

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

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB DE BLIDA

Faculté des Sciences
Département de Chimie



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

Spécialité : Chimie des Produits Naturels

***Présenté par : Melle BEN MOUSSA Fella et Melle OUCHEN
Romaissaa***

Thème :

**Activité biologique d'une combinaison à
base de l'huile essentielle de l'origan et de
l'huile de Jojoba**

Blida, Juillet 2023

Devant le jury composé de :

Mme AISSAOUI M.	MCB	Université de Blida 1	Présidente
Mme HAMICHE S.	MCB	Université de Blida1	Examinatrice
Mr BOUTOUMI H.	Pr.	Université de Blida1	Promoteur

Promotion 2022/2023

REMERCIEMENT

Nous tenons avant tout à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds tout d'abord au bon Dieu éternel le plus puissant.

On adresse notre profonde gratitude à Monsieur BOUTOUMI H., pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour son exceptionnelle qualité d'encadrement. Sa rigueur, sa patience et sa disponibilité resteront gravées dans notre mémoire.

Notre reconnaissance va également aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail, à savoir :

Mme AISSAOUI M., MCB la faculté de sciences département de chimie à l'université Blida 1, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury,

Mme HAMICHE S., MCB à la faculté de sciences département de chimie à l'université Blida 1, qui a bien voulu examiner ce travail.

Nos remerciements vont également à madame BOUCHAREB D., la propriétaire de laboratoire BIOLERA Blida, pour leur aide et leur gentillesse et ses conseils précieux, et ses encouragements toujours positifs.

Nous tenons à exprimer notre sincère remerciement envers Mme REHAL F., cheffe du département de laboratoire de microbiologie de SAIDAL EL HARRACHE, pour son accueil chaleureux dans son laboratoire et son initiation aux différentes techniques. Notre vif remerciement et reconnaissance s'adressent aussi à Monsieur HIMRANNE M., analyste microbiologie à SAIDAL EL HARRACHE. Sa dévotion, sa sympathie et surtout ses compétences ont grandement contribué à la réussite de notre travail.

Enfin, nous tenons à exprimer notre gratitude envers tous nos enseignants qui ont joué un rôle essentiel dans notre éducation et notre formation. Ils ont consacré tout leur savoir et leur énergie pour nous transmettre les connaissances nécessaires, et sans leur contribution, nous ne serions pas là où nous en sommes aujourd'hui.

Merci encore à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Votre soutien inestimable a joué un rôle déterminant dans notre parcours académique et dans l'aboutissement de ce travail de recherche.

DEDICACE

Je remercie le bon DIEU, pour m'avoir aidé à atteindre ce stade.

*A mon très cher papa **ABDELKRIM** ;*

Je suis reconnaissante pour les nombreux sacrifices que tu as consentis pour nous. Tu as toujours été là, prêt à m'écouter, à me conseiller et à me tendre la main lorsque j'en avais besoin, ta présence réconfortante m'a donné la confiance nécessaire pour affronter les défis de la vie, mon cher papa. Tu seras toujours le héros de ma vie.

*A mon cœur maman **FATIMA ZOHRA** ;*

Toi qui as été ma source ma confidente et ma meilleure amie, ta force et ton courage sont une source d'inspiration pour moi. Tu as surmonté les épreuves avec grâce et dignité, et tu as toujours été là pour moi, prête à me soutenir dans les moments de joie comme dans les moments de difficultés, tu m'as transmis des valeurs morales solides, m'incitant à être compatissante, respectueuse et persévérante dans tout ce que je fais, ma chère maman. Tu resteras toujours le cœur de ma vie.

*A mon frère **ZOHIER** ;*

Depuis notre enfance, tu as été présent à mes côtés, partageant les joies, les peines et les précieux souvenirs de notre vie. Tu as été là pour m'encourager, me motiver et me rappeler de ne jamais abandonner mes rêves. Ta présence constante, ta confiance en moi et ton amour inconditionnel ont été ma force dans les moments difficiles et ma source de joie dans les moments de bonheur, tu as un cœur rempli d'amour et de bonté, mon cher frère. Je suis fière de t'avoir comme frère et je serai toujours reconnaissante de l'amour et du dévouement que tu me témoignes chaque jour.

*A ma seule sœur **MERIEM** ;*

Tu es une personne extraordinaire, dotée d'une beauté intérieure et d'une force incroyable. Tu as su m'écouter, me conseiller et me soutenir dans les hauts et les bas de ma vie, nos liens sont tissés de souvenirs précieux, de rires partagés et de moments de complicité qui ont forgé notre relation unique, ma chère sœur. Je te suis pleine de gratitude pour ta bienveillance, ta loyauté et ta présence constante.

*A mon frère **BILLEL** ;*

Tu es mon compagnon de vie, mon ami et mon soutien indéfectible, notre complicité est un trésor que je chéris plus que tout, tu as le don de me comprendre sans mots, de me soutenir sans jugement, mon cher frère. Puisseons-nous continuer à construire des souvenirs précieux et à partager une complicité qui ne faiblit jamais.

FELLA

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents,

A mon cher père Omar, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation, Ta présence et ton soutien inconditionnel m'ont donné la confiance nécessaire pour affronter les défis de la vie, je suis très reconnaissante pour tous les sacrifices que tu as faits pour moi. Merci Papa.

À la plus merveilleuse des mamans Houria , qui a sacrifié pour mon bonheur, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a été ma source de force , Merci Maman

Vous êtes les héros silencieux de ma vie, et je suis fière d'être votre enfant. Je vous aime de tout mon cœur

A ma sœur : Bouchra. Je ne peux pas imaginer ma vie sans ton amour, tes soins et ton soutien. Peu importe ce qui se passe dans ma vie, tu me remontes le moral avec ta gentillesse. Tu n'es pas uniquement une sœur mais ma meilleure amie et l'ange qui me protège .Je t'aime, ma chère sœur.

A ma Amina. Ma sœur, Personne dans ma vie, quoi qu'il arrive, ne pourra jamais te remplacer. Merci d'être la grande sœur que tu es

A mes frères : Youcef et Fouzi. Votre soutien, votre amour et votre amitié sont des trésors inestimables. Je suis fière de vous que Dieu vous garde.

À mon intime Asma Ton amitié sincère et loyale sont des cadeaux précieux qui ont enrichi ma vie

À vous tous, je dédie mes réussites, mes rêves réalisés et mes moments de bonheur. Que cette dédicace soit le témoignage de ma reconnaissance infinie envers chacun d'entre

Romaissaa

RESUME

L'objectif principale de ce travail est d'évaluer l'activité biologique d'une combinaison à base d'une huile essentielle d'*origanum floribundum* et une huile végétale fixe de *jojoba*, en mettre l'accent sur l'activité antimicrobienne. L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée en utilisant deux méthodes différentes, l'entraînement à la vapeur avec un rendement de 2,9% et l'hydrodistillation avec un rendement de 3.005%. L'huile végétale fixe a été obtenue par pression à froid avec un rendement de 45.29%.

Les deux huiles ont été caractériser par spectroscopie UV-VIS et infrarouge, et divers indices chimiques et physiques tels que l'indice d'acide, d'ester, de saponification, de réfraction et la densité ont été déterminés. De plus, les propriétés antimicrobiennes des huiles ont été évaluées en utilisant la méthode d'aromatogramme, toutes les souches microbiennes testées, qu'il s'agisse de bactéries gram positives, de bactéries gram négatives ou de levures, ont montré une sensibilité similaire à l'huile essentielle, tandis que l'huile végétale fixe a montré une activité antimicrobienne presque absente.

L'analyse quantitative de l'HE donne une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) égale à 2%, et concernant la Concentration Minimale Bactéricide (CMB), l'HE à une activité bactéricide contre *Salmonella typhimurium* et *Candida albicans*, et une activité bactériostatique contre les autres souches testées.

La combinaison de l'huile essentielle d'*origanum floribundum* et l'huile végétale fixe de *jojoba* donne un effet antagonisme.

Sur la base des résultats précédents, une formulation de pommade 100% bio a été réalisée en utilisant de l'huile essentielle d'*origanum floribundum*, d'huile végétale fixe de *jojoba* et de cire d'abeille. Cette pommade a été testée pour son homogénéité, son pH et son analyse rhéologique, confirmant qu'elle est homogène et présentant un pH approprié. De plus, sa pureté a été vérifiée pour s'assurer qu'elle est exempte de contaminants.

Mots clé : *origanum floribundum*, *jojoba*, huile essentielle, huile fixe, antimicrobienne, pommade.

ABSTRACT

The main objective of this work is to evaluate the biological activity of a combination based on an essential oil of *origanum floribundum* and a fixed vegetable oil of *jojoba*, emphasizing the antimicrobial activity. The extraction of the essential oil was carried out using two different methods, steam distillation with a yield of 2.9% and hydrodistillation with a yield of 3.005%. The fixed vegetable oil was obtained by cold pressing with a yield of 45.29%.

Both oils were characterized by UV-VIS and infrared spectroscopy, and various chemical and physical indices such as acid, ester, saponification, refraction and density were determined. Additionally, the antimicrobial properties of the oils were evaluated using the aromatogram method, all microbial strains tested, whether gram positive bacteria, gram negative bacteria or yeasts, showed similar sensitivity to essential oil, while fixed vegetable oil showed almost absent antimicrobial activity.

The quantitative analysis of the HE gives a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) equal to 2%, and concerning the Minimum Bactericidal Concentration (MBC), the HE has bactericidal activity against *Salmonella typhimurium* and *Candida albicans*, and bacteriostatic activity against the other strains tested.

The combination of essential oil of *origanum floribundum* and fixed vegetable oil of *jojoba* gives an antagonizing effect.

Based on previous results, a 100% organic ointment formulation was made using *origanum floribundum* essential oil, *jojoba* fixed vegetable oil and beeswax. This ointment has been tested for homogeneity, pH and rheological analysis, confirming that it is homogeneous and has an appropriate pH. In addition, its purity has been verified to ensure that it is free from contaminants.

Keywords : *origanum floribundum*, *jojoba*, essential oil, fixed oil, antimicrobial, ointment.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو تقييم النشاط البيولوجي للمزيج الذي يعتمد على الزيت العطري من نبات الأوريغانوم فلوريبونوم وزيت نباتي ثابت من الجوجوبا، مع التركيز على النشاط المضاد للميكروبات. تم استخلاص الزيت العطري باستخدام طريقتين مختلفتين، التقطير بالبخار بحاصل 2.9% والتقطير المائي بحاصل 3.005%. تم الحصول على الزيت النباتي الثابت بالضغط على البارد وبنسبة 45.29%.

تميز كلا الزيتين بالأشعة فوق البنفسجية المرئية وفوق البنفسجية والتحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء، وتم تحديد المؤشرات الكيميائية والفيزيائية المختلفة مثل الحمض والإستر والتصين والانكسار والكثافة. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم الخصائص المضادة للميكروبات للزيوت باستخدام طريقة التصوير العطري، حيث أظهرت جميع السلالات الميكروبية المختبرة، سواء كانت بكتريا موجبة الجرام أو بكتريا سالبة الجرام أو الخمائر، حساسية مماثلة للزيت العطري، بينما أظهر الزيت النباتي الثابت نشاطاً مضاداً للميكروبات شبه غائب

يعطي التحليل الكمي للزيت العطري أقل تركيز مثبط يساوي اثنين بالمئة وفيما يتعلق بالحد الأدنى لتركيز مبيد الجراثيم فان الزيت العطري له نشاط مبيد للجراثيم ضد السالمونيلا تيفيموغيوم والكانديدا البيكان ونشاط موقف للجراثيم ضد السلالات الأخرى المختبرة

مزيج من الزيت العطري من نبات الورود والزيت النباتي الثابت للجوجوبا يعطي تأثيراً معاداً

بناءً على النتائج السابقة، تم صنع تركيبة مرهم عضوي بنسبة 100% باستخدام زيت عطري من اوريغانوم فلوريبونوم وزيت نباتي ثابت من الجوجوبا وشمع العسل. تم اختبار هذا المرهم من أجل التجانس ودرجة الحموضة والتحليل الريولوجي، مما يؤكد أنه متجانس وله درجة حموضة مناسبة. بالإضافة إلى ذلك، تم التحقق من نفاوتها للتأكد من خلوها من الملوثات

الكلمات المفتاحية: اوريغانوم فلوريبانوم، جوجوبا، زيت عطري، زيت ثابت، مضاد للميكروبات، مرهم

LISTE DES ABREVIATIONS

AMX : Amoxicilline.

AG: Acid Gras.

C : Chlorampheniol 30.

CMI : Concentration Minimale inhibitrice.

CMB : Concentration Minimale bactéricide.

CMF : Concentration Minimale Fongicide.

CTR : Ceftriaxone

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

E : Erthromycine.

EV : Entraînement à la Vapeur.

FC : Fucidic Acide.

GRAS: Generally Reconyzed As Safe.

HE : Huile Essentielle.

HF : Huile Végétale Fixe.

MH : milieu Muller-Hinton.

HD : Hydro-Distillation.

K : Kanamycin 30.

MT : Metronidazol.

TSB : Bouillon Tryptone-Soja.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

RP : Rifampcin.

RIF : Rifamycine.

UFC : Unité Faisant Colonie.

UV-VIS : Ultraviolet-Visible.

Table des matières

REMERCIEMENT

DEDICACE

RESUME

ABSTRACT

ملخص

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION 1

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. L'origan..... 4

I.1.1 Classification botanique 4

I.1.2 Description botanique 5

I.1.3 Répartition géographique de l'origan 5

I.1.4 Utilisation de l'origan 7

I.2 Le jojoba..... 7

I.2.1 Classification botanique 7

I.2.2 Descriptions botaniques 7

I.2.3 Répartition géographique 8

I.2.4 Utilisation de jojoba..... 8

I.3 Les huiles essentielles 8

I.3.1 Définition des huiles essentielles 8

I.3.2 Méthode d'extraction 9

I.3.2.1 Hydro distillation 9

I.3.2.2 Entraînement à la vapeur 9

I.3.3 Toxicité des huiles essentielles 9

I.3.4 Propriétés physico-chimique..... 9

I.3.5 Composition chimique des huiles essentielles..... 10

I.3.5.1 Composés terpéniques	10
I.3.5.2 Des composés aromatiques dérivés du phénylpropane	10
I.3.6 Compositions chimique de l'huile essentielle d'<i>origanum floribundum</i>	11
<i>I.4 Les huiles fixe végétales</i>	<i>11</i>
I.4.1 Définition	11
I.4.2 Méthodes d`extraction des huiles végétales	11
I.4.2.1 extraction par pression à froid	11
I.4.2.2 Extraction par solvant L'extraction par solvants des huiles et graisse est essentiellement réalisée industriellement en mettant en contact la matière oléagineuse à traiter avec un solvant approprié. On obtient ainsi une solution d'huile dans le solvant ou mélange dont la concentration varie suivant la qualité du solvant et la richesse en huile de l'oléagineux traité.	12
I.4.3 Propriétés physico-chimiques	12
I.4.4 Composition chimique des huiles végétales	12
I.4.5 Composition chimique de l'huile végétale fixe de jojoba	13
I.4.6 Utilisation des huiles végétales	13
<i>I.5 Activité antibactérienne</i>	<i>13</i>
I.5.1 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne	14
I.5.1.1 Aromatogramme	14
I.5.1.2 Méthode de micro-pression	14
I.5.1.3 Méthode de dilution et micro méthode	14
I.5.2 La concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale bactéricide CMB	14
<i>I.6 La combinaison des huiles essentielles</i>	<i>15</i>
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	
<i>II.1 Méthode d'étude</i>	<i>14</i>
<i>II.2 Matériels utilisés</i>	<i>14</i>
<i>II.3 Présentation des plantes</i>	<i>15</i>
II.3.1 L'origan	15
II.3.1.1 Site de prélèvement	15
II.3.1.2 Présentation de la plante	15
II.3.2 Le jojoba	16
II.3.2.1 Site de prélèvement	16
II.3.2.2 Présentation de la plante	16

<i>II.4 Méthodes d'extraction</i>	17
II.4.1 Extraction d'Huile Essentielle d'<i>Origanum floribundum</i>	17
II.4.1.1 Extraction par hydrodistillation (à l'échelle laboratoire)	17
II.4.1.2 Extraction par entrainement à la vapeur d'eau (À l'échelle industrielle)	18
II.4.2 Extraction d'Huile végétale fixe de <i>jojoba</i>	19
<i>II.5 Calcul du rendement</i>	19
<i>II.6 Caractérisation des huiles obtenues</i>	19
II.6.1 Caractéristiques organoleptiques	19
II.6.2 Caractéristiques physico-chimiques	20
II.6.2.1 Caractéristiques physiques	20
II.6.2.2 Caractéristiques chimiques	21
II.6.3 Analyse spectroscopique	23
II.6.3.1 Spectroscopie UV-visible	23
II.6.3.2 Spectroscopie Infra-Rouge	25
<i>II.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE d'<i>Origanum floribundum</i> et HF de <i>jojoba</i></i>	25
II.7.1 Méthode qualitative d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles	25
II.7.2.1 Protocole expérimental	26
II.7.2 Méthode quantitative d'évaluation de l'activité antimicrobien de l'HE	27
II.7.2.1 Détermination de la CMI et de la CMB ou la CMF	27
<i>II.8 Évaluation de l'effet antimicrobienne de la combinaison de l'huiles essentielles avec l'huile fixe</i>	28
<i>II.9 La formulation de la pommade</i>	28
II.9.1 Le protocole de la formulation	29
II.9.2 Contrôle de qualité de la pommade	29
II.9.3 Analyse rhéologique	30
II.9.4 Teste de pureté de la pommade	31
II.9.4.1 Dénombrements des germes aérobies	31
II.9.4.2 Recherche des germes spécifiés	32
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1 Rendement d'extraction de l'huile essentielle	29
<i>III.2 La cinétique d'extraction de l'HE</i>	29
<i>III.3 Le rendement de l'huile de jojoba</i>	31
III.4 Caractérisation des huiles obtenus	31

III.4.1	Caractérisation organoleptiques	31
III.4.2	Caractéristiques physico-chimiques	31
<i>III.5</i>	<i>Analyse de spectroscopie à l'UV-VIS.....</i>	<i>33</i>
<i>III.6</i>	<i>Analyse des spectres IR.....</i>	<i>35</i>
<i>III.7.</i>	<i>L'activité antimicrobienne d'HE d'Origanum floribundum et HF de jojoba.....</i>	<i>37</i>
III.7.1.	Etude qualitative de l'activité antimicrobienne	37
<i>III.8</i>	<i>Etude quantitative de l'activité antimicrobienne.....</i>	<i>42</i>
<i>III.9.</i>	<i>Évaluer de l'effet combiné de l'huile essentielle avec l'huile fixe.....</i>	<i>47</i>
	<i>Tableau 16 : Résultats de la combinaison de l'huiles essentielles avec l'huile fixe.....</i>	<i>47</i>
<i>III.10</i>	<i>Résultat de contrôle qualité de la pommade</i>	<i>50</i>
III.10 .1	Caractéristiques macroscopiques.....	50
III.10.2	Contrôle d'homogénéité	50
III.10.3	Teste de stabilité.....	51
III.10.4	Le pH de la pommade	51
III.10.2	Analyse rhéologique	51
<i>III.11</i>	<i>Résultat de teste microbienne de la pommade.....</i>	<i>52</i>

CONCLUSION

REFERENCES

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE <i>L'ORIGAN</i> DANS LE MONDE	6
FIGURE 2 : LOCALISATION DE LA REGION D'ETUDE DE PLANT D' <i>ORIGAN</i>	15
FIGURE 3 : LOCALISATION DE LA REGION D'ETUDE DE PLANTE DE JOJOBA	16
FIGURE 4 : MONTAGE D'HYDRODISTILLATION DE TYPE CELEVEGER	18
FIGURE 5 : MACHINE DE PRESSION A FROIDE (NUMERO DE MODELE ZF868)	19
FIGURE 6 : REFRACTOMETRE	20
FIGURE 7 : PYCNOMETRE	21
FIGURE 8 : L'APPARITION DE LA COULEUR ROSE	22
FIGURE 9 : LA COURBE DE LA CINETIQUE D'EXTRACTION DE L'HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i>	30
FIGURE 10: SPECTRE UV-VISIBLE DE L'HUILE ESSENTILLE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i>	33
FIGURE 11: SPECTRE IR DE L'HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i>	35
FIGURE 12 : SPECTRE IR DE L'HF DE <i>JOJOBA</i>	36
FIGURE 13 : RESULTATS DE LA CMI <i>ESCHERICHIA COLI</i>	43
FIGURE 14 : RESULTATS DE LA CMI <i>CANDIDA ALBICANS</i>	43
FIGURE 15 : RESULTATS DE LA CMI <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i>	44
FIGURE 16: RESULTATS DE LA CMI <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	44
FIGURE 17 : RESULTATS DE LA CMI <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	45
FIGURE 18 : RESULTATS DE LA CMI <i>ASPERGILLUS BRASILIENSIS</i>	45
FIGURE 19 : RESULTATS DE LA CMI <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	46
FIGURE 20: PHOTOS DES RESULTATS DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DE LA COMBINAISON (A : <i>ESCHERICHIA COLI</i> A 25%, B : <i>ESCHERICHIA COLI</i> A 50%, C : <i>STAPHYLOCUS AURUS</i> A 25%, D : <i>STAPHYLOCCUS AURUS</i> A 50%, E : <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> A 25%, F : <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> A 50%, G : <i>PSEUDOMENAS AERUGENOSA</i> A 25%, H : <i>CANDIDA ALBICANS</i> A 50%, I : <i>PSEUDOMENAS AUERUGENOSA</i> A 50%, J : <i>CANDIDA ALBICANS</i> A 50%, L : <i>BACILLUS SUBTILUS</i> A 50%, M : <i>ASPERGILLUS BRASILIENSIS</i> A 25%, N : <i>ASPERGILLUS BRASILIENSIS</i> A 50%)	50
FIGURE 21 :LA POMMADE SOUS LE MICROSCOPE	50

FIGURE 22: VARIATION DE LA VISCOSITE(H) ET LA CONTRAINTE DE CISAILLEMENT (T) DE LA POMMADE EN FONCTION DU TAUX DE CISAILLEMENT	51
FIGURE 23: : VARIATION DES MODULES DE CONSERVATION (ELASTIQUE) G' ET DES MODULES AU REPOS (VISQUEUX) G' 'DE LA POMMADE.....	52

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : REFERENCE DE SOUCHE MICROBIENNE TESTEE	26
TABLEAU 2 : LA COMPOSITION DE LA POMMADE	29
TABLEAU 3 : RESULTATS DE RENDEMENT D'EXTRACTION	29
TABLEAU 4 : LES RESULTATS DE LA CINETIQUE D'EXTRACTION DE L'HE (ESSAIS 1)	29
TABLEAU 5 : LES RESULTATS DE LA CINETIQUE D'EXTRACTION DE L'HE (ESSAI 2)	30
TABLEAU 6 : LES CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES DE L'HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> ET HF DE <i>JOJOBA</i>	31
TABLEAU 7 : LES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES D'HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> ET D'HF DE <i>JOJOBA</i>	32
TABLEAU 8 : SPECTRE UV-VIS DE L'HF DE <i>JOJOBA</i>	34
TABLEAU 9 : RESULTATS DE TESTE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> ET HF DE <i>JOJOBA</i>	38
TABLEAU 10 : LES RESULTATS DES TEMOINS	38
TABLEAU 11 : LES ZONES D'INHIBITION <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> ET HUILE DE <i>JOJOBA</i> SUR L' <i>ESCHERICHIA COLI</i> , <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> , <i>SAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> , <i>BACILLUS SUBTILIS</i>	39
TABLEAU 12: LES ZONE D'INHIBITION <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> ET HUILE <i>E JOJOBA</i> SUR <i>ASPARGILLUS BRASILIENSIS</i> , <i>CANDIA ALBICAN</i> , <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	40
TABLEAU 13 : LES RESULTATS CMI D'HE <i>D'ORIGANUM FLORIBUNDUM</i> SUR DIFFERENTES SOUCHES	42
TABLEAU 14 : LA NATURE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE	46
TABLEAU 15 : TESTE BACTERICIDE <i>D'ASPARGILLUS BRASILIENSIS</i> , <i>BACILLUS SUBTILIS</i> ET <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i>	47
TABLEAU 16 : LES CARACTERISTIQUES MACROSCOPIQUES DE LA POMMADE... 50	
TABLEAU 17 : RESULTATS DE TESTS DE PURETE DE LA POMMADE DERMIQUE	53
TABLEAU 18 : LES PHOTOS DES RESULTATS DE CONTROLE MICROBIEN DE LA POMMADE	54

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les plantes et leurs métabolites secondaires, sont connus comme l'origine de plusieurs substances biochimiques actives, notamment celles ayant des propriétés antimicrobiennes.

