablement supérieures en tant que barrière à l'oxygène ; cependant, pour éviter la dégradation de sa perméabilité aux gaz, il doit être protégé de l'humidité [64].

Le PVA est partiellement cristallin lors de sa formation et se caractérise par des propriétés telles que la résistance chimique, la solubilité dans l'eau et la biodégradabilité.

La similitude de ses propriétés physiques le rend compatible avec les tissus humains. Le PVA biocompatible a une structure qui peut absorber les molécules de protéines et s'engager avec une adhésion cellulaire minimale et n'a pas d'effets toxiques, par conséquent, les membranes PVA ont été largement développées pour les applications biomédicales [65].

Le PVA peut se lier chimiquement ou s'enchevêtrer physiquement avec la surface d'une nanoparticule.

Grace à ces propriétés diverses, le PVA trouve de larges applications dans l'emballage, dans le domaine biomédical, comme des membranes, des films et dans la préparation de polyuréthane [66].

2.7.3.4 Modification (réticulation) du polyvinyle alcool

La modification est un outil important pour obtenir des polymères avec des propriétés mécaniques et stabilité thermiques améliorées ainsi pour augmenter leurs applications [67].

La modification du PVA par réticulation rend ce polymère insoluble dans certain solvant tel que l'eau. Donc La stabilité des membranes PVA peut être améliorée en les mélangeant à d'autres polymères, en modifiant leur surface, en les greffant et en les réticulant [68].

Il existe différents techniques de réticulation du PVA : réticulation par irradiation, réticulation physique, et réticulation chimique [66].

Les agents de réticulation les plus efficaces et les plus couramment utilisés pour le PVA sont les dialdéhydes tels que le glyoxal, le glutaraldéhyde [69]. Et l'acide maléique Les membranes PVA élaborées dans ce travail ont été sujettes à des conditions de réticulation par l'emploi l'acide maléique

2.8 Le phénomène de La libération prolongée (release)

Presque toutes les applications des HE nécessitent une augmentation des temps de rétention et des profils de libération différents [1] Par exemple, en cosmétique, il est approprié de développer une méthode d'encapsulation dans laquelle les HE sont libérées par des effets mécaniques.

D'autre part, l'encapsulation d'arômes pour des applications alimentaires nécessite une libération contrôlée modérée.

Dans le cas des biopesticides, l'encapsulation doit permettre une libération lente et continue de l'agent actif à un seuil optimal dans l'environnement. Le taux de libération minimum est déterminé par l'efficacité de cet agent actif.

La libération de la substance active après encapsulation est possible par simple diffusion, intervention de facteurs extérieurs, ou érosion de la matrice. Dans chaque cas, il est important que ni la matrice, ni ses résidus de dégradation, ne soient toxiques pour l'environnement. En conséquence, de nombreux polymères naturels et synthétiques ont été utilisés pour encapsuler les huiles essentielles [70].

2.8.1 Les méthodes d'étude de la libération

2.8.1.1 Méthode de dialyse

Une étude de libération in vitro été réalisée en utilisant la méthode de dialyse. En bref, le sac de dialyse a été trempé dans de l'eau distillée pour éliminer les conservatrices et rincé avec une solution salines tamponnées au phosphate (PBS).

Les nanocapsules contenant de l'huile essentielle ont été redispersées dans 3 mL de solution PBS et introduites dans le sac de dialyse, avec 50 mL de PBS contenant 20 % d'éthanol à des pH différents. L'utilisation d'éthanol permet de minimiser l'agrégation et de libérer l'huile de manière plus uniforme [71].

2.8.1.2 Méthode de l'UV-visible

(Cas de l'huile essentielle de thym) : Les comportements de libération in vitro de HET à partir de films PLA/HET/PVA/PEG ont été déterminés en utilisant la spectroscopie UV-vis. Le pic d'absorption UV-vis de TEO a été déterminé à la longueur d'onde de 278 nm. La concentration de TEO a été calculée selon la courbe standard qui a été testée en dissolvant HET pur dans des solvants d'extraction pour différentes concentrations.

La libération cumulative de HET à partir des films a été calculée selon l'équation suivante :

$$\text{Libération cumulée (\%)} = m_1 + m_2 + m_3 + \dots + m_t / m_0 \times 10$$

Où m_t (mg/mg) est la teneur en HET libérée des films au temps t . m_0 est la quantité maximale de HET libérée au temps infini Par la mesure de l'évaluation du poids dans le temps [72].

2.8.1.3 Etude de libération quantitativement via la GC-MS

Une autre méthode, strictement quantitative, pour étudier la libération est l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse, afin de mesurer la quantité d'HE qui peut être libérée pendant une période de temps spécifique. Cette méthode peut être utilisée avec un espace de tête statique (analyse d'un échantillon de l'espace de tête) (Head space) ou dynamique (admission continue du flux gazeux, piégeage sur des cartouches adsorbants, désorption thermique et cryofocalisation) [73]

Dans une étude de libération de fragrances contrôlée à partir de polymères à base de PHEMA, Les études de libération des substances actives ont été réalisées dans des flacons de 50 ml contenant de l'éthanol. La concentration du principe actif a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur à ionisation de flamme (équipé d'un intégrateur)

À l'aide d'une seringue de microlitre Hamilton, des échantillons ont été prélevés toutes les 2 minutes et analysés en utilisant 280°C comme température de l'injecteur et du détecteur et 190°C comme température du four isotherme (pour l'eugénol) [74].

2.8.1.4 Étude de la libération en milieu aqueux

L'étude de libération a été menée sur les échantillons contenant du carvacrol (section introduction et quantification du carvacrol) dans un milieu aqueux. L'essai a été réalisé à 23°C et dans des conditions similaires au moins deux fois pour chaque échantillon. Les échantillons de 0,2 g ont été immergés dans un bain de 300 ml d'eau désionisée. Qui a été

continuellement agité à l'aide d'une barre d'agitation magnétique à *200 rpm. A intervalles successifs (10, 20, 40, 60 min ; 1, 2, 4, 6 h, puis, une fois par jour), 3 mL de la solution ont été prélevés pour analyse UV. L'absorbance du milieu échantillonné a été analysée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis SHIMADZU UV 1800 à une longueur d'onde de 273 nm. La concentration de carvacrol libérée au cours du temps a été déterminée par la courbe d'étalonnage suivante, préalablement établie : $A = 10 \cdot 2 C + 0,0062$ où A est l'absorbance du carvacrol dans l'eau à 273 nm et C la concentration de carvacrol en g/L [75].

2.8.2 Condition et exigence de libération

En outre, les profils de libération sont influencés par plusieurs facteurs tels que le pH, la température, l'humidité et les concentrations des composants ; il est donc assez difficile de comparer deux études sur la libération des HE encapsulées, et une observation nuancée doit être faite [47].

Dima, Patrascu, Cantaragiu, Alexe et Dima (2016) ont rapporté que le taux de libération de l'huile essentielle de *Coriandrum sativum* L. à partir de microcapsules de chitosan, de chitosan/inuline, de chitosan/alginate et d'alginate changeait en fonction du type de matériau de paroi et de la température et du pH du milieu de libération. Le taux de libération de l'huile essentielle est passé de 28 à 98 % [76].

De plus, le faible taux de libération était associé à un faible degré de gonflement des microcapsules. Comme le montre la littérature, les comportements de libération sont liés au type de polymère, aux propriétés d'affinité et aux rapports entre la matière active et le polymère, aux propriétés des milieux de libération et au processus d'encapsulation [47].

CHAPITRE 3

MATERIELS ET METHODES

Introduction :

Ce présent chapitre est consacré à la description de l'ensemble des méthodes expérimentales utilisées ainsi que les techniques d'analyse employées.

Nous présentons en premier lieu, l'extraction de l'huile essentielle d'origan ainsi ses différentes caractérisations. En deuxième lieu, nous décrivons les différents modes opératoires de synthèse des membranes réservoirs composites (PVA/MMT/HE) par la suite nous allons décrire le profil de la libération prolongée par fumigation.

En dernier lieu, une partie a axées, notamment sur la mise en forme du système réservoir composite comme application antibactérienne.

3.1 Extraction de l'huile essentielle d'origan

3.1.1 Matériels

3.1.1.1 Matériel végétale

Cette étude a porté sur une plantes aromatique et endémique provient des montagnes de la région de Bejaia, qui est : *Origanum floribundum* (l'origan).

Les plantes de l'origan ont été achetées du marché chez un herboriste spécialiste à la wilaya de Bejaia, les échantillons étaient frais et récoltées dans la commune de Tazmalt à Bejaia, ou pousse l'espèce d'origan à l'état spontané.



Figure 3.1 : Localisation de la région de Tazmalt.

La région est à étage bioclimatique sub-humide à hiver très froid, été chaud. Son sol contient du calcaire et la matière organique est minéralisée lentement

- Présentation de la plante :

L'Origanum floribundum est une plante à tige prostrée à la base. Les fleurs sont de couleur rose. La plante peut atteindre ou dépasser un mètre de haut [77].

Le séchage a été effectué pendant une semaine à une température ambiante d'un environnement aéré à l'abri jusqu'à masse constante et les feuilles deviennent cassantes. En prenant soin de trier chacun de ces organes feuillés et tiges, qui sont utilisés pour l'extraction des HEs.

L'identification botanique de la plante a été réalisée par Mr. METTAI docteur en botanique au sein de la faculté de sciences naturelles à l'université de Blida-1-

Durant toute notre expérimentation, nous avons utilisé environ 2kg de matière végétale constituée de feuilles et tiges.



Figure 3.2 : Plante *Origanum floribundum* séché utilisé (feuilles et tiges).

3.1.1.2 Matériels biologiques

3.1.1.2.1 Mueller-Hinton

La gélose Muller-Hinton est un milieu solide standardisé recommandé pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux agents antimicrobiens par la méthode de diffusion ou de dilution en gélose. La standardisation du milieu de Mueller-Hinton est nécessaire pour obtenir des résultats fiables au niveau de l'antibiogramme.

3.1.1.2.2 Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'HE ainsi les membranes PVA/Na⁺MMT/HE et PVA/OMMT/HE est testée sur les souches bactériennes référencées :

Tableau 3.1: Souche bactériennes utilisées.

Nom de la souche	N° ATCC	Gram	Famille
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4352	-	Entérobactéries
<i>Escherichia coli (E. coli)</i>	2592	-	Entérobactéries
<i>Pseudomonas aeruginosa,</i>	27853	-	Pseudomonadaceae
<i>Staphylocoques aureus</i>	25923	+	<u>Staphylococcaceae</u>

3.1.2 Méthodes d'étude

3.1.2.1 Extraction de l'huile essentielle d'*O. floribundum*

L'extraction a été effectuée au sein d'une microentreprise « BIOLERA » wilaya de BLIDA. Par hydrodistillation via un dispositif de type Clevenger.

- Procédés d'extraction :

Après avoir pesé 80 g de matière végétale, (constituée des parties aériennes d'espèce étudiant) ces derniers ont introduit dans un ballon de 1 litre rempli d'eau aux 2/3 de son volume. Le ballon chauffé à l'aide d'un chauffe ballon produit de la vapeur chargée de produits volatils. Cette vapeur se condense au contact du réfrigérant sous l'effet de l'eau froid (alimentation de l'eau à contrecourant dans le réfrigèrent). Les premières gouttes d'huile sont apparues après 20 minutes du chauffage, elles sont superposées sur l'hydrolat, plusieurs extractions été effectuées dont chaque extraction s'effectue pendant 1heur 30 minutes.

L'huile essentielle obtenue a été mise dans des petits flacons sombres bien fermés et conservés au réfrigérateur à une basse température (environ 4°C) dans l'obscurité jusqu'à son utilisation ultérieure.

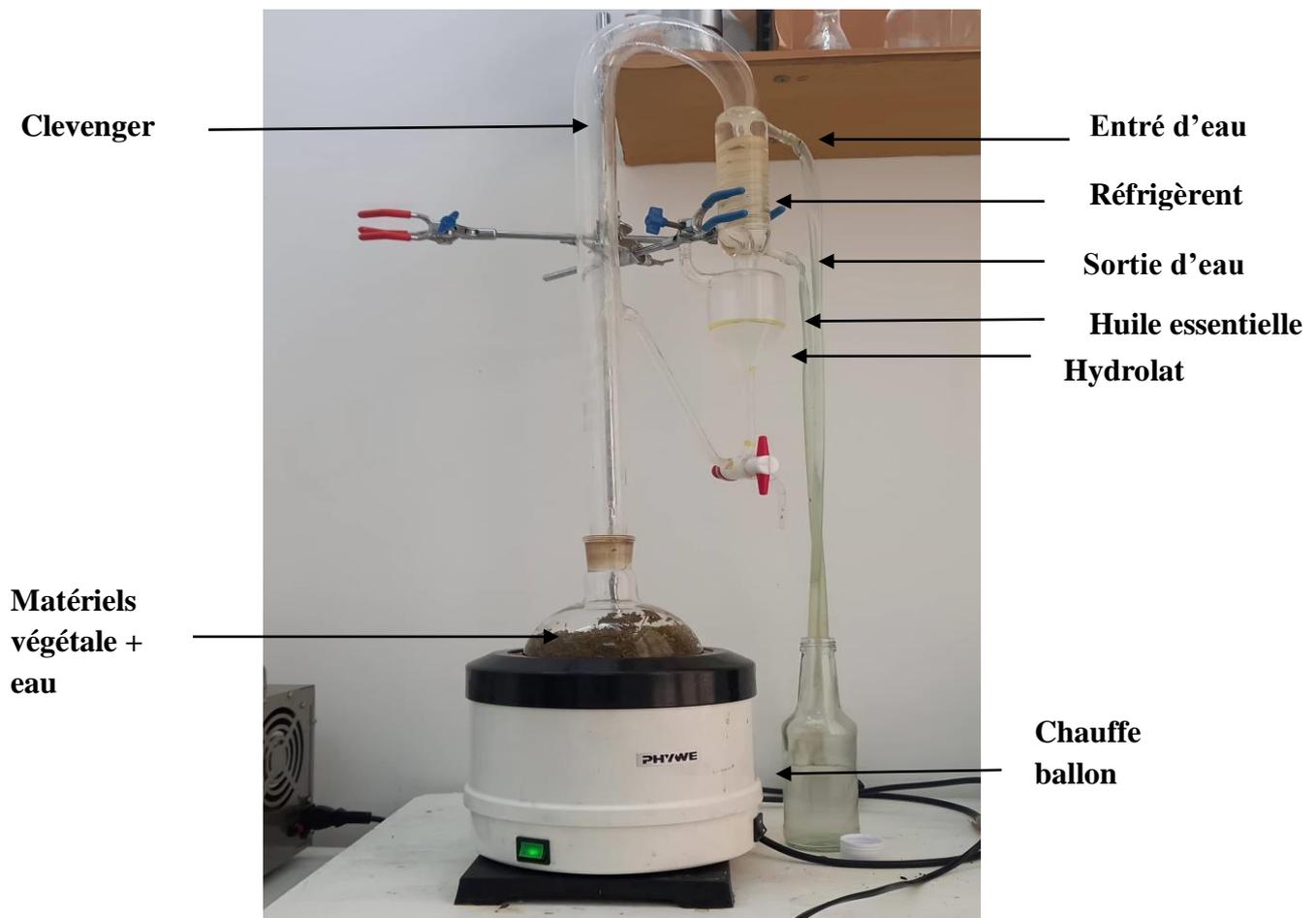


Figure 3.3: Montage légendé d'extraction de type Clevenger.

- Rendement de l'extraction :

Le rendement en HE est défini comme étant le rapport en pourcentage entre la masse de l'huile récupérée et la masse de la matière végétale sèche. Le rendement en HE est donné par la relation suivante :

$$R\% = \frac{m_{HE}}{m_v}$$

Avec :

$R\%$: Le rendement en HE

m_{HE} : la masse de l'huile essentielle récupérée (g)

m_v : masse de la matière végétale (g)

- Etude de la cinétique d'extraction de l'huile essentielle :

La durée d'extraction est théoriquement le temps nécessaire à la récupération de la totalité de l'huile contenue dans la matière végétale. Or en pratique, il est difficile de récupérer toute l'huile. Ce temps correspond alors au moment pour lequel nous n'observons plus d'huile dans le distillat. Il détermine la fin du processus. Lors de cette étude, un suivi cinétique a été réalisé sur l'extraction de l'huile essentielle.

Pour chaque extraction, nous avons utilisé une quantité de 80g de matériel végétal sec, nous avons effectué des extractions pour des durées de 20,35 50,65 minutes après l'apparition de la première goutte d'HE. Il est noté que le temps de chauffe système est de 20min. les volumes de l'HE ont été déterminé pour chaque extraction.

3.1.2.2 Caractérisation de l'huile essentielle d'*O. floribundum*

Les caractérisations de l'HE de l'origan consistent à :

- ✓ Vérification des caractéristiques organoleptique (Aspect, couleur, odeur et flaveur) ;
- ✓ Détermination des indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide) ;
- ✓ L'obtention des profile chromatographique et la quantification des différents constituants ;

3.1.2.2.1 Caractéristiques organoleptiques :

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques des HES nécessite l'utilisation de nos sens afin d'évaluer l'aspect, l'odeur, et la couleur.

3.1.2.2.2 Indices physico-chimiques

Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico-chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'association française de normalisation (AFNOR)

- La densité relative à 20°C :

Définit comme étant le rapport de la masse d'un certain volume d'HE à 20°C, à la masse d'un égal volume d'eau distillé à la même température. Elle se mesure à l'aide d'un pycnomètre et donné par la relation suivante :

$$d^{20} = m_2 - m_0 / m_1 - m_0$$

Avec :

m_0 : La masse de pycnomètre vide

m_1 : La masse de pycnomètre rempli d'eau

m_2 : La masse de pycnomètre rempli d'Huile essentielle



(a)

(b)

(c)

Figure 3.4 : (a) Pycnomètre vide (b) pycnomètre rempli d'eau distillé (c) pycnomètre rempli d'HE.

- Indice de réfraction :

L'indice de réfraction a été déterminé par la lecture directe de l'angle de réfraction à l'aide du réfractomètre CARL ZEISS JENA, en employant la lumière d. Les valeurs de référence des indices de réfraction des liquides sont données dans les « *Hand book* » à une température de 20°C. Pour les composés organiques, on a trouvé que, lorsque la température augmente de 1°C, l'indice de réfraction diminue de 0,0004. C'est pourquoi il faut toujours ramener les calculs à la température de 20°C.

L'indice de réfraction $\eta_D^{t'}$ à la température de référence $t=20^\circ\text{C}$ η_D^{20} est déterminée par la formule suivante :

$$\eta_D^{20} = \eta_D^{t'} + 0,0004 (t' - 20)$$

η_D^{20} : est la valeur obtenue à la température t' .

L'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée.



Figure 3.5 : Réfractomètre CARL ZEISS JENA.

- Indice d'acide :

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1 gramme d'huile essentielle. La neutralisation des acides libres se fait par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée (KOH). Il a été déterminé selon la norme NF T 75- 103

L'indice d'acide est donné par la formule suivant :

$IA = V.C \ 56,11/m$ où :

V : le volume, en ml de la solution de KOH utilisée pour le titrage

C : la concentration exacte en moles par litres de la solution KOH

m : la masse en gramme de la prise d'essai.

3.1.2.2.3 Analyses qualitatives

3.1.2.2.3.1 Méthodes spectroscopiques

- **Analyse par UV-Visible :**

L'échantillon été analysé par le spectrophotomètre de type SHIMADZU entre 200 et 500nm. On a pris quelques gouttes de l'HE d'origan dans un volume de méthanol. La solution été analysé par l'UV-Visible en remplissant la cuve en quartz avec la solution et en l'introduisant dans la chambre pour obtenir le spectre et ensuite l'interpréter.



Figure 3.6: Spectrophotomètre type SHIMADZU.

- **Analyse par ATR-IRFT :**

Dans cette étude, un spectrophotomètre à transformée de Fourier IRTF de marque THERMO SCIENTIFIC type « Nicolat iS10 », équipé d'un détecteur (DTGS KBr) à haute performance (1000-375 cm^{-1}), une source infrarouge moyen (4000-400 cm^{-1}) d'un rayonnement de laser et une séparatrice (XT-KBr) ont été utilisés. Le traitement des spectres est réalisé avec le logiciel OPUS viewer sous le système d'exploitation Microsoft Windows 7.

Après avoir nettoyée avec l'eau distillée et l'acétone et le fond infrarouge a été recueilli, notre huile essentielle est directement déposée sur le cristal de réflexion de l'accessoire, elles doivent être dans une position précise au-dessus du cristal de diamant, afin d'obtenir une dispersion uniforme de l'échantillon sur la surface.



Figure 3.7 : Spectrophotomètre ATR-IRFT de marque Nicolet is10 FT-IR.

3.1.2.2.3.2 Méthodes chromatographique

- **Analyse CG-SM :**

Cette analyse a été effectuée au laboratoire chromatographie au centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) Bousmail Tipasa.

Le spectromètre de masse : **Hewlett Packard Agilent 5973** à impact électronique, couplé à un chromatographe en phase gazeuse **Hewlett Packard Agilent 6890 plus** a été utilisé. Une colonne HP-5MS été utilisé de longueur de 30 m, diamètre interne de 0,25 mm, épaisseur du film de 0,25 une Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% diméthylpolysiloxane.

- **Conditions opératoire :**

Injecteur :

Température 250°C

Mode d'injection : split 1/80

Volume injecté : 0.2µl

Température du four :

60 °C pendant 8min, 2°C/min jusqu'à 250°C, isotherme pendant 10 min.

Durée d'analyse : 113 min

Gaz vecteur : Hélium pureté : N6.0 ; Débit GV : 0.5 ml/min

Détecteur de masse :

Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550)

Délai du solvant : 3.5min

Température de l'interface : 280 °C

Type d'ionisation : Impact électronique

Intensité du filament : 70 év

Type de l'analyseur de masse : Quadripôles

Température de la source : 230 °C



Figure 3.8 : Chromomètre CG-SM.

L'identification des différents constituants a été réalisée à l'aide des spectres de comparaison de masse en comparaison avec ceux des composés standard des banques de données Wiley 7 n 1 et NIST 02.L. une confirmation a été apporté à partir de leurs indices de rétention selon l'équation établie de Van Den Dool :

$$I_{rx} = 100n + 100(t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

Les proportions relatives des composés ont été données à partir des surfaces des pics du chromatogramme obtenu en utilisant la colonne HP5MS.

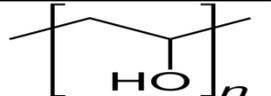
3.2 Préparation des réservoirs composites PVA/MMT/HE

3.2.1 Produits utilisés

- Le polyvinyle alcool PVA :

Le polymère de base dans la présente étude est le polyvinyle alcool (noté PVA), dont les caractéristiques sont résumées dans le tableau :

Tableau 3.2 : Les caractéristiques du polyvinyle alcool (PVA).

Nom	Structure	Poids moléculaire	Degré d'hydrolyse	Fournisseur
Polyvinyle alcool (PVA)		72 000 g/mol	95	FLUKA (Suisse)

Les PVA commerciaux se présentent généralement sous la forme d'une poudre de couleur blanche à jaunâtre selon leur degré d'oxydation

- La montmorillonite de sodium (Na^+MMT) :

La montmorillonite de sodium (Na^+MMT) minéral, qui a été purifié à partir d'une poudre de bentonite naturelle (98% de montmorillonite) issue du gisement naturel Maghnia (ouest de l'Algérie) de formule chimique $(\text{Si}_8)^{\text{IV}} (\text{Al}_{4-x} \text{Mg}_x)^{\text{VI}} \text{O}_{20}(\text{OH})_4$ le protocole de la purification de la bentonite est présenter dans l'annexe). La composition chimique de la montmorillonite utilisée est indiquée dans le Tableau :

Tableau 3.3: Composition chimique de la bentonite naturelle de Maghnia.

Composition	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	MgO	CaO	Na ₂ O	K ₂ O	TiO ₂	As	PAF+
% massique	69,4	14,7	1,2	1,1	0,3	0,5	0,8	0,2	0.05	11

- Le Tween 80 : Polysorbate 80 provient de : Sigma aldrich
- L'acide maléique (AM) : proviennent de Acros Organics C₄H₆O₅, L'acide chlorhydrique (HCl) (37 % en masse) et le méthanol proviennent de Sigma aldrich

3.2.2 Mode opératoire de préparation des membranes réservoir composite PVA/HE/MMT

3.2.2.1 Mode opératoire 1 : la méthode en solution (par voie humide)

❖ Préparation des hybrides HE d'origan/Na+MMT

L'huile essentielle d'origan (2g) et la montmorillonite (1g), en proportion 2:1, ont été introduites dans une solution contenant du Tween 80 (5 g) et de l'eau (75 ml). Proportion 20 :50, le mélange a été agité magnétiquement à 900 rpm jusqu'à l'homogénéisation complète. Le mélange est versé dans des boîtes à pétri puis séché dans l'étuve à 110°C pendant 12h.

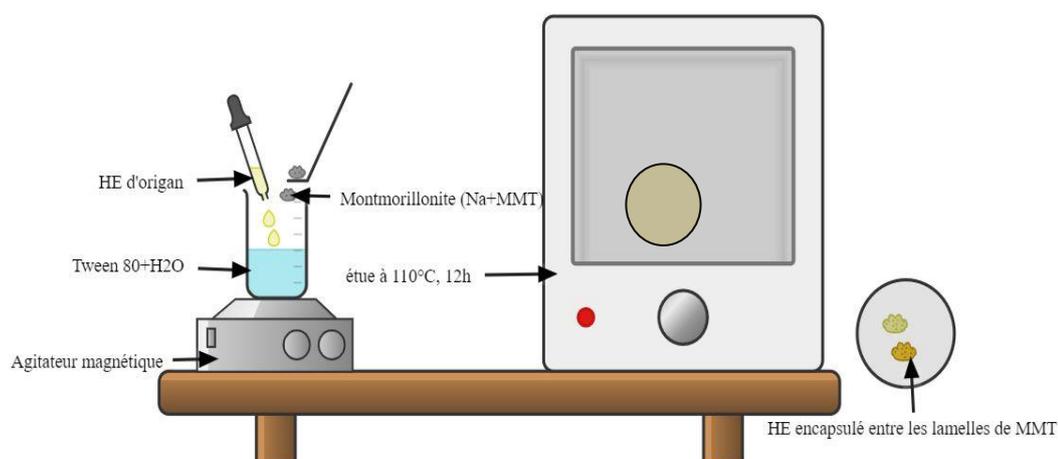


Figure 1 : Représentation schématique de la méthode en solution (par voie humide).

❖ Solubilisation du PVA :

Dans un ballon de 250 ml plongé dans un bain-marie, muni d'un réfrigérant, on solubilise 5 g de polyvinyle alcool (PVA) à 90°C sous agitation continue pendant 1h 30min. On procède au refroidissement de la solution homogène précédemment obtenu jusqu'à température ambiante. On obtient le PVA pur non réticulé.



Figure 3.10 : Solubilisation du PVA par montage a reflux.

- ❖ Préparation des membranes réservoirs composites PVA/NA⁺MMT/HE et PVA-R NA+MMT /HE :

On mélange les hybrides HE /NA+MMT précédemment préparer avec la solution du PVA pur, le mélange est agité à 1000 rpm jusqu'à l'homogénéisation complète, ce dernier est coulée sur des boites de pétri et séchée dans l'étuve à 50°C pendant 24h, la membrane été retirés des boites à pétri, puis on procède un lavage à l'eau distillé et conserver dans le réfrigérateur jusqu'à caractérisation ultérieure.

Pour obtenir des membranes PVA-réticulé /HE/NA+MMT, on refait les même étapes (mélanger les hybrides avec la solution PVA pur jusqu'à homogénéisation) puis on ajoute 2,5 ml de chlorure d'hydrogène (HCl) (2M) et 1 g d'acide maléique (AM), le mélange est agité encore pendent 30 min puis coulée sur des boites de pétri et séchée dans l'étuve à 50°C pendant 24h.

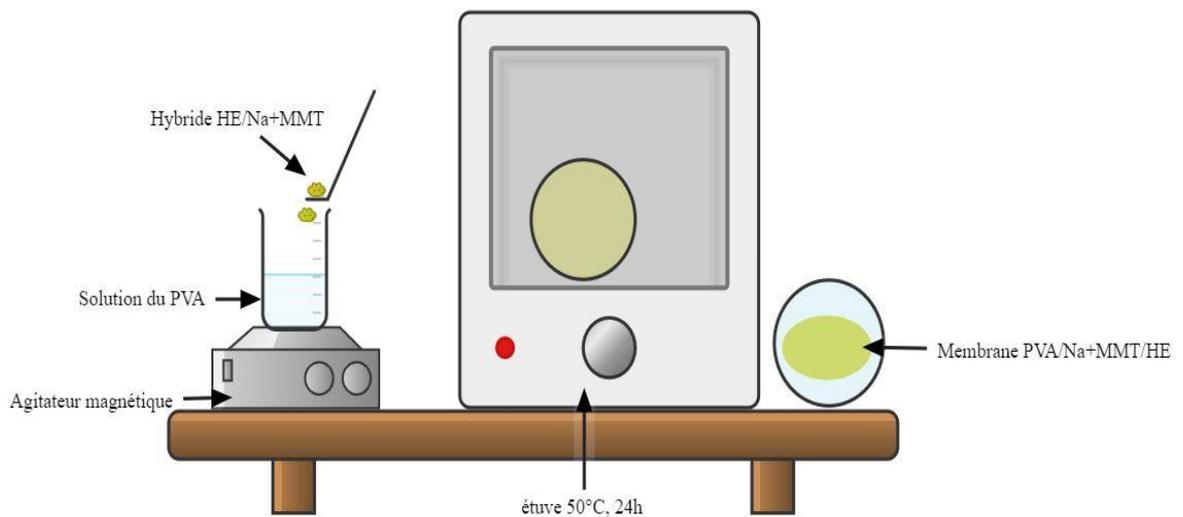


Figure 3.11: Schéma représentatif de la préparation des membranes PVA/Na⁺MMT/HE.

3.2.2.2 Préparation des hybrides HE d'organ/OMMT suivie d'un stockage dans le polymère PVA

La modification de la Na⁺MMT est nécessaire afin, d'une part améliorer sa compatibilité avec les matrices polymères organophiles réussir sa dispersion, et d'autre part, obtenir par conséquent des gains de propriétés par rapport à la matrice vierge.

La montmorillonite dite organophile (OMMT) va avoir d'une part, un espace interlamellaire plus large qui facilite la pénétration et la diffusion des chaînes macromoléculaires et une meilleure compatibilité avec le polymère hydrophobe, d'autre part.

3.2.2.2.1 Traitement organophile de la Na⁺MMT

3.2.2.2.1.1 Produits utilisés

- La montmorillonite de sodium (Na⁺MMT) minéral dont les détails ont été susmentionné précédemment.
- Le bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) de structure (C₁₉H₄₂BrN) à 99% fourni par Acros.

3.2.2.2.2 Mode opératoire

5 g de bentonite purifiée et séchée ont été dispersés sous agitation vigoureuse pendant 24 h dans 500 ml d'eau distillée à température ambiante. D'autre part nous avons préparé une solution de bromure de cetyltriméthylammonium (CTAB) de concentration de 0.03M (1.09 g dans 100 ml). Cette dernière est ajoutée progressivement à la solution précédente sous agitation pendant 12 h. Ce mélange est ensuite filtré sous vide, et le précipité obtenu

est ensuite mis sous agitation dans 50ml d'eau distillée pendant 4 h. La montmorillonite organophile est ensuite lavée plusieurs fois à l'eau distillée afin d'éliminer les cations inorganiques. La montmorillonite organophile (OMMT) obtenus est ensuite séchée à 60°C.

Remarque :

La préparation des membranes PVA/OMMT/HE suit le même protocole décrit précédemment en remplaçant le Na⁺MMT par le OMMT obtenus.

3.2.2.3 Mode opératoire 2 : Méthode verte d'évaporation/adsorption

L'adsorption de l'huile essentielle d'origan et de ses constituants dans le Na⁺MMT a été effectué par une procédure d'évaporation/adsorption sans utiliser de températures élevées ni de solvants organiques.

Avant la procédure d'évaporation/adsorption, le Na⁺MMT est séché dans une étuve à 120°C pendant une nuit. 1g de cet échantillon a été étalé dans des un récipient, et placé dans un dessiccateur sous vide pendant 24h en présence de récipients séparés, contenant une quantité de CaCl₂ anhydre pour éliminer toute trace d'humidité, vapeur et l'eau adsorbée dans la surface des argiles dans le dessiccateur.

Ensuite, le CaCl₂ anhydre été remplacé par 2g d'HE, d'origan, et le système est maintenu sous vide.

Le Na⁺MMT est laissé sous une atmosphère d'HE, pendant une certaine période (environ 10 jours) jusqu'à que le système est équilibré puis pesés pour connaître les quantités d'HE adsorbées.

Sous ces conditions, les composants les plus volatils des HE ont été évaporés et adsorbés dans le Na⁺ MMT.

Ensuite on prépare les membranes du PVA de la même façon décrite précédemment et le mélanger avec la montmorillonite qui contient l'HE et agiter le tout pendant 2h jusqu'à dispersion complète du Na⁺MMT/HE dans le polymère.

On procède une réticulation en ajoutant 2,5 ml de chlorure d'hydrogène (HCl) (2M) et 1 g d'acide maléique (AM), le mélange est agité encore pendent 1h, puis versé sur une boite de pétri et laissé séché pendant 48h à température ambiante.

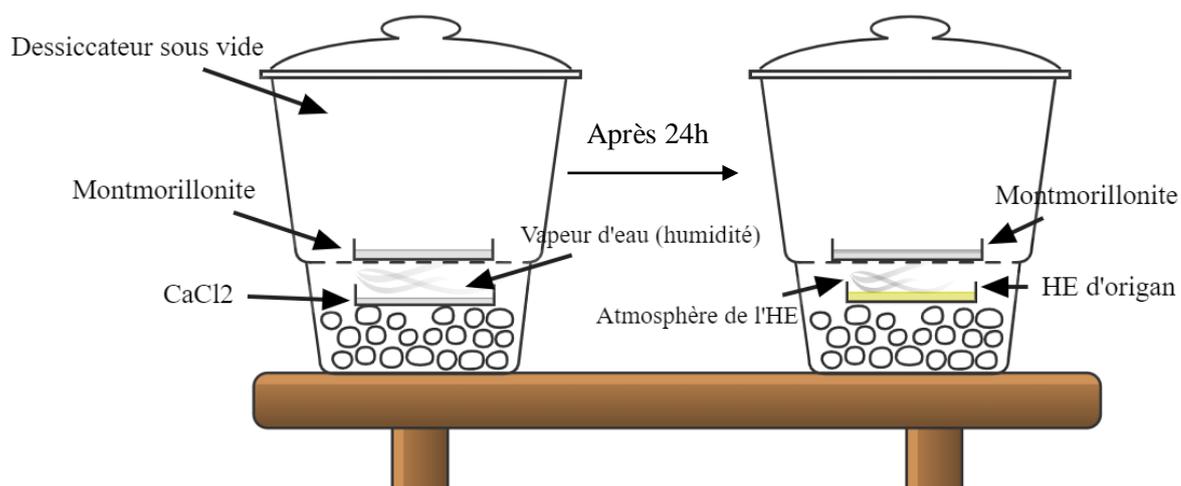


Figure 3.12: Schéma représentatif du Processus d'évaporation/adsorption de l'HE d'origan sur les MMT.

Remarque : Pour les matrices polymériques PVA/OMMT/HE sont synthétisé avec le même procédé précédent en remplaçant le Na⁺MMT avec le OMMT.

3.2.2.4 Caractérisation des membranes composites

3.2.2.4.1 Caractérisation physique (Teste de solubilité)

Pour confirmer la réticulation des membranes, on a testé de solubilisé un petit morceau dans des différents solvants.

Dans des tubes à essai, on met environ 5 ml de solvant, puis on introduit des petits morceaux de membrane ensuite les plonger dans les tube sous agitation manuelle quelques minutes.

Tableau 3.3 : Les solvants utilisés pour le teste de solubilité.

Les essais	1	2	3	4
Les solvants	Eau	Méthanol	DMF	DMSO

3.2.2.4.2 Caractérisation par IRTF

Les groupes fonctionnels de l'HE sur la surface de Na⁺MMT ont été analysés par ATR-FTIR.

Ces expériences ont également été utilisées pour confirmer la présence d'HE dans les particules de Na⁺ MMT. La poudre de l'échantillon séché a été prise en sandwich entre l'accessoire ATR et le cristal de diamant. Les spectres des échantillons ont été enregistrés dans la région de longueur d'onde entre 400 et 4000 cm⁻¹.

Chaque spectre a été obtenu en faisant la moyenne de 32 balayages à une résolution de 4cm^{-1} . Les spectres des MMT et du PVA avant et après adsorption de l'HE d'origan, ont été comparés respectivement aux spectres de l'HE d'origan purs afin de confirmer la présence de ces molécules adsorbées.

3.3 La libération prolongée (release)

La libération prolongée a été effectuée par fumigation (sans contact), cette méthode a été choisie à cause de la haute volatilité des HEs.

3.3.1 Mode opératoire

On a effectué d'abord un essai sur l'HE seule pour confirmer cette méthode

- Dans un dessiccateur (considérer comme une chambre fermée, ou une enceinte) on introduit un volume d'huile essentielle dans une boîte pétrie ;
- On fixe un coton dans le côté supérieur du dessiccateur, et on ferme ;
- Le coton est laissé sous une atmosphère d'HE pendant 24h ;
- Après 24h, on enlève un peu du coton (saturé en HE) puis imbiber ce dernier dans un volume fixe de 5ml de méthanol verser précédemment dans un tube à essai puis on mesure l'absorbance de la solution chaque 24h à l'aide d'un spectrophotomètre (ou la longueur d'onde est fixée 281.4 nm, longueur d'onde maximale de l'HE) jusqu'à la diffusion complète de l'huile, ou jusqu'à ce que les valeurs de l'absorbance deviennent constantes.
- Après avoir noté les valeurs de l'absorbance chaque 24h, on calcule par la suite la masse de l'HE libérée (HE non encapsulé et stocké dans les membranes) afin de tracer les courbes $m = f(t)$.
- Après la confirmation des résultats, on refait le même procédé en remplaçant l'huile essentielle par les membranes réservoirs composites synthétisés.

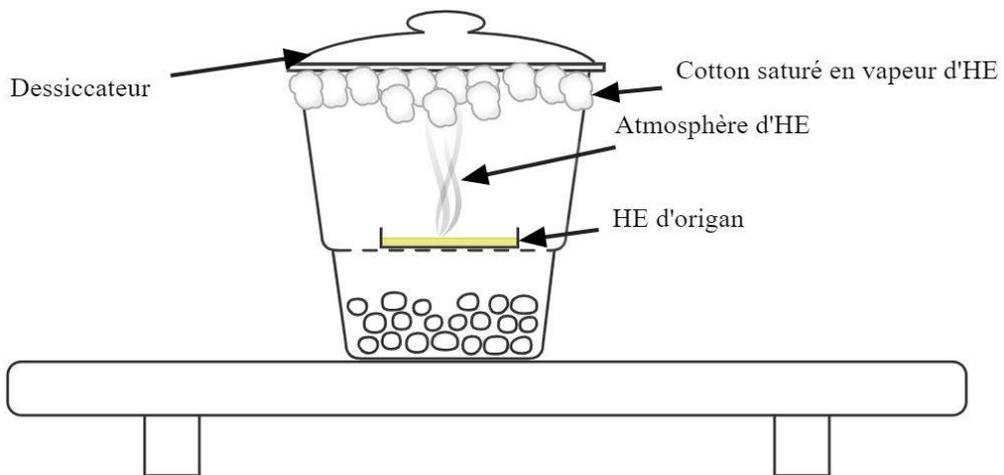


Figure 3.13 : Schéma représentative de la méthode de libération prolongée par fumigation de l'HE non stocké dans les membranes synthétisées.

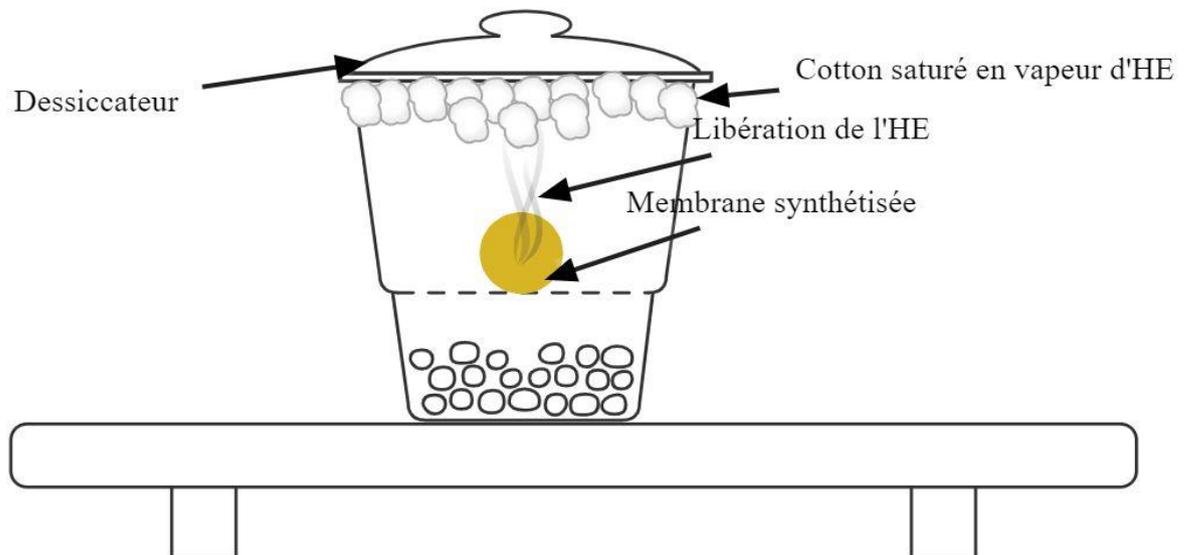


Figure 3.14: Schéma représentative de la méthode de libération prolongée par fumigation de l'HE stocké dans les membranes synthétisées.

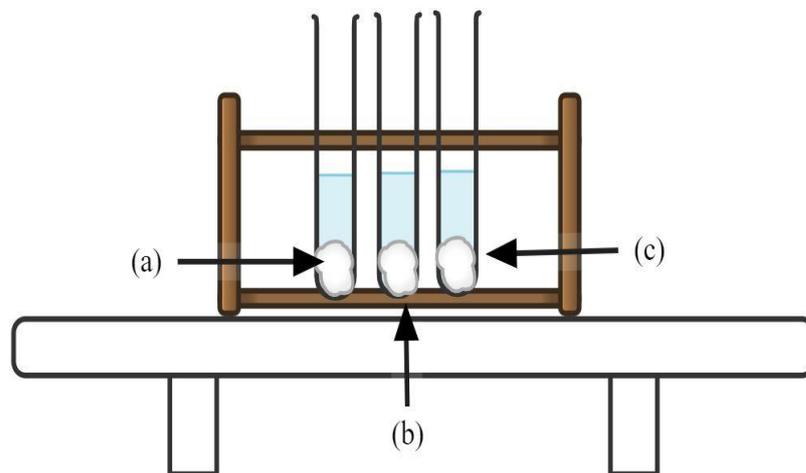


Figure 3.15: Tubes à essais contenant du coton +méthanol.

(a) Coton saturé en HE +méthanol, **(b)** Coton saturé en HE stocké dans la membrane PVA/OMMT composite +méthanol **(c)** Coton saturé en HE stocké dans la membrane PVA/Na⁺MMT composite +méthanol.

3.4 Application antibactérienne

Pour évaluer l'activité antibactérienne d'HE étudiées et les membranes synthétisés plusieurs tests ont été réalisés au niveau de l'hôpital LAKHDER BOUCHMAA –TIPASA- laboratoire de microbiologie.

3.4.1 Activité antibactérienne de l'huile essentielle

Nous avons utilisé la méthode d'aromatogramme, c'est une méthode de diffusion des disques sur milieu gélosé.

3.4.1.1 Principe de la méthode d'aromatogramme

La méthode de diffusion sur disque, appelée aussi méthode de Vincent ou technique de l'aromatogramme ou technique de l'antibioaromatogramme. Cette technique inspirée de celle des antibiogrammes, a été généralisée aux huiles essentielles.

Elle consiste à utiliser des boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé convenable, déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Un disque stérile de papier filtre de 6 mm de diamètre imprégné d'une quantité connue d'huile essentielle est déposé sur le milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture microbienne.

Le principe de cette méthode est toujours la migration de l'HE par diffusion dans la gélose. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres [78].

3.4.1.2 Protocole expérimentale

➤ Préparation de la première couche de milieu

Le milieu Mueller-Hinton est chauffé dans un bain marie, après on verse aseptiquement une couche du milieu dans des boîtes de pétri et on laisse solidifier.

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture jeune de 18h pour les bactéries, on réalise des suspensions troubles en prélevant 2 à 3 colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose 5ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex.

➤ Dépôt des disques

A l'aide d'une micropipette, on prélève 20µl d'huile essentielle pure, on dépose chaque quantité prélevée sur le disque posé préalablement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée, on laisse diffuser pendant 30min. Enfin, incubé à 37°C pendant 24h pour les bactéries.

➤ Lecture des résultats

Zones claires autour du disque: présence d'une activité inhibitrice des huiles. Absence des zones claires autour du disque: pas d'effet inhibiteur des huiles

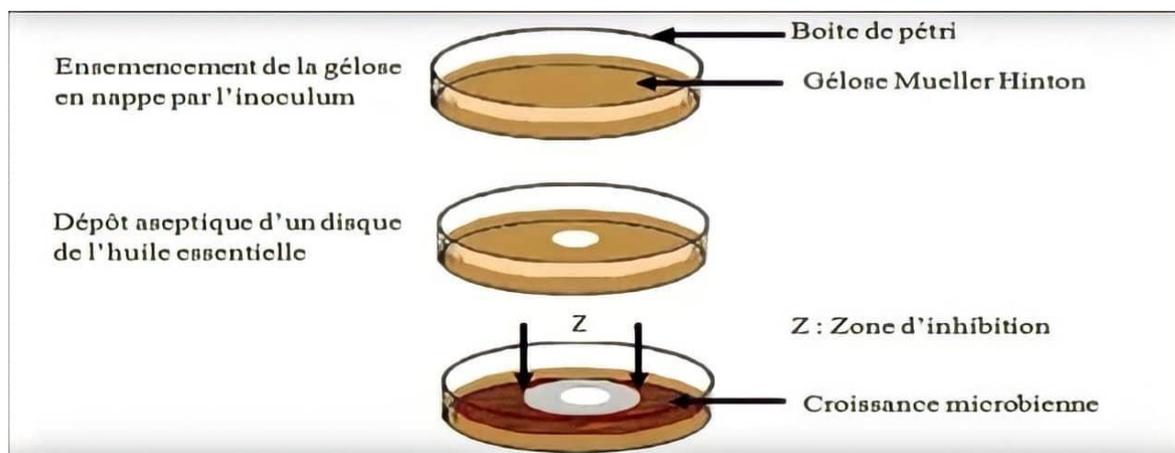


Figure 3.16 : Principe de la méthode aromatoگرامme [78].

3.4.2 L'activité antimicrobienne de membranes synthétisées

3.4.2.1 Principe de la méthode de puits

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actif [79].

3.4.2.2 Protocole expérimentale

Des boîtes de Pétri contenant du milieu Mueller Hinton agarensemencée aseptiquement par une suspension qui provient d'une culture jeune de bactéries respectivement.

L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après le séchage des boîtes, la gélose est perforée au centre à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur. Un petit morceau de membrane synthétisé est placé dans Les cavités formées.

Les boîtes sont mises à incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h. L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits. La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions. Un produit est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm.

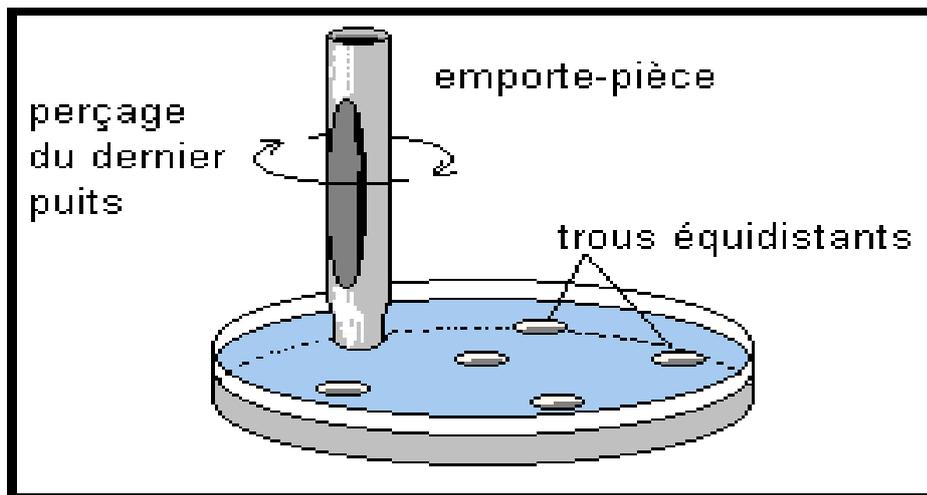


Figure 3.17: Principe de la méthode des puits [79].

CHAPITRE 4

RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1 Extraction et rendement en huile essentielle

La quantité de HE récupérée 50 ml à partir de 2kg de plante sèches, par décantation et élimination de l'hydrolat. L'huile essentielle d'origan obtenue par l'hydrodistillation est pesée afin de calculer le rendement d'extraction et conservée à une température de 4°C au réfrigérateur dans des flacons opaques à l'abri de la lumière.



Figure 4.1 : Huile essentielle d'*Origanum floribundum* obtenu.

Le rendement de l'extraction de l'huile essentielle calculé en fonction de la matière végétale sèche de la plante est de 1.77%, ce rendement est relativement élevé comparé à celui rapporté par Baser et al qui est de 0.66% pour *Origanum floribundum* de Chréa Blida [80], mais il est proche à celui trouvé par Brada et al [81], en travaillant sur la même espèce qui provenait de la région de Khemiss-Miliana (1.6%).

En effet, ce rendement peut être influencé par des paramètres intrinsèques (étapes de croissance) et extrinsèques comme (conditions pédoclimatique et méthode d'extraction). Les facteurs abiotiques influençant ce rendement en HE sont la température, l'humidité relative, la durée totale d'insolation et le régime des vents.

Le vent exerce une influence directe chez les espèces qui possèdent des structures histologiques superficielles de stockage (cas de l'origan).

4.2 Résultats de la cinétique d'extraction

Cette étude a permis de suivre la cinétique d'extraction de l'HE d'origan en fonction du temps. Elle est présentée dans la figure 4.2 :

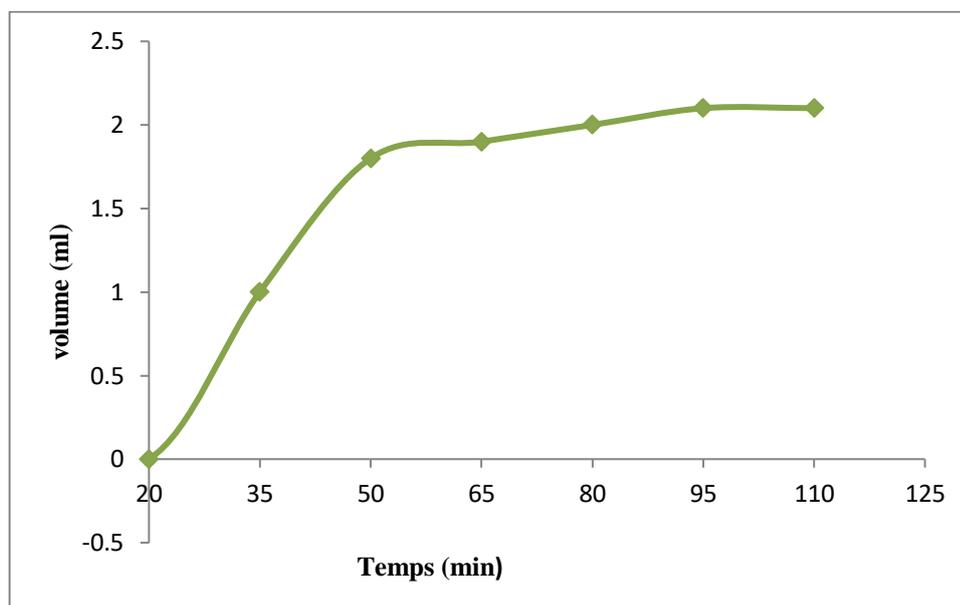


Figure 4.2: Cinétique d'extraction de l'HE d'*Origanum floribundum*.

La courbe de la cinétique d'extraction de l'HE se caractérise par une partie ascendante ou la majeure partie de l'huile extraite correspond à un temps de 65 minutes. L'allure de la courbe représentée confirme l'existence de 3 étapes :

La première étape, est caractérisée par une augmentation rapide de l'extraction au bout de 50 minutes, cela peut s'expliquer par un entrainement massif de l'HE (environ 90% de l'HE a été récupérée) ;

La deuxième étape (50-80) minutes, un ralentissement de l'extraction par rapport à l'étape précédente ou le taux d'extraction diminue de la valeur de la quantité globale recueillie ;

La dernière étape correspondant à la stagnation du volume de l'HE. Elle indique la fin d'extraction. Donc la durée maximale est de 90 à 120 minutes pour récupérer le maximum de l'huile essentielle.

4.3 Caractérisation de l'huile essentielles

4.3.1 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau 4.1 : Les caractéristiques organoleptiques de l'HE d'*Origanum floribundum*.

Espèce	Aspect	Couleur	Odeur	Flaveur
<i>Origanum floribundum</i>	Liquide, limpide	Jaune pale	Aromatique, thymolé	Piquante, épicée
Origan type Espagne (AFNOR. 2000)	Liquide, limpide, mobile	Jaune foncé	Caractéristique aromatique	Phénolique, épicée

On constate que ces paramètres organoleptiques de l'huile essentielle étudiée sont conformes avec ceux répertoriés dans les normes AFNOR (2000)

4.3.2 Indices physico-chimiques

Les résultats des indices physico-chimiques sont regroupés dans le tableau 4.2 :

Tableau 4.2 : indices physico-chimiques de l'HE d'*Origanum floribundum*.

Paramètres physico-chimiques	Densité à 20°C	Indice de réfraction	Indice d'acide (IA)
Résultats obtenus	0.91	1.497	6.17
Norme AFNOR (2000)	0.93-0.95	1.50-1.51	/

On remarque que ces paramètres sont en accord avec les normes d'AFNOR, (2000).

Un résultat similaire été trouver dans l'étude de l'espèce *origanum* de Chéra par Boulaghmen, F, avec un Indice réfraction de 1.48 [82]. Le faible indice de réfraction de l'HE indique sa faible réfraction de la lumière, ce qui pourrait favorise leur utilisation dans les produits cosmétique.

L'indice d'acide montre le taux des acides gras libres dans l'HE. Une valeur très élevée indique une dégradation d'HE durant sa conservation, L'IA obtenu est 6.17 cette valeur est moyenne mentionne que l'HE obtenu ne provoque pas d'oxydation inquiétante.

Les variations des grandeurs physicochimiques peuvent être attribuées à la composition chimique de l'huile essentielle étudiée.

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape importante mais insuffisante pour caractériser l'HE. Il est primordial de déterminer le profil spectroscopique et chromatographique de l'HE.

4.3.3 Analyses chromatographiques et spectroscopiques d'HE d'origan

4.3.3.1 Caractérisation par UV-visible

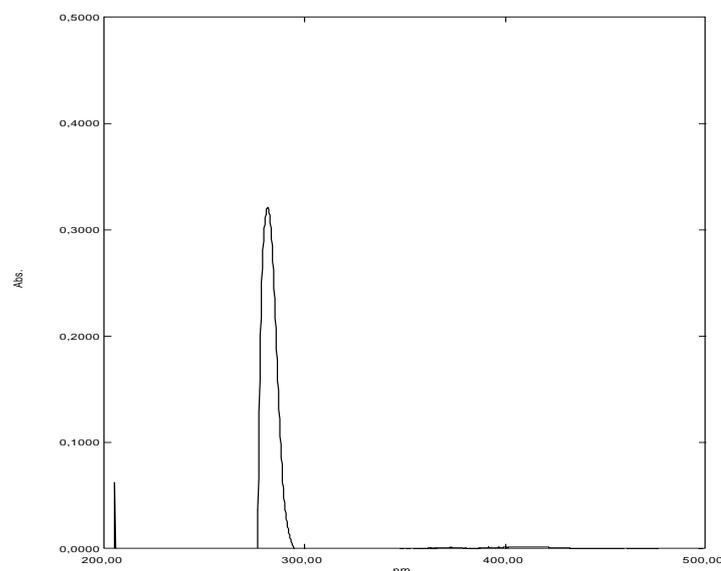


Figure 4.3 : Spectre UV-Visible de l'HE d'*O.floribundum*.

Le spectre UV-Vis du HE d'origan montre la présence d'un pic large localisé à 281.4nm qui est attribués à l'excitation électronique $\pi \rightarrow \pi^*$ présente au sein de la structure du cycle aromatique.

4.3.3.2 Caractérisation par ATR-IRFT

L'analyse ATR-IRFT d'HE a donné le spectre suivant :

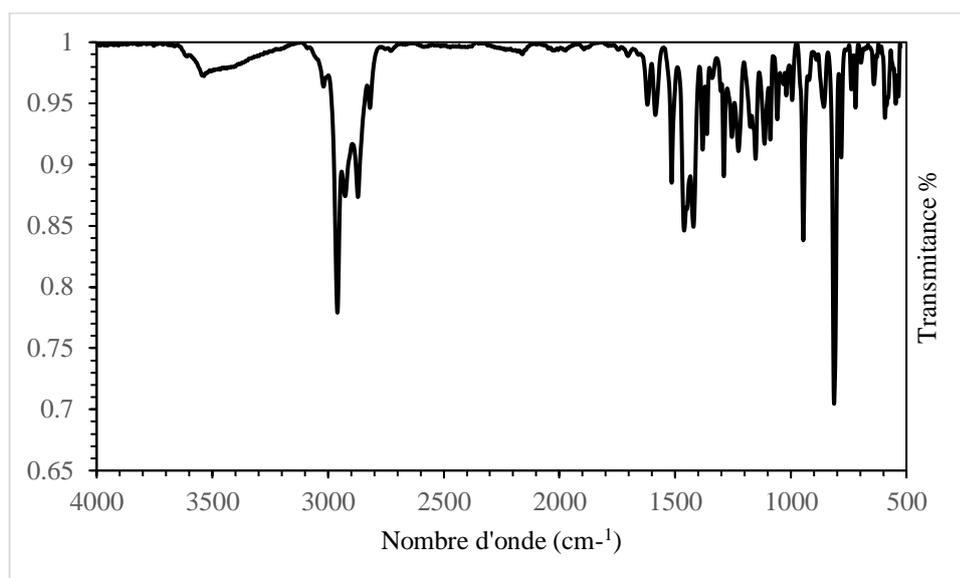


Figure 4.4 : Spectre infrarouge de l'huile essentielle d'*O. floribundum*.

La figure présente le spectre IRTF de l'huile essentielle d'origan montre la présence d'une bande d'intensité moyenne située dans les environs de 3520 cm^{-1} due à la fonction O-H d'alcool, Les fortes bandes à 2956 , 2917 et 2872 cm^{-1} sont attribuées aux élongations C-H asymétriques et symétriques dans les groupes aliphatiques $-\text{CH}_3$ et CH_2 (alcane) et cela peut confirmer la présence de p-cymène.

Les fortes bandes dans la gamme entre 1618 et 1581 cm^{-1} (signal de l'étirement C=C-C) sont attribué à la vibration de liaison C=C, et plusieurs pics observés dans les régions 1228 - 943 cm^{-1} et 860 - 810 cm^{-1} , liés à la flexion dans le plan et hors du plan des C-H aromatiques, respectivement, prouvent la présence de cycles aromatiques.

De plus, la présence du thymol est confirmée par les signaux typiques de la fonction phénolique, tels que la flexion des groupes O-H dans la gamme 3500 - 3000 cm^{-1} , d'autres bandes peuvent confirmer son existence (805 , 1002 , 1150 et 1611 cm^{-1}).

Les spectres présentent des pics caractéristiques pour le carvacrol aussi (810 , 993 , 1115 , $1173,8$ et $1251,5\text{ cm}^{-1}$).

4.3.3.3 Caractérisation par CG/SM

L'identification des composés de l'HE par CG/SM a été essentiellement basée sur la comparaison des spectres de masse de la molécule inconnue à celui d'un composé pur fourni par la base de données informatiques.

Le chromatogramme de la figure 4.5 et le tableau 4.3 résumant l'ensemble des composés identifiés ainsi que leurs proportions.

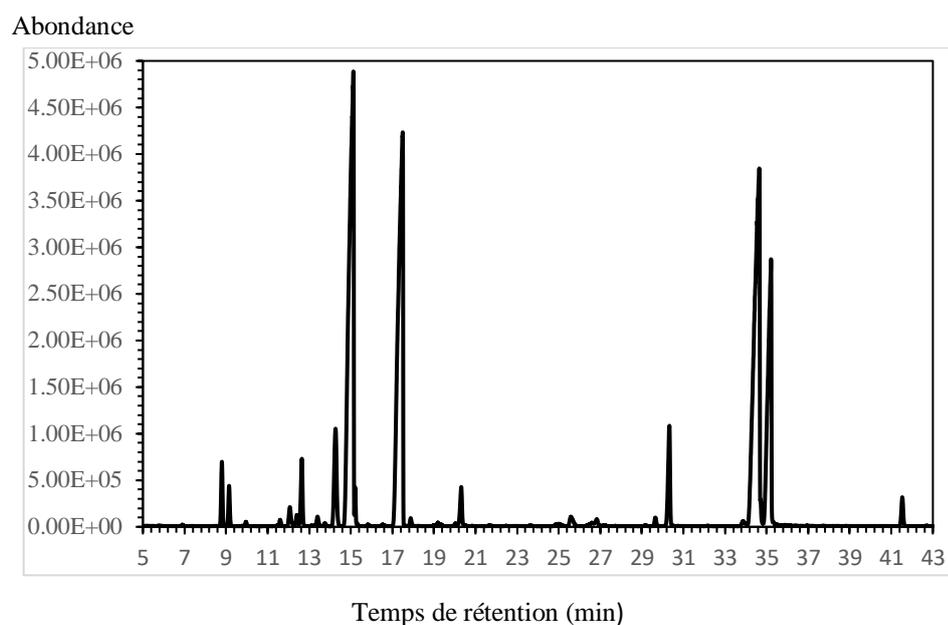


Figure 4.5 : Chromatogramme de l'huile essentielle d'*O.floribundum*.

Tableau 4.3 : Compositions chimiques de l'HE d'*Origanum floribundum*.

N°	tr (min)	Composé	Aire	Composition (%)	Indice de rétention
1	8.8	α -Phellandrene	32988533	1.20	963.33
2	9.148	α -Pinène	20628061	0.75	1001.8
3	12.073	1-Octen-3-ol	15235141	0.55	1001.51
4	12.414	3-Octanone	7860226	0.29	1009.51
5	12.65	β -Myrcene	41046846	1.49	1013.88
6	14.269	α -Terpinène	86263052	3.13	1043.87
7	15.122	p-Cymène	735006595	26.65	1059.66
8	15.216	δ 3-Carene	12732920	0.46	1061.41
9	17.494	γ -Terpinene	650069495	23.57	1103.59
10	20.314	Linalool	27735141	1.01	1118.50
11	26.83	R(+)-Limonène	6857876	0.25	1210.49
12	29.655	Methyl thymol ether (anisole)	5654549	0.21	1250.36
13	30.326	Carvacrolmethylether	71718307	2.60	1259.84
14	34.646	Thymol	692485988	25.11	1323
15	35.223	Carvacrol	332424707	12.05	1331.54
16	41.533	trans-Caryophyllene	19149651	0.69	1425.30
		Total	2757857088	100.00	

L'analyse de l'huile essentielle par CG-MS a permis d'identifier 16 composés.

L'HE d'*O.floribundum* est composé en majeure partie de : p-Cymène avec une teneur de 26.65%, suivi du thymol avec une teneur de 25.11% puis γ -Terpinene à 23.57% et le carvacrol avec une teneur de 12.05%.

α -Phellandrene, α -Pinène, β -Myrcene, α -Terpinène, contribuent à la composition de cette huile essentielle mais d'une façon moins prépondérante.

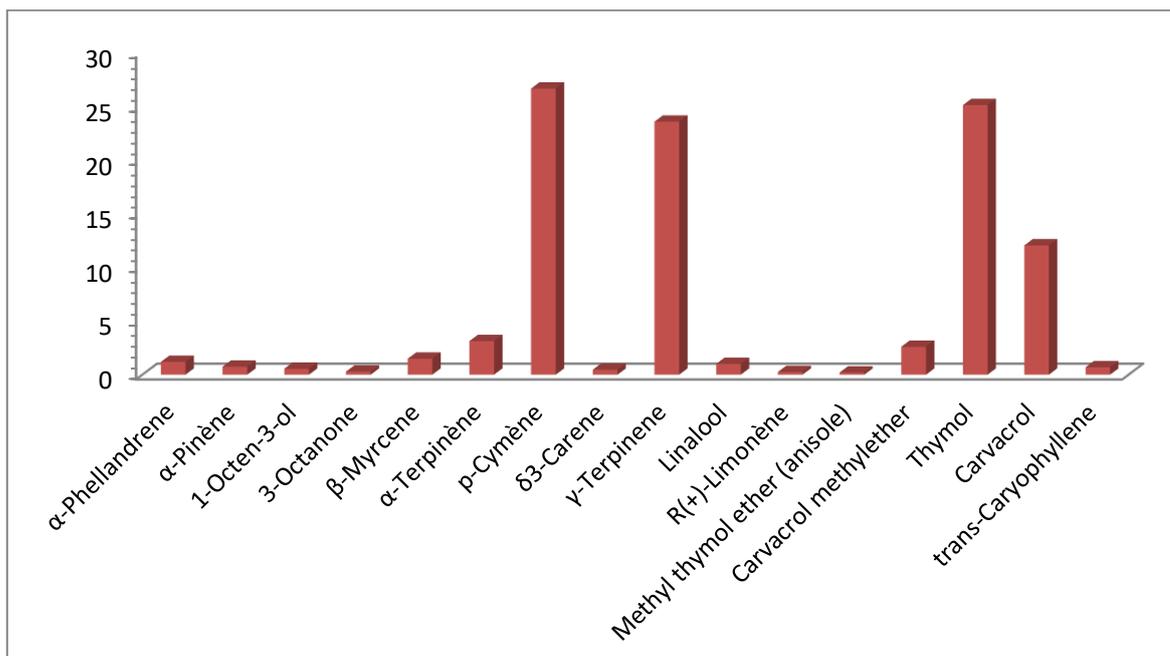


Figure 4.6 : Les constituants de l'huile essentielle d'*Origanum floribundum*.

Tableau 4.4 : Comparaison entre les teneurs (%) des composés majoritaires des HE d'*origanum floribundum* et *glandulosum* d'Algérie

composé	Origan étudié 1	Blida (Chrea) 2	Tizi- Ouzou 3	Bejaia 5	Setif 6
p-Cymene	26.65	18.5	17.1	14.76	3.6
Thymol	25.11	8.4	13.2	28.70	7.7
Terpinene	23.57	13.7	16	16.65	13.2
Carvacrol	12.05	29.6	33	22.87	1.4

Les espèces du genre *Origanum* sont décrites dans différents travaux pour leur grand polymorphisme chimique.

Plusieurs travaux ont mis en évidence l'existence de multiples chémotypes d'HE d'Origan dans différentes régions d'Algérie (Tableau 13). D'après les résultats obtenus, la notre s'avère être du type p-Cymene car cette molécule est majoritaire dans l'HE.

Les composés généralement majoritaires des HEs du genre *origanum* (p-Cymene, thymol et carvacrol) peuvent être rencontrés dans des proportions plus ou moins similaires.

Des similarités et des différences pouvant être important au niveau de la même espèce et au sein des autres espèces du même genre. Cependant, dans tous les cas le thymol, carvacrol et leurs précurseurs biogénétiques p-Cymène et γ -Terpinène formant la majeure partie des HEs d'origan avec une teneur de plus de 80%. [11]

4.4 Caractérisation des membranes composites

4.4.1 Résultats du test de solubilité

Pour confirmer la réticulation des membranes, on a testé de solubiliser un petit morceau dans des différents solvants tel que l'eau et le méthanol, DMSO et DMF.

Le morceau n'est pas dissolu dans tous les solvants donc les membranes sont pas solubles dans ces solvants, cela confirme la réticulation de ces dernières.



(a)

(b)



(c)

(d)

Figure 4.7 : Résultats de solubilité des membranes dans les différents solvants (a) : l'eau (b) : méthanol (c) : DMSO (d) : DMF.

4.4.2 Résultats d'adsorption de l'huile essentielle par (Na⁺MMT) et OMMT

Les échantillons de minéraux argileux sont laissés sous une atmosphère d'HE dans un dessiccateur sous vide, puis pesés à des temps variables jusqu'à ce que la masse des argiles reste constante. Les cinétiques d'adsorption d'HE d'origan, sur Na⁺MMT et OMMT sont représentées dans la figure 4.8 :

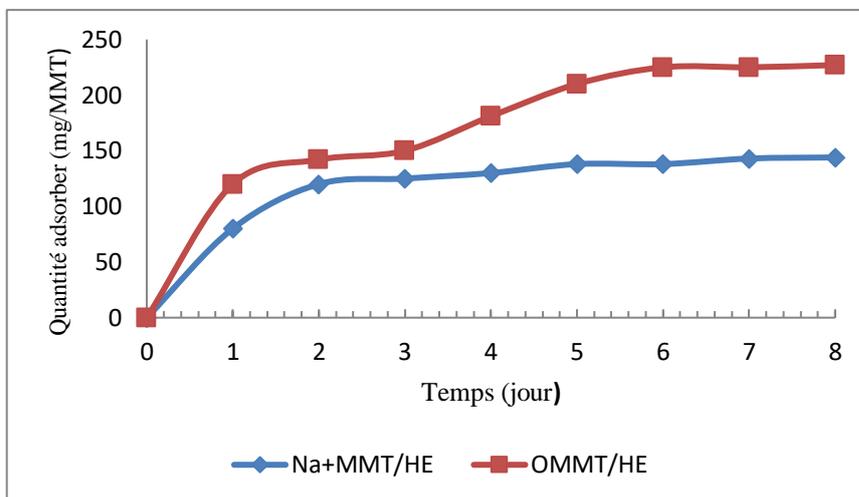


Figure 4.8 : Cinétique d'adsorption de l'HE d'Origan sur le Na⁺MMT et le OMMT.

- Cas Na⁺MMT :

La cinétique d'adsorption était très rapide au premier jour, environ 100 mg d'HE /g de MMT ont été adsorbés. Après un jour, la cinétique d'adsorption est lente, la quantité adsorbée augmentant périodiquement jusqu'au septième jour où elle atteint un maximum d'adsorption 143 mg d'HE/g de MMT.

- Cas OMMT :

Les résultats montrent que la cinétique d'adsorption d'HE est rapide au cours des premiers jours, avec environ 120 mg d'HE /g de OMMT ayant été adsorbés. Après le sixième jour la quantité atteint un maximum d'adsorption avec 225mg d'HE/g d'OMMT.

On constate que le OMMT possède une meilleure capacité d'adsorption que le Na⁺MMT, et cela à cause de l'augmentation de la porosité d'argile, ainsi une meilleure affinité avec l'huile essentielle à cause d'apparition des groupes hydrophobe dans l'argile.

4.4.3 Caractérisation des membranes Spectroscopie infra rouge

- Les membranes PVA/Na+MMT/HE et PVA-R/Na+MMT/HE

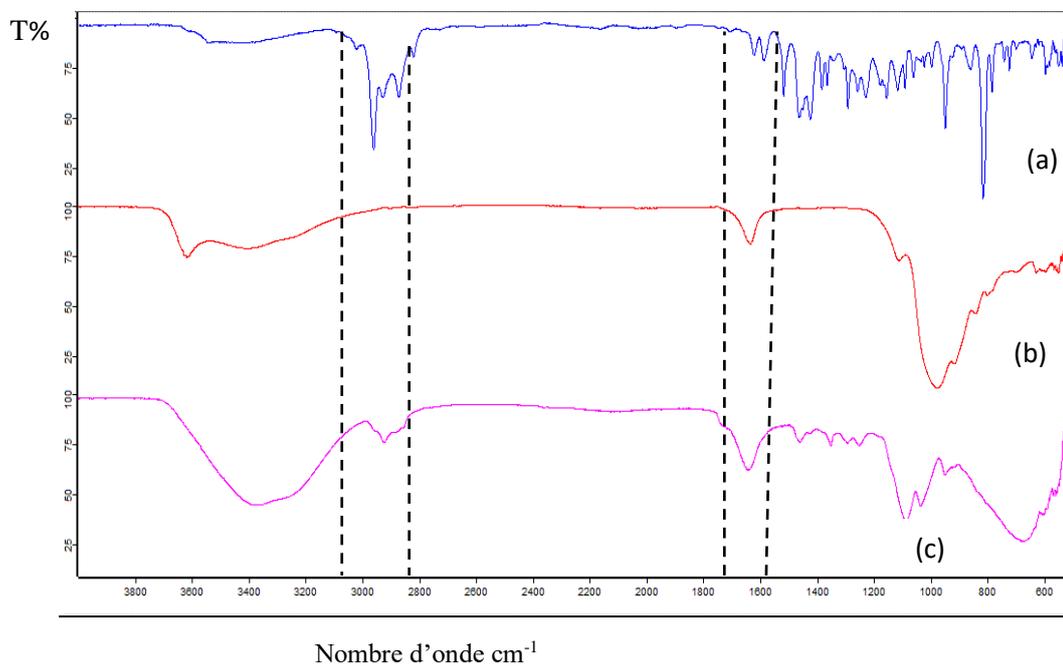


Figure 4.9: Spectres infrarouges du : (a) HE d'origan, (b) Na+MMT, (c) Na+MMT/HE.

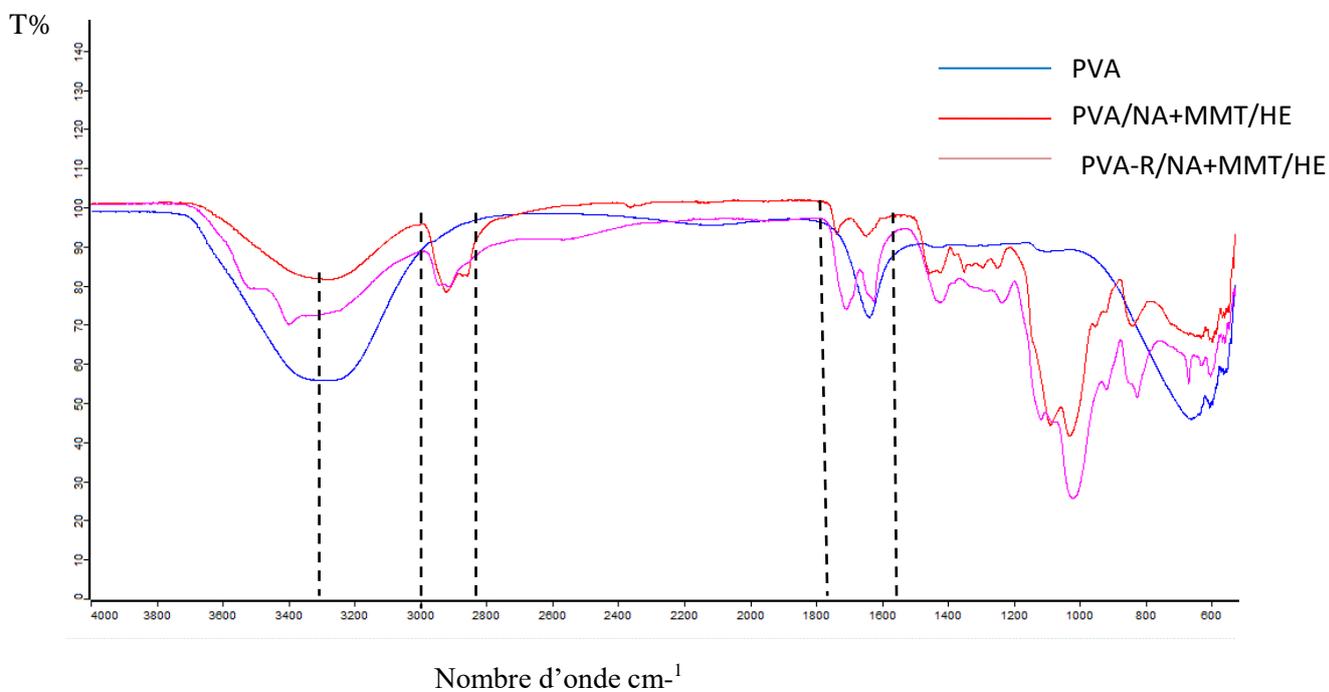


Figure 4.10 : Spectre infrarouge de PVA, PVA/NA+MMT/HE, PVA-R/NA+MMT/HE.

Les spectres infrarouges du HE, PVA, Na+MMT ainsi ceux des différentes membranes PVA /Na+MMT/HE et PVA-R/Na+MMT/HE sont représentés dans les Figures 4.9 et 4.10.

La bande d'absorption caractéristiques de l'argile MMT, à 3600 cm^{-1} est liée aux groupes Al-OH et Si-OH (vibrations d'élongation des groupements OH de la couche octaédrique) , Le pic centré vers 1640 cm^{-1} correspond a les molécules d'eau H_2O adsorbées entre les feuillets de la montmorillonite, Une bande d'intensité moyenne à 850 cm^{-1} caractéristiques aux liaisons C-O , Une bande très intense située entre $990\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ correspond aux vibrations de valence de liaison Si-O , Les bandes situé autour de $600\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ correspondent aux liaisons Si-O-Si et liaison Si-O-Al (tétraédrique).

Le spectre du PVA pur montre une large bande centrée à 3322 cm^{-1} attribuée aux vibrations d'élongation du groupement hydroxyle du polyvinyl alcool, cette bande d'absorption dans les membranes composites se déplace légèrement vers de faibles longueurs d'onde à 3318 cm^{-1} en raison de la présence de liaisons hydrogènes entre ces groupements et les particules de montmorillonite Na^+MMT , un comportement similaire a été rapporté dans la littérature [83].

Pour les hybrides Na+MMT/HE, De nouvelles bandes apparaissent à 1645 , 1460 , 1420 et 1280 cm^{-1} ; ces bandes ne sont pas présentes dans le spectre Na^+MMT , mais ces bandes sont identifiées dans l'HE d'origan. Ces dernières sont attribuées à l'étirement des groupes aliphatiques.

Pour les membranes composites, une variation des bandes à 2920 et 2845 cm^{-1} a été observée, et attribuées à la vibration d'étirement C-H des liaisons CH_2 aliphatiques. Ce groupe de bandes était un indicateur fort de l'adsorption de l'huile essentielle d'origan, sur le Na^+MMT en raison de l'absence de bandes dans cette plage dans le spectre du Na^+MMT pur.

L'augmentation de l'intensité de ces bandes est due au fait que l'HE d'origan possède de larges bandes dans la région $3000\text{-}2800\text{ cm}^{-1}$, ce qui indique un chevauchement de ces bandes.

Pour tous les membranes et l'HE d'origan, on observe une bande à $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ attribuée à une liaison O-H lié à l'hydrogène.

Dans la gamme des nombres d'onde de 1500 cm^{-1} et 1000 cm^{-1} , plusieurs bandes ont été observées pour tous les membranes, qui ont été attribuées à la flexion C-H des groupes

aliphatiques (CH₂). Il est à noter que leur chevauchement avec celles du spectre Na+MMt n'est pas attendu.

Les composites présentent une bande large allant de 1069 à 944 cm⁻¹ indiquant l'étirement Si-O.

Les pics observés à 1651 et 1725 cm⁻¹ indiquent clairement l'existence d'un étirement due aux groupements -CO-CH=CH- formé lors de la réaction de réticulation du PVA avec l'acide maléique, qui entraîne la formation d'un ester insaturé par réticulation.

4.4.4 Caractérisation des membranes PVA/OMMT/HE

Le spectre infrarouge de la montmorillonite modifié (organophile) OMMT ainsi la membrane PVA/OMMT/HE sont présenter dans la figure :

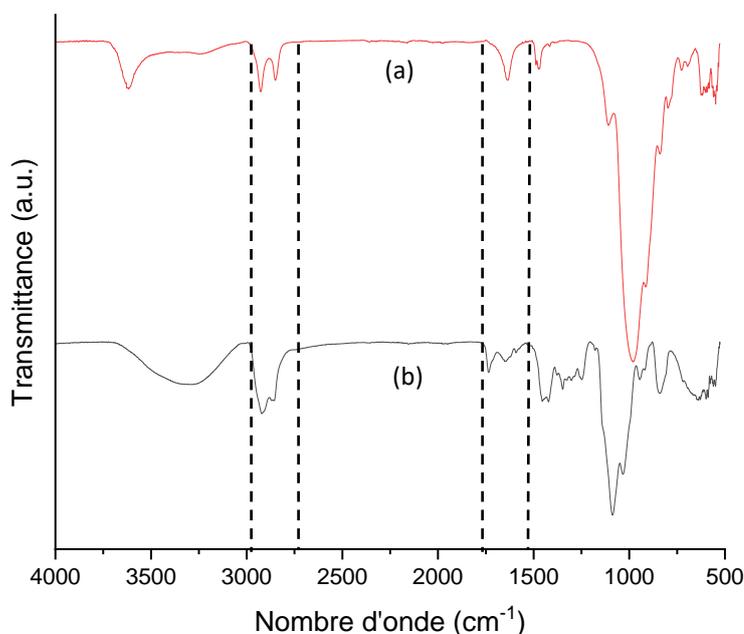


Figure 4.11 : Spectre infrarouge du (a) : OMMT (b) : PVA/OMMT/HE

Dans les spectres de MMT organophile, des bandes approximatives ont été observées dans les régions de 2920 et 2850 cm⁻¹, correspondant à l'étirement symétrique et asymétrique, respectivement, des groupes CH₂ de la chaîne organique du sel d'ammonium quaternaire incorporé dans l'argile. Ce groupe de bandes était un aussi indicateur fort de l'adsorption de l'huile essentielle d'origan, sur le OMMT. Une bande à 1450 cm⁻¹ est attribuée à la vibration de flexion des groupes N-H.

Dans les spectres MMT modifiés on observe des bandes d'absorption caractéristiques des groupes OH (vibrations d'étirement au nombre d'onde 3400-3700 cm^{-1} et vibrations de flexion à 1600-1700 cm^{-1}).

Pour tous les MMT modifiés testés, un rétrécissement du pic à 1000 cm^{-1} a été observé. Cela peut indiquer que les vibrations des groupes Si-O ont cessé de se chevaucher, ce qui a entraîné un élargissement des couches dans le MMT.

D'autres modifications peuvent être observées dans les bandes à 2925, 2850, 1645, 1460 et 1370 cm^{-1} , ces bandes peuvent être interprétées comme un chevauchement des bandes dues à l'agent organo-modificateur de l'argile. Ce spectre montre l'incorporation du CTAB dans les couches intermédiaires de l'argile Na+MMT.

En général, toutes les variations observées dans les spectres IRTF peuvent confirmer l'incorporation et l'adsorption des HEs dans les argiles supportées dans le PVA.

4.5 Résultats de la libération prolongée par fumigation

Outre la protection des composés bioactifs contre la dégradation, la libération prolongée dans des milieux spécifiques est l'un des objectifs de la technologie de l'encapsulation de l'HE

Après avoir analysé l'absorbance toutes les 24h de la solution du méthanol dont le coton a absorbé l'huile essentielle, ainsi la détermination des concentrations on a pu calculer les masses de l'HE libérer .Le profile de la libération de l'HE non stocké ainsi l'HE adsorbé dans les membranes Na^+MMT et OMMT et greffé dans le PVA en fonction du temps est donné dans la figure 4.12 :

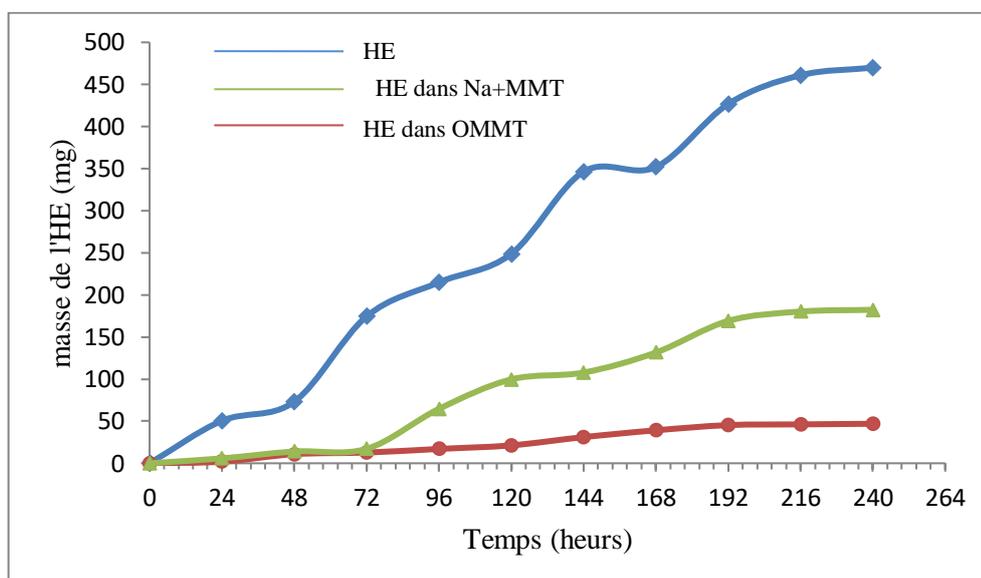


Figure 4.12: Résultats de libération par fumigation.

Le profil de la libération de l'HE n'est pas linéaire. On observe que l'HE (non encapsulé) a montré le plus grand taux de libération au cours du temps, ce qui pourrait être évident à cause de sa nature volatile et puisque l'huile a peu ou pas de restriction pour migrer dans l'atmosphère environnante, par conséquent, l'HE se diffuse facilement sans action contrôlable.

Il convient de noter que la quantification exacte de l'HE reste assez difficile car il s'agit des molécules très volatiles. Ainsi cette HE été adsorbé dans les réservoirs composites préparés pour prolongé et contrôler leurs propriétés de libération et par la suite réguler leurs avantages maximums.

En outre, les composites utilisés comme supports sont principalement conçus pour être faciles à manipuler afin d'être utilisables à grande échelle.

La diffusion de l'HE par Na⁺MMT suit un profil non linéaire progressive avec une quantité conservée et qui est en évolution avec le temps, cependant La différence d'adsorption des HE par les deux argiles différentes (Na⁺MMT et OMMT) peut être attribuée à la nature des interactions entre les molécules organiques des composants principaux des HEs et la nature des argiles. Par conséquent la quantité de l'HE adsorbé dans OMMT est plus importante par rapport Na⁺MMT, en raison de l'affinité d'OMMT avec l'HE (nature hydrophobe) ce qui facilite la libération.

L'impact des membranes réservoirs composite est donc clairement visible dans la Fig.4.12, la libération de l'HE a été ralentie puisque les membranes ont libéré presque la totalité du HE environ 10 jours plus tard.

Le déplacement des huiles essentielles encapsulées vers l'extérieur est généralement réalisé par leur diffusion à travers les réservoirs composites, Le taux de diffusion diminue souvent progressivement avec le temps, et il est donc intéressant d'étudier la cinétique afin d'évaluer l'efficacité d'une membrane pour la libération d'huiles essentielles.

Discussion :

L'HE pur non encapsulé a présenté un profil de libération très rapide, alors que, dans les échantillons de composites encapsulés, cette libération se produit progressivement, à un taux presque constant. L'adsorption de l'HE ralentit ensuite le taux d'évaporation de l'huile essentielle de manière à prolonger sa libération

La libération prolongée de l'HE a donc été obtenue avec succès après un choix judicieux du support.

Les résultats ci-dessus mettent en évidence l'effet significatif de l'utilisation de la MMT comme réservoir de l'HE, suivie d'un greffage dans un polymère PVA pour prolonger le taux de libération de l'HE dans l'atmosphère.

Enfin, il a été constaté que la période utilisée dans cette étude n'était pas suffisante pour valider le comportement de libération complète de ces réservoirs composites, indiquant qu'il serait nécessaire de réaliser des études ultérieures à des temps plus longs.

4.6 Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et les membranes PVA/Na⁺MMT/HE et PVA/OMMT/HE

La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition. L'échelle de mesure de l'activité antibactérienne de l'HE ainsi les membranes PVA/Na⁺MMT/HE et PVA/OMMT/HE est testée sur les souches bactériennes référencées est réparti en 4 classes :

Fortement inhibitrice : lorsque le diamètre est > 20mm ;

Modérément inhibitrice : le diamètre de la zone est compris entre 15mm et 19 mm ;

Légèrement inhibitrice : le diamètre de la zone est compris entre 9 mm et 14 mm ;

Non inhibitrice : lorsque le diamètre de la zone est <8mm.

4.6.1 Activité antimicrobienne de l'huile essentielle

Tableau 4.5 : Représentation des zones d'inhibition de l'huile essentielle d'*O.floribundum* pur sur les différentes souches.

Les souches testées	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	31
<i>pseudomonas aeruginosa</i>	14
<i>E. coli</i>	20
<i>Staphylococcus aureus</i>	36

Les résultats obtenus montrant que l'HE d'origan pure a une activité antibactérienne marqué vis-à-vis tous les souches testées, avec des diamètres varies de 14 à 36 mm. Le plus grand diamètre d'inhibition a été observé pour la souche *Staphylococcus aureus* (36mm), puis *Klebsiella pneumoniae* (31mm). Cependant, les souches *E. coli* et *pseudomonas aeruginosa* ont été moins sensibles.

4.6.2 Activité antibactérienne des membranes synthétisées

Tableau 4.6: Représentation des zones d'inhibition de l'HE d'*O.floribundum* stocké dans les membranes synthétisées sur les différentes souches.

Les souches testées	Membranes tester	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	PVA-R /Na+MMT/HE	17
<i>pseudomonas aeruginosa</i>	PVA/Na+MMT/HE	16
<i>E. coli</i>	PVA/OMMT/HE	19
<i>Staphylococcus aureus</i>	PVA/OMMT/HE	23

Les résultats indiquent aussi que les membranes synthétisées possèdent une forte activité antibactérienne dont la croissance de *Klebsiella pneumoniae* (gram -) a été modérément inhibé par la membrane PVA-R /Na+MMT/HE synthétisé avec un diamètre de 17mm.

Et les membranes PVA/Na+MMT/HE (non réticulé) a indiqué un effet inhibiteur contre *Pseudomonas aeruginosa* (16mm).

Les membranes PVA/OMMT/HE montré une activité antibactérienne accrue contre *E.coli* avec un diamètre de (19 mm).

Pour la bactérie Gram + (*Staphylococcus aureus*) a montré une inhibition élevée par la membrane PVA/OMMT/HE avec un diamètre de 23 mm.

Discussions

Plusieurs études ont porté sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'origan. Une forte activité antibactérienne a été attribuée aux composés phénoliques présents, à savoir le carvacrol, le thymol et le linalol. Cela est confirmé dans nos résultats.

Selon la littérature, les bactéries Gram-négatives sont considérées comme plus résistantes que les Gram-positives en raison de leur membrane externe, qui restreint la diffusion des composés hydrophobes à travers leur enveloppe lipopolysaccharidique. Il est donc largement reconnu que l'HE est très efficace contre les micro-organismes Gram-positifs. Cependant, il y a quelques limitations en ce qui concerne les bactéries Gram-négatives, puisque les huiles essentielles attaquent principalement la membrane

phospholipidique des cellules, mais pas la couche externe. Ainsi, pour optimiser l'activité antibactérienne des HEs, il est courant de les associer à d'autres composés, tels que les argiles, les biopolymères, les sels, et des lipides [84]. Dans ce travail, nous avons associé les HE d'origan à de la montmorillonite supporté dans un polymère PVA pour améliorer les propriétés antibactériennes.

Les membranes synthétisées ont entraîné un effet antibactérien, probablement en raison de la déstabilisation et de la destruction partielle de la membrane cellulaire des bactéries.

Il est important de mentionner que l'acidité des huiles essentielles à concentration élevée n'est pas efficace, donc il est nécessaire de diluer ces huiles en diminuant leurs concentrations via un stockage dans les membranes réservoir composite ainsi booster leur activité antibactérienne.

On peut conclure que les HEs sont actif vis-à-vis les souches bactériennes, cependant les HEs stocker entre des lamelles de MMT et supporté dans le PVA possédant des avantages, tels que l'imprégnation des HEs dans les membranes, ce qui permet de les utiliser directement comme un patch pour une application antiseptique a un effet prolongé.

CONCLUSION

La recherche de nouvelles techniques pour la lutte contre les infections et les infestations constituent un challenge au niveau scientifique surtout pour les nouvelles pathogènes et fléau.

Jusqu'à présent l'utilisation des huiles essentielles comme moyen de lutte est très limitée à cause des propriétés intrinsèques des HEs.

A cet effet l'encapsulation et le stockage des HEs dans des réservoirs constituent une alternative pour l'utilisation et le contrôle de l'activité de l'HE utilisé surtout dans le cas de fixation de ces réservoirs sur des supports polymériques.

C'est ainsi que le stockage de l'huile essentielle de l'origan (extraite par hydrodistillation) dans la montmorillonite supporté dans un polymère PVA est mise en évidence dans ce travail.

Cette étude a été riche en résultats et qui sont les suivants:

Le rendement en HE obtenu par hydrodistillation est de 1.77%, la cinétique d'extraction des HE d'origan à l'échelle du laboratoire, a permis de déduire qu'après 1h30 d'extraction, la totalité de l'HE est récupérée.

La caractérisation de l'HE par CG/SM, a permis d'identifier 16 composés représentant 100% de la composition totale de l'HE. Le p-Cymène est le composé majoritaire de l'HE avec une teneur de 26.65%, suivi du thymol avec une teneur de 25.11% puis γ -Terpinene à 23.57% et le carvacrol avec une teneur de 12.05% de la composition globale.

Dans le deuxième volet de cette étude, une série de membranes composites PVA /Na+MMT /HE et PVA /OMMT/HE ont été mises au point, en dispersant l'HE adsorbé dans la MMT (sodique et modifiée) dans la matrice PVA, un polymère de nature hydrophile, l'un des atouts intéressants de ce polymère est son bon gonflement dans l'eau, pour réduire ce gonflement excessif, due à l'hydrophilie induite par incorporation de l'argile nous avons procédé à une réticulation in-situ avec l'acide maléique.

Les membranes composites réservoirs ont été caractérisées par analyses infrarouge, L'IRTF a confirmé que les deux argiles ont adsorbé les HE, il a été conclu que la MMT a une grande affinité pour adsorber l'HE d'origan ce qui peut être lié à la nature polaire du p-

cymène le composant principal de l'HE. L'analyse indiquée aussi une forte interaction chimique entre les groupes OH du PVA et le MMT, formant de nouvelles liaisons hydrogène.

Les réservoirs composites Argile/HE encapsulés dans le polymère PVA ont modulé la libération continue d'HE pendant les périodes d'évaluation à un taux constant.

Les membranes composites ont montré un comportement antibactérien important vis-à-vis de tous les microorganismes testés tels que : *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus*, en raison de la diminution de la concentration de l'HE d'origan stocké (comportement dilué) dans les membranes, ce qui attribue une meilleure efficacité antibactérienne.

Donc, la combinaison de facteurs tels que la capacité d'adsorption de chaque sorte d'argile et le type de polymère dans le réservoir permis de moduler le taux de libération des composants aromatiques des huiles essentielles. Cela pourrait contribuer à la conception de réservoirs pour la libération prolongée d'HE pour de nombreuses utilisations telles que l'application antibactérienne.

Les expériences rapportées dans cette étude ont abouti à plusieurs résultats prometteurs. Néanmoins, de nombreux points doivent être étudiés dans le futur :

- Tester d'autres polymères (biopolymères par exemple) et la comparaison avec les polymères synthétiques.
- Etudier la libération prolongée de membranes obtenues par la méthode d'adsorption/évaporation.
- La caractérisation des membranes synthétisées avec d'autres techniques comme l'ATG, DRX.
- Suivre la cinétique de libération de l'HE à une durée plus prolongée.
- L'utilisation de la méthode CG/SM pour l'étude de libération prolongée.
- L'application du système composite réservoir comme antiviral.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]: Aurica, P., Chiriac, G., Rusu, E., Vlad, M. Chiriac, Iordana, N., and Alina, S., “Polymeric Carriers Designed for Encapsulation of Essential Oils with Biological Activity” *Pharmaceutics* vol 13, Avril, 2021, pp,15.
- [2]: Bilia, A.R., “Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach”. *Evid Based Complement. Med* (2014), pp, 15-18.
- [3]: Akdim, L., “Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de *Copaifera Officinalis* L. en vue d'une application en cosmétique” 2016-2017, pp, 11-12.
- [4]: Qodratollah, S., Hanan, G., “Continuous release of oregano oil effectively and safely controls *Varroa destructor* infestations in honey bee” vol 72 *Appl Acarol* (2017), pp, 263–275 DOI 10.1007/s10493-017-0157-3.
- [5]: Calpouzos, L., “Botanical aspects of oregano”. *Econ. Bot.* vol 8, (1954), pp, 222–233.
- [6]: Baser, K.H.C.; Buchbauer, G., “Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications” CRC Press: Boca Raton, FL, USA, (2015), 975P. ISBN 978-1-4200-6315.
- [7]: Marquiss, J., “A History of Oil of Oregano Herbal roots”, (2019), URL: <https://herbalrootssupplements.com/blogs/herbal-history/a-history-of-oil-of-oregano>.
- [8]: Schuetz, B., “Oil of Oregano: nature’s antiseptic and antioxidant” Library of congress cataloguing in publication data: healthy living publication, USA, (2016), pp, 40-47 ISBN/978-1-57067-329-0.
- [9]: Z. Xu, L. Chang, “Identification and Control of Common Weeds” Zhejiang University Press, Hangzhou and Springer Nature Singapore Pte Ltd. 181P vol 3, (2017) DOI 10.1007/978-981-10-5403-7_8.
- [10]: Alagawany Mahmoud, M., Abd El-Hack, E., Mayada R. Farag, Hazem M., Mervat A. Abdel-Latif, K., Ahmed, E., “The applications of *Origanum vulgare* and its derivatives in human, ruminant and fish nutrition – a review” Vol. 20, No. 2 (2020), pp, 389–407.
- [11]: Mahfouf, N., “Étude de l’espèce *Origanum vulgare* L’”, thèse en vue de l’obtention d’un diplôme de doctorat Spécialité: Écotoxicologie, Environnement et Santé, faculté des sciences de la nature et de la vie département de biologie Juillet, 2018, pp, 78-85.

- [12]: Anonym., "Genus: Origanum" Germplasm Resources Information Network. United States Department of Agriculture. (2004), pp, 09-10.
- [13]: Simpson, M., Michel, G., "Plant systematic" edition Elsevier academic press, California, (2006), pp,590.
- [14]: Letswaart, J.H., "A taxonomic revision of the genus Origanum" (Labiatae), Leiden Botanical series 4 Leiden university press: Le Hague. (1980),153P.
- [15]: Hazzit, M., "Etude de la composition chimique des huiles essentielle de différentes espèces de thym et d'origan poussant en Algérie" thèse de doctorat en chimie, université des sciences et de la technologie Houari Boumedienne Alger (2008), pp,204.
- [16]: El Asbahani, A., Miladi, K., Badri W, Sala, M., Aït Addi, E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., "Essential oils: From extraction to encapsulation" International Journal of Pharmaceutics (2015) 483, pp, 220–243.
- [17]: Kaloustian, J., Hadji-Minaglou F. "La connaissance des huiles essentielles". Qualitologie et aromathérapie. Springer (2012), 210P.
- [18]: Fernandez, X., Chemat, F. "La chimie des huiles essentielles". Editions Vuibert vol 30 (2012), pp, 288-289.
- [19] : Paris, M. et Hurabielle, M. "Abrégé de matière médicale (pharmacognosie)" Tome. Ed. Masson (1981), 339P.
- [20] : Bego, Ph., " Connaître l'essentiel sur les huiles essentielles" Collection aromathérapie pratique et familiale, Ed. MDB Paris, (2001), pp.2-3.
- [21]: Cicchetti, E., Merle, P., Chaintreau, A., "Quantitation in gas chromatography: usual practices and performances of a response factor database." Flavour Fragr J (2008) 23:450–9, pp, 240-245.
- [22]: Kühnle, M., Kreidler, D., Holtin, K.; Czesla, H., Schuler, P., Schaal, W., Schurig, V., Albert, K., "Online coupling of gas chromatography to nuclear magnetic resonance spectroscopy: Method for the analysis of volatile stereoisomers". Anal. Chem., (2008) 80, 5481- 5486, pp, 250-253.
- [23] : Laouer, H., "Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles

essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*'' . Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, UFA de Sétif. (2004), pp,150-155.

[24]: Padulosi, S.,''Oregano. Proceeding of the IPGRI International workshop on Oregano'' Valenzano (Bari), Italy; IPGRI: Rome, Italy (1997).

[25]: Nayely Leyva-López Erick, P., Gutiérrez-Grijalva, G., Vazquez, O., '' Essential Oils of Oregano: Biological Activity beyond Their Antimicrobial Properties'' , (2017) 22(6), pp, 989, <https://doi.org/10.3390/molecules22060989> .

[26]: Gounaris, Y., Skoula, M., Fournaraki C., Drakakaki, G., Makris, A. ''Comparison of essential oils and genetic relationship of *Origanum × intercedens* to its parental taxa in the island of Crete. Biochem'' . Syst. Ecol. Vol 30, (2002), pp,249-258.

[27]: Han, F., Ma, G.-Q., Yang, M., Yan, L., Xiong, W., Shu, J.-C., Zhao, Z.-D., Xu, H.-L.,'' Chemical composition and antioxidant activities of essential oils from different parts of the oregano''. J. Zhejiang Univ. Sci. B vol 18 (2017), pp, 79–84.

[28]: Arslan, M., Uremis, I., Demirel, N. ''Effects of sage leafhopper feeding on herbage colour, essential oil content and compositions of turkish and Greek oregano''. Exp. Agric. Vol 48 (2012), pp,428–437.

[29]: Benjilali, B., ''Etude de trois plantes aromatiques et médicinales du Maroc: armoises, thym et origan. Chimie de leurs huiles essentielles, chimiotaxonomie et propriétés antimicrobiennes''. Doctorat ès-Sciences Agronomiques IAV Hassan II. Rabat – Maroc (1986).

[30]: Mariangela, A., ''*Origanum* spp.: an update of their chemical and biological profiles'' (2010), pp, 50-53.

[31]: Svobod, P and Svoboda, G., « Secretory structure of aromatic and medicinal plants », Polly M Syred, UK (2000), 60P.

[32]: Stahl-Biskup, E. And Saez, F., ''Thyme. The genus *Thymus*'' Taylor and Francis (2002), 330P.

[33]: Liang, W.Z., Lu, C.H., ''Carvacrol-induced [Ca²⁺] rise and apoptosis in human glioblastoma cells''. Life Sci, (2012). 90, pp,703–711.

- [34]: Sheibani, V., Hajjalizadeh, Z. "Evaluation of *Origanum vulgare* L. ssp. *viridis* leaves extract effect on discrimination learning and LTP induction in the CA1 region of the rat hippocampus." *Iran J. Basic Med. Sci.*, vol 14, (2010), pp, 161–169.
- [35]: Simeon, M., "L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. et de ses constituants". Thèse d'Etat de Docteur en Pharmacie, Faculté de Pharmacie, Montpellier, (1976), pp, 135-159.
- [36]: Dorman, H.J. and Deans S.G., "Anti-microbial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, vol 88, (2000), pp, 308-316.
- [37]: Juliano, C., Matiana A., and Usai M., "Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia". *J. Essential Oil Res.*, vol 12, (2000), pp, 516-522.
- [38] : Bouchikhi, T., "Activité antimicrobienne de quelques huiles essentielles." Thèse de Doctorat en microbiologie, Université Blaise Pascal. (1994), pp, 106.
- [39]: Schuetz, B., "Oil of Oregano: nature's antiseptic and antioxidant" *Library of congress cataloguing in publication data: healthy living publication, printed in USA*, (2016), pp, 54-58, ISBN/978-1-57067-329-0.
- [40]: Mohamed, N.E., "Protective effect of origanum oil on alterations of some trace elements and antioxidant levels induced by mercuric chloride in male rats". *Biol. Trace Elem. Res.*, (2017), pp, 49–56.
- [41]: Orhan, I.E., Özçelik, B., Kartal, M., Kan, Y., "Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected Umbelliferae and Labiatae plants and individual essential oil components". *Turk. J. Biol* vol 36. (2012), pp, 239–246.
- [42]: Elizaquivel, P., Azizkhani, M., Aznar, R. and Sanchez, G "The effect of essential oils on norovirus surrogates". *Food Control*. (2013), pp, 275–278.
- [43]: Remmal, A., "Activités antibactériennes et antivirales des huiles essentielles d'Origan, de Girofle et Thym". Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Dhar El Mehraz, Fes, Marocco. (1994), pp, 121-126.
- [44] : Asmae Bakkali, A., Amal El, A., "Activité Acaricide Des Huiles Essentielles Du *Mentha Pulegium*, *Origanum Compactum* Et *Thymus Capitatus* Sur L'acarien Phytophage

Tetranychus Urticae Koch (Acari : Tetranychidae)” (2018), pp, 50-52
DOI: [10.19044/esj.2018.v14n3p118](https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n3p118).

[45] : Kerdudo, A., Antipolis N.S. & Directeur C., “Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation “, recherche de nouveaux conservateurs naturels, (2015), pp, 36-41.

[46]: Bilia, A.R., Guccione, C., Isacchi, B.; Righeschi, C., Firenzuoli, F., Bergonzi, M.C., “Essential oils loaded in nanosystems: A developing strategy for a successful therapeutic approach”. Evid. Based Complement. Alternat. Med. (2014), pp, 51-60.

[47]: Chloë, M., Sandrine, B., and Marie-Laure, F., “Encapsulation of Essential Oils for the Development of Biosourced Pesticides with Controlled Release: A Review” Juliet, 2019, pp, 7-8.

[48]: Fernandes Nassar, S., Dombre, C., Gastaldi, E., Touchaleaume, F., Chalier, P. “Soy protein isolate nanocomposite film enriched with eugenol, an antimicrobial agent: Interactions and properties”. J. Appl. Polym. Sci. (2018), 135P.

[49]: Sibanda, W., Pillay, V., Danckwerts, M.P., Viljoen, A.M., Van Vuuren, S., Khan, R.A., “Experimental design for the formulation and optimization of novel cross-linked oilispheres developed for in vitro site-specific release of Mentha piperita oil”. AAPS Pharm SciTech (2004), 5P, E18.

[50]: Ramos-Torres, R., Borges-Argáez, L., and Gonzalez-Ch, F., “Nanostructured chitosan-palygorskite hybrid microspheres for controlled delivery of thymol” Mater. Res. Express 8 (2021), 105010.

[51] : Alana Gabrieli de Souza, A., Nathalie Mirelle Agostinho dos Santos, B., Rondes Ferreira da Silva Torin, B., Derval dos Santos Rosa, A., « Synergic antimicrobial properties of Carvacrol essential oil and montmorillonite in biodegradable starch films » nternational Journal of Biological Macromolecules Volume 164, 1 December 2020, pp, 1737-1747.

[52]: Azeredo, H., “Food Res”. Int. 42 (9) (2009), pp, 1240–1253.

[53]: Usuki, A., Kojima, Y., Kawasumi M, Okada, A., Fukushima, Y., Kurauchi, T., et al. “Synthesis of nylon 6-clay hybrid.” J Mater Res. Vol 8, (1993), 1179P.

- [54]: Deer, W., Howie, R., Zussman, J., "Rock forming Minerals", Volume 3, Longmans, New York, (1965).
- [55]: Edelmann, C.H., and Favejee, Z.F., *Krist*, Vol 102, (1940).
- [56]: Derafa, G., "Synthèse et caractérisation de montmorillonite modifiée : Application à l'adsorption des colorants cationiques" magister Option : Génie Chimique (2014), pp, 35-38.
- [57]: Vitthal, S., Kulkarni Ph.D., Charles Shaw Ph.D. "Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages," *Use of Polymers and Thickeners in Semisolid and Liquid Formulations* (2016) , pp, 98-120.
- [58]: Belamri, I., Hioul, S., "Synthèse de molécule pharmaceutique par catalyse hétérogène en présence de la MMT traité " mémoire Pour l'obtention du diplôme de Master Option : Génie des Procédés des Matériaux, Juillet, /2019, p, 20-23.
- [59]: Xidas, PI., Triantafyllidis, KS., "Effect of the type of alkylammonium ion clay modifier on the structure and thermal/mechanical properties of glassy and rubbery epoxyclay nanocomposites". *Eur Polym J.* (2010) ,46:404–17.
- [60]: Livi, S., "Elaboration et caractérisation de nanocomposites à base de polyéthylène et de montmorillonite modifiée par des liquides ioniques". Thèse de Doctorat, Université de Caen France. (2007), pp, 35-38.
- [61]: Chirowodza, H., « Synthesis and characterization of cationically and anionically modified poly (vinyl alcohol) microfibrils », University of Stellenbosch, (2009), 6P.
- [62]: Leonard-Ionut, A., « Contribution à l'étude des complexes poly (vinyle alcool-vinyle acétate) / tensioactifs anioniques : Caractéristiques colloïdales des nanogels et extension aux copolymères à blocs » Thèse de doctorat, université de haute alsace (2010).
- [63]: Demerlis, C., Schoneker, D.R., Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). *Food Chem. Toxicol.* Vol 41, (2003), pp, 319–326.
- [64]: Limpan, N., Prodpran, T., Benjakul, S., Prasarpran, S., "Influences of degree of hydrolysis and molecular weight of poly (vinyl alcohol) (PVA) on properties of fish myofibrillar protein/PVA blend films". *Food Hydrocoll.* Vol 29, (2012), pp, 226–233.

- [65]: Yang, J.M., Su, W.Y., Leu, T.L., Yang, M.C., "Evaluation of chitosan/PVA blended hydrogel membranes". *J. Membr. Sci.* Vol 236, (2004), pp, 39–51.
- [66] : Meghlaoui, B., « Elaboration et caractérisation des mélanges à base de polyvinyle alcool et de diisocyanate renforcés par la farine de bois » Université M'hamed Bougara-Boumerdes- (2012), pp, 33-36.
- [67]: ZJing, T., Weiping and X.Zhengbin "Research progress in polyvinyl alcohol modification" *China Synth. Fiber Ind.*28.Vol 1, (2005), pp, 57-60.
- [68]: Allel, A., " Synthèse et caractérisation d'une membrane polymérique sélective à base d'un polymère organique" université Saad Dahlab Blida 1 faculté de technologie département de génie des procédés thèse de doctorat spécialité : Génie des Procédés Organique (2021).
- [69]: Jose, T., George, S.C., Thomas, S, "Tunable physicochemical properties of PVA nanocomposite membranes for enhanced pervaporation performance". *Polym Eng Sci.* (2018), 58:21–5.
- [70]: Kerdudo, A., "Optimisation de la conservation des cosmétiques: Impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation". Ph.D. Thesis, University of Nice, France, Mars, 2015.
- [71] : Dheebika, N et al., "Formulation of essential oil-loaded chitosan–alginate nanocapsules" *Journal of Food and Drug Analysis* Vol 23, Issue 3, Septembre, 2015, pp, 560-568.
- [72]: Roberto, S., "Structure–property relationship and controlled drug release from multiphasic electrospun carvacrol-embedded polylactic acid/polyethylene glycol and polylactic acid/polyethylene oxide nanofiber" Octobre, 2018 49(7):15280837188013.
- [73]: Kfoury, M., Auezova, L., Greige-Gerges, H., Fourmentin, S., "Promising applications of cyclodextrins in food: Improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity". *Carbohydr. Polym.* Vol 131, (2015), pp, 264–272.
- [74] : Nikolaos, A., David J. Am Ende "Controlled release of perfumes from polymers: Incorporation and release of essential oils from glassy polymers" *journal of applied polymer sciences.* Décembre, 1998.

- [75]: Li Wang, M., Dekker Jenneke, H., "Carvacrol release from PLA to a model food emulsion: Impact of oil droplet size" *Food Control* Mars, 2020 114:107247
- [76]: Cristian, D., Livia, P., Alina, C., , Petru, A., Ștefan, D., "The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules" (2021), pp, 25-29.
- [77]: Quezel, P., et Santa, S., « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques » Tome 2, Edition de centre national de la recherche scientifique Paris (1963), pp, 600.
- [78]: Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F., et Chefrour, A., « Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie) » août, 2016, pp, 56-58.
- [79]: Khebichat, A., « évaluation de l'activité antimicrobienne de cendre de bois » (2013), pp, 68-70
- [80]: Baser, K.H.C., "Composition of the essential oil of *origanum flotibundum* Munby from Algeria " *journal of essential oil research*, Vol 12, (2000), pp, 753-756.
- [81]: Brada, M., "The Essential Oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum floribundum* Munby in Algeria" *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, Vol 15, (2012), pp, 497-502.
- [82]: Boulaghmen, F., " Extraction des huiles essentielles de l'origan " *Mémoire de magister en Biotechnologie végétales*. Mai,2012, 80P.
- [83]: Karimi, A., Wan Daud, WMA., "Materials, preparation, and characterization of nanocomposite hydrogels": A review. *Polym Compos*, (2017), pp,86–102.
- [84]: Quesada, E., "Antimicrobial active packaging including chitosane films with *Thymus vulgaris* L. essential oil for ready-to-eat meat, *Foods* 5 (2016),pp, 57-70.

ANNEXES

1. Souches bactériennes référencées utilisées



Klebsiella pneumoniae



Escherichia coli (E.coli)



Pseudomonas aeruginosa



Staphylococcus aureus

2. Huile essentielle obtenu dans un flacon opaque



Figure : HE obtenu dans un flacon opaque

3. Détermination d'indice d'acide



Figure : Détermination d'indice d'acide

4. Détermination des indices de Kowats (indice de rétention)

La formule :

$$I_{rx} = 100n + 100(t_x - t_n) / (t_{n+1} - t_n)$$

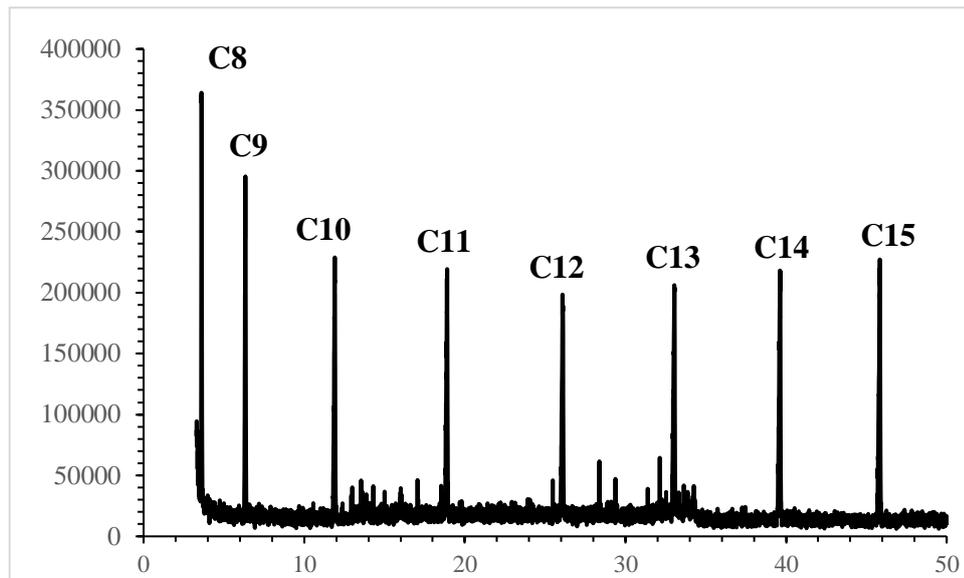


Figure : spectre d'alcane

Exemple : temps de rétention de thymol

$$134.646 = 100 \left(\frac{(34.646 - 26.086)}{(33.032 - 26.086)} \right) + 100 \times 12 = 1323$$

5. Protocole de la purification de la bentonite

Le traitement préliminaire de la bentonite naturelle par homoionisation sodique consiste, non seulement, à la débarrasser de toutes les phases cristallines (quartz, feldspath, calcite...), mais aussi à remplacer tous les cations échangeables de natures diverses par des cations de sodium tous identiques. Il permet aussi d'avoir des fractions granulométriques bien définies, de taille inférieure à 2 micromètres ($< 2 \mu\text{m}$), qui correspondent à la montmorillonite homoionique sodique

Du point de vue pratique, ce procédé de purification consiste à disperser une masse donnée de l'échantillon de bentonite brute naturelle dans un certain volume d'eau distillée, en proportions (0,4 % p/p), que nous soumettons à une bonne agitation mécanique pendant 3 à 4 heures jusqu'à l'homogénéisation complète de la suspension.

Les échantillons de bentonites sont rendus homoioniques sodiques (bentonites- Na) grâce à cinq traitements successifs à l'aide d'une solution de chlorure de sodium NaCl (1 M). Cette opération est suivie par plusieurs lavages successifs avec l'eau distillée.

Par cette méthode, nous récupérons uniquement la montmorillonite sodique qui constitue la couche gonflante sus-jacente du solide. Les suspensions montmorillonitiques sont mises dans des cylindres gradués à sédimentation (éprouvette de 2 L) gardées à température ambiante, le temps et la profondeur du prélèvement dépendent des dimensions des particules de la fraction.

Par un calcul simple, basé sur la loi de Stokes, on peut déterminer les temps nécessaires pour que les particules de diamètre supérieur à 2 μm se trouvent en dessous de 10 cm de profondeur. La fraction montmorillonitique dont la taille des particules est inférieure à 2 μm est siphonnée par aspiration, à l'aide d'une pipette Robinson-Köhn.

Les lavages successifs de la bentonite à l'eau distillée ne permettent pas l'élimination de tous les sels. Au fur et à mesure que la concentration du sel dans la suspension diminue, la séparation solide/liquide devient très difficile. C'est pourquoi, nous procédons à une séparation par centrifugation. Enfin pour éliminer les sels résiduels, nous procédons au traitement final des échantillons par dialyse. Les montmorillonites sodiques en suspension ainsi obtenues et mises dans des sacs à dialyse (cellophane), plongés dans de grands récipients (bêchers de 3 L) remplis à moitié par de l'eau distillée. Celle-ci est changée régulièrement toutes les 24 heures jusqu'à ce que le test au nitrate d'argent s'avère négatif.

Il faut signaler à ce passage que la dialyse ne doit pas être poursuivie trop longtemps si l'on veut éviter l'hydrolyse de l'argile : une fraction de magnésium Mg et d'aluminium Al de la couche octaédrique peut être libérée et vient occuper les sites d'échange au détriment du sodium Na.

6. Préparation des hybrides HE d'origan/Na+MMT



Figure : les étapes de préparation des hybride HE d'origan/Na+MMT

7. Les étapes de la modification organophile de la MMT





Figure : Traitement organophile de la MMT

8. Méthode évaporation/adsorption



Figure : Méthode d'évaporation/adsorption

9. Préparation des membranes polymériques PVA- (non réticulé) /HE/Na+MMT (méthode évaporation/adsorption)



Figure : membrane polymérique PVA-(non réticulé)/HE/Na+MMT (méthode évaporation/adsorption)

10. Les membranes réservoir composite PVA/MMT/HE obtenus

Les membranes réservoir composite PVA/Na+MMT/HE obtenus :



Figure : Membrane réservoir composite PVA (non réticulé) / HE/Na+ MMT



Figure: Membrane reservoir composite PVA-R /HE/ Na+MMT

Les membranes réservoir composite PVA/OMMT/HE obtenus :



Figure : Membrane réservoir composite PVA non réticulé/OMMT/HE

11. Protocole de la libération prolongé par fumigation



Figure : Dessiccateur contient HE et coton dans la partie supérieure



Figure : Tubes a essais contenant du : (a) Coton saturé en HE+méthanol, (b) Coton saturé en HE stocké dans la membrane PVA/OMMT composite+méthanol (c) Coton saturé en HE stocké dans la membrane PVA/Na+MMT composite+méthanol

12. Résultats de l'activité antibactérienne

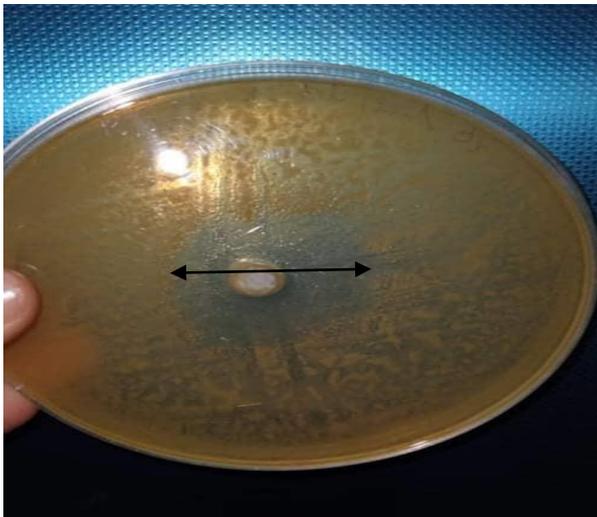
Activité antibactérienne de l'huile essentielle pure d'*origaum floribundum*



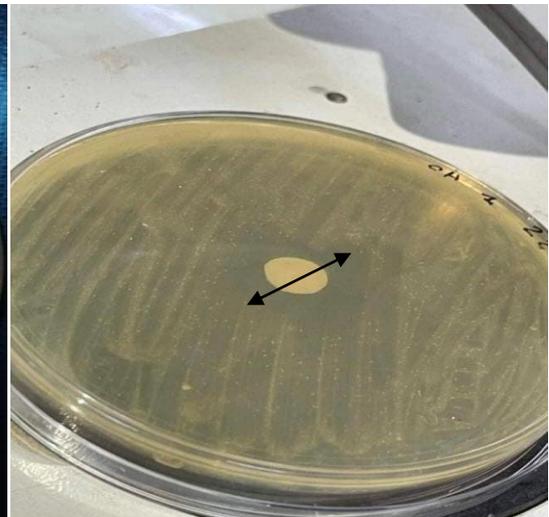
Klebsiella pneumoniae



E.coli

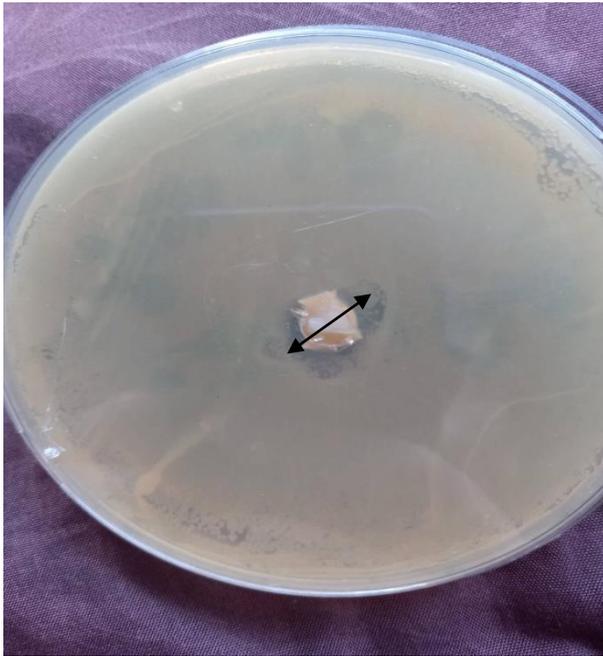


Staphylococcus aureus

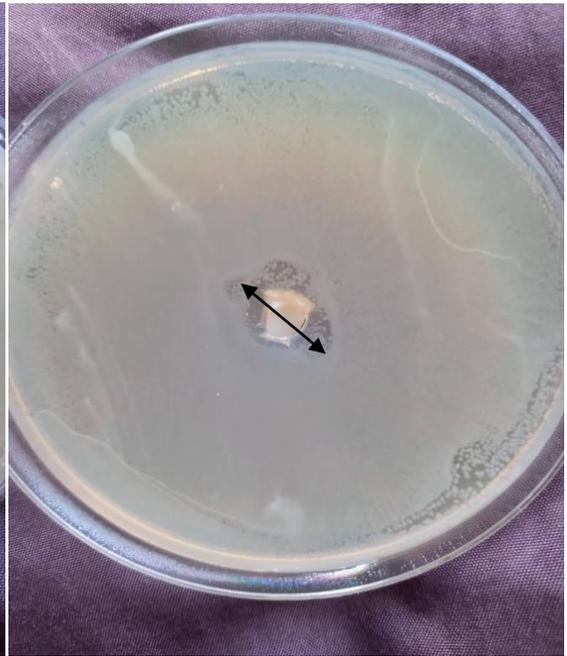


Pseudomonas aeruginosa

Activité antibactérienne de membranes synthétisées



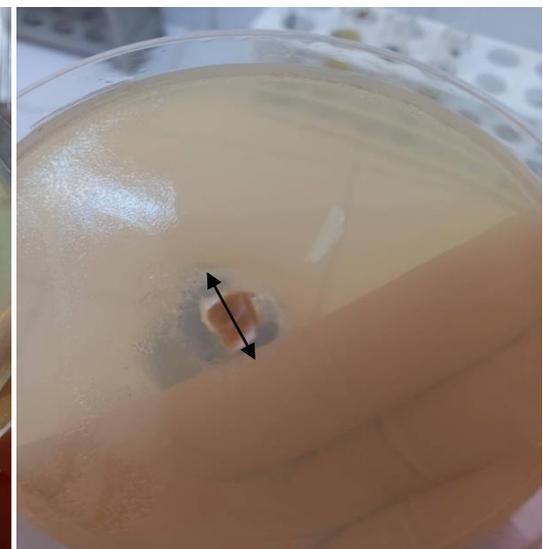
Staphylococcus aureus



Klebsiella pneumoniae



Pseudomonas aeruginosa



E. coli