

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A. MIRA –BEJAIA**



**جامعة بجاية**  
**Tasdawit n Bgayet**  
**Université de Béjaïa**

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 des Procédés des Matériaux**

**Optimisation et élaboration d'un biofilm actif PLA (Polylactic Acid) / extrait d'origan par les plans d'expériences en vue d'une utilisation dans l'emballage alimentaire**

Présenté par :

**NAIT IDIR YANIS & KHALDI KATIA**

Devant le jury composé de :

Mme. Ihamouchen Chadia	MCA	Université de Bejaia	Président
Mr. Azzoug Mouffok	MCA	Université de Bejaia	Examineur
Mme. Chibani Nacera	MCA	Université de Bejaia	Promotrice
Mme. Meniche Amel	Doctorante	Université de Bejaia	Co-promotrice

**Année universitaire : 2022 / 2023**

# REMERCIEMENTS

## Remerciements

En guise de reconnaissance, nous tenant fort à remercier notre promotrice **Mme Chibani** qui nous a attribué beaucoup de son temps. Nous la remercions pour l'aide qu'elle nous a apporté pour réaliser ce travail.

Nous tenant très fort à remercier la doctorante **Mme Menniche Amel** pour son soutien sur le terrain, et pour la qualité de son Co-encadrement exceptionnel, pour sa patience et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire

Nos vifs remerciements vont à **Mme Ihamouchen** d'avoir accepté la présidence du jury, nous tenons compte à exprimer toutes nos reconnaissances au **Mr Azzoug** qui nous a fait l'honneur d'examiner notre travail, leurs regards critiques ne sauront que rehausser le niveau de notre savoir-faire.

Nos vifs remerciements à nos familles et nos amis et amies pour leur soutien inconditionnel.

Merci en fin pour tous ceux et celles qui nous ont aidées d'une façon ou d'une autre lors de notre travail, nous les remercions du fond du cœur.

Merci ...

DEDICACES

## Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser  
Ce précieux travail.

A mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui  
Qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu le garde.  
Mon Père

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur.  
Ma mère

A mes frères, et sœurs  
Vous êtes si cher à mon cœur que je n'envisage pas ma vie sans vous. Je vous aime de toutes  
mes forces !!!

A mes très chères amies et amis : soulaf, kenza, tihou, chahou, hanane, kahou, wissame ,  
fadou,  
Et mon trésor boulou .

A tous ce qui m'ont apporté d'aide de près ou de loin.

**KATIA**

# Dédicace

Merci à dieu de m'avoir donnée la patience d'aller jusqu'au bout de mon rêve.

## Je dédie ce travail

Mes très cher parent, symbole du courage et de volonté, qui ont consacré et sacrifié leur vie pour notre bien-être.

Que dieu les protège.

A mes chers grands parents.

A mes cher frère et sœurs « Gaya, Zahra, Imane ».

A toutes mes familles grandes et petites.

A toute mes amies sans leur encouragement ce travail n'aurais jamais vu le jour.

A tous ce qui j'aime.

Yanis

# LISTE DES FIGURES ET DES TABLEAUX

## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Classification d’emballages alimentaires .....	04
<b>Figure 2</b> : Transfert de la matière entre aliment et emballage.....	08
<b>Figure 3</b> : Capacité globale de production des bioplastiques.....	09
<b>Figure 4</b> : Matrice des bioplastiques.....	10
<b>Figure 5</b> : Classification des bioplastiques.....	11
<b>Figure 6</b> : Structure chimique du poly (acide lactique) .....	12
<b>Figure 7</b> : Origanum vulgare L (Origan). (Teuscher et al., 2005) .....	15
<b>Figure 8</b> : Domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas (-1) et le niveau haut (+1) .....	21
<b>Figure 9</b> : Points expérimentaux disposés dans le domaine d’étude défini par l’expérimentateur.....	22
<b>Figure 10</b> : PLA sous forme de granulés.....	24
<b>Figure 11</b> : photographie des milieux de cultures.....	30
<b>Figure 12</b> : Mise en évidence de l’activité antimicrobienne des Film préparés.....	31
<b>Figure 13</b> : Histogramme de DPPH de l’extrait des feuilles d’origan.....	33
<b>Figure 14</b> : valeur des diamètres des zones d’inhibition de la croissance bactérienne par les extraits d’origan.....	34
<b>Figure 15</b> : Image de l’inhibition de la croissance bactérienne par l’EO par les bactéries.....	35
<b>Figure16</b> : Images du test d’inhibition de la croissance antifongique par l’extrait d’origan.....	36
<b>Figure 17</b> : Activité antioxydante des films PLA/EO.....	37
<b>Figure 18</b> : variation du taux d’absorption d’eau en fonction du temps du PLA vierge, PLA/EO pour différentes concentrations.....	38
<b>Figure 19</b> : Spectre IRTF du PLA vierge.....	39

<b>Figure 20</b> : Spectre IR-TF du film PLA vierge et film (PLA/EO) .....	40
<b>Figure 21</b> : facteurs statistiques obtenus.....	41
<b>Figure 22</b> : Histogramme représentant l'influence des facteurs sur l'activité antioxydante.....	44

## **Liste des tableaux**

<b>Tableau .1</b> : propriétés mécaniques et thermiques du PLA .....	12
<b>Tableau .2</b> : principales propriétés physiques du PLA .....	13
<b>Tableau .3</b> Propriétés mécaniques de quelques polymères .....	14
<b>Tableau 4</b> : Constituants principaux de l'huile essentielle de l'origan .....	16
<b>Tableau 5</b> : Principales propriétés physiques du PLA.....	24
<b>Tableaux 6</b> : matrice d'essai proposée par le MODDE6.....	28
<b>Tableau 7</b> : Activité antimicrobienne par l'EO.....	34
<b>Tableaux 8</b> : matrice d'étude complétée.....	41
<b>Tableau 9</b> : valeurs numériques des caractéristiques numériques.....	42
<b>Tableau 10</b> : modèle proposé pour chaque réponse.....	43
<b>Tableau 11</b> : valeurs d'activité antioxydante et obtention de l'optimum.....	45

## Liste des abréviations

PE : Polyéthylène.

PP : Polypropylène.

PET : Polyéthylène téréphtalate.

PS : Polystyrène.

PLA : Polylactic acid.

EO : Extrait d'origan.

IR-TF : Analyse spectrale infrarouge a transformation de fourier.

HE : Huile essentielle.

UV : Ultraviolet.

DPPH : Diphénylpicrylhydrazyle.

MH : Muller Hinton.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

# SOMMAIRE

## Sommaire

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>Chapitre I. Etudes bibliographiques</b> .....	3
<b>I. Emballage alimentaire</b> .....	3
I.1. Introduction .....	3
I.2. Catégories d'emballage alimentaire .....	3
I.3. Fonctions de l'emballage .....	4
I.4. Norme liée à la maîtrise de l'hygiène des emballages .....	5
I.5. Matériaux d'emballages alimentaires .....	5
I.6. Essai de contrôle de qualité de l'emballage plastique .....	6
I.7. Interaction physico- chimiques Emballage / Aliment .....	6
I.8. Bioplastiques .....	9
I.9. L'acide polylactique .....	11
<b>II- L'origan</b> .....	15
II.1. Description .....	15
II.2. Composition chimique .....	15
II.3. Propriétés de l'origan .....	17
II.4. Utilisations .....	18
II.5. Commercialisation de l'origan .....	18
II.6. Toxicité .....	19
<b>III. Extraction de l'origan</b> .....	19
<b>IV. Plans d'expérience</b> .....	20
IV.1. Définition d'un plan d'expérience et domaine d'application .....	20
IV. 2. L'avantage du plan d'expériences : .....	20
IV.3. Terminologie : .....	21
IV.4. Méthodologie de mise en place d'un plan d'expériences : .....	22
IV.5. Différents types de plans d'expériences utilisés : .....	23
<b>Chapitre II. Matériel et méthodes</b> .....	24
II.1. Présentation des produits utilisés .....	24
II.1.1. Acide poly lactique (PLA) .....	24
II.1.2. Extrait d'origan .....	25
II.1.3. Chloroforme .....	25

II.1.4. Alcool éthanoïque .....	25
II.1.5. Souches bactériennes et fongiques étudiées .....	25
II.2. Méthodes expérimentales .....	27
II.2.1. Choix d'un plan d'expériences .....	27
II.2.2. Préparation des films .....	28
II.2.3. Techniques de caractérisation.....	28
<b>Chapitre III. Résultats et Discussions .....</b>	<b>33</b>
III .1. Caractéristique d'extrait .....	33
III.1.1. Test activité antioxydante :.....	33
III.1.2. Évaluation de l'activité antibactérienne : .....	33
III.1.3. Activité antifongique de l'extrait d'origan .....	35
III.2. Caractéristique des film.....	36
III.2.1. Activité antioxydante.....	36
III.2.2. Test d'adsorption d'eau : .....	37
III.2.3. Caractérisation spectrale par IR-TF.....	38
III.3. Optimisation des propriétés des films : .....	40
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>45</b>

# INTRODUCTION GENERALE

## *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<sup>ème</sup> 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.

Dans ce contexte, les films d'emballage à base d'acide polylactique (PLA) ont gagné en popularité en tant qu'alternative écologique aux plastiques traditionnels dérivés du pétrole. Le PLA est un biopolymère biodégradable et compostable, fabriqué à partir de ressources renouvelables telles que l'amidon de maïs ou la canne à sucre. Il présente de nombreuses caractéristiques intéressantes, notamment une bonne barrière aux gaz et aux liquides, une transparence élevée et une résistance mécanique adéquate.

Cependant, l'un des défis majeurs des films d'emballage en PLA est leur sensibilité aux micro-organismes responsables de la détérioration des aliments. 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 l'origan, le romarin, le thym, les feuilles d'olivier...

L'origan est une plante aromatique largement utilisée en cuisine, mais elle possède également des propriétés antimicrobiennes puissantes. L'extrait d'origan, riche en composés bioactifs tels

que le carvacrol et le thymol, présente un potentiel intéressant pour améliorer la sécurité et la durée de conservation des aliments emballés.

Dans ce travail, nous explorerons donc l'optimisation et l'élaboration des films d'emballage alimentaire à base de PLA et d'extrait d'origan par les plans d'expériences. Nous examinerons les propriétés du PLA en tant que matériau d'emballage, ainsi que les méthodes de fabrication et les caractéristiques des films obtenus. De plus, nous discuterons des effets de l'extrait d'origan sur la qualité et la sécurité des aliments.

Pour faciliter la lecture de ce document nous avons choisi d'articuler le travail en trois chapitre :

- ✚ Le premier chapitre présente une étude bibliographique sur l'emballage alimentaire bioactif, le PLA, l'origan et les plans d'expériences utilisée.
- ✚ Le deuxième chapitre décrit les différents techniques d'élaborer des films ainsi que le matériel et les méthodes utilisée pour les analyse physico-chimique et biologique.
- ✚ Le troisième chapitre illustre les résultats obtenus ainsi que leur interprétation.
- ✚ Enfin une conclusion générale clôture le travail.

# **CHAPITRE I**

## **Etudes bibliographiques**

## *Chapitre I. Etudes bibliographiques*

### **I. Emballage alimentaire**

#### **I.1. Introduction**

Avec les développements scientifiques et les avancées technologiques récentes en matière de conservation des aliments, l'industrie des emballages alimentaires n'a cessé de se développer pour d'une part, suivre ces développements, et d'autre part, répondre aux exigences croissantes du consommateur.

#### **I.2. Catégories d'emballage alimentaire**

##### **-L'emballage de vente ou **emballage primaire****

Il est en contact direct avec le produit. Il a pour but de contenir et de préserver celui-ci. Cet emballage doit être compatible avec le produit et le protéger de tout contaminant extérieur pouvant causer une éventuelle dégradation non souhaitée.

##### **-L'emballage groupé ou **emballage secondaire****

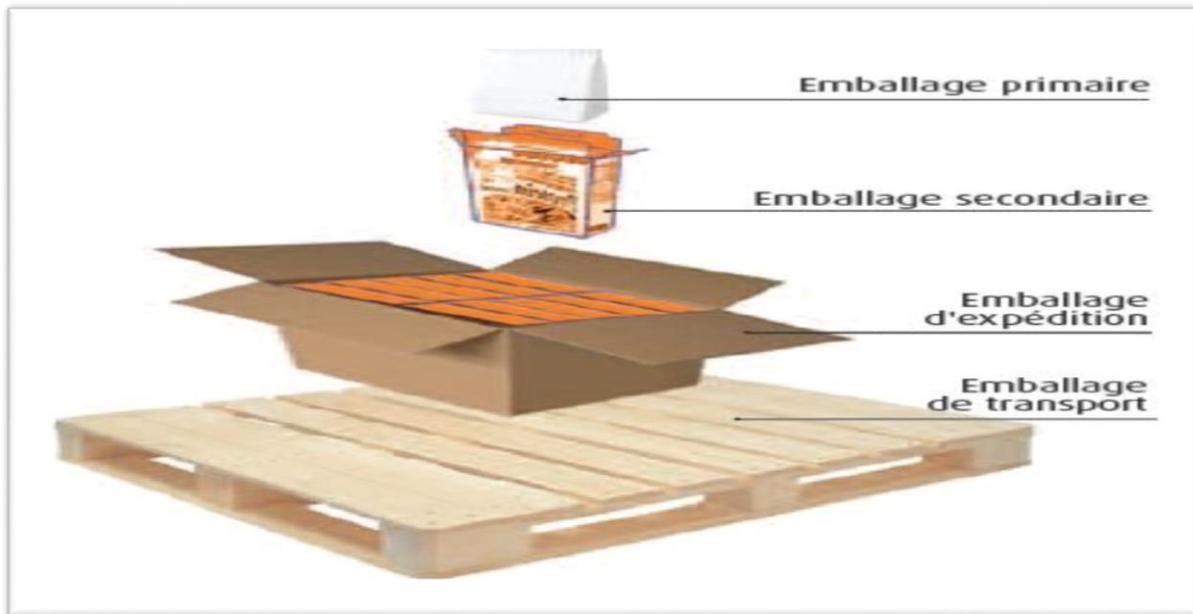
Il est souvent utilisé pour la protection de l'unité ou pour faciliter l'utilisation du produit. Plusieurs emballages primaires peuvent être contenus dans un emballage secondaire qui correspond donc à l'unité de vente. Il a également pour fonction de communiquer au consommateur l'information sur le produit et par conséquent, de vendre le produit.

##### **-L'emballage **d'expédition****

Il regroupe plusieurs emballages secondaires pour la manutention et la protection des contenants durant le transport.

##### **-L'emballage de transport ou **emballage tertiaire****

Il est souvent fait par des palettes réutilisables en bois ou en plastique qui permettent le transport, le stockage et la manutention de certaines quantités d'unités d'expédition [2] (Multon et Bureau,1998). Comme le montre la figure :1



**Figure 1** : Classification d'emballages alimentaires (Multon et Bureau, 1998).

### I.3. Fonctions de l'emballage

Tous les emballages répondent à des fonctions précises qui n'ont guère varié dans leur principe, mais qui connaissent une importance croissante dans notre vie quotidienne :

- Une fonction de contenant : l'emballage est d'abord un récipient, associé à des servitudes réglementaires métrologiques : obligation de l'indication exacte de la masse ou de volume contenu ; cette fonction évolue à l'heure actuelle vers le fractionnement en unité de consommation (individuelle, journalière, ...) ;
- Une fonction de présentation, visant à remplir l'attention et à séduire l'acheteur dans le linéaire du super ou de l'hypermarché (c'est la fonction "marketing") ;
- Une fonction d'information par l'étiquetage, de plus en plus importante, associée à une servitude réglementaire d'exactitude des renseignements donnés ;
- Une fonction de service, dans la mesure où l'emballage apporte un service spécifique : flacon pulvérisateur, flacon saupoudreur, boîte auto-chauffante, etc. La notion de service s'étend également à la commodité d'emploi, notamment à la facilité d'ouverture sans outils particulier. On pourrait inclure dans cette fonction de service une fonction de réutilisation, de nombreux emballages connaissant un second usage, parfois imprévu

; réutilisation parfois utilisée comme argument de vente (on pense au verre à moutarde, par exemple).

- Une fonction de sécurité alimentaire : protection vis-à-vis d'une contamination ou d'une population délictueuse (fraude, vol par substitutions, malveillance, etc.).
- Une fonction de conservation et de protection de la qualité du produit alimentaire contre les agents extérieurs d'altération physico-chimiques et biochimiques des aliments associée à une obligation d'innocuité et d'inertie chimique de l'emballage lui-même vis-à-vis de son contenu [3,4].

#### I.4. 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 [5].

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.5. Matériaux d'emballages alimentaires

L'industrie de l'emballage se compose de différents secteurs en fonction des matières utilisées :

- Le papier et le carton : incluant notamment le carton ondulé et le carton plat (par exemple boites de céréales) qui peuvent être recyclé, blanchie ou non blanchie.
- Le verre : transparent et coloré
- Le métal : canettes métalliques, boîte de conserve.
- Les contenants multicouches et composites : comme le carton de jus, de lait, de crème glacée en carton paraffine.

- Le bois : utilisé pour certains emballages de fromage
- Le plastique (PE, PP, PET...selon la composition des polymères) : contenant d'eau de source, de boissons gazeuses, contenants alimentaires [6]

L'emballage plastique est résistant, il évite ainsi des pertes de produit, des risques de dommages pour l'aliment qu'il protège. Il s'est adapté aux cadences de conditionnement de l'industrie agroalimentaire et aux modes de distribution des produits. Les différents matériaux les plus utilisés sont : PET, PS, PP [7].

## I.6. Essai de contrôle de qualité de l'emballage plastique

### *I.6.1. Contrôle de la qualité microbienne de l'emballage alimentaire*

L'évaluation de la qualité microbiologique des matériaux mis au contact des aliments demeure un problème complexe car il convient d'une part, de connaître sa signification dans l'ensemble emballage-produit et d'autre part de déterminer son origine ainsi que les moyens éventuels de décontamination à mettre en œuvre [3].

Certains industriels du secteur agroalimentaire établissent des cahiers des charges fixant des limites de contamination de leurs productions via l'emballage, et imposent des critères microbiologiques à respecter par leurs fournisseurs.

Afin d'évaluer la contamination de leurs produits, les industriels de l'emballage ont à leur disposition les différentes techniques classiques de contrôle de l'hygiène.

La signification de la charge microbienne portée par l'emballage doit être prise en considération lorsque le produit est lui-même très pauvre en germes, ou lorsque des contaminants s'avèrent capables de coloniser certaines parties de l'aliment (exemple de moisissures se développant en surface sous les opercules de fromages frais ou yaourts).

## I.7. Interaction physico- chimiques Emballage / Aliment

Les emballages alimentaires sont rarement inertes. L'interaction entre le contenant et le contenu peut aboutir à des transferts de matière. Ces phénomènes sont susceptibles d'altérer la qualité de l'aliment, de détériorer les propriétés mécaniques de l'emballage et de causer des problèmes toxicologiques [8].

Trois types d'interactions sont possibles entre l'emballage et l'aliment : la perméation la sorption et la migration

*1.7.1. Perméation*

La perméation se caractérise par le transfert de gaz à travers l’emballage, notamment l’O<sub>2</sub> vers l’aliment, le CO<sub>2</sub> vers l’extérieur de l’emballage et le passage des composés volatils de l’extérieur vers l’aliment.

Ce phénomène doit être réduit afin d’éviter la prolifération des bactéries dans l’aliment, les pertes de carbonatation dans les boissons gazeuses, la perte des arômes ou de flaveur dans le produit fini. En effet, les propriétés organoleptiques des aliments résultent d’un équilibre entre les composés volatils qui sont susceptibles de se transférer du produit vers l’extérieur (perte d’arômes) et les substances susceptibles de passer de l’extérieur vers l’aliment (contamination de produit) [9].

*1.7.2. Sorption*

La sorption est l’assimilation des constituants de l’aliment par la paroi l’emballage plastique suivie de leur pénétration dans le polymère. Le processus de sorption peut induire une perte des arômes de l’aliment et entraîner une modification structurale du polymère.

En effet, le vieillissement irréversible du polymère peut être induit par des modifications de la structure chimique des chaînes macromoléculaires et de son état physique.

Les phénomènes de sorption sont plus fréquents avec des composés lipophiles, cela est dû à la grande affinité pour la plupart des emballages qui sont aussi peu ou pas polaires (PE, PET, PS, PP).

De plus, si le matériau plastique est recyclé ou réutilisé comme emballage destiné au contact alimentaire, les composés étrangers absorbés dans le polymère sont des éventuels migrants [9].

*1.7.3. Migration*

La migration des constituants de l’emballage (monomères résiduels, additifs, néoformés, etc.) vers le produit conditionné est un autre type d’échange de matière qui constitue un problème de sécurité alimentaire.

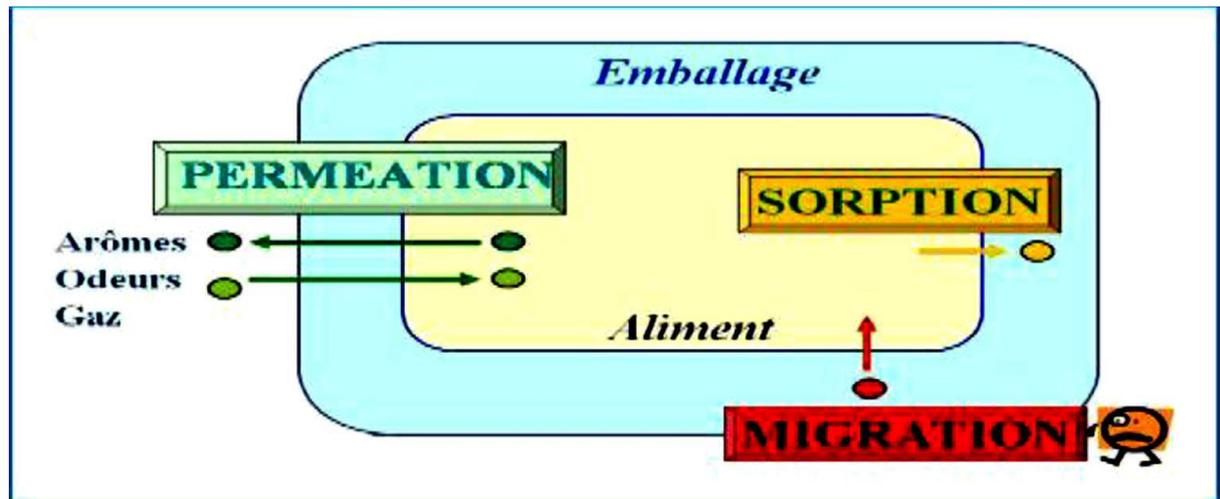
La migration peut se définir comme le transfert de matière d’une source externe vers l’aliment. De façon générale, ce transfert de matière peut se produire pendant la production, le transport, le stockage, la cuisson ou même pendant la consommation de l’aliment [10].

Le processus de migration de l’emballage polymérique vers le produit fini peut être décrit en trois étapes étroitement liées entre elles. Ces étapes sont les suivantes :

- La diffusion du migrant au polymère gouverné par le coefficient de diffusion (*D*).
- La solvatation de l’interface polymère / aliment contrôlée par le coefficient de partage (*K*).

- La dispersion de la molécule diffusante dans l'aliment qui dépend de la solubilité et du coefficient de diffusion [11].

Comme la figure 2 représente les Trois types d'interactions entre l'emballage et l'aliment : la perméation, la sorption et la migration

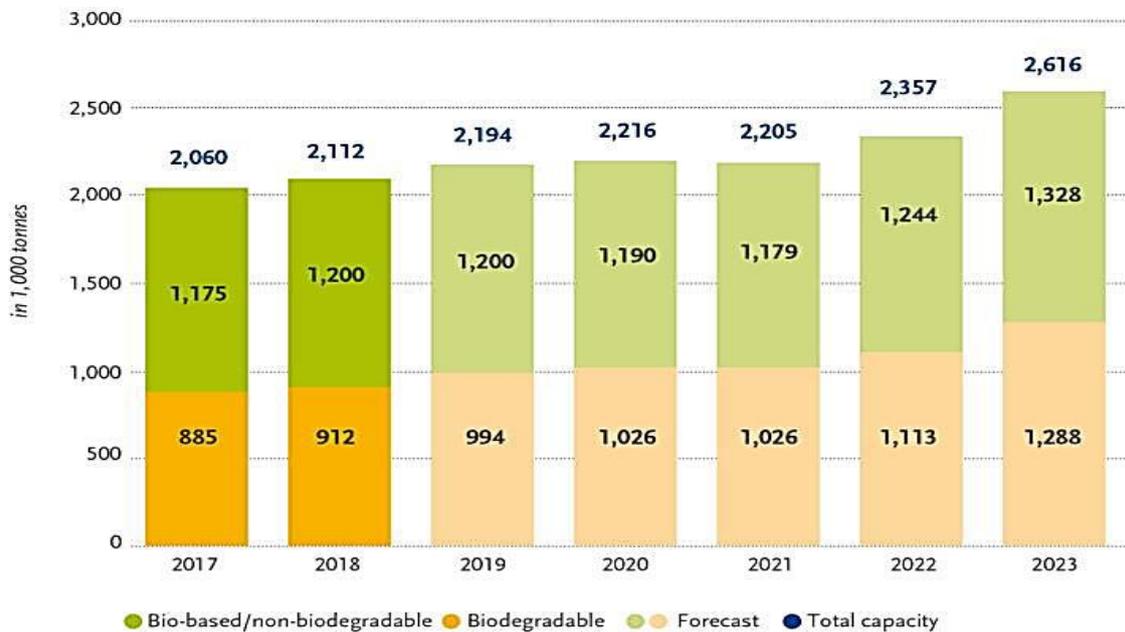


**Figure 2 :** Transfert de la matière entre aliment et emballage.

Depuis la découverte du pétrole, la production des matériaux plastiques augmente chaque année, mais leur caractère polluant a altéré le système écologique. L'impact de ces matériaux sur l'environnement a incité les scientifiques à la recherche de nouvelles alternances pouvant diminuer l'utilisation massive de ressources fossiles. C'est ainsi qu'apparaît de nouveaux matériaux issus de la biomasse. Ces derniers possèdent des propriétés particulièrement intéressantes pour l'industrie plastique... [12,13]. Ce sont les biopolymères ou polymères biosourcés [14].

Le marché des plastiques biosourcés et / ou biodégradables comme le montre la figure (3) est en constante évolution. Il est notamment porté depuis plusieurs années par les importantes évolutions des capacités de production des polymères biosourcés et non biodégradables. Avec 2,1 millions de tonnes de capacité de production en 2018, les bioplastiques représentent ainsi environ 0,75 % du marché mondial des polymères. Presque la moitié de cette quantité concerne la production de polymères biodégradables, quelle que soit leur origine [15].

### Global production capacities of bioplastics



Source: European Bioplastics, nova-Institute (2018)  
 More information: [www.european-bioplastics.org/market](http://www.european-bioplastics.org/market) and [www.bio-based.eu/markets](http://www.bio-based.eu/markets)

**Figure 3 :** Capacité globale de production des bioplastiques [15].

## I.8. Bioplastiques

### I.8.1. Définition des bio polymères (bioplastiques)

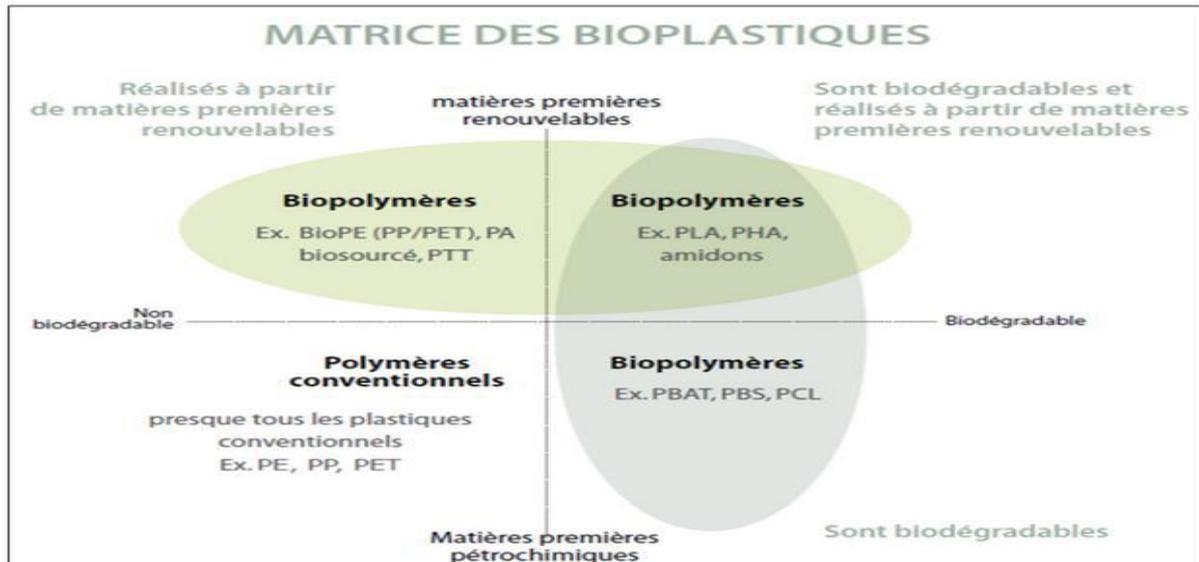
Les bio polymères sont des polymères issus exclusivement d'organismes vivants ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ils sont d'origine biologique et ont un caractère biodégradable [16].

### I.8.2. Classification des bioplastiques

Le développement des bioplastiques est encore à son début, il représente approximativement 5 à 10 % du marché du plastique qui est de 200 millions de tonnes par an. Les matières plastiques ou matériaux biodégradables peuvent avoir deux origines :

L'industrie pétrochimique ou les ressources renouvelables [17].

La figure 4 explique



**Figure 4 :** Matrice des bioplastiques [17].

### *1.8.3. Application des biopolymères dans l'emballage alimentaire*

Les biopolymères présentent des propriétés intéressantes pour les applications dans le domaine de l'emballage. À part leur fonction première de protection des produits, les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques. On peut citer, par exemple, leur perméabilité à la vapeur d'eau intéressante pour emballer les produits frais comme les fruits et les légumes [18].

Des bioplastiques des quatre groupes de la figure 5 sont utilisés comme matériaux afin de produire une gamme très diversifiée d'emballages alimentaires. Des bouteilles, des sacs, des boîtes, des contenants rigides et des plateaux sont quelques-unes des nombreuses applications actuelles. Afin de répertorier des exemples représentatifs du marché actuel, certains des plus gros fournisseurs de bioplastiques sont présentés dans les sections suivantes ainsi que des applications de leurs produits dans le domaine de l'emballage alimentaire. Cette méthodologie est bien adaptée au marché actuel de l'emballage qui est très concentré. Les 5 plus gros producteurs de bioplastiques fournissent plus de 50 % de l'industrie dans ce créneau [19].

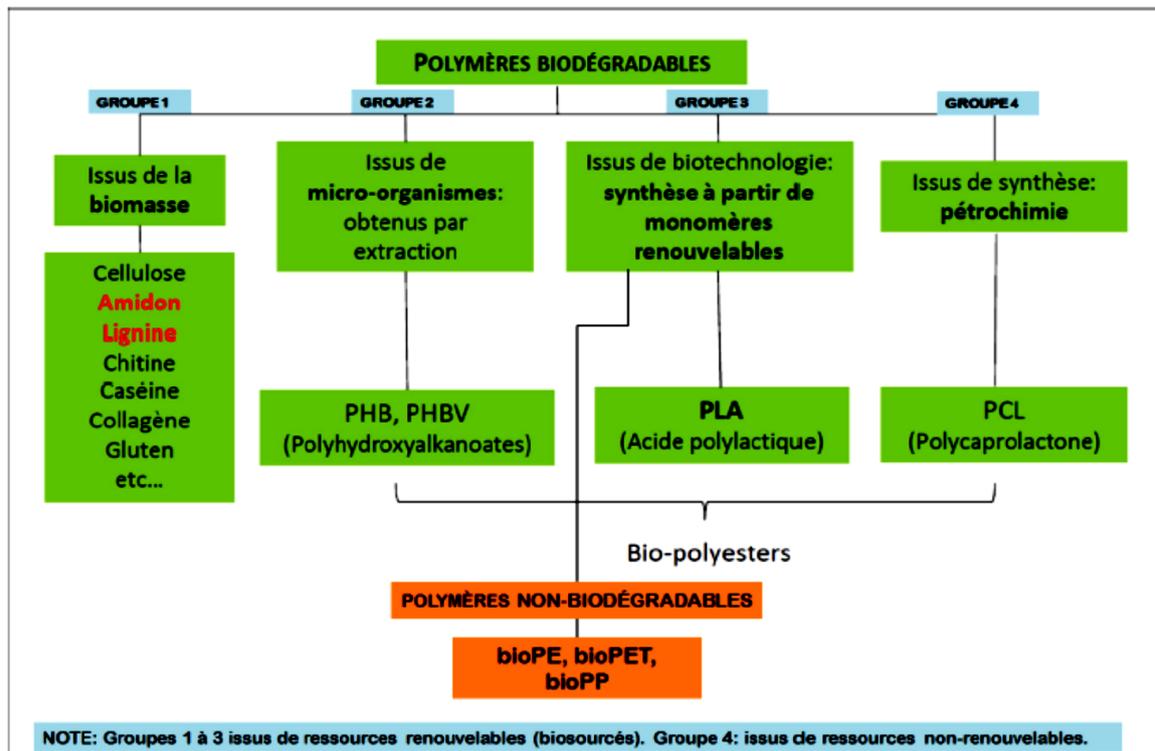


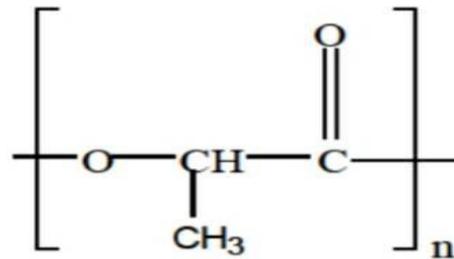
Figure 5 : Classification des bioplastiques [19].

Les bioplastiques obtenus par synthèse à partir de monomères renouvelables peuvent être regroupés en deux sous-groupes. Les bioplastiques biodégradables comme l'acide polylactique (PLA) et les bioplastiques non biodégradables qui comprennent par exemple le polyéthylène biosourcé (BioPE).

### I.9. L'acide polylactique

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 [20]. Le (PLA) est considéré comme alternative aux polymères non biodégradables [21].

L'acide poly-lactique est un polymère de haute masse moléculaire, dans l'unité de base et (-O-CH(CH<sub>3</sub>)-CO) (**figure 6**) 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 puisqu'il a été prélevé dans l'atmosphère par les matières premières agricoles.



**Figure 6 :** Structure chimique du poly (acide lactique).

### 1.9.1. 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 [22]. Les températures de transition vitreuse du PLLA et du PDLA variant de 55 à 60 °C [23] alors que les températures de fusion peuvent varier de 120 °C à 230°C selon la composition en stéréo-isomères [24,25].

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 carbonnes insaturés [26].

**Tableau .1 :** propriétés mécaniques et thermiques du PLA [25].

Propriétés	Mesures
Masse Volumique (g /cm <sup>3</sup> )	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

### 1.9.2. Propriétés physiques

Les propriétés physiques des matériaux polymères sont très importantes car elles reflètent la structure hautement ordonnée du polymère et influencent sur les propriétés mécaniques comme les propriétés élastiques, la résistance à la traction, la contrainte ...

Ces propriétés dépendent des structures ordonnées de ces matériaux polymères telles que l'épaisseur cristalline, la cristallinité, la taille des sphérolites et le degré de l'orientation de la chaîne [27].

Les principales propriétés physiques du PLA sont données dans le tableau 2

**Tableau .2 :** principales propriétés physiques du PLA [28]

<b>Propriétés</b>	<b>Valeur</b>
Masse molaire (g /mol)	100 000 à 300 000
Température de transition vitreuse (°C)	50-70
Température de cristallisation (°C)	110
Point de fusion (°C)	130-215
Cristallinité (%)	10-40
Energie du surface (dynes)	38
Densité	1,25
Pramètre de solubilité ( J <sup>0.5</sup> cm <sup>-1.5</sup> )	19-20,5
Perméabilité à la vapeur d'eau (g / m <sup>2</sup> / jour)	172
Indice de fluidité à chaud (g /10 min)	2-30

### *1.9.3. Propriétés mécaniques*

Les propriétés mécaniques de l'acide poly lactique(PLA) peuvent aller du plastique élastique aux matériaux rigides. Pour de meilleures propriétés mécaniques, le PLA semi-cristallin est souvent préféré au polymère amorphe. La masse molaire du polymère ainsi que le degré de cristallinité ont une influence significative sur les propriétés mécaniques [28].

Dans plusieurs types de PLA, les propriétés mécaniques avoisinent celles de certains polymères tels que le polystyrène (PS) et le polyéthylène téréphtalate (PET) (tableau 3).

Le PLA présente des propriétés mécaniques relativement bonnes avec :

- Un module d'élasticité de l'ordre de 2 à 4 **GPa**.
- Une résistance à la traction allant de 50 à 70 **MPa**.
- Contrainte à la rupture 40-60MPa.
- Résistance à l'élongation.

Cependant son allongement à la rupture faible limite son utilisation [29].

Tableau .3. Propriétés mécaniques de quelques polymères [29].

Polymère maximale	Contrainte à la Rupture [MPa]	Allongement à la rupture [%]	Module d'Young [GPa]	Température d'utilisation [°C]
PLA	40-60	4-7	20-4.0	50-60
PET	69	300	2.8-4.1	204
PS	41-52	3	3.1	78
LDPE	6-17	-	0.1-0.2	65
HDPE	20-37	-	-	121
PA6	62-83	-	1.2-2.8	-
PP	33-38	-	1.1-1.5	121

#### *1.9.4. Biodégradation de l'acide poly lactique*

Le PLA se dégrade facilement dans l'environnement dans une période de six mois voire deux ans au maximum contrairement aux plastiques conventionnels tel que le PE et PS qui prennent une période de 500 voire 1000 ans [30].

La dégradation des polymères se produit principalement par scission des chaînes principales ou des chaînes latérales des macromolécules. Elle est généralement induite par :

- Activation thermique ;
- Activité biologique (enzymes) ;
- Oxydation ;
- Photolyse ou radiolyse ;
- Hydrolyse.

Le PLA dégradé par l'hydrolyse de la liaison ester ne nécessite pas la présence d'enzymes pour catalyser cette hydrolyse. Le taux de dégradation dépend de quelques paramètres tels que : la taille et la forme de l'article, la température d'hydrolyse, l'humidité, la salinité et la présence ou absence d'oxygène [30,31].

## II- L'origan

### II.1. Description

L'origan est connu sous le nom de marjolaine sauvage ou de grande marjolaine. C'est une espèce vivace, ses tiges sont souvent parcourues de rouge, portant à leur extrémité des panicules de fleurs rouge-violet ou rose pâle. Les feuilles permettent de distinguer entre les deux espèces *Origanum vulgare* L et *Origanum onites* L (figure 7 ). L'origan est une plante de la famille des Lamiaceae dont les parties utilisables sont les feuilles. [32]



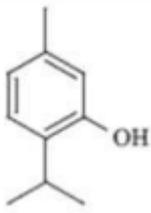
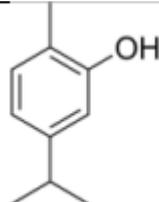
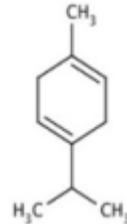
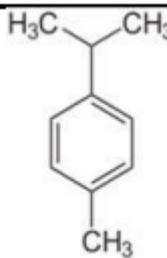
**Figure 7 :** *Origanum vulgare* L (Origan). (Teuscher et al., 2005).

### II.2. Composition chimique

L'origan est une plante aromatique riche en composés bioactifs tels que les phénols, les terpènes et les flavonoïdes. Selon l'article "*Origanum vulgare* : A Review on Chemical Composition, Health Benefits and Pharmacological Properties" publié dans le *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, l'huile essentielle d'origan est composée principalement de carvacrol et de thymol, deux phénols qui comportent des propriétés antiseptiques, antifongiques et antivirales. L'huile essentielle d'origan contient également des terpènes tels que le p-cymène, le  $\gamma$ -terpinène et le linalol, ainsi que des flavonoïdes tels que la lutéoline et l'apigénine (tableaux4). Ces composés ont des effets antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux.

En plus de l'huile essentielle, les feuilles d'origan contiennent également des acides phénoliques tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique, ainsi que des flavonoïdes tels que la quercétine et la kaempférol. Ces composés ont des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et antimicrobiennes. [33]

**Tableau 4** : constituants principaux de l'huile essentielle de l'origan (Carson & al. 2006). [33]

	Densité (g/ml)	PM (g/mol) (Poids Moléculaire)	Solubilité	Structure chimique
<b>Thymol ou acide thymique (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O)</b>	0.9 à 0.95	150.2	Très peu soluble dans l'eau (1/1000), très soluble dans l'alcool	
<b>Carvacrol (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O)</b>	0.9 à 0.95	150,2	/	
<b>γ-terpinène (C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>)</b>	0.85	136	/	
<b>Cymène (C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>)</b>	0.85	134	Insoluble dans l'eau et soluble dans l'alcool et l'éther	

### II.2.1. Huile essentiel

L'huile essentielle d'origan est extraite des feuilles et des fleurs de la plante *Origanum vulgare* par distillation à la vapeur d'eau. L'huile essentielle d'origan contient principalement du carvacrol et du thymol, deux phénols aromatiques qui lui confèrent ses propriétés antiseptiques, antifongiques et antivirales. L'huile essentielle d'origan contient également des terpènes tels que le p-cymène, le γ-terpinène et le linalol, ainsi que des composés phénoliques tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique. Ces composés ont des propriétés anti-inflammatoires. [35]

Cependant, il est important de noter que l'huile essentielle d'origan est très puissante et doit être utilisée avec précaution. Elle peut être irritante pour la peau et les muqueuses et ne doit

jamais être ingérée pure. Elle doit toujours être diluée dans une huile végétale avant utilisation. [35]

### *II.2.2. Antioxydants*

L'origan est une source riche d'antioxydants naturels tels que les phénols et les flavonoïdes. Les composés phénoliques les plus abondants dans l'origan sont l'acide rosmarinique et l'acide caféique. Ces deux composés ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires qui peuvent aider à protéger contre les dommages oxydatifs dans le corps.

En outre, l'origan contient également des flavonoïdes tels que la lutéoline et l'apigénine, qui sont également des antioxydants puissants. L'origan a un potentiel antioxydant élevé en raison de sa forte teneur en phénols et flavonoïdes. [36]

Il est important de noter que les antioxydants présents dans l'origan peuvent aider à protéger contre les dommages oxydatifs, mais ils ne doivent pas être considérés comme un remplacement pour une alimentation saine et équilibrée. Il est recommandé de consommer l'origan en quantités modérées en tant que partie d'un régime alimentaire sain et varié. [37]

### *II.3. Propriétés de l'origan*

L'origan est une plante aromatique qui possède de nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé. Voici quelques-unes des propriétés de l'origan :

- **Propriétés antimicrobiennes** : Les actifs composés de l'origan, tels que le carvacrol et le thymol, ont montré une activité antimicrobienne significative. Ils ont la capacité d'inhiber la croissance de diverses souches bactériennes, y compris des pathogènes responsables d'infections alimentaires comme *Salmonella* et *Escherichia coli*. Des études *in vitro* ont démontré l'efficacité de l'origan contre des bactéries résistantes aux antibiotiques, ce qui en fait un agent potentiel pour lutter contre l'antibio-résistance. [38]
- **Propriétés antioxydantes** : L'origan contient une variété d'antioxydants, tels que les flavonoïdes, les phénols et les terpènes. Ces composés peuvent neutraliser les radicaux libres, causant ainsi les dommages oxydatifs dans l'organisme. Les antioxydants de l'origan peuvent aider à prévenir les maladies cardiovasculaires en protégeant les lipides et les protéines contre l'oxydation, en diminuant le profil lipidique et en favorisant l'inflammation. [39]
- **Propriétés anti-inflammatoires** : Les composés bioactifs de l'origan, tels que l'acide rosmarinique et les flavonoïdes, ont des propriétés anti-inflammatoires. Des

études ont montré que l'origan peut inhiber la production de certaines cytokines pro-inflammatoires, favorisant ainsi l'inflammation dans le corps. L'origan peut être bénéfique pour atténuer les symptômes de maladies inflammatoires telles que l'arthrite, l'asthme et les affections dermatologiques inflammatoires. [40]

- **Propriétés antimutagènes** : Des études ont proposé que l'origan puisse avoir des effets antimutagènes en aidant à prévenir les mutations de l'ADN. Cela peut être attribué à la présence de composés tels que les polyphénols et les terpènes dans l'origan, qui peuvent protéger l'ADN contre les dommages oxydatifs et d'autres substances mutagènes. [41]

## II.4. Utilisations

### II.4.1. Usage médicinal

Les médecins de l'antiquité auraient utilisé cette herbe contre les empoisonnements, comme Désinfectant et comme moyen de conservation [42]. Elle pourrait être utilisée dans toutes pathologies infectieuses : infections respiratoires, diarrhées du nouveau-né et de l'adulte, infections urinaires et génitales (métrites et endométrites), infections cutanées (abcès), etc... Elle est souvent administrée par voie orale et locale (cutanée) [43]. Cependant, la voie orale ne serait pas recommandée en usage humain [42].

### II.4.2. Usage traditionnel

L'usage de l'Origan dans la zone d'investigation est bien connu aux propriétés médicinales très intéressantes. Il calme la toux en favorisant l'expectoration, bon stimulant de l'appareil digestif ; l'Origan, condiment classique des pizzas [44]. En usage externe, sous forme de lotions (infusion concentrée) ou de pommade, s'emploie sur l'eczéma. Remède populaire du torticolis des douleurs rhumatismales [44]. En outre, les espèces d'Origan sont utilisées également comme des désinfectants puissants et comme des agents odoriférants dans les parfums. [45]

## II.5. Commercialisation de l'origan

L'origan, une herbe aromatique populaire dans de nombreuses cuisines à travers le monde, est également un produit commercialisé à grande échelle. La commercialisation de l'origan comprend plusieurs aspects, tels que la production, la transformation, la distribution et la vente.

La production d'origan est généralement effectuée dans des régions propices à sa croissance, où le climat et le sol sont favorables. Les principaux pays producteurs d'origan sont la Turquie, le Mexique, l'Égypte, l'Espagne et la Grèce. La culture de l'origan peut se faire de manière conventionnelle ou biologique, selon les préférences des producteurs et des consommateurs.

Une fois rappelé, l'origan peut être transformé de différentes manières pour répondre aux besoins du marché. Il peut être séché, broyé ou transformé en huile essentielle. Ces différentes formes de l'origan sont utilisées dans diverses industries, telles que l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et l'industrie des produits de santé naturels.

La distribution de l'origan se fait à travers des canaux de commercialisation variés. Il peut être vendu directement par les producteurs sur les marchés locaux ou être commercialisé à l'échelle internationale par le biais d'exportateurs et d'importateurs spécialisés. L'origan est souvent vendu en vrac, mais il peut également être conditionné dans des emballages de différentes tailles pour répondre aux besoins des consommateurs.

La commercialisation de l'origan dépend largement de la demande du marché. Les consommateurs recherchent de plus en plus des produits naturels et sains, ce qui a conduit à une augmentation de la demande pour l'origan et d'autres herbes aromatiques. De plus, l'origan est souvent utilisé comme ingrédient dans l'industrie alimentaire, ce qui contribue également à sa demande.

En conclusion, la commercialisation de l'origan est un processus complexe qui implique la production, la transformation, la distribution et la vente de cette herbe aromatique. La demande croissante pour des produits naturels et l'utilisation de l'origan dans l'industrie alimentaire contribue à son succès sur le marché mondial.

## **II.6. Toxicité**

Il ne faut pas l'utiliser pure car le carvacrol et le thymol sont (comme tous les phénols) irritants pour la peau et les muqueuses. Un surdosage pourrait entraîner des convulsions (**Labre, 2012**). En usage humain, il est recommandé de ne pas dépasser 1% dans les mélanges (**Hammer et al. 1999**). Sur des souris, une administration par voie orale de 650 mg/kg de poids vif d'HE d'origan est létale. Par contre, des doses plus petites (environ 100-200 mg/kg) administrées quotidiennement et mélangées avec de l'huile d'olive sont très bien tolérées (**Manohar et al. 2001**).

## **III. Extraction de l'origan**

L'origan peut être extrait par plusieurs méthodes, chacune ayant ses avantages et ses inconvénients.

### ***III.1. L'extraction par distillation à la vapeur***

Cette méthode consiste à faire passer de la vapeur d'eau à travers les feuilles d'origan, ce qui permet d'extraire l'huile essentielle de la plante. L'huile essentielle est ensuite séparée de l'eau

de distillation pour obtenir un produit pur. Cette méthode est couramment utilisée pour produire des huiles essentielles d'origan de haute qualité. [46]

### *III.2. Extraction par solvant*

Cette méthode utilise des solvants tels que l'éthanol ou l'hexane pour extraire les composés actifs de l'origan. Les solvants sont évaporés pour obtenir un extrait concentré qui peut être utilisé pour la fabrication de produits pharmaceutiques, de compléments alimentaires et d'autres produits. [47]

### *III.3. Extraction par pression à froid*

Cette méthode consiste à presser les feuilles d'origan pour en extraire l'huile essentielle. Cette méthode est moins courante que la distillation à la vapeur, mais elle peut être utilisée pour produire de l'huile essentielle d'origan de haute qualité.

### *III.4. Extraction par infusion*

Cette méthode consiste à faire infuser les feuilles d'origan dans l'huile ou l'eau chaude pour extraire les composés actifs. Cette méthode est souvent utilisée pour produire des infusions et des décoctions à base d'origan. [48]

Chacune de ces méthodes présente des avantages et des inconvénients en termes d'efficacité, de coût et de qualité du produit final. Le choix de la méthode d'extraction dépend du type de produit que l'on souhaite obtenir et des ressources disponibles.

## *IV. Plans d'expérience*

**IV.1. Définition d'un plan d'expérience et domaine d'application** Un plan expérimental est une méthode de planification ou d'organisation des expériences scientifiques et industrielles et quantifier divers facteurs dans un domaine expérimental bien défini dans le but de les optimiser [49]. Leur objectif est d'obtenir le plus d'informations avec le moins d'expérimentation. Le design expérimental est appliqué dans différents domaines scientifiques : agronomie, biologie, chimie, électronique, marketing, mécanique, physique, agroalimentaire, etc. [50]. Il permet de optimiser des processus ou des produits que ce soit dans les phases de développement, de production ou de contrôle qualité. Le succès de la recherche et de l'industrie est lié au besoin de compétitivité des entreprises, elles améliorent la qualité et réduire les coûts [51].

### *IV. 2. L'avantage du plan d'expériences :*

Les plans d'expériences sont à la base des protocoles industriels modernes [52]. Les expérimentateurs ont constaté que la méthode des plans d'expériences est plus efficace que les démarches habituelles de conduite des essais. Par ailleurs, elle apporte à l'expérimentateur un

puissant outil de réflexion et d'analyse qui lui permettra de mener son expérimentation avec sûreté et précision. Les principaux avantages de cette méthode sont [52] :

- ❖ Une diminution notable du nombre d'essais ;
- ❖ Une possibilité d'augmenter le nombre de facteurs étudiés ou leurs niveaux ;
- ❖ Une prise en compte d'éventuelles interactions entre facteurs ;
- ❖ Une recherche de la réponse optimale ;
- ❖ Une modélisation simple des résultats
- ❖ Une bonne précision dans la détermination des résultats ;

#### IV.3. Terminologie :

- **La réponse**

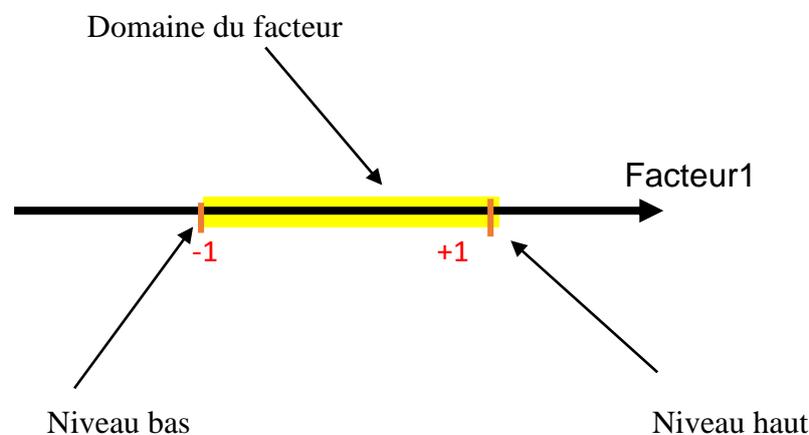
C'est une quantité qui consiste à une quantification des performances du système étudié, elle dépend d'un ou de plusieurs facteurs [53].

- **Les facteurs**

Les paramètres qui changent au cours du test et les paramètres qui devraient influencer le changement de la réponse (variables à étudier) [54].

- **Domaine d'un facteur**

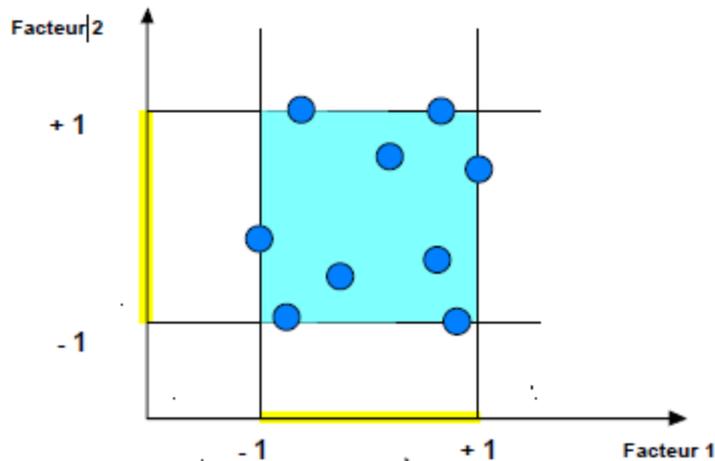
Un facteur varie généralement entre deux bornes, à savoir : une borne inférieure et une borne supérieure. En plan d'expérience, un ensemble de valeurs que peut prendre un facteur entre un niveau bas et un niveau haut est appelé le domaine de variation du facteur ou le domaine du facteur, généralement représenté par (-1) pour le niveau bas, et niveau haut (+1) (Figure [8]).



**Figure 8 :** Domaine de variation du facteur est constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas (-1) et le niveau haut (+1) [54].

- **Domaine d'étude**

Un seul facteur est représenté par l'axe d'orientation, et s'il y a deux facteurs, le deuxième facteur est également représenté par les axes d'échelle et d'orientation. Ce dernier est disposé orthogonalement au premier, et la combinaison des domaines de variation pour chaque facteur définit le domaine d'étude [55].



**Figure 9 :** Points expérimentaux disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur [54].

- **Interaction**

L'effet d'un facteur sur la valeur attribuée par un autre est appelé interaction. Le fait que les deux points ne soient pas parallèles traduit cette interaction en un diagramme. Plus les droites s'écartent de la parallèle, plus le degré d'interaction est élevé [50].

- **Matrice d'expérience**

La matrice d'expérience est un objet mathématique qui contient l'ensemble des expériences à réaliser, sous forme codée ou non codée. Il s'agit d'un tableau comportant n lignes pour le nombre d'expériences à réaliser et k colonnes pour le nombre de variables à étudier. L'élément  $X_{ij}$ , de la matrice ainsi formé correspond à la valeur des niveaux que prend la j<sup>ème</sup> variable à la i<sup>ème</sup> expérience [50].

#### IV.4. Méthodologie de mise en place d'un plan d'expériences :

L'ingéniosité de l'approche la méthode des plans d'expériences réside dans son caractère global, car elle part du niveau 0 de l'expérimentation, là où se situe le problème, elle limite

la performance du test et se poursuit jusqu'à la fin de l'étude. Pour planifier une expérience, nous pouvons envisager les étapes suivantes :

- Définition de l'objectif ;
- Choix des réponses expérimentales ;
- Choix des facteurs et du domaine expérimental d'intérêt ;
- Etablir la stratégie expérimentale ;
- Construction de la matrice d'expériences ;
- Construction du plan d'expérimentation ;
- Expérimentation ;
- Calcul des estimations des informations recherchées ;
- Interprétation des résultats [56].

#### IV.5. Différents types de plans d'expériences utilisés :

Il existe actuellement un nombre important de plans différents. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers, quelques exemples :

- Plans factoriels complets à deux niveaux ;
- Plans factoriels fractionnaire à deux niveaux ;
- Autres plans à deux niveaux ;
- Plans à plusieurs niveaux ;
- Plans pour surfaces de réponse ;
- Plans de mélanges ;
- Plans booléens ;
- Plans pour simulation numérique.

# **CHARITER II**

## **Matériel et méthodes**

## Chapitre II. Matériel et méthodes

### II.1. Présentation des produits utilisés

#### II.1.1. Acide poly lactique (PLA)

L'acide polylactique (anglais : polylactic acid, abrégé en PLA) est un polymère biodégradable en compostage industriel (à une température supérieure à 60 °C).

Le PLA est un exemple de polymère dans lequel de longues molécules filamenteuses sont formées par la réaction entre le groupe acide d'une molécule d'acide lactique et le groupe hydroxyle d'une autre molécule, moyennant un ester de liaison. Dans le corps, cette réaction peut se produire en sens inverse, libérant ainsi l'acide lactique qui peut être incorporé dans le processus métabolique normal. L'utilisation de l'acide glycolique, seul ou en combinaison avec l'acide lactique, permet d'obtenir un polymère plus résistant. Représentent dans la figure 10



**Figure 10** : PLA sous forme de granulés

Les propriétés du PLA mentionnées sur la fiche technique sont représentées dans le tableau 5 suivant.

**Tableau 5** : principales propriétés physiques du PLA.

Propriétés générales	Unité	Valeur
Densité	/	1.26
MFI (190 °C, 2.16 Kg)	g/10 min	5-9
Dureté (15s)	Shore D	80
Propriétés optiques	/	transparent
Température de fusion	°C	170-180
Contrainte de traction au seuil élastique	MPa	20
Contrainte de traction à rupture	Mpa	62.3

### II.1.2. Extrait d'origan

L'extrait d'origan est un liquide concentré contenant des substances actives dérivées de la plante d'origan. Il est obtenu par extraction et des composés bioactifs aux propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antifongiques. Utilisés dans la phytothérapie et les produits de soins naturels, il peut être pris en interne ou utilisé en externe. Il est recommandé de suivre les instructions du fabricant ou de consulter un professionnel de la santé avant son utilisation.

### II.1.3. Chloroforme

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

- ✓ Formule chimique :  $\text{CHCl}_3$  ;
- ✓ Masse moléculaire :  $M=119.38\text{g/mol}$  ;
- ✓ Température de l'ébullition :  $61.2^\circ\text{C}$  ;
- ✓ Température de fusion :  $-63.5^\circ\text{C}$  ;
- ✓ Densité :  $1.478\text{ g/cm}^3$  ;
- ✓ Pureté : 99% ;

### II.1.4. Alcool éthanoïque

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

### II.1.5. Souches bactériennes et fongiques étudiées

Pour évaluer l'effet antimicrobien de l'huile essentielle d'origan, le laboratoire de microbiologie a gracieusement fourni deux espèces microbiennes pathogènes et deux espèces fongiques pour mener les tests d'activité antimicrobienne et fongique.

- Souches à Gram négatif - :
  - Escherichia coli.
- Souches à Gram positif + :
  - Staphylococcus Aureus ;
- Souche fongique :

- *Aspergillus niger*
- *Penicillium Sp*

*a. Escherichia coli*

*Escherichia coli*, également connu sous le nom d'E. Coli, est une bactérie gram-négative de la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est présente couramment dans les intestins des animaux à sang chaud, y compris les humains. [57] *Escherichia coli* se cultive facilement sur des milieux ordinaires et elle est très tolérante aux changements de pH, avec un pH optimal de 7,5 et une température optimale de 37°C, mais se développe entre 15°C et 45°C. Il résiste à la chaleur (45°C), il fermente le glucose, le mannitol et le lactose et produit beaucoup de gaz. [58]

*b. Staphylococcus Aureus*

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif qui se trouve couramment sur la peau et les muqueuses des humains et des animaux. Il s'agit d'une des principales espèces du genre *Staphylococcus* et elle peut provoquer diverses infections chez l'homme, allant des infections cutanées mineures aux infections plus graves telles que la pneumonie, l'ostéomyélite et la septicémie. [59]

*S. aureus* est connu pour sa capacité à développer une résistance aux antibiotiques, ce qui en fait une pathogène clinique préoccupant. Il produit également diverses toxines, telles que les entérotoxines et l'exfoliatine, qui contribuent à sa virulence. [59]

*c. Aspergillus niger*

*Aspergillus niger*, est un champignon filamenteux qui se développe sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et la litière, dans le compost et sur le matériel végétal en décomposition. *Aspergillus niger* est capable de se développer sur une large gamme de températures allant de 6 à 47 ° C, avec une température optimale relativement élevée entre 35 et 37 ° C. Cette espèce se développe dans les céréales et les denrées alimentaires et elle est présente dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air [60].

*d. Penicillium Sp*

Les *Penicillium* sont des champignons filamenteux, polyphages, ils peuvent être responsables de nombreuses dégradations. Ils ont pour habitat naturel le sol, les matières organiques en décomposition, le compost, les denrées alimentaires et les céréales. Les espèces du genre *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée que celle permettant la croissance des *Aspergillus* [61].

## II.2. Méthodes expérimentales

### II.2.1. Choix d'un plan d'expériences

Puisque cette étude vise à analyser et caractériser les films alimentaires composés de PLA et d'extrait d'origan, nous avons opté pour un plan D-optimal. Ce plan nous permettra tout d'abord d'évaluer l'impact des différents facteurs sur les réponses sélectionnées, afin de finalement déterminer les valeurs optimales de ces facteurs.

#### **Choix des facteurs et des réponses**

Pour garantir une approche scientifique et méthodique, nous avons utilisé le logiciel d'optimisation MODDE 6 pour élaborer un plan d'expérience. La sélection des facteurs et des réponses, ainsi que la définition des domaines d'étude, représentent les étapes cruciales de ce processus.

Les facteurs considérés comme les plus pertinents sont ceux que nous avons sélectionnés :

- Facteur 01 : le taux d'extrait d'origan
- Facteur 02 : le temps d'agitation

Suite aux études réalisées sur les paramètres physico-chimiques étudiés ; deux réponses ont été retenues :

- Réponse 01 : l'activité antioxydant

#### **Plan d'expérience retenu**

Après avoir introduit les facteurs et les réponses cités en amont et choisit le modèle D-optimal, le logiciel a proposé la matrice suivante ;

- ✓ L'intervalle de variation de l'extrait est de 4 à 10%
- ✓ L'intervalle de variation de temps d'agitation après l'ajout de l'extrait est de 60 à 150 minutes (D'une heure jusqu'à deux heures trente minutes).

**Tableaux 6** : matrice d'essai proposée par le MODDE6.

Numéro d'essai	taux d'extrait (%)	temps d'agitation (min)	Activité antioxydant
1	4	60	
2	10	60	
3	4	150	
4	10	150	
5	4	120	
6	10	90	
7	8	60	
8	6	150	
9	7	105	
10	7	105	
11	7	105	
12	7	105	

Cette matrice d'expérience propose 12 essais, dont le point du centre du domaine d'étude est répété trois fois.

### II.2.2. Préparation des films

Dans cette expérience, en suivant des mesures de sécurité strictes, nous mesurons 50 ml de chloroforme, pesons 1g de PLA, et les mélangeons dans un bécher sous agitation pendant huit heures (pour une seule formule).

#### Préparation des films PLA/EO

Après l'agitation, nous ajoutons l'extrait d'origan a neuf béchers a des concentrations différentes, nous résumons le dixième comme témoin.

Après une période d'agitation, les mélanges sont étalés dans des boite de pétri pour obtenir des films souples en précisant le pourcentage de chaque mélange.

### II.2.3. Techniques de caractérisation

- Spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier (IRTF) et l'Ultra-violet UV ;
- Test d'activité antibactérienne ;
- Test d'activité antifongique ;
- Test d'absorption d'eau ;
- Test d'activité antioxydant.

**a. Spectroscopie infrarouge à transformation de Fourier (IRTF)**

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'analyse employée pour identifier les groupes fonctionnels présents dans une substance, en se basant sur leurs bandes d'absorption spécifiques. Le spectre infrarouge (IR) est appliqué sur une plage de fréquences s'étendant de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ , et les bandes les plus distinctives se répartissent en trois régions distinctes :

- 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 1500  $\text{cm}^{-1}$  : contient les bandes d'allongement correspondant au principal groupement OH, CO, NH<sub>2</sub> etc.
- 1500  $\text{cm}^{-1}$  à 600  $\text{cm}^{-1}$  : c'est une région complexe appelé empreinte digital du composé dans laquelle se situe de nombreuses vibrations de déformation ainsi que des bandes d'allongement des liaisons CO tel que les esters, les éthers et alcools.
- 1000  $\text{cm}^{-1}$  à 600  $\text{cm}^{-1}$  : c'est une zone très utilisée pour la détermination des structures éthylique et aromatique.

Dans cette présente étude, L'analyse se fait sur des échantillons sous forme de film, les spectres IR de ces dernières ont été enregistré sur un spectrophotomètre de type SHIMADZU FTIR -8400 S, piloté par un ordinateur muni d'un logiciel de traitement avec une résolution de 4 $\text{cm}^{-1}$  la région 400  $\text{cm}^{-1}$  à 4000 $\text{cm}^{-1}$ . [62].

**b. 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.

- Découper les films destinés à la mesure de l'absorption d'eau sous forme de carrés de 15 mm 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'air), puis les peser avec une précision de l'ordre de 0.1 mg ;
- Immerger dans l'eau distillée (ou de pureté équivalente) et laisser à 23°C pendant 7 jours ;
- 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 :

$$\%Abs = \frac{mh}{ms - mh} \times 100$$

Avec :

mh : masse humide

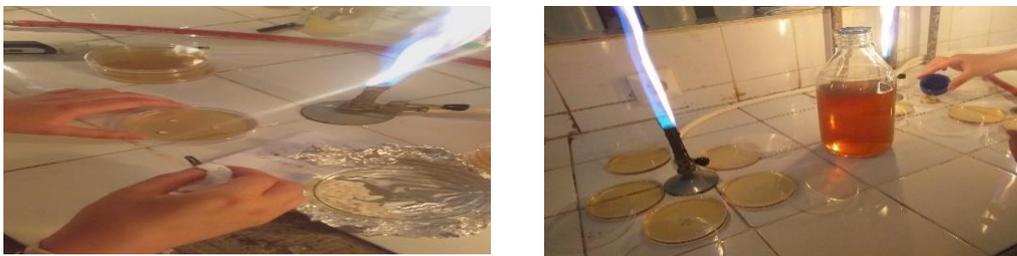
ms : masse sèche.

### c. Test d'activité antibactérienne et antifongique

#### ✚ Préparation des précultures

On prépare une suspension bactérienne et fongique à partir d'une culture pure et récente. Ces échantillons servent à ensemercer la gélose Mueller Hinton et la gélose TSA, respectivement, dans des boîtes de Pétri d'une épaisseur de 4 mm. Ensuite, les boîtes sont incubées à une température de 37 °C pour les bactéries et de 25 °C pour les champignons avant d'être utilisées.

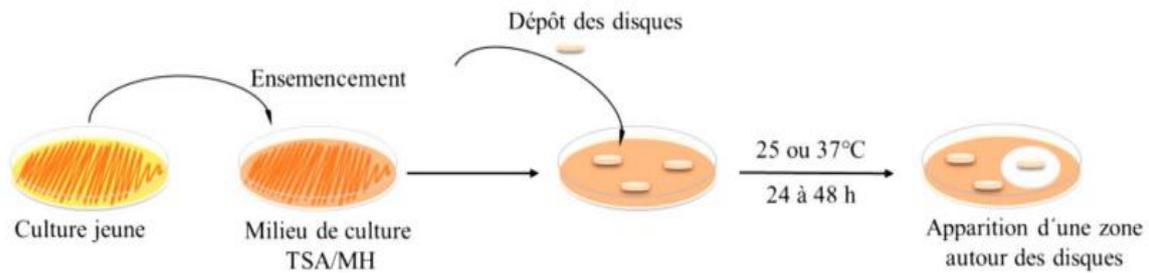
L'ensemencement est réalisé par écouvillonnage, ce qui implique de mettre en contact un écouvillon stérile avec la suspension bactérienne et fongique, puis de le frotter trois fois sur toute la surface de la gélose pour former des stries serrées. Après chaque application, la boîte est tournée d'environ 60° afin de répartir l'inoculum. [63]



**Figure 11** : photographie des milieux de cultures.

#### ✚ Méthode de diffusion

Les disques préparés de papier wattman N°3 de 6 mm de diamètre stérilisés ont été déposés sur le milieu ensemencé à l'aide d'une pince stérile (3 disques dans chaque boîte). 20 µl d'extrait d'origan (0.04g dans 2ml de DMSO) ont été injectés sur les disques déposés. Les boîtes sont ensuite mises dans le réfrigérateur à 4°C /2h puis incubées à 37°C pendant 24 heures. La lecture des résultats se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions autour des disques.



**Figure 12 :** Mise en évidence de l'activité antimicrobienne des Film préparés

#### ✚ 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.

#### d. Test d'activité antioxydante

##### 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].

##### ➤ Pour les films :

Les films ont été découpés en coupons carrés 2cm\*2cm, puis placés dans des béchers en verre propres. Les béchers ont été équipés d'un agitateur magnétique et remplis avec une solution de DPPH à une concentration de 0.2 mM dans du méthanol, jusqu'à un volume de 12 ml. Sceller les béchers et les mettre sous agitation magnétique constante et douce pendant 30min.

Dernièrement on les incube dans des conditions sombres et ambiantes pendant 20 h.

A différents intervalles de temps, 2 à 3 ml de la solution ont été prélevés et transférés dans une cuvette pour effectuer la mesure de l'absorbance de la lumière à l'aide d'un spectrophotomètre UV-V à une longueur d'onde de 517 nm.

##### ➤ Pour l'extrait :

La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol (elle ne se conserve pas plus de 4-5 jours à l'obscurité). Un volume de 50 µl d'extrait éthanolique d'origan a été ajouté à 2 ml de la solution de DPPH. Le

mélange réactionnel a été agité vigoureusement puis incubé pendant 30 min à l'obscurité. Les absorbances ont été mesurées à 517 nm contre le blanc (DPPH/méthanol). L'inhibition du radical libre DPPH.

# **CHAPTER III**

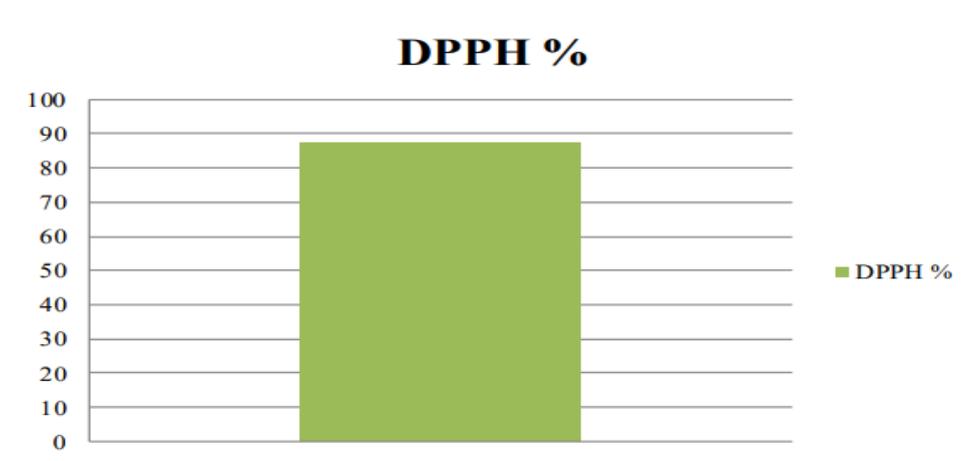
## **Résulta et discussions**

### Chapitre III. Résultats et Discussions

#### III .1. Caractéristique d'extrait

##### III.1.1. Test activité antioxydante :

L'activité antioxydante est réalisée par la méthode piégeage du radical libre stable DPPH par une molécule antiradicalaire, le choix de ce test est basé sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. Le résultat du test au DPPH de l'extrait des feuilles d'origan est présenté dans la figure13 suivant :



**Figure 13** : Histogramme de DPPH de l'extrait des feuilles d'origan

Les résultats du test DPPH de l'extrait des feuilles d'origan se caractérise par une importante activité de piégeage du radicale DPPH (87.67 %). L'augmentation de l'activité anti oxydante dans notre extrait s'explique par la richesse de ce dernier en poly phénols.

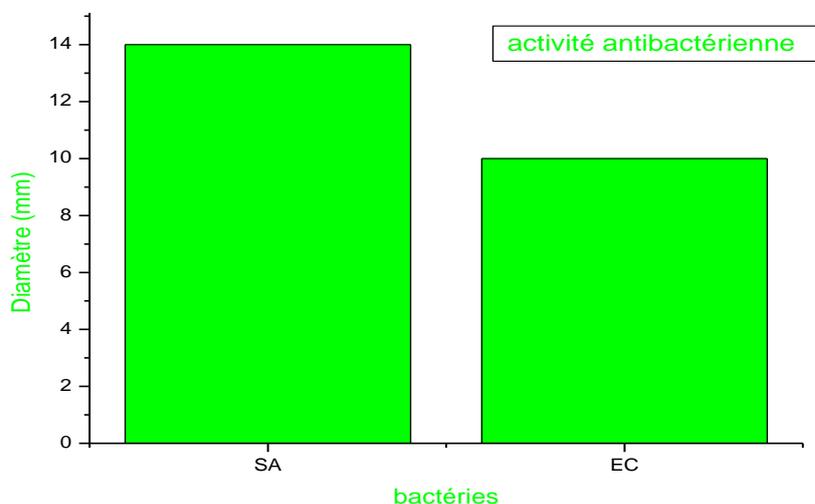
Le taux de l'activité antioxydante de l'extrait des feuilles d'origan dépend de plusieurs facteurs tels que : l'origine géographique et botanique, le moment de la récolte, et le solvant ainsi que la méthode utilisé pour l'extraction [64].

##### III.1.2. Évaluation de l'activité antibactérienne :

Nous avons étudié le pouvoir antimicrobien des extraits isolés d'origan par la méthode d'ensemencement sur un milieu gélosé solide (Mueller-Hinton).

L'activité antibactérienne des extraits a été estimée en termes de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester vis-à-vis de deux (02) souches.

Après incubation à 37°C pour les bactéries pendant 24h. Les résultats de l'activité antibactérienne de l'extrait d'origan sont représentés dans les figures14 et le tableau 7 suivant :



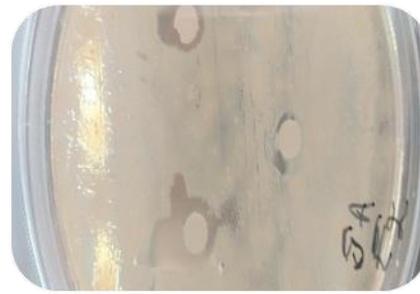
**Figure 14 :** valeur des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne par les extraits d'origan

**Tableau 7 :** Activité antimicrobienne par l'EO

	Diamètre en (mm)			
	Essaie 1	Essaie2	DMSO	MH
<b>SA</b>	14.33	14	-	-
<b>EC</b>	10.08	10.08	-	-

(-) Absence d'activité antibactérienne

Les tests d'activité antimicrobienne ont permis de mettre en évidence la présence d'une importante activité sur les différentes souches testées. Les zones d'inhibition et leurs diamètres sont présentés dans les figures 15 ci-dessous.

**Escherichia coli****staphylococcus aureus**

**Figure 15** : Image de l'inhibition de la croissance bactérienne par l'EO par les bactéries.

Les résultats des essais antimicrobiens vis-à-vis des espèces, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* révèlent une variation des valeurs d'inhibition par les extraits testés. Montrent que l'extrait d'origan présente une activité antimicrobienne sur la souche à Gram négatif et la souche de Gram positif. [65]

Les résultats des diamètres des zones d'inhibition analysés montrent que l'extrait d'origan est significativement plus actif avec (*Staphylococcus aureus*) (souche à Gram+), avec une zone de 14 mm. Alors que l'effet sur la souche *Escherichia coli* (souche à Gram-) est moins important avec une moyenne de 10 mm.

La présence des composants phénoliques a été largement associée aux propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles [66]. Le thymol et le carvacrol, par exemple, semblent avoir la capacité de rendre la membrane cellulaire perméable [67], et être légèrement plus actifs contre des bactéries à Gram-positif que les bactéries à Gram-négatif [68, 69, 70,71].

### III.1.3. Activité antifongique de l'extrait d'origan

Afin d'étudier et d'évaluer l'activité antifongique de l'extrait d'origan, deux souches fongiques dont *Aspergillus niger* et *penicillium sp* sont utilisés.

Les résultats du test d'activité antifongique illustrés dans les figures ci-dessus ont révélé que l'extrait d'origan n'a donné aucune activité antifongique contre : *Penicillium Sp* et *Aspergillus Niger*.

**penicillium SP****aspergillus niger**

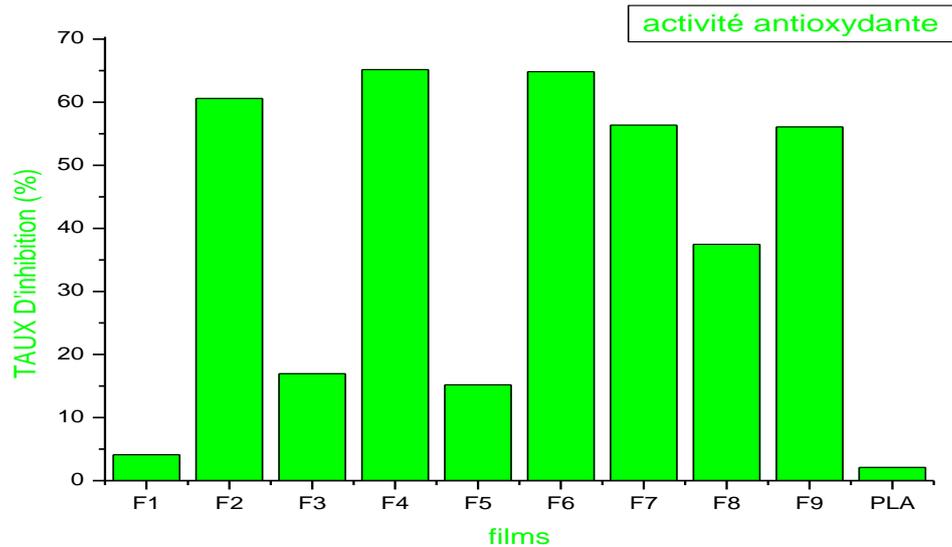
**Figure16** : Images du test d'inhibition de la croissance antifongique par l'extrait d'origan

Dans une étude réalisée par A. HARRAR, il a été démontré que la structure chimique des constituants de l'extrait a une influence directe sur l'activité antifongique. Il a été observé que la réduction de l'activité se produit généralement lorsqu'il y a une transition entre les molécules actives et les composés non oxygénés, ce qui diminue leur solubilité et donc leur efficacité.[72] Cela peut également être attribué à la nature de l'extrait, à la variété de la plante, aux protocoles d'extraction ou à la région de récolte, qui ont une influence significative sur les activités biologiques des extraits.[73]

### III.2. Caractéristique des film

#### III.2.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante est désignée à l'aide de la méthode de piégeage du radical libre stable DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyle), le choix de ce test est basé sur la réduction d'une solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant afin de mesurer leur capacité à réduire ce radical. L'activité d'une substance vis-à-vis du radical DPPH se traduit par un changement de coloration passant du violet au jaune. Les résultats du test au DPPH des films est présenté dans la figure 17 suivant :



**Figure 17 :** Activité antioxydante des films PLA/EO.

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/EO 10% F4) qui est de l'ordre de 65.12%.

Par incorporation d'extrait d'origan dans la matrice du PLA, l'activité antioxydante devient de plus en plus importante au fur et à mesure que l'on augmente le taux de l'extrait et le temps d'agitation.

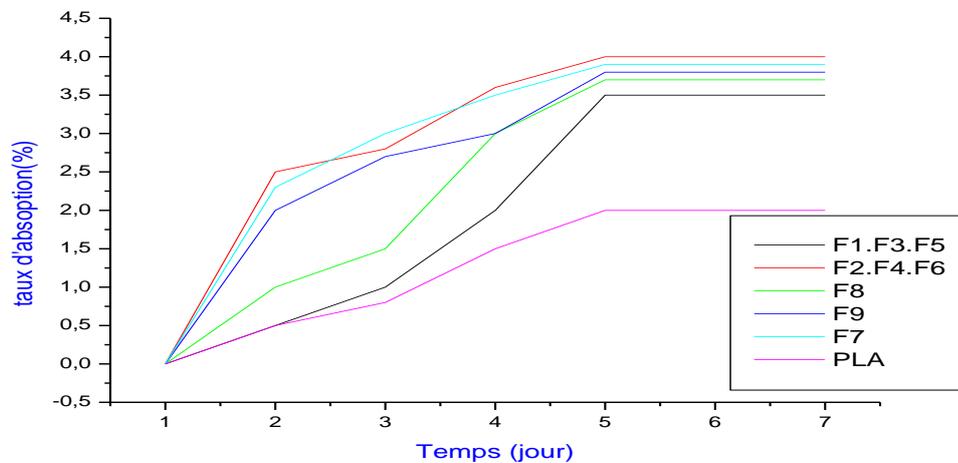
L'activité antioxydante des films de PLA contenant des extraits de plantes, provient principalement de l'abondance de ces agents actifs en composés polyphénoliques. Les résultats confirment que les composés bioactifs restants dans le film après leur séchage ont joué leur rôle antioxydant.

Dans une recherche menée par **Mohamed Nahid siddiqui**, Ils ont préparé des composite de pla a base des ingrédients de L'origan, thym, agrumes et cannelle (thymol, carvacrol, limonène, cinnamaldéhyde). Il a été démontré que lorsque la quantité d'additif a été augmenté, la capacité antioxydante augmente fortement [74] .

### III.2.2. Test d'adsorption d'eau :

La figure 18 représente le test d'absorption d'eau des films à base de PLA et d'extrait d'origan. D'après les résultats obtenus sur le test d'absorption d'eau on constate que la masse des films n'augmente pas durant les premières 24h de l'analyse pour tous les

échantillons (PLA vierge et les composites PLA chargés de l'extrait d'origan à différentes concentrations 4% 6% 7% 8% 10%).



**Figure 18** : variation du taux d'absorption d'eau en fonction du temps du PLA vierge, PLA/EO pour différentes concentrations.

Après 24h une augmentation rapide du taux d'absorption d'eau pour tous les échantillons a été enregistrée, à savoir le PLA et les composites PLA chargés d'origan à différentes concentrations. Ensuite, cette augmentation ralentit au cours des quatre jours suivants pour finalement se stabiliser au cinquième jour. En comparant les taux d'absorption d'eau, on constate que la matrice PLA seule présente un taux d'absorption ne dépassant pas 2%. Cette caractéristique est attribuée à la nature hydrophobe du polymère.

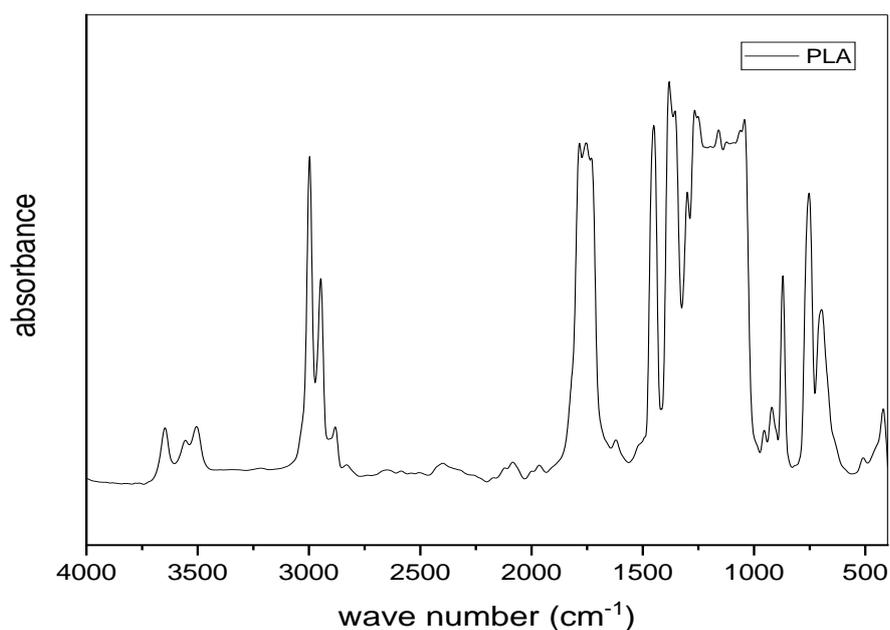
Par incorporation d'extrait d'origan dans la matrice du PLA le taux d'absorption d'eau devient de plus en plus important au fur et à mesure que l'on augmente le taux de l'extrait d'origan et la valeur maximale obtenue est voisine de 4% pour l'échantillon le plus concentré (10% d'extrait d'origan).

La modification de la réaction face à l'eau est probablement due à la composition chimique des différents composants de l'EO, qui contiennent des groupes hydroxyle. Ces groupes hydroxyle établissant des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau. Ainsi, plus la concentration de l'extrait et/ou de l'huile est élevée, plus la concentration en ions hydroxyde (OH<sup>-</sup>) augmente, ce qui entraîne une augmentation du taux d'absorption. [75]

### III.2.3. Caractérisation spectrale par IR-TF

#### a. Spectre infrarouge du PLA

La figure 19 suivante représente le spectre IRTF du PLA vierge.

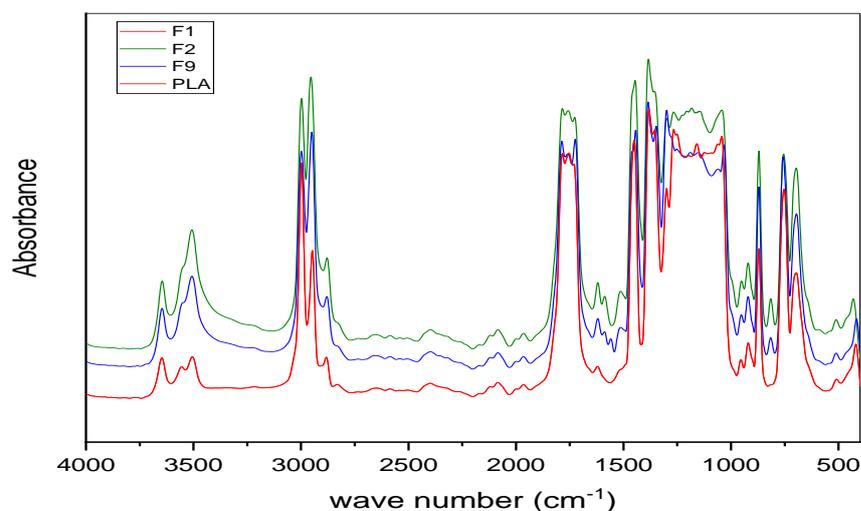


**Figure 19 :** Spectre IRTF du PLA vierge

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

- Deux pics centrés à 3000 et 2966 cm<sup>-1</sup> attribués aux vibrations d'élongations des groupements -CH ;
- Une large bande centrée à 1800 cm<sup>-1</sup>, correspond à l'absorption des liaisons carbonyles des esters présents dans le PLA ;
- Une large bande d'absorption centrée à 1379 cm<sup>-1</sup> (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. [76]

## b. Caractérisation structurale des films (PLA/EO)



**Figure 20** : Spectre IR-TF du film PLA vierge et film (PLA/EO)

Le spectre des films PLA/EO ont révélé la présence de plusieurs pics supplémentaires en comparant au spectre du PLA vierge on cite notamment :

Deux bandes d'absorption centrée à 750/810 attribue aux vibrations d'élongation des groupements  $C_{tri}-H$  aromatique de l'extrait d'origan.

Une bande d'absorption située aux alentours 1450-1600 attribué aux vibrations d'élongation des groupements  $C=C$  aromatique de l'extrait éthanolique des feuilles d'origan.

### III.3. Optimisation des propriétés des films :

Après la pré-formulation de films par le MODDE 6 et la caractérisation physicochimique de celle-ci nous avons inséré les valeurs d'activité antioxydante comme réponses. Alors, le MODDE 6 nous a donné le tableau 8 :

Tableaux 8 : matrice d'étude complétée.

Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Extrait	Temps	Activité antioxydante
1	N1	6	Incl	4	60	4,1
2	N2	7	Incl	10	60	60,6
3	N3	3	Incl	4	150	16,96
4	N4	8	Incl	10	150	65,12
5	N5	11	Incl	4	90	15,18
6	N6	10	Incl	10	120	64,84
7	N7	4	Incl	6	60	56,36
8	N8	1	Incl	8	150	37,48
9	N9	12	Incl	7	105	56,08
10	N10	5	Incl	7	105	56,08
11	N11	9	Incl	7	105	56,08
12	N12	2	Incl	7	105	56,08

III.3.1. Analyses globales des résultats

a. Analyse statistique

La figure 21 représente un résumé des facteurs statistiques obtenus

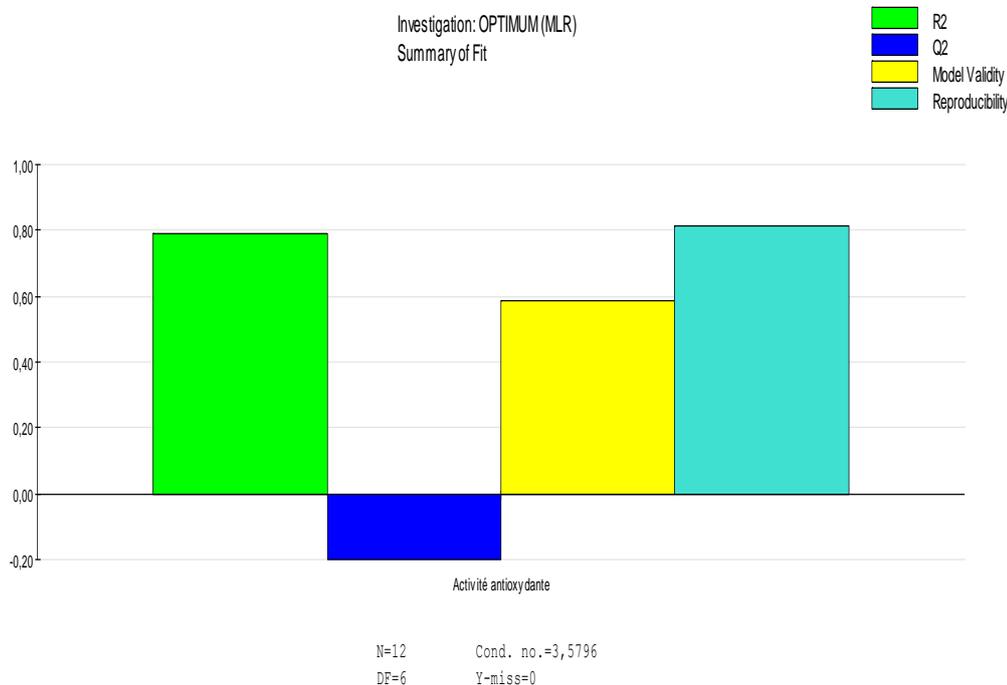


Figure 21 : facteurs statistiques obtenus

Pour mieux exploiter ces résultats, les valeurs numériques des caractéristiques statistiques les plus pertinentes sont résumées dans le tableau 9.

**Tableau 9** : valeurs numériques des caractéristiques numériques.

Réponses	R2	Q2	Reproductibilité
Activité antioxydant	0,8	-0.2	1

Les paramètres statistiques R2 et Q2 traduisent respectivement, l'explication et la prédiction du modèle associé aux résultats obtenus. Lorsque ces deux derniers tendent vers l'unité, le modèle associé explique la variation et prédit la réponse totalement. En revanche lorsque R2 ou Q2 tendent vers 0, alors le modèle ne peut être utilisé ni pour expliquer la variation ni la prédiction de réponse.

L'analyse de la variance (ANOVA) partitionne la variation totale de la réponse sélectionnée SS (Somme des carrés par rapport à la moyenne) en une partie dû au modèle de régression et l'autre partie dû aux résidus. De ce fait il est important d'avoir pour une réponse donnée de bons coefficients de corrélation et de prédiction. Dans le cadre de cette étude d'optimisation, nous tiendrons compte des deux paramètres.

Du **tableau 9** on déduit :

- ✓ Pour l'activité antioxydante le paramètre  $R2=0.8$  est acceptable, cela veut dire que le modèle obtenu explique les pourcentages des facteurs. Par contre le paramètre  $Q2=-0.2$  tendent vers 0, donc le modèle ne peut pas prédire les pourcentages des facteurs.
- ✓ Pour la reproductibilité : pour les réponses nous avons une valeur très élevée (1.00), cela indique une maîtrise lors de la préparation des films, étant donné que les paramètres figés, autres que ceux qui font l'objet du plan d'expérience, n'ont aucune influence sur les résultats obtenus.

**b. Modèle mathématique proposé :**

Après modélisation, le logiciel MODD 6, nous propose deux équations (tableau 10), dont Q2 prédit l'influence des facteurs utilisés sur les deux réponses choisis ;

Tableau 10 : modèle proposé pour chaque réponse

Activité antioxydante	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int()
Constant	51,3783	6,21405	0,000169379	15,2053
Ext	24,3018	5,4441	0,00426528	13,3213
Tem	-3,50823	5,4441	0,543145	13,3213
Ext*Ext	-10,004	8,80797	0,299369	21,5525
Tem*Tem	-4,7502	8,80797	0,60909	21,5525
Ext*Tem	-2,12749	6,40038	0,750893	15,6613

N = 12      Q2 = -1,274      Cond. no. = 3,5796  
 DF = 6      R2 = 0,791      Y-miss = 0  
                  R2 Adj. = 0,618      RSD = 13,2645  
    Conf. lev. = 0,95

$$Y = b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_{1 2} X_1 X_2 + b_{1 1} X_1^2 + b_{2 2} X_2^2$$

$$Y = 0,0042X_1 + 0,0001X_2 + 0,7508 X_1 X_2 - 0,2993X_1^2 - 0,6090 X_2^2$$

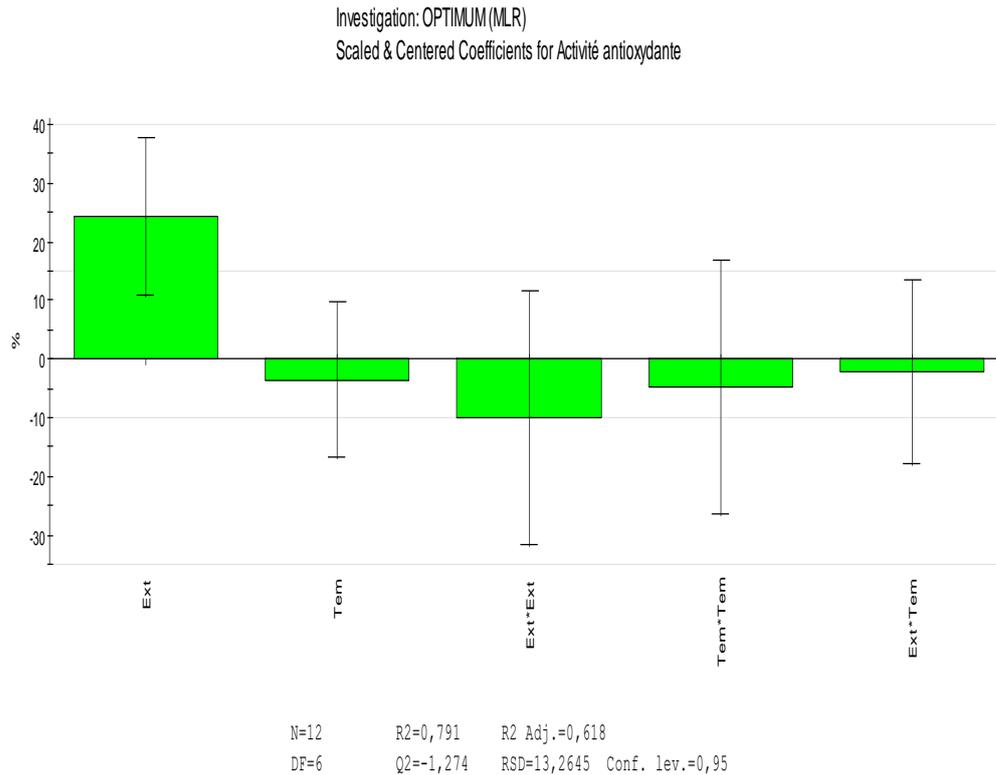
Avec : X<sub>1</sub> : taux d'extrait(Ext) et X<sub>2</sub> : temps d'agitation(Tem).

Selon le modèle proposé pour chaque réponse, on remarque que la réponse d'activité antioxydante est influencées par les facteurs X<sub>1</sub> et X<sub>2</sub> (EXT et Tem) ainsi par leurs interactions doubles X<sub>1</sub><sup>2</sup> et X<sub>2</sub><sup>2</sup> (Ext\*Ext et Tem\*Tem), aussi par l'interaction entre les facteurs X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> (Ext\*Tem).

c. Analyse des effets propres des facteurs sur les réponses :

La Figure 30 représentent respectivement les effets propres de facteur sur l'activité antioxydante

Il y a des facteurs qui ont une influence positive sur les réponses (barre dirigée vers le haut), et ceux qui influent négativement sur les réponses (barre dirigée vers le bas). Aussi, plus le facteur est intense, plus il aura une influence importante sur les réponses.



**Figure 22** : Histogramme représentant l'influence des facteurs sur l'activité antioxydante

La **figure 22** montre que :

Seul l'extrait influence positivement et d'une manière plus importante, car il présente une croissance significative de l'activité antioxydante, cela peut être expliqué par le fait que l'extrait est riche en antioxydant.

L'effet des interactions « doubles, Tem » est considérablement négatif sur l'activité antioxydante et non significative.

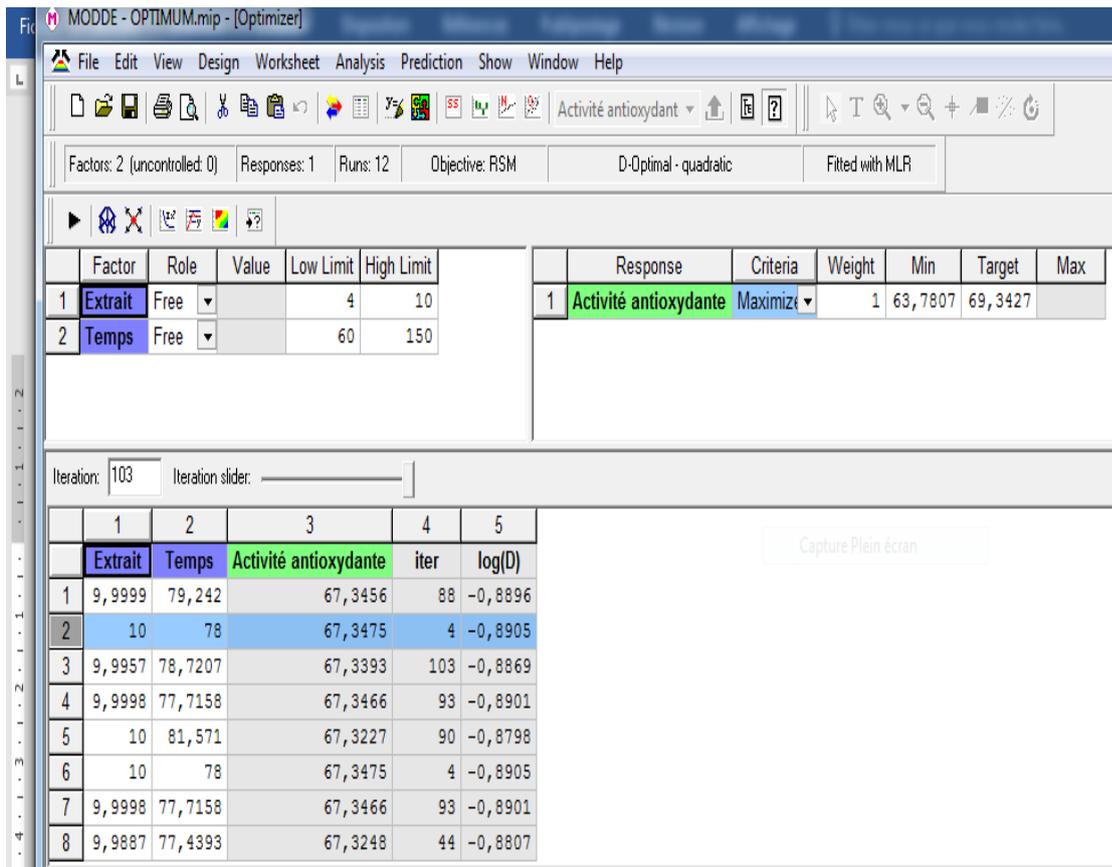
### III.3.2. Détermination de l'optimum :

En introduisant les valeurs cibles dans le logiciel :

- ✓ L'activité antioxydante de 4.1% à 65.12%

Et en utilisant les équations de modélisation, ce dernier nous propose un optimum et un domaine d'optimalité. Dans le tableaux 11 suivant :

**Tableau 11** : valeurs d'activité antioxydante et obtention de l'optimum.



D'après les résultats de l'activité antioxydante, la formulation optimale correspondra à la position optimale des facteurs de formulation considérés à savoir : le taux d'extrait et le temps d'agitation susceptibles de conférer aux grandeurs observées qui est la réponse : activité antioxydante, des valeurs ciblent en utilisant les techniques d'optimisation des réponses.

Les taux d'extrait utilisé correspondant à la formule optimale sont résumés dans le **tableau 11**. Selon le **tableau 11**, notre optimum est très proche et presque identique à la formule F2 de point de vue composition et de point de vue activité antioxydante.

# Conclusion générale

## ***Conclusion générale***

Ce travail de recherche s'est concentré sur la formulation des films d'emballage bioactif à base du PLA et d'extrait éthanolique d'origan en vue d'une potentielle utilisation comme matériaux d'emballage alimentaire à caractère antibactérien et antioxydant. Pour ce faire, l'évaluation des propriétés antioxydantes des films élaborés, nous avons utilisé logiciel MOOD6 pour avoir les différentes formules, ainsi, pour optimiser les différents paramètres de fabrication.

D'après les résultats obtenus, on a montré que l'extrait éthanolique d'origan possède un effet antibactérien et antioxydant vis-à-vis les souches bactériennes testées. Dans un second lieu, l'optimisation des conditions de préparation d'un emballage alimentaire ayant les propriétés désirées. Ce plan a permis d'optimiser ces paramètres et de réduire le nombre d'expériences à réaliser.

Les résultats de l'optimisation affirment que le modèle est significatif avec des valeurs réelles qui sont très proches de celles prédites, avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égale à 0.8 activité antioxydant

L'étude montre que la production des films d'emballage à base de PLA et extrait d'origan est très influencée par les facteurs étudiés à savoir le taux d'extrait ainsi que le temps d'agitation. L'optimum de ces facteurs établis par le plan est la formule F2 avec 10% d'extrait et 60 min d'agitation.

# BIBLIOGRAPHIE

## ***Bibliographie***

- [1] : Birck C. (2014). Conception et caractérisation de films antibactériens à base de poly (alcool vinylique) pour l'emballage à contact alimentaire, Université de Lille 1, France
- [2] : Amrouche, Les emballages, 2012.
- [3] : Aboutayeb R. (2011). Emballages alimentaires, sciences et techniques des industries agroalimentaires.
- [4] : Bureau G, Multon JL. (1989). Emballage des denrées alimentaires de grande consommation. Edition Lavoisier,
- [5] European Bioplastics, Institute for Bioplastics and Biocomposites, en.europeanbioplastics.Org, 2012.
- [6] Alonso-Salces RM, Cugnata NM, Guaspari E, Pellegrini MC, Aubone I, De Piano FG, Antunez K, Fuselli SR. (2017). Natural strategies for the control of *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a review *Apidologie*, 1-14.
- [7] Drescher N, Klein AM, Neumann P, Yañez O, Leonhard SD. (2017). Inside honeybee hives: impact of natural propolis on the ectoparasitic mite *Varroa destructor* and viruses. *Insects*, 8, 15
- [8] : Prud'homme V, Caont JM. (2012). Guide d'écoconception à l'usage des professionnels de l'emballage et conditionnement.
- [9] : Sax I. (2010). Polyethylene terephthalate May yield endocrine disruptors. *Environmental Health Perspectives*, 118, 445-448.
- [10]: Simoneau C. (2008). Chapter 21. Food Contact Materials, 733-773.
- [11]: Shipe et al. (1983). Use of pigments in plastic containers to reduce light induced changes of milk nutrients and flavor. *Journal of Dairy science*.
- [12]: Lim L. T, Auras RA, Rubino M. (2008). Processing technologies for poly (lactide). *Progress Polymer Science*, 33, 820-852.
- [13]: Ichikawa T. (1995). Mechanism of radiation-induced degradation of poly (methyl methacrylate)-temperature effect. *Nuclear Instruments and Methods in physics Research Section B*, 105, 150-153.
- [14]: Guiot-Hacquard O. (1998). Réticulation sous faisceau d'électrons de films de polyéthylène Bi-orientés, thèse de doctorat, Université Lille, Lille/France.
- [15] : Lapointe R. (2012). Bioplastiques biodégradable, compostables et biosourcés pour les emballage alimentaire, distinctions subtiles mais significatives, thèse en vue d'obtention du grade de maitre en environnement, Université de Sherbrooke, Québec, Canada.

- [16]: Gontard SGN. (2005). Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials. Physical and mechanical characteristics, in *Innovations in Food Packaging*. Elsevier Academic Press, 263-27.
- [17] Valentina Siracusa, Pietro Rocculi, Santina Romani et Marco Dalla Rosa. Biodegradable polymers for food packaging: a review, *Trends in Food Science & Technology*, 19, 634-643, 2008.
- [18]: Petersen K, Vaeggemose NP, Bertelsen G, Lawther M, Olsen MB, Nilsson NH, Mortensen G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science Technology*, 10, 52–68.
- [19] : Lachance M. (2011). Les bioplastiques : marchés et opportunités d'affaires. Colloque québécois sur les bioplastiques compostables, Sherbrooke.
- [20]. 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.
- [21] S. Lee, characterization and processing of biodegradable polymer blends of poly (butylene succinate adipate), *Korea-Australia Rheology journal*, 7, 71-772, 2005.
- [22]. Djelalli Souad, Elaboration caractérisation et biodégradabilités des mélanges PEBD/PLA et PEBD/EGMA/PLA, thèse de doctorat, Université de setif 1, 2014.
- [23] A. Sodergard, M. Stolt, properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *progress in polymer science*, 27, 1123-1163, 2002.
- [24]. Tsuji, H. . Poly(lactide) stereocomplexes: formation, structure, properties, degradation, and applications, *Macromolecular bioscience*, 5(7), 569-597, 2005.
- [25]. Biela, T., Duda, A., Penczek, S. . Enhanced melt stability of star-shaped stereocomplexes as compared with linear stereocomplexes. *Macromolecules*, 39(11), 3710-3713, 2006.
- [26] H. Askanian, étude de la durabilité de matériaux respectueux de l'environnement bio composites, Thèse docteur, université BLAISE PASCAL, pagination multiple, 2011.
- [27]: Maharana T, Mohanty B, Negi YS. (2009). Melt–solid polycondensation of lactic acid and its biodegradability, *Progress in Polymer Science*, 34, 99-124.
- [28]: Ronasi S. (2012) . Etude d'élaboration des mélanges de matériaux bio-sourcés à base D'amidon plastifié et de poly (acide lactique ) et de leur compatibilisation, these de doctorat , Université de lorraine
- [29]: Södergard A. (2000). Lactic acid based polymers for packaging materials for the Food Industry. *The Food Bio-packaging Conference*, Copenhagen, Denmark, 27-29.

- [30]: Garlotta, D. (2001). A literature review of poly (lactic acid). *Journal of Polymers and the Environment*, 9, 63-84.
- [31]: Muller R. (2008). *Biodegradability of polymers: Regulations and methods of testing, Biopolymers, General Aspects and Special Applications*, Wiley Publishers, 366-388.
- [32] :Teuscher E, Antor R et Lobstein A. (2005). *Plantes aromatiques. (Epices, aromates, condiments et huiles essentielles)*. Tec & doc, Paris. P : 266-477.
- [33] : Carson C.F, Hammer K.A, Riley T.V. (2006). *Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties*. *Clinical microbiology reviews*. 19 (1) : 50 – 62.
- [34] : Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M., & Pasko, P. (2004). *Origanum vulgare : un examen de la composition chimique, des avantages pour la santé et des propriétés pharmacologiques*. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52(7), 1563-1580. doi: 10.1021/jf030698a.
- [35] : Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., & Mete, E. (2008). *Composition, contrôle qualité et activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'Origanum vulgare L. ssp. hirtum (Lien) letwaart de Turquie*. *Journal de chimie agricole et alimentaire*, 56(21), 10359-10363. doi : 10.1021/jf801884x.
- [36] : «Composés phénoliques et activité antioxydante de l'origan (*Origanum vulgare L.*) de l'intérieur portugais" publié dans le *Journal of Functional Foods*.
- [37] : Fernandes, L., Casal, S., Pereira, JA, Saraiva, JA, Ramalhosa, E., & Ferreira, MA (2013). *Composés phénoliques et activité antioxydante de l'origan (*Origanum vulgare L.*) de l'intérieur portugais*. *Journal des aliments fonctionnels*, 5(4), 1622-1630. doi : 10.1016/j.jff.2013.07.018.
- [38] : Ponce AG, et al. "Activité antimicrobienne des huiles essentielles sur la microflore native de la bette à carde biologique." *Lebensmittel-Wissenschaft + [und] Technologie*. 2003 ; 36(6): 679-684.
- [39] : Baser KHC, et al. "Composition et activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare ssp. hirtum* de Turquie." *Journal de recherche sur les huiles essentielles*. 2002 ; 14(3): 202-203.
- [40] : Guerra FQ, et al. "Effet des huiles essentielles d'origan (*Origanum vulgare L.*) et de thym (*Thymus vulgaris L.*) sur la sensibilité des micro-organismes aux antibiotiques." *Lettres en Microbiologie Appliquée*. janv. 2012 ; 54(3): 247-55.

[41] :López-Bellido FJ, et al. "Activité antimutagène des plantes culinaires méditerranéennes." Toxicologie alimentaire et chimique. 2006 novembre ; 44(11): 1702-8.

[42] : GERMANN, G. AND GERMANN, P. (2014). Plantes d'aromathérapie. éd. Delachaux et Niestlé Paris.

[43] : (Labre, 2012)

[44] :SARI, M. (1999) : Etude ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le Tell Sétifien (Algérie). Mémoire de Magister, Université Ferhat ABBAS de Sétif. 90 pages.

[45] :CHIEJ R, (1984) : Macdonald encyclopedia of medicinal plants. Ed. Macdonald, London, 212-217.

[46] : (M. Ranjbar, M. Goli, F. Moosavi-Nasab, MT Golmakani (2017). Extraction d'huile essentielle d'origan (*Origanum vulgare*) par distillation à la vapeur d'eau et extraction par micro-ondes sans solvant : Cinétique et modélisation de la composition. Journal of Food Process Engineering, 40(4), e12483).

[47] : SV Mohite, SS Patil, SS Kadam, SP Bhosale (2020). Extraction par fluide supercritique de l'huile essentielle d'origan : Optimisation du procédé, étude cinétique et thermodynamique. Séparation Science et technologie, 55(7), 1311-1321.

[48] : G. Goudarzi, F. Shakeri, M. Oromiehie (2021). Extraction assistée par ultrasons de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* subsp. *viride* : Optimisation, modélisation et comparaison avec les méthodes conventionnelles. Journal of Food Processing and Preservation, 45(5), e15527.

[49] M. Fadil, A. Farah, B. Ihssane, T. Haloui, S. Rachiq, 2015, « Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. By response surface methodology », J. Mater. Environ. Sci; 6 (8), 2346-2357.

[50] Bouzaouit- N.Boudjeniba, 2016, « Optimisation de la synthèse enzymatique d'esters de sucres par la méthodologie des plans d'expériences » Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba51] L. Gherairi, 2011, « Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base de caseinate de sodium à l'aide des plans d'expériences », Mémoire de fin d'étude, Université de Kasdi Marbah Ouargla.

[52] J. Goupy. Introduction aux Plans d'expériences. Dunod. Paris (2001).

- [53] F. Rabier, 2007, « Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire ». Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- [54] Z. Sefrou, 2020, « Séparation des ions de lanthane(III) par la technique de point de trouble. Optimisation expérimentale et statistique », Thèse de doctorat. Université Abou-Bekr-Belkaid-Tlemcen.
- [55] J. Goupy, L. Creighton, 2006, « Introduction au plan d'expérience », Dunod, Paris. P.336.
- [56] Iboukhoulef H. 2014, Traitement des margines des huileries d'olive par les procédés d'oxydation avancée basés sur le système Fenton- Like (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/Cu). Thèse de doctorat : Chimie des matériaux. Université de Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou.
- [57]Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, et al. Colite hémorragique associée à un sérotype rare d'Escherichia coli. N Engl J Méd. 1983;308(12):681-685. doi:10.1056/NEJM198303243081203.
- [58]Delarras C. (2014).Pratique en microbiologie de laboratoire. Recherche de bactéries et de levures moisissures. Céline poiteaux : 2ème Edition. 207p.
- [59]Lowy FD. Infections à Staphylococcus aureus. N Engl J Méd. 1998;339(8):520-532. doi : 10.1056/NEJM199808203390806
- [60] Morin O. (1994). Aspergillus et aspergillose : biologie. Edition techniques Encyclopédie Médico-chirurgicale (Elsevier Paris), Maladies infectieuses, 8-600-A-10.
- [61] Pitt, JI. (1988). An appraisal of identification methods for Penicillium species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology ,65, 1135-1157.
- [62] Pitt, JI. (1988). An appraisal of identification methods for Penicillium species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. Mycology ,65, 1135-1157.
- [63]Khodayri M, Basti AA, Khanjari A , Misaghi A, Kamkar A, Shotorbani PM, Hamedi H .(2018). Effect of poly (lactic acid) films incorporated with different concentrations of Tanacetum balsamita essential oil, propolis ethanolic extract and cellulose nanocrystals on shelf life extension of vacuum-packed cooked sausages .Food packaging and shelf life, 19,200-209.
- [64]castroML,Nascimento AM, Ikegari M, Costa-Neto CM, Alencar SM , Rosalen PL .(2001) .Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian propolis type6.Biorganic and medical chemistry ,17, 5332-5335.

[65]Syed Ishtiaq Anjum , Amjad Ullah , Khalid Ali Khan , Mohammad Attaullah, Hikmatullah Khan ,Hussain Ali , Muhammad Amjad Bashir, Muhammad Tahir , Mohammad Javed Ansari, Hamed A. Ghramh , Nuru Adgaba , Chandra Kanta Dash.(2018).Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences.

[66]DORMAN H.J. and DEANS S.G., (2000): Anti-microbial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, (88), 308-316.

[67]LAMBERT R.J.W., SKANDAMIS P.N., COOTE, P. and NYCHAS, G. J.E., (2001): A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. Journal of Applied Microbiology, (91), 453-462.

[68]JULIANO C., MATTANA A., and USAI M., (2000): Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. J. Essential Oil Res., (12), 516-522.

[69]RUBERTO G., BARATTA M.T., DEANS S.G. and DORMAN H.J.D., (2000): Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medica*, (66), 687-693.

[70]CANILLAC N. and MOUREY A., (2001): Antibacterial activity of essential oils of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and Coliform bacteria. *Food Microbiology* (18), 261-268.

[71]HARPAZ S., GLATMAN L., DRABKIN V. and GELMAN A., (2003): Effects of herbal essential oils used to extend the shelf life of freshwater-reared Asian sea fish (*Lates calcarifer*). *Journal of Food Protection*, (66), 460-463.

[72]O. YuyueQina, L. Wenhui, D. Liub, Y. Minglong , L. Lin, Development of active packaging film made from poly (lactic acid)incorporated essential, journal home page.

[73]Lima G, De Curtis F, Castoria R, Pacifica S, De Cicco V. (1998) .Additives and natural products against post harvest pathoges compatibility with antagonistic yeasts .*Journal of Plant Pathology*, 80, 259.

[74] Mohammad Nahid Siddiqui , Halim Hamid Redhwi , Ioannis Tsagkalias , Evangelia C. Vouvoudi et Dimitris S. Achilias (2021) .Development of Bio-Composites with Enhanced Antioxidant Activity Based on Poly(lactic acid) with Thymol, Carvacrol, Limonene, or Cinnamaldehyde for Active Food Packaging,23-24.

[75]Wang, T., Li, B., Si, H., Lin, L., & Chen, Release characteristics and antibacterial activity of solid state eugenol/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 71, 207-213, 2013.

[76] M.P. Arrieta, J. López, S. Ferrándiz, M.A. Peltzer, *Polym, Test*, 32, 760–768,2013.

## **Résumé**

L'objectif de ce travail est d'élaborer un matériau d'emballage alimentaire à base de PLA et d'extrait éthanolique d'origan. Tout d'abord, l'extrait éthanolique d'origan utilisé comme principe actif dans les films est soumis à différentes analyses : évaluation de l'activité antioxydante ; antibactérienne et antifongique. Ensuite, Les films de PLA / EO ont été préparés par voie casting en utilisant un plan d'expérience logiciel MODD 6 permis d'étudier les paramètres influant sur l'activité antioxydante. Les films sont soumis à plusieurs analyses : caractérisation structurale par IR-TF, taux d'absorption d'eau, activité antioxydante. Au final, nous avons obtenu un film optimal qui peut constituer un emballage alimentaire aux conditions suivantes : Quantité de l'extrait d'origan : 10% et 60 min d'agitation.

## **Abstrat**

The objective of this work is to develop a food packaging material based on PLA (Polylactic Acid) and ethanolic extract of oregano. Firstly, the ethanolic extract of oregano, used as an active ingredient in the films, undergoes various analyses: evaluation of antioxidant, antibacterial, and antifungal activities. Then, the PLA/EO films are prepared via the casting method, utilizing a MODD 6 software-based experimental design to study the parameters influencing the antioxidant activity. The films are subjected to several analyses: structural characterization using IR-TF, water absorption rate, and antioxidant activity. In the end, we obtained an optimal film that can serve as food packaging under the following conditions: Quantity of oregano extract: 10%, and 60 minutes of agitation.