En effet, environ 80% de la population mondiale utilise des plantes médicinales comme moyen de traitement. Cette préférence est motivée non seulement par la difficulté d'accéder aux médicaments prescrits par la médecine moderne, mais aussi par la reconnaissance incontestable de l'efficacité thérapeutique de ces plantes [1].

De nos jours, la résistance aux antimicrobiens est un problème mondial et l'organisation mondiale de la santé encourage les meilleures pratiques pour préserver les ressources en antibiotiques. Actuellement, l'utilisation d'agents antimicrobiens synthétiques pour assurer la sécurité alimentaire a suscité l'indignation des consommateurs du monde entier pour développer des alternatives aux traitements antimicrobiens à base de composés phytochimiques tels que les huiles essentielles [2].

Les huiles essentielles sont des composés volatils, naturels et complexes caractérisés par une forte odeur, et sont produits par les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Connus pour leurs propriétés antiseptiques, virucides et fongicides, ainsi que pour leurs propriétés médicinales et leur parfum, ces huiles sont utilisées dans l'embaumement, la conservation des aliments, ainsi que comme remèdes antimicrobiens, analgésiques, sédatifs, anti-inflammatoires, spasmolytiques et localement anesthésiques [3].

Cependant, l'application des HE doit impliquer l'utilisation de fortes concentrations dans les aliments pour obtenir les mêmes effets que ceux démontrés *in vitro* donc pour éviter cet inconvénient il faut utiliser les huiles essentielles en combinaisons avec d'autres composés comme les huiles végétales fixes. Ces mélanges permettent de réduire leur impact sensoriel qui peut affecter la qualité organoleptique des aliments, permettent de fixer l'HE, peuvent augmenter certaines activités et peuvent aussi diminuer la toxicité des HES.

La famille des Lamiacées comprend 187 genres et 3000 espèces. C'est la plus homogène des sous-classes des gamopétales, et la plupart des genres sont riches en huiles essentielles [4].

Le genre *Origanum* fait partie de la famille des Lamiacées et comprend deux espèces botaniques courantes en Algérie : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. L'huile essentielle d'*origan*, est réputée pour ses propriétés antimicrobiennes, antifongiques et

antioxydants, elle a été utilisée traditionnellement dans la médecine alternative pour traiter diverses affections, notamment les infections cutanées et les troubles digestifs.

D'autre part, l'huile végétale fixe de *jojoba*, dérivée des graines, est une huile légère et non grasse, souvent utilisée dans les produits cosmétiques, il convient de noter que le jojoba produit en réalité une cire liquide plutôt qu'une huile. Elle est riche en vitamines, minéraux et acides gras essentiels, offrant des propriétés hydratantes, émollientes et protectrices pour la peau et les cheveux.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'activité biologique en se concentrant particulièrement sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne à travers une étude in vitro de deux types d'huiles, à savoir une huile essentielle et une huile végétale fixe. De plus, cette recherche vise à évaluer l'activité d'une combinaison de ces deux huiles.

Notre choix s'est porté sur deux espèces : *Origanum floribundum*, c'est une espèce endémique d'Algérie et le *jojoba*, c'est une plante qui ne pousse pas en Algérie, mais en raison de sa popularité croissante et de ses multiples utilisations, le jojoba est récemment commencé à l'expérimenter à Biskra.

Le travail se divise en trois parties :

La première partie consistera en une revue bibliographique sur les huiles essentielles, cette revue comprendra également une description détaillée des espèces végétales utilisées dans cette étude, ainsi qu'une étude de l'activité antimicrobienne et la combinaison des huiles essentielles.

La deuxième partie présentera l'étude expérimentale, l'objectif de cette partie est de procéder à l'extraction de deux types d'huiles et évalué leur rendement. Ensuite, établir la cinétique d'extraction de l'huile essentielle, ainsi que déterminé les indices physico-chimiques des huiles, caractérisation par spectrométrie UV-VIS et infrarouge. De plus, l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles de manière qualitative en déterminant les zones d'inhibition, ainsi que de manière quantitative en évaluant les concentrations minimales inhibitrices (CMI), bactéricides (CMB) pour les bactéries ou fongicides (CMF) pour les champignons. L'évaluation de l'activité antimicrobienne de la combinaison de ces deux huiles à différentes concentrations. Ensuite, la formulation d'une pommade à base de ces deux huiles et effectué des tests de stabilité, d'homogénéité, de pureté et une analyse rhéologique de la pommade pour étudier ses propriétés de viscosité et de flux.

En dernier, la troisième partie nous présentons les résultats obtenus, les discutons et nous terminerons par une conclusion générale.

CHAPITRE I
REVUE BIBLIOGRAPHIQUES

I.1. *L'origan*

Le nom origan vient du mot grec Oros Ganos, qui signifie "décoration de la montagne" ou "joie de la montagne". *L'origan* était autre fois appelé herbe porte bonheur [5].

Les utilisations de l'origan étaient médicinales avant d'être culinaires. Les feuilles étaient utilisées par les Grecs pour apaiser les muscles endoloris. Les Romains l'utilisaient pour apaiser les morsures de serpents et de scorpions. Aristote et Hippocrate, recommandaient les effets de l'origan pour les affections respiratoires, les brûlures et problèmes digestifs [6].

I.1.1 Classification botanique

La classification d'après Deysson est comme suite : [7]

<i>Règne</i>	<i>Plante</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Spermaphytes</i>
<i>Sous-embranchement</i>	<i>Angiospermes</i>
<i>Class</i>	<i>Dicotylédones</i>
<i>Sous-class</i>	<i>Gamopétales</i>
<i>Série</i>	<i>Superovariées tétracycliques</i>
<i>Superorder</i>	<i>Tubiflorales</i>
<i>Ordre</i>	<i>Lamiales</i>
<i>Famille</i>	<i>Lamiaceae</i>
<i>Sous-famille</i>	<i>Népétoïdées</i>
<i>Genre</i>	<i>Origanum</i>
<i>Espèce</i>	<i>Origanum glandulosum</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Origanum floribundum Muby</i>

I.1.2 Description botanique

L'ancien nom des Lamiacées était Labiées, dérivé du nom latin "labium", signifiant lèvre, en raison de la forme particulière des lobes.

Selon Ietswaart, les caractéristiques du genre *Origanum* sont les suivantes :

- Tiges : Un quart ou la moitié a plusieurs tiges dressées ou ascendantes de 10 à 60 cm de long et les parties inférieures sont ligneuses et persistantes.
- Feuilles : sont sessiles, sessiles ou caduques. Ce sont des glandes excrétrices sessiles poilues et chauves.
- Inflorescences : chaque tige et chaque branche porte. La bractée est ronde, ovale ou lancéolée ; les plus petites ressemblent à des feuilles, les plus grandes sont fines et membraneuses, souvent violettes ou jaune-vert. Il peut y avoir beaucoup de variations dans la taille des inflorescences et/ou des bractées ; ce sont ces variations qui permettent, entre autres, la séparation des parties,
- Calice : c'est la partie la plus variée du genre *Origanum*. Il possède 5 dents plus ou moins soudées ou se compose d'une ou deux lèvres plus ou moins dentelées.
- Pétales : généralement tubulaires, verticaux, à 2 lèvres 3-1 mm, sa couleur est blanche, rose ou violette,
- Les étamines peuvent être de formes et de tailles très différentes et adaptées pour être polonisées par les insectes.
- Les fruits sont ovoïdes, bruns, de 1 à 5 mm de long et 0,5 mm de large [8].

I.1.3 Répartition géographique de l'origan

Dans le monde :

L'origan pousse principalement dans les pays méditerranéens, notamment au Maghreb, sous le nom d'*Origanum glandulosum* et d'*Origanum floribundum*. Cette plante vivace pousse également dans de nombreux pays européens et asiatiques, notamment en Chine et en Inde [9]. La (**figure 1**) montre la répartition mondiale de l'origan.

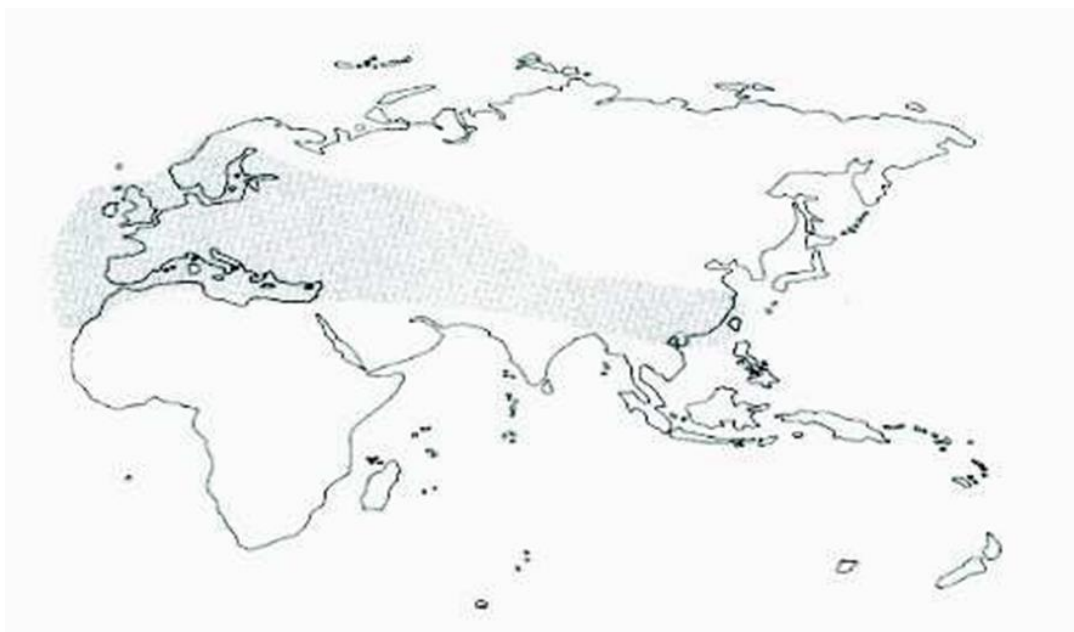


Figure 1 : Répartition géographique de *l'origan* dans le monde [10]

En Algérie : L'origan est une plante très répandue en Algérie, représentée par deux espèces : *Origanum glandulosum* et *Origanum floribundum*. Ce dernier est également une espèce endémique algérienne [11]. Le tableau 1 indique la localisation des deux espèces.

Tableau 1 : Répartition géographique des deux espèces d'origan en Algérie. [11]

<i>Espèce</i>	<i>Localisation et caractéristiques</i>
<i>Origanum floribundum</i>	<p>-Pousse en pâturage et surtout en montagne.</p> <p>-C'est une espèce rare dans le sous-secteur du littoral et le secteur de Kabylie.</p> <p>-Endémique d'Algérie.</p>
<i>Origanum vulgaires glandulosum</i>	<p>-Commune dans tout le tell.</p> <p>-Elle est endémique des pays d'Algérie et de Tunisie.</p> <p>-Elle pousse dans les garrigues et les broussailles.</p>

I.1.4 Utilisation de l'*origan*

Utilisation comme épice :

Différentes parties de la plante (feuilles, sommités fleuries, huiles essentielles) sont aujourd'hui utilisées dans l'industrie alimentaire comme agent aromatisant. Il est considéré comme l'une des épices les plus courantes de la région méditerranéenne [12].

Utilisation en médecine traditionnelle :

L'huile essentielle d'origan est antiseptique, légèrement tonique et digestive. Il induit les menstruations, calme les nerfs, soulage les maux de tête et de dents, et aide également à combattre l'insomnie. Origan est aussi un anti-inflammatoire, un antispasmodique contre la toux, un diurétique et un désodorisant. C'est un bon stimulant du système digestif, il est particulièrement utile pour diverses maladies respiratoires (bronchite, trachéo-bronchite), il calme la toux, favorisant l'expectoration [13].

I.2 Le *jojoba*

I.2.1 Classification botanique

Classe	<i>Magnoliopsida</i> (dicotylédones)
Ordre	<i>Euphorbiales</i> ou <i>Caryophyllales</i> (Classification phylogénétique)
Famille	<i>Simmondsiacées</i>
Genre	<i>Simmondsia</i>
Espèce	<i>chinense</i>
Origine	Arizona, Californie, Mexique
Répartition géographique	Argentine, Israël, Etats-Unis, Australie, Pérou, Afrique
Type	arbuste à fruits oléagineux
Type de végétation	vivace [14].

I.2.2 Descriptions botaniques

Jojoba est un petit arbre ou arbuste de 3 à 5 m de haut. Avoir une écorce grisâtre, aire légèrement dentelée et barbelée, une courbée et une droite, distantes de 2 cm, avec système racines profondes et solides. Les feuilles sont alternes, dentelées sur les bords et blanchâtres à

l'intérieur. Dans Les fleurs sont jaunâtres en grappes axillaires denses de 4 cm de diamètre. Les grains sont marrons ou violets, sphérique, de 1,5 cm de long [15].

I.2.3 Répartition géographique

Le jojoba est un arbuste originaire des régions semi-désertiques des États-Unis et du Mexique. Aujourd'hui, sa culture s'étend à des pays comme l'Australie, l'Argentine, [15]. Et aussi récemment la Production de cultivars de jojoba et en Tunisie [16].

I.2.4 Utilisation de jojoba

L'huile de jojoba a de nombreuses utilisations industrielles comme lubrifiant pour les systèmes mécaniques impliquant Haute pression et haute température. Il est également apprécié dans les crèmes, les vernis et les cosmétiques [17]. La production d'huile de jojoba a fleuri après le moratoire de 1982 contre la chasse à la baleine, car elle a remplacé le spermaceti (huile de baleine) qui avait été utilisé pour fabriquer des bougies en cire, d'autres illuminant et lubrifiants. [18]. Les graines étaient préalablement moulues et infusé pour faire des succédanés de café. Le jojoba aurait de nombreuses propriétés ethno médicinales et cosmétiques demandes des tribus indiennes au Mexique [18].

I.3 Les huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des produits végétaux naturels très intéressants. Sont des substances naturelles qui existent depuis long temps. Les arômes et les parfums ont été parmi les premiers signes d'identité qui ont façonné la vie des gens [19].

L'importance de ces huiles est fondamentale et à l'origine de l'industrie des arômes. Plus de 3000 essences sont connues, mais seulement 1500 ont actuellement une importance commerciale [20].

I.3.1 Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de dizaines ou plus d'une centaine de composés, principalement des terpènes. Les terpènes sont construits à partir de multiples unités d'isoprène formant des familles structurellement et fonctionnellement très diverses. On rencontre majoritairement des mono terpènes et des sesquiterpènes (10 et 15 atomes de carbone respectivement), mais moins souvent des di terpènes (20 atomes de carbone). Les huiles essentielles peuvent également contenir des composés gras (non terpènes) ou des phénylpropanoïdes [21].

Ces produits naturels présentent un grand intérêt en tant que matières premières dans divers domaines tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et les industries alimentaires. Quel que soit le domaine d'activité, l'analyse des huiles essentielles reste une étape importante et, malgré les progrès continus des différentes techniques d'isolement et d'identification, il est nécessaire d'appliquer différentes techniques simultanément ou séquentiellement [22].

Les huiles essentielles se trouvent dans toutes les parties des plantes : poils sécréteurs des feuilles et des pétales, cellules parenchymateuses, poches d'essence, bois, etc. La teneur en huiles essentielles des plantes est très faible, de l'ordre de 1‰ à 1 % [23].

I.3.2 Méthode d'extraction

Le procédé utilisé pour obtenir l'HE joue un rôle important dans sa composition chimique [24].

I.3.2.1 Hydro distillation

Ce type d'extraction a été proposé par Garnier en 1891. C'est la méthode la plus utilisée pour extraire l'HE et non seulement elle peut être isolée à l'état pur, mais elle donne également de meilleurs rendements. Le principe est que la plante à traiter est directement immergée dans un ballon rempli d'eau puis portée à ébullition, la vapeur hétérogène se condense sur la surface froide et l'HE est séparée par différence de densité [25].

I.3.2.2 Entraînement à la vapeur

Le procédé consiste à récupérer l'HE des plantes en faisant passer un flux de vapeur d'eau à travers les plantes, ces vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation. Les phénomènes qui se produisent à lors de la distillation à la vapeur sont l'osmose et la diffusion libre [26].

I.3.3 Toxicité des huiles essentielles

Les HE peuvent être toxiques par voies d'exposition, soit par ingestion souvent par utilisation accidentelle en grande quantité soit par contact exposition à des concentrations élevées [26].

I.3.4 Propriétés physico-chimique

Les principales caractéristiques sont :

- Liquide à température ambiante.
- N'a pas le caractère collant et onctueux des huiles grasses.
- Volatil et très rarement coloré.
- Faible densité d'huile essentielle à haute teneur en mono terpène.
- L'indice de réfraction varie considérablement avec la teneur en mono terpènes et dérivés oxygénés. Une forte teneur en mono terpènes conduit à un exposant plus élevé, alors qu'une forte teneur en dérivés oxygénés à l'effet inverse.
- Soluble dans les alcools forts et la plupart des solvants organiques, mais pratiquement insoluble dans l'eau.
- Doit être stocké à l'abri de la lumière et de l'air car il est très labile, sujet à l'oxydation et a tendance à polymériser pour former des produits résineux [27].

I.3.5 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique de l'HE est complexe, en général, les HE contiennent de nombreux constituants et appartiennent à deux grands groupes chimiques, principalement les composés terpéniques et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

I.3.5.1 Composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels avec une structure cyclique ou à chaîne ouverte. Leur principale caractéristique structurale est la présence d'unités isoprène à cinq carbones ($C_5 H_8$) dans le squelette. Ils se répartissent selon le nombre d'unités isoprènes en monoterpènes formés de deux isoprènes ($C_{10} H_{16}$), sesquiterpènes formés de trois isoprènes ($C_{15}H_{20}$) et diterpènes formés de quatre isoprènes ($C_{20} H_{32}$). Les tétraterpènes sont composés de huit isoprènes liés à des caroténoïdes. La formule générale des polyterpènes est : $(C_5 H_8)_n$ ou n vaut 9-30 [28].

I.3.5.2 Des composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Une autre catégorie de composés volatils assez courants sont les composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Ce groupe de dérivés du phénylpropane ($C_6 H_5 -CH_2 -CH_2 -CH_3$) est moins courant que les terpènes et leurs dérivés [29].

La biosynthèse implique le précurseur de cette série, l'acide shikimique, pour produire des dérivés de l'acide cinnamique. Ce deuxième groupe est constitué d'aldéhydes

(cinnamaldéhyde) et de dérivés méthoxylés, ainsi que d'allylphénol (eugénol) et de propénylphénol (anéthole). Il existe également des lactones ou esters cycliques (coumarines) formés à partir de dérivés de l'acide cinnamique. Les chaînes aliphatiques peuvent être réduites à un seul atome de carbone (par exemple la vanilline) [30].

I.3.6 Compositions chimique de l'huile essentielle *d'origanum floribundum*

L'*origanum floribundum* est constitué du nombreux flavonoïdes, de l'arbutoside, de l'acide rosmarinique et de de 7 à 30 ml/KG d'HE à terpin-1-én-4-ol (20-40%) alpha-ter-pinéol (1-7%), hydrates de sabinéne (10-65%), terpinènes, et d'autres monoterpènes [31].

I.4 Les huiles fixe végétales

Les huiles végétales représentent un vaste ensemble très varié de corps gras d'origine, de composition, de qualité et de goûts différents. Celles-ci sont présentées selon leurs caractéristiques physico-chimiques, leur mode de fabrication, leur composition en acides gras, en vitamines, en composés mineurs, leur intérêt nutritionnel et leurs usages. Toutes ont un intérêt différent [32].

I.4.1 Définition

L'huile végétale fixe est une matière grasse, onctueuse et épaisse, souvent liquide à température ambiante et qui est insoluble dans l'eau, les huiles se composent de lipides formés de triglycérides composés des molécules des acides gras estérifiées par le glycérol (une molécule d'alcool). Ce sont des composants majeurs de l'énergie du corps humain, car les matières grasses fournissent des calories en grand nombre. Les huiles les plus importantes de nos jours sont les huiles de soja, colza, olive [33].

I.4.2 Méthodes d'extraction des huiles végétales

La production des huiles végétales a toujours été le principal objectif de la culture des graines. Les méthodes d'extraction ont évolué mais le processus d'extraction des huiles reste toujours le même [33].

I.4.2.1 extraction par pression à froid

L'extraction des huiles végétales par première pression à froid est la méthode mécanique la plus traditionnelle à partir des grains qui sont pressés mécaniquement « à froid », c'est-à-dire à température ambiante. C'est une méthode naturelle d'extraction de l'huile à partir de matières premières qui implique une extraction à haute pression en une seule étape. Au cours de ce processus, une presse à vis est utilisée pour pousser les graines dans des

cavités en forme de tonneau. La vis comprime les graines, l'huile est expulsée par l'ouverture, tandis que le résidu de presse reste dans le fût. La température atteinte lors du pressurage dépend de la dureté des graines. Plus les graines sont dures, plus il faut de pression pour extraire l'huile, ce qui provoque plus de friction et conduit à des températures plus élevées [33].

I.4.2.2 Extraction par solvant

L'extraction par solvants des huiles et graisse est essentiellement réalisée industriellement en mettant en contact la matière oléagineuse à traiter avec un solvant approprié. On obtient ainsi une solution d'huile dans le solvant ou mélange dont la concentration varie suivant la qualité du solvant et la richesse en huile de l'oléagineux traité.

Ce mélange, après filtration et concentration, est soumis à l'action de la chaleur dans un évaporateur puis dans une colonne finisseuse sous vide comportant une injection de vapeur pour l'élimination totale des dernières traces de solvant. Les vapeurs ainsi produites sont condensées dans des appareils classiques et l'huile obtenue est refroidie et stockée en attendant le raffinage.

Le solvant condensé est recueilli dans un séparateur où il est débarrassé de l'eau provenant de la vapeur injectée et de l'humidité des produits traités.

Les farines d'extraction retiennent toujours une quantité de solvant assez importante, que l'on récupère dans des appareils sécheurs. Là aussi, les dernières traces de solvant sont chassées à l'aide de vapeur vive ou sous vide plus ou moins poussé.

L'extraction est réalisée par un appareil de soxhlet ou un appareil de Lichens-Nickersen [33].

I.4.3 Propriétés physico-chimiques

Contrairement aux autres corps gras (beurre, margarine, crème fraîche, saindoux, suif, autres corps gras d'origine animale) qui contiennent une proportion variable d'eau, les huiles ne contiennent pas d'eau, mais près de 100 % de lipides [32].

I.4.4 Composition chimique des huiles végétales

Un corps gras (huile ou graisse) est composé d'une grande variété de constituants que présente de façon panoramique ; les triglycérides sont les composants majoritaires (95- 99 %), ils sont composés de glycérol (3-5 %) et d'acides gras (90-95 %). D'autres constituants sont naturellement présents en plus faible quantité : des lipides à caractère polaire tels que les phospholipides (0,1-0,2 %) et des composés dits insaponifiables appartenant à une fraction non

glycéridique (0,1 à 3 %) principalement représentés par les stérols et les tocophérols et tocotriénols mais contenant également des caroténoïdes, des alcools terpéniques, du squalène, des composés phénoliques, etc.... [34].

I.4.5 Composition chimique de l'huile végétale fixe de jojoba

L'huile de jojoba est composée de près de 98 % de cires pures (principalement des esters de cire, quelques acides gras libres, des alcools et des hydrocarbures), des stérols et des vitamines avec peu d'esters de triglycérides. Elle est donc largement connue sous le nom de cire liquide plutôt que d'huile ou de graisse [17]. Composition en acides gras : Esters cireux : 97 % ; AG monoin saturés : 95 à 97 % gadoléique, érucique, oléique ; AG saturés : 1 à 2 % palmitique, nervonique. Autres constituants actifs : Insaponifiables Traces de stérols. [35] [36].

I.4.6 Utilisation des huiles végétales

Les huiles riches en acides gras mono-insaturés sont résistantes à la cuisson : olive, arachide en particulier. L'huile d'olive vierge, par la diversité et la complexité de ses arômes, et du fait de ses composés mineurs, a un intérêt particulier sur le plan nutritionnel. Les huiles vierges sont moins courantes. Leur trouble, leur goût fort et leur [32].

I.5 Activité antibactérienne

Les effets antimicrobiens de différents types d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et utilisé pour prolonger la durée de conservation des aliments. Ainsi les huiles essentielles actuellement utilisées comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et peut donc être utilisé comme conservateur alimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As Safe GRAS), ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des recherches préliminaires sont nécessaires afin de pour mieux comprendre leur activité antimicrobienne. Cette activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, notamment de la nature de leurs composés volatils majeurs [34].

I.5.1 Méthodes de détermination de l'activité antimicrobienne

I.5.1.1 Aromatogramme

Il s'agit d'une technique microbiologique de pointe qui permet l'étude de la sensibilité bactérienne à différentes huiles essentielles par spectre antimicrobien. Il étudie les capacités antibactériennes et antifongiques. L'inspection des boîtes de Pétri révèle des halos autour de certains disques. Le cercle parfait de clarté et de transparence est l'aura de retenue. Au-delà, le milieu est trouble en raison de la prolifération bactérienne [37].

I.5.1.2 Méthode de micro-pression

Le principe de cette technique est d'ensemencer des boîtes de Pétri pour les bactéries. Quelques gouttes d'HE adhèrent au papier filtre inférieur et central du couvercle [38]. L'incubation de la boîte à l'envers provoque l'évaporation des matières volatiles. Les lectures sont prises après incubation tout en observant la croissance ou l'inhibition bactérienne [39].

I.5.1.3 Méthode de dilution et micro méthode

Les huiles essentielles à traiter peuvent également être mélangées directement avec une concentration connue dans un milieu, qu'il soit solide ou liquide. Le milieu est ensuiteensemencé avec un taux défini de microorganismes. Après incubation, la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique, le degré d'inhibition étant lié à la turbidité du milieu [40]. Par ailleurs, une méthode micro volume en milieu liquide (méthode microplaque) a également été développée [41].

I.5.2 La concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale bactéricide CMB

a) La concentration minimale inhibitrice CMI :

Elle correspond à la concentration nécessaire pour inhiber totalement la croissance d'un nombre déterminé de germes après un temps d'incubation donné, qui peut être déterminé par contact direct en milieu gélosé ou en milieu liquide [42].

b) La concentration minimale bactéricide CMB :

En générale, le CMI n'est pas totalement bactéricide et une partie de l'inoculum est capable de se développer après la disparition du composé inhibiteur. Ceci a conduit à la définition d'un autre paramètre, la « Concentration minimale Bactéricide » (CMB). Elle correspond à la concentration en agent inhibiteur nécessaire pour que l'activité bactéricide soit totale sur un inoculum donné après un temps bien déterminé [43].

I.6 La combinaison des huiles essentielles

Plusieurs études antérieures ont examiné et rapporté l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Cependant, il est généralement constaté que les traitements utilisant uniquement les huiles essentielles nécessitent des concentrations élevées d'huile essentielle et une exposition prolongée pour éliminer efficacement les bactéries ciblées [44].

L'activité des huiles essentielles peut être modifiée lorsqu'elles sont combinées avec d'autres composés. Lorsqu'une combinaison, l'interaction entre les agents antimicrobiens peut conduire à trois résultats différents : la synergie, l'addition ou l'antagonisme. La synergie se produit lorsque le mélange des deux agents antimicrobiens produit une activité antibactérienne supérieure à la somme des activités des composés individuels. L'effet additif se produit lorsque la combinaison des agents antimicrobiens produit un effet égal à la somme des effets des composés individuels. L'effet antagoniste se produit lorsque les deux composés ont un effet combiné inférieur à la somme des effets individuels [45].

Cependant, il est important de noter que l'effet de la combinaison peut varier en fonction des huiles essentielles et des composés utilisés.

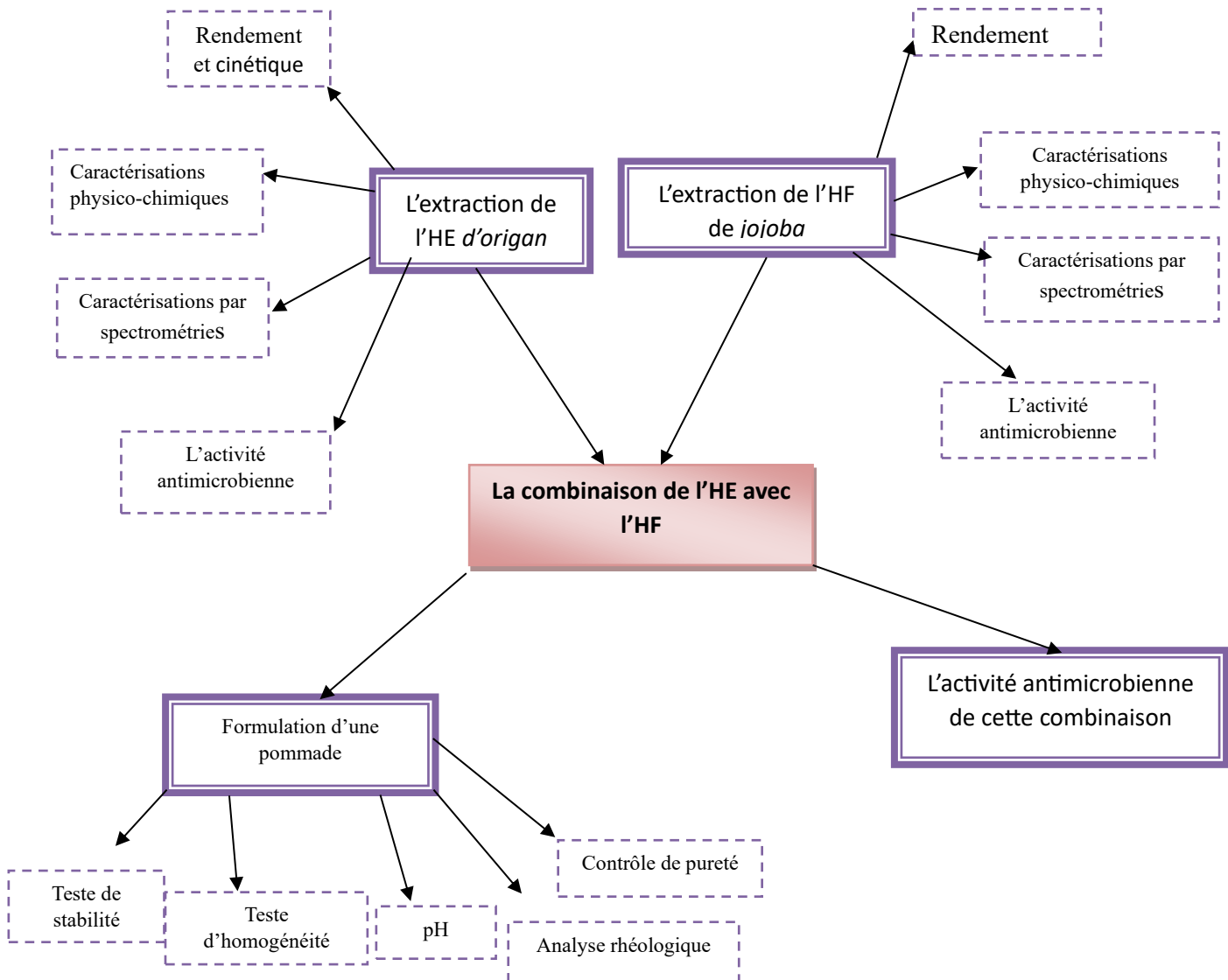
En effet, les combinaisons, qu'il s'agisse d'huiles essentielles simples ou de mélanges d'ingrédients principaux purs, permettront aux bactéries d'être exposées à de nombreux composés chimiques, qui exercent différents mécanismes d'action antibactérienne, simultanément, sur plusieurs cibles bactériennes. Ceci est susceptible de conduire, d'une part, à une meilleure activité et, d'autre part, à une diminution du risque de développer une résistance adaptative à ces combinaisons [45, 46].

En fin, l'utilisation des huiles essentielles dans ces combinaisons présente plusieurs avantages par rapport à d'autres adjuvants. Les huiles essentielles sont des produits naturels, renouvelables et largement acceptés en raison de leurs applications traditionnelles. Elles sont également relativement peu coûteuses par rapport à d'autres alternatives. De plus, les huiles essentielles ont une meilleure biodégradabilité, ce qui est bénéfique d'un point de vue environnemental [46].

CHAPITRE II
MATERIELS ET METHODES

II.1 Méthode d'étude

Notre expérimentation a été réalisée durant une période de 4 mois, allant de Mars 2023 à Juin 2023.



II.2 Matériels utilisés

- Clévenger.
- Machine de pression à froid type numéro de modèle ZF868.
- Refractomètre.
- Pycnomètre.
- PH mètre.
- L'appareille de UV-1800.
- L'appareille de IR.
- Ultra-turrax.

II.3 Présentation des plantes

II.3.1 L'origan

II.3.1.1 Site de prélèvement

La région de notre matière végétale se situe dans la montagne Aissaouia (W.Blida) à 51 km d'Alger. Elle englobe la partie centrale du parc de Chréa. Les plantes d'origan poussent spontanément ici.



Figure 2 : Localisation de la région d'étude de plant d'origan

Les parties supérieures des plantes ont été récoltées en juin 2022. Cette récolte fait au début de la floraison.

L'identification botanique, la nomenclature et la systématique de la plante ont été confirmées par le botaniste Monsieur METTAI MHAMED maitre-assistant au département d'agronomie de Blida.

II.3.1.2 Présentation de la plante

Origanum floribundum est une plante aux tiges tombantes à la base. Jeunes tiges prostrées. Elles présentent des épis lâches à fleurs disjointes après la floraison. Les fleurs sont de couleur rose et la corolle a des pétales à lèvres essentiellement identiques. Le calice bilabié possède cinq dents courtes. Les plantes peuvent atteindre ou dépasser un mètre d'hauteur [47].

Pendant toute notre expérimentation, nous avons utilisé 5 kg de matière végétale constituée de fleurs et feuilles. La matière végétale a été séchée à l'air libre dans un endroit sec.

II.3.2 Le *jojoba*

II.3.2.1 Site de prélèvement

Le *jojoba* nous a été fourni par Madame BOUCHAREB DJAMILA (de laboratoire Biolera), qui l'a importé de Tunisie.

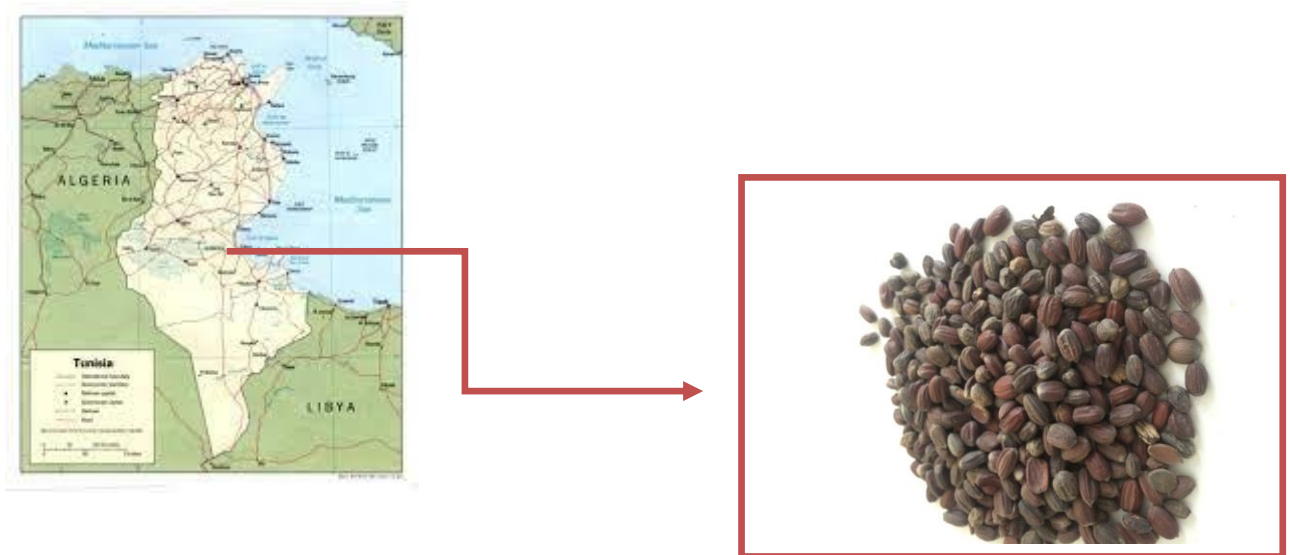


Figure 3 : Localisation de la région d'étude de plante de jojoba

II.3.2.2 Présentation de la plante

La plante de *jojoba* est une plante sauvage à feuilles persistantes, les plantes de *jojoba* ont des feuilles denses et ovales qui ressemblent beaucoup aux feuilles d'olivier, sauf qu'elles ont une texture coriace et sont recouvertes d'une épaisse couche de cire. Il a des racines sphéroïdales profondes. Il peut mesurer plus de 10 mètres de long, et il y a un groupe de racines latérales non superficielles qui s'y ramifient. La hauteur des racines varie de 1,5 à 4 mètres, selon la quantité de pluie ou d'eau d'irrigation [48].

Pendant toute notre expérimentation, nous avons utilisé 1kg de matière végétale constituée de grain seulement.

II.4 Méthodes d'extraction

L'extraction a été réalisée au niveau de laboratoire d'extraction des huiles essentielles BIOLERA de Blida.

II.4.1 Extraction d'Huile Essentielle d'*Origanum floribundum*

II.2.1.1 Extraction par hydrodistillation (à l'échelle laboratoire)

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par un appareil de distillation de type Clévenger (**Figure 3**). Une quantité de 40 g de matière végétale (*l'origan*) sèche est immerger dans un ballon en verre qui est remplier d'une quantité suffisante d'eau et placée dans un chauffe ballon, le mélange est porté à ébullition. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles circulent dans un tube vertical puis dans un réfrigérant où se produit la condensation, les gouttelettes formées s'accumulent dans le tube rempli au préalable de l'eau. En raison de la différence de densité, l'huile se trouve à la surface de l'eau en haut. L'hydrodistillation dure 1 heure et 20 min. Dans le but d'étudier la cinétique de l'extraction, le volume de l'HE est prélevé chaque 5 min pour étudier l'évolution du rendement à différents temps. Les huiles essentielles obtenues sont recueillies dans un flacon opaque noir avec bouchon inviolable, spécialement conçu pour protéger l'huile de la lumière.

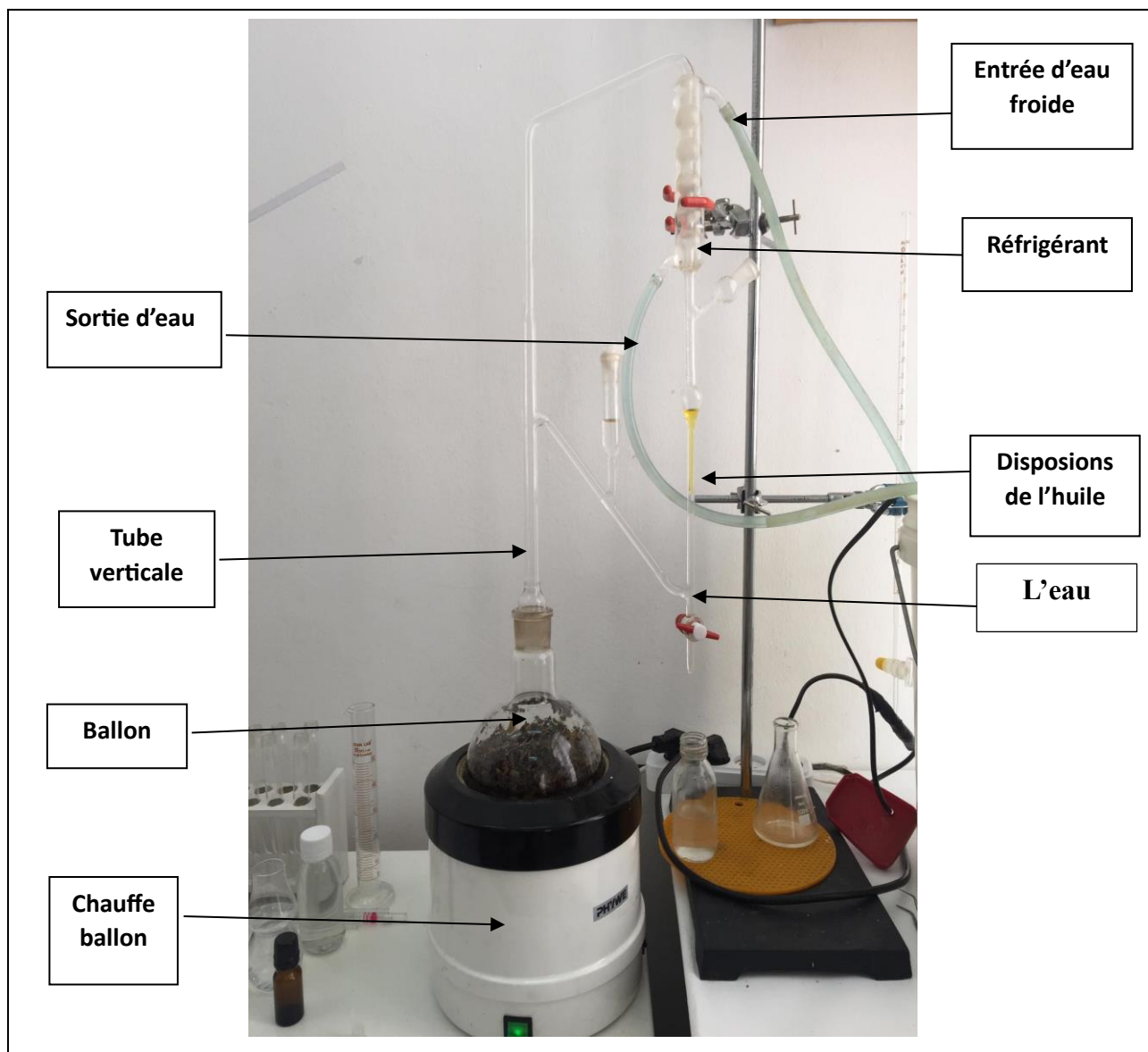


Figure 4 : Montage d'hydrodistillation de type Céléveger

Ce processus a été répété pour la deuxième fois avec une masse de 50g.

II.4.1.2 Extraction par entrainement à la vapeur d'eau (À l'échelle industrielle)

L'extraction de l'huile essentielle a été réalisée par entrainement à la vapeur pendant 2h, une quantité 5Kg de la plante sèche (*l'origan*) sont placés dans un alambic et l'action de la chaleur l'eau se transforme en vapeur qui traverse le plant s'évapore et entraine les molécules aromatiques, puis s se condenser dans le serpentin réfrigérant. A la sortie de l'alambic, un essencier sépare l'huile essentielle qui flotte à la surface de l'eau par différence de densité, cette dernière est récupérée dans un flacon opaque noir avec bouchon inviolable, spécialement conçu pour protéger l'huile de la lumière.

II.4.2 Extraction d'Huile végétale fixe de *jojoba*

L'extraction d'Huile végétale de *jojoba* est réalisée par une extraction mécanique, il s'agit d'une pression à froid. Les graines de jojoba sont nettoyées, puis pressés à l'aide d'une presse à vis (**figure 4**). Après filtration, on obtient de l'huile vierge de première pression à froid, cette dernière est récupérée dans un flacon opaque noir avec bouchon inviolable, spécialement conçu pour protéger l'huile de la lumière.



Figure 5 : Machine de pression a froide (numéro de modèle ZF868)

II.5 Calcul du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile récupérée (Mex) à la masse de la matière végétale sèche (MVS), exprimées dans la même unité de masse multiplié par 100, comme suit :

$$R\% = (Mex / MVS) \times 100$$

II.6 Caractérisation des huiles obtenues

L'appréciation des caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur et flaveur). La détermination des indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide, indice de saponification et l'indice d'ester).

II.6.1 Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques se réfèrent aux propriétés sensorielles perçues par les sens lors de l'évaluation d'un produit, les caractéristiques organoleptiques comprennent généralement :

Odeur/arôme : C'est l'une des caractéristiques les plus distinctives des huiles.

Texture : Dans certains cas, les huiles peuvent avoir une certaine viscosité ou consistance spécifique, qui peut être évaluée en les touchant ou en les appliquant sur la peau.

Couleur : La couleur de l'huile peut varier d'une teinte claire à une teinte plus foncée, et elle peut être évaluée visuellement.

II.6.2 Caractéristiques physico-chimiques

II.6.2.1 Caractéristiques physiques

Détermination de l'indice de réfraction

L'échantillon doit être exempt d'humidité et de toute autre matière résiduelle et enregistrer température ambiante. Ensuite on ouvre le prisme du réfractomètre et nettoyer le avec un coton doux. Puis, on place quelques gouttes de l'huile à tester sur la partie inférieure du prisme et fermer le réfractomètre. Ensuite, on observe à travers l'oculaire et on tourne le bouton du compensateur de correction de dispersion jusqu'à ce que la couleur la frontière indistincte vue entre la lumière et le fond noir devient une ligne nette, on ajuste le bouton moleté jusqu'à ce que la ligne pointue croise exactement le milieu de la croix fils dans l'image. On lit l'indice de réfraction de la loupe dans le pointeur et enregistrer la lecture.

La lecture a la température ambiante : ($T_0=19^\circ\text{C}$) donne : $IR_0= 1.608$

à 20°C :

$$IR= IR_0+0.0004 (T_0-20)$$



Figure 6 : Réfractomètre

Détermination de la densité relative :

L'échantillon doit être exempt d'humidité et de toute autre matière résiduelle. Ensuite, on lave et nettoie soigneusement le pycnomètre (**Figure6**) et sécher l'intérieur avec un courant d'air sec.

Maintenant, on pèse le pycnomètre et enregistrer le poids et remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée et noter le poids avec la température. Ensuite, on nettoie à nouveau le pycnomètre et sécher l'intérieur avec un courant d'air sec. Finalement on mette les valeurs dans la formule suivant pour déterminer la densité :

$$d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : la masse de pycnomètre vide.

m_1 : la masse de pycnomètre remplie par l'eau distillée.

m_2 : la masse de pycnomètre remplie par l'huile.



Figure 7 : Pycnomètre

II.6.2.2 Caractéristiques chimiques

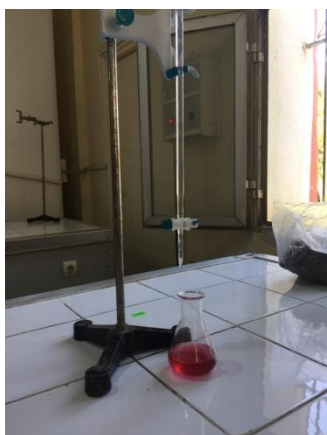
Détermination de l'indice d'acide :

L'indice d'acide exprime les milligrammes de KOH nécessaires pour neutraliser les acides libres dans un gramme d'huile selon la réaction :



Dans un erlenmeyer on pèse 1 g d'huile, ensuite on dissoudre l'huile dans 5ml d'éthanol (95%). Maintenant, on titre le mélange avec une solution d'hydroxyde de potassium (0,1 M) à l'aide d'un indicateur de phénolphtaléine jusqu'à ce que la solution reste légèrement rose après 10 s d'agitation. On note le volume de KOH consommé et le mette la valeur dans la formule.

$$IA = \frac{56.1 \times v \times N}{M}$$



où V = volume de KOH consommé,
 N = normalité de la solution de KOH,
 M = poids de matière (grammes) prise.

Figure 8 : L'apparition de la couleur rose

Détermination de l'indice de saponification :

L'indice de saponification, représente la quantité en milligrammes de KOH (potasse) nécessaire pour transformer en savon les acides gras libres et les glycérides contenues dans un gramme de corps gras. Il est déterminé en mélangeant un volume d'huile avec de la potasse et en le titrant avec de l'acide chlorhydrique, selon le protocole suivant :

Dans un ballon en verre on introduit 1g de l'huile avec 25ml de KOH (0.5 M), on adapte le réfrigérant et on met le mélange à ébullition pendant 1h. On laisse refroidir puis on ajoute 25ml d'eau distillée et quelque goutte de phénolphthaléine, ensuite on réalise un dosage par HCl (0.5 M) jusqu'à la disparition de la couleur rose. Un test à blanc a été réalisé dans les mêmes conditions en utilisant les mêmes réactifs. Le calcul de l'IS est donné par la formule :

$$IS \equiv \frac{(V_0 - V_1)C \times 56.11}{m}$$

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

V₀ : Volume en ml de la solution d'HCl (0,5 M) utilise pour l'essai à blanc.

V₁ : Volume en ml de la solution d'HCl (0,5 M) utilise pour la détermination de l'IS de l'huile.

Détermination de la valeur d'ester :

L'indice d'ester est le nombre de milligramme de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme d'huile. Le calcul de l'IE est donné par la formule :

$$IE = IS - IA$$

IS : indice de saponification.

IA : indice d'acide.

Mesuré le pH des huiles

On a mesure le pH à l'aide d'un appareille pH mètre, nous commenent a stabilisé le ph mètre et tromper l'électrode dans buffer solution de pH (4.01+-0.02), après le rétablisce dans l'eau distiller, ensuite mesurer le pH de l'huile.

II.6.3 Analyse spectroscopique**II.6.3.1 Spectroscopie UV-visible**

La spectroscopie d'absorption ultraviolet-visible est une méthode polyvalente utilisée à la fois pour l'analyse quantitative et qualitative. Elle se fonde sur la capacité d'une substance à absorber l'énergie électromagnétique. Lorsqu'une molécule absorbe de la lumière, cela provoque le passage des électrons d'un état d'énergie inférieur (état stable) à un état excité d'énergie supérieure. Les longueurs d'onde dans la région ultraviolette sont généralement exprimées en nanomètres (10⁻⁹ m) ou en angströms (10⁻¹⁰ m). L'absorption est mesurée en termes de nombres d'onde, représentés par le symbole σ , et exprimés en cm⁻¹.

Principe :

Afin d'enregistrer le spectre UV-visible d'une substance, on prépare une solution diluée qui est ensuite placée dans une cuve en verre ou en quartz. Il est important que le solvant utilisé soit transparent dans la plage de longueurs d'onde sélectionnée. Il convient de noter la nature du solvant, car elle peut influencer les caractéristiques du spectre obtenu. Dans le spectrophotomètre, un faisceau lumineux traverse l'échantillon et un détecteur mesure l'intensité lumineuse avant et après l'absorption pour chaque longueur d'onde (I₀ et I). Ce processus correspond à une spectroscopie quantitative régie par la loi de Beer-Lambert, à condition que la solution soit suffisamment diluée. La relation est exprimée par l'équation :

$$A = \text{Log } I/I_0 = \epsilon lc,$$

- A: absorbance,
- E : est le coefficient d'absorbance (exprimé en mol⁻¹. l.cm⁻¹),
- l : est la longueur de la cuve en cm,
- C : est la concentration de la solution en mol. l⁻¹.

Le spectre UV-visible est représenté par la courbe d'absorbance en fonction de la longueur d'onde, où λ est exprimée en nm. Ce spectre se manifeste sous la forme de bandes larges, qui sont caractérisées par leur longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) et leurs coefficients d'absorbance (ϵ).

Mode opératoire :

Nous avons réalisé cette partie dans laboratoire de génie chimique pavillon 22, université Saad Dahleb Blida. L'appareil utilisée est (UV-1800 ; SHIMADZU).

Analyse de l'huile essentielle :

- ✓ Nettoyer la cuve en quartz en utilisant de méthanol (le solvant).
- ✓ Remplir la cuve de référence avec du méthanol, la placer dans le spectromètre UV et appuyer sur le zéro.
- ✓ Remplir à nouveau la cuve avec du méthanol, puis ajouter quelques gouttes de l'huile essentielle *d'origanum floribundum*.
- ✓ Insérer la cuve pleine dans le spectromètre UV, où elle sera traversée par le faisceau lumineux.

Analyse de l'huile végétale fixe de Jojoba :

- ✓ Nettoyer la cuve en quartz en utilisant de l'hexane (le solvant).
- ✓ Remplir la cuve de référence avec l'hexane, la placer dans le spectromètre UV et appuyer sur le zéro.
- ✓ Remplir à nouveau la cuve avec l'hexane, puis ajouter quelques gouttes de l'huile fixe de *jojoba*.
- ✓ Insérer la cuve pleine dans le spectromètre UV, où elle sera traversée par le faisceau lumineux.

II.6.3.2 Spectroscopie Infra-Rouge

L'analyse par spectre infrarouge (IR) est une technique couramment utilisée en chimie pour déterminer la structure moléculaire des composés. Elle repose sur l'absorption d'énergie infrarouge par les molécules, ce qui provoque des vibrations et des rotations moléculaires spécifiques.

Principe :

Le principe de base de l'analyse par spectre infrarouge (IR) repose sur l'interaction entre la lumière infrarouge et les molécules d'une substance. Lorsque des molécules sont exposées à un rayonnement infrarouge, certaines longueurs d'onde d'énergie spécifiques sont absorbées par les liaisons chimiques présentes dans la molécule, provoquant des vibrations et des rotations moléculaires.

Mode opératoire :

On a préparé un comprimé avec 20mg de KBr dans un mortier, une petite quantité de KBr a été broyer puis étaler dans un support de comprimé, une goutte d'huile a été étaler sur le comprimé puis les placer dans un support pour lire les résultats de l'infra-rouge.

II.7 Evaluation de l'activité antimicrobienne des HE d'*Origanum floribundum* et HF de jojoba

Pour mettre en valeur le pouvoir anti microbienne de l'huile essentielle d'origan et huile fixe de jojoba, L'analyse de cette activité se réduite à tester le pouvoir antimicrobien de l'huile et les déterminés par la concentration minimales inhibitrices (CMI) et leurs concentrations minimales bactéricides (CMB), en réalisant des tests sur différentes souches bactériennes et fongiques de référence connues.

II.7.1 Méthode qualitative d'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles

Nous avons réalisé le teste à l'aide de méthode d'aromatogramme suivant le protocole fournée par SAIDAL (El Harrach, Alger) selon la pharmacopée européenne.

Souches microbiennes testée :

Les souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie et de SAIDAL El Harrach, le nombre prit est 07 : 5 bactéries et 1 champion et 1 levure.

Tableau 1 : Référence de souche microbienne testée

<i>Souches microbiennes</i>	<i>Références</i>	<i>Gram</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538	+
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	+
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC9027	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	-
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	ATCC 16404	

II.7.2.1 Protocole expérimental**Préparation de l'inoculum microbien :**

La concentration de l'inoculum microbien est préparée à partir d'une culture jeune en choisissant des colonies bien séparées et identiques, puis mettre en suspension dans 10 ml d'eau physiologique, et au vortex pendant quelques secondes.

La longueur d'onde à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm pour les bactéries. Cette dernière est prise dans l'enter val 0.08-0.1 correspond à 10⁸ UFC/ml. Et la même méthode pour les champignons mais avec une longueur d'onde de 530 nm Une longueur d'onde de 0.12-0.15 correspond à 1-5 * 10⁶ UFC/m [49].

Préparation de milieu de culture :

On place les flacons Les milieux gélosés (Muller-Hinton) dans un bain marie une fois le milieu passe à l'état liquide, coulée dans de boîte pétri un volume de 20 ml. Laisser le milieu solidifier dans la hotte

Les suspensions microbiennes préparées sont ensemencées à l'aide d'un écouvillon stérile sur la surface de gélose (MH).

Dépôt des disques :

En utilisant une pince stérile (stérilisé aux UV), nous prend un disque de cellulose

(diamètre 9 mm) on le trempe dans l'huile pour le test touchez simplement l'extrémité du disque et il absorbera progressivement l'huile jusqu'à ce que le disque soit complètement submergé. Nous plaçons le disque sur la surface de la gélose et le laissons dans le réfrigérateur pendant 30 minutes, après on a placé les boîtes dans l'étuve. Les bactéries ont été incubées à 37°C pendant 24 heures et les levures à 25°C pendant 48 heures. Avec la même technique on prépare des témoins qui contiennent les disques de DMSO et d'antibiotiques.

Lecture

À l'aide d'un pied à coulisse on mesure la zone ou toure de disque (zone d'inhibition). L'activité antibactérienne est forte c'est la zone d'inhibition est grande et ou contraire.

II.7.2 Méthode quantitative d'évaluation de l'activité antimicrobien de l'HE

II.7.2.1 Détermination de la CMI et de la CMB ou la CMF

Préparation de l'inoculum :

Nous avons refait la même procédure que celle réalisée dans l'étape précédente.

Préparation des dilutions de l'HE :

Une gamme de dilutions d'HE allant de 2% jusqu'à 0.125% ;

- Le milieu MH est liquéfiée dans un bain marie a 95%.
- On prépare une solution mère a une concentration de 2% comme suite : dans un premier flacon 40 ml de milieu MH est mélangé avec 1ml de TWEEN 80 et 0.8 ml d'HE, on prélève 20 ml qui seront mis dans une boîte pétrie.
- On ajoute 20 ml de MH dans le premier flacon et on prélève 20 ml qui seront mis dans une deuxième boîte pétrie, cette concentration est de 1%.
- Le procédé est répété jusqu'à l'obtention de la dernière dilution de 0.125%.

Test de la CMI :

Pour déterminer la CMI, après solidification, les boîtes sontensemencées avec les souches préparées réalisés à l'aide d'une micropipette. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h pour les bactéries et à 25% pendant 5 jours pour les champignons.

Lecture :

Après l'incubation, observe les boîtes de Petri et recherche la plus faible concentration d'HE qui inhibe complètement la croissance des micro-organismes. Cette concentration est la CMI.

Test de la CMB et la CMF :

Les disques provenant des souches où aucune croissance bactérienne ou fongique n'a été observée seront prélevés et transférés dans de nouvelles boîtes de Petri contenant le milieu de culture approprié. Après incubation la lecture de la CMI et la CMF est effectuée lorsque aucune culture visible n'est présente.

II.8 Évaluation de l'effet antimicrobienne de la combinaison de l'huiles essentielles avec l'huile fixe

Pour mettre en valeur les effets combinaison de l'HE *d'origan* et HF de *jojoba* nous avons préparé des dilutions d'HE avec HF et les comparé avec des dilutions d'HE avec DMSO.

- 1) 25% *d'origan* 75% de *jojoba*.
- 2) 50% *d'origan* 50% de *jojoba*.

On a répété les mêmes dilutions et remplacer l'HF avec DMSO.

Nous avons imbibé le disque de 9 mm par les différents dilutions et placer dans des boîtes pétries qui contient de gélose MH et qui sont déjàensemencées par les souches à tester, après 48h d'incubation on fait la lecture.

La combinaison des huiles donne quatre effets différents qui sont regroupés selon la zone par la zone d'inhibition

- Indifférent ($A+B = \text{Effet A ou Effet B}$) ;
- Addition ($A+B = \text{Effet A} + \text{Effet B}$) ;
- Synergie ($A+B > \text{Effet A} + \text{Effet B}$) ;
- Antagonisme ($A+B < \text{Effet A ou Effet B}$) [50].

II.9 La formulation de la pommade

Nous avons réalisé cette étape à laboratoire pédagogique de pavillon 22, université Saad Dahleb Blida.

Le but de notre recherche est réalisé une formulation galéniques antibactérienne d'une combinaison de l'HE *d'origan* et de l'HF.

- Le principe actif dans notre pommade est l'HE *Origanum floribundum*. Sachant que cet HE traité les problèmes cutanés comme les plaies, les piqûres et les brûlures, les démangeaisons de la peau (champignons, eczéma, irritations cutanées) [51].
- L'excipient est l'huile végétale de jojoba avec de cire d'abeille. Le *jojoba* utilise pour leur effet hydratante, nourrissante, adoucissante, apaisante, régénérant [52].

Les compositions de pommade dermique

On a essayé de différente concentration en variant jojoba et cire d'abeille, afin de trouver la bonne formule qui représenté dans le tableau suivant :

Tableau 2 : La composition de la pommade

<i>Les produits</i>	<i>Concentration %</i>
<i>Huile de jojoba</i>	66
<i>Cire d'abeille</i>	30
<i>HE d'origanum</i>	4

II.9.1 Le protocole de la formulation

En respectant la bonne pratique de fabricant, nous suivons les étapes classiques de formulation :

- Peser la cire d'abeille et huile fixe de *jojoba*.
- Dans un bain marie faire fondre la cire d'abeille jusqu'à la fusion totale (à 60°C), après on rajoute l'huile fixe de *jojoba*.
- À la fin on ajoute le principe actif HE *d'origan*, qui donne l'odeur aussi un conservateur.
- À l'aide d'un Ultra-turrax homogénéiser la pommade (pendant 4 min).
- La pommade est conservée dans une boîte en verre stérile.

II.9.2 Contrôle de qualité de la pommade

Caractéristiques macroscopiques :

Les caractéristiques sensorielles apprécier tout ce que les sens peuvent percevoir : couleur, aspect, odeur. Aussi le contrôle macroscopique pour vérifie la texture spéciale

L'homogénéité :

On a prélevé un échantillon de la pommade puis le déposer une petite quantité de la pommade sur une lame de microscope, on place la lame préparée sur la platine du microscope, après on observe l'échantillon à différents grossissements pour évaluer la répartition des particules ou des ingrédients actifs.

Mesure du pH :

On a mesuré le pH à l'aide d'un papier pH, après de la mouille du l'eau.

Teste de la stabilité :

Le déphasage a été vérifié à l'aide d'une centrifugeuse à vitesse (6000 tr/mn pendant 30mn)

II.9.3 Analyse rhéologique

La rhéologie est une discipline de la science qui consiste à caractériser l'ensemble des matériaux, que ce soit des liquides, des solides ou des matériaux intermédiaires : ceci donne une idée des nombreuses disciplines scientifiques qui sont susceptibles d'être impliquées [53].

La rhéologie étudie le comportement des matériaux en termes d'écoulement, de déformation et plus spécifiquement de viscosité, sous l'influence des contraintes physiques [54].

Mode opératoire :

L'étude a été faite au laboratoire pédagogique de pavillon 22 de Blida à l'université de SAAD DAHLEB :

Préparation du rhéomètre :

Montez la sonde sur le rhéomètre.

Réglez les paramètres de mesure tels que la vitesse de cisaillement, la température, etc.

Mesure de la pommade :

Placez une petite quantité de pommade sur la sonde du rhéomètre en veillant à éviter les bulles d'air.

Commencez l'analyse :

Enregistrez les données de mesure fournies par le rhéomètre, y compris la viscosité, l'élasticité, la thixotropie, etc.

Analyse des résultats :

Analysez les données obtenues à partir du rhéomètre en utilisant le logiciel approprié fourni avec l'appareil. Cela peut inclure la génération de courbes de viscosité, de modèles rhéologiques, de valeurs numériques, etc.

II.9.4 Teste de pureté de la pommade

Nous avons réalisé ce teste au niveau de laboratoire de microbiologie de SAIDEL EL HARRACHE (Alger)

Dans but de vérifié que la pommade est dans les normes microbiologique défini par la pharmacopée européenne nous avons testé la pureté de la pommade.

II.9.4.1 Dénombrements des germes aérobies**Protocole :**

L'échantillon : Sous une hotte à flux laminaire, on préparer une dilution réalisée par la dissolution de 5 g de pommade dans 90 ml de solution tamponne pH7.

Dénombrement microbiologique sur milieu solide par la méthode d'aromatogramme :

On couler 1 ml de l'échantillon dans 4 boite pétrie, après on ajoute 20 ml de gélose TSA dans deux boites pour teste la bactérie, et aussi 20ml de Saboraud dans les deux autres boites pour teste les moisissures et levures (la température des deux milieux ne doit pas dépasser 45°C leur de croulement)

Les boites sont incubées à 37°C pour les bactéries et à 25 °C pour les moisissures

Lecture :

En utilisant un compteur de colonie pour dénombrer les microorganismes (sont entre 30 et 300 colonies pour les bactéries et 10 et 100 pour).

II.9.4.2 Recherche des germes spécifiés

La recherche est sur les bactéries de gram négatif, nous avons prélever 10 ml de premier échantillon (solution tamponne pH7 + pommade) et on ajoute dans 100ml de gélose TSB, nous fait incuber à 37°C pendant 48h.

Ontensemencé 1ml de mélange sur la gélose cétrimide adapté à la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*, et aussi 1 ml sur la gélose mannitol adapté au *Stapheylococcus aureus*, après on incuber les boites à 37 °C pendent 48h.

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 Rendement d'extraction de l'huile essentielle

Nous avons pu récupérer une quantité de 142 ml d'HE à partir de 5 kg de plantes sèches.

Le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum floribundum*), est donné dans le (tableau 3) :

Tableau 3 : Résultats de rendement d'extraction

Méthodes d'extractions	Rendement
HD (essai 1)	3.05%
HD (essai 2)	2.96%
EV	2.9%

D'après ce tableau, le rendement obtenu pour cette espèce est peu inférieur à celui rapporté par Azzoudj (1999) en travaillant sur la même espèce et de même provenance (3,0 %) [55].

L'extraction se déroule en deux étapes de durées différentes, une étape de chauffage au cours de laquelle la température de la matière d'extraction monte 25 min pour dans le cas de l'HD, jusqu'à la température de distillation (apparition de la première goutte de distillat) 2h pour EV et 1h pour HD. Il a été constaté que le rendement variait en fonction de la méthode d'extraction.

III.2 La cinétique d'extraction de l'HE

Dans le but d'étudier l'influence de l'état de la matière végétale sur la cinétique d'extraction, l'évolution du rendement en huile essentielle en fonction de la durée d'extraction a été réalisée. Les fractions de l'huile essentielle ont été récupérées à des intervalles de temps réguliers.

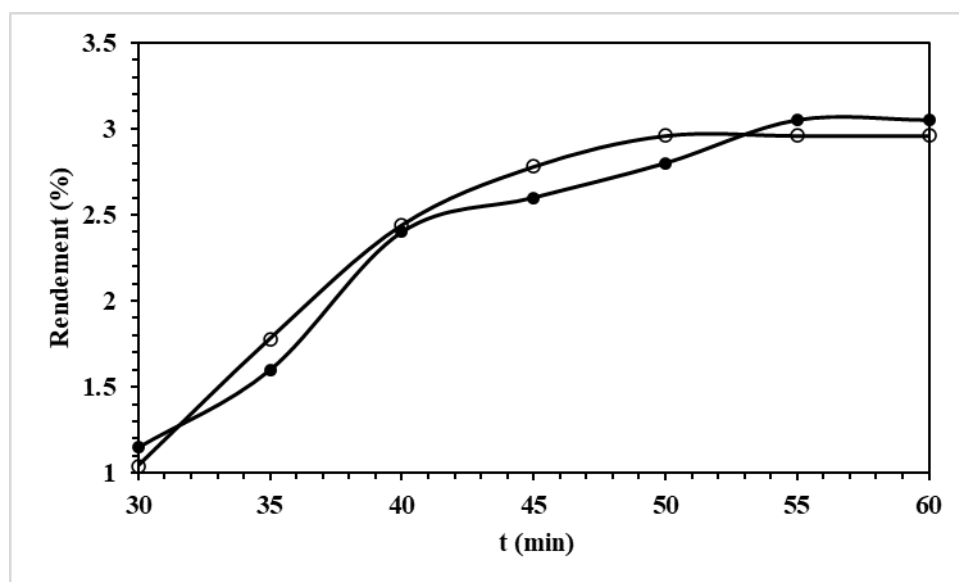
Les résultats de la cinétique d'extraction de l'HE d'*Origanum floribundum* des deux essais sont regroupés dans (tableaux 4 et 5).

Tableau 4 : Les résultats de la cinétique d'extraction de l'HE (essais 1)

<i>t</i> (min)	25	30	35	40	45	50	55	60
<i>V</i> (ml)	0	0.51	0.73	1.1	1.2	1.3	1.4	1.4
<i>R</i> (%)	0	1.15	1.6	2.4	2.6	2.8	3.05	3.05

Tableau 5 : Les résultats de la cinétique d'extraction de l'HE (essai 2)

<i>t (min)</i>	25	30	35	40	45	50	55	60
<i>V (ml)</i>	0	0.6	1.02	1.4	1.6	1.7	1.7	1.7
<i>R (%)</i>	0	1.04	1.78	2.44	2.78	2.96	2.96	2.96

**Figure 9 : La courbe de la cinétique d'extraction de l'HE *d'origanum floribundum***

(• essai 1 ; o essai 2)

La courbe cinétique d'extraction HE est caractérisée par une augmentation partielle correspondant au maximum de l'huile extraite en 60 minutes. L'allure de la courbe représentée présente trois étapes :

- La première étape se caractérise par une augmentation rapide de l'extraction, atteignant un rendement de 2,6 et 2.78 % après 45minutes. Cela s'explique par la grande quantité d'HE située à la surface de la plante et 90 % de l'HE total est récupéré par les vapeurs produits.
- Dans la deuxième étape (45_50minutes), la vitesse d'extraction est ralentie par rapport à l'étape précédente, et le taux d'extraction diminue
- L'étape finale correspondant à la période de stagnation de rendement qui indique la fin d'extraction, elle nous donne une durée maximale égale à 60 minutes pour obtenir un maximum de rendement en utilisant le minimum d'énergie.

III.3 Le rendement de l'huile de *jojoba*

Nous avons pu récupérer une quantité de 523 ml d'HF à partir de 1 kg de grain.

Le rendement de l'extraction de l'huile de *jojoba* est : $R = 45.29\%$

III.4 Caractérisation des huiles obtenus

III.4.1 Caractérisation organoleptiques

Les caractères organoleptiques de l'huile essentielle, de l'origan obtenu par entraînement à la vapeur d'eau (EV) et par l'hydrodistillation (HD), et Les caractères organoleptiques de l'huile végétale fixe de *jojoba*, sont représentés dans (**tableau 6**)

Tableau 6 : Les caractéristiques organoleptiques de l'HE *d'origanum floribundum* et HF de *jojoba*

<i>Huile</i>	<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Odeur</i>	<i>Miscibilité</i>
<i>Origan</i>	<i>Fluide</i>	<i>Jaunâtre</i>	<i>Donnât une forte odeur aromatique rappellent de l'odeur d'origan</i>	<i>Miscible dans l'éthanol, méthanol</i>
<i>Jojoba</i>	<i>Fluide</i>	<i>Jaunâtre foncé</i>	<i>Une odeur légère et neutre</i>	<i>Miscible dans l'hexane</i>

L'évaluation des caractéristiques organoleptiques joue un rôle essentiel dans la détermination de la qualité et de l'authenticité des huiles.

III.4.2 Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques telles que l'indice d'ester, l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice de réfraction, la densité et le pH d'HE *d'origan* et d'HF de *jojoba* sont représentés dans le (**tableau 7**).

Tableau 7 : Les caractéristiques physico-chimiques d'HE d'*origanum floribundum* et d'HF e *jojoba*

	<i>HE</i>	<i>HF</i>
<i>Indice d'acide</i>	18.87	1.67
<i>Indice de saponification</i>	27.78	55.9
<i>Indice d'ester</i>	8.91	54.23
<i>Indice de réfraction</i>	1.608	1.4068
<i>La densité</i>	0.873	0.866
<i>Ph</i>	5.16	6.43

Indice d'acide : Dans ce cas, l'HE *d'origan* présente un indice d'acide de 18.87, ce qui indique une teneur relativement élevée en acides gras libres, l'indice d'acide élevé peut être indicatif d'une certaine instabilité de l'huile essentielle et de la possibilité d'une oxydation accrue. Lorsque l'huile essentielle s'oxyde, elle peut se dégrader rapidement, ce qui peut entraîner une augmentation de l'indice d'acide. En revanche, l'HF de *jojoba* présente un indice d'acide beaucoup plus faible, avec une valeur de 1.67, indique une concentration moindre d'acides gras libres, ce qui est souvent associé à une meilleure qualité de l'huile.

Indice de saponification : L'indice de saponification est utilisé pour déterminer la quantité de base nécessaire pour saponifier une quantité donnée d'huile. Il peut être utilisé pour évaluer la pureté de l'huile ou pour identifier des huiles spécifiques. Dans ce cas, l'HE *d'origan* a un indice de saponification de 27.78, tandis que l'HF de *jojoba* présente un indice de saponification plus élevé à 55.9.

Indice d'ester : L'indice d'ester est utilisé pour évaluer la quantité d'esters présents dans une huile. Les esters sont des composés chimiques qui confèrent souvent des arômes agréables aux huiles essentielles. L'HE *d'origan* présente un indice d'ester de 8.91, indiquant la présence d'esters. En revanche, l'HF de *jojoba* a un indice d'ester plus élevé, à 54.23, car l'huile de *jojoba* est composée principalement d'esters de cire, tels que l'ester de *jojoba*. Cet ester, également connu sous le nom de cire de *jojoba*, est composé d'acides gras et d'alcools gras liés chimiquement. Ces esters de cire confèrent à l'huile de *jojoba* ses caractéristiques uniques, notamment sa stabilité à l'oxydation et sa capacité à hydrater la peau sans laisser de sensation grasse. La présence d'esters dans l'huile de *jojoba* contribue également à son profil sensoriel, y compris son odeur légère et sa texture agréable.

Indice de réfraction : L'indice de réfraction mesure la capacité d'une substance à dévier la lumière. Dans ce cas, l'HE *d'origan* a un indice de réfraction de 1.608, tandis que l'HF de *jojoba* présente un indice de réfraction plus faible, à 1.4068.

Densité : La densité mesure la masse d'une substance par unité de volume. Dans ce cas, l'HE *d'origan* a une densité de 0.873, tandis que l'HF de *jojoba* a une densité de 0.127.

pH : Les résultats de pH indiquent que le pH de 5,16 présente une acidité modérée, tandis que le pH de 6,43 est légèrement acide. Ces informations sont essentielles pour comprendre les effets sur les réactions chimiques et la compatibilité avec les applications industrielles ou environnementales.

III.5 Analyse de spectroscopie à l'UV-VIS

Les spectres enregistrés dans un intervalle de 200 à 400 nm (domaine de l'ultraviolet).

HE :

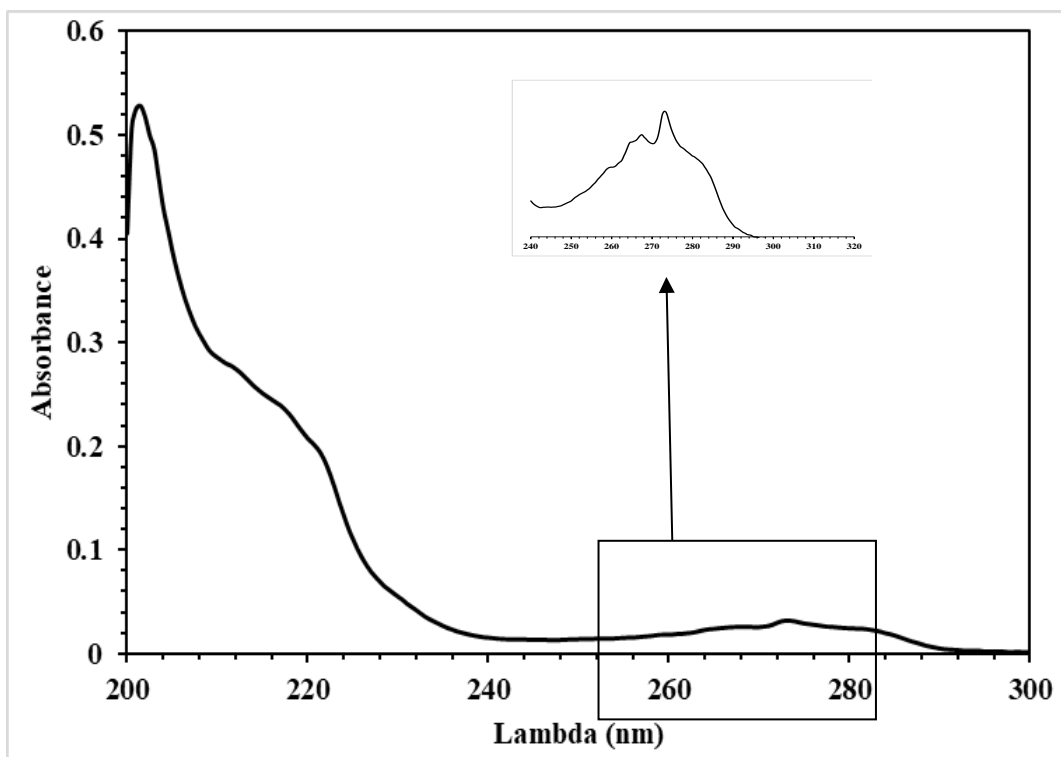


Figure 10 : Spectre UV-visible de l'huile essentielle *d'origanum floribundum*

Le spectre de l'huile essentielle montre une absorbance maximale à 205 nm. Les données mettent en évidence aussi deux autres pics d'absorption important à 220nm et 275nm.

205 nm :

Absorption par les groupes phénol (Ar-OH) présents dans les composés aromatiques avec un groupe hydroxyle. Aussi l'absorption par les groupes ester.

220 nm :

Absorption par les groupes carbonyle (C=O) conjugués présents dans certains composés cétoniques, aldéhydiques et certains acides carboxyliques.

275 nm :

Absorption par certains groupes fonctionnels contenant des cycles benzéniques ou des hétérocycles conjugués.

HF :

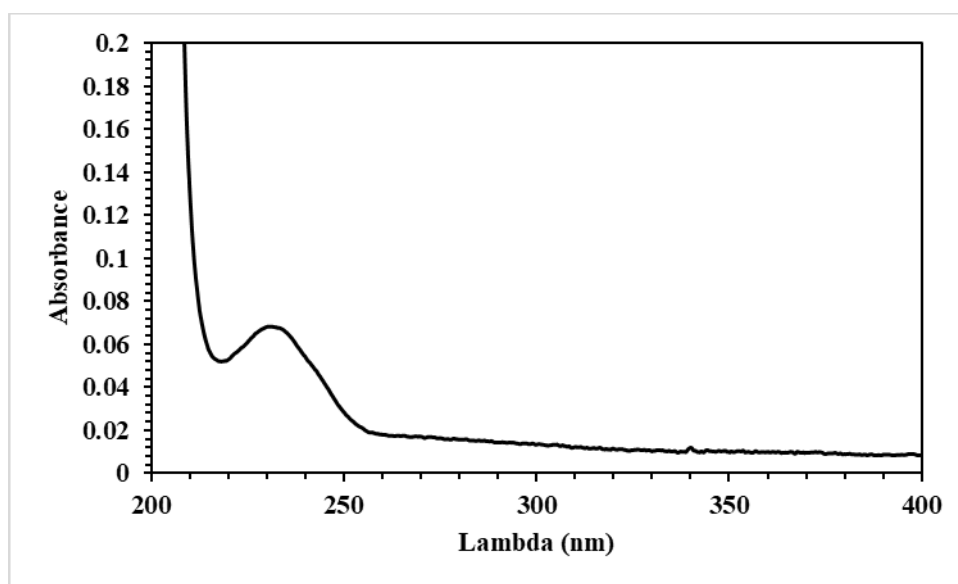


Tableau 8 : Spectre UV-VIS de l'HF de *jojoba*

Le spectre de l'huile fixe de *jojoba* montre une bande d'absorption importante à 234.6nm, dues à la présence de groupes carbonyle (C=O) conjugués dans la molécule (les esters).

La présence de cette variété de pics d'absorption suggère la présence de différentes molécules actives dans l'huile. Ces molécules actives, également appelées chromophores, correspondent à des groupes fonctionnels responsables de l'absorption des photons UV.

III.6 Analyse des spectres IR

Analyse de l'HE d'origan :

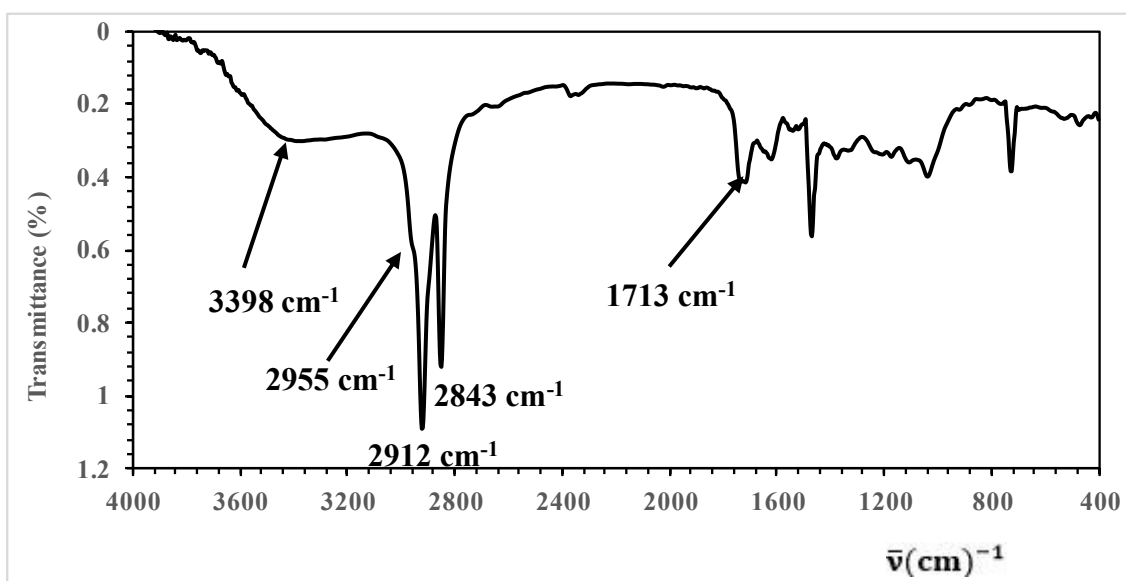


Figure 11: Spectre IR de l'HE *d'origanum floribundum*

Le spectre montre :

- Vibration à 1713 cm⁻¹ (faible) : cette vibration pourrait correspondre à la présence d'une liaison C=C aromatique. Les composés aromatiques tels que le benzène et ses dérivés courants présentent des pics d'absorption dans cette région.
- Vibration moyenne à 2843 cm⁻¹ : Cette vibration correspond généralement à des liaisons C-H aliphatiques asymétriques. Il est courant de trouver ce type de liaison dans les huiles essentielles, car elles sont souvent riches en composés terpéniques.
- Pic intense à 2912 cm⁻¹, lié à un pic moyen à 2955 cm⁻¹ : Ces pics sont également associés à des liaisons C-H aliphatiques, mais cette fois-ci, il s'agit de liaisons C-H aliphatiques symétriques. Encore une fois, cela est cohérent avec la présence de composés terpéniques dans l'huile essentielle *d'Origanum floribundum*.
- Large bande à 3398 cm⁻¹ : Cette large bande d'absorption suggère la présence d'un groupe hydroxyle (OH). Les groupes OH sont souvent présents dans les alcools et les phénols. Dans le cas de l'huile essentielle *d'Origanum floribundum*, cela peut indiquer la présence d'alcools terpéniques.

Analyse le spectre de l'HF de jojoba :

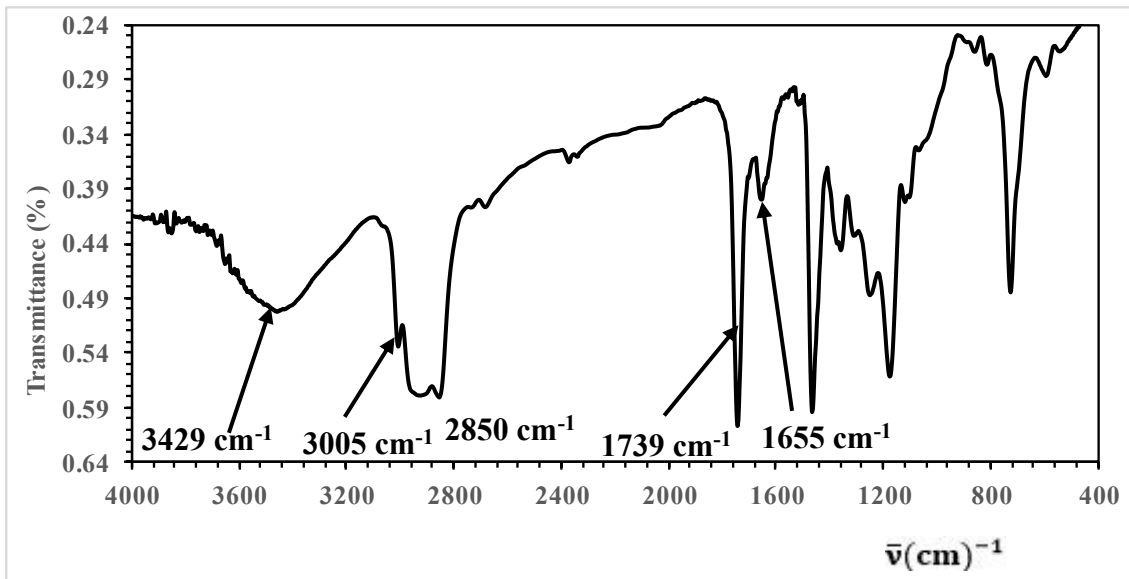


Figure 12 : Spectre IR de l'HF de jojoba

- Un pic faible à 1655 cm^{-1} : Ce pic peut indiquer la présence d'une double liaison carbone-carbone (C=C). Les huiles végétales contiennent souvent des acides gras insaturés, qui sont caractérisés par des liaisons doubles.
- Un pic intense à 1739 cm^{-1} : Ce pic suggère la présence d'une liaison ester (C=O) dans l'huile de jojoba. Les esters sont couramment trouvés dans les triglycérides, les principaux composants des huiles végétales.
- Une bande à 2850 cm^{-1} liée à un pic faible à 3005 cm^{-1} : Ces pics peuvent indiquer la présence de groupes méthyles (-CH₃). Les groupes méthyles sont couramment présents dans les acides gras saturés, qui constituent une partie des triglycérides de l'huile de jojoba.
- Une large bande à 3429 cm^{-1} : Cette bande correspond généralement à l'absorption d'ondes par les groupes hydroxyle (-OH). Cela suggère la présence de composés contenant des groupes hydroxyle dans l'huile de jojoba. Ces composés pourraient inclure des alcools gras ou d'autres molécules contenant des groupes hydroxyle.

III.7. L'activité antimicrobienne d'HE d'*Origanum floribundum* et HF de *jojoba*

III.7.1. Etude qualitative de l'activité antimicrobienne

Les résultats obtenus indiquent que l'HE d'*origan* avait une activité antibactérienne significative contre les souches testées. La plus grande zone inhibitrice a été observée dans les bactéries des Gram-, avec une zone inhibition de 36.80mm pour *Escherichia coli* suivi de *Salmonella typhimurium* de 26.68mm. Par conséquent, ces espèces sont les plus sensibles à cette huile.

L'huile était plus active contre les souches fongiques de *Aspergillus brasiliensis* (90mm de diamètre) et *Candida albicans* (72.69mm de diamètre) que les bactéries.

L'huile végétale fixe de *jojoba* ne montrent aucune activité antibactérienne vis-à-vis les souches testées.

L'HE d'*origanum floribundum* avec *Salmonella* possède une zone d'inhibition supérieur à celle AMX., MT, RP, E, RIF, K, C.

La zone d'inhibition de HE d'*origanum floribundum* avec *Staphylococcus aureus* est supérieur à celle d'antibiotique K.

La zone d'inhibition de HE d'*origanum floribundum* avec *Escherichia coli* est supérieur à celle FC 30, CTR30, AMX, MT, RP, E, RIF, K, C.

Le HE d'*origan* avec *Candia albicans*, à une activité anti fongique mieux que celle des antibiotiques testés.

Par rapporte ou diamètre d'inhibition peut classer les souches en fonction de leur sensibilité comme suit :

Aspergillus brasiliensis>*Candia albicans*>*Escherichia coli*> *Salmonella typhimurium*>*Bacillus subtilis*>*Staphylococcus aureus*>*Pseudomonas aeruginosa*

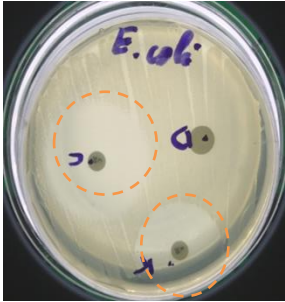
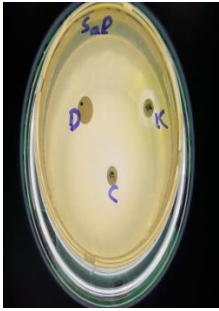

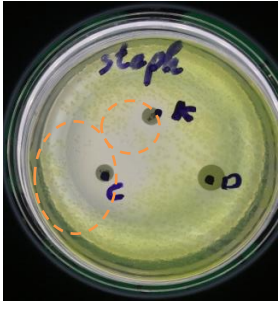
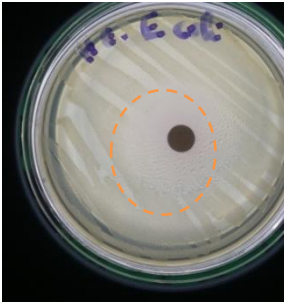
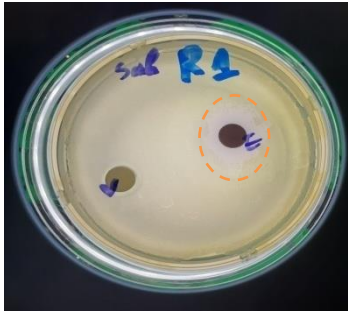

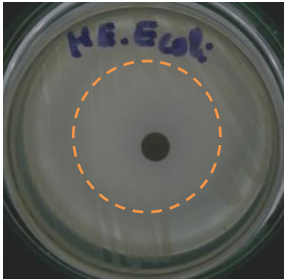
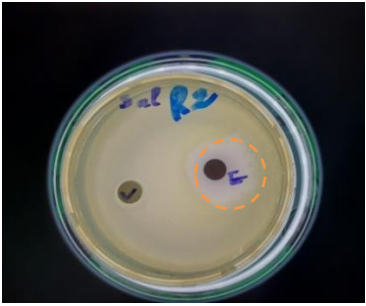
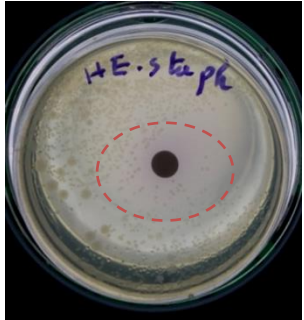
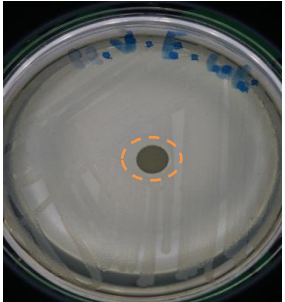

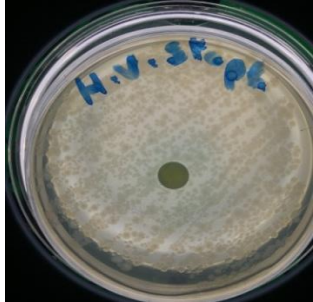
Tableau 9 : Résultats de teste de l'activité antibacterienne de HE d'*origanum floribundum* et HF de *jojoba*

<i>Bactéries Gram+</i>				
	<i>HE (R1) mm</i>	<i>HE (R2) mm</i>	<i>HF (R1) mm</i>	<i>HF (R2) mm</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	25.27	17.33	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	14.50	16.80	0	0
<i>Bactéries Gram-</i>				
<i>Salmonella typhimurium</i>	26.68	20.55	00	0
<i>Escherichia coli</i>	36.80	40.68	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11.96	12.43	0	0
<i>Levure et champignon</i>				
<i>Candia albicans</i>	72.69	74.12	0	0
<i>Aspargillus brasiliensis</i>	90	90	0	0

Tableau 10 : Les résultats des témoins

<i>Souches</i>	<i>Antibiotiques</i>								
	<i>FC</i>	<i>CTR 30</i>	<i>AMX</i>	<i>MT</i>	<i>RP</i>	<i>E</i>	<i>RIF</i>	<i>K</i>	<i>C</i>
<i>Escherichia coli</i>	0	36.7	14.7	8.5	16.5	14.9	14.2	32.13	36.36
<i>Salmonella typhimurium</i>	0	38.9	22.7	0	19.7	12.9	15.9	12.1	17.7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30.97	30.19	0	0	/	22.25	/	11.50	19
<i>Bacillus subtilis</i>	96.6	35.4	30	14.2	33.5	29.2	27.6	15.07	19.26
<i>Staphylococcus aureus</i>	38.3	35.9	40.1	0	36.1	33.5	42.8	13.50	24.26
<i>Candia albicans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aspargillus brasiliensis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 11 : Les zones d'inhibition d'*origanum floribundum* et huile de *jojoba* sur l'*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Saphlyococcus aureus*, *Bacillus subtilis*.

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Témoin</i>				
<u>HE 1</u>				
<u>HE2</u>				
<u>HF1</u>				

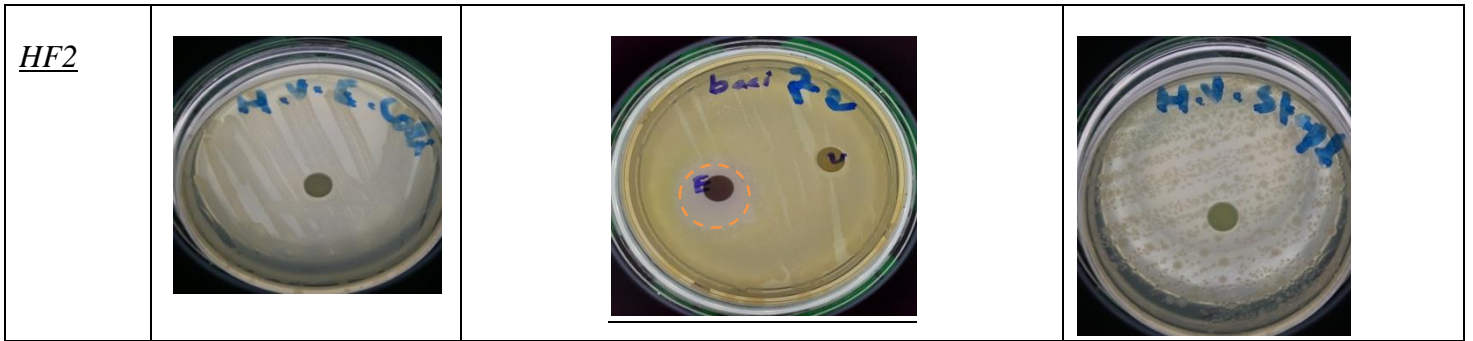
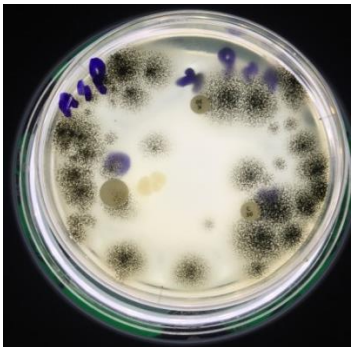
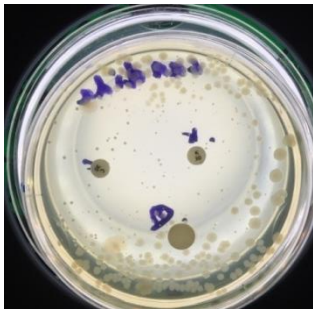

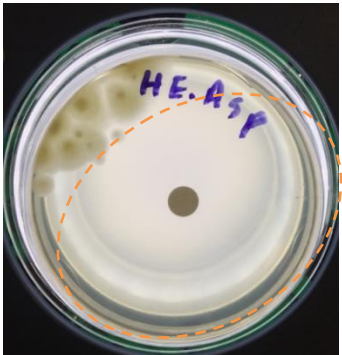

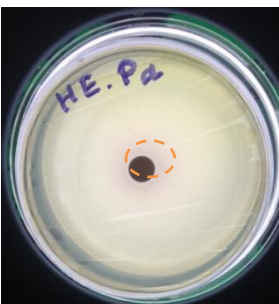
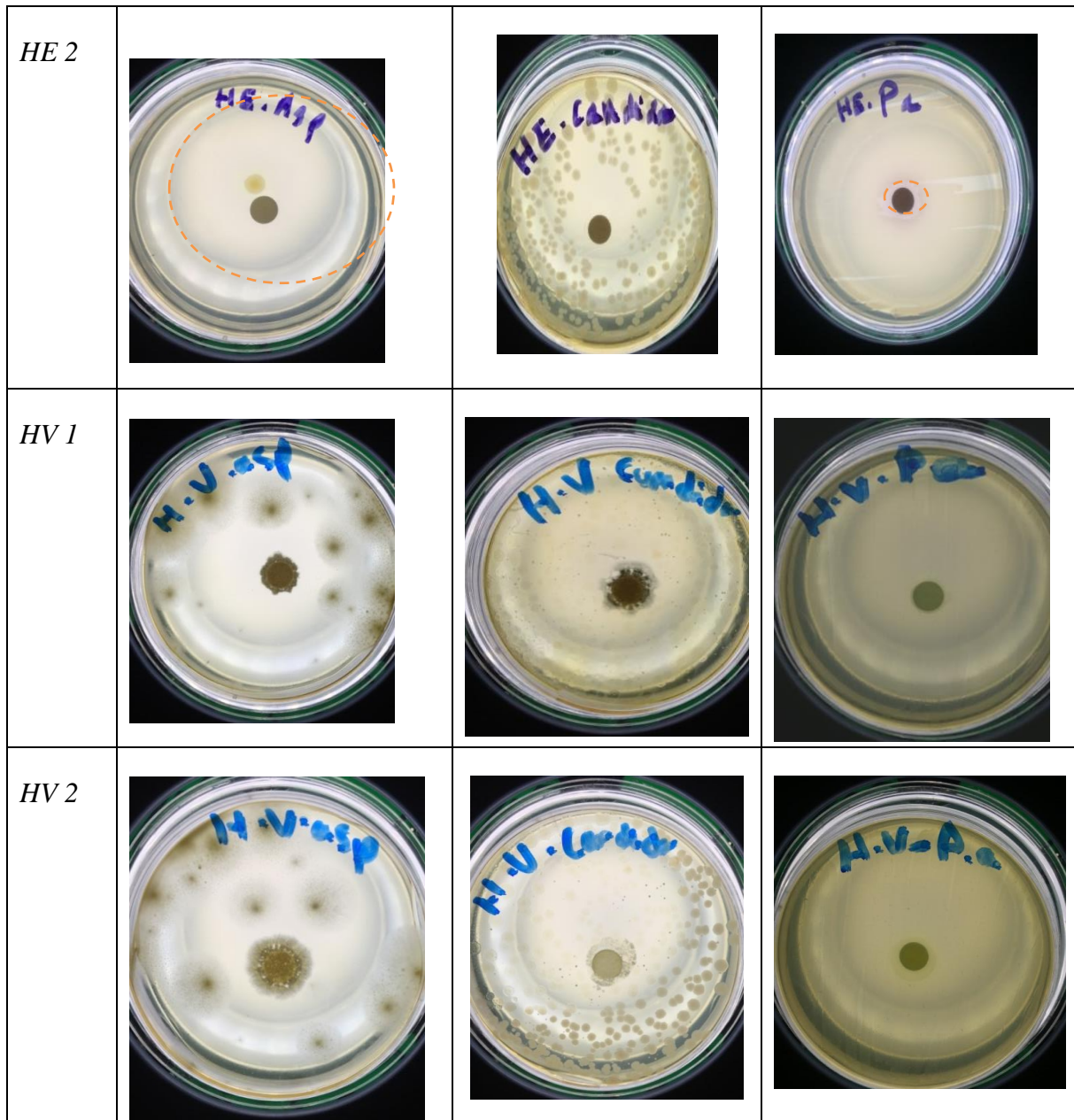


Tableau 12: Les zone d'inhibition d'*origanum floribundum* et huile e jojoba sur *Aspergillus brasiliensis*, *Candia albican*, *Pseudomonas aeruginosa*

	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Candia albicans</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<p>Témoi n</p>			
<p>HE 1</p>			



III.8 Etude quantitative de l'activité antimicrobienne

Le diamètre du disque de la gélose inclus (9mm), - : Pas de croissance bactérienne, + : une croissance bactérienne.

Tableau 13 : Les résultats CMI D'HE *d'origanum floribundum* sur différentes souches

CMI	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%
<i>Escherichia coli</i>	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	+	+	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-	+
<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	-	-	-	-	+

Les concentrations minimales inhibitrices de l'huiles étudiées HE *d'origanum floribundum* varie entre 2% et <0.125% pour des différentes souches testées. Dans le *Pseudomonas aeruginosa* la croissance de la souche est dans la concertation de 1% c'est à dire que la CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* est à 2% qui pressent la plus grande concentration, puis *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus* de CMI égale à 1%, et 0.5% de *Bacillus subtilis* contrairement aux souches *Salmonella typhimurium* et *Aspergillus brasiliensis* qui possèdent une faible concentration inhibitrice de 0.25% et la plus faible concentration est celle de *Candida albicans* de < 0.125%.

Ces résultats montrent que la CMI de l'HE *d'origanum floribundum* est 2%, nous avons choisi cette valeur car c'est la plus grande valeur, et ceci afin d'inclure toutes les concentrations dans le domaine.

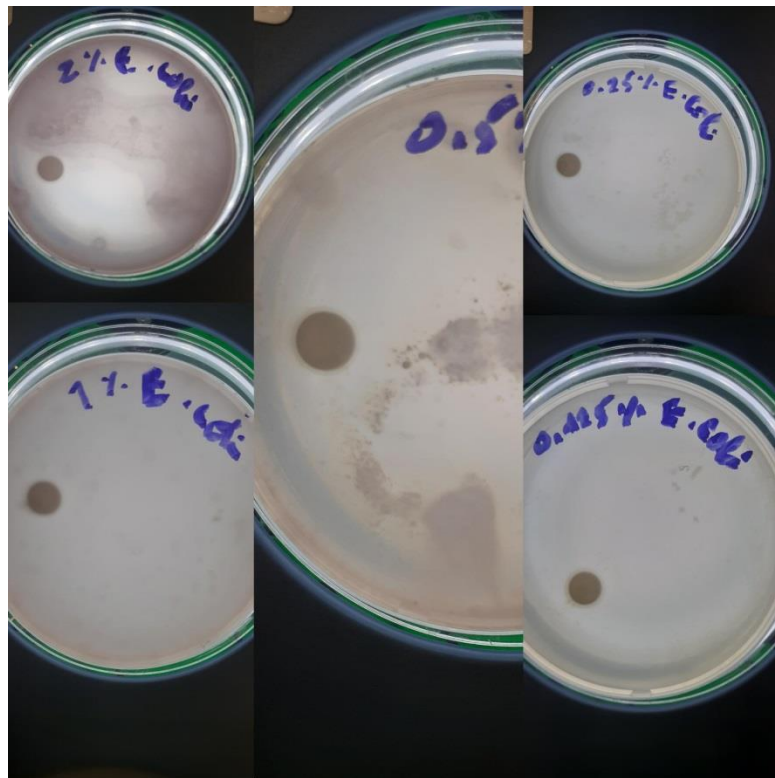


Figure 13 : Résultats de la CMI *Escherichia coli*

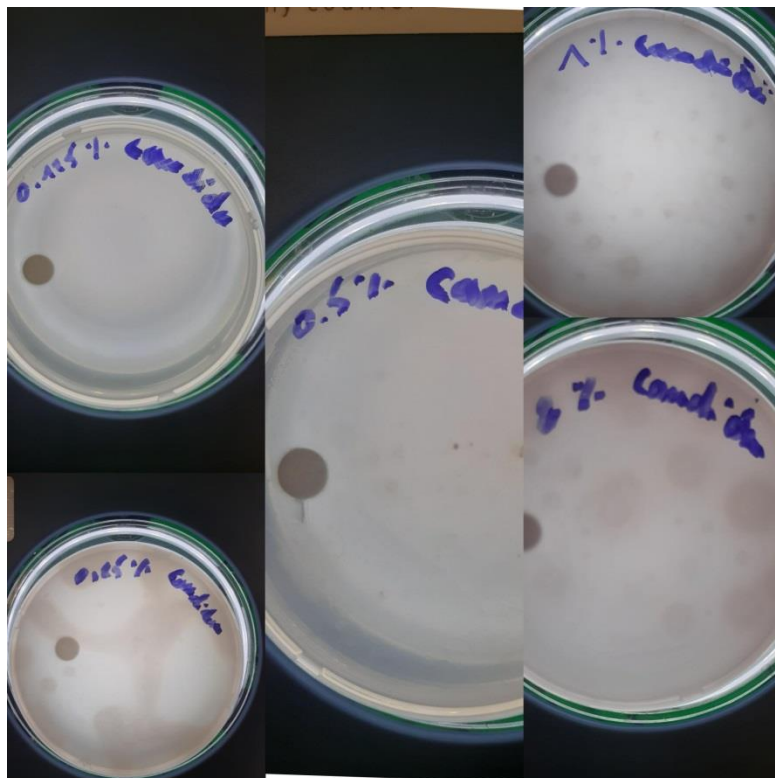


Figure 14 : Résultats de la CMI *Candida albicans*

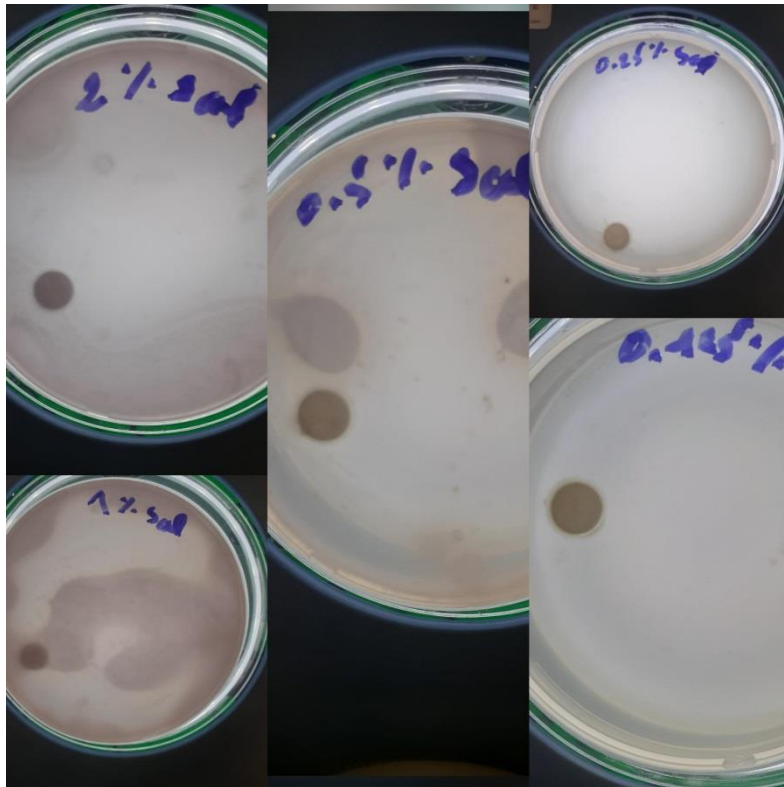


Figure 15 : Résultats de la CMI *Salmonella typhimurium*

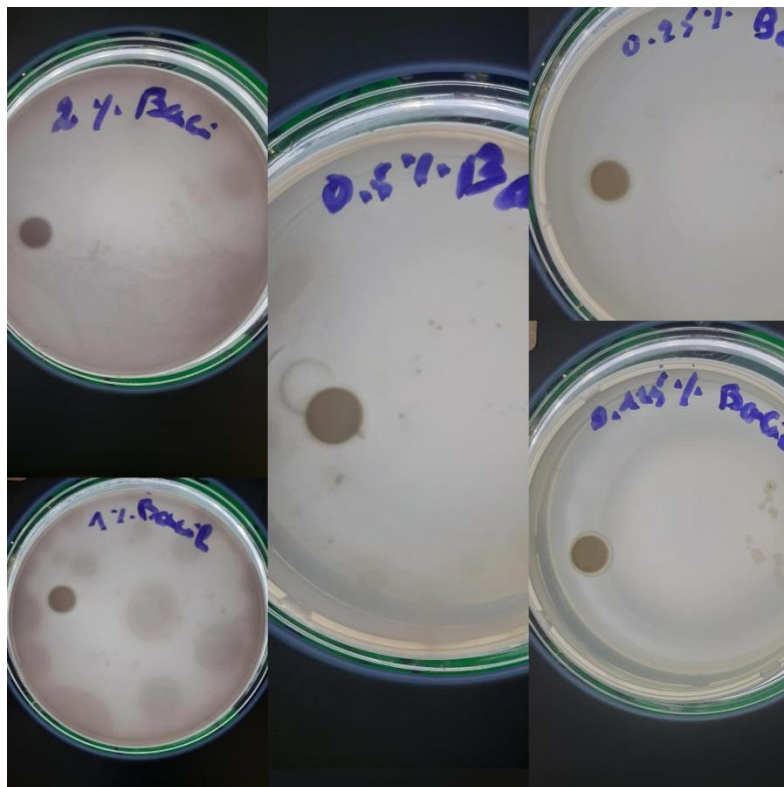


Figure 16: Résultats de la CMI *Bacillus subtilis*

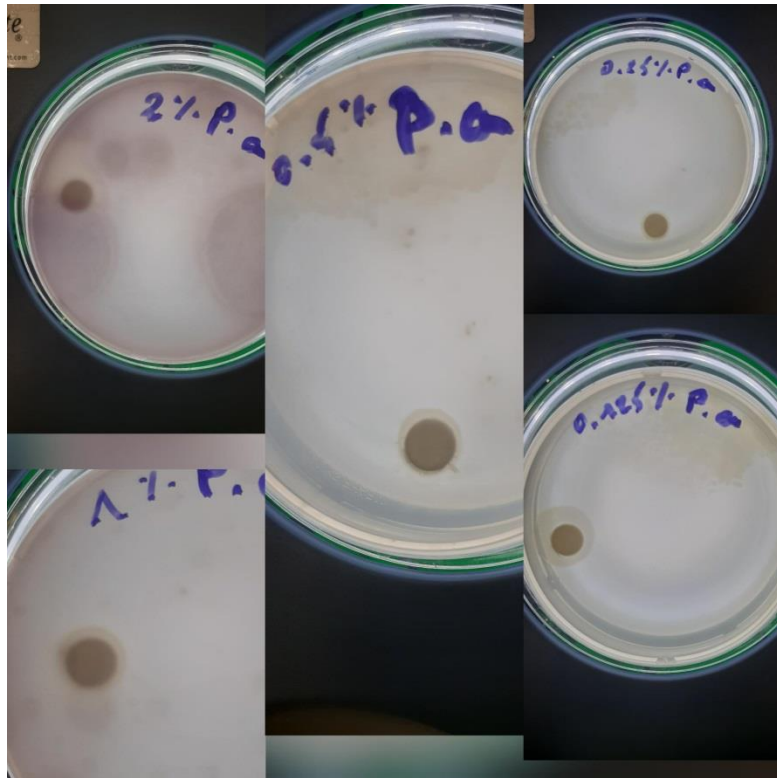


Figure 17 : Résultats de la CMI *Pseudomonas aeruginosa*

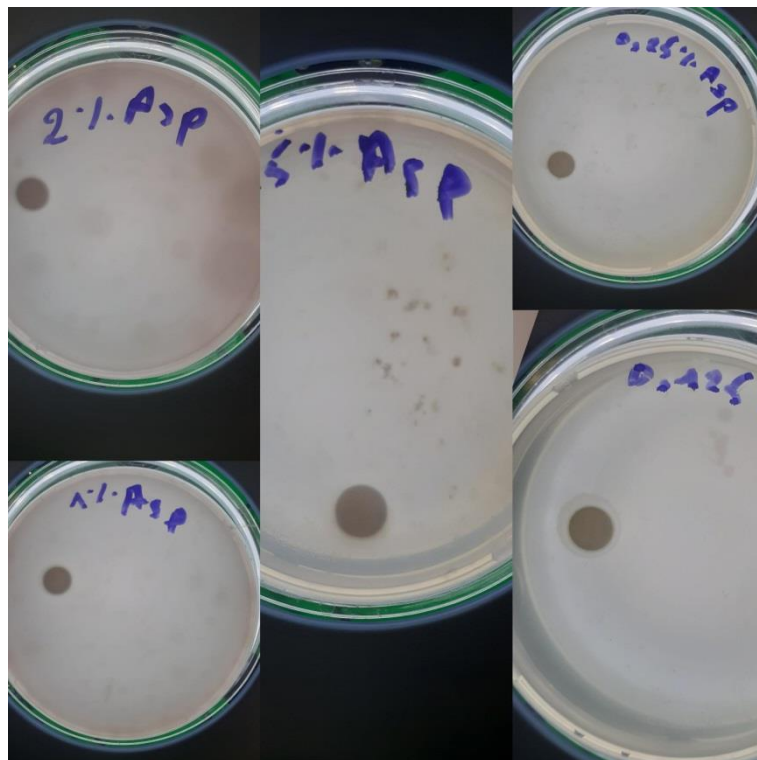


Figure 18 : Résultats de la CMI *Aspergillus brasiliensis*

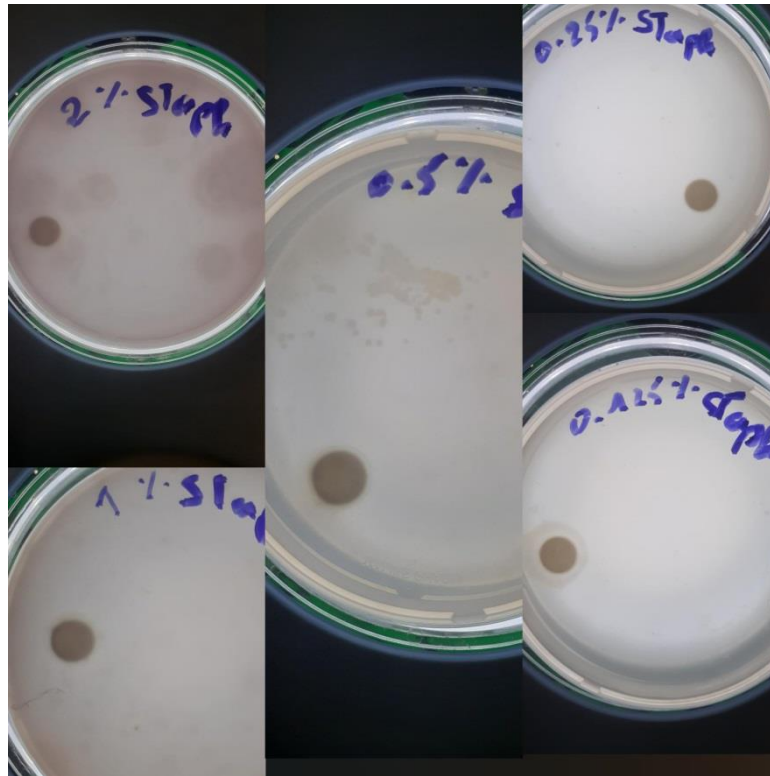


Figure 19 : Résultats de la CMI *Staphylococcus aureus*

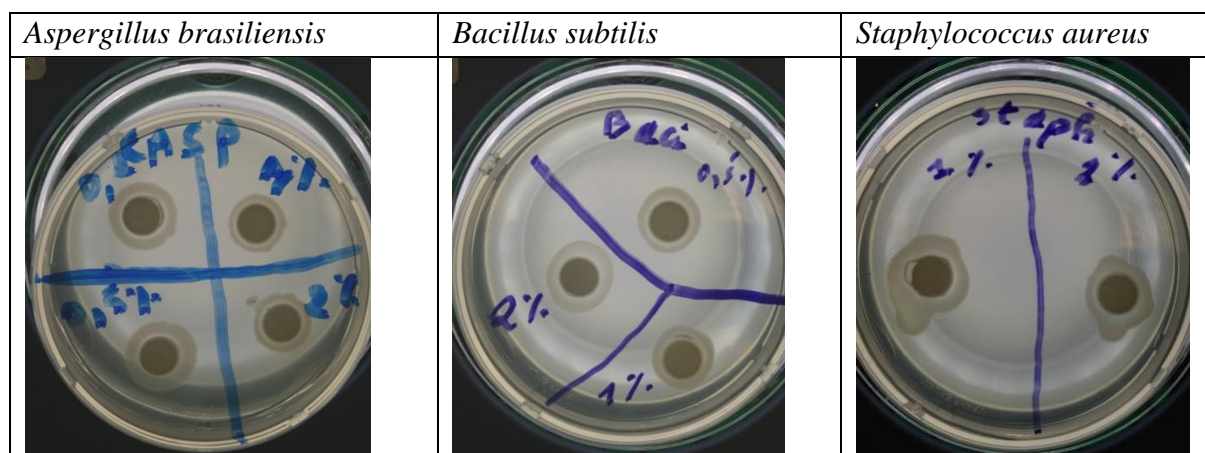
Résultats des tests CMB et CMF :

Les résultats obtenus dans le tableau montrent que l'HE *d'origan* a une action bactéricide sur les souches de *Salmonella* et *Candida albicans* et une activité bactériostatique sur les autres souches testées.

Tableau 14 : La nature de l'activité antibactérienne

	2%	1%	0.5%	0.25%	0.125%
<i>Escherichia coli</i>	Bactériostatique	Bactériostatique	/	/	/
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactériostatique	/	/	/	/
<i>Salmonella typhimurium</i>	Bactéricide	Bactéricide	Bactériostatique	Bactériostatique	/
<i>Bacillus subtilis</i>	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique	/	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactériostatique	Bactériostatique	/	/	/
<i>Candida albicans</i>	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactéricide	Bactériostatique	Bactéricide
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique	Bactériostatique	/

Tableau 15 : Teste bactéricide d'*Aspergillus brasiliensis*, *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus*.

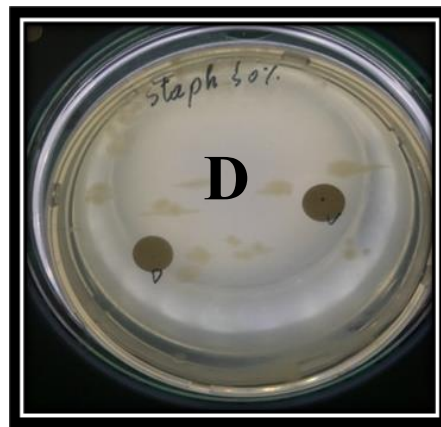
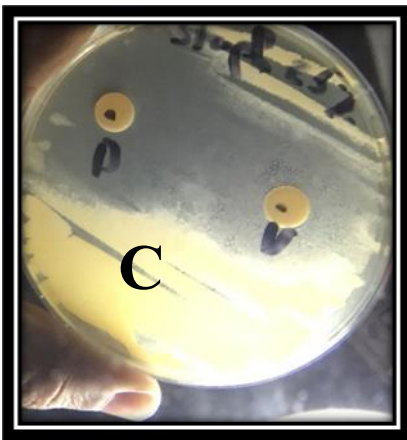
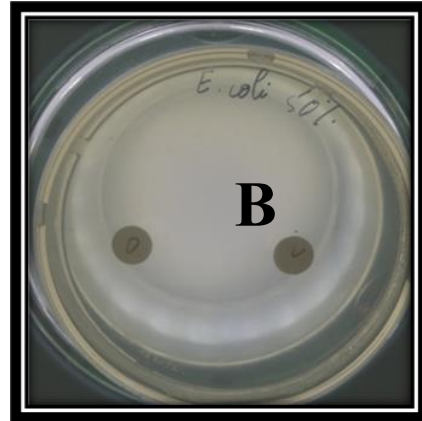
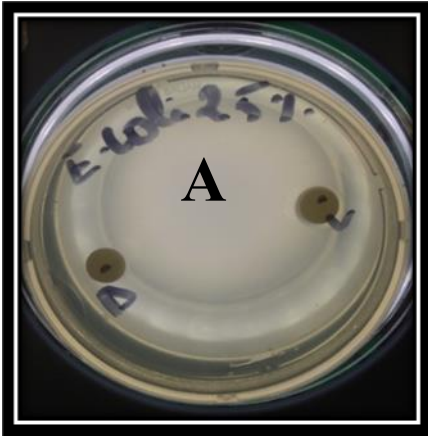


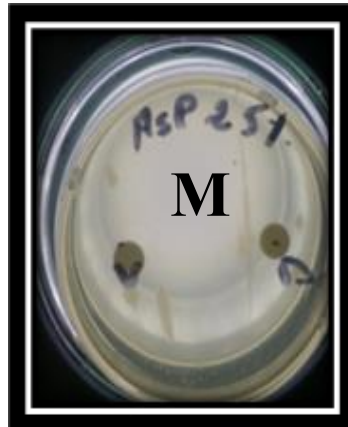
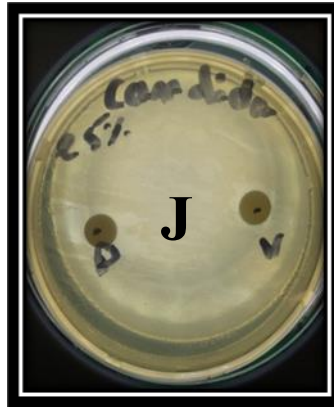
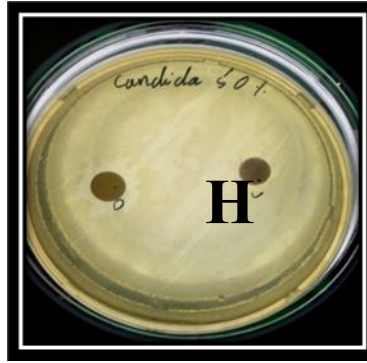
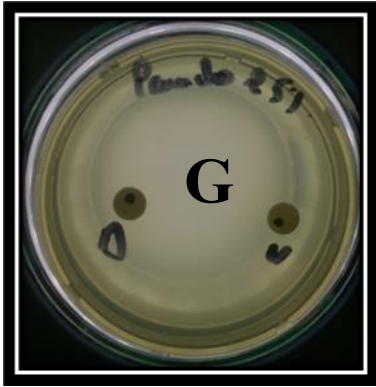
III.9. Évaluer de l'effet combiné de l'huile essentielle avec l'huile fixe

D'après le (tableau 14) la combinaison d'huile fixe de *jojoba* avec l'huile essentielle d'*origan* a un diamètre d'inhibition inférieur à celle de DMSO avec HE d'*origan* (sachant que le DMSO est le blanc). Donc la combinaison de HE avec HF donne un effet Antagonique.

Tableau 16 : Résultats de la combinaison de l'huiles essentielles avec l'huile fixe

	<i>DMSO+HE d'origan</i>		<i>HF+HE d'origan</i>	
	25%	50%	25%	50%
<i>Escherichia coli</i>	<i>Supérieur à 50 cm</i>			
<i>Staphylococcus</i>	47 cm	65 cm	32cm	50.82 cm
<i>Salmonella</i>	19.10 cm	26.63 cm	14.01cm	20 cm
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Supérieur à 50 cm</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.50cm	24.37cm	9.50cm	17.10cm
<i>Candida</i>	17.32cm	16.10cm	12.41 cm	10.29 cm
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Supérieur à 50 cm</i>			





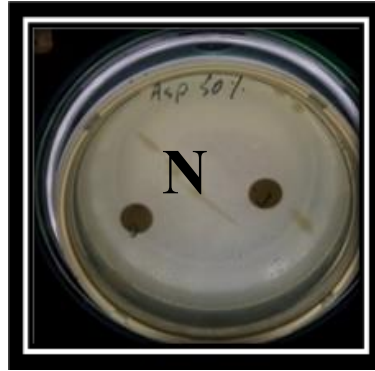


Figure 20: Photos des résultats de l'activité antimicrobienne de la combinaison (A : *Escherichia coli* à 25%, B : *Escherichia coli* à 50%, C : *Staphylococcus aureus* à 25%, D : *Staphylococcus aureus* à 50%, E : *Salmonella typhimurium* à 25%, F : *Salmonella typhimurium* à 50%, G : *Pseudomonas aeruginosa* à 25%, H : *Candida albicans* à 50% , I : *Pseudomonas aeruginosa* à 50%, J : *Candida albicans* à 50%, L : *Bacillus subtilis* à 50%, M : *Aspergillus brasiliensis* à 25%, N : *Aspergillus brasiliensis* à 50%)

III.10 Résultat de contrôle qualité de la pommade

III.10 .1 Caractéristiques macroscopiques

Telle que l'aspect, la couleur et l'odeur (**tableau 16**)

Tableau 16 : Les caractéristiques macroscopiques de la pommade

<i>Aspect</i>	<i>Couleur</i>	<i>Odeur</i>
<i>Cireux de texture épaisse sans présence de grumeaux à l'étalement</i>	<i>Verte</i>	<i>Une odeur agréable (l'odeur d'origan)</i>

III.10.2 Contrôle d'homogénéité

Après l'étalement de pommade entre lame et lamelle on observe au microscope, nous remarquons aucune présence des gouttes d'huile qui s'exprime que la pommade est bien homogène (**figure 21**).



Figure 21 :La pommade sous le microscope

III.10.3 Teste de stabilité

Le contrôle de stabilité qui fait par une centrifugeuse ne montre aucun phénomène d'instabilité, pas de déphasage, donc la pommade a une bonne stabilité.

III.10.4 Le pH de la pommade

Le pH est environ 6 cette valeur est acceptable car le pH des pommades doit être neutre ou l'égerment acide.

III.10.2 Analyse rhéologique

La (figure 22) montre le changement de la viscosité et de la contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement synonyme du comportement non newtonien de la pommade préparée.

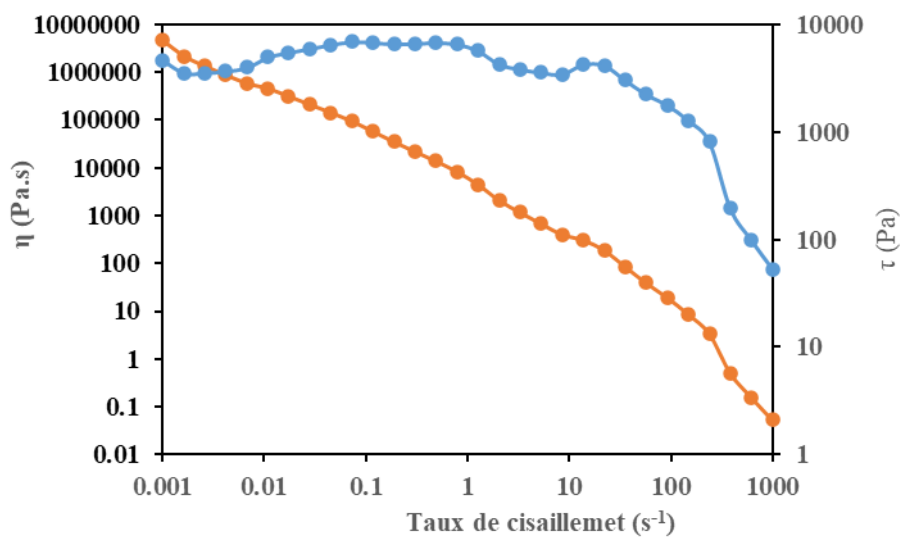


Figure 22: Variation de la viscosité(η) et la contrainte de cisaillement (τ) de la pommade en fonction du taux de cisaillement

La (**figure 23**) de la variation des modules de conservation (élastique) G' et des modules au repos (visqueux) G'' de la pommade permet de distinguer 2 zones séparées par une faible contrainte seuil.

La région pour la quelle $G' > G''$, la pommade est soumise à un régime solide élastique pour les faibles déformations en dessous de 0.4% avec des profils décroissant pour les 2 modules.

En dessous de la contrainte seuil, G'' devient supérieur à G' et un régime liquide visqueux pour les plus grandes déformations sera atteint. A cause de trop grandes déformations imposées, la pommade se déstructure pour laisser place à des agrégats isolés et le système s'écoule.

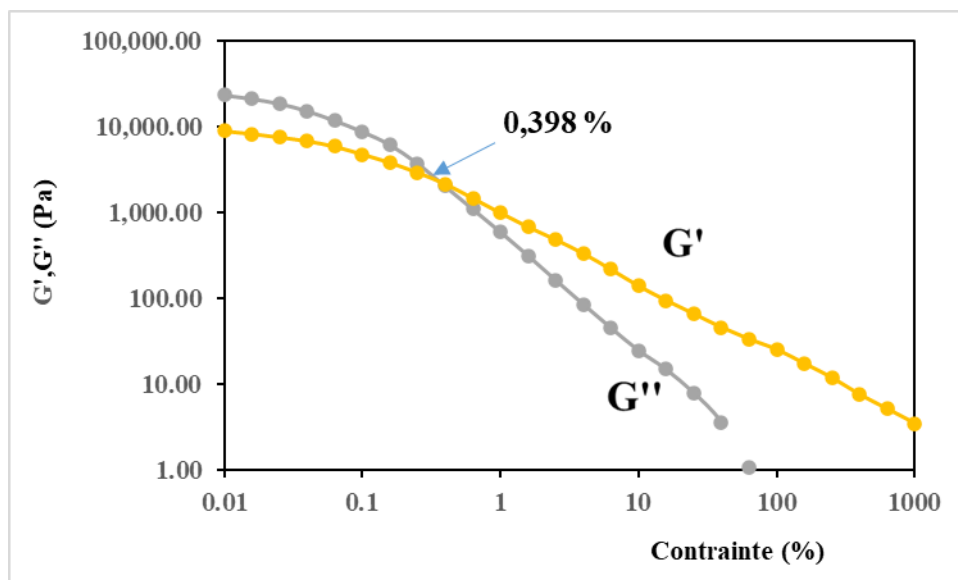


Figure 23: : Variation des modules de conservation (élastique) G' et des modules au repos (visqueux) G'' de la pommade.

III.11 Résultat de teste microbienne de la pommade

Notre résultat montre une absence totale pour les levures et moisissure, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, et une présence très faible des bactéries qui est dans les normes (**tableau17**).

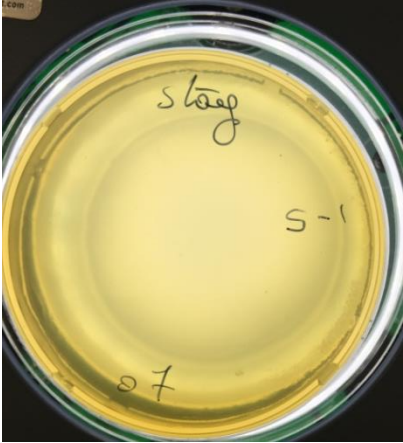
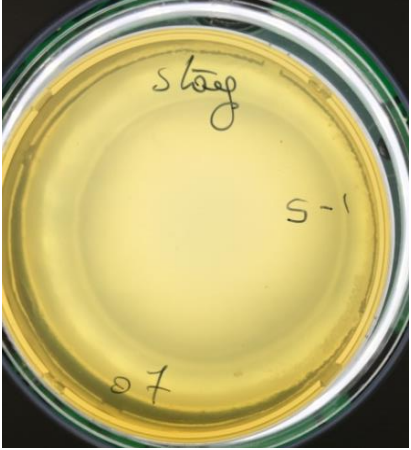
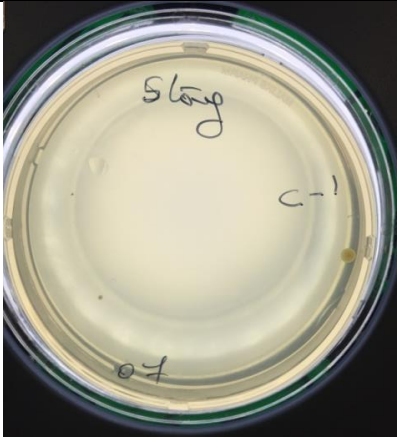
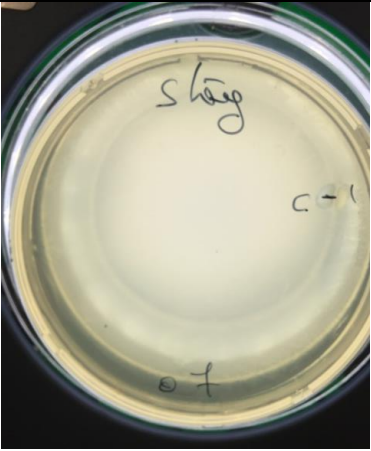
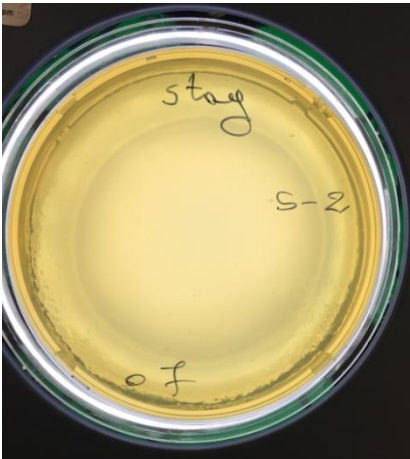
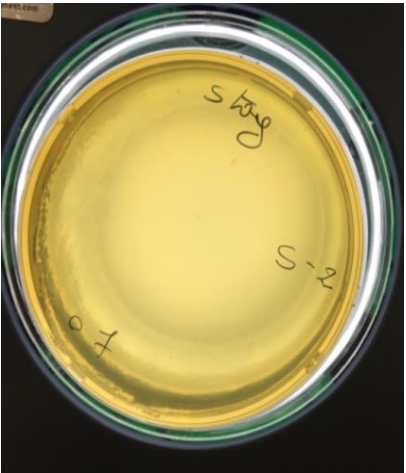
Tableau 17 : Résultats de tests de pureté de la pommade dermique

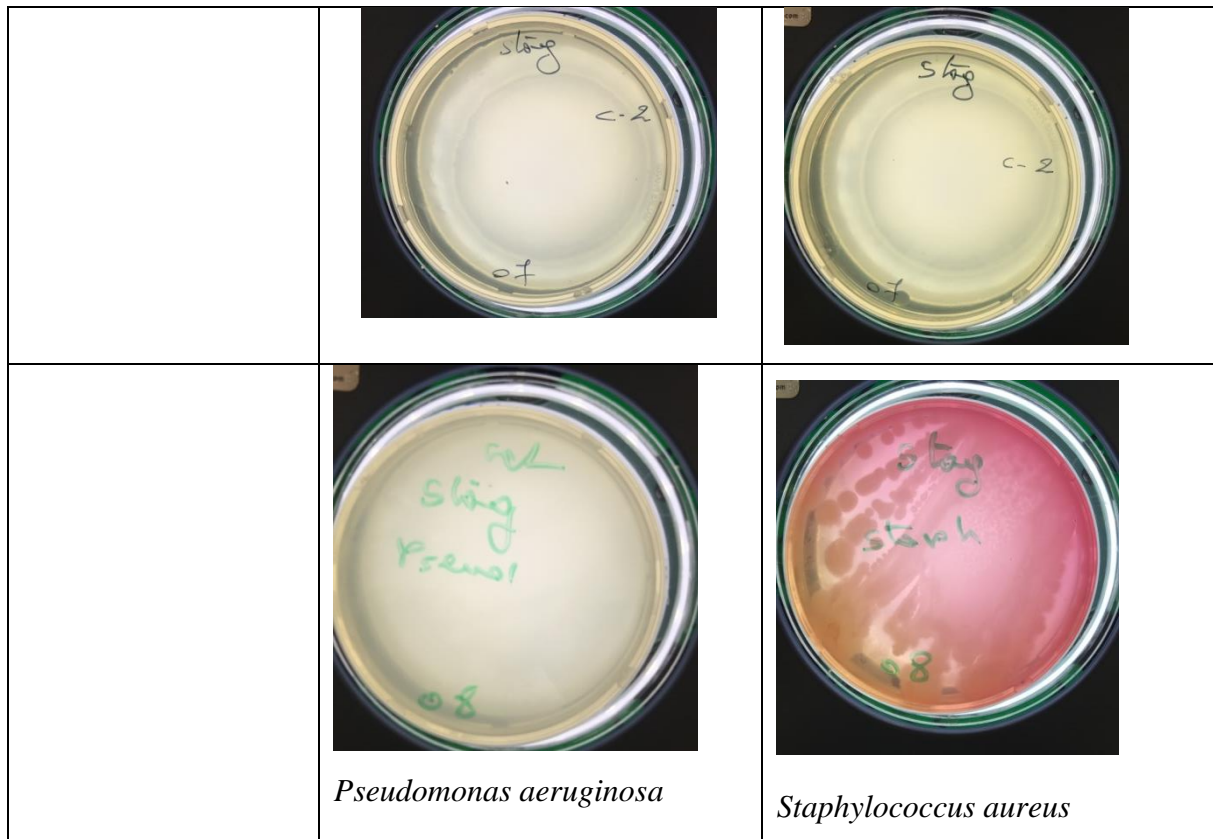
<i>Les germes</i>	<i>Résultat obtenu (UFC/g)</i>	<i>Norme (UFC/g)</i>
<i>Levures et moisissures</i>	0	<100
<i>Bactéries</i>	3	<100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00

- D'après les résultats obtenus on peut dire que notre pommade est conforme et prête à l'utilisation cutané dans les normes de Pharmacopée Européenne.

Remarque : notre pommade est contaminée avec les *Staphe blanc* et cela est dû au fait qu'elle a été touché par nous main durant la période de travail ; et ce germe n'est pas dangereux car il se trouve dans la peau.

Tableau 18 : Les photos des résultats de contrôle microbien de la pommade.

	<i>Essaye 1</i>	<i>Essaye 2</i>
<i>Leveurs et moisissures (Délutions 1)</i>		
<i>Bactéries</i>		
<i>Leveurs et moisissures (Délutions 2)</i>		



CONCLUSION

CONCLUSION

Notre étude vise à extraire et caractériser les huiles *d'Origanum floribundum* et de jojoba, à évaluer leur activité antibactérienne individuelle et à étudier l'activité antibactérienne de leur combinaison. Ces informations serviront de base pour le développement d'une pommade à base de cette combinaison d'huiles, offrant ainsi une alternative naturelle aux traitements antibactériens existants.

L'extraction *d'Origanum floribundum* a démontré un rendement satisfaisant de 3.05 et 2.96% dans 60 min par hydrodistillation et 2.9% par entraînement à la vapeur dans 2h ; ce qui indique que cette plante contient une quantité appréciable d'huile essentielle dans une petite période de temps.

Ainsi que l'extraction de *jojoba* a donné un bon rendement de 45.29% par la méthode d'extraction à pression froide.

Nos analyses des paramètres physico-chimiques ont démontré que nos huiles sont bien conservées et présentent des caractéristiques propices à leur utilisation dans les produits cosmétiques.

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont montré que l'huile essentielle d'origan possède des propriétés antimicrobiennes puissantes et notables contre des souches pathogènes courantes, telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* et *Aspergillus brasiliensis*, tandis que l'huile fixe *jojoba* ne possède aucune activité antibactérienne mais joue un rôle important en agissant comme un vecteur de diffusion.

L'étude de l'activité antimicrobienne de la combinaison d'huile essentielle *d'origan* et d'huile fixe de *jojoba* a fourni un effet antagoniste. Les tests réalisés ont démontré que cette combinaison présente une activité antimicrobienne significative contre un large éventail de souches bactériennes.

Dans notre travail on a trouvé la CMI 2%, et tant que la combinaison donne un effet antagoniste donc on a formulé la pommade avec une concentration de 4%.

La formulation de la pommade dermatique a été réalisée de couleur verte, et aspect cireux de texture épaisse sans présence de grumeaux à l'étalement et une odeur *d'origan*.

Les tests microbiologiques ont été effectués pour évaluer la présence de micro-organismes, tels que les bactéries et les moisissures. Ce teste montre une absence de contamination. Les résultats ont démontré que la pommade est conforme et rependre aux exigences de la Pharmacopée Européenne.

En conclusion, sachant que la combinaison d'huile essentielle d'origan et d'huile fixe de *jojoba* présente diminution de l'activité de l'HE *d'origan*, probablement ces résultats ouvrent la voie à de futures chercheurs pour explorer davantage les propriétés de cette combinaison et son application potentielle dans des domaines variés tels que la santé, la beauté et l'industrie alimentaire.

REFERENCES

- [1] Didier, D. S. « Ethnobotanique et phytomédecine des plantes médicinales de Douala, Cameroun ». *Journal of Applied Biosciences*. Vol. 37 (2001) P. 2496-2507.
- [2] Ouedrhiri, W., Balouiri, M., El Houssaine H., Sandrine, M. et Hassane G. « Synergistic antimicrobial activity of two binary combinations of marjoram, lavender, and wild thyme essential oils ». *International Journal of Food Properties*. Vol. 20, n°12 (2017) P. 3149-3158.
- [3] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. et Idaomar, M. « Biological effects of essential oils ». A review. *Food and chemical toxicology*. Vol. 46, n°2 (2008) P. 446-475.
- [4] Atlan, A. E «Gynodioecy and reproductive trait variation in three *Thymus* species (Lamiaceae) ». *International Journal of Plant Sciences*, Vol.159, n°6 (1998). P 948-957.
- [5] Speck, Brigitte., Fotsch, Ursula. Christian. Et Wacker, Susan., « Connaissance des herbes », EGK, Caisse de Santé, Newsletter Lausanne (Aout 2008). P4.
- [6] Adam, Géraldine., Wittner, Laurence. Et Mandigon, Catherine., « Les épices de la santé », Edition Ambre, Dijon-Quetigny, (Août 2003). P318.
- [7] Deysson. « Rapport moral pour 1966 ». *Bulletin de la Société Botanique de France*. Vol.114, n°3-4 (1967). P 109-111.
- [8] Ietswaart, J. H. « A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae) ». Leiden University Press., Vol. 4, (1980). P158.
- [9] Ruberto G., Baratta M.T., Sari M. et Kaabeche M. « Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from Algerian *Origanum glandulosum* Desf ». *Flavour and Fragrance Journal*, (2002).
- [10] Pignatti S. *Flora d' Italia*. Edagricole, Bologna, Vol. 2, (1982), P486-487.
- [11] Quézel & Santa, S. « Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales ». *Catalogue des plantes vasculaires du nord du Maroc, incluant des clés d'identification*. Vol 2, (1963).
- [12] Carmo M.M., Frazao S. et Venancio F. «The chemical composition of Portuguese *Origanum vulgare* oils ». *Journal of Essential Oil Research*. (1989)

- [13] Baser K.H.C., Ozek T., Kurkcuoglu M. et Tumen G. « Composition of the essential oil of *Origanum sipyleum* of Turkish origin». *Journal of Essential Oil Research*, Vol. 4, (1992), P139-142.
- [14] <https://www.boutique-vegetale.com/p/simmondsia-chinensis-jojoba>
- [15] Zizou. F. D. « L'huile de jojoba en Tunisie la poule aux œuf d'or ». (2006)
- [16] Kramer, J.K.G., Sauer, F.D., Pigden, W.J. High et Low Erucic Acid Rapeseed Oils. « Production, Usage, Chemistry, and Toxicological Evaluation », (1983), P. 582.
- [17] Duke, J. A. « Handbook of Énergie Corps ». New CROPS web site, Perdue Université, (1983).
- [18] Stéphanie Monnatte-Lassus. « Encyclopédie des Plantes Médicinales », (2001).
- [19] Delaigne R. « Les essences naturelles et parfums », Ed. Armondcolin, Paris. (1930).
- [20] Friedland D. « Industrie américaine des substances aromatiques ». *Informations Chimie*. Vol 140 (1975), P 65-68.
- [21] BELAICHE P. « Traité de phytochimie et d'aromathérapie ». L'aromatogramme. Ed., Maloine. S.A. Vol 1, (1979), P204.
- [22] JOULAIN D. « Modern methodologies applied to the analysis of essential oils and other complex natural mixture: use and abuse». *Perfumer and Flavorist*. Vol 19, (1994), P. 5-17.
- [23] Yi-Zhong Cai, Mei Sun, JieXing, QiongLuo, Harold Cork. éd. « Structure-radical Scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants». s.l.: Life Sciences. Vol 78, n°25, (2006), P. 2872-2888.
- [24] Garner M.J. « Problèmes rencontrés au cours de l'étude de la composition Chimique des huiles essentielles. In Parfums cosmétiques, aromes » (1977) P. 14, 31-40.
- [25] Benhabiles N.E. « Comparaisons des huiles essentielles de deux espèces Algériennes de romarin : extraction et étude analytique ». Thèse magister, ENP, Alger, (1995).
- [26] Guenther E. « The essential oils », Ed. Robert Krieger publishing co, Huntingtons, New York. Vol.3, (1972).
- [27] Degryse A.C., Delpla I., Voinier M.A. « Risques et bénéfices possibles des huiles Essentielles. Atelier Santé Environnement ». Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique (EHESP), (2008).
- [28] Bruneton J. « Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales », 2ème Ed. Lavoisier, (1993), P. 385-623.
- [29] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. « Biological effects of essential

oils». A review. Food Chemistry Toxicology. Vol.46, (2008), P. 446-475.

[30] Sangwan N.S., Farooqi A.H.A., Shabih F., Sangwan R.S. « Regulation of essential oil production in plants ». Plant Growth Regulation. Vol. 34(2001), P. 3-21.

[31] Jean Brunetton. « Pharmacognosie Photochimie, Plantes Médicinales ». Paris, 3^{ème} édition, tec et doc Lavoisier, (1 janvier 1999), P. 1120.

[32] Jean-michel. lecerf. « Les huiles végétales : particularités et utilités : Vegetableoils: Particularities and usefulness » , (2011),Vol. 5, n° 03, P. 257-262.

[33] BOUTAYEB. A, « Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales », (2013).

[34] Šipailienė A., Venskutonis P. R., Baranauskienė R. et Šarkinas A. « Antimicrobial Activity of Commercial Samples of Thyme and Marjoram Oils ». Revue de Recherche sur les huiles essentielles, (2006).

[35] Yansambou, Hamsatou. « L'huile de jojoba, les bienfaits de cette huile sur la peau et les cheveux », (2022).

[36] Delaigne R. « Les essences naturelles et parfums », Ed. Armondcolin, (1930).

[37] Fauchère, J.L. et Avril, J.L., « Bactériologie générale et médicale », Edition Ellipses, Paris, (2002), P. 365

[38] Belaïche,P., «L'aromatogramme: Traité de phytothérapie et d'aromathérapie», Edition Maloine,(1979), P. 200-204.

[39] Beylier-Maurel, M.F., « Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie », Rivista Italiana, E.P.P.O.S, Vol. 58, (1976), P. 283-286.

[40] Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B. and Mazza, G., « Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils », international Journal of Food Microbiology, Vol 74 n°1, (2002), P. 101-109.

[41] Giamperi, L., Fraternali, D. et Ricci, D., « The in vitro action of essential oils of different organisms », Journal Essential Oil Research, Vol. 14 n°4, (2002), P. 312-318.

[42] Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. et Dufossé L. « Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes ». Sciences des aliments, (1998).

- [43] Davidson P.M., Parish M.E. « Methods for testing the efficacy of food antimicrobial ». *Food Technology*. Vol. 43, (1989), P. 148-155.
- [44] Tae Jin Cho., Sun Min Park., HaryYu., Go Hun Seo., Hye Won Kim., Sun Ae Kim et Min Suk Rhee. « Recent Advances in the Application of Antibacterial Complexes Using Essential Oil », (2020).
- [45] Rhather, M.A., Bhat, B. A et Qurishi, M.A. « Multicomponent phytotherapeutic approach gaining momentum: is the “one drug fit all” model breaking down? *Phytomedicine* ». Vol. 21, (2013), P. 1-14
- [46] Shi, C., Zhang, X., Zhao, X., Meng, R., Liu, Z., Chen, X et Na Guo. « Synergistic interactions of nisin in combination with cinnamaldéhyde against *Staphylococcus aureus* in pasteurized milk. *Food Control* ». Vol. 71, (2017), P.10-6
- [47] Quezel, P. et Santa, S., « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques », Edition du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, (1963), P. 600.
- [48] Rana elsilawi. « Jojoba. Or du désert et or vert en Egypte », (2023).
- [49] Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A. et Benmansour, A., « Physicochemical and microbiological study of the essential oil of *Thymus fontanesii* Bois & Reut », *Afrique Science*, (2009), Vol. 05(2), P. 246-259.
- [50] Pibiri M.C. « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles », (2005).
- [51] Doctissimo. « Origan : utilisation, posologie et bienfaits santé », (2022).
- [52] Akane. « Les bienfaits de l'huile de jojoba », (2021).
- [53] Barnes H., et Walters H., « An introduction to rheology », 1st Edition. Elsevier Science, (1989).
- [54] Reiner M., « Rhéologie théorique ». Ed. Par Dunod, Paris, (1955), P.187.
- [55] Azzoudj S. « Valorisation des huiles essentielles de quelques espèces d'*Origanum* et *thymus* spontanés en Algérie ». Thèse Ing., Institut d'Agronomie, Blida (1999).