

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة بجاية
Tasdawit n'Bgayet
Université de Béjaïa

Université A. MIRA - BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin de cycle
En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER
En Génie des Procédés
Spécialité : Génie Alimentaire

Thème

**Préparation des films alimentaires à base des PLA et
l'extrait de thym : étude et caractérisation**

Réalisé par :
SMAIL Zaazi

Devant le jury composé de :

Dr. AZZOUG M.	MCA à l'Université de Bejaia	Président
Dr. FATMI S.	MCA à l'Université de Bejaia	Examineur
Dr. CHIBANI N.	MCA à l'Université de Bejaia	Promotrice

REMERCIEMENTS




*Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de mémoire, Madame **CHJBANJ**, pour sa confiance, son aide et ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce travail*

*Je tiens aussi à remercier Monsieur **FATMJ**, directeur de département génies des procédés 1 ' Université de A.Mira de Bejaia, pour son aide et ses conseils précieux.*

Je suis également reconnaissante au département de technologie pour les perspectives de recherche qu'il m'a ouvertes, aussi à tout l'ensemble des professeurs (es) qui m'ont enseigné.

Je remercie également ma petite

Dédicace



Je dédie ce mémoire à ma famille, en particulier mes parents et Mes chères sœurs FATMA & ADIDI et à mes petits anges Sophie, HANA et NADA, je vous aime, enfin à mes deux chères amies TAMI & MIMA.

À tous, je veux exprimer ma sincère considération et ma reconnaissance, résumée en un mot sublime «Merci.»

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale	1
Chapitre I. Etudes bibliographiques	
I.1 . Généralités sur l’emballage alimentaire	2
I.1.1. Historique	2
I.1.2. Type d’emballage alimentaire	4
I.1.3. Les facteurs extrinsèques	4
I.1.4. Interactions contenant/contenu dans l’emballage	5
I.1.5. Norme liée à la maîtrise de l’hygiène des emballages	6
I.2. Généralités sur les biopolymères	7
I.2.1. Définition d’un biopolymère	7
I.2.2. Types de biopolymères	7
I.2.3. Propriétés des biopolymères	8
I.3.Poly (acide lactique) (PLA)	9
I.3.1. Définition	9
I.3.2.Composition chimique	10
I. 3.3. Source de l’acide lactique	10
I.3.4. Propriétés du PLA	11
I.3.4.1. Propriétés physique et mécanique du PLA.	11
I.3.4.2. Propriétés thermiques	12
I.3.5. Application du PLA	13
I.3.5.1. Applications textiles	13
I.3.5.2. Applications médicales	13
I.3.5.3. Emballage	14
I.4.Morphologie des plants	15
I.4.1. Le thym	15
I.4.2. Propriétés du thym	16
I.4.3. Principes actifs du thym	16
I.4.4. Propriétés physico- chimiques	16
I.5. Généralités sur les extraits de plantes et les huiles essentielles	17
I.5.1Définition	17
I.5.2. Propretés physique des huiles essentielles	18
I.5.3. Composition chimique des huiles essentielles	18
I.5.4. Techniques d’extraction des huiles essentielles	18
I.5.5. Domaines d’utilisation des huiles essentielles	18
I.6. Les composés phénoliques	19
I.6.1. Définition	19
I.6.2. Propriétés biologiques des poly phénols	19
I.6.3. Méthodes d’extraction des composés phénoliques	19
I.6.3.1. Infusion	19
I.6.3.2. Décoction	19
I.6.3.3. Macération	20
I.6.3.4. Distillation	20

Chapitre II. Matériel et techniques d'analyse

II.1. matériel et produits utilisés	21
II.1.1. Polyacide lactique	21
II.1.2. Matière végétal	22
II.1.3. Chloroforme	22
II.1.4. Alcool éthanoïque	22
II.1.5. Souches bactériennes et fongiques étudiées	23
II.1.5.1. <i>Escherichia coli</i>	23
II.1.5.2. <i>Staphylococcus Aureus</i>	23
II.1.5.3. <i>Candida Albicans</i>	24
II.1.5.4. <i>Bacillus cereus</i>	24
II.2. Méthodes expérimentales	24
II.2.1. Récolte et séchage	24
II.2.2. Extraction	24
II.2.2.1. Extraction des huiles essentielles	24
II.2.2.2. Extraction éthanolique	26
II.2.3. Préparation des films	26
II.2.4. techniques de caractérisation	27
II.2.4.1. Analyse spectrale infrarouge à transformation de Fourier –IRTF	28
II.2.4.2. Test d'activité antibactérienne	29
II.2.4.2.1. Préparation des précultures	29
II.2.4.2.2. Méthode de diffusion	29
II.2.4.2.3. La lecture	30
II.2.4.3. Teste d'activité antioxydants	30
II.2.4.4. Test d'absorption d'eau	32
Chapitre III. Résultats et Discussion	
III.1. Test d'activité antibactérienne des films	33
III.2. Activité antibactérienne et antifongique des extrais du thym	35
III.3. Caractérisation spectrale par IR-TF	37
III.4. Test d'activité antioxydante	38
III.5. Taux d'absorption d'eau	40
Conclusion	43
Références Bibliographiques	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Interaction possible entre l'emballage, le produit et l'environnement.	6
Figure 2	Grandes familles des biopolymères	8
Figure 3	Structure chimique du poly(acide lactique)	9
Figure 4	Les monomères optiques de l'acide lactique	10
Figure 5	Recyclage de polymères (PLA) acide polylactique dans la nature	11
Figure 6	Types de matériaux en PLA utilisés dans le domaine de la médecine	14
Figure 7	Types de matériaux en PLA utilisés dans le domaine de l'emballage alimentaire	15
Figure 8	<i>Thymus vulgaris</i>	15
Figure 9	Image de PLA	17
Figure 10	<i>Thymus fontanesii</i>	18
Figure 11	Système de distillation par entraînement à la vapeur	21
Figure 12	Dispositif d'extraction (EVE) & (HD)	21
Figure 13	Ampoule à décanter contient la phase aqueuse et organique	22
Figure 14	Photographie des films PLA/EET	23
Figure 15	Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de modèle SHIMAZU FTIR-8400S	24
Figure 16	Photographie des milieux de cultures	25
Figure 17	Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des Film préparés	26
Figure 18	Spectre IRTF du PLA vierge	27
Figure 19	Spectre IR-TF du PLA vierge, PLA+ 3%EET, PLA+6%EET et PLA+9%EET	28
Figure 20	Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique du Thym	29
Figure 21	Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits du thym	30
Figure 22	Résultats du test d'inhibitions de la croissance bactérienne des films (EET/PLA)	31
Figure 23	Activité antioxydante d'extrait de thym et des films PLA/EET (3% ; 6% et 9%)	32
Figure 24	Variation du taux d'absorption d'eau en fonction du temps du PLA vierge, PLA/EET pou différentes concentration	34

Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
Tableau I.1	Repères de l'histoire de l'emballage alimentaire	3
Tableau I.2	Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues	9
Tableau I.3	Les propriétés mécaniques et thermiques du PLA	12
Tableau I.4	Les constituants principaux de l'huile essentielle du thym	17
Tableau II.1	Les propriétés physico-chimiques du PLA utilisé	17

Liste des abréviations

- ATG** : Analyse thermogravimétrique
- ATP** : Acide adénosine-triphosphate
- DRX** : Diffraction des rayons X
- EET** : Extrait éthanoïque thym
- EN** : Norme Européene
- IR-TF** : Analyse spectrale infrarouge à transformation de Fourier
- HE** : Huile Essentielle
- ISO** : Organisation internationale de normalisation
- LPS** : Lipopolysaccharides
- MH** : Mueller Hinton
- NF** : Norme française
- PCL** : Poly (caprolactone)
- PE** : Poly éthylène
- PET** : Polyéthylène téréphtalate
- PF** : Poudre filtré
- PHAS** : Poly (hydrdoxyalkanoates)
- PLA** : Acide poly lactique
- POC** : Polymérisation par ouverture de cycle
- PP** : Poly propylène
- PS** : Polystyrène
- TC** : Température de cristallisations
- Tf** : Température de transition vitreuse
- Tg** : Température de fusion
- TSA** : Tripticase Soya Agar

Introduction générale

Dans l'industrie agro-alimentaire, l'emballage est l'interface entre la chaîne de production et la chaîne de distribution. Les emballages sont si nombreux et si variés qu'ils permettent la conservation et la distribution de toutes les formes d'aliments pouvant être mises, aujourd'hui, sur le marché.

Bien que certains principes régissent l'emballage des denrées alimentaires, chaque type d'aliment à emballer pose un cas particulier. Il est devenu fondamental de déterminer les caractéristiques des matériaux d'emballage utilisés en fonction du produit et de sa distribution.

Le développement durable des activités industrielles sera l'un des grands enjeux du 21^{ème} siècle. Les tendances industrielles se penchent vers des produits propres et écologiques, d'où l'intérêt d'intégrer des produits naturels facilement recyclable et biodégradables. Il est donc important de faire le point sur l'utilisation des ressources naturelles dans les matériaux composites qui devient de plus en plus fréquente.

Depuis leur apparition, les matériaux plastiques ont connu un essor très rapide, touchant à divers secteurs d'activités industrielles. Mais le développement des technologies modernes a exigé l'utilisation de matériaux associant à la fois de bonnes propriétés mécaniques à une faible densité. Ceci a donné naissance à la première génération de matériaux composites utilisant les charges classiques.

Afin d'améliorer les propriétés sensorielles du PLA en vue de son application dans le domaine de l'emballage alimentaire les chercheurs se sont intéressés à l'incorporation des huiles essentielles ainsi que des extraits de plante ayant des propriétés antibactérienne et antifongique tel que le romarin, le thym, les feuilles d'olivier...

CHAPITRE I



Etudes bibliographiques

I.1 . Généralités sur l’emballage alimentaires.

I.1.1. Historique.

Le besoin d'emballer les aliments date de la préhistoire. En effet, les chasseurs préhistoriques enveloppaient leurs gibiers dans des peaux d'animaux afin de faciliter le transport d'une part et d'autre part pour les protéger des intempéries. En outre, cette technique rudimentaire permettait également de préserver les aliments plus longtemps. Les premières vagues de déplacements des êtres humains semblent justifier ce besoin.

Bertolini (1995)[1] souligne aussi l'utilisation de matériaux naturels dont les feuilles et les écorces d'arbres, les pierres creuses et les coquillages pendant cette période. C'est vers 6000 avant J.-C., qu'apparaît l'utilisation desalebasses, des tissus, des céramiques, des paniers et des poteries (ibid.). Les premiers récipients en verre furent utilisés par les Égyptiens à partir de 1500 avant J.-C. plus tard, c'était le tonneau qui faisait son apparition avec les Gaulois et en 174610, les Anglais créaient le premier produit emballé sous marque à partir de la poudre antipyrétique (Bertolini, 1995 ; Duriez, 2015).

Jusqu'à la fin du XIXe siècle, l'utilisation des matériaux bruts : le cuir, le bois, l'argile, le liège, les fibres, etc. ou des matériaux transformés : le verre, les métaux, le papier, etc. L'essor du matériau moderne et pratique : le plastique se conjugue avec les innovations du XXe siècle (Duriez, 2015) [2] [3].

Tableau I.1 Repères de l'histoire de l'emballage alimentaire. [4]

Dates	Repères
1809	Nicolas Appert découvre le procédé de conservation par la chaleur des denrées alimentaires contenues dans des bocaux en verre.
1810	Le procédé est appliqué à des boîtes en fer blanc (boîtes de conserve).
1858	L'Américain Mason crée le couvercle métallique à vis pour les pots en verre.
1871	Jones (Etats-Unis) invente le carton ondulé.
1883	Stilwell (Etats-Unis) commercialise les premiers sacs en papier.
1885	Painter (Etats-Unis) dépose le brevet de la première capsule de bouteille jetable.
1934	L' American Can Company commercialise les premières « boîtes boissons » ancêtres des canettes pour la brasserie américaine Kru eger.
1951	Invention en Suède de l'ancêtre du Tetrapak: emballage tétraédrique jetable en papier plastifié.
1969	Après Lesieur en 1960, Vittel commercialise ses premières maxibouteilles rondes en PVC (polychlorure de vinyle).
1976	Pepsi-Cola vend ses premières bouteilles en PET (polyéthylène).
2000	Apparition du Doy pack : sachet en plastique souple tenant debout.
2005	Le fabricant Tetrapak lance le Tetrapak Wedge Aseptic Clear: emballage transparent.

I.1.2. Type d'emballage alimentaire

On peut classer les emballages alimentaires en deux manières :

➤ **Selon les matières sélectionnées par les industriels, ou autres utilisateurs :**

Il existe plusieurs matériaux de base pouvant servir à l'emballage alimentaire, Nous détaillerons :

- Le verre ;
- Les matériaux métalliques ;
- Matériaux à base d'acier ;
- Aluminium ;
- Les vernis de protection ;
- Les plastiques ;
- les matériaux cellulosiques.

On peut aussi penser au tissu (par exemple pour remplacer les sacs de plastique) ou au filet pour transporter les fruits et légumes [5].

➤ **Selon la fonction qu'ils remplissent :**

- L'emballage primaire ou emballage de vente : c'est la plus petite unité de contenant destinée à la vente. Il entre directement en contact avec le produit de consommation. Les professionnels du milieu l'appellent aussi « conditionnement ».
- L'emballage secondaire ou emballage de groupage est le rassemblement de plusieurs emballages primaires contenant des denrées. Il est aussi appelé suremballage (surpackaging).
- L'emballage tertiaire ou emballage de transport ; c'est le regroupement des emballages secondaires en de colis compacts de grande taille. On parle de packaging (Heillbrunn et Barré, 2012) [6].

I.1.3. Les facteurs extrinsèques

Ils dépendent de l'environnement dans lequel se situe le couple matériau / aliment. Ce sont :

- **Facteur « temps »** : il est en relation avec la vitesse de réaction dont la connaissance est indispensable pour déterminer la durée de conservation optimale et la concentration en nutriments. Ces relations sont régies par les lois classiques de la cinétique chimique. Ce facteur temps se traduit par une Date Limite de Consommation (DLC) ou par une Date Limite d'Utilisation Optimale (DLUO) référencée sur le produit.

- **Facteur « température »** : Devant le pH et l'activité de l'eau (A_w), la température est le paramètre essentiel d'évolution des équilibres thermodynamiques (stabilité des états physiques). Un accroissement de la température entraîne une agitation moléculaire traduisant une augmentation de l'énergie cinétique. Lorsque ces deux phénomènes sont suffisants, certaines liaisons peuvent être rompues (liaisons hydrogènes) produisant des modifications dans les structures macromoléculaires. Généralement la vitesse de réaction est une fonction croissante

de la température (loi d'Arrhenius). Par exemple, pour la conservation, il faut retenir que la vitesse des réactions d'altération augmente avec la température et qu'à une température élevée, une nouvelle hausse même faible s'avère néfaste pour le produit. Concrètement, cela va se traduire par une température de conservation à respecter.

- **Le facteur « hydratation »** : il met en jeu des mécanismes complexes (liaisons hydrogènes entre molécules d'eau et extrémités polaires d'autres molécules) ou des phénomènes physiques (capillarité, osmose...). L'hygroscopie se mesure par une « courbe de sorption » qui exprime la relation entre la teneur en eau du produit et l' A_w de ce produit à l'équilibre thermodynamique. Des études ont démontré qu'il existe des seuils d'humidité relative à partir desquels, pour une température donnée, l'activité des causes d'altération (micro-organisme, activité enzymatique, chimique...) se trouve inhibée. Ainsi, presque toutes les réactions biologiques ou biochimiques sont inhibées à une A_w inférieure à un seuil critique ($A_w = 0,6$). En deçà, seules certaines réactions enzymatiques (lipases) et oxydations non enzymatiques peuvent se produire.

- **Le facteur « pH »** : il influence les activités enzymatiques et le développement de microorganismes. Une meilleure conservation est obtenue avec des milieux acides.

- **Le facteur « teneur en oxygène et en gaz carbonique »** : il influence les métabolismes des microorganismes selon qu'ils soient aérobies ou anaérobies, les oxydations non enzymatique et certaines oxydations enzymatiques (lipooxydase). - **Le facteur « contrainte mécanique »** : il influence directement les autres facteurs et donc le produit. En effet, le matériau au contact alimentaire doit être résistant mécaniquement pour protéger le produit contre les chocs, les pressions, les rongeurs et les insectes ; l'intégralité de ses propriétés barrières doit être conservée. Par exemple, un choc sur une boîte de conserve entraîne la présence d'oxygène et par la suite le développement de microorganismes ou l'oxydation du produit.

- **Le facteur « lumière »** : lorsque l'emballage est transparent, elle peut-être une cause importante de dégradation d'un produit alimentaire, le plus souvent liquide. Les emballages opaques permettent eux de contrer l'action de la lumière, ils nuisent cependant d'un point de vue commercial à la promotion du produit. La lumière est responsable du phénomène de photo-oxydation qui est un mécanisme conjugué (synergie) de l'oxygène et de la lumière.

Ses principaux effets sont : la perte de vitamines, oxydation des lipides insaturés, décoloration et apparition de défauts de la flaveur. [7]

I.1.4. Interactions contenant/contenu dans l'emballage

Plusieurs types d'interaction existent entre un emballage (contenant) et le produit emballé (contenu).

La figure.1 suivante montre les différentes interactions possibles entre l'aliment, le matériau en contact et l'environnement.

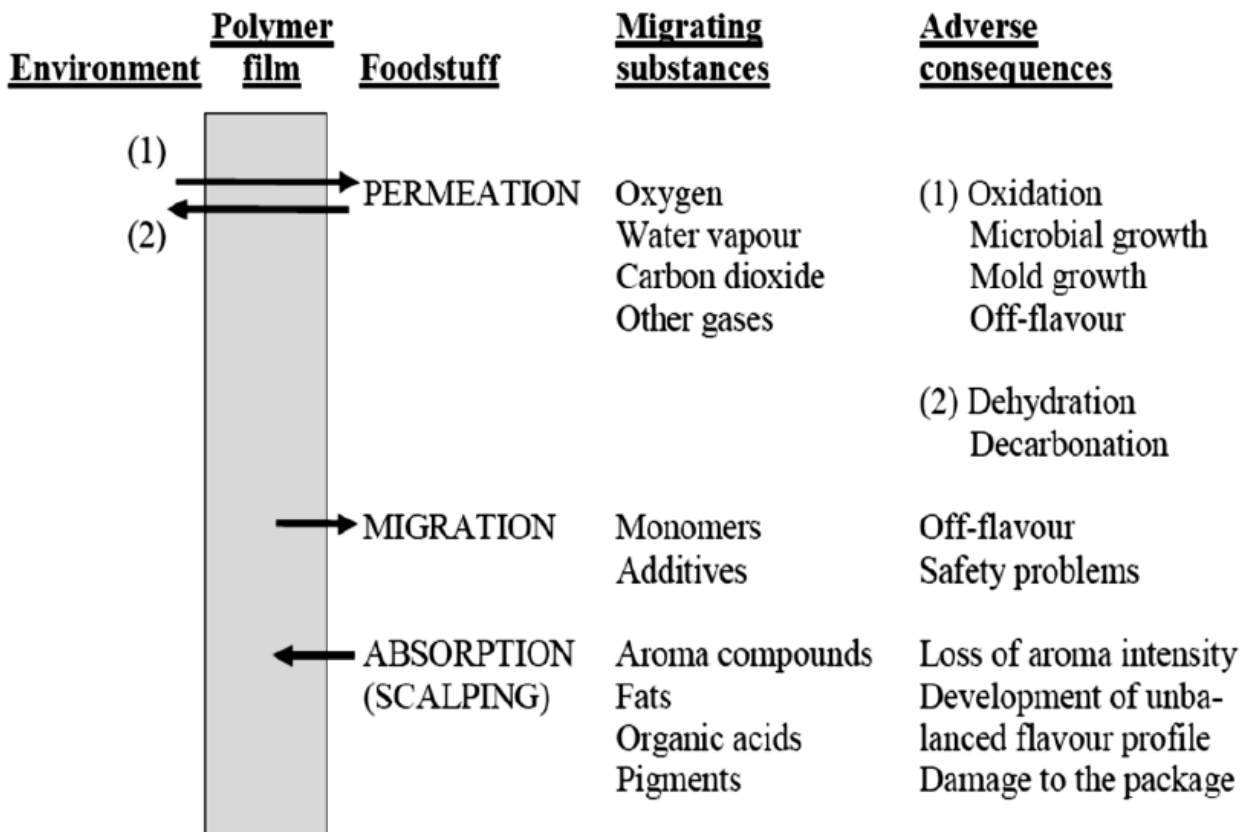


Figure 1. Interaction possible entre l’emballage, le produit et l’environnement [8].

Ces différentes interactions peuvent se regrouper en trois catégories :

- ⇒ les transferts de matière entre le produit, le matériau et parfois l’environnement, encore appelés migration, peuvent se produire en phase liquide, gazeuse ou solide
- ⇒ les transferts de chaleur comme la conduction, la convection et le rayonnement
- ⇒ les contaminations dues au passage de microorganismes à travers le matériau, notamment pour les matériaux plastiques. On peut émettre l’hypothèse d’une perméabilité des matériaux aux microorganismes au même titre que la perméabilité aux liquides et aux gaz. Les bactéries diffuseraient en dehors des pores ou imperfections du matériau, la sorption (absorption) des constituants du produit par l’emballage (ex : arôme) [9].

I.1.5. Norme liée à la maîtrise de l’hygiène des emballages

Deux normes ISO 22000 et NF EN 15593 permet la certification des systèmes des entreprises, de matière respectivement de sécurité des denrées alimentaires et hygiène dans la fabrication des emballages.

En 2016, les polymères biosourcés non biodégradables comme le PET et le PE représentent déjà la plus grande partie des capacités mondiales de production de bioplastiques. Cette tendance va s'amplifier dans les prochaines années, portée par le développement du PET biosourcé [10].

On constate également qu'en 2016, le PLA est le deuxième polymère en termes de capacités de production, avec 5,1 % des capacités mondiales.

I.2. Généralités sur les biopolymères

I.2.1. Définition d'un biopolymère

Un biopolymère est un polymère issu de matières premières d'origine naturelle [11].

Ces biopolymères peuvent être digérés par des micro-organismes définis comme des bactéries, des champignons ou des algues. La biodégradation est un processus qui entraîne une modification de la structure chimique d'un matériau plastique, suite à une activité biologique.

Les enzymes sécrétées par les microorganismes attaquent les chaînes macromoléculaires du matériau et les décomposent en éléments de masse plus faible et ceci conduit à la production de produits métabolites finaux, tous biodégradables : gaz (H_2O , CO_2), nouvelle biomasse ou résidus [12].

I.2.2. Différentes familles des biopolymères :

- **Biopolymères synthétiques** : Ils sont Obtenus par voie fermentaire, on les appelle biopolymères synthétiques ou chimiosynthétiques en raison de leur mode de fabrication. En effet, celui-ci consiste en une polycondensation (chauffage) de monomères naturels ou identiques aux naturels. Le plus connu est le PLA (Poly Acide Lactique) [13].
- **Polymères biodégradables** : ce sont des polymères d'origine fossile (issus du pétrole) auxquels est ajouté un additif qui permet de favoriser leur dégradabilité.
- **Biopolymères d'origine biologique** : peuvent être classés en trois familles :
 1. les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.
 2. les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).
 3. les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales [13].

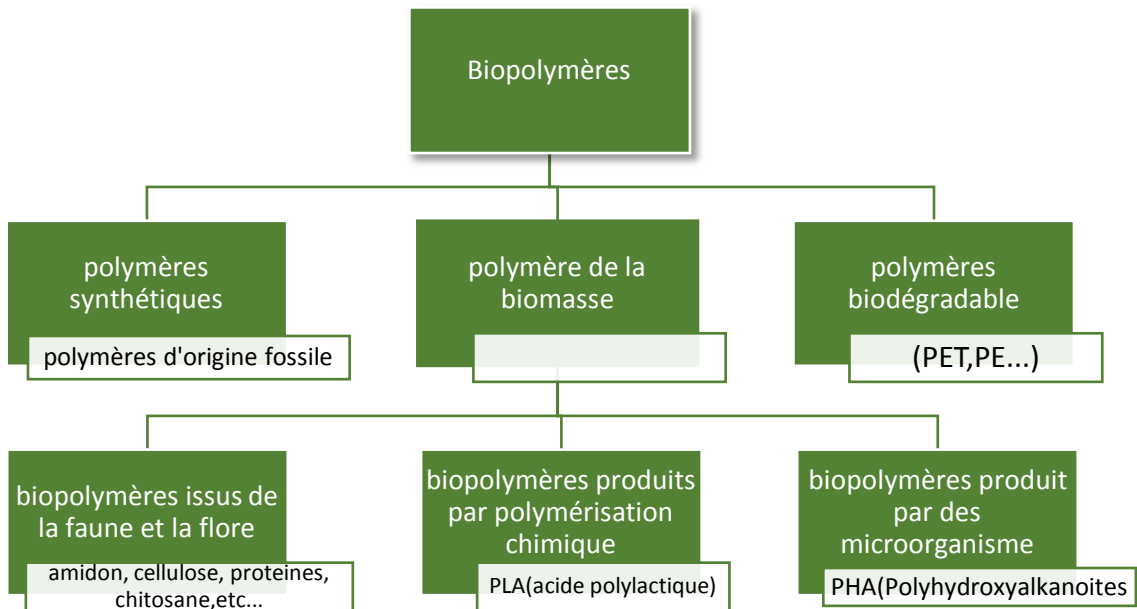


Figure2 : Grandes familles des biopolymères [14].

I.2.3. Propriétés des biopolymères et leurs applications :

De par leur structure chimique, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes utilisés dans des domaines très variés tels que l'emballage, l'agriculture, la construction, l'automobile, l'électronique et le textile. Ils sont également employés pour des applications à forte valeur ajoutée dans le domaine médical (implants vasculaires, fils de suture, vis et broches, ligaments artificiels...) [15].

Tableau I-2 : Propriétés spécifiques de quelques biopolymères et les applications attendues [15]

Biopolymères	Propriétés particulières	Applications ciblées
Polymère à base d'amidon	Antistatiques, Anticondensations, toucher naturel	Emballages, sacs, films de paillage
Polymère à base de cellulose	Transparence, antistatique	Fibres, épaississant
Polymère à base de protéine	Comestible, perméabilité, sélective au gaz	Galénique, emballages alimentaires
Polymère à base d'huile	Siccativité	Peinture, vernis
Polymère de synthèse (PLA)	Anticondensations, brillances, antibactériens	Emballages, fibres textiles
Polyesters bactériens (PHA)	Piézoélectriques, antioxydants, insolubilité dans l'eau	Médical, matériau ostéosynthétique

I.3. Poly (acide lactique) (PLA)

I.3.1. Définition :

Le poly (acide lactique) ou acide polylactique ou polylactide (PLA) est un polyester aliphatique biodégradable linéaire dérivé de résine, renouvelables, qui appartient à la famille des thermoplastiques et qui attire beaucoup d'attention à la recherche en raison de son renouvelabilité, biodégradabilité, biocompatibilité et bonne propriétés mécaniques [16]. Le (PLA) est considéré comme alternative aux polymères non biodégradables [17].

L'acide poly-lactique est un polymère de haute masse moléculaire, dans l'unité de base et (-O-CH(CH₃)-CO) (**figure 3**) une fois que le PLA se dégrade dans la nature, il se décompose en eau et des oxydes de carbone. La teneur en dioxydes de carbone atmosphérique n'augmente pas puisque il a été prélevé dans l'atmosphère par les matières premières agricoles.

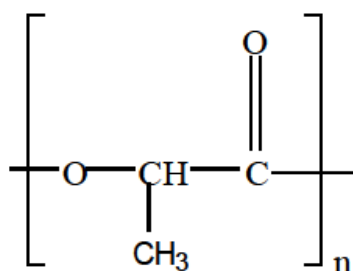


Figure 3 : Structure chimique du poly(acide lactique).

I.3.2. Composition chimique

L'acide lactique ou (2-hydroxypropanoïque), $\text{CH}_3\text{-CHOHCOOH}$, est le plus simple des acides hydroxycarboxylique qui possède un atome de carbone asymétrique, il a été découvert par le chimiste Wilhelm Scheel en 1780, ces molécules existe sous forme de deux isomères de configuration opposées D et L en terme de configuration relative et S et R en terme de configuration absolue comme le montre la figure4 [18].

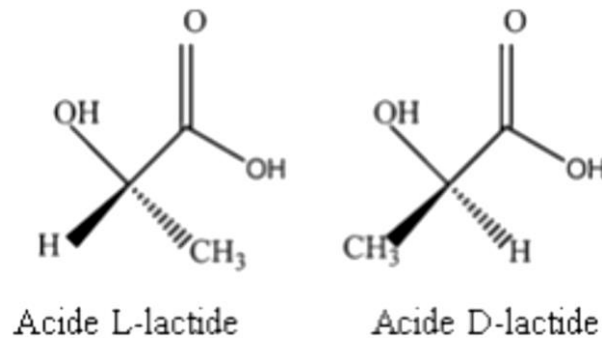


Figure 4. Les monomères optiques de l'acide lactique [19].

I.3.3. Source de l'acide lactique

C'est un produit de fermentation de dextrose qui est une matière première 100% agricole, annuellement renouvelable, dérivée souvent du maïs. En général, la majorité des sources simples obtenues à partir de sous-produits agricoles peuvent être utilisée pour cette production

Ces sources incluent :

- Le maltose, la gélose et le dextrose de maïs ou de l'amidon de pomme de terre ou de riz ;
- Le saccharose de la betterave ou de la canne du sucre ;
- Le lactose de lactosérum de fromage.

Actuellement, le meilleur marché le plus abondant est le dextrose du maïs. [20]

Le recyclage du PLA dans la nature est illustré dans la **figure 5**. Les micro-organismes dans le sol et l'eau de mer décomposent naturellement les matériaux de PLA et par la suite les plantes peuvent consommer le composé résiduel comme aliment [21].

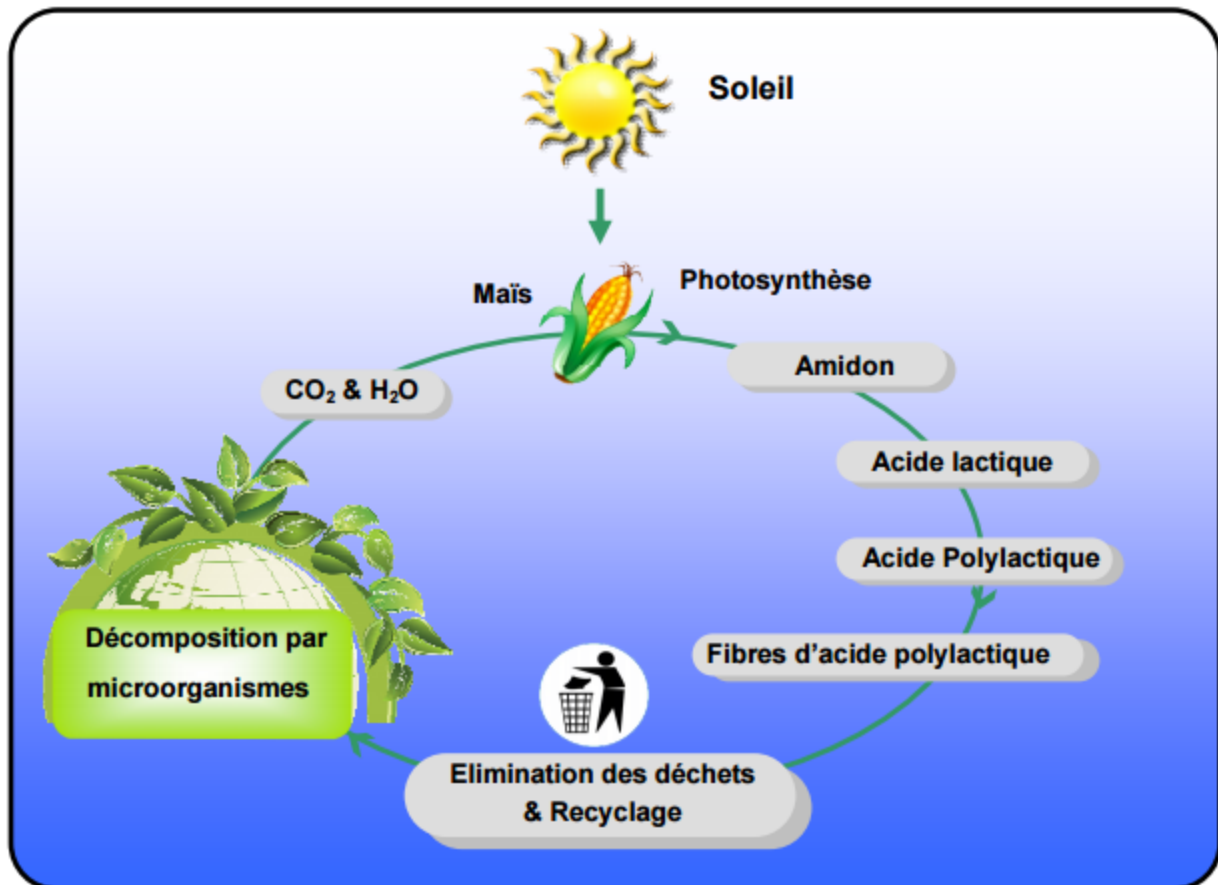


Figure 5. Recyclage de polymères (PLA) acide polylactique dans la nature [21].

I.3.4. Propriétés du PLA

Tous les propriétés du polylactide (physique, thermiques, mécanique, etc.) ainsi que sa biodégradabilité dépendent fortement de la stéréochimie des unités répétitives (L, D ou DL) et de leur distribution le long de la chaîne, de la cristallinité, de la tacticité et de la masse molaire.

I.3.4.1. Propriétés physique et mécanique du PLA

Les propriétés du PLA sont dépendantes de la masse moléculaire, la stéréochimie et la teneur en D-L'acide lactique. En effet, un D-PLA ou L-PLA homopolymère peut développer une structure cristalline alors qu'un polymère atactique dont le teneur en L-acide-lactique est inférieure à 93% reste amorphe [22].

A température ambiante le PLA est un thermoplastique transparent, avec un module d'élasticité de 3500N/mm² (relativement élevé, comparé aux thermoplastiques utilisés dans l'emballage comme le PET, le PS et la PP). La densité du LPLA cristallin est 1,290 et celle du LPLA amorphe est 1,248 [23].

Le polymère à base d'acide lactique ne sont pas solubles dans l'alcool (éthanol, méthanol), l'eau. Le PLA amorphe présente un module de traction entre 2,05 et 3,25 GPa. La masse molaire du polymère amorphe a une influence sur la résistance aux chocs et résistance à la flexion qui a été multipliée par 1.5 à 2 quand la masse molaire a été portée de 23 000 à 66000 g/mol[24].

I.3.4.2. Propriétés thermiques

Comme tout polymère thermoplastique, le poly(acide lactique) possède une température de transition vitreuse (T_g) et, selon sa tacticité, une température de fusion (T_f) qui dépend de la masse moléculaire et de la pureté optique [25]. Les températures de transition vitreuse du PLLA et du PDLA variant de 55 à 60 °C [22] alors que les températures de fusion peuvent varier de 120 °C à 230°C selon la composition en stéréo-isomères [26,27].

Les polymères préparés à partir de méso-lactide ou d'un lactide racémique sont en générale des polymères amorphes qui n'ont pas de température de fusion (T_f). Le PLA est stable thermiquement jusqu'à 300°C. A des températures supérieures, la dégradation de PLA entraîne la formation d'espèces volatiles et d'un résidu carboné qui serait composé principalement de carbones insaturés [24].

Tableau I.3 : propriétés mécaniques et thermiques du PLA [24].

Propriétés	Mesures
Masse Volumique (g/cm ³)	1-24
Température vitreuse (C°)	60-65
Température de Fusion (C°)	138-150
Module de Young (MPa)	20-50
Résistance (MPa)	45
Allongement a la rupture	9
Déformation %	2.5

I.3.5. Application du PLA

Les polymères biodégradables suscitent un immense intérêt dans des divers et importants domaines. Dans de nombreux cas le polymère peut être mélangé avec autre composant polymériques ou non polymérique pour obtenir le comportement désiré.

Mais ça reste les recherches sur le PLA sont très avancées par rapport aux ces derniers. La raison est que son coût élevé de départ n'a jamais été un frein à son usage puisque il sert pour des applications à haute valeur. En effet leurs propriétés de biocompatibilité et de biorésorbabilité associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues. Ainsi qu'il offre des caractéristiques uniques de biodégradabilité, de protection de l'environnement et de mise en œuvre. Cela lui confère des applications potentielles telles que les produits agricoles. Ils sont actuellement utilisés aussi dans les domaines du textile et de l'emballage. Des bouteilles d'eau et de lait, des gobelets jetables et divers emballages alimentaires, et pour des applications en médecine, en chirurgie et aussi en pharmaceutique, tel que les fixations orthopédiques, attaches, vis et broches, ligaments et tendons artificiels, matrice de régénération de tissu galénique.

I.3.5.1. Applications textiles

Les fibres PLA s'emploient dans des structures textiles très variés par le liage thermique, le cardage, le tricotage et le tissage. La diversité des filaments obtenus sous différentes morphologie et formes avec de bonnes propriétés méchaniques a conduit à cette large gamme d'applications. Les applications principales des fibres et des non-tissés de PLA ne sont pas limitées aux vêtements et à l'ameublement comme garnissage de couette, draps, couverture, matelas et tapis.

Cette fibre est en effet résistante aux ultraviolets, ce qui devrait la rendre performante pour les textiles de maison. En effet, certains fabricants pensent l'utiliser en mélangeant à la laine ou du coton, pour des vêtements de sport extrême ou la lingerie. Des vêtements ont déjà été réalisés en utilisant cette matière en 100% "fibre de maïs" ou en mélange avec du coton, de la laine, ou de la viscose [28].

I.3.5.2. Applications médicales

L'acide poly lactique est un polymère biodégradable, biocompatible en plus de sa résistance mécanique élevée et ses propriétés de moulage excellentes, ce qui permet son utilisation pour les applications biomédicales et pharmaceutiques Puisque le PLA est assimilé par le corps humain, il a été utilisé pour des applications importantes dans le système de libération des médicaments. L'aspect intéressent du polymère est que la matière subie une hydrolyse de la liaison ester de la chaîne principale est conduit à la formation d'acide lactique non toxique, qui est ensuite consommé par le métabolisme des glucides dans le corps [29].

Ces propriétés mécaniques et sa capacité d'absorption font du polymère de PLA un candidat idéal pour les des fils de structures résorbables (chirurgie d'œil, chirurgie de conjonction, chirurgie de poitrine et d'abdomen), pour des implants osseux ou des tissus mous (fixation orthopédique, attaches, vis et broche), peau artificielle, matériel de préparation chirurgicale [30].

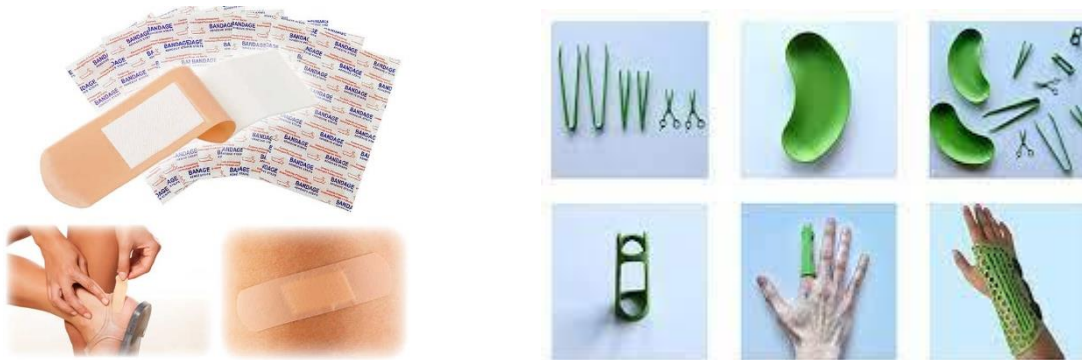


Figure 6 Types de matériaux en PLA utilisés dans le domaine de la médecine

I.3.5.3. Emballage

Au cours de ces dernières années, l'utilisation du PLA en tant que matériau d'emballage a augmenté dans toute l'Europe, Etats-Unis et le Japon [31]. Il est transparent, économiquement acceptable, ce qui est important pour les applications d'emballage. Il offre une bonne durée de conservation, par ce qu'il se dégrade lentement par hydrolyse dans des conditions d'emploi de nombreux emballage. En raison du mécanisme de dégradation, le PLA convient idéalement à plusieurs applications dans les environnements où la récupération n'est pas pratique, comme les films plastique employés en agriculture. Le compostage des articles déjà utilisés du PLA est également une solution fiable. Les films et les emballages de PLA disponible dans le commerce peuvent fournir de meilleures propriétés mécaniques que le polystyrène (PS) et ils ont des propriétés comparables à celle de polyéthylène téréphtalate (PET) [32].

Les PLA sont utilisés actuellement pour les bouteilles d'eau, les pots, les couvertures jetables, les emballages alimentaires dans l'industrie des boissons, les suremballages, les pellicules plastiques et le service de table (les gobelets, les assiettes et les ustensiles jetables).

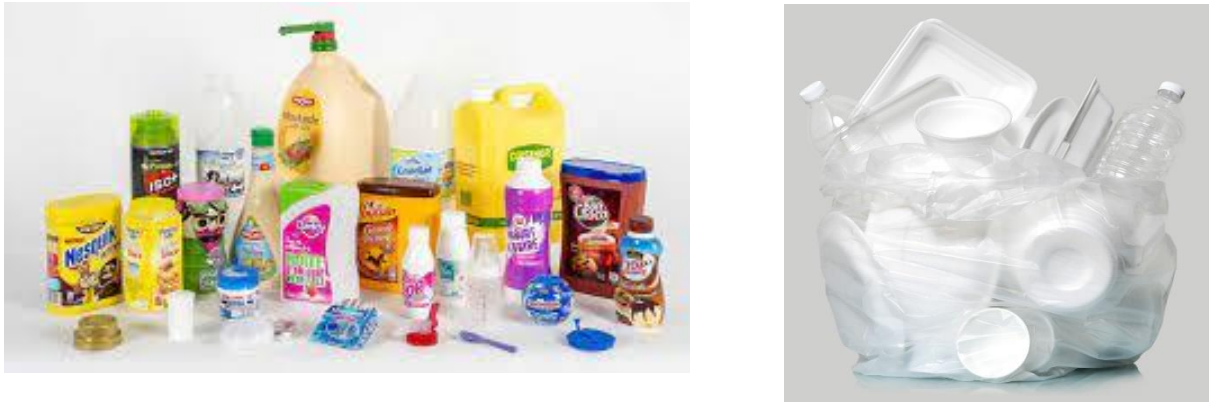


Figure 7 Types de matériaux en PLA utilisés dans le domaine de l'emballage alimentaire.

I.4.Morphologie de la plante

I.4.1.Le thym

Depuis l'antiquité le thym fait partie de la vie quotidienne des humains tant pour ses usages médicinaux, cosmétiques ou culinaires. C'est un arbuste odorant qui pousse spontanément dans le Nord de l'Afrique (Maroc, Tunisie, Algérie, et Libye), l'Egypte, l'Espagne ainsi qu'en Sibérie et en Europe Nordique. Cependant, la plupart des espèces se concentrent dans le pourtour du bassin Méditerranéen [33].

Le thym appartient à la famille des lamiacées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde. En Algérie, il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citons ainsi quelques espèces connues en Algérie : *thymus vulgaris* (figure 9), *Thymus fontanesii* Boiss, *Thymus hirtus* [34].



Figure 8. *Thymus vulgaris*

I.4.2. Propriétés du thym

- ⇒ Assaisonnement des boissons et des aliments ;
- ⇒ Désinfectant dermique, Antiseptique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures ;
- ⇒ Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermicides et vermifuges [35] ;
- ⇒ Propriétés antifongiques, antivirales, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) [36] ;
- ⇒ Propriétés antioxydantes [37] en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage [37].
- ⇒

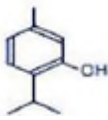
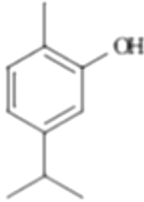

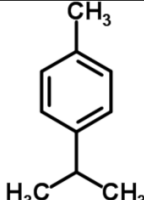
I.4.3. Principes actifs du thym

- ⇒ **Les acides phénoliques** : acide caféique, acide rosmarinique [38] ;
- ⇒ **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotrécine, narirutine, lutéoline [39] ;
- ⇒ **Les polyphénols** : tanin [39].

I.4.4. Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physicochimiques des huiles essentielles du thym et ses constituants sont présentées dans le tableau 2.

Tableau I.4. constituants principaux de l'huile essentielle du thym [40].

Thymol ou acide thymique	Densité (g/ml)	PM g/mol	Solubilité	Structure chimique
Thymol ou acide thymique (C ₁₀ H ₁₄ O)	0.9 à 0.95	150.2	Très peu soluble dans l'eau (1/1000), très soluble dans l'alcool	
Carvacrol (C ₁₀ H ₁₄ O)	0.9 à 0.95	150.2	/	
γ-terpinène (C ₁₀ H ₁₆)	0.85	136	/	
Cymène (C ₁₀ H ₁₄)	0.85	134	Insoluble dans l'eau soluble dans l'alcool et l'éther	

I.5. Généralités sur les huiles essentielles

I.5.1. Définition

Les huiles essentielles HE aussi appelées huiles volatiles, sont des métabolites secondaires produits par les plantes aromatiques pour combattre les infections et les parasites, elles sont synthétisées en réponse à des conditions de stress.

L'organisme de normalisation AFNOR (association française de normalisation) a défini l'huile essentielle comme un : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques, soit par distillation à sec.

L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [41].

I.5.2. Propriétés physique des huiles essentielles :

Les HE sont des composés volatiles, liquides à température ambiante, limpides et rarement colorées, elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques, elles sont peu miscibles à l'eau. Elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques [42].

I.5.3. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composantes aux concentrations différentes. Elles sont caractérisées par deux ou trois composants majeurs aux concentrations de (20 à 70 %) comparées à d'autres composants mineurs. Par exemple, l'huile essentielle de *l'Origanum compactum* est composée de deux composés majeurs, le carvacrol (30%) et le thymol (27%). L'huile essentielle de *Mentha piperita* est composée de menthol (59%) et de mentone (19%). Généralement ces composants appartiennent à deux groupes caractérisés par des origines biosynthétiques distinctes : Le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques [43].

I.5.4. Techniques d'extraction des huiles essentielles :

- ⇒ Entraînement à la vapeur d'eau.
- ⇒ Extraction par solvant organique.
- ⇒ Extraction au gaz CO_2 supercritique.
- ⇒ La distillation sèche.
- ⇒ L'expression à froide.
- ⇒ L'extraction sans solvant assisté par micro-onde.
- ⇒ Hydrodistillation.

I.5.5. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines, principalement en parfumerie et cosmétique, dans le domaine alimentaire et l'industrie pharmaceutique. Dans l'industrie agro-alimentaire les HE sont utilisées comme aromatisants naturels et agents de conservation des aliments et agent de conservation et cela est grâce à la présence de composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydants [44].

En aromathérapie les HE sont utilisées contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne ou fongique ou pour préserver la nourriture contre les insectes. Elles sont considérées comme agents antimicrobiens et antiseptiques. Le caractère volatil de ces huiles permet d'envisager leur utilisation en tant qu'agents de

préservation pour le contrôle de l'hygiène de l'air des systèmes de climatisation, notamment en milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air des locaux [45].

I.6. Les composés phénoliques

I.6.1. Définition

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires (ils sont synthétisés par les plantes durant la croissance et pour répondre à différentes situations [46]. Plus de 8000 structures ont été identifiées.

Les composés phénoliques appartiennent à la famille des composés aromatiques. Ils se reconnaissent par la présence d'un ou plusieurs groupes hydroxyles modifiés ou pas ; attachés à une structure aromatique). Les composés phénoliques sont l'un des groupes bioactifs des fruits, légumes et graines ; ils sont localisés au niveau des tissus des plantes [47].

I.6.2. Propriétés biologiques des polyphénols

Les recherches récentes sur les composés phénoliques en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs divers propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne [48].

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire. D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénol ou des suppléments alimentaires [49].

I. 6.3. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

I.6.3.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper dans le but d'extraire leurs principes médicinaux. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes : fleurs, feuilles, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles [50].

I.6.3.2. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dure ou très dure : bois, racines, écorce ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinaux [51].

I.6.3.3. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser.

Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin ou les graines du plantain des sables, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude. Elle concerne aussi les plantes dont les substances actives risquent de disparaître ou de se dégrader sous l'effet de la chaleur par ébullition [52].

I.6.3.4. Distillation

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles. Développée par Jabir Ibn Hayyan (Geber 721-815) qui a rajouté l'alambic à l'ancien appareil de distillation pour la réfrigération, mais utilisée par Al Kindi (Alchindius 805-873) et Ibn Sina (Avicenne 980-1037) pour la préparation des parfums. Les eaux distillées ou hydrolats, sont obtenues par distillation de la plante (feuilles, tiges...), alors que les eaux florales sont obtenues de la même manière mais à partir des fleurs [53].

CHAPITRE II



Matériel et techniques d'analyse

II.1. matériel et produits utilisés.

II.1.1. Polyacide lactique

L'acide polylactique (PLA) ou poly (lactic acid), est le plus prometteur de tous. C'est un biopolyester synthétique, linéaire et aliphatique. Son principal avantage est qu'il est obtenu à partir des ressources renouvelables à 100 % riches en amidon tel que le maïs, la betterave ou la pomme de terre [54, 55]. De plus, il est non toxique, biodégradable et présente des propriétés mécaniques très intéressantes comparables à celles des polymères classiques [56]. Spécifiquement élaboré pour les applications d'extrusion (film, thermoformage). Dont la structure chimique est schématisée sur la figure ci-dessous.



Figure. 9 : Image de PLA

Les propriétés du PLA mentionnées sur la fiche technique sont représentées dans le tableau suivant

Tableau II.1 : Les propriétés physico-chimiques du PLA utilisé

Propriétés générales	Unité	Valeur
Densité	/	1.26
MFI	(190°C, 2.16kg) g/10min	5-9
Dureté (15s)	Shore D	80
Propriétés optiques	/	transparent
Température de fusion	°C	170-180

II.1.2. Matière végétal



Le Thym utilisé est le *Thymus fontanesii* qui est très répandu dans le bassin méditerranéen. C'est une plante odorante, rampante, très ramifiée portant de petites fleurs rose pâle ou blanches, qui s'élève à une vingtaine de centimètres au-dessus du sol. Il pousse d'une façon spontanée sur les coteaux secs et rocailloux. Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques

Figure. 10 : *Thymus fontanesii*



II.1.3. Chloroforme

Les caractéristiques physico-chimiques du chloroforme utilisé sont résumées ci-dessous :

- ✓ Formule générale : CHCl_3 ;
- ✓ Masse moléculaire : $M=119.38\text{g/mol}$;
- ✓ Température de l'ébullition : 61.2°C ;
- ✓ Température de fusion : -63.5°C ;
- ✓ Densité : 1.478 g/cm^3 ;
- ✓ Pureté : 99%.

II.1.4. Alcool éthanoïque

- ✓ La pureté : 96 % ;
- ✓ La structure chimique : $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$;
- ✓ La masse molaire : la masse molaire : 46.07g/mol .

II.1.5. Souches bactériennes et fongiques étudiées.

Afin de déterminer l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle du thym, quatre espèces microbiennes pathogènes sont aimablement fournies par le laboratoire de la microbiologie pour réaliser les tests de cette activité.

⇒ **Souches à Gram négatif - :**

- *Escherichia coli*.

⇒ **Souches à Gram positif + :**

- *Staphylococcus Aureus* ;
- *Candida Albicans* ;
- *Bacillus cereus*.

II.1.5.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli est une bactérie, procaryote appartenant à la famille des Entérobactéries.

Le colibacille est un bacille (bactérie en forme de bâtonnet), Gram négatif. *Escherichia coli* possède un génome à ADN double circulaire de 4,6 millions de paires de bases. Elle se réplique très rapidement à 37°C, toutes les 20 minutes, ce qui permet de multiplier facilement de l'ADN ou des protéines d'intérêt. Cette bactérie est communément trouvée dans les intestins de Mammifères, humains compris. Il en existe différentes formes dont certaines sont pathogènes, provoquant des infections intestinales, infections urinaires ou génitales.

II.1.5.2 *Staphylococcus Aureus*

Appartenant au genre des *Staphylococcus*, le staphylocoque est une bactérie Gram positif qui se présente comme une coque, associée par groupes en amas (grappe de raisin) ou en chaînes. D'environ 1 micromètre de diamètre, la cellule bactérienne est immobile.

Le génome est contenu sur un chromosome d'environ 2,8 millions de paires de bases. Bien qu'elle soit souvent retrouvée chez l'Homme, elle ne provoque pas toujours d'infections. Elle peut engendrer des infections cutanées, ou des muqueuses (otites, conjonctivites...) pouvant mener à des septicémies. Elle est aussi responsable d'intoxications alimentaires.

II.1.5.3 *Candida Albicans*

Le candida albicans est un organisme mycotique, c'est-à-dire qu'il fait partie de la famille des champignons diploïde (il possède un double de chromosomes semblables) et encapsulé, classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levures ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu. Il a la forme de C. Les colonies apparaissent de 48 à 72 heures après la mise en culture à 37 °C sur un milieu d'isolement des champignons. Il est présent depuis toujours sur nos muqueuses, notre peau, ou bien encore dans notre intestin.

II.1.5.4 *Bacillus cereus*

Les *Bacillus cereus* sont des bactéries pathogènes que l'on rencontre dans les produits riches en amidon, dont les céréales. Ces souches sont des bacilles mobiles, de 3 µm de long pour un diamètre de 1,4 µm environ. Une température de croissance comprise entre 5 et 37 °C, un pH optimal entre 4,5 et 7 et une certaine humidité. Ces bacilles entraînent des troubles du tube digestif dus à l'ingestion de la toxine ou de la bactérie.

II.2.Méthodes expérimentales

II.2.1. Récolte et séchage

Le thym récolté dans la région de M'sila, en mars 2018(période de floraison). Le matériel végétal est fraîchement récolté, retirer les mauvaises herbes puis il est séché dans un endroit frais, aéré et sec, à l'abri de la lumière et de toute contamination. Ensuite découpée en morceaux très fins.

II.2.2.Extraction

II.2.2.1.Extraction des huiles essentielles

Dans cette étude, deux méthodes d'extraction ont été utilisées l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau. L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée au niveau du laboratoire de Synthèse. Pour ce faire deux appareillages ont été utilisés pour extraire l'huile essentielle de *thymus fontansii*.

A. Hydrodistillation

100g de la matière végétale est introduite dans un ballon de deux litres imprégné d'eau distillée l'ensemble est porté à l'ébullition pendant une heure et demi à deux heures. Les vapeurs chargées d'huile essentielle en traversant un réfrigérant se condensent et chutent dans une ampoule à décanter l'eau et l'huile de se séparent par différence de densité.

B. Entraînement à la vapeur d'eau

100g de matière végétale sèche sont placées dans un ballon (B) dans la figure 8 qui surmonte l'eau en ébullition les vapeurs en traversant la plante font éclater les cellules et entraîner avec elles l'huile essentielle. Le mélange huile essentielle-eau est recueilli par un col de cygne et refroidi dans un condenseur : la séparation se fait le plus souvent par simple décantation dans un vase florentin (Crouzet, 1998). Après condensation et liquéfaction ; l'huile surmonte l'eau dans l'ampoule de décanter

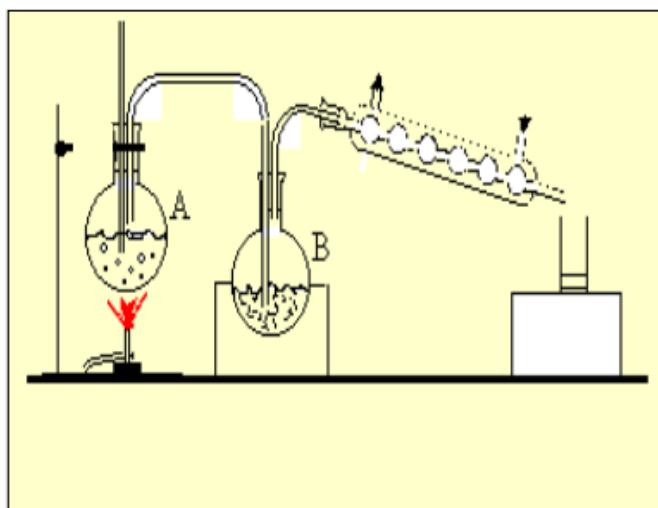
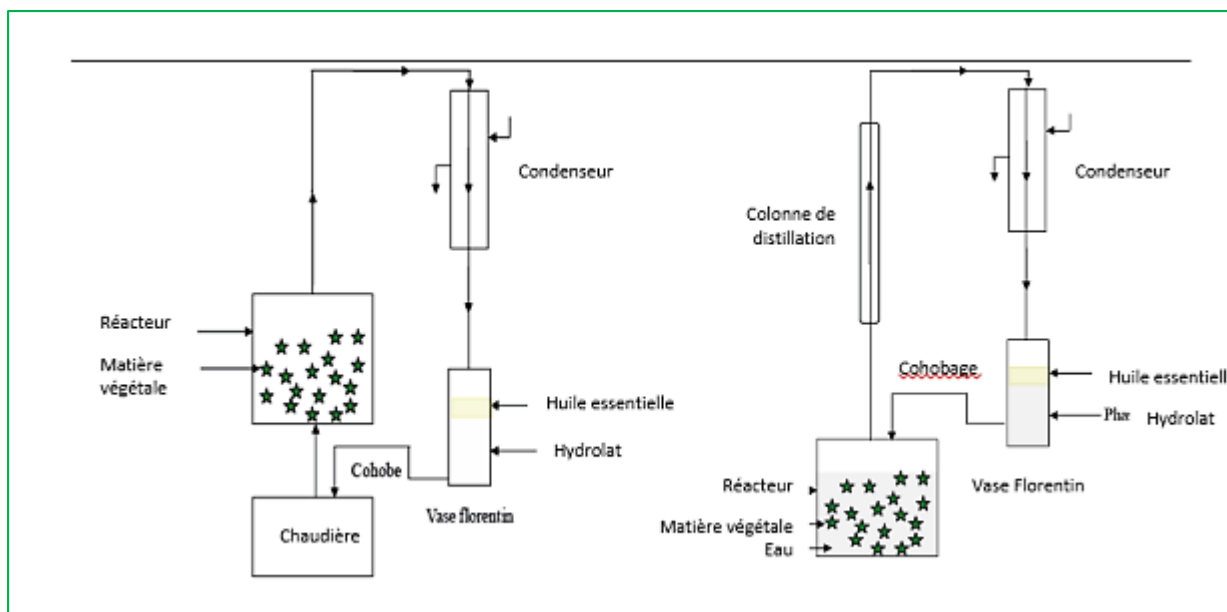


Figure 11. Système de distillation par entraînement à la vapeur



A. Principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur (EVE)

B. Principe schématisé de l'hydrodistillation (HD)

Figure 12. Dispositif d'extraction (EVE) & (HD)

II.2.2.2. Extraction éthanolique

Verser dans une ampoule à décanter 10ml d'huile essentielle et ajouter la quantité suffisante d'une solution de NaOH à 25%. Agiter énergiquement le mélange et laisser reposer 24 heures pour la séparation complète de la phase aqueuse. Cette phase contient le thymolate de sodium qui doit être traité par une solution d'acide fort alors le thymol précipite. Pour la purification du thymol obtenu est utilisée la recristallisation alcoolique.



Figure 13. Ampoule à décanter contient la phase aqueuse et organique

II.2.3. Préparation des films

- En portant des gants et un masque, mesurer 500ml du chloroforme à l'aide d'une éprouvette (sous la haute) ;
- Peser 20g du PLA avec la balance électronique ;
- Mélanger les deux matières premières dans un Bêcher sous une agitation pendant deux à trois heures avec un agitateur magnétique toujours sous la haute.

Préparation des films PLA/EET

- Partager le mélange (PLA/Chloroforme) obtenu à 4 bêchers ;
- Ajouter l'extrait éthanolique de thym pour trois bêchers à des concentrations différentes de 3, 6 et 9% et laisser le quatrième comme témoin ;
- Laisser agiter une heure pour homogénéiser les mélanges ;
- Etaler/faire couler les mélanges dans des boites de pétrie en mentionnant le pourcentage de chaque mélange et laisser s'évaporer sous la haute afin d'obtenir des films souples.



Figure 14. Photographie des films PLA/EET

II.2.4. Techniques de caractérisation

On s'intéressera dans cette partie à la description des différentes méthodes d'analyse et de caractérisation des échantillons à savoir :

- ⇒ Analyse spectrale infrarouge à transformation de Fourier (IRTF) ;
- ⇒ Test d'activité antibactérienne ;
- ⇒ Test d'activité antioxydants ;
- ⇒ Test d'absorption d'eau.

II.2.4.1. Analyse spectrale infrarouge à transformation de Fourier –IRTF

La spectroscopie IRTF est une technique d'analyse qualitative et quantitative utilisée pour l'identification des groupements fonctionnels qui apparaissent sous forme de bande d'absorption. Elle consiste à soumettre la molécule au rayonnement IR. Les spectres IR du PLA, thym et l'huile essentielle ont été enregistrée à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de modèle SHIMAZU FTIR-8400S, piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de 4 cm^{-1} , dans la région 4000 cm^{-1} à 400 cm^{-1} . L'analyse se fait sur des échantillons sous forme de film, ainsi que des pastilles (pour l'extrait éthanolique de thym) préparées sous une pression de l'ordre de 90KN avec un mélange constitué de 80% de KBr et 20% de thym.



Figure 15 Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de modèle SHIMAZU FTIR-8400S

II.2.4.2. Test d'activité antibactérienne

II.2.4.2.1. Préparation des précultures

Une suspension bactérienne et fongique est préparée à partir d'une culture pure et jeune. Ces inocula servent à ensemercer la gélose Mueller Hinton et TSA respectivement coulée dans des boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4mm, les boîtes sont ensuite incubées à l'étuve à 37 °C pour les bactéries et 25°C pour les champignons avant emploi.

L'ensemencement est effectué par écouvillonnage, il consiste à mettre en contact un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne et fongique puis le frotter à trois reprises sur toute la surface gélosée de façon à former des stries serrées, en tournant la boîte à environ 60 ° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum. Pour chaque souche testée, 10 boîtes de Pétri sont écouvillonnées, (2 boîtes pour chaque concentration plus 2 boîtes pour le témoin).

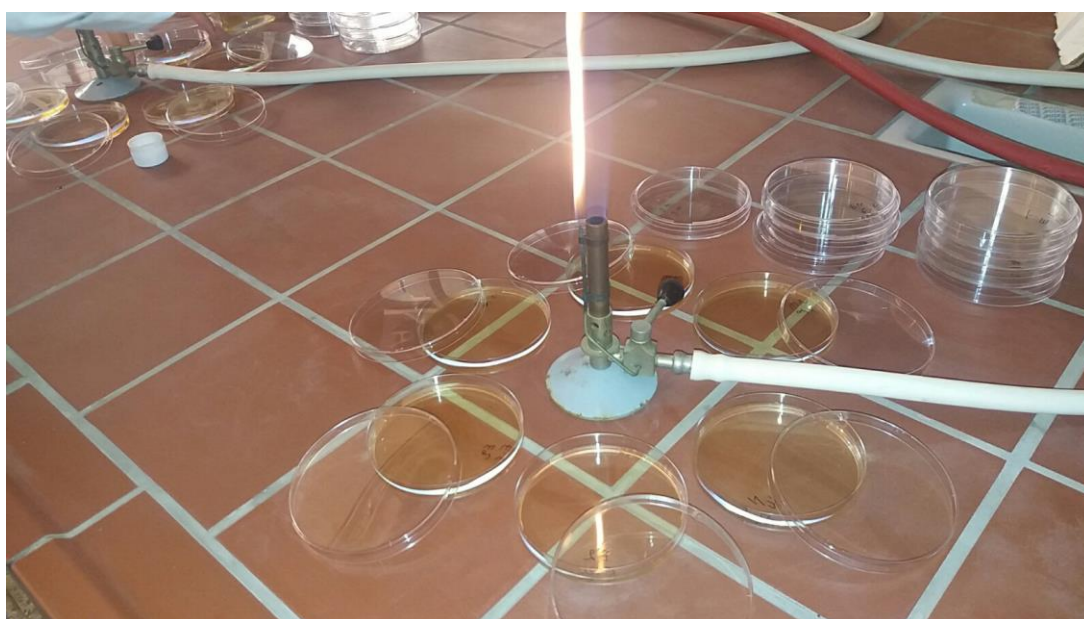


Figure .16 photographie des milieux de cultures.

II.2.4.2.2. Méthode de diffusion

L'étude de l'activité antibactérienne est réalisée par le test de diffusion sur agar. Des disques de film de 6 mm de diamètre à différents concentration 3%,6% et 9% ont été préparés, stérilisés puis déposés sur la surface des boîtes ensemercées à l'aide d'une pince stérile. Afin de permettre une bonne diffusion, les boîtes sont mises à 4°C pendant une heure.

Finalement, les boîtes de pétri sont incubées à l'étuve pendant 24 heures à 37°C pour les bactéries et 48 heures à 25°C pour les champignons.

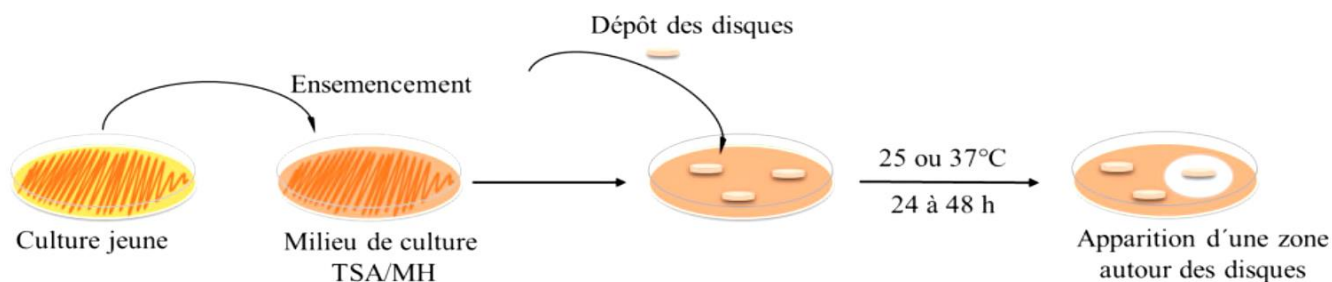


Figure 17. Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des Film préparés

II.2.4.2.3. La lecture

La lecture s'effectue en mesurant pour chaque disque le diamètre d'inhibition. Cette distance millimétrique est ensuite reportée sur l'échelle de concordance afin que la souche soit interprétée en sensible, intermédiaire ou résistante vis-à-vis à de disque étudié.

II.2.4.3. Test d'activité antioxydants

Activité anti radicalaire DPPH

La molécule de DPPH, (2,2-diphinol-1-picrylhydrazyl) est définie comme un radical libre stable de couleur violette, est réduit en composé jaune en présence de composés anti-radicaux libres [Hossain et al, 2015].

➤ Première étape :

Préparation de Solutions de DPPH° (M=394,3 g/mol) :

- **solution mère à 6.10^{-3} mol/L** : stable à -18 °C pendant 1 semaine : peser 0,0236 g de DPPH° dans une fiole jaugée de 10 ml, compléter avec de l'éthanol et placer dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes à température ambiante.
- **solution fille à 6.10^{-5} mol/L** : à préparer extemporanément par dilution au 1/100 dans l'éthanol 96° de la solution mère de DPPH°. Vérifier que l'absorbance à 515 nm de cette solution est comprise entre 0,6 et 0,7.

Remarque : en fonction de la solubilité des antioxydants, le test pourra être réalisé dans d'autres solvants, sous réserve que le DPPH° y soit soluble.

➤ Deuxième étape :

Préparation des extraits :

- Découper et peser des petits morceaux de 4g de chaque film (3, 6 et 9%) et le film témoin (100% PLA)
- Recouvrir les échantillons avec 10 ml de MeOH, puis sceller et mis sous agitation pendant 48 h à 25 °C ;

- Ensuite, filtrer les solutions et le surnageant a été utilisé pour tester les capacités antioxydantes des films. Cette méthode a été décrite par Llana-Ruiz-Cabello et al. (2015) ;
- A l'aide d'une micropipette on met 100µl de chaque extrait dans un tube à essai et on complète par 2.9ml (2900µl) de la solution de DPPH° éthanolique (préparée dans la première étape) et les incubent dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 minutes ;
- Faire le zéro du spectrophotomètre avec de l'éthanol 96% ;
- Avant le test, un balayage de l'extrait à tester dans le domaine UV- visible est pré-requis à différentes concentrations, afin de s'assurer, qu'à la longueur d'onde du test antioxydant considéré, aucune interférence due à l'absorption de composés initialement présents dans le produit ne viendra perturber le test ;
- Effectuer la mesure à l'aide d'un spectrophotomètre UV-V à une longueur d'onde de 517 nm ;
- Dans une première cuve spectrophotométrique, placer 3 ml de mélange (2900µl de la solution fille de DPPH° à 6.10^{-5} mol/l + 100µl de l'éthanol. Cette cuve sera appelée **cuve témoin** et sera conservée à l'obscurité entre deux mesures ;
- Dans une seconde cuve spectrophotométrique, placer 3 ml de mélange (2900µl de la solution fille de DPPH° à 6.10^{-5} mol/L +100µl de solution contenant l'antioxydant (extrait)). Déclencher le chronomètre et mesurer régulièrement l'absorbance à 517 nm. Cette cuve sera appelée **cuve échantillon** ;
- Le pourcentage de réduction du DPPH est calculé selon la formule suivante :

Abs C : Absorbance du control.

$$\% = ((\text{Abs C} - \text{Abs E}) / \text{Abs C}) * 100$$

Abs E : Absorbance d'échantillon.

II.2.4.4. Test d'absorption d'eau

Le test d'absorption d'eau consiste à évaluer la quantité d'eau que l'échantillon peut absorber en fonction du temps d'immersion.

- Découpés les films destinés à la mesure de l'absorption d'eau sous forme de carrées de 15 cm de côté ;
- Laisser sécher dans une étuve pendant 24h à 50 °C ;
- Après séchage à l'étuve transporter les échantillons dans un dessiccateur (afin d'éviter l'absorption d'humidité trouvée dans l'aire), puis les peser avec une précision de l'ordre de 0.1 mg ;
- Immerger dans l'eau distillée (ou de pureté équivalente) et laisser :
 - Soit à 23°C pendant 24h (méthode1) ;
 - Soit bouillante pendant 30min (méthode2) ;
- Les films sont régulièrement prélevés de l'eau, ensuite essuyer avec du papier absorbant l'excès d'eau puis pesée à nouveau ;

La masse mesurée est m_h chaque valeur de m_h est une valeur moyenne de 3 mesures. Le pourcentage d'eau absorbée est déterminé par la formule suivante :

$$\%Abs = \frac{m_h - m_s}{m_h} * 100$$

Avec : m_h : masse humide

m_s : masse sèche.

CHAPITRE III



Résultats et discussion

Dans ce chapitre on arrive à interpréter et discuter les résultats obtenus sur l'étude de l'activité des extraits du thym et des films composites PLA/EET.

III.1. Caractérisation spectrale par IR-TF

La figure suivante représente le spectre IRTF du PLA vierge.

⇒ PLA

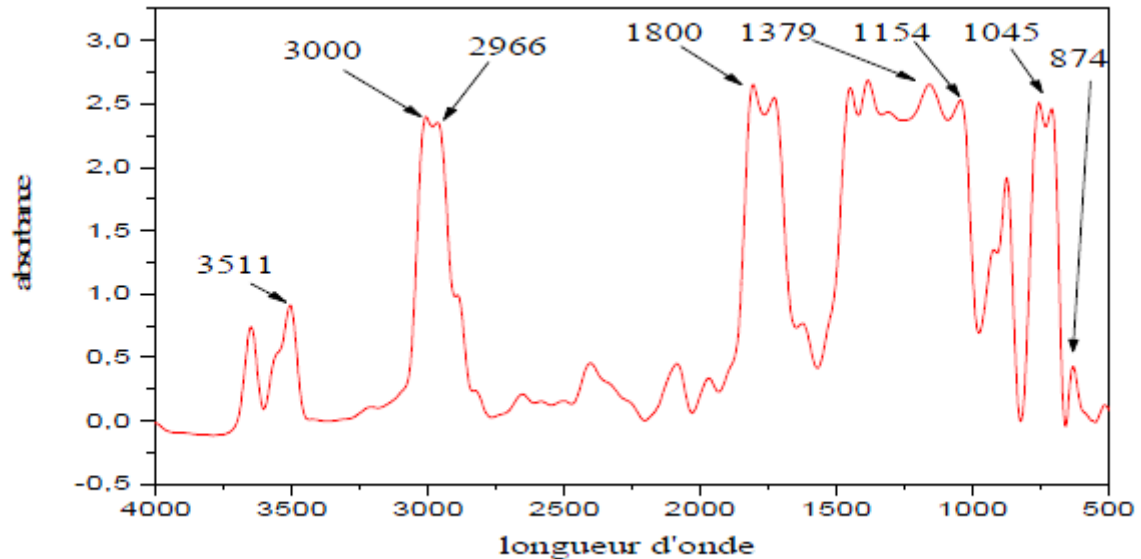


Figure 18. Spectre IRTF du PLA vierge.

Le spectre du PLA révèle la présence de plusieurs bandes d'absorption, on cite notamment

- Deux pics centrés à 3000 et 2966 cm⁻¹ attribués aux vibrations d'élongations des groupements -CH ;
- Une large bande centrée à 1800 cm⁻¹, correspond à l'absorption des liaisons carbonyles des esters présents dans le PLA ;
- Une large bande d'absorption centrée à 1379 cm⁻¹ (zone dite de l'empreinte digitale du polymère), attribuée aux vibrations de déformation asymétrique et symétrique des liaisons -CH ;
- Une série des bandes à 1154, 1045 correspondant aux vibrations d'élongation des liaisons C-O ;
- Un pic à 874 est attribué aux vibrations d'élongation des liaisons C-C [64] ;

- caractérisation structurale des films (PLA/EET)

La spectroscopie infrarouge est très utile pour examiner la présence de liaison ou toute autre interaction susceptible d'être établie dans un mélange, l'établissement de ces liaisons se traduit généralement par la formation d'un nouvel état physique dû au changement des énergies vibratoires et de déformations à l'échelle intra ou interatomique. Ces états se manifestent au niveau du spectre soit par l'apparition de nouveaux pics, leurs décalages, changement de la forme des pics ainsi que parfois par leurs disparitions.

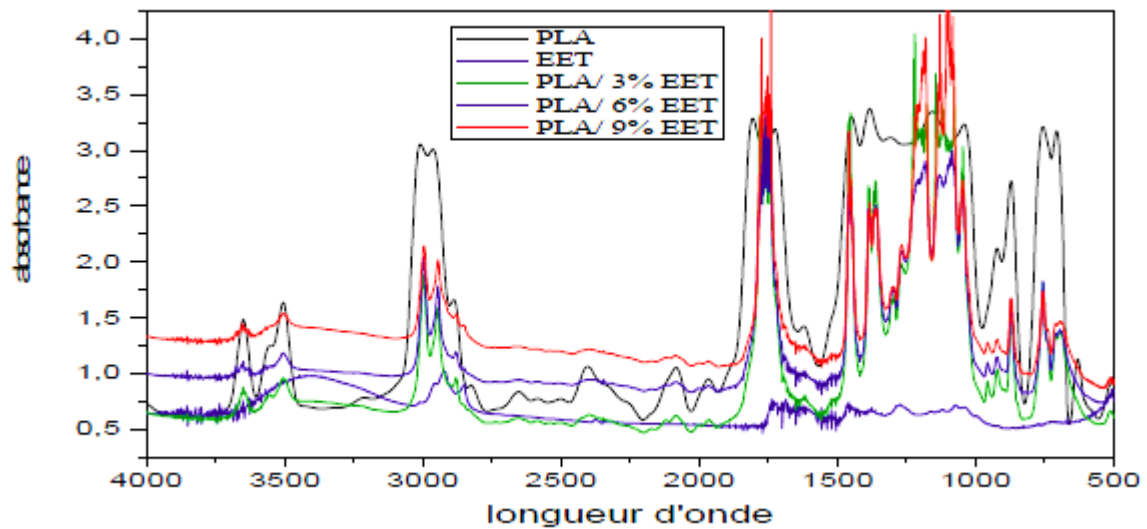


Figure 19. Spectre IR-TF du PLA vierge, PLA+ 3%EET, PLA+6%EET et PLA+9%EET.

Le spectre IR-TF obtenu, nous permet de voir que certaines bandes d'absorptions sont affectées par l'ajout de l'huile essentielle et/ou d'extrait du thym, soit 3%, 6% ou 9% en charge. D'après les spectres, on remarque l'augmentation de l'intensité de la bande d'absorption située entre 2820 et 2900 cm^{-1} et qui est attribuée aux vibrations d'élongation des liaisons C-H qui est dû à l'augmentation de la quantité du thym ajoutée.

En effet, dans la région des carbonyles caractéristique au PLA, le pic situé à 1735 cm^{-1} , se trouve décalé vers les hautes fréquences à 1750 cm^{-1} ceci peut se traduire par l'établissement d'une liaison hydrogène susceptible d'être formée entre le carbonyle et les groupements esters du thym (9%

HE et 9%EET). L'analyse de la région située entre 750 et 1000 cm^{-1} ont permis également de détecter au niveau du mélange une légère augmentation des pics correspondant à un développement d'un nouvel état physique qui est installé au sein du mélange. Ces résultats sont confirmés par les travaux Adomaviciute et al [65].

III.2. Activité antibactérienne des extraits du thym

Les résultats du test de sensibilité microbienne aux extraits sont représentés dans les figures ci-dessous. L'activité antimicrobienne se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié et met en évidence la présence d'une importante activité sur les différentes souches testées. Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre. On remarque aussi que la plante *Thymus vulgaris* est douée de propriétés antimicrobiennes très appréciées et cela justifie son utilisation dans le traitement traditionnelle comme un remède antibactérien. L'activité antimicrobienne des extraits de plantes est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les huiles essentielles (en particulier thymol)



Bacillus cereus

Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Candida albican



Figure.20 Résultats de l'activité antimicrobienne de l'extrait éthanolique du Thym

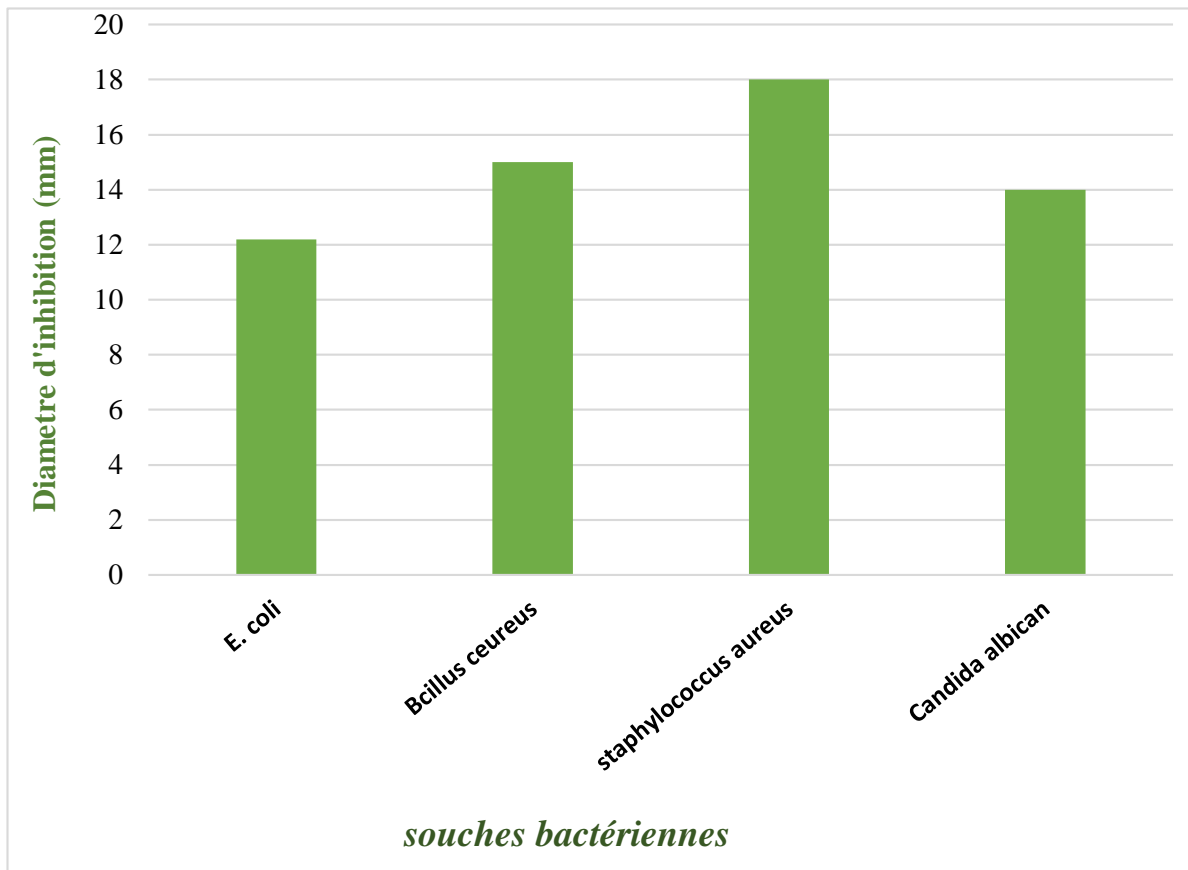


Figure.21 Valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits du thym

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits du thym, repose sur le calcul des diamètres de zones d'inhibition de la croissance. Les résultats des essais antimicrobiens *vis-à-vis* les espèces : *Escherichia coli* ; *Bacillus cereus* ; *Staphylococcus aureus* ; *Candida albican*

Comme cela a été rapporté dans la littérature, nous avons considéré qu'un extrait a une action antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 12 mm.

- ✓ Souche sensible : la dimension du diamètre de la zone d'inhibition est égale ou supérieure à 10mm ;
- ✓ Souche limite (intermédiaire) : la dimension du diamètre de la zone d'inhibition inférieure à 10mm ;
- ✓ Souche résistante : absence de zone d'inhibition [57].

III.3. Test d'activité antibactérienne des films

Les essais de pouvoir antimicrobien ont été réalisés par la méthode de diffusion directe des disques de film sur agar.

C'est un test préliminaire afin d'avoir une idée sur le potentiel inhibiteur.

La méthode de diffusion des disques nous a permis de vérifier le pouvoir antibactérien des films PLA /EET, *vis-à-vis* les espèces microbiennes choisies. La figure.20 représente les résultats obtenus.



Bacillus cereus

Escherichia coli



Staphylococcus aureus

Candida albican

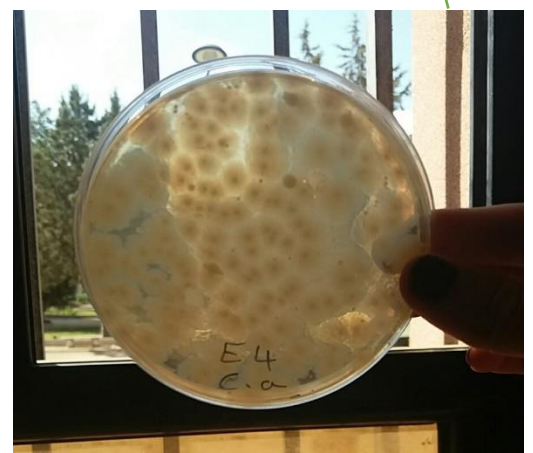


Figure.22 Résultats du test d'inhibitions de la croissance bactérienne des films (EET/PLA 9%)

D'après les résultats, les films PLA /EET de différents concentrations 3%, 6% et 9% n'ont montré aucun effet inhibiteur sur la croissance des souches bactériennes : *Escherichia coli*; *Bacillus cereus* ; *Staphylococcus aureus* ; *Candida albican*.

Une étude menée par [58], a montré que la structure chimique des constituants des huiles essentielles influence directement sur l'activité antibactérienne et que la réduction de l'activité se produit généralement entre les molécules actives et les composés non oxygénés, qui réduisent leur solubilité et donc leur efficacité [59], [60]. Nos résultats ne concordent pas avec ceux trouvés dans le test d'activité de l'extrait seul sur les microorganismes. Cela est peut être expliqué par la nature de l'extrait, la variété de la plante, les protocoles d'extraction ou la région de la récolte qui influencent de manière significative les activités biologiques des extraits. [61], [62], [63].

En plus la nature chimique du PLA (manipulé avec le chloroforme) peut être à l'origine de l'inactivation de nos extraits qui sont évidemment très actifs *vis-à-vis* toutes les espèces microbiennes testées.

III.4. Test d'activité antioxydants

La figure suivante représente les pourcentages d'activité antioxydante d'extrait de thym et des films PLA/EET (3% ; 6% et 9%)

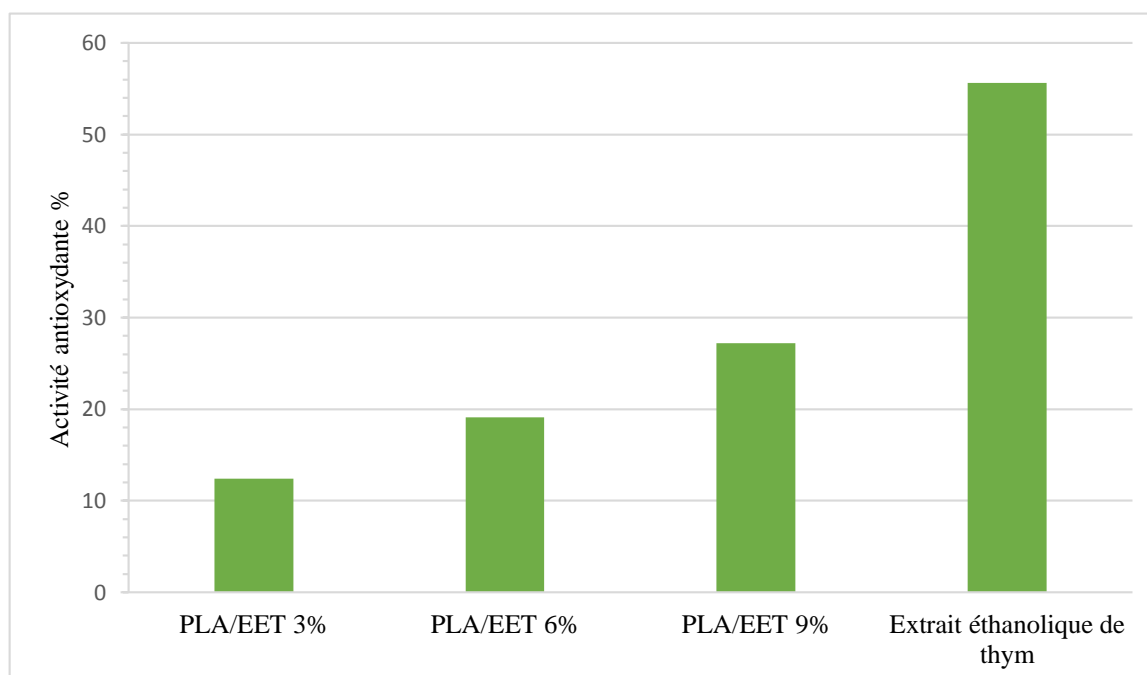


Figure.23 Activité antioxydante d'extrait de thym et des films PLA/EET (3% ; 6% et 9%)

La réduction du DPPH° est facilement mesurée par spectrophotométrie à 517 nm. La réaction sera plus ou moins rapide selon la nature de l'antioxydant, et la quantité de DPPH-H formée dépendra de la concentration en antioxydant.

Les résultats montrent que l'activité antioxydante des extraits testés est efficace et évidente. En effet, la capacité anti-radicalaire la plus élevée est trouvée pour l'extrait du film (PLA/EET 9%) de 27.2%, une activité qui reste significativement inférieure à celle de l'extrait éthanolique de thym brut qui est de 55.60%. Les autres concentrations montrent des activités voisines mineures. Les extraits sont des fractions assez complexes dans leur composition et peuvent contenir différents composés agissant indépendamment.

L'activité antioxydante de films de PLA contenant des extraits de plantes, provient principalement de l'abondance de ces agents actifs en composés polyphénoliques. Ces derniers, ont montré dans la littérature une activité antimicrobienne importante. Les résultats confirment que les composés bioactifs restants dans le film après leur séchage ont joué leur rôle antioxydant. Selon Ayala-Zavala et al., (2008) les systèmes d'emballage actifs antioxydants peuvent être divisés en trois groupes selon le mécanisme d'action du composé antioxydant :

(i) l'antioxydant est libéré dans l'espace libre du paquet afin d'interagir avec le produit alimentaire, (ii) le composé antioxydant est inclus dans le matériau d'emballage et libéré au produit par un processus de migration, (iii) le composé antioxydant est immobilisé dans la surface de l'emballage [66].

Ceci est cohérent avec ceux rapporté par Bravin, et al., (2004), où ils ont mentionné que les propriétés de barrière à la vapeur d'eau des films sont améliorées par la présence d'obstacles physiques de type hydrophobe, qui ont empêché le transfert de molécules d'eau à l'intérieur du film [67]. Cette explication est confirmée par Acosta et al., (2016).

III.5. Taux d'absorption d'eau

La figure suivante montre la variation du taux d'absorption d'eau en fonction du temps du PLA vierge, PLA/EET pour différentes concentration.

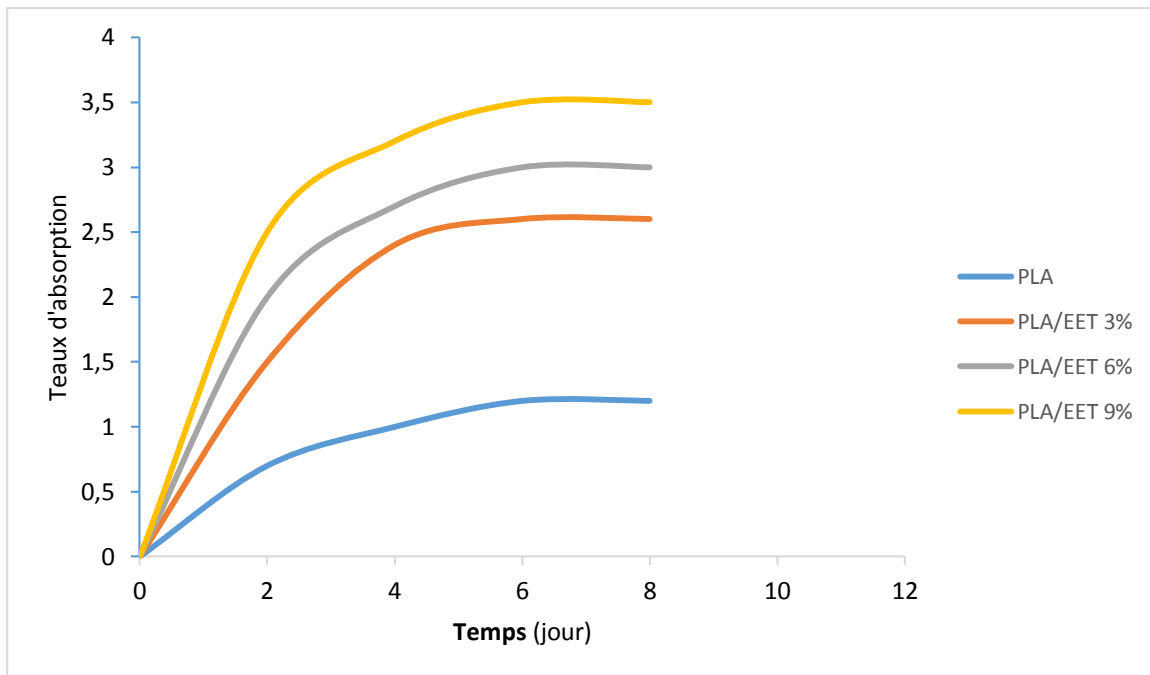


Figure.24 variation du taux d'absorption d'eau en fonction du temps du PLA vierge, PLA/EET pour différentes concentration.

A partir de ces figures, on constate que le taux d'absorption d'eau augmente rapidement pendant le premier jour, pour tous les échantillons (PLA et les composites PLA chargé de thym à différentes concentrations) puis elle varie lentement pendant les 4 jours suivants pour se stabiliser au bout de 6eme jour. Par comparaison des taux d'absorptions d'eau, on peut constater que la matrice PLA seule enregistre un taux d'absorption ne dépassant pas 1.2% et cela est attribué au caractère hydrophobe de polymère.

Par incorporation d'extrait de thym dans la matrice du PLA le taux d'absorption d'eau devient de plus en plus important au fur et à mesure que l'on augmente la concentration de l'extrait de thym et la valeur maximale obtenue est voisine de 3.5% pour l'échantillon le plus concentré (9% d'extrait de thym). Ce changement de caractère vis-à-vis de l'eau est probablement dû à la nature chimique des différents constituants d'EET contenant des groupements hydroxyles, ces derniers forment avec les molécules d'eau des liaisons hydrogènes, donc plus le taux de l'extrait et/ou de l'huile est élevé, plus la concentration en OH- s'accroît et par conséquent le taux d'absorption devient plus important [68].

Wong et al., (1992), ont rapporté que l'utilisation des composés hydrophiles entraîne une variation de la microstructure du film, incluant ainsi une diminution de la densité et une formation de pores et des bulles d'airs, qui peuvent être l'origine de la diminution des propriétés de barrière des films [69].

Conclusion générale

Conclusion générale

Le consommateur devient de plus en plus exigeant, si un produit ne convient pas à ses attentes, celui-ci ne renouvelera pas l'achat. Ceci signifie que le choix du niveau de la qualité du produit est un élément de décision préalable à toute démarche commerciale sur le terrain.

L'acide polylactique (polylactic acid en anglais, abrégé en PLA) est un polymère biodégradable utilisé principalement dans l'emballage alimentaire. Le film pour paillage agricole représente également un secteur de débouché intéressant. En effet la propriété de biodégradabilité d'un tel polymère représente une solution aux préoccupations environnementales rencontrées par ces secteurs. C'est également un matériau renouvelable qui permet l'essor de nouvelles applications inédites, comme par exemple les emballages intelligents.

Le PLA en tant que des polymères biodégradables industriellement produit et les agents bioactifs naturels autorisés tels que les huiles essentielles et les extraits organiques des plantes de romarin et de thym qui ont été choisis en raison de leurs activités antimicrobiennes et antibactériennes connues permettant leurs applications dans les industries alimentaires.

Notre présente étude alors consiste à présenter un nouveau produit, aussi la caractérisation d'un nouveau matériau composite biodégradable à base de l'acide poly(lactique), et l'effet de l'incorporation des huiles essentielles et des extraits de thym sur les propriétés du PLA, afin de développer un emballage biodégradable actif pour la libération des agents antimicrobiens afin de contrôler en permanence le processus de détérioration dans les aliments.

Pour parvenir à l'objectif escompté, nous avons subdivisé trois (03) chapitres :

- 1) Le premier chapitre a pour but d'initier les lecteurs sur les attributs de l'emballage en général, les polymères biodégradables (PLA en particulier) ainsi que les huiles essentiels et les extraits du thym grâce à une présentation générale ;
- 2) Le deuxième chapitre, est consacré à étudier et expliquer les méthodes et les différentes techniques d'analyses pour caractériser le nouveau produits (film PLA/EET), et le matériel utilisé ;
- 3) Enfin, le troisième chapitre dont la discussion des résultats obtenus ;

Plusieurs techniques de caractérisation ont été utilisées afin de recueillir le maximum d'information sur les films composites PLA/EET qui ont été élaborés par différentes méthodes : l'activité antibactérienne, absorption d'eau ; les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Nous avons démontré que les huiles essentielles sont riches en composés bioactifs, et les films (PLA/EET) n'ont révélé aucune activité antibactérienne et antifongique malgré le fait que les huiles essentielles et les extraits éthanoïques de thym présentent une forte activité ;
- Les résultats en infrarouge ont montré que le pic situé à 1735 cm^{-1} , se trouve décalé vers les hautes fréquences à 1750 cm^{-1} ceci peut se traduire par l'établissement d'une liaison hydrogène susceptible d'être formée entre le carbonyle et les groupements esters du thym (9%EET) ;
- Les résultats montrent l'évidence de l'activité antioxydante des films PLA/EET testés. En effet, la capacité anti-radicalaire la plus élevée est trouvée pour l'extrait du film (PLA/EET 9%) qui reste significativement inférieure à celle de l'extrait éthanolique de thym brute.

Références bibliographiques

- [1] M. Bertolini, *p-adic heights and p-adic L-functions*, Atti I Incontro Italiano di Teoria dei Numeri, Rend. Sem. Mat. -Univ. Pol. Torino, Vol. 53, N. 3,193-206, (1995).
- [2] T.Duriez, BR Noack, M Segond, M Abel. Journal of Fluid Mechanics 770, 442-457, 2015.
- [3]. <http://www.galalternative.com/blog/leballage-alimentaire-historique-et-tendances-et-innovations/> (consulté le 20/03/2015)
- [4] Jean-Jacques Urvoy Sophie Sanchez Packaging Toutes les étapes du concept au consommateur Préface de Gérard Caron, 2007 ISBN 10 : ISBN 13.
- [5] CETIM, *Matériaux au contact des aliments : Réglementation*, CETIM 2A32, 3e édition, France, 131, 2005
- [6].<http://www.logistiqueconseil.org/Articles/Entrepot-magasin/E-ballage-niveaux-unites.htm> (consulté le : 15/04/2015).
- [7]. J.-L. MULTON, BUREAU et al, L'emballage des denrées alimentaires de grande consommation / coordonnateurs Paris ; Londres ; New-York : Tec & doc-Lavoisier 2-7430-0208-5 ; 1998
- [8] T. Nielsen, J. Jagerstad, Flavour scalping by food packaging, Food Science and Technology,5, 353-356 ,1994.
- [9] R. Auras, B. Harte, S. Selke, sorption of ethyl acetate and d-limonene in poly (lactide) polymers, Journal of science of food and agriculture, 86, 648-656,2010.
- [10] European Bioplastics, Institute for Bioplastics and Biocomposites, en.europeanbioplastics. Org, 2012.
- [11] MARC AUDENAERT, « *Les bioplastiques de performance* », ArkemaRnew,- Mont-St-Aignan, 12/10/2011.
- [12] FOUZIA JBILOU, PASCAL DEGRAEVE, ISSAM SEBTI, « *Synthèse sur les différentes méthodes d'évaluation de la biodégradabilité des polymères à base de ressources renouvelables* », Université Claude Bernard Lyon 1
- [13]. Avérous L., Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: a review. Journal of Macromolecular Science - Part C, Polymer Reviews; vol. C4 (N°3): 231-74, 2004.
- [14] Biopolymère et bioplastique. Fiche Technique Agro-Industrie.
- [15] : L.BOUZIDI ; S.CHANOUNE, « *Elaboration et Caractérisation d'un Composite Totalemt Biodégradable* », Université A. MIRA – BEJAIA, 2017.
- [16]. Yuanyuan Chen, Luke M Geever, John A. Killion, John G. Lyons, Clement L. Higginbotham, Decan M. Devine. "Holloysite Nanotube Reinforced Polylactic Acid Composite", institute of technology, Dublin Road, Aatholone, co. Westmeath, Ireland,DOI 10.2003/pc. 2015.

- [17] S. Lee, characterization and processing of biodegradable polymer blends of poly (butylene succinate adipate), Korea-Australia Rheology journal, 7, 71-772,2005.
- [18] R.J. Crawford, *Rotational Molding of Plastics second edition*. 1996: Research Studies Press LTD, J. Wiley&Sons Inc.1996.
- [19].Gupta B, Revagade N, Hilborn J. Poly (lactic acid) fiber: an overview. Prog Polym Sci; 32:455–82, 2007.
- [20] B.Linnemann.S, Harwoko.T, Gries, polylactidefibers (PLA), Chemicalfibers international, 53, 426-433.
- [21]. Mohammad-Bassem Bilal, Etude des correlations structure-propriétés tinctoriales des fibres d'acide polylactique, these de doctorat, Université de haut Alsace, 2010.
- [22] A.Sodergard, M.Stolt, proprieties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, progress in polymer science, 27, 1123-1163, 2002.
- [23] H.Tsuji, Ikada. Y, characterization from the melt of poly (lactide) with different optical purities and their blends, macromolecular chemistry and physics, 197, 3483-3499, 1996.
- [24] H.Askanian, étude de la durabilité de matériaux respectueux de l'environnement bio composites, Thèse docteur, université BLAISE PASCAL, pagination multiple, 2011.
- [25]. Djelalli Souad, Elaboration caractérisation et biodégradabilités des mélanges PEBD/PLA et PEBD/EGMA/PLA, thèse de doctorat, Université de setif 1, 2014.
- [26]. Tsuji, H. . Poly(lactide) stereocomplexes: formation, structure, properties, degradation, and applications, Macromolecular bioscience, 5(7),569-597,2005.
- [27].Biela, T., Duda, A., Penczek, S. . Enhanced melt stability of star-shaped stereocomplexes as compared with liner stereocomplexes. Macromoleculares,39(11),3710-3713,2006.
- [28] E.Vink, R. Ra'bago, D. Glassner, B. Springs, R.P. O'Conner, J. Kolstad, R. Gruber, the sustainability if nature works TM polylactide fibers: an update of future, Macromolecular bioscience; Initiated by yhe 1st international conference on bio-based polymer, 2003.
- [29] B.Gumpta, N. Revaagde, Atthoff, J. Hilborn, preparation of poly (lactic acid), Influence of draw ratio on fiber properties, Journal of applied polymer science. 100, 1239-1246, 2005.
- [30] F. Mano, Y. Wang, Role of thermal history on the thermal history on the thermal behavior of poly (L-lactic acid) studies by dsc and optical microscopy, Journal of thermal analysis and calorimetry, 80, 171-175, 2005
-
- [31] R. Auras, B. Harte, S. Selk, An overview of polylactides as packaging materials. Macromolecular science. 4, 835-865, 2004.
- [32] R. Datta, M. Henry, lactic acid: recent advences in products, processes and technology, Journal of chemical technology and biotechnology, 81, 1129-1129, 2006

- [33] Morales R., 1997. Synopsis of the genus *Thymus* L. in the Mediterranean area. *Lagascalia*, 19, 249-262
- [34] A. Bazylo, H. Strzelecka, A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts. *Fitothérapie*, 78, 391-395, 2007
- [35] J.A. Martins, M.C. Cramez, M.J. Oliveira and R.J. Crawford, *Journal of Macromolecular Science Part B-Physics*, 45, 945, 2003.
- [36] A. Jiménez-Arellanes A, R. Martínez R, R. García, R. León-Díaz, J. Aluna-Herrera, G. Molina-Salinas, S. Said-Fernández, *Thymus vulgaris* a potential source of antituberculosis compounds, *Pharmacologyonline*, 3, 569-574, 2006.
- [37] H. Takeuchi, Z. Lu, T. Fujita, New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L.), *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68, 113-134, 2004.
- [38] S. Selmi, S. Sadok, The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus) on flesh quality of tuna (*Thunnus Linnaeus*) during chilled storage, *Pan-American Journal of aquatic sciences*, 3, 36-45, 2008
- [39] M. Cowan, Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12, 564-570, 1999.
- [40] H. Takeuchi, Z. Lu, T. Fujita, New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68, 1113-1134, 2004
-
- [41] A. Ultee, M.H.J. Bennik, R. Moezelaar, The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*, *Applied and environmental microbiology*. 68, 1561-1568, 2002.
- [42] Afnor, association française de normalisation française : huile essentielle, Ed, Afnor, Paris. 2000.
- [43] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, M. Idaomar, Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*. 46, 446-475, 2008
- [44] T. S. Reighard, and S. V. Olesik, Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26, 1-39. 2006.
- [45] Blanc MC, Muselli A, Bradesi P, Casanova J (2004) Chemical composition and variability of the essential oil of *Inula graveolens* from Corsica. *FlavourFragr. J.* 19: 314-319, 2004.
- [46] R. Ksouri, R. Megdiche, W. Debez, A. Falleh, H. Grignon, C. Abdely, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant, PhysiolBioch*, 45, 244-249, 2007
- [47] Boras A, Bozinovic D, Tenover FC, Popovic T First report of *Neisseria meningitidis* intermediately resistant to penicillin in Croatia. *J. Clin. Microbiol.* 39: 823, 2001

- [48] R. N. Carvalho Jr, L. S. Moura, P. T.V. Rosa, M. A. A. Meireles, Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity, *J. of Supercritical Fluids* 35 , 197–204.2005.
- [49] J. Bruneton, J, Terpènes et stéroïdes. In *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales*. 3ème éd. Tec & Doc, Paris, pp. 461 -769, 2008.
- [50] Calsamiglia S, Busquet M, Cardozo PW, Castillejos L, Ferret A et Fandiño I. (2007). The Use of Essential Oils in Ruminants as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. November 13-14, Grantville (PA). p. 87-100.
- [51] E.Hurtado-Fernandez ,M.Gomez-Romero , A. Carrasco-Pancorbo, A. Fernandez Gutierrez, Application and potential of capillary, electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53, 1130–1160, 2010.
- [52] H.Li ,Z. Deng, T. Wu, R. Liu R, S. Loewen, Tsao R. Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, *Food Chemistry*, 130, 928–936, 2011.
- [53] R.Ksouri, R. Megdiche, W. Debez, A. Falleh, H. Grignon, C. Abdelly, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant, Physiol Bioch*, 45, 244-249, 2007
- [54] H. Tsuji and Y. Ikada: Blends of aliphatic polyesters. II. Hydrolysis of solution-cast blends from poly(L-lactide) and poly(E-caprolactone) in phosphate-buffered solution, *J. Appl. Polym. Sci.*, 67 (1998) 405 – 415.
- [55] R.E.Drumright, P.R. Gruber and D.E. Henton: Polylactic Acid Technology, *Adv. Mater.*, 12 (2000) 1841-1846.
- [56] S. Solarski, M. Ferreira and E. Devaux: Characterization of the thermal properties of PLA fibers by modulated differential scanning calorimetry, *Polymer*, 46 (2005) 11187-11192.
- [57] A. Shakeel ,L'Industrie du Parfum dans la Civilisation Islamique, *Afaq Magazine*, 25/26, 153-167, (Article en Arabe) 1999
- [58] A. HARRAR, Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus L* , Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Frhat Abbes- sétif, 8-31, 2012
- [59] A. HARRAR, Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus L* , Diplôme de Magister Biochimie et physiologie expérimentale, Université Frhat Abbes- sétif, 8-31, 2012,
- [60] Fiche d'information sur la salmonella conseil des viandes du canada 305-955 croissant Green Valley, ottawa ONK2C 3V4, [www .cmc-cvc.com](http://www.cmc-cvc.com),
- [61] O. Yuyue Qina, L. Wenhui, D. Liub, Y. Minglong , L. Lin, Development of active packaging film made from poly (lactic acid) incorporated essential, journal home page,
- [62] S.Jahani, G. Kavooosi, A. Shakiba, Chemical and Biological Properties of *Trachyspermum ammi* Encapsulated in Gelatin Nanofilms. *Int J Infect* , 1.e 14820, 2014,

- [63] J-W Rhim, J, S.I. Hong, Ha, C.S, Tensile, water vapor barrier and antimicrobial properties of PLA/nanoclay composite films. *Food Science and Technology* 42, 612– 617, 2009
- [64] M.P. Arrieta, J. López, S. Ferrándiz, M.A. Peltzer, *Polym, Test*, 32, 760–768, 2013.
- [65] P.R. Salgado, M.E. López-Caballero, M.C. Gómez-Guillén, A.N. Mauri, M.P. Montero, *Food Hydrocoll.* 33, 74–84, 2013
- [66] Ayala-Zavala, J. F., del Toro-Sánchez, L., Alvarez-Parrilla, E., Soto-Valdez, H., Martín-Belloso, O., Ruiz-Cruz, S., & González-Aguilar, G. A. (2008). Natural antimicrobial agents incorporated in active packaging to preserve the quality of fresh fruits and vegetables. *Stewart Postharvest Rev*, 4(3), 1-9.
- [67] Bravin, B., Peressini, D., & Sensidoni, A. (2004). Influence of emulsifier type and content on functional properties of polysaccharide lipid-based edible films. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(21), 6448-6455.
- [68] Wang, T., Li, B., Si, H., Lin, L., & Chen, Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/b-cyclodextrin inclusion complex *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 71, 207-213, 2013
- [69] Wong, D. W., Gastineau, F. A., Gregorski, K. S., Tillin, S. J., & Pavlath, A. E. (1992). Chitosan-lipid films: microstructure and surface energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 540-544