

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة*  
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département des Sciences et techniques



## ***Mémoire de fin d'étude***

*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Génie des Procédés*

*Spécialité : Génie Pharmaceutique*

### **Thème :**

# ***Etude rhéologique des formulations préparées à base de l'huile essentielle du Thymus Serpolet***

**Devant le jury composé de :**

RAHMANI	Fathia	Présidente
REZALA	Houria	Examinatrice
BOUDJEMA	Fatiha	Promotrice
ALICHE	Zahia	Co-Promotrice

**Présenté par :**

- SOKONA Ousmane
- KHOUALDIA Fouzia

*Année universitaire : 2017 / 2018*

## تلخيص

الهدف من هذه الرسالة هو دراسة الريولوجية للصبغ المحضرة على أساس الزيت العطري (زعرار ساربولي) ، المستخرج والمحددة ميزاته خلال هذا العمل. الزيت العطري للزعرار الذي تم جنيه من منطقة خميس مليانة ، تم استخراجة بواسطة تقطير البخار . حددت المكونات الكيميائية بواسطة تقنيات التحليل: الأشعة فوق البنفسجية ، الأشعة تحت الحمراء ، كروماتوغرافيا. تحليل الكروماتوغرافيا اظهر أن اساس زيت الزعرار ساربولي يحتوي على المكونات الرئيسية التالية : ديهيدرو كارفينول ، ليمونيم ، سابنين هيدرات سي ، ترونسبينوكرفيول ، الفابينان، ثيمول، كرفاكول . أظهرت الصياغتان المحضرتان باساس الزيت العطري زعرار ساربولي (الجل والكريم) اللذان تم إعدادهما أثناء هذه الدراسة وجود سلوك مرن-لزج ثابت بمرور الوقت. أظهرت النتائج أن الجل يستقر بعد بضعة أيام وأن الكريمة المحفوظة في درجة حرارة الغرفة أكثر استقرارًا عن درجة الحرارة المنخفضة.

**الكلمات المفتاحية :** ، الزيت العطري ، زعرار ساربولي ، النشاط المضاد للميكروبات ، الريولوجيا ، مرونة-لزوجة

## Résumé

L'objectif de ce mémoire est l'étude rhéologique des formulations préparées à base de l'huile essentielle (Thymus Serpolet), extrait et caractérisée lors ce travail. L'HE du Thymus Serpolet récolté de la région de Khemis Miliana a été extrait par hydrodistillation. Les composantes chimiques ont été déterminées par les techniques d'analyses : UV, IR, CGSM. L'analyse CG(SM) a montré que l'essence d'HE du Thymus Serpolet contient les composants majoritaires suivants : Dehydro-Carvenolide, Limoneme, Sabinene hydrate «cis», Pinocarveol « trans »,  $\alpha$ -Pinene, Thymol et Carvacol. Les deux formulations à base de l'HE Thymus (gel et crème) préparées au cours de cette étude ont montré un comportement viscoélastique stable avec le temps. Les résultats ont montré que le gel se stabilise après une quelques jours et la crème préservée est plus stable à température ambiante qu'à basse température.

**Mots clés :** Huile essentielle, Thymus Serpolet, formulation, rhéologie, viscoélasticité.

## Abstract

The objective of this work is the rheological study of the formulations prepared based on the essential oil (Thymus Serpyllum), extracted and characterized during this work. The Thymus Serpyllum EO harvested from the Khemis Miliana region was extracted by hydrodistillation. The chemical components were determined by the analysis techniques : UV, IR, CGSM. CG (SM) analysis shows that the EO essence contains the following major components: Dehydro-Carvenolide, Limoneme, Sabinene hydrate "cis", Pinocarveol "trans" and  $\alpha$ -Pinene Thymol, Carvacol. The two formulations based on Thymus EO (gel and cream) prepared during this study showed stable viscoelastic behavior over time. The results showed that the gel stabilizes after a few days and the preserved cream at room temperature is more stable than at low temperature.

**Keywords:** Essential oil, Thymus Serpyllum, antimicrobial activity, rheology, viscoelastic.

## *Dédicaces*

*Amour de Dieu, bonheur, calme, réussite, succès santé et joins de vivre  
ce sont mes vœux les plus chers.*

*Je dédie ces vœux et ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde pour moi,  
mes chers parents, qui m'ont permis de continuer mes études dans les meilleures conditions et  
qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras.*

*A la mémoire de mon grand-père et ma grand-mère qui m'ont toujours aimé  
et comblé par des bénédictions, que Dieu le tout-puissant les accueillent en son vaste  
paradis.*

*Je dédie aussi cette modeste réalisation à :*

*-Mes très chères sœurs Nassima, Samia, Abla et mon très cher frère Farouk.*

*-Mes très chers beaux frères Mohamed et youcef.*

*-Mon oncle Amara et ma tante Nasira et tout la famille khoualdia.*

*-Ainsi que pour tous mes amis et mes collègues.*

**KHOULDIA Fouzia**

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce mémoire*

***A mes très chers parents***

*Aucune expression ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices qu'ils n'ont jamais cessé de consentir pour mon bien-être. Ils représentent pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager.*

*Qu'ALLAH le tout-puissant les garde et les procure santé, bonheur et longévité.*

***A mes frères et sœurs***

*En témoignage de leurs affections fraternelles, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je les souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, les protège et les garde.*

***A mes ami(e)s***

*Pour leurs conseils, encouragements, et leurs soutiens dans tous les aspects. Que Dieu les comble de bonheur.*

***A***

*Aissata Guindo pour son aide et son assistance.*

***A toute la famille SOKONA,***

*Pour leurs encouragements, que la faveur de Dieu soit sur tout un chacun.*

**SOKONA Ousmane**

# Remerciement

Nos remerciements s'adressent d'abord à ALLAH le tout puissant de nous avoir permis d'en arriver là.

Toute œuvre qui résulte d'un effort humain est explicitement ou implicitement toujours le fruit d'une vaste collaboration. Ainsi, que tous ceux qui ont pris une part active dans la réalisation de ce mémoire puissent trouver dans ces lignes l'expression de notre profonde gratitude. En nous exprimant de la sorte,

**A notre enseignante la présidente, Mlle RAHMANI Fathia**

**A notre enseignante examinatrice de mémoire Mme REZALA Houria**

Nous vous remercions d'avoir accepté de faire une partie de jury de notre travail, veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde gratitude.

**Nous pensons tout particulièrement à notre promotrice et co-promotrice**

**BOUDJEMA Fatiha et ALICHE Zahia**

Nous avons eu le privilège de travailler avec vous et d'apprécier vos qualités et valeurs. Vos compétences et sens du devoir nous ont énormément marqués. Ce travail est pour nous, l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude, vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles. Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

**Nous remercions également, le Professeur BOUTOUMI de l'université de Saad Dahleb de Blida :** d'avoir mis à notre disposition les produits nécessaires pour la formulation des gels et une partie importante de bibliographie.

**Un grand merci aux personnels de SAIDAL à Media, du laboratoire de recherche de la physique « FIMA », du laboratoire du génie des procédés et du laboratoire de recherche chimique à l'UDBKM:** pour nous avoir permis de réaliser toutes nos analyses.

# Table des Matières

Dédicaces	
Remerciements	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des Nomenclatures	
<b>Introduction*</b> .....	01

## Partie 1 : Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Huile essentielle du thymus

I.1. Plante du thymus.....	03
I.1.1.Distribution géographique.....	03
I.1.2. Usage de la plante.....	04
I.1.3.Principes actifs du thymus.....	05
I.1.4.Thymus serpolet.....	05
I.1.4.1.Description morphologique.....	06
I.1.4.2.Classification taxonomique.....	06
I.2.Huiles essentielles.....	06
I.2.1.Définition de l'huile essentielle.....	07
I.2.2.Méthodes d'extraction.....	07
I.2.2.1.Distillation.....	07
I.2.2.2.Hydrodistillation.....	08
I.2.2.3.Entrainement à la vapeur d'eau.....	08
I.2.2.4.Hydrodifussion.....	09
I.2.2.5.Extraction à froid.....	09
I.2.2.6.Extraction par solvants organiques.....	09
I.2.2.7.Enfleurage.....	09
I.2.2.8.Extraction assistée par micro-ondes.....	10
I.2.2.9.Extraction par fluide à l'état supercritique.....	10
I.2.3.Propriétés physico-chimiques et aromatiques.....	11

I.2.3.1. Propriétés physico-chimiques.....	11
I.2.3.2. Propriétés aromatiques.....	11
I.2.4. Méthodes d'analyses.....	12
I.2.4.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	12
I.2.4.2. Couplage en chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)...	13
I.2.4.3. Résonance Magnétique Nucléaire RMN.....	14
I.2.5. Activités pharmacologiques.....	14
I.2.5.1. Activité antioxydante.....	14
I.2.5.2. Activité anti-inflammatoire.....	14
I.2.5.3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles.....	15
I.2.5.4. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles.....	17
I.2.6. Huile essentielle du thymus.....	17
I.2.6.1. Rôles physiologiques.....	17
I.2.6.2. Huile essentielle du thymus serpolet.....	18
Conclusion.....	19

## **Chapitre II : Rhéologie des fluides complexes**

II.1. Définition de la rhéologie.....	20
II.2. Grandeurs fondamentales de la rhéologie.....	20
II.2.1. Tenseur des contraintes.....	20
II.2.1.1. Contrainte de cisaillement.....	21
II.2.2. Tenseur des déformations pour les déplacements infinitésimaux.....	22
II.2.2.1. Déformation de cisaillement.....	22
II.2.3. Tenseur de la vitesse de déformation.....	23
II.2.3.1. Taux de cisaillement.....	23
II.2.4. Viscosité dynamique (apparente) ( $\eta$ ).....	23
II.3. Paramètres influant sur la viscosité d'un fluide.....	24
II.4. Écoulements des fluides complexes.....	24
II.4.1. Types d'écoulements.....	24
II.4.1.1. Fluide newtonien.....	25
II.4.1.2. Fluide non newtonien.....	25
II.5. Modèles rhéologiques.....	26

II.5.1.Modèle loi de puissance (liquides sans contrainte critique).....	26
II.5.2.Fluides de Bingham (liquides avec contrainte critique).....	27
II.5.3.Fluides de Herschel-Buckley.....	27
II.6.Rhéomètres et tests Rhéologiques.....	27
II.6.1.Types de Rhéomètre et équipements.....	27
II.6.2.Tests rhéologiques.....	29
II.6.2.1.Essai de fluage.....	29
II.6.2.2.Test dynamique (Sollicitation périodique).....	30
II.7.Etude de la viscoélasticité.....	33
II.7.1.Solide élastique et fluide newtonien.....	33
II.7.1.1.Loi de Hooke.....	34
II.7.1.2.Loi de Newton.....	34
II.7.2.Liquide de Maxwell.....	34
II.7.2.1.Réponse en fluage.....	35
II.7.2.2.Réponse en dynamique.....	35
II.7.3.Solide de Kelvin-Voigt.....	36
II.7.3.1.Réponse en fluage.....	37
II.7.3.2.Réponse à un test dynamique.....	37
II.7.4.Modèles analogiques généralisés.....	38
Conclusion.....	39

## **Partie 2 : Etude expérimentale**

### **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

III.1.Matériels et méthode d'extraction.....	40
III.1.1.Matériel végétal : collection de la plante.....	40
III.1.2.Huile essentielle du thymus.....	40
III.1.2.1.Extraction de l'huile essentielle du thym par Hydrodistillation.....	41
III.1.2.2.Calcul du rendement.....	42
III.1.2.3.Conservations des huiles essentielles.....	42
III.2.Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du thymus.....	42
III.2.1.Propriétés physiques.....	42
III.2.1.1.Propriétés organoleptiques.....	42

III.2.1.2.Densité relative.....	43
III.2.1.3.Indice de réfraction.....	43
III.2.2.Propriétés chimiques.....	44
III.2.2.1.Détermination du pH.....	44
III.2.2.2.Indice d'acide.....	44
III.2.2.3.Indice d'ester.....	44
III.2.2.4.Indice de saponification.....	45
III.3.Analyses chromatographique et spectroscopiques de l'huile essentielle du thymus.....	46
III.3.1.Analyses spectroscopiques.....	46
III.3.1.1.Spectroscopie infra Rouge (IR).....	46
III.3.1.2.Spectroscopie Ultra-violet (UV).....	47
III.3.2.Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM).....	47
III.4.Méthode de recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thymus.....	48
III.4.1.Principe de la méthode.....	48
III.4.2.Préparation des suspensions et ensemencement.....	48
III.4.3.Identification des effets antimicrobiens des solutions.....	49
III.4.4.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	50
III.5.Tests rhéologiques.....	51
III.5.1.Préparation des échantillons (gel et crème).....	51
III.5.1.1.Préparation du gel à la base de l'huile essentielle du thymus.....	51
III.5.1.2.Préparation de la crème à la base de l'huile essentielle du thymus.....	52
III.5.2.Moyens expérimentaux.....	52
III.5.3.Caractérisation de la réponse du matériau en cisaillement.....	53
III.5.3.1.Test de cisaillement (test d'écoulement).....	53
III.5.3.2.Test de fluage-recouvrance.....	55
III.5.3.3.Test dynamique.....	56
Conclusion.....	56

## **Chapitre IV : Résultats et discussions**

IV.1.Calcul du rendement.....	57
IV.2.Propriétés physico-chimiques.....	58

IV.2.1. Propriétés physiques.....	58
IV.2.1.1. Caractéristiques organoleptiques.....	58
IV.2.1.2. Densité relative.....	58
IV.2.1.3. Indice de réfraction.....	59
IV.2.2. Propriétés chimiques.....	59
IV.2.2.1. Détermination de pH.....	59
IV.2.2.2. Indice d'acide ( $I_a$ ).....	59
IV.2.2.3. Indice d'ester ( $I_e$ ).....	60
IV.2.2.4. Indice de saponification ( $I_s$ ).....	60
IV.3. Analyses chromatographique et spectroscopiques de l'huile essentielle du thymus.....	60
IV.3.1. Analyses spectroscopiques.....	60
IV.3.1.1. Spectroscopie Ultra-violet (UV).....	61
IV.3.1.2. Spectroscopie infra Rouge (IR).....	61
IV.3.2. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM).....	63
IV.4. Tests biologiques : activité antimicrobienne.....	66
IV.5. Résultats des tests rhéologiques.....	69
IV.5.1. Etude de comportement rhéologique du Gel.....	69
IV.5.1.1. Réponses des tests d'écoulements.....	69
IV.5.1.2. Réponses des Tests de fluages.....	71
IV.5.1.3. Réponses des tests dynamiques.....	72
IV.5.2. Etude de comportement rhéologique de la Crème.....	74
IV.5.2.1. Réponses des tests d'écoulements.....	74
IV.5.2.2. Réponses des tests de fluages.....	76
IV.5.2.3. Réponses des tests dynamiques.....	78
Conclusion.....	79
<b>Conclusion Générale</b> .....	80
Références Bibliographiques.....	82

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1.</b>	Localisation des principales espèces de genre Thymus en Algérie.....	04
<b>Tableau I.2.</b>	Composants de l'huile du thymus serpolet et leur pourcentage.....	18
<b>Tableau II.1.</b>	Modules, élastiques et visqueux, pour un ressort et un amortisseur.....	34
<b>Tableau IV.1.</b>	Rendement d'extraction de l'HE du thymus serpolet.....	57
<b>Tableau IV.2.</b>	Caractéristiques organoleptiques de l'essence étudiée.....	58
<b>Tableau IV.3.</b>	Densité de l'HE du thymus.....	58
<b>Tableau IV.4.</b>	Indice de réfraction de l'HE du thymus.....	59
<b>Tableau IV.5.</b>	Indice d'acidité de l'HE du thymus.....	60
<b>Tableau IV.6.</b>	Indice d'ester de l'HE du thymus.....	60
<b>Tableau IV.7.</b>	Tableau de balayage de l'uv-visible du thymus serpolet.....	61
<b>Tableau IV.8.</b>	Bandes caractéristiques du spectre IR de l'HE du thymus.....	63
<b>Tableau IV.9.</b>	Composants de l'huile essentielle du thymus serpolet.....	64
<b>Tableau IV.10.</b>	Résultats des zones d'inhibitions des différentes souches à différentes concentrations.....	68

## Liste des figures

<b>Figure I.1.</b>	Photo du thymus serpolet.....	06
<b>Figure I.2.</b>	Photo du clevenger.....	08
<b>Figure II.1.</b>	Représentation de tenseur des contraintes.....	20
<b>Figure II.2.</b>	Cisaillement dans le cas du modèle à deux plaques.....	21
<b>Figure II.3.</b>	Courbes d'écoulement théorique (échelle linéaire) comportement rhéologiques.....	24
<b>Figure.II.4.</b>	Rhéomètre à contrainte imposée de type Antan Paar MCR 302.....	28
<b>Figure II.5.</b>	Géométries utilisé dans cette étude : a) géométrie à disques parallèles ou plan-plan. b) géométrie cône-plan.....	28
<b>Figure II.6.</b>	Expérience de fluage: a) échelon de contrainte de cisaillement (effet); b) fonction de fluage (réponse).....	29
<b>Figure .II.7.</b>	Essai de fluage suivi de recouvrance a) solide élastique, b) fluide visqueux.....	30
<b>Figure II.8.</b>	Réponse de différents matériaux à un test dynamique.....	30
<b>Figure II.9.</b>	Réponses types de quelques matériaux à une sollicitation harmonique.....	33
<b>Figure II.10.</b>	Liquide de Maxwell .....	34
<b>Figure II.11.</b>	Réponse de solide de Kelvin-Voigt à un échelon de contrainte...	35
<b>Figure II.12.</b>	Réponse d'un fluide de Maxwell à une sollicitation dynamique : représentation logarithmique.....	36
<b>Figure II.13.</b>	Solide de Kelvin-Voigt.....	37
<b>Figure II.14.</b>	Réponse de solide de Kelvin-Voigt à un échelon de contrainte...	37
<b>Figure II.15.</b>	Réponse d'un solide de Kelvin-Voigt à une sollicitation dynamique : représentation logarithmique.....	38
<b>Figure II.16.</b>	Modèle de Kelvin-Voigt généralisé.....	39
<b>Figure III.1.</b>	Photo de l'hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle de <i>Thymus</i> .....	41
<b>Figure III.2.</b>	Photo de l'huile essentielle de <i>Thymus serpolet</i> récupérée dans l'épandole (à gauche) et fermer hermétiquement (à droite).....	41
<b>Figure III.3.</b>	Poto de l'appareil du réfractomètre.....	43
<b>Figure III.4.</b>	Photo des matériels de l'indice d'ester.....	45

<b>Figure III.5.</b>	Photo de l'appareil de l'infra-rouge (IR).....	46
<b>Figure III.6.</b>	Photo de l'appareil de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée avec la spectrométrie de masse (SM).....	47
<b>Figure III.7.</b>	Photo du milieu de culture Sabouraud agar.....	48
<b>Figure III.8.</b>	Photo des différentes dilutions : 50%, 25%, 10%, 5% et 1%.....	49
<b>Figure III.9.</b>	Image de la disque trempée dans la solution diluée (à gauche) et l'image de la disque déposée dans la boîte de pétri (à droite).....	50
<b>Figure III.10.</b>	Image de la dernière phase de préparation du gel à la base du triéthanolamine (à gauche) et l' image de la dernière phase de préparation du gel à la base du NaOH (à droite).....	51
<b>Figure III.11.</b>	Photo de l'appareil de l'homogenisateur.....	52
<b>Figure III.12.</b>	Photo du dispositif expérimental utilisé rhéomètres à contrainte imposée Anton-Paar (MCR 302).....	53
<b>Figure III.13.</b>	Photo du test d'écoulement de gel sur le rhéomètre Anton pear.	54
<b>Figure III.14.</b>	Photo du test rhéologique de gel a base de NaOH a blanc.....	54
<b>Figure III.15.</b>	Photo du test rhéologique de la crème.....	55
<b>Figure IV.1.</b>	UV-visible de l'HE du thymus serpolet.....	61
<b>Figure IV.2.</b>	Spectre IR de l'HE du thymus serpolet.....	62
<b>Figure IV.3.</b>	Chromatogramme en phase gazeuse de l'huile essentielle du thymus serpolet.....	65
<b>Figure IV.4.</b>	Sensibilité des souches : <b>a)</b> Staphylococcus aureus, <b>b)</b> Staphylococcus epidermidis, <b>c)</b> Escherichia coli, <b>d)</b> Pseudomonas aeruginosa , <b>e)</b> Candida albicans et <b>f)</b> Saccharomycèse serivisial.....	67
<b>Figure IV.5.</b>	Courbe d'écoulement du gel à blanc : la contrainte $\tau = f(\dot{\gamma})$ .....	69
<b>Figure IV.6.</b>	Courbes d'écoulement du gel à blanc : la viscosité en fonction de gradient de cisaillement $\dot{\gamma}$ .....	69
<b>Figure IV.7.</b>	Comparaison des 3 gels (Gel avec H.E de thym à blanc testé premier jour, Gel avec H.E de thym neutralisé avec NAOH et Gel avec H.E de thym neutralisé avec triéthanol : testés deuxième jour).....	70
<b>Figure IV.8.</b>	Rhéogramme de test d'écoulement du gel de thym préparé avec le gélifiant cpb et le Triéthanol : testé après une journée de	

	repos: a) $\tau(\dot{\gamma})$ et b) $\eta(\dot{\gamma})$ .....	71
<b>Figure IV.9.</b>	Evolution temporelle, en fluage-recouvrance, de comportement du gel de thym, préparé avec le Triéthanol en orange et avec le NaOH en vert et testé le premier jour.....	72
<b>Figure IV.10.</b>	Comparaison entre les paramètres viscoélastiques ( $G'$ et $G''$ ) des gels préparés et testée après quelques heures : en rouge gel à blanc, en bleu gel de CPB+NAOH+Thym et en rose gel de cpb+triethanol+thym.....	72
<b>Figure IV.11.</b>	Comparaison entre les deux gels de thym : gel de Triéthanol et gel de NaOH testés à température 20°C, le deuxième jour de ses préparations.....	73
<b>Figure IV.12.</b>	Evolution du comportement du gel de thym, préparé par le CPB et NaOH, avec le temps en fonction des nombres des jour..	74
<b>Figure IV.13.</b>	Effet de la température T sur les courbes d'écoulement $\tau(\dot{\gamma})$ de la crème de thym, préservée à température ambiante et testée le 9 <sup>ème</sup> jour en variant la température de 20 °C à 45 °C.....	74
<b>Figure IV.14.</b>	Effet de la température T sur les courbes d'écoulement $\eta(\dot{\gamma})$ de la crème de thym, préservée à température ambiante et testée le 9 <sup>ème</sup> jour en variant la température de 20 °C à 45 °C.....	75
<b>Figure IV.15.</b>	Evolution de la viscosité en fonction de gradient de cisaillement modélisé avec la loi de puissance.....	76
<b>Figure IV.16.</b>	Evolution du comportement de la crème de thym préservée à basse température et à température ambiante testée à neuvième jour.....	76
<b>Figure IV.17.</b>	Evolution de comportement de la crème de thym préservée à basse température et à température ambiante testé le neuvième jour.....	77
<b>Figure IV.18.</b>	Evolution de la déformation de la crème de thym en fonction de temps de conservation (nombre de jours).....	78
<b>Figure IV.19.</b>	Comparaison entre les paramètres viscoélastiques ( $G'$ et $G''$ ) de la crème de thym, préservée à température ambiante, testée le quatrième et le neuvième jour de sa préparation.....	79

## *Nomenclatures*

### *Lettres latin*

$dx dy dz$	Volume d'un élément	
$df$	Résultantes forces de volume	$N$
$F$	Force appliquée à la plaque supérieure de solide	$N$
$A$	Aire (surface) appliquée sous la plaque	$m^2$
$M_1, M_2$	Déplacements des points	$m$
$V$	Vitesse	(m/s)
$\frac{dx}{dy}$	Déplacement horizontal de la surface supérieure dx par rapport à dy	
$h$	Epaisseur de l'échantillon de fluide	$mm$
A, B	Constants	(Pa.s), (k)
T	Température	°C
P	Pression	(Pa)
k	Constante de consistance	
$n$	Puissance ou l'écart au comportement newtonien	
$R, r$	Rayon de disque ou bien de la géométrie	m
$h$	Hauteur entre les deux disques (rotor et stator)	m
$G$	Module élastique du matériau	(Pa)
$G'$	Module de conservation	(Pa)
$G''$	Module de perte	(Pa)
J	Complaisance	(Pa <sup>-1</sup> )

### *Lettres grecques*

$\sigma_{ij}$	Constitue un tenseur	(Pa)
$\tau_{zy}, \tau_{yz}$	Tenseur de contrainte symétrique	(Pa)
$\tau$	Contrainte de cisaillement	(Pa)
$ \delta $	Déplacement relatif des matériaux	
$\mathcal{E}_{ij}$	Tenseur du gradient de déplacement.	
$\partial \delta_y / \partial x$	Représente le déplacement relatif dans la direction y entre deux points initialement séparés de dx dans la direction x.	

$e_{ij}$	Tenseur symétrique par rapport à la tension du gradient de cisaillement.	
$r_{ij}$	Tenseur de rotation.	
$\frac{e\delta_{ij}}$	Tenseur isotrope ou le tenseur de dilatation de déformation volumique.	
$\gamma_{ij}$	Tenseur déviateur ou tenseur de cisaillement.	
$u_x$	Tenseur de vitesse de déformation dans le cas d'un liquide	
$\gamma$	déformation de cisaillement	(sans unité)
$\dot{\gamma}$	taux de cisaillement	( $s^{-1}$ )
$\eta$	Viscosité dynamique	(Pa.s)
$\tau_0$	Contrainte critique ou contrainte seuil pour $\dot{\gamma} = 0$ .	(Pa)
$\Omega$	Vitesse de rotation de rotor	rad. $s^{-1}$ ,
$\alpha$	Angle de disque (géométrie)	
$\delta$	Déphasage : différence de fréquence entre deux phénomènes	
$\gamma_0$	Contrainte seuil	

### ***Liste des abréviations***

AFNOR	Agence Française de Normalisation
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
EO	Essentiel Oil
HCl	Acide chlorhydrique
HE	Huile essentielle
Ia	Indice d'acidité
Ie	Indice d'ester
Is	Indice de saponification
IR	Infra-Rouge
ISO	International Standard Organization
KOH	Hydroxyde de Potassium
Ph	Potentiel d'hydrogène
RMN	Résonance Magnétique Nucl
SM	Spectrométrie de Masse
Thym	Thymus

# Introduction Générale

Depuis les temps les plus anciens, l'Homme a appris à utiliser les ressources végétales que le monde lui offre pour se nourrir, se soigner et même parfois dans ses rites religieux. L'une des valorisations possibles de cette richesse naturelle, que sont les plantes, est l'extraction de leurs essentielles, produits connus et utilisés pour leurs propriétés aromatisantes et médicinales. Vu sa diversité climatique ainsi que la nature de ses sols, l'Afrique en général et l'Algérie en particulier recèlent des ressources végétales inestimables. Le thymus est parmi les plantes les plus répandues en Algérie et c'est une plante très recherchée par les industriels de l'aromatization, de la parfumerie, des cosmétiques et de la pharmacologie. En effet, ses huiles essentielles ont suscité ces dernières années un intérêt particulier des chercheurs pour l'importance du rendement et l'intérêt thérapeutique qu'elle donnait. Le genre « thymus » fait partie des plantes aromatique et riche en huile essentielle qui lui confèrent une grande variété d'activités biologiques [1], mais son caractère acide nécessite lors de son utilisation et l'introduction dans des formulations, tel que les gels, avec des faibles concentrations. Ces produits jouent un rôle très important dans le mode de vie moderne, dont l'étude de leurs comportements rhéologiques fait partie indispensable de leurs caractérisations.

La rhéologie est la science qui étudie la déformation et l'écoulement des fluides complexes, étant aujourd'hui reconnue comme un champ de recherche important dans un large éventail de disciplines scientifiques [2]. Parallèlement, les tests rhéologiques permettent d'obtenir des informations sur la structure des matériaux et l'effet qu'une contrainte ou un temps appliqué a sur elle. En sciences pharmaceutiques, les études rhéologiques sont couramment utilisées dans le but de caractériser les opérations de fabrication, les changements au stockage et au transport, ou le comportement lors de l'administration / utilisation de produits pharmaceutiques [3]. Au final, la caractérisation contribue à l'évaluation de la pertinence et à l'optimisation de la conception des systèmes pharmaceutiques, à savoir les semi-solides, à utiliser dans un but précis.

Notre étude s'est portée sur « l'étude rhéologique des formulations à base de l'huile essentielle du thymus 'serpolet' ». La rhéologie a pour objectif d'étudier l'écoulement et la déformation des matériaux soumis à des contraintes. Elle permet en particulier de décrire le

## Introduction Générale

---

comportement viscoélastique linéaire ou non linéaire des fluides complexes dont le comportement relève à la fois d'un solide (seuil d'écoulement, élasticité) et d'un fluide visqueux. La rhéologie est une discipline de la science qui consiste à caractériser l'ensemble des matériaux, que ce soit des liquides, des solides ou des matériaux intermédiaires: ceci donne une idée des nombreuses disciplines scientifiques qui sont susceptibles d'être impliquées. La portée de cette discipline est actuellement plus large qu'il y a quelques années grâce aux progrès significatifs qui ont été accomplis en divers domaines, notamment le domaine pharmaceutique.

Notre travail est structuré en deux grandes parties. La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique mettant l'accent sur deux chapitres. Le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles et la plante du thymus. Le deuxième est consacré aux généralités sur la rhéologie, c'est-à-dire aux notions générales de rhéologie. Dans ce chapitre nous nous intéresserons aux rhéomètres et tests rhéologiques.

La partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres, le premier (troisième chapitre) présente les matériels et les méthodes utilisés pour la réalisation de ce travail, à savoir :

- Extraction de l'huile essentielle du thymus par hydrodistillation.
- Détermination des propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du thymus.
- Analyse spectroscopique de l'huile essentielle du thymus.
- Recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle du thymus.
- Préparation du gel et de la crème.
- Tests rhéologiques.

Le second (quatrième chapitre) est réservé à la présentation, discussion et l'interprétation des résultats obtenus.

Le manuscrit est achevé par une conclusion générale qui résumera l'ensemble de ces résultats.

# Chapitre I : Huile essentielle du thymus

Utilisation du thymus dans la vie humaine date depuis très longtemps, il était dédié à vénus parce qu'il apportait de l'énergie vitale pour le corps. Aetius, est un célèbre médecin grec du V<sup>ème</sup> siècle, recommandait le thym pour les sciatiques, les douleurs des reins et de la vessie, la colite et les ballonnements, pour les mélancoliques et ceux qui un esprit troublé. Au XI<sup>ème</sup> siècle, Hildegarde et Albert le mentionnent contre la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses [4].

Le genre « thymus » fait partie des plantes aromatique et est riche en huile essentielle qui lui confèrent une grande variété d'activités biologiques. Les végétaux fabriquent leur huile essentielle pour se réparer, attirer les insectes pollinisateurs, se protéger du soleil ou de froid, des prédateurs et des maladies, ou encore à guérir blessure et attaque diverses. Les huiles essentielles contiennent des corps gras comme les huiles végétales obtenues avec des pressoirs telles que l'huile de maïs, l'huile d'amande douce, etc....Les huiles essentielles et les arômes extraits à partir des herbes aromatiques et d'épices, son résultat d'un mélange complexe de substances volatiles [1].

## I.1. Plante du thymus

**Origine du nom** : le nom thym proviendrait aussi bien du latin que du grec [5] :

Thymus : «parfumer» (latin),

Thymus : «courage» (grec).

### I.1.1. Distribution géographique

- **Dans le monde**

Le genre *Thymus* est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées. Selon Dob et ses collaborateurs, il existe près de 350 espèces de thymus réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et la méditerranée [6]. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en Egypte. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar et ces collaborateurs, en 2005 [7], environ 110 espèces différentes du genre *Thymus* se concentrent dans le bassin méditerranéen [8].

- *En Algérie*

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides. Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement. Le **tableau I.1.**, montre la localisation des principales espèces de thym en Algérie [8].

**Tableau I.1.** Localisation des principales espèces de genre *Thymus* en Algérie [8].

<b>Espèces</b>	<b>Découvertes par</b>	<b>Localisation</b>
<b><i>Thymus capitatus</i></b>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<b><i>Thymus fontanesii</i></b>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie-Tunisie
<b><i>Thymus commutatus</i></b>	Battandier	Endémique Oran
<b><i>Thymus numidicus</i></b>	Poiret	Assez rare dans : Le sous-secteur de l'atlas tellien La grande et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<b><i>Thymus guyoni</i></b>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<b><i>Thymus lancéolatus</i></b>	Desfontaine	Rare dans : Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Benchicao) et dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois
<b><i>Thymus pallidus</i></b>	Coss	Très rare dans le sous-secteur de L'Atlas Saharien et constantinois
<b><i>Thymus hirtus</i></b>	Willd	Commun sauf sur le littoral
<b><i>Thymus glandulosus</i></b>	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois
<b><i>Thymus algériensis</i></b>	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais
<b><i>Thymus munbyanus</i></b>	Boiss et Reuter	Endémique dans le secteur Nord algérois

### I.1.2. Usage de la plante

*Thymus* est une des plantes aromatiques les plus populaires utilisées dans le monde entier. Ces applications sont très vastes et touchent particulièrement le domaine alimentaire et

celui de la médecine traditionnelle. Son HE est exploité en aromathérapie et dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques [9].

Le thymus est consommé en tisane, condiment ou épice. En raison de ses nombreuses propriétés ethno-médicinales, il est utilisé comme stimulant, antiseptique, sédatif, stomachique, antitussive, antispasmodique, antimicrobien, antioxydant, anti-inflammatoire, antiviral, carminatif, expectorant, anthelminthique, diaphorétique et diurétique.

En usage interne, les parties aériennes sont utilisées en décoction ou en infusion dans le traitement de la dyspepsie et autres troubles gastro-intestinaux, de la toux, des irritations de l'appareil respiratoire et des rhumes mais aussi, des infections des voies urinaires. En usage externe, elles traitent les affections liées à l'inflammation telles que les rhumatismes, les gonflements musculaires, les piqûres d'insectes et les douleurs. Elles peuvent s'employer en gargarismes, inhalations, bains de bouche et comme additif de bain pour stimuler la circulation sanguine soulageant de ce fait, la dépression nerveuse.

L'HE de Thym entre dans les formulations de divers produits pharmaceutiques comme les pommades antiseptiques et cicatrisantes, les émulsions, les cataplasmes et les liniments, ainsi que, les gouttes, les sirops, les élixirs ou les gélules pour le traitement des affections des voies respiratoires ainsi que des préparations pour inhalation [10].

### **I.1.3. Principes actifs du thymus**

- **Les acides phénoliques** : acide caféique [11], acide rosmarinique [12].
- **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotrécine, narirutine [12], lutéoline [13].
- **Les polyphénols** : tanin [14].

### **I.1.4. Thymus serpolet**

En particulier voici la particularité du thymus serpolet :

#### **I.1.4.1. Description morphologique**

Le thym serpolet est une plante ligneuse, mesurant de 10 à 30 cm de haut. Ses rameaux sont serrés, dressés et velus, recouverts des feuilles opposées courtement pétiolées, ovales, oblongues, glabres et ciliées à la base (**figure I.1**). Les fleurs sont rosées en capitules terminaux avec un calice glanduleux. L'odeur est thymolée, la saveur est chaude, aromatique, légèrement amère [9].



**Figure I.1. Photo du thymus serpolet**

#### **I.1.4.2. Classification Taxonomique**

Le thymus serpolet est un genre de plantes (couramment appelées thym ou serpolet) de la famille des lamiacées.

Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet, portant de petites fleurs roses pâles ou blanches. Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques (thym) [1].

<b>Règne :</b>	Plantae
<b>S / règne :</b>	Tracheobionta
<b>Division :</b>	Magnoliophyta
<b>Classe :</b>	Magnoliopsida
<b>S / Classe :</b>	Asteridae
<b>Ordre :</b>	Lamiales
<b>Famille :</b>	Lamiaceae
<b>Genre :</b>	<i>Thymus</i>
<b>Espèce :</b>	<i>Thymus serpolet</i>

#### **I.2. Huiles essentielles**

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques. Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit des substances odorantes, volatiles, de consistance huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs. Il faut ainsi une très grande quantité de plantes fraîches pour obtenir quelques millilitres d'huiles essentielles [15]. On ne peut définir une essence sans définir sa méthode d'extraction.

### **I.2.1. Définition de l'huile essentielle**

Il s'agit d'un extrait pur et naturel provenant de plantes aromatiques.

Selon la pharmacopée européenne, c'est un : «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction [16].

### **I.2.2. Méthodes d'extraction**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), de la nature des composés (les flavonoïdes ou les tanins, par exemple), du rendement en l'huile et de la fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées [10] :

#### **I.2.2.1. Distillation**

La technique d'extraction des HEs utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est la plus ancienne et également la plus utilisée. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'HE et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion [10].

#### **I.2.2.2. Hydrodistillation**

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien, le plus utilisé, le plus rentable, et convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique. Cependant, cette technique présente parfois des inconvénients non

négligeables dont le plus important est un risque de discrimination des composés les plus volatils par dégradation thermique ou par hydrolyse. Cette méthode peut facilement être reproduite et ne nécessite pas beaucoup de matériel, elle se déroule en deux étapes :

Le matériel végétal à distiller est placé dans un ballon avec de l'eau, comme l'illustre la figure ci dessous, en chauffant l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer ou on distingue deux phases : l'HE et l'eau aromatique (ou hydrolat).



**Figure I.2.** Photo du cleveger

Le protocole est le même pour une extraction à grande échelle, mais le ballon et le chauffe-ballon sont remplacés par un alambic et l'erlenmeyer par un vase florentin [17].

### **I.2.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce système d'extraction (steam distillation), le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau, il est placé sur une grillé perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. Cette dernière endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant.

Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques ; le matériel végétal ne baignant pas directement dans l'eau bouillante [17].

### **I.2.2.4. Hydrodiffusion**

Cette technique relativement récente, est une variante de l'entraînement à la vapeur. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas et à pression réduite (0,02 – 0,15 bar), la vapeur d'eau à travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc,

moins dommageable pour les composés volatils. Cependant, l'HE obtenue contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale « essence de percolation » [17].

#### **I.2.2.5. Extraction à froid**

Elle constitue le plus simple des procédés mais ne s'applique qu'aux agrumes. Le principe de ce traitement mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en cellules sécrétrices en essences. L'essence libérée est recueillie par un courant d'eau puis est isolée par décantation [17].

#### **I.2.2.6. Extraction par solvants organiques**

Dans ce procédé, l'extrait de plantes est obtenu au moyen de solvants non aqueux. Les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane et l'éthanol, moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres. Un lavage à l'éthanol permet l'élimination de ces composés non désirables. Après distillation de l'alcool, le produit obtenu est appelé « absolu ». L'emploi de cette méthode est restrictif, ceci se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité ainsi que, la réglementation liée à la protection de l'environnement [17].

#### **I.2.2.7. Enfleurage**

Cette technique est employée en parfumerie, elle est réservée aux fleurs ou aux organes les plus fragiles des plantes, elle consiste à pratiquer une diffusion des composés odorants dans une masse de matière grasse animale. Si le procédé se fait à froid, il s'agit d'une extraction par enfleurage, si par contre, il se pratique à chaud, les graisses étant fondues au bain-marie (50°C – 70°C), il s'agit alors d'une digestion [15].

Ce procédé classique et ancien n'est plus utilisé ; d'une part, la diffusion est lente et d'autre part, il est nécessaire de renouveler plusieurs fois les pétales pour obtenir des pommades concentrées. De plus, les composés odorants extraits doivent être séparés de leur charge grasse [15].

#### **I.2.2.8. Extraction assistée par micro-ondes**

Cette technique combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés

volatils peuvent être recueillis par un solvant ou entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation.

L'extraction assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée étant donné les avantages qu'elle présente : technologie verte, économie d'énergie (température plus basse) et de temps (dix fois plus rapide), dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées, mais aussi, utilisation de petites quantités de solvant et un rendement d'extraction élevé [17].

#### **I.2.2.9. Extraction par fluide à l'état supercritique**

Ce procédé utilise généralement le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) qui au-delà du point critique ( $P= 73,8$  bars et  $T= 31,1$  °C), possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz, ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction. Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente. En jouant sur les conditions de température et de pression, il est possible de rendre l'extraction plus sélective aux composés odorants et ainsi, obtenir des extraits de composition tout à fait semblable aux huiles essentielles, non chargés en molécules non volatiles. Ainsi, la température et la pression à ne pas dépasser pour extraire uniquement les principes volatils est de 60°C et 60 bars.

D'autres travaux de recherche montrent la possibilité d'utiliser l'eau comme un solvant alternatif au  $\text{CO}_2$ . Toutefois, son utilisation est relativement limitée, ceci est dû à ses conditions d'obtention délicates ( $P= 221$  bars et  $T= 374$  °C) et à sa nature corrosive. L'avantage de cette technique d'extraction est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus, elle permet d'éviter la dégradation des composés thermosensibles offrant ainsi une huile de qualité supérieure. A ces différents avantages, s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité du  $\text{CO}_2$ .

L'unique point faible de cette méthode est le coût très élevé des appareillages lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars [17].

#### **I.2.3. Propriétés physico-chimiques et aromatiques**

Le thymus fait parti des plantes qui présentent à la fois des propriétés physico-chimiques ainsi qu'aromatiques.

### I.2.3.1. Propriétés physico-chimiques

Les HEs sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire. Elles sont en général liquides à température ambiante, volatiles, inflammables, très odorantes et ne sont que très rarement colorées. Leur densité est le plus souvent inférieure à 1 sauf pour les huiles essentielles de sassafras (*Sassafras. albidum*), de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) et de cannelle (*Cinnamomum. zeylanicum*). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active).

Les HEs ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, elles peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol...etc) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante.

Les HEs sont solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques mais sont peu solubles dans l'eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d'émulsion plus ou moins stable qui tendent à se collecter en gouttelettes de grosse taille. Elles sont également très altérables et s'oxydent au contact de l'air et de la lumière [10].

### I.2.3.2. Propriétés aromatiques et médicinales

Les propriétés des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20ème siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Récemment, l'attention s'est portée sur les herbes et les épices comme source d'antioxydants, qui peuvent être employés pour se protéger contre les effets du stress oxydant.

Différentes plantes aromatiques sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE). Les HEs possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens.

Dans des préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques antibactériens et antifongiques. Les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Lamiacées : thym, origan lavande, menthe, etc [18].

#### **I.2.4. Méthodes d'analyses**

Les HEs présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activités tels que la pharmacie, la cosmétique, la parfumerie et l'agroalimentaire. Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des HEs reste une étape importante. En effet, ces dernières doivent répondre à des caractéristiques bien déterminées. Ces critères sont définis dans des normes internationales ISO (International Organisation for Standardization) ou françaises AFNOR (Association Française de Normalisation), ainsi, sont contrôlées les propriétés organoleptiques et physiques telles que la coloration, l'odeur, la réfraction, la solubilité mais également les propriétés chimiques telles que les indices d'acides et d'esters. L'analyse des HEs consiste à l'identification et la détermination de la teneur des différents composés constituant une essence. C'est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La première approche qui est la plus couramment employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique, généralement la chromatographie en phase gazeuse (CPG) permettant l'individualisation des constituants avec une technique spectroscopique, la spectrométrie de masse (SM) et/ou la spectrométrie Infra-Rouge par Transformée de Fourier (IRTF) [10, 17].

##### **I.2.4.1. Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**

La CPG est une technique qui permet de séparer et d'analyser les molécules organiques d'un mélange complexe. Elle s'applique principalement aux molécules aisément vaporisables et thermiquement stables. Elle réalise à la fois une analyse qualitative et quantitative. Le CPG est constitué de trois modules : un injecteur et un four.

L'échantillon est vaporisé et injecté en tête de colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile (hélium, azote, argon ou hydrogène). La colonne peut être de deux types : colonne remplie ou colonne capillaire. Dans le cas des huiles essentielles, les colonnes capillaires semblent plus adaptées ; elles sont en métal, en verre ou plus souvent en silice fondue. Les substances traversent la totalité de la colonne où est placée la phase stationnaire. Elles sont séparées en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire.

Leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'élution et elles sont donc séparées en fonction du temps. Dès qu'elles arrivent à l'extrémité de la colonne, elles sont détectées et enregistrées. Les détecteurs utilisés sont généralement des détecteurs à ionisation de flamme (FID) ou à conductivité thermique (TCD).

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires à température constante (indice de Kovats) ou en programmation de température (indice de rétention). Ils sont ensuite comparés avec ceux de produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutes fois il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, au moment de la comparaison des indices de rétention obtenus au laboratoire et ceux de la littérature (en particulier sur colonne polaire) [10, 17].

#### **I.2.4.2. Couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM)**

Dans le domaine particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est aujourd'hui la technique de référence. En effet, l'association des deux techniques fournit un instrument d'analyse très performant. L'identification de produits est réalisable pour des quantités de l'ordre du nanogramme et la détection par fragmentométrie est possible jusqu'au picogramme. De plus, le couplage permet de connaître très exactement la composition chimique des différents constituants d'un mélange complexe et la recherche d'éventuelles traces de produits indésirables tels que des pesticides ou des produits chimiques ajoutés.

Dans la source d'ionisation, les molécules sont bombardées à l'aide d'électrons, conduisant ainsi à la formation d'ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Le faisceau d'ions, ayant traversé l'analyseur de masse, est ensuite détecté et transformé en un signal utilisable. Finalement, l'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs des masses et des intensités des pics et en courant ionique total. Il permet l'examen des données enregistrées et leur manipulation : spectres de masse, chromatogrammes reconstitués, soustraction d'un spectre par rapport à un autre, calcul d'une moyenne sur plusieurs spectre, etc. Les spectres ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans des bibliothèques informatisées contenant plusieurs milliers de spectres [10, 17].

#### **I.2.4.3. Résonance Magnétique Nucléaire RMN**

L'utilisation de la RMN pour l'identification de molécules connues présentes dans une HE a été non seulement suggérée mais fortement conseillée. En fait, jusqu'en début des années 90, la RMN permettait de contrôler la présence d'un composé préalablement identifié ou suspecté par une autre technique (CPG/SM par exemple). Parmi toutes les techniques spectroscopiques, la RMN est la technique de choix pour la caractérisation des molécules

organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules.

Le principe d'identification d'un composé par RMN est basé, comme dans toutes les autres méthodes comparatives, sur l'attribution directe, dans le spectre du mélange, de différentes raies de résonance d'un composé donné en les comparant avec celles des spectres de produits purs contenus dans une bibliothèque de spectres. Par rapport aux précédentes techniques de couplage, dans le cas de la RMN, chaque composé ne fait pas l'objet d'une individualisation [10, 17].

### **I.2.5. Activités pharmacologiques**

Depuis longtemps, les HEs sont utilisées en thérapeutique. Les applications thérapeutiques des HEs sont vastes. Elles requièrent de bonnes connaissances de ces substances et du fonctionnement du corps humain. L'usage des HEs en médecine ne fut jamais abandonné malgré la découverte de processus de synthèse organique et la naissance de l'industrie pharmaceutique. Elles sont considérées comme un véritable réservoir de molécules de base qui sont irremplaçables.

De nombreuses HEs se trouvent dans la formule d'un grand nombre de produits pharmaceutiques : sirops, gouttes, gélules. Elles rentrent aussi dans la préparation d'infusion telle que : la verveine, le thym, la menthe et autres. Elles ont une action anti-inflammatoire, antiseptique, désodorisante, insecticide et antioxydante [9].

#### **I.2.5.1. Activité antioxydante**

Les propriétés antioxydantes des HEs sont depuis peu massivement étudiées. Les HEs de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. Le thymol et le carvacrol sont les composés les plus actifs. L'activité antioxydante des HEs est également attribuée à certains alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpéniques : le linalool, le 1,8-cinéole, le géraniol/neral, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes :  $\gamma$ -terpinène et l' $\alpha$ -terpinolène [9].

#### **I.2.5.2. Activité anti-inflammatoire**

Les HEs sont également utilisées en milieu clinique pour soigner des maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite. Le potentiel thérapeutique très varié des HEs à attirer, ces dernières années, l'attention de chercheurs quant à leur possible activité contre le cancer. De ce fait, les huiles essentielles et leurs constituants

volatils font dorénavant l'objet d'études dans la recherche de nouveaux produits naturels anticancéreux [9].

### **I.2.5.3. Activités antimicrobiennes des huiles essentielles**

Il est connu depuis l'antiquité que les HEs présentent une activité antiseptique non négligeable. Elles sont utilisées dans de nombreux domaines : pharmacie, cosmétique, agro-alimentaire ... etc. a la fin du XIX<sup>e</sup> et au début du XX<sup>e</sup> siècle, plusieurs travaux scientifiques relataient l'action antiseptique de plusieurs HEs.

En phytothérapie, les huiles essentielles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, comme les bactéries endocanaliaires ou la microflore vaginale, et d'origine fongique, comme les dermatophytes, les moisissures allergisantes ou les champignons opportunistes. Elles présentent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et des infectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Des études récentes ont prouvé que les HEs ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures et que leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs [9]. En 2005, Sacchetti et ses collaborateurs [19] ont étudié l'activité antifongique de 11 HEs en utilisant cinq levures de pourritures d'aliments : *Candida albicans*, *Rhodotolura glutinis*, *Schyzosacchomyces pombe*, *Saccharomyces cervisia* et *Yarrowia lypolitica*. Les résultats obtenus ont montré que l'HE du thymus et *Cymbopogon citratus* étaient les plus efficaces pour inhiber les 5 levures testées. Les effets antifongiques du thymus sur les différentes levures et moisissures ont été décrits dans plusieurs études. En effet, l'effet anticandidosique de l'HE du thym in vitro a été rapporté par plusieurs auteurs [9].

Dans la même optique et dans la même année, Ouraini et ses collaborateurs [20] ont montré que l'HE du thymus a des propriétés antifongiques in vitro sur les différentes étapes du développement des dermatophytes.

- **Activité liée à la composition chimique des huiles essentielles**

Le principal facteur modifiant l'activité antimicrobienne des HEs est le type et la structure moléculaire des composants actifs présents dans les HES. Ainsi in vitro, une activité antimicrobienne plus élevée des terpènes oxygénés en comparaison des terpènes hydrocarbures a été observée. La structure moléculaire semble présenter un rôle aussi

important que la présence d'oxygène dans la molécule de terpène : la caractéristique lipophile du squelette hydrocarboné ainsi que la propriété hydrophile des groupes fonctionnels sont déterminantes vis-à-vis de l'activité antimicrobienne des terpénoïdes [9]. Sur cette base, l'ordre d'activité antimicrobienne de ces composés est le suivant [9] :

**Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Oxydes > Hydrocarbures > Esters**

En 2005, Stylo et al., ont montré que la nature antimicrobienne des huiles essentielles est apparemment en rapport avec leur fort contenu phénolique en particulier en thymol et carvacrol [9]. Ils ont prouvé que : plus les teneurs phénols sont élevées, plus les HEs sont efficaces.

Pinto et al. en 2006 ont rapporté que les espèces du genre thym, qui contiennent une quantité importante de phénols, présentent un large spectre d'activité sur les moisissures et champignons filamenteux [21].

En 2008, Kaloustian et al., confirment que ce sont les phénols (thymol, carvacrol) qui donnent à l'huile essentielle le caractère antibactérien [22]. Les terpènes phénoliques, comme le thymol et le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques dans des préparations pharmaceutiques. Par ailleurs en 1998, Hilan et Sfeir ont prouvé que le thymol est 20 fois plus antiseptique que le phénol [23].

- **Type de microorganismes ciblés**

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des HEs est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire vis-à-vis des huiles essentielles.

Lahlou en 2004 [24] a souligné que la sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une testé essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, bio statique vis-à-vis d'autres ou n'avoir effet. C'est pour cela qu'il est important de mentionner la dénomination complète, le Gram des microorganismes ainsi que l'espèce botanique et le chemotype de l'huile schématique.

En effet, Marzouk et son équipe (2006) [25] ont trouvé que les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif. La susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram, ou dépend des huiles essentielles utilisées. D'autres travaux rapportent que les bactéries à Gram négatif apparaissent plus résistantes que celles à Gram + vis-à-vis des HEs [9].

#### **I.2.5.4. Mode d'action antimicrobienne des huiles essentielles**

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais a plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. De façon générale, il a été observé une diversité d'action toxique des HEs sur les bactéries comme la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, la fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules [9].

Cox et son équipe ont rapporté que l'activité antifongique des HEs est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique suivie de sa rupture entraînant une fuite du contenu cytoplasmique et donc la mort de la levure [26].

En effet, Glordani et Kaloastian ont noté que les composés terpéniques des HEs et plus précisément leurs groupements fonctionnels tels que les phénols et les aldéhydes réagissent avec les enzymes membranaires et dégradent la membrane plasmique de levures [27].

De même, Gideon et son équipe ont rapporté que les phénols sont responsables des dégâts irréversibles au niveau de la membrane et des parois et des parois cellulaires des bactéries [9].

#### **I.2.6. Huile essentielle du thymus**

L'HE du thym est extraite principalement à partir des feuilles et des sommités fleuries. La tige fleurie du thymus contient en plus de l'huile essentielle des flavonoïdes (thymonine, cirsilinéol et 8-methoxy- cirsilinéol) et des acides phénols (notamment caféique et rosmarinique), des tanins et une résine. L'HE du thym est une huile susceptible de présenter de grandes variations, qui sont principalement d'origine génétique et edaphoclimatique, elle dépend également de la saison de cueillette (stade végétatif) [28].

##### **I.2.6.1. Rôles physiologiques**

La fonction biologique des HEs demeure le plus souvent obscure. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique, vu le rôle de certaines d'entre-elles aussi bien dans le domaine des interactions végétales (inhibiteur de germination agent allelopatique) que dans celui des interactions végétales-animales (protection contre les prédateurs, insectes, champignons). Pour certains auteurs il pourrait constituer des supports de « communication ». Les vapeurs aromatiques saturent l'air autour de la plante: le jour, elles empêchent la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable, facilitant ainsi certaines

réactions chimiques. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques dans l'attraction de pollinisation [29].

### I.2.6.2. Huile essentielle du thymus serpolet

Le thymus serpolet contient 0.15 à 0.60 % d'essence incolore à jaune, d'odeur semblable à celle de la mélisse et du thym [30].

- **Composition de l'huile essentielle du thymus serpolet**

**Tableau I.2.** Composants de l'huile du thymus serpolet et leur pourcentage [30].

Composés	Avant floraison (%)	floraison (%)
$\alpha$ -thujene	0.7	1.2
$\alpha$ -pinene	0.7	1.0
camphene	1.3	1.6
sabinene	0.2	0.2
$\beta$ -pinene	0.2	0.3
myrcene	0.7	1.0
$\alpha$ -phellandrene	0.1	0.2
$\alpha$ -terpinene	2.3	2.7
p-cymene	21.1	20.7
1.8-cineole + limoneme	1.1	1.3
(E)- $\beta$ -ocimene	-	0.1
$\gamma$ -terpinene	21.9	22.7
trans-sapinene hydrate	0.9	0.1
linalool	1.8	1.4
camphor	-	0.1
Borneol	3.9	3.1
terpinen-4-ol	0.3	0.2
$\alpha$ -terpineol	-	0.2
methyl thymol	1.5	0.9
methyl carvacrol	3.2	2.8
thymol	18.7	18.7
carvacrol	1.3	0.4

<b>thymyl acetate</b>	1.5	0.5
<b><math>\beta</math>-bourbonene</b>	0.2	0.2
<b><math>\beta</math>-caryophyllene</b>	7.1	0.1
<b><math>\alpha</math>-humulene</b>	0.3	0.2
<b>germacrene D</b>	6.0	5.1
<b>bicyclogermacrene</b>	0.6	0.3
<b><math>\delta</math>-cadinene</b>	0.1	0.1
<b>spathulenol</b>	0.2	0.1
<b>caryophyllene oxide</b>	0.1	0.7

### Conclusion

Les huiles essentielles sont des extraits naturels connues par leur activité biologique vis-à-vis des bactéries, champignons, insectes, etc. Les recherches effectuées sur leurs effets biologiques ont confirmé, l'importance de leurs utilisations dans les domaines médicale, phytosanitaire, assainissement des locaux, ainsi que la préservation des produits cellulose. Les thymus représentent une source importante des HEs, riche en phénols (thymol et carvacrol), composés chimiques de plus grande efficacité et a plus large spectre, la recherche de nouvelles applications de cette essence est prometteuse [29].

## Chapitre II : Rhéologie des fluides complexes

La rhéologie est une discipline de la science qui consiste à caractériser l'ensemble des matériaux, que ce soit des liquides, des solides ou des matériaux intermédiaires: ceci donne une idée des nombreuses disciplines scientifiques qui sont susceptibles d'être impliquées [2]. La portée de cette discipline est actuellement plus large qu'il y a quelques années grâce aux progrès significatifs qui ont été accomplis en divers domaines, notamment le domaine pharmaceutique [31].

### II.1. Définition de la rhéologie

Le terme « **rhéologie** » a été utilisé pour la première fois en 1929 par Eugène Cook Bingam. Il provient des deux racines grecques : « **rhéo** » qui signifie « couler » et « **logos** » qui signifie « l'étude ». La rhéologie est la science qui traite l'écoulement, la déformation, et plus précisément la viscosité des matériaux sous l'action des contraintes physiques [32].

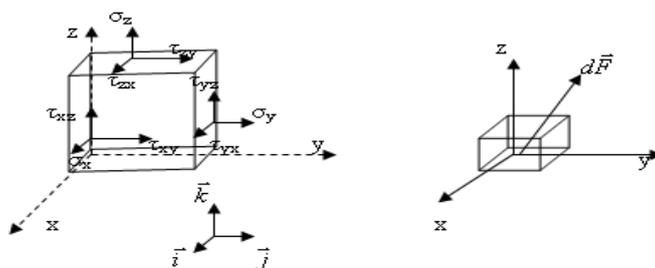
### II.2. Grandeurs fondamentales de la rhéologie

La rhéologie fait intervenir plusieurs grandeurs dynamiques et cinématiques, à savoir : la contrainte, la déformation, le taux (ou la vitesse) de déformation, et la viscosité.

#### II.2.1. Tenseur des contraintes

Considérons un petit élément de volume  $dx dy dz$  soumis à des forces de volume, dont la résultante est  $df$ . Les contraintes correspondantes sur les faces orientées du parallélépipède (voir la figure II.1) sont définies par un tenseur d'ordre 2 de neuf composantes [33].

$$\sigma_{ij} = \begin{vmatrix} \sigma_x & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{yx} & \sigma_y & \tau_{yz} \\ \tau_{zx} & \tau_{zy} & \sigma_z \end{vmatrix} \quad (\text{Eq. II.1})$$



**Figure II.1.** Représentation de tenseur des contraintes.

Ce tenseur de contrainte est **symétrique**. Donc il est caractérisé par six composantes.

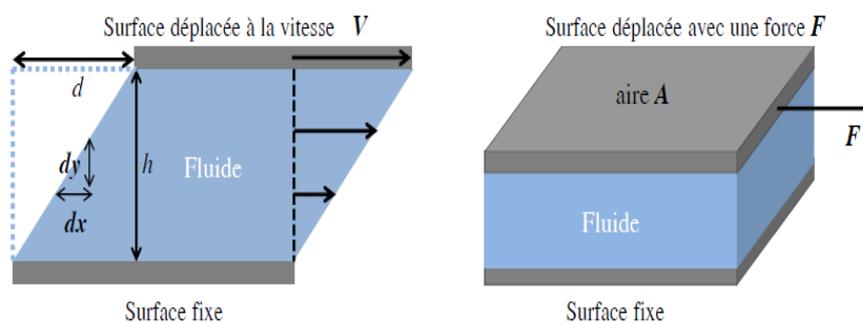
- Les contraintes **normales** sont positives si ce sont des contraintes d'extension, sont négatives si elles sont de compression.
- Dans le cas du **cisaillement simple** entre deux plans, les contraintes non nulles sont :

$$\tau_{yx} = \tau_{xy} = \tau \quad (\text{Eq. II.2})$$

### II.2.1.1. Contrainte de cisaillement

Entre les deux surfaces solides, on peut considérer la matière comme un empilement de couches susceptibles de glisser les unes par rapport aux autres sous l'action du cisaillement, faisant apparaître des contraintes entre chaque couche. On parle de contrainte de cisaillement  $\tau$  « shear stress » (Eq. II.3), quotient de la force  $F$  appliquée à la plaque supérieure et de l'aire sous la plaque  $A$  (Figure II.2).

$$\tau = \frac{F}{A} \text{ [Pa]} \quad (\text{Eq. II.3})$$



**Figure II.2.** Cisaillement dans le cas du modèle à deux plaques.

Un certain nombre de conditions sont nécessaires à l'utilisation du modèle à deux plaques :

- ✓ Pas de glissement aux interfaces fluide/solide (le fluide adhère aux deux plaques).
- ✓ Écoulement laminaire (pas de turbulences).
- ✓ Taux de cisaillement constant (c'est la supposition de mesure faite lors de l'utilisation de rhéomètres).

La notion de cisaillement est en pratique associée à beaucoup de gestes ou de procédés de notre vie courante (application d'une crème sur la peau, du dentifrice sur la brosse à dents rinçage avec un gel ou champoing) [34].

### II.2.2. Tenseur des déformations pour les déplacements infinitésimaux

L'amplitude des déformations dans un matériau est généralement définie en considérant le déplacement infinitésimal relatif la différence entre les déplacements des points  $M_1$  et  $M_2$  rapportée à leur écartement initial.

Le déplacement relatif est noté  $|\delta|$  est défini par [33] :

$$|\delta| = \lim_{M_1 M_2 \rightarrow 0} \frac{\vec{\delta}_2 - \vec{\delta}_1}{M_1 M_2} = \left( \frac{d\vec{\delta}}{dS} \right)_{M_1} \quad (\text{Eq. II.4})$$

Le déplacement relatif est un tenseur à 9 composantes. Ce tenseur,  $\mathcal{E}_{ij}$  est le tenseur du gradient de déplacement.

$$\left| \frac{\partial \delta_j}{\partial x_i} \right| = \begin{vmatrix} \frac{\partial \delta_x}{\partial x} & \frac{\partial \delta_x}{\partial y} & \frac{\partial \delta_x}{\partial z} \\ \frac{\partial \delta_y}{\partial x} & \frac{\partial \delta_y}{\partial y} & \frac{\partial \delta_y}{\partial z} \\ \frac{\partial \delta_z}{\partial x} & \frac{\partial \delta_z}{\partial y} & \frac{\partial \delta_z}{\partial z} \end{vmatrix} \quad (\text{Eq. II.5})$$

$\partial \delta_y / \partial x$  représente le déplacement relatif dans la direction y entre deux points initialement séparés de dx dans la direction x.

**Le cisaillement simple** est un mode de déformation très utilisé en rhéologie expérimentale. De plus il se rencontre très souvent dans la pratique. En cisaillement simple, il n'y a pas de modification de volume mais une rotation une déformation.

$$e_{ij} = \frac{d\delta_x}{dy} \begin{vmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{vmatrix} \quad (\text{Eq. II.6})$$

Le tenseur de rotations est :

$$r_{ij} = \frac{d\delta_x}{dy} \begin{vmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{vmatrix} \quad (\text{Eq. II.7})$$

La rotation moyenne (diagonale) est fournie par  $\frac{1}{2} r_{ij}$  soit ici  $\gamma/2$ .

#### II.2.2.1. Déformation de cisaillement

On définit la déformation de cisaillement macroscopique subie par le fluide comme étant le déplacement horizontal de la surface supérieure, d, divisé par la distance inter-plaques,

$h$  (voir la figure II.2). On définit alors la déformation de cisaillement locale,  $\gamma$ , « shear strain » par l'équation (Eq. II.8). La déformation de cisaillement est dite constante si en tout point  $\gamma$  est égal à la déformation macroscopique [34].

$$\gamma = \frac{dx}{dy} \text{ [sans unité]} \quad (\text{Eq. II.8})$$

### II.2.3. Tenseur de la vitesse de déformation

- Dans le cas des matériaux solides, les vitesses de déplacement sont faibles et les contraintes sont en relation directe avec les déformations observées sur une courte période, d'où la définition des tenseurs de gradient déplacement et de déformation.
- Dans le cas des liquides, on utilise un tenseur de vitesse de déformation.

Une déformation  $((\partial\delta_x/\partial y)dy)$  correspond une vitesse de déformation  $u_x = (\partial/\partial t)((\partial\delta_x/\partial y)dy)$  [33].

#### II.2.3.1. Taux de cisaillement

On définit le taux de cisaillement  $\dot{\gamma}$  « shear rate », que l'on appelle également par abus de langage « **cisaillement** » ; il s'agit de la dérivée par rapport au temps de la déformation (Eq. II.9). En pratique il est souvent défini comme le quotient de la vitesse de la surface supérieure divisée par l'épaisseur de l'échantillon de fluide (gradient de vitesse) [33].

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} = \frac{V}{h} \text{ [s}^{-1}\text{]} \quad (\text{Eq. II.9})$$

### II.2.4. Viscosité dynamique (apparente) ( $\eta$ )

La viscosité, propriété physique des fluides, exprime l'effet de retard entre deux couches adjacentes d'un même fluide pendant son écoulement (Figure II.2). Elle représente donc la résistance à l'écoulement d'un système soumis à une contrainte tangentielle. Sa connaissance est une chose primordiale dans l'étude rhéologique d'un fluide. La viscosité dynamique est donnée par la relation suivante (cas des fluides Newtoniens) :

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \text{ [Pa.s]} \quad (\text{Eq. II.10})$$

**Remarque :** Les fluides non-newtoniens ne sont pas caractérisés par une seule viscosité pour n'importe quelle vitesse de cisaillement. C'est pourquoi on fait appel à la viscosité apparente, qui est défini comme étant la viscosité du fluide à un point de cisaillement donné [35].

### II.3. Paramètres influant sur la viscosité d'un fluide

Les paramètres qui influent la viscosité d'un fluide, en général, sont : la température et la pression. Mais dans notre étude, on s'intéresse seulement à la température, puisque, c'est le paramètre le plus important en rhéologie. D'après la littérature, aucune théorie complète n'existe pour estimer précisément la variation de la viscosité d'un liquide en fonction de la température. Toutes les relations sont empiriques ; la seule certitude étant que la viscosité des liquides décroît quand la température croît dans des conditions isobariques. Il existe plusieurs relations empiriques représentant la variation de la viscosité en fonction de la température dont l'expression peut être ramenée à une loi exponentielle du type [36] :

$$\eta = A \exp\left(\frac{B}{T}\right) \quad (\text{Eq. II.11})$$

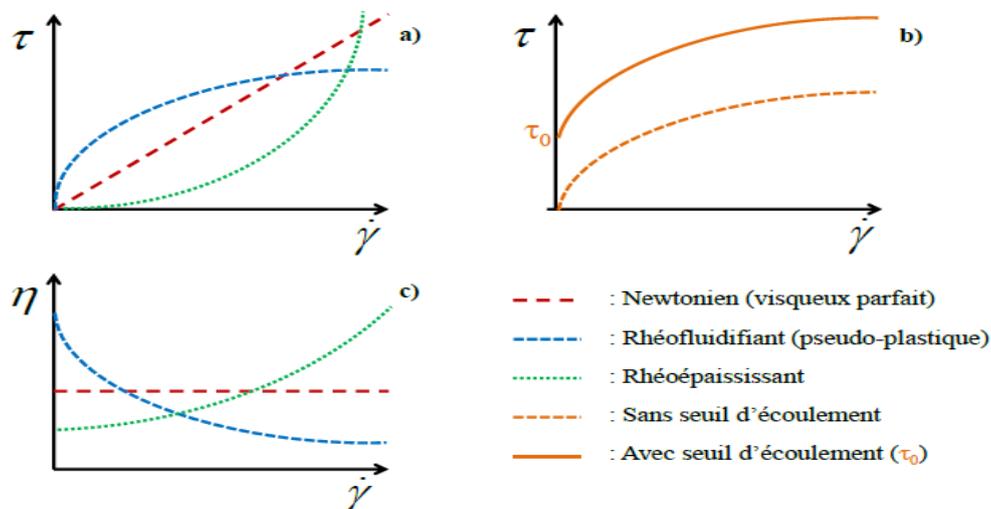
Où A (Pa. s) et B (K) sont des termes constants.

### II.4. Écoulements des fluides complexes

L'objectif de la rhéologie est non seulement d'étudier les propriétés viscoélastiques de fluides mais aussi de modéliser et de classer certaines familles de matériaux entre elles. La manière dont s'écoule le matériau permet de tracer différentes courbes caractéristiques du matériau.

#### II.4.1. Types d'écoulements

En général, l'état du fluide est caractérisé par son comportement mécanique donné, en premier lieu par la relation entre  $\tau$  et  $\dot{\gamma}$ .



**Figure II.3.** Courbes d'écoulement théoriques (échelle linéaire) – comportements rhéologiques de référence [37].

Le rhéomètre, appareil principal en rhéologie, permet d'établir cette relation par la mesure de la viscosité à différents gradients de cisaillement ou à différentes contraintes [37]. Celui-ci permet à identifier le type d'écoulement du fluide. La figure II.3, résume tous types d'écoulement suivant la nature paramètres qui influent sur l'aspect de la courbe d'écoulement.

#### II.4.1.1. Fluide newtonien

Un fluide est dit Newtonien (ou fluide parfait), si sa viscosité ( $\eta$ ) est constante quel que soit le gradient de vitesse à T et P fixés, en plus de sa elle est indépendante du temps, dans ce cas on parle de la viscosité absolue. Les fluides Newtoniens sont caractérisés par un modèle linéaire et leur comportement rhéologique est proportionnel à la viscosité absolue ( $\eta$ ), où la tension de cisaillement ( $\tau$ ) est directement proportionnelle à la vitesse de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ), également l'équation rhéologique d'état est donnée par la relation (Eq .II.12) [38] :

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad (\text{Eq. II.12})$$

Pour ces fluides, la contrainte de cisaillement varie linéairement avec la vitesse déformation (comme le montre la figure II.3.a). La fonction  $\eta$  est une constante qui coïncide avec la viscosité dynamique [39].

$$f(\gamma, \dot{\gamma}, t) = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = \text{Cte} = \eta \quad (\text{Eq .II.13})$$

Ce comportement à l'écoulement est le plus simple. Dans ce cas, la viscosité dynamique  $\eta$  est indépendante de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$ .

#### II.4.1.2. Fluide non newtonien

On dit d'un fluide qu'il est non-Newtonien lorsque sa courbe d'écoulement est non linéaire. C'est-à-dire que la viscosité n'est plus constante mais dépend des conditions d'écoulement, du taux de cisaillement et parfois même de l'histoire de l'élément fluide. La caractérisation rhéologie d'un fluide consiste à étudier la relation qui existe entre sa déformation et la contrainte qui lui est appliquée. Les fluides non-newtoniens sont subdivisés en trois groupes, qui sont caractérisés par des comportements rhéologiques distincts :

- **Fluides rhéofluidifiant**

Appelés également pseudo-plastiques, ces fluides sont caractérisés par la diminution de leurs viscosités apparentes avec l'accroissement de la vitesse déformation. Ce comportement,

représenté en courbes bleue de figure. II.3.a et figure II.3.c, est très répandu et on peut citer en guise d'exemples : les polymères à longues chaînes en solution ou à l'état fondu, les colles, les pâtes à papier, les ciments... [39].

- **Fluides rhéoépaississants**

Beaucoup moins fréquent, ces fluides sont caractérisés par une viscosité apparente qui décroît avec l'accroissement de la vitesse de déformation (voir la courbe verte de la figure II.4.c). Tel comportement est le cas des solutions d'amidon, des sables mouillés et compactés, et certaines huiles polymériques [39].

- **Fluides plastiques (fluides à seuil de contrainte)**

Certains fluides ont un comportement rhéofluidifiant mais sont caractérisés par l'existence d'une contrainte critique (ou seuil)  $\tau_0$  : si la contrainte appliquée au fluide est inférieure à cette contrainte seuil, aucune déformation ne se produit, le fluide ne coule pas. Un exemple courant de liquide avec contrainte critique est la pâte à dentifrice : elle ne peut sortir du tube sous l'effet de son propre poids, il faut lui appliquer une contrainte nettement supérieure à sa contrainte seuil pour qu'elle s'écoule (Figure II.3) [40].

## II.5. Modèles rhéologiques

### II.5.1. Modèle loi de puissance (liquides sans contrainte critique)

Ces fluides sont représentés, en général, par une loi de puissance ou encore loi d'Ostwald DE Waele.

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad \text{avec } 0 < n < 1 \quad (\text{Eq. II.14})$$

La viscosité s'écrit alors :

$$\eta = k \dot{\gamma}^{n-1} \quad (\text{Eq. II.15})$$

Où  $k$  est une constante et  $n$  est un exposant qui traduit l'écart au comportement newtonien pour lequel  $n = 1$ , un fluide rhéofluidifiant est représenté par  $n < 1$  et un fluide rhéoépaississant par  $n > 1$ . Bien que ce modèle permette de résoudre bon nombre de problèmes d'écoulement de fluides non-newtoniens, il faut garder à l'esprit qu'il décrit  $n$  n'ont pas d'interprétation physique claire [41].

En réalité un fluide rhéofluidifiant ne l'est que pour une certaine gamme de taux de cisaillement. Pour les faibles cisaillements, on observe un comportement newtonien, avec un

éventuel plateau de viscosité  $\eta_0$  appelée viscosité à cisaillement nul. Pour des cisaillements élevés, on observe aussi un plateau de viscosité  $\eta_\infty$  appelée viscosité à cisaillement infini [42].

### II.5.2. Fluides de Bingham (liquides avec contrainte critique)

Le modèle de Bingham reste la représentation la plus simple d'un fluide à seuil. Il s'écrit sous forme :

$$\begin{cases} \tau = \left(\frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} + k\right) \dot{\gamma} & \tau > \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0 & \tau \leq \tau_0 \end{cases} \quad (\text{Eq. II.16})$$

Où  $\tau$  est la deuxième invariante du déviateur du tenseur des contraintes.

### II.5.3. Fluides de Herschel-Buckley

Ce modèle découle d'une simple généralisation de modèle de Bingham. Il est décrit par la loi :

$$\begin{cases} \tau = \left(\frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} + k\dot{\gamma}^{n-1}\right) \dot{\gamma} & \tau > \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0 & \tau \leq \tau_0 \end{cases} \quad (\text{Eq. II.17})$$

Où  $k$  est la consistance du fluide,  $n$  son indice d'écoulement et  $\tau_0$  la contrainte seuil.

Ces modèles permettent de représenter le comportement rhéologique de ces fluides au-delà de la contrainte seuil. Ils ont été appliqués pour prendre en compte les propriétés rhéologiques de matériaux très variés comme les peintures, les boues, la pâte dentifrice, la mayonnaise, le chocolat fondu ou des crèmes de toutes sortes [43]. Ces matériaux appartiennent et à la famille des suspensions de particules ou émulsion concentrées.

## II.6. Rhéomètres et tests Rhéologiques

### II.6.1. Types de Rhéomètre et équipements

Le rhéomètre, comme celui présenté dans la figure II.4, est un appareil conçu spécialement pour mesurer les propriétés rhéologiques des fluides. Il permet une caractérisation plus complète en termes de viscosité, de plasticité (seuil d'écoulement) et d'élasticité [44]. Il est constitué d'un axe de rotation lié à un moteur qui peut être soit à vitesse imposée, soit à un couple imposé et d'une cellule de mesure. La cellule est composée d'une partie fixe (stator) et d'une partie mobile (rotor). Le fluide à étudier est confiné entre le rotor et le stator dans une zone appelée entrefer.

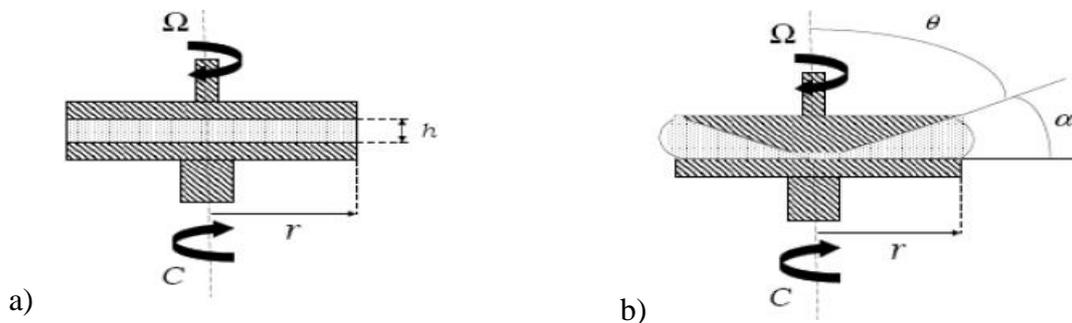
Les trois grandeurs expérimentales qui entrent en jeu lors de la mesure sont le couple mécanique appliqué (mesuré), la vitesse angulaire  $\omega$  de rotation du rotor et l'angle de rotation du rotor mesuré à partir de la position au repos. Les écoulements sont bien définis, utilisant généralement les géométries de cylindres coaxiaux ou cellule de couette, plan-plan ou cône-plan.



**Figure II.4.** Rhéomètre à contrainte imposée de type Antan Paar MCR 302.

La géométrie de couette est particulièrement bien adaptée aux fluides peu visqueux, qui n'ont pas le cas des produits étudiés dans cette étude. Pour cela, on ne définit par la suite que les deux dernières.

Dans la géométrie plan-plan, le cisaillement du fluide s'effectue entre deux plans parallèles (deux disques de rayon  $R$ , l'un à la vitesse de rotation  $\Omega$ , l'autre fixe) séparés d'une hauteur  $h$  (Figure II.5.a). Cette géométrie a un entrefer  $h$  variable, qui peut donc être adaptée en fonction de la quantité de fluide à disposition. Cependant, l'inhomogénéité du cisaillement, peut affecter la caractérisation du fluide, en particulier si l'on s'éloigne de son domaine newtonien.



**Figure II.5.** Géométries utilisé dans cette étude : a) géométrie à disques parallèles ou plan-plan. b) géométrie cône-plan.

La géométrie cône-plan, le fluide est cisailé entre un cône mobile caractérisé par son rayon  $r$  et son angle  $\alpha$ , et un plan fixe. La figure II.5.b, représente la géométrie cône-plan. Cette géométrie permet un cisaillement uniforme et constant dans tout l'entrefer, ce qui engendre une déformation homogène du liquide. Par contre la déformation de la surface libre à haute vitesse de rotation peut constituer un inconvénient notable. Par exemple, à haut cisaillement, un phénomène d'éjection de la matière apparaît, le volume mesuré diminue ce qui entraîne une chute du couple transmis [45].

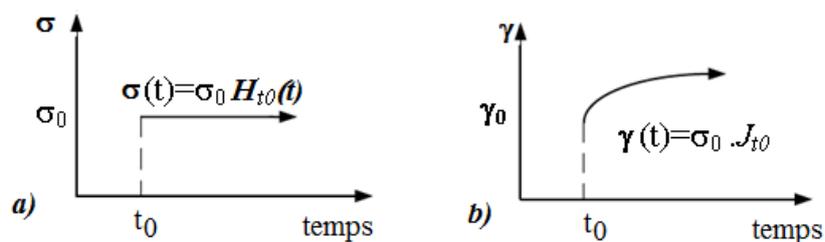
## II.6.2. Tests rhéologiques

A part le test d'écoulement, vu précédemment et qui consiste à étudier l'évolution de la viscosité en fonction de vitesse de cisaillement, on cite dans cette étude deux autres tests principaux en études rhéologiques. Ces tests sont : le test de fluage-recouvrance et le test oscillatoire.

### II.6.2.1. Essai de fluage

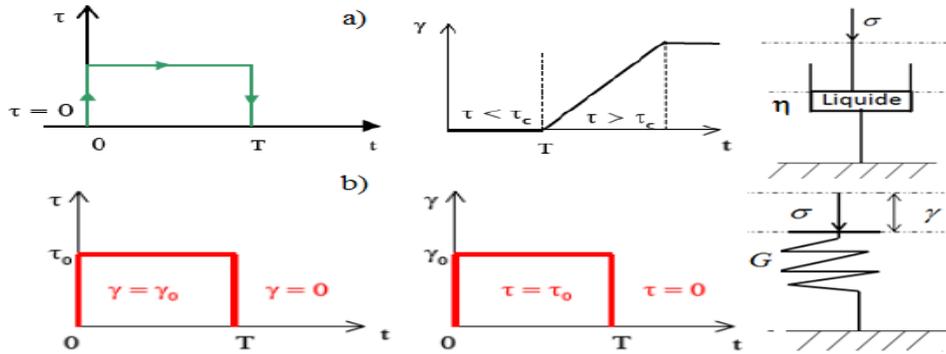
L'essai de fluage permet une meilleure compréhension des comportements rhéologiques des matériaux viscoélastique en accédant à leurs propriétés dans des conditions proches de celles de l'état de repos. En effet, le test consiste à appliquer une contrainte constante inférieure au seuil d'écoulement du fluide puis de suivre l'évolution de la déformation engendré au cours du temps (Figure II.6). La relaxation du matériau s'opère après la suppression de la contrainte correspond à la recouvrance. Cette dernière permet de récupérer tout ou partie de cette déformation.

- ✓ Dans le cas **d'un solide élastique**, la déformation est proportionnelle à la contrainte. La déformation s'annule avec la suppression de la contrainte : la déformation élastique est totalement récupérable.
- ✓ Dans le cas d'un **fluide visqueux**, si on ramène la contrainte à zéro, la contrainte .un comportement viscoélastique se trouve à la frontière de ces deux cas limites.



**Figure II.6.** Expérience de fluage unidimensionnel : a) échelon de contrainte de cisaillement (effet); b) fonction de fluage (réponse).

La figure II.7., présente ce type de comportement. Le suivi de la recouvrance permet le contrôle du niveau de relaxation du matériau.

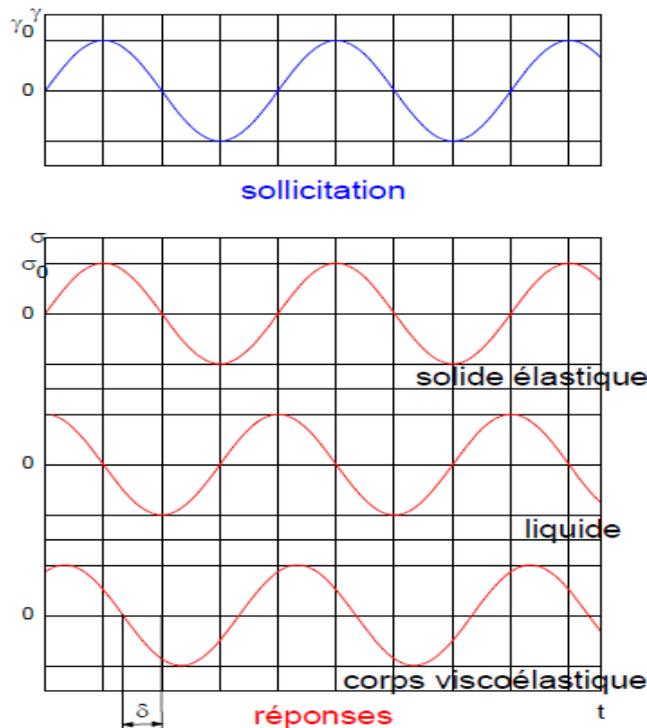


**Figure II.7.** Essai de fluage suivi de recouvrance a) solide élastique, b) fluide visqueux.

Les essais de fluage présentent aussi l'intérêt de permettre le calcul du seuil d'écoulement [42].

**II.6.2.2. Test dynamique (Sollicitation périodique)**

Ce test consiste à appliquer une déformation (ou une contrainte) qui varie sinusoïdalement avec le temps, donc à fréquence donnée, et d'étudier la réponse respectivement en contrainte (ou en déformation). Dans la figure II.8, on donne les comportements en supposant que c'est la déformation qui est appliquée.



**Figure II.8.** Réponse de différents matériaux à un test dynamique [43].

- La réponse du solide élastique est en phase avec la sollicitation. On peut dire que le déphasage entre sollicitation et réponse est nul :  $\delta = 0$ .
- La réponse du liquide est en quadrature de phase avec la déformation :  $\delta = \pi/2$ .

Ceci correspond au fait que dans un liquide simple, c'est la vitesse de déformation qui génère la contrainte. On voit sur la figure 8, que la contrainte est maximale quand la vitesse de la sollicitation (c'est à dire la pente de la courbe) est maximale. Un matériau viscoélastique, qu'il soit de type solide ou liquide viscoélastique, présentera un déphasage  $\delta$  par rapport à la sollicitation :  $0 \leq \delta \leq \frac{\pi}{2}$ . Deux paramètres semblent a priori importants : pour une sollicitation à fréquence donnée, l'amplitude de la réponse et sa phase. Dans ce type de test, la réponse d'un matériau viscoélastique dépendra très fortement de la fréquence de sollicitation. Un solide viscoélastique aura une phase qui tend vers 0 quand la fréquence baisse, alors qu'un liquide viscoélastique verra sa phase tendre vers  $\pi/2$  en allant vers les basses fréquences.

#### a) Analyse des tests dynamiques

On applique une déformation :  $\gamma = \gamma_0 \sin \omega t$ . Etudions la réponse quantitative de différentes classes de matériaux.

##### ▪ Solide élastique

Un solide élastique est tel que la contrainte est proportionnelle à la déformation. L'équation qui décrit ce comportement s'écrit donc sous la forme :

$$\tau = G\gamma \quad (\text{Eq. II.18})$$

Où  $G$  (Pa) est le module de cisaillement. Donc en sollicitation dynamique, on aura :

$$\tau = G\gamma_0 \sin \omega t \quad (\text{Eq. II.19})$$

$G$  est le module élastique du matériau.

##### ▪ Liquide purement visqueux

Un liquide visqueux est défini par sa viscosité  $\eta$  telle que  $\sigma = \eta \partial_t \gamma$ . Donc :

$$\tau = \eta \omega \gamma_0 \sin(\omega t + \pi/2) \quad (\text{Eq. II.20})$$

On retrouve donc le déphasage de  $\pi/2$  que nous avons perçu sur la base d'arguments physiques. L'amplitude de la contrainte est proportionnelle au produit  $\omega \eta$ .

### ▪ Matériau viscoélastique

Nous savons qu'il existe un déphasage  $\delta$ , donc que :

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) \text{ avec } 0 \leq \delta \leq \pi/2 \quad (\text{Eq. II.21})$$

En développant le terme en sin, on obtient :

$$\tau = \tau_0 \sin(\omega t + \delta) = \tau_0 [\cos \delta \sin(\omega t) + \sin \delta \cos(\omega t)] \quad (\text{Eq. II.22})$$

A partir de cette équation, on voit apparaître un préfacteur du terme en phase  $G'(\omega)$  et un préfacteur du terme en quadrature  $G''(\omega)$ .

$$\left. \begin{aligned} G'(\omega) &= \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \cos \delta \\ G''(\omega) &= \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \sin \delta \end{aligned} \right\} \Rightarrow \text{tg} = \frac{G''(\omega)}{G'(\omega)} \quad (\text{Eq. II.23})$$

$G'(\omega)$  est appelé module de conservation. Il correspond à la composante élastique de la réponse et traduit donc l'énergie stockée dans le matériau et donc recouvrable.

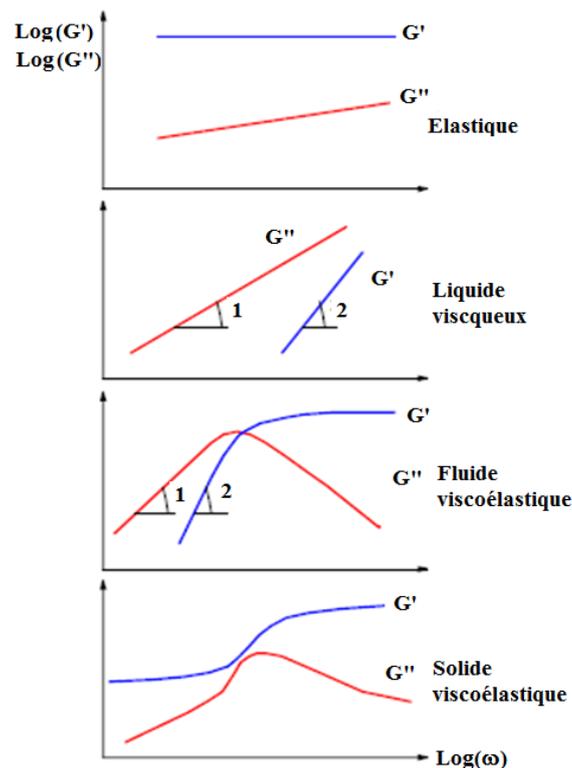
$G''(\omega)$  est appelé module de perte. Il correspond à la composante visqueuse de la réponse. Il représente une quantité proportionnelle à l'énergie dissipée lors de la déformation.

On retrouve évidemment le fait que si le matériau est purement élastique :  $G''(\omega) = 0$  et  $\delta = 0$ . Si le matériau est purement visqueux :  $G'(\omega) = 0$  et  $\delta = \pi/2$ , d'autre part,  $G''(\omega) = \eta\omega$ .

### b) Dépendance en fréquence de quelques matériaux typiques

La caractérisation du comportement viscoélastique linéaire consiste à mesurer en fonction de la fréquence  $G'$  et  $G''$ . La variation de ces grandeurs avec la fréquence fournit des informations pertinentes sur le comportement. Dans la figure ci-dessous, on présente la réponse typique de quelques matériaux différents. Il faut noter que souvent un appareil commercial à température donnée ne peut couvrir qu'une fenêtre réduite de la totalité de la courbe du comportement du matériau.

Le liquide purement visqueux montre une droite de pente N°1 en  $G''$ , c'est à dire obéit à la loi :  $G'' \approx \omega^1$  puisque nous avons vu que  $G'' = \eta\omega$ . En fait, très souvent on mesure une valeur de  $G'$  qui est signe de viscoélasticité. Lorsque  $G' = \omega^2$ , on a réellement un fluide viscoélastique dans la zone dite terminale. La "hauteur" de  $G'$  est donc liée à l'élasticité du fluide. Souvent, quand on va vers des fréquences élevées, le matériau devient plus élastique.



**Figure II.9.** Réponses types de quelques matériaux à une sollicitation harmonique.

Le solide élastique se caractérise par un  $G'$  indépendant de la fréquence avec  $G''$  très faible. Plus la fréquence est basse, plus ce  $G''$  diminue représente le liquide viscoélastique. On observe alors une diminution de  $G''$  quand la fréquence augmente pour fluide viscoélastique. Enfin, on peut dire que ce qui différencie le fluide du solide est le comportement à basse fréquence. Un solide viscoélastique montrera un plateau en  $G'$  à basse fréquence et un  $G''$  qui ira décroissant. Afin de mieux comprendre ces réponses, il est intéressant d'étudier la réponse en modèles analogiques, constitués d'associations de ressorts et d'amortisseurs.

## II.7. Etude de la viscoélasticité

Le caractère viscoélastique est très important et très fréquent dans les solutions de polymères, notamment les produits pharmaceutiques et cosmétiques. La réponse du fluide à une déformation présente à la fois un aspect élastique,  $\tau=f(\gamma)$ , et un aspect visqueux  $\tau=f(\dot{\gamma})$  [46].

### II.7.1. Solide élastique et fluide newtonien

Un liquide complexe se situe entre deux états de la matière qui peuvent être facilement distingués : les solides élastiques dont les comportements suivent la loi de Hooke publiée en 1678, et les fluides visqueux dont les comportements suivent la loi de Newton.

### II.7.1.1. Loi de Hooke

L'élasticité est une des caractéristiques essentielles d'un solide. Le comportement élastique d'un solide de Hooke est tel que la déformation du matériau varie linéairement en fonction de la contrainte appliquée. Effectivement, si on supprime la contrainte, la déformation s'annule : le corps retrouve sa forme initiale, cela signifie qu'il a gardé en mémoire son état antérieur. Ce comportement est décrit par l'équation II.18, citée précédemment. On peut schématiser la loi de Hooke par un ressort (analogie avec  $F = kx$ ).

### II.7.1.2. Loi de Newton

La théorie de Newton suppose que l'écoulement des liquides est un écoulement laminaire, et que le gradient de vitesse ou le taux de cisaillement varie linéairement avec la contrainte appliquée sur le liquide [47]. Ceci s'exprime par l'équation II.12 et peut être schématisé par un amortisseur. En dynamique, les modules élastiques et visqueux des deux éléments précédents, suite à une sollicitation dynamique sont donnés par le tableau suivant :

**Tableau II.1.** Modules, élastiques et visqueux, pour un ressort et un amortisseur.

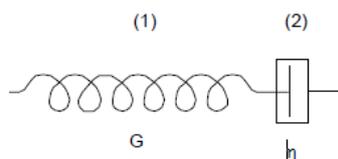
Pour le ressort (solide élastique)	Pour l'amortisseur (liquide newtonien)
$G' = G$	$G^*(\omega) = \frac{\tau^*(t)}{\gamma^*(t)} = \eta \frac{\dot{\gamma}^*(t)}{\gamma^*(t)}$
$G'' = 0$	$G' = 0$
	$G'' = j\omega\eta$

Le matériau viscoélastique peut être schématisé par une association de ces deux éléments. Examinons les deux associations les plus simples [43] :

- en série (liquide de Maxwell).
- en parallèle (solide de Kelvin-Voigt).

### II.7.2. Liquide de Maxwell

Le modèle de Maxwell est utilisé plus particulièrement dans l'étude des fluides viscoélastiques qui ont un comportement proche de celui des fluides visqueux.

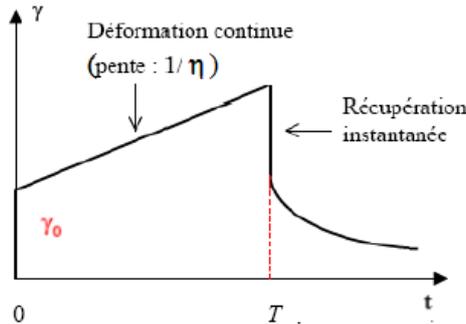


**Figure II.10.** Liquide de Maxwell

Ce modèle considère l'association en série d'un ressort caractérisé par une raideur  $G$  et d'un amortisseur de viscosité  $\eta$  [43].

### II.7.2.1. Réponse en fluage

La réponse en fluage de ce liquide est donnée par la figure II.14, tel que :  $\gamma_0$  décrit l'élasticité  $G$  et la pente décrit l'écoulement visqueux newtonien.



**Figure II.11.** Réponse de solide de Kelvin-Voigt à un échelon de contrainte.

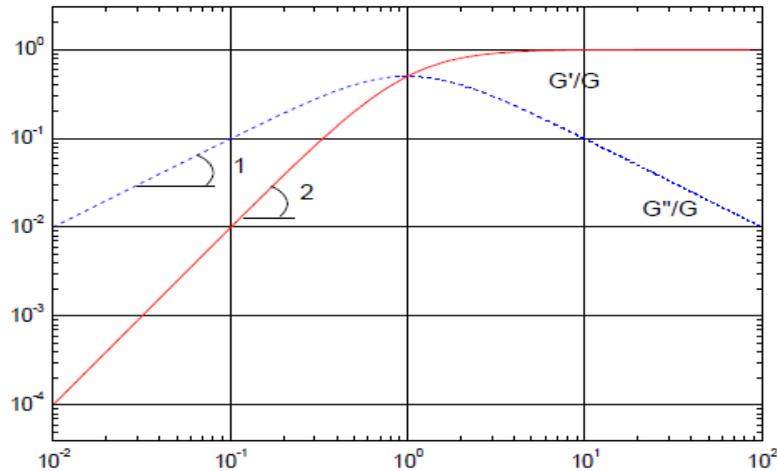
D'après la loi d'association en série et en utilisant les conditions aux limites, on peut déduire la résolution de l'équation rhéologique de liquide de Maxwell :

$$\gamma(t) = \frac{\tau_0}{G} + \frac{\tau_0}{\eta} * t \tag{Eq. II.24}$$

### II.7.2.2. Réponse en dynamique

Il faut préalablement considérer que ce système possède un temps caractéristique que nous allons écrire de façon purement dimensionnelle. Le module du ressort est  $G$  (en Pa). La viscosité de l'amortisseur est  $\eta$  (en Pa.s). Il apparaît un temps  $\nu = \frac{\eta}{G} = \eta J$ , tel que :  $J$  est la complaisance ( $\text{Pa}^{-1}$ ). La réponse du système va dépendre du paramètre  $\omega\tau$ . En effet, à basse fréquence, on peut déplacer l'amortisseur sans que le ressort soit tendu. Le système est donc essentiellement visqueux et relativement "mou" si l'amortisseur n'est pas trop "dur". A haute fréquence, on ne peut pas déplacer l'amortisseur, c'est le ressort qui encaisse toute la déformation. Donc le système est très élastique et peu dissipatif. Enfin, aux fréquences intermédiaires, précisément pour  $\omega\tau \approx 1$ , les deux éléments du système vont réagir. Pour le liquide de Maxwell,  $G'$  et  $G''$  sont donnés par :

$$\begin{cases} G'(t) = G \frac{\omega^2 \tau^2}{1 + \omega^2 \tau^2} \\ G''(t) = G \frac{\omega \tau}{1 + \omega^2 \tau^2} \end{cases} \tag{Eq. II.25}$$



**Figure .II.12.** Réponse d'un fluide de Maxwell à une sollicitation dynamique : représentation logarithmique.

La réponse est évidemment périodique dans le domaine linéaire. Par ailleurs, les expressions ci-dessus mettent en évidence l'importance du terme  $\omega\tau$ .

- Si  $\omega\tau \gg 1$ , il est clair que l'amortisseur ne pourra pas suivre la déformation. On va tendre vers une réponse élastique. Seul le ressort va se déformer.
- Si  $\omega\tau \ll 1$ , le ressort sera pratiquement tout le temps à sa longueur d'équilibre. La réponse proviendra du mouvement de l'amortisseur (réponse sera purement visqueuse).

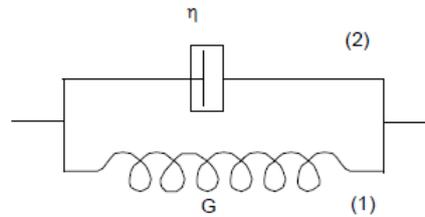
Quand on va des basses vers les hautes fréquences, la dissipation va donc augmenter, passer par un maximum puis diminuer. En échelle logarithmique, d'après l'allure des modules  $G'$  et  $G''$  représentée dans la figure II.12, on voit que :

- Si  $\omega\tau < 1$ ,  $G'(\omega) \approx G \omega^2 \tau^2$  et  $G''(\omega) \approx G \omega\tau$  d'où des pentes 2 et 1 pour  $G'$  et  $G''$  respectivement.
- Si  $\omega\tau > 1$ ,  $G'(\omega) \rightarrow G$  et  $G''(\omega) \approx G$  d'où une loi en  $\omega^{-1}$ .

Il apparaît clairement un maximum de dissipation ( $G''$  est max.) pour  $\omega\tau = 1$ . Un maximum en  $G''$  sera donc ainsi caractéristique d'un temps de relaxation.

### II.7.3. Solide de Kelvin-Voigt

Ce modèle est utilisé dans l'étude des fluides viscoélastiques qui ont un comportement proche de celui des solides. Le modèle considère l'association en parallèle d'un ressort caractérisé par une raideur  $G$  ou une complaisance  $J$  et un amortisseur de viscosité  $\eta$ .

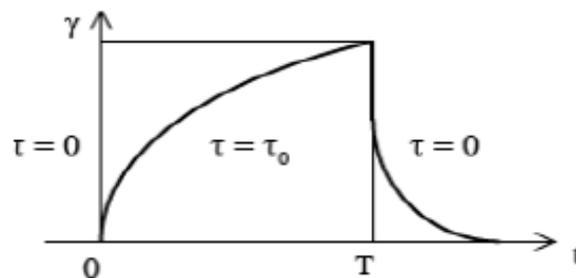


**Figure II.13.** Solide de Kelvin-Voigt.

La contrainte imposée est uniforme dans le montage, et la déformation est la somme de celles des deux constituants.

### II.7.3.1. Réponse en fluage

Pour ce modèle, la déformation dépend de la contrainte et du temps. Elle progresse jusqu'à une valeur limite, puis elle décroît progressivement vers l'état initial sans déformation permanente, comme le montre la figure II.14.



**Figure II.14.** Réponse de solide de Kelvin-Voigt à un échelon de contrainte.

La solution de l'équation rhéologique de ce système est donnée par l'équation (Eq. II.26) :

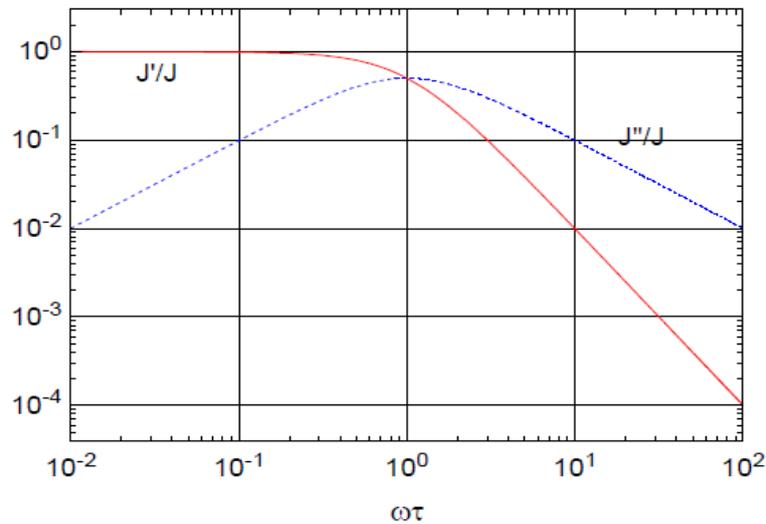
$$\gamma = \frac{\tau_0}{G} \left( 1 - e^{-\frac{G*t}{\eta}} \right) \quad (\text{Eq. II.26})$$

### II.7.3.2. Réponse à un test dynamique

On peut encore chercher qualitativement la réponse puis on la vérifiera par le calcul. Ce système possède un temps caractéristique  $\tau = \eta J$  :

- A basse fréquence (ce qui équivaut à des temps très longs) on mesurera toujours une déformation en phase avec la contrainte, l'amortisseur étant apte à "suivre". Le système est donc élastique à basse fréquence.
- A haute fréquence, on peut attendre une déformation très faible puisque l'amortisseur qui réagit proportionnellement à  $t$  va la limiter. Le système va devenir très rigide.

La réponse est donc fondamentalement différente d'un modèle de Maxwell.



**Figure II.15.** Réponse d'un solide de Kelvin-Voigt à une sollicitation dynamique : représentation logarithmique.

On peut également retracer les modules complexes  $G'$  et  $G''$ .

$$\begin{cases} G'(t) = \frac{1}{J} \\ G''(t) = \frac{\omega\tau}{J} \end{cases} \quad (\text{Eq. II.27})$$

$G'$  est donc indépendant de  $\omega$ .

#### II.7.4. Modèles analogiques généralisés

Ce sont des modèles plus compliqués, pour lesquelles on peut calculer la fonction fluage ou relaxation, mais peuvent être représentées par des modèles de structures bien définies :

- Modèle Maxwell généralisé consiste à la mise en parallèle de  $n$  éléments de Maxwell. Il s'agit ici clairement d'un fluide, mais qui peut encore se transformer en solide en remplaçant un amortisseur par un amortisseur de viscosité infinie.
- Modèle Kelvin-Voigt généralisé correspond à l'association en série de  $n$  cellules de Kelvin-Voigt. Ce modèle, qui nous intéresse dans cette étude, est représenté dans la figure II.16.

Ces modèles permettent un ajustement de toute une variété de données expérimentales.

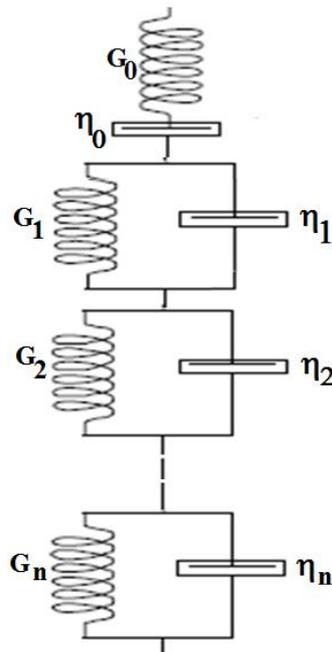


Figure II.16. Modèle de Kelvin-Voigt généralisé.

### Conclusion

La rhéologie est une science qui étudie les modes de déformation de la matière, considérée comme un milieu continu. L'objectif de la rhéologie est de donner un cadre théorique permettant de décrire les comportements mécaniques complexes des matériaux qu'ils soient solides ou liquides, en prenant en compte à la fois les échelles de taille des matériaux, le type de sollicitation appliquée et les conditions thermodynamiques comme la température et la pression [43]. En effet, dans notre travail, la rhéologie nous permettra de caractériser le comportement macroscopiquement des produits préparés, dans le cadre du projet de fin d'études, ce qui traduit des informations sur ces structures microscopiques.

## Chapitre III : Matériels et Méthodes

Les HEs des plantes aromatiques et médicinales, le plus souvent utilisées dans l'industrie alimentaire comme arômes, l'industrie cosmétique comme parfums et l'industrie pharmaceutique pour leurs propriétés fonctionnelles (comme principes actifs). Dans cette étude deux produits à la base de l'huile essentielle de thym, une crème et un gel, ont été préparés et caractérisés. L'étude rhéologique nous permettra d'étudier le comportement de ces deux produits.

Au cours de ce chapitre, nous présentons les méthodes et les dispositifs utilisées pour la détermination du rendement, des propriétés physico-chimiques, des analyses chimiques et biologiques, ainsi que la préparation des deux produits (crème et gel) et la définition des principes des tests rhéologiques.

### III.1. Matériels et méthode d'extraction

La connaissance des constituants des HEs et de leurs propriétés, qui passe obligatoirement par l'extraction et l'analyse chimique de ces essences, permet la caractérisation qualitative et quantitative de leurs composants et une meilleure compréhension de leurs mécanismes d'actions et leurs utilisations dans divers domaines.

#### III.1.1. Matériel végétal : collection de la plante

La plante choisie est une espèce spontanée appartenant au genre *Thymus*, de la famille des *Lamiaceae*, et à l'espèce du *thymus serpolet*, un des éléments caractéristique de la flore du Nord- Est Algérien [17]. Sur le plan international, ce végétal est classé parmi les plantes les plus utilisées comme source d'épices et d'extraits à qualité médicinale intéressante. L'espèce *Thymus serpolet* a été récoltée durant les mois de mars-avril 2018 dans la wilaya de Djendel au Nord de l'Algérie (donnée dans la figure I.1. du chapitre 1) entre la wilaya de Ain defla et Médéa.

#### III.1.2. Huile essentielle du thymus

Il existe plusieurs procédures d'extractions des HEs, parmi elles : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'enfleurage, l'hydrodistillation, l'extraction par gaz supercritique et le chauffage aux micro-ondes sous vide, etc. Dans le but d'obtenir des substances volatils facilement et afin d'éviter l'apparition des produits indésirables hydrosolubles dans l'huile recueillie. La méthode de choix reste l'hydrodistillation, vue qu'elle est la plus employée à

l'échelle industrielle pour la production d'HE, la plus simple et la moins coûteuse avec une reproductibilité facilement contrôlable [48].

### III.1.2.1. Extraction de l'huile essentielle du thym par Hydrodistillation

Nous avons réalisé l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger au laboratoire du génie des procédés du département de la Science et Technique de l'Université Djilali Bounaama de Khemis-Miliana.

- **Mode Opérateur**

L'extraction de l'huile essentielle des feuilles de *Thymus* a été effectuée à l'aide d'un hydrodistillateur de type Clevenger (voir figure III.1.). Cela consiste à introduire 50 g de matériel végétal dans un ballon de 2 l contenant de l'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3H à l'aide d'une chauffe ballon.



**Figure III.1.** Photo de l'hydrodistillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle de *Thymus*.

L'huile obtenue est conservée dans des épandoles et fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière (figure III.2.), jusqu'à son usage.



**Figure III.2.** Photo de l'huile essentielle de *Thymus serpolet* récupérée dans l'épandole (à gauche) et fermer hermétiquement (à droite).

### III.1.2.2. Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée [49]. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante:

$$R(\%) = M_{HE} / MS \times 100 \quad (\text{Eq.III.1})$$

Sachant que :

- R : rendement en l'huile essentielle en %.
- MHE : quantité de l'huile essentielle récupérée en gramme.
- MS : quantité de la plante utilisée pour l'extraction en gramme.

### III.1.2.3. Conservations des huiles essentielles

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. L'instabilité relative des molécules constitutives des huiles essentielles rend leur conservation délicate [48]. Trois facteurs indispensables interviennent dans la conservation des huiles essentielles :

- La température : obligation de stockage à basse température (entre 4 °C et 8 °C).
- La lumière : stocker dans l'obscurité et dans un récipient opaque, brun de préférence.
- L'oxygène : les flacons doivent être entièrement fermés de façon étanche, il est possible de recourir à l'adjonction d'antioxydants.

En général la durée de conservation admise est de 2 à 5 ans.

## III.2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité des huiles essentielles. Nous avons conduit nos essais selon des protocoles précis et obéissant à des normes édictées par AFNOR 1986, 2000 et la pharmacopée européenne 2005 [49 - 51] :

### III.2.1. Propriétés physiques

Les propriétés physiques sont déterminées par les méthodes citées par la suite.

#### III.2.1.1. Propriétés organoleptiques

Nous avons déterminé les propriétés organoleptiques des essences extraites, à savoir : la saveur, l'odeur et l'aspect.

### III.2.1.2. Densité relative

La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à la masse d'un volume égal d'eau distillée.

A l'aide d'un pycnomètre, on a pesé successivement des volumes égaux d'huile essentielle et d'eau à la température de 20 °C. La densité est donnée par la formule :

$$d_{20} = m_2 - m_0 / m_1 \quad (\text{Eq.III.2})$$

Sachant que :

- $m_0$ : masse en grammes du pycnomètre vide.
- $m_1$ : masse en grammes du pycnomètre rempli d'eau.
- $m_2$ : masse en grammes du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

### III.2.1.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux. On a utilisé un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700. L'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée. La mesure de l'indice de réfraction de notre huile essentielle a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque ausJENA (Figure III.3).



**Figure III.3.** Photo de l'appareil du réfractomètre.

### III.2.2. Propriétés chimiques

Les propriétés chimiques sont déterminées par les méthodes suivantes :

#### III.2.2.1. Détermination du pH

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes  $H^+$  en solution. Le pH mesure l'acidité ou basicité d'une solution.

Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à mettre quelques gouttes de l'HE sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH. Ainsi l'HE a été caractérisé par son pH.

#### III.2.2.2. Indice d'acide

L'indice d'acide est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle.

Son principe est la suivante :

- On a introduit dans un erlenmeyer, la prise d'essai (1 g) d'HE ;
- Puis on a ajouté 5 millilitres d'éthanol (95%) et 5 gouttes d'indicateur coloré (solution de phénolphthaléine).
- Ensuite on a titré avec la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (0.1 N) contenue dans une burette, jusqu'à obtention d'une couleur rose.

L'indice d'acide  $I_a$  est déterminé par la formule suivante :

$$I_a = V \cdot c \cdot \frac{56}{m} \quad (\text{Eq.III.3})$$

Sachant que :

- V : est le volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée ;
- c : la concentration de la solution de KOH.
- m : est la masse en grammes de la prise d'essai.

#### III.2.2.3. Indice d'ester

L'indice d'ester est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters dans 1g d'huile essentielle.

Son principe est le suivant :

- On a ajouté 25 millilitres d'une solution d'hydroxyde de potassium à 0.5 M et 1 g d'HE dans un ballon de 100 ml (Figure III.4),

- On a adapté le réfrigérant,
- Ensuite on a placé sur la chauffe ballon et on laisse chauffer pendant une heure.
- Après on a laissé refroidir, puis on démonte le réfrigérant et on ajoute 20 millilitres d'eau et 5 gouttes de la solution de phénolphaléine.
- A la fin on a titré l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique (0.5 N) parallèlement.



**Figure III.4.** Photo du matériels de l'indice d'ester.

L'indice d'acide  $I_e$  est calculé à l'aide de la relation suivante :

$$I_e = \frac{28.05}{m} (V_0 - V_1) - I_a \quad (\text{Eq.III.4})$$

Sachant que :

- $V_0$  : volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour l'essai à blanc ;
- $V_1$  : volume en millilitres, de la solution d'acide chlorhydrique utilisé pour la détermination de l'indice ;
- $m$  : masse en grammes, de la prise d'essai et  $I_a$  : valeur d'indice d'acide.

#### III.2.2.4. Indice de saponification

L'indice de saponification est le nombre en mg de potasse caustique (KOH), nécessaire pour transformer en savon les acides gras et les triglycérides de 1 gde corps gras.

On a mis 2 g d'HE dans une fiole muni d'un réfrigérant puis on a ajouté 25 ml de solution éthanolique de KOH (0.5N), ensuite on a porté le mélange à ébullition en agitant de temps en temps pendant 1 heure. Ensuite on a ajouté 3 gouttes de phénolphaléine. La solution savonneuse est titrée avec HCl (0.5N). Après, on a effectué un essai à blanc dans les mêmes conditions. L'indice de saponification  $I_s$  est donné par la formule suivante :

$$I_s = \frac{N.(V_0 - V)}{P} \text{ (mg KOH / g d'HE)} \quad (\text{Eq.III.5})$$

Dans laquelle :

- $V_0$  : est le volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique pour l'essai à blanc.
- $V$  : est le volume en millilitres de la solution d'acide chlorhydrique de la prise d'essai.
- $N$  : est la normalité exacte de la solution chlorhydrique.
- $P$  : poids en gramme de la prise d'essai.

### III.3. Analyses chromatographique et spectroscopiques de l'huile essentielle du thymus

Nous avons analysé l'HE de la partie aérienne de la plante thymus extraite par hydrodistillation. La démarche expérimentale réalisée pour l'identification principalement du constituant majoritaire de l'essence sont exposés dans ce qui suit.

#### III.3.1. Analyses spectroscopiques

La démarche expérimentale réalisée pour l'identification principalement des liaisons, des groupements, des types de vibrations et de la longueur d'onde maximale de l'essence sont exposés dans ce qui suit. Afin d'établir une identification plus rigoureuse de la composition chimique de l'essence, que nous avons fait appel aux moyens d'analyses spectroscopiques, à savoir : IR et UV.

##### III.3.1.1. Spectroscopie infra Rouge (IR)

Le spectre infrarouge a été enregistré sur un spectromètre, les fréquences d'absorption sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figure III.5.** Photo de l'appareil de l'infra-rouge (IR).

Les bandes les plus significatives révélées sur le spectre IR de l'huile essentielle étudiée sont reportés dans un tableau.

### III.3.1.2. Spectroscopie Ultra-violet (UV)

Les spectres UV ont été enregistrés sur un spectromètre UV-visible. L'échantillon est préparé de la façon suivante : on a fait une dilution avec une quantité de n-hexane plus (+) une quantité de l'huile du thym. Après la préparation de l'échantillon, on a mis l'échantillon directement dans l'appareil.

### III.3.2. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM)

Le couplage (CPG/SM), est la technique la plus utilisée dans le domaine des HEs, qui permet d'effectuer simultanément la séparation, l'identification et la mesure quantitative des différents constituants des essences extraites [52]. Le principe est basé sur les différences d'affinité des composés du mélange à l'égard de deux phases, une phase stationnaire et une phase mobile. Elle est basée sur la répartition des analytes entre une phase stationnaire et une phase gazeuse. La base de la séparation correspond à la différence des coefficients de partage des analytes volatiles entre la phase stationnaire et la phase gazeuse. Un système de détection permet de créer un signal à la sortie de chaque molécule de la colonne, ce signal se traduit par l'enregistrement des pics correspondants à chaque analyte. La CPG est couplée à un spectromètre de masse (SM), le couplage se base sur la comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs bibliothèques de référence, permettant son identification. Pour que cela soit possible, il faudrait que le niveau de similitude des spectres (inconnu et référence) soit suffisant et que les indices de rétention soient identiques [53].

L'identification des huiles essentielles extraites est basée sur la comparaison des spectres de masses inconnues à ceux des composés purs cités par la littérature. En tenant compte de l'ordre d'éluion du composé sur la colonne considérée. En tenant compte de la proposition et du pourcentage de probabilité de présence du composé fournis par la base de données du micro-ordinateur couplé au spectromètre de masse.



**Figure III.6.** Photo de l'appareil de la chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée avec la spectrométrie de masse (SM).

### III.4. Méthode de recherche de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle

La revue des données bibliographiques fait apparaître la diversité des méthodologies utilisées pour mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations [52]. Les méthodes les plus utilisées peuvent être réalisées en milieu solide, en milieu liquide et en milieu micro-atmosphère.

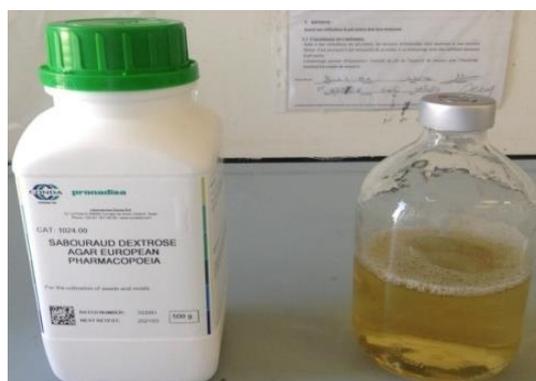
Nous avons choisi la méthode de diffusion en milieu solide, appelée aromagramme, méthode décrite par Vincent en 1991. Cette méthode est la plus utilisée dans la littérature, car elle est relativement rapide, peu coûteuse, facilement reproductible et ne nécessite pas un équipement de laboratoire sophistiqué.

#### III.4.1. Principe de la méthode

L'HE à tester, est incorporée à des concentrations variables dans le milieu de culture gélosé. Après solidification, le milieu estensemencé et incubé ; les résultats donnent la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui est définie comme étant la plus faible concentration pour laquelle on n'observe pas de croissance à l'œil nu [53].

#### III.4.2. Préparation des suspensions et ensemencement

Après la préparation des milieux qu'on a choisis (Soya agar, Sabouraud, Milieu 11, Cétrimide agar), ces derniers ont été mis dans l'autoclave pendant 15 mn (121° C), après on les a introduit dans un bain marie à une température de 46 °C pour éviter la solidification des milieux. Dans la figure III.7. on donne un exemple de milieu de culture.



**Figure III.7.** Photo du milieu de culture Sabouraud agar.

- **Méthode**

Dans la boîte de pétri on a coulé deux milieux de culture :

- 1- Milieu de base : à l'aide d'une pipette stérile, on a prélevé 20 ml de l'un des milieux cités précédemment, et on l'a coulé sur une boîte de pétri stérile.
- 2- Milieu de surface : c'est le milieu qui contient la souche.

Après une pipette pasteur stérile, on prélève 0.3 ml de suspension de l'une des souches (*Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*) que l'on dépose dans un tube de solution physiologique stérile, à l'aide d'un agitateur, on agite énergiquement pour bien mélanger. On prend ce dernier 0.25 ml et on l'ajoute dans un flacon qui contient 150 ml de l'un des 4 milieux cités précédemment, on coule 4 ml du milieuensemencé sur le milieu de base (le milieu de base et de surface sont de même milieu). On réalise les deux milieux pour chaque suspension de chaque souche, sur les 4 milieux, sauf que pour *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*, on utilise uniquement le milieu Sabouraud.

#### III.4.3. Identification des effets antimicrobiens de l'huile essentielle du thymus

On identifie les effets antimicrobiens de l'huile essentielle du thymus de la façon suivante :

- **Tests préliminaires**

Tests quantitatifs permettant de mettre en évidence une éventuelle activité antimicrobienne, l'estimation de cette dernière se fait en fonction du diamètre de la zone d'inhibition.

##### 1- Principe

On réalise plusieurs dilutions de l'HE par l'utilisation du DMSO. Les dilutions préparées sont 50%, 25%, 10%, 5% et 1% de l'huile essentielle (voir la figure ci-dessous).



**Figure III.8.** Photo des différentes dilutions : 50%, 25%, 10%, 5% et 1%.

Le principe consiste à déposer sur l'un des 4 milieuxensemencés, contenant les souches à tester des disques en papier buvard préalablement imprégnés dans une des dilutions

de l'HE. Cette dilution en question se diffuse au sein du milieu ensemencé à partir du disque suivant un gradient décroissant et s'établit dans le milieu autour de disque.

## 2- Mode opératoire

On a préparé 30 boîtes de pétri renfermant les 4 milieux utilisés et ensemencés par les 6 souches citées précédemment (c'est-à-dire chaque souche correspond à son milieu de culture et 6 boîtes de pétri par souche).

## 3- Application des disques et incubation

A l'aide d'une pince, on prend les disques de 10 mm de diamètre en papier absorbant, on les trempe dans l'une des solutions diluées et ensuite les dépose sur la surface au niveau des boîtes de pétri correspondantes ensemencées par la souche (figure III.9.).



**Figure III.9.** Image de la disque trempée dans la solution diluée (à gauche) et l'image de la disque déposée dans la boîte de pétri (à droite).

On passe à l'incubation :

- Les boîtes ensemencées par *Saccharomycèse cerevisiae* et *Candida albicans* doivent être incubées à 25°C pendant 24 heures.
- Les boîtes ensemencées par *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* doivent être incubées à 35°C pendant 18 heures.

## 4- Lecture

Après incubation on estime le diamètre des zones d'inhibitions à l'aide d'une règle.

### III.4.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est le plus déterminée souvent pour évaluer quantitativement l'effet d'un antibiotique donc elle correspond à la concentration minimale de l'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24 heures.

Le principe de cette méthode est le même utilisé dans les tests préliminaires décrit précédemment, on teste l'effet antimicrobien des dilutions jusqu'à l'obtention d'un diamètre de la zone d'inhibition minimale. Et c'est la concentration du diamètre de la zone d'inhibition minimale qui est considérée comme la concentration minimale inhibitrice. Les dilutions préparées sont 50%, 25%, 10%, 5% et 1% d'HE.

### III.5. Tests rhéologiques

L'étude a été faite au laboratoire de recherche de la physique « FIMA » de Khemis Miliana à l'université de Djilali Bounaama. Les tests rhéologiques sont réalisés sur la crème et le gel, c'est-à-dire ces derniers subissent une série d'essais, d'identification rhéologique telle que (la viscosité dynamique, la contrainte de cisaillement, ...).

#### III.5.1. Préparation des échantillons (gel et crème)

Puisque les étapes de préparation ont un grand effet sur l'état final de la crème et du gel, et par conséquent sur leur comportement rhéologique. On expliquera les différentes étapes de préparation suivies le protocole de préparation dans les paragraphes qui suivent.

##### III.5.1.1. Préparation du gel à la base de l'huile essentielle du thymus

Le gel est préparé en utilisant une concentration de 1% de carbopol 940. Le polymère a été dispersé dans l'eau dans un bécher et agité à l'aide d'un agitateur magnétique, comme le montre la figure III.10.



**Figure III.10.** Image de la dernière phase de préparation du gel à la base du triéthanolamine (à gauche) et l'image de la dernière phase de préparation du gel à la base du NaOH (à droite).

Le propylène glycol (10% massique) est ajouté et agité jusqu'à l'obtention d'un gel homogène. L'huile essentielle de thym est ajoutée à la dispersion précédente avec agitation et on obtient un gel. Ensuite on divise le gel en 2 parties. Une quantité adéquate de triéthanolamine est ajoutée au gel (à la 1<sup>ère</sup> partie) pour neutraliser les groupements d'acides

libres et une quantité adéquate du NaOH ajoutée au gel (à la 2<sup>ème</sup> partie) pour également neutraliser les groupements d'acides libres jusqu'à l'obtention d'un pH de  $6.8 \pm 0.2$  [54].

### III.5.1.2. Préparation de la crème à la base de l'huile essentielle du thymus

On prépare deux phases : la phase aqueuse et la phase huileuse. Phase huileuse (on mélange le polysorbitol et le myristate isopropyl dans un erlenmeyer. On les met sur un agitateur et plaque chauffante à la fois (le chauffage est réglé à 37°C). Sur l'agitateur on ajoute de l'alcool celytique et l'alcool stearylique.

En parallèle, on mélange de l'alcool benzoïque plus (+) du palmitate de cetyle et du monostérate de sorbitol. On mélange les deux (2) parties. Ensuite on ajoute l'huile essentielle du thym et mettre le tout sous agitation). Juste après cela on ajoute la phase aqueuse à la phase huileuse. La phase aqueuse (NaOH + eau distillée). On les met dans l'homogenisateur (voir figure III.11.) et on obtient la crème pendant un certain temps.



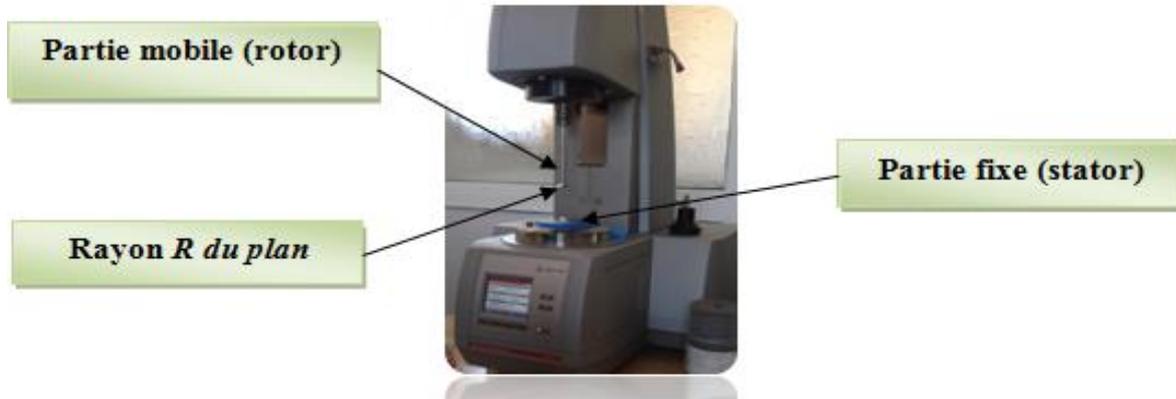
**Figure III.11.** Photo de l'appareil de l'homogenisateur.

### III.5.2. Moyens expérimentaux

Le but de cette manipulation est d'étudier le comportement viscoélastique de crème et gel à base de l'huile essentielle (thym) sous l'effet de contraintes de cisaillement en régime transitoire. La première partie est consacrée à la caractérisation expérimentale qui est effectué sur des préparations (crème et gel).

Dans la présente étude, on a travaillé avec le rhéomètre rotatif, à contrainte imposée, équipés d'une géométrie plan-plan et cône-plan de rayon  $R$ , qui est convenable à nos tests. Cette dernière permet un entrefer élevé nécessaire pour les matériaux comportant par exemple de grosses particules comme le gel. Ces tests ont été réalisés, au sein du laboratoire FIMA à l'université DB - Khemis Miliana, à l'aide du rhéomètre Anton-Paar (MCR 302). Le rhéomètre

peut effectuer des mesures en mode fluage ou encore en mode oscillatoire, avec la possibilité de contrôler la fréquence et l'amplitude des oscillations forcées. Ils sont équipés d'un dispositif à effet de Peltier qui permet de contrôler de la température. Pour éviter l'assèchement de l'échantillon, la mesure s'effectue dans une cellule hermétiquement fermée pendant la durée du test, afin de préserver une atmosphère humide (figure III.12.).



**Figure III.12.** Photo du dispositif expérimental utilisé rhéomètres à contrainte imposée Anton-Paar (MCR 302).

### III.5.3. Caractérisation de la réponse du matériau en cisaillement

Nous avons effectué trois tests pour caractériser la réponse du matériau, les méthodes utilisées pour ces tests sont les suivantes :

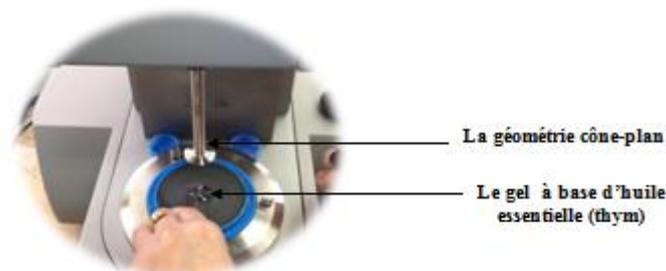
#### III.5.3.1. Test de cisaillement (test d'écoulement)

Les caractérisations rhéologiques en cisaillement sont effectuées à l'aide de rhéomètre à contrainte imposée MCR 302 équipé d'une géométrie plan/plan et cône plan : le plan inférieur (stator) fixe et le plan supérieur rotateur (rotor) mobile, sont recouverts d'un dispositif anti-évaporation (chambre humide). Pour éviter l'artefact du glissement, juste avant chaque essai, l'échantillon est collé avec les deux surfaces support de l'appareil de mesure et porté à une température de  $(2 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ . Pour des raisons de comparaison avec la littérature, des tests ont aussi été réalisés en variant la température.

Des essais de fluage et d'oscillation ont été réalisés pour caractériser le comportement viscoélastique des deux préparations « crème » et « gels », donc à des contraintes plus ou moins importantes. La durée du fluage a été limitée à 30 s, de manière à nous affranchir de tout phénomène de séchage et perte d'échantillon. Les essais d'oscillations consistent à appliquer une sollicitation harmonique avec un balayage en fréquence ou en amplitude.

- **Test sur les gels**

En 1<sup>er</sup> jour 23/05/2018, les gels étaient encore sous forme des gels viscoélastiques. On a prélevé une quantité pour nos tests avec la géométrie plan-plan. Les échantillons ont été soumis à des cisaillements angulaires constants  $\Omega$  dans la direction transversale (contrainte constante  $\sigma_0$  de  $0.01 Pa$ ) pendant une durée de 30 secondes, puis laissé reposer sous contrainte nulle pendant 30s. Au cours de cette période les valeurs de la complaisance du matériau sont enregistrées en fonction du temps. On a gardé le même échantillon, et on a fait le 1<sup>er</sup> test qui est le test d'écoulement avec cet échantillon. Les paramètres étaient réglés de façon suivante : une vitesse de cisaillement  $0.01 s^{-1}$  à température  $20^\circ C$ .



**Figure III.13.** Photo du test d'écoulement de gel sur le rhéomètre Anton pear.



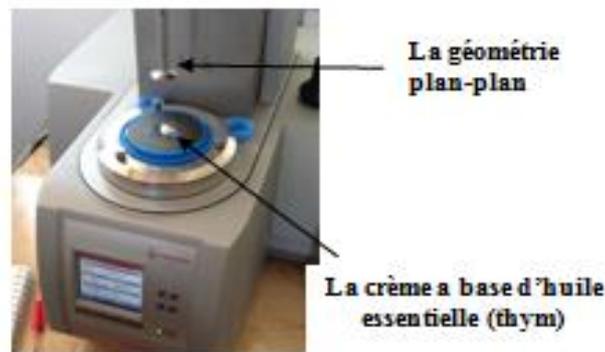
**Figure III.14.** Photo du test rhéologique de gel a base de NaOH a blanc.

Pour le deuxième jour de test réalisé sur le gel, on a prélevé une petite quantité et l'échantillon est placé sous une forme cylindrique dans le rhéomètre dont la dimension était de 1mm d'épaisseur (voir figure III.13.) pour chaque test, l'échantillon est porté à une température de  $37^\circ C$ . Cet échantillon est soumis à une vitesse de cisaillement de  $0.01 s^{-1}$  et de cisaillement angulaire sous une contrainte constante ( $100 rad/s$ ) pendant une durée de 80 secondes au cours de laquelle les valeurs de la déformation du matériau sont enregistrées en fonction du temps. A chaque changement de niveau de contrainte de cisaillement, on change d'échantillon afin d'éviter de superposer les effets de mémoire de la ou des contraintes

précédentes. L'assèchement de l'échantillon est quant à lui est diminué par l'utilisation d'une cellule hermétique permettant de garantir une atmosphère humide tout au long de la mesure.

- **Test sur la crème**

Pour le test d'écoulement de la crème préparée quatre jours auparavant, on a utilisé la géométrie plan-plan de diamètre 25mm. L'échantillon est porté dans le rhéomètre à des températures différentes (de 20 à 45 °C par un pas de 5 °C). Pour le test de la crème on change la géométrie cône-plan par plan-plan pour éviter les perturbations dans la courbe. On change la vitesse de cisaillement à  $0,1s^{-1}$  pendant 46 s et une vitesse angulaire de 100 rad/s.



**Figure III.15.** Photo du test rhéologique de la crème.

Après le premier test, on divise la crème en deux parties (une quantité préservée à basse température et une autre quantité préservée à température ambiante). Et après 4 jours on refait les tests rhéologiques sur ces deux crèmes.

### III.5.3.2. Test de fluage-recouvrance

D'une manière générale, les tests de fluage-recouvrance sont peu utilisés, relativement aux tests de relaxation qui sont très souvent utilisés comme dans notre cas. Notre choix de travail est porté sur des tests de fluages car les tests de fluage sont relativement faciles et directement accessibles par le rhéomètre à contrainte imposée. On s'intéresse donc aux mesures expérimentales en régime transitoire seulement de type fluage-recouvrance puis à la modélisation de la réponse des échantillons étudiés par ce type d'essai.

Pour les gels et la crème, des essais de fluage et essais dynamiques ont été réalisés, en utilisant la géométrie plan-plan avec un entrefer de deux millimètres. L'échantillon, placé entre le plateau supérieur mobile de l'appareil et le plateau inférieur fixe comme il est illustré dans la (figure.III.13.), a été soumis à une contrainte de cisaillement constante ( $0.01Pa$ ) dans

la direction transversale. La durée du fluage a été limitée à 10 s, pour éviter tout phénomène de séchage.

### III.5.3.3. Test dynamique

Souvent, les tests dynamiques prennent une place importante dans ce type de caractérisation en se basant sur l'évolution des deux modules de conservation et de perte. En utilisant toujours le rhéomètre à contrainte imposée, l'échantillon (Gel et la crème) est soumis à une sollicitation harmonique. Au cours du test, les modules  $G'$  et  $G''$ , ainsi que le déphasage  $\delta$  entre la déformation et la contrainte de cisaillement sont portés soit en fonction de la fréquence (frequency sweep test) en fixant l'amplitude, ou l'inverse (amplitude sweep test). Tous les essais en mode dynamiques se déroulent à une température constante de 20 °C.

### Conclusion

Grace aux méthodes et matériels, nous venons décrire ci-dessus, nous avons pu déterminer le rendement, les propriétés physico-chimiques, faire les analyses chimiques et biologiques, préparer les deux produits (crème et gel) et faire les tests rhéologiques. En suivant ces méthodes et en utilisant ces matériels les résultats obtenus que seront interpréter et discuter dans le chapitre suivant.

## Chapitre IV : Résultats et discussions

Les HEs sont caractérisées par différentes propriétés qui constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle.

Les HEs représentent un intérêt croissant pour leurs éventuelles utilisations plus particulièrement pour le traitement de certaines maladies infectieuses en tant qu'agents antimicrobiens. Dans ce contexte nous nous sommes également intéressés à l'activité antimicrobienne de l'HE du thym isolée par hydrodistillation et en fonction de ces résultats, nous avons préparé deux produits (crème et gel). Nous avons fait des tests rhéologiques sur ces deux produits (crème et gel) pour voir si ce sont des produits de bonne qualité.

### IV.1. Calcul du rendement

La détermination des propriétés physico-chimiques, des analyses chimiques et biologiques nécessitent une quantité élevée d'huile. Ceci nous a amené à faire plusieurs extractions conduites sur un certain temps pour arriver à la quantité voulue. Les résultats de calcul des rendements obtenus lors de l'extraction de l'HE de la plante sèche par hydrodistillation durant 3 heures sont regroupés dans le tableaux IV.1.

**Tableaux IV.1.** Rendement d'extraction de l'HE du thymus serpolet.

<b>Masse de la plante (g)</b>	<b>50 g</b>
<b>Volume d'eau distillée</b>	500 ml
<b>Durée d'extraction</b>	3h
<b>Rendement %</b>	0.5 – 1.97

L'hydrodistillation de la partie aérienne de la plante a été réalisée avec le dispositif de Clevenger et le rendement moyen en huile essentielle de la partie aérienne du thymus serpolet a été calculé en fonction de la masse du matériel végétal traité. D'après le tableau ci-dessus, on remarque que les rendements en HE varient de 0.5 % à 1.97 % et le rendement moyen est de 1,235 %. Dans les études antérieures réalisées sur cette plante en Algérie, les chercheurs ont atteint un rendement allant de 1.1 % jusqu'à 3 %, mais pour des régions et avec des espèces différents [55, 56].

Les différences de quantités d'huiles essentielles observées chez le *Thymus* peuvent être liées au choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et

de qualité de l'huile essentielle [57]. D'autres facteurs peuvent également influencer tels que l'espèce de la plante, la zone géographique de collecte, le climat, la génétique de la plante, l'organe utilisé, le stade de développement, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode ainsi que le matériel d'extraction utilisés.

## IV. 2. Propriétés physico-chimiques

Nous avons évalué les propriétés physico-chimiques de huile du thym suivant la pharmacopée Européenne et la commission française de normalisation.

### IV.2.1. Propriétés physiques

D'une part les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physiques, qui sont (caractéristique organoleptique, densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, miscibilité dans l'alcool....) présents dans l'essence.

#### IV.2.1.1. Caractéristiques organoleptiques

Les propriétés organoleptiques du thymus sont regroupées dans le tableau IV.2. Ces résultats sont conformes à ceux données par la pharmacopée européenne 2005. Selon Afnor (2000), les huiles essentielles sont habituellement liquides à température ambiante et volatile, ce qui les différencie des huiles dites fixes [50].

**Tableaux IV.2.** Caractéristiques organoleptiques de l'essence étudiée.

	<b>Caractéristique organoleptiques</b>	<b>Aspect</b>	<b>Odeur</b>	<b>Couleur</b>
<b>HE</b>	Thym sèche	Liquide huileux	Caractéristique et aromatique	Jaune

#### IV.2.1.2. Densité relative

La densité d'une HE est un critère de qualité dans le domaine de la cosmétique, pharmacie, agroalimentaire. etc [50]. Elle peut facilement donner un aperçu sur la naturalité du produit révélant les tentatives de fraudes et d'altérations. La valeur obtenue pour le calcul de la densité de notre HE est rapportée dans le tableau IV.3.

**Tableaux IV.3.** Densité de l'HE du thymus serpolet.

<b>Analyse</b>	<b>HE de thymus</b>	<b>Pharmacopée européenne (2005)</b>
<b>Densité relative</b>	0.93	0.915 – 0.935

L'huile du thymus présente une densité de 0.93. Cette valeur est conforme à celle donnée par Pharmacopée européenne (2005).

#### IV.2.1.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction se définit comme étant le rapport entre le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré. L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé.

L'indice de réfraction est inversement liée au degré d'insaturation de l'huile, plus l'indice de réfraction est faible plus l'HE est de la qualité [58].

**Tableaux IV.4:** Indice de réfraction de l'HE du thymus serpolet

Analyse	HE de thymus	Pharmacopée européenne (2005)
<b>Indice de réfraction</b>	1.50	1.490 – 1.505

L'indice de réfraction de l'huile essentielle du thymus est de 1.50, ce qui est conforme aux normes données par Pharmacopée européenne (2005). Ceci montre sa richesse en composants qui dévient la lumière polarisée [59].

#### IV.2.2. Propriétés chimiques

Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés chimiques organiques, qui sont (indices d'acide, d'ester, saponification) présents dans l'essence.

##### IV.2.2.1. Détermination de pH

Le pH ou « potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes  $H^+$  en solution. Le pH mesure l'acidité ou basicité d'une solution. La lecture se fait directement sur le pH-mètre ou le papier pH. Nous avons mit quelques gouttes d'HE de notre plante sur un bout de papier pH, après le changement de la couleur du papier on la compare avec une gamme de couleurs qui varient selon le pH. Ainsi, l'H.E extrait a été caractérisé par son pH, qui est égal à 6 ce qui veut dire que notre huile essentielle est une huile acide. Vu que le pH toutes les huiles essentielles est acide donc ce qui veut dire que notre résultat est juste.

##### IV.2.2.2. Indice d'acide ( $I_a$ )

L'indice d'acide exprime le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g d'HE. Selon les normes Afnor l' $I_a$  varie de [4,1 – 5,2]. L'indice d'acide  $I_a$  de l'huile essentielle du thymus est égal à 11.78.

**Tableaux IV.5.** Indice d'acidité de l'HE du thymus serpolet.

Analyse	HE de thymus	Normes AFNOR (2000)
<b>Indice d'acide</b>	11.78	4.1 – 5.2

Ce qui montre que le taux d'acidité est très élevé et la valeur n'est pas conforme à celle rapporté par Afnor 2000. Cet indice élevé prouve que l'huile essentielle est instable et provoque une oxydation inquiétante. Car l'huile en s'oxydant se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide.

#### IV.2.2.3. Indice d'ester ( $I_e$ )

L'indice d'ester est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser des acides libérés par hydrolyse en milieu basique des esters contenus dans 1g d'HE. La valeur d'indice d'ester de notre huile essentielle est de 49.93.

**Tableaux IV.6.** Indice d'ester de l'HE du thymus serpolet.

Analyse	HE de thymus	Normes AFNOR (2000)
<b>Indice d'ester</b>	49.93	49.5 – 52.55

Ce résultat est conforme à la norme Afnor qui préconise une valeur de 49.5 – 52.55.

#### IV.2.2.4. Indice de saponification ( $I_s$ )

L'indice de saponification est le nombre en mg de potasse caustique (KOH), nécessaire pour transformer en savon les acides gras et les triglycérides de 1 gde corps gras. L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras (plus le poids moléculaire est faible plus l'indice de saponification est élevé) [59]. L'indice de saponification de l'HE du thymus est de 61.71, ce qui implique l'HE du thymus contient une grande quantité des acides gras à poids moléculaire faible.

### IV.3. Analyse chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle du thymus

Nous avons analysé l'HE de la partie aérienne de la plante thymus serpolet extraite par hydrodistillation.

#### IV.3.1. Analyse spectropique

Les résultats des analyses spectropiques sont présentés ci-après.

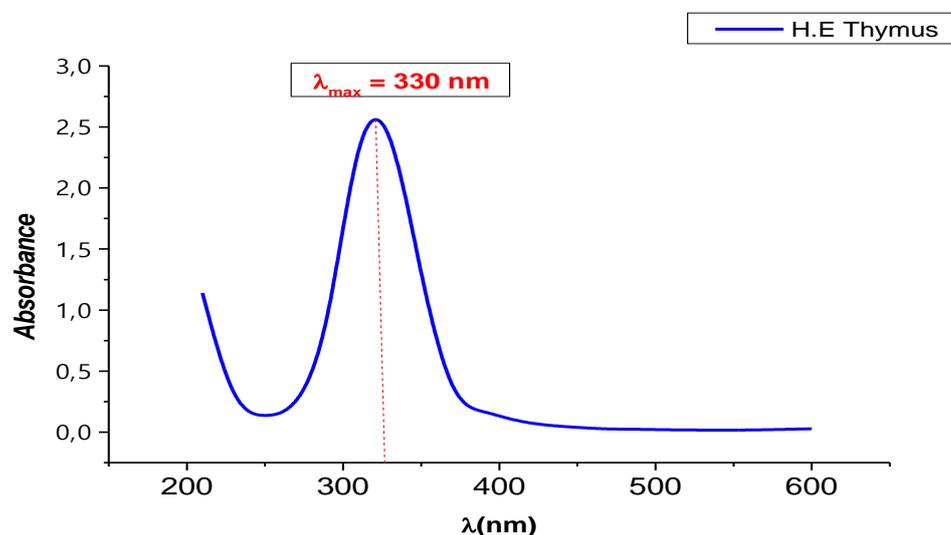
### IV.3.1.1. Spectroscopie Ultra-violet (UV)

Les spectres UV ont été enregistrés sur un spectromètre UV-visible. L'échantillon est préparé de la façon suivante : on a fait une dilution avec une quantité de n-hexane plus (+) une quantité de l'huile du thym.

**Tableaux IV.7.** Tableau de balayage de l'uv-visible du thymus serpolet .

$\lambda$ (nm)	210	230	250	270	290	310	330	350	370
abs	1.1405	0.1783	0.1190	0.1744	0.7484	2.6198	2.6383	102441	0.2228

390	410	430	450	470	490	510	540	560	600
0.1726	0.0939	0.0546	0.0389	0.0239	0.0240	0.0184	0.0169	0.0157	0.028



**Figure IV.1.** : UV-visible de l'HE du thymus serpolet.

Le spectre de la figure IV.1., présente une bande d'absorption caractérisée par une longueur d'onde d'absorption maximale 330 nm ( $\lambda_{\max} = 330$ ).

### IV.3.1.2. Spectroscopie infra Rouge (IR)

Le spectre infrarouge a été enregistré sur un spectromètre, les fréquences d'absorption, représentées dans la figure IV.2., sont exprimées en  $\text{cm}^{-1}$  (c'est le pourcentage de transmittance en fonction de la longueur d'onde).

Les bandes les plus significatives révélées sur le spectre IR de l'huile essentielle étudiée sont reportées sur le tableau IV.8.

COMPARE REPORT

Date: 09.05.2018

Time: 13:37

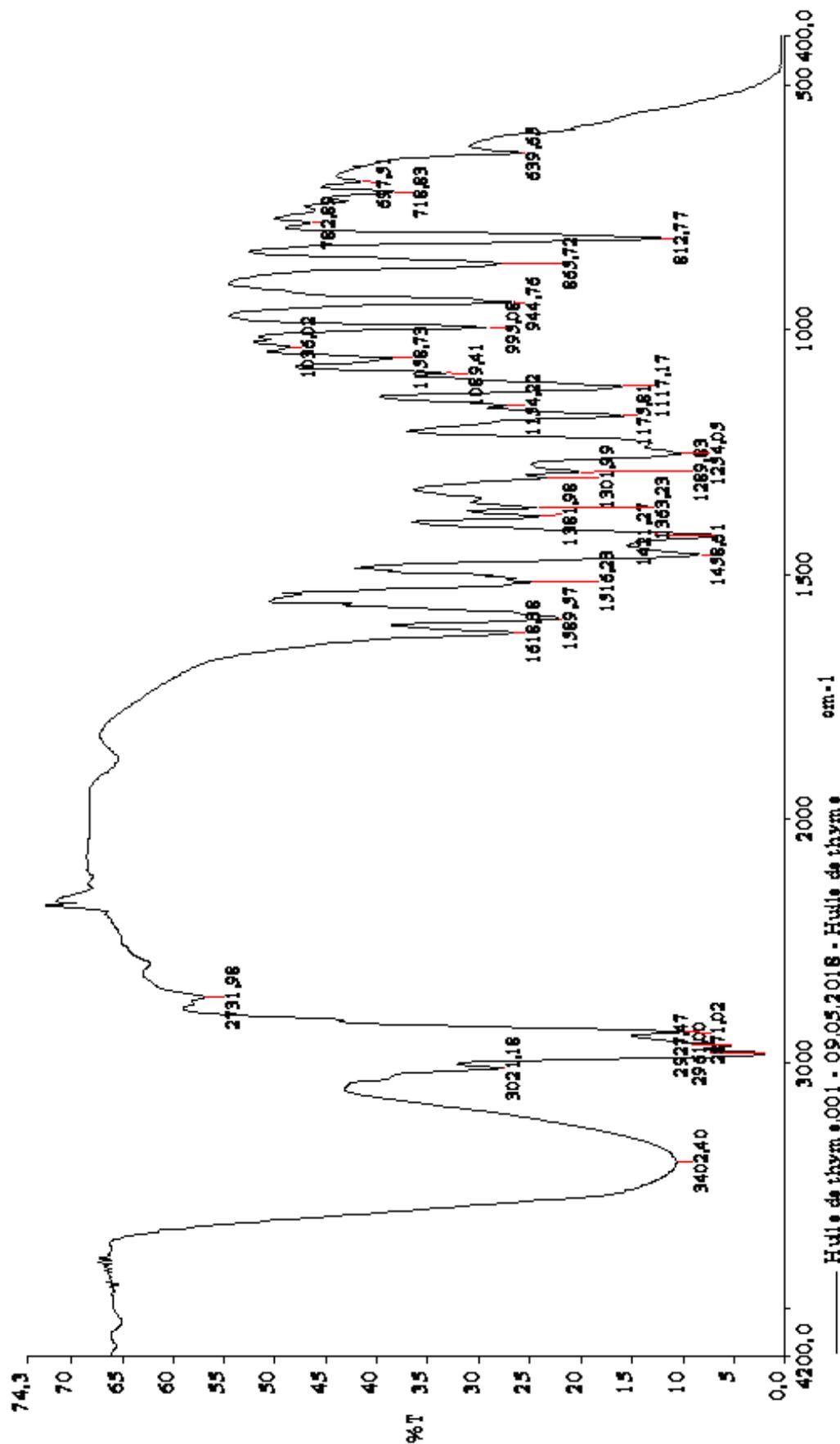


Figure IV.2. : Spectre IR de l'HE du thymus serpolet.

**Tableaux IV.8.** Bandes caractéristiques du spectre IR de l'HE du thymus serpolet .

Fréquence $\nu$ (cm-1)	Liaison	Groupement
3402.40	<b>O-H</b>	Alcool lié
3021.18	<b>Ctri - H</b>	Aromatique
2961.00 - 2731.98	<b>Ctét - H</b>	(-CH <sub>3</sub> )
1618.38	<b>C = C</b>	C = C
1589.57 - 1516.23	<b>C= Caromatique</b>	C = C
1458.61 - 1421.27	<b>Ctét - H</b>	-CH <sub>2</sub> -
1381.98 - 1254.05 / 1036.02	<b>C - O</b>	Esters
1089.41	<b>C - O</b>	Alcools
1175.81 / 1117.17 - 1058.73	<b>C - O</b>	Acides
995.08 - 639.65	<b>C - C</b>	C - C

### IV.3.2. Analyse chromatographique en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/SM)

La chromatographie sous toutes ses formes représente un moyen d'identification et de séparation très efficace fréquemment utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles. L'analyse chromatographique a permis l'identification de 48 composés qui représentent l'HE (figure IV.3.). L'analyse chimique par CG/SM et par comparaison avec les spectres de références, nous avons pu identifier les composants de l'huile essentielle de notre thymus (voir tableau ci-dessous).

**Tableau IV.9.** Composants de l'huile essentielle du thymus serpolet.

N°	Composés	Temps de rétention	Aire (%)
1	Butanoic acid, 2-méthyl-, methyl ester	3.798	0.02
2	Hexanone, 5-methyl	5.364	0.02
3	Thujene « alpha »	6.185	0.25
<b>4</b>	<b>Pinene « alpha »</b>	<b>6.350</b>	<b>1.26</b>
5	Camphene	6.670	0.08
6	Vinyl amyl carbinol	7.198	0.15
7	Sabinene	7.266	0.10
8	3-octanol	7.371	0.06
9	Pinene « beta »	7.485	0.71
10	Alpha,-phellandrene	7.564	0.05
11	Carene « delta-3»	7.846	0.11
12	Terpinene « alpha »	7.991	0.05

13	Cymene « para »	8.128	1.08
<b>14</b>	<b>Limoneme</b>	<b>8.325</b>	<b>10.41</b>
15	Eucalyptol (1.8-cineole)	8.418	0.42
16	Ocimene « (E) -, beta »	8.511	0.02
17	Terpinene « gamma »	8.810	0.02
<b>18</b>	<b>Sabinene hydrate « cis »</b>	<b>9.133</b>	<b>6.57</b>
19	1-octen-3-ol	9.336	0.08
20	Cyclohexene,	9.546	0.07
21	Linalool	9.846	0.12
<b>22</b>	<b>Pinocarveol « trans »</b>	<b>10.069</b>	<b>2.16</b>
23	Borneol	11.142	0.02
24	Terpinen-4-ol	11.806	0.21
25	Terpineol « alpha »	12.073	0.34
26	Carvone « (E)-, dihydro »	12.455	0.04
27	Cyclohexanone	12.621	0.07
28	Benzene	12.833	0.03
29	Thymol	13.626	0.38
30	Carvacrol	14.597	0.14
<b>31</b>	<b>Dehydro-Carvenolide</b>	<b>15.163</b>	<b>60.32</b>
32	Patchoulene	17.701	0.14
33	Trans(.Beta.)-Caryophyllene	17.940	0.13
34	o-méthoxy-, alpha, -dimethylbenzyl	18.299	0.10
35	Aromadendrene	18.376	0.12
36	Humulen-(v1)	18.866	0.04
37	Cadinene « gamma »	19.141	0.02
38	Viridiflorene	19.592	0.13
39	(+)-Beta-Gurjunen (Calaren)	19.974	0.05
40	Cadinene « deta »	20.134	0.07
41	2-methoxy-4-ethyl-6-methylph	20.624	0.04
42	(-)-Spathulenol	21.363	0.41
43	Caryophellene oxide	21.510	0.09
44	Muurolol « alpha-, epi- »	22.597	0.08
45	Naphtalene, 1,2,3,4, 4a, 5, 6, 7-octahydro-4	27.934	0.06
<b>Total</b>			<b>= 81.2</b>

Nous constatons selon les résultats d'analyses présentés dans le tableau ci-dessus que les huiles essentielles du thymus renferment 48 composés dont 45 ont pu être identifiés. Les composants majeurs parmi ceux qu'on a pu identifier sont : **Dehydro-Carvenolide(60.32)**, **Limoneme (10.41%)**, **Sabinene hydrate « cis » (6.57)**, **Pinocarveol « trans » (2.16%)** et **Pinene « alpha » (1.26%)**.



#### IV.4. Tests biologiques : activité antimicrobienne

Le genre thymus possède une grande importance pharmacologique, puisque son huile essentielle est dotée d'activités antibactériennes, antifongiques et expectorante [1].

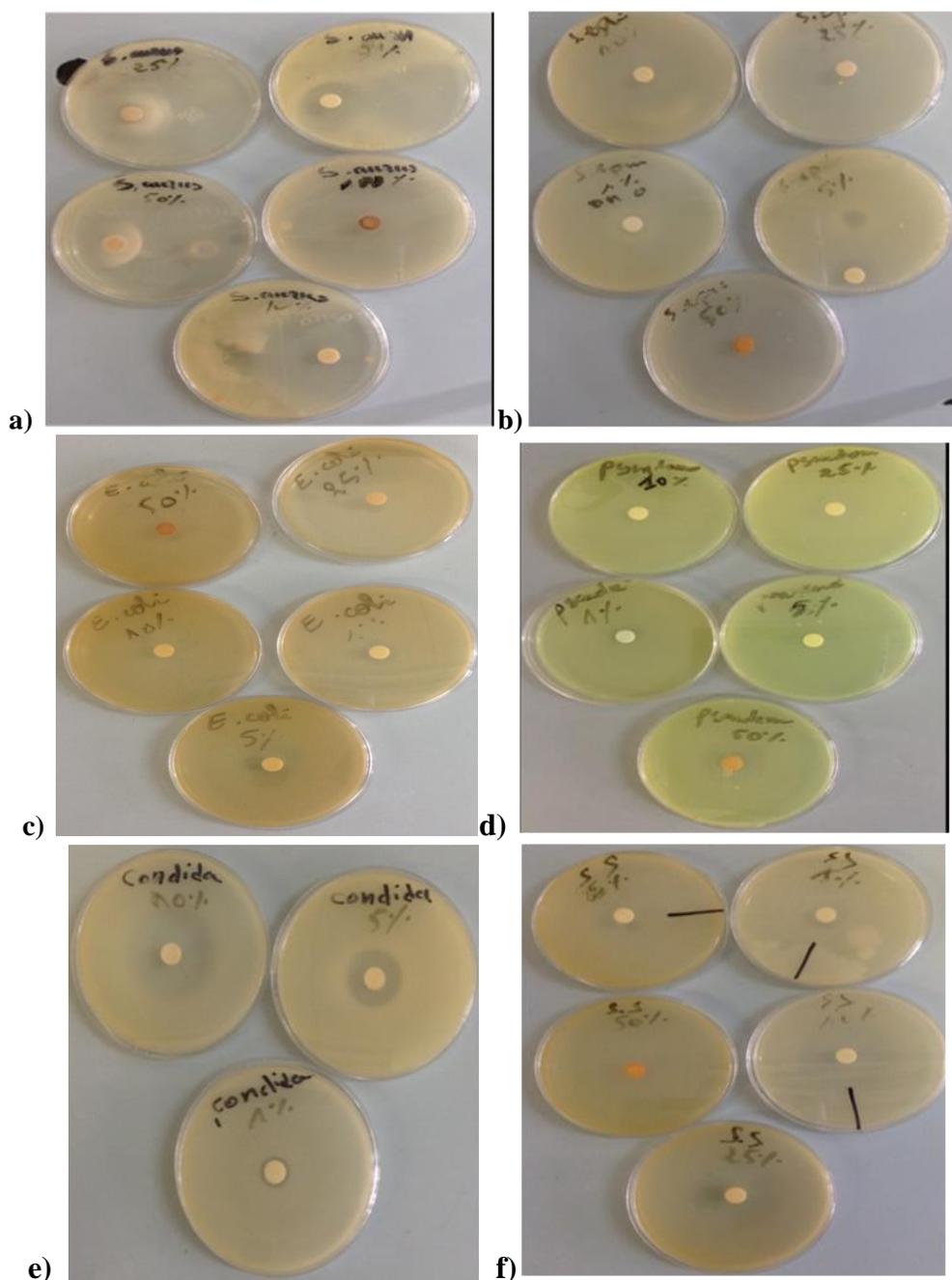
Nous avons fait l'étude de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle du thymus par la méthode des disques (aromatogramme). Les résultats des tests effectués permettent de faire l'identification de l'activité antibactérienne de notre huile essentielle :

- Si la souche est sensible, une zone d'inhibition circulaire se forme, c'est-à-dire que le développement des bactéries au niveau de la zone de diffusion de l'échantillon est inactif.
- Si la souche est résistante, le diamètre de cette zone d'inhibition est négligeable, d'autre part que les bactéries n'ont pas été inhibées par l'échantillon diffusé.

- **Bactéries**

La méthode de diffusion sur gélose permet d'évaluer l'effet de notre huile essentielle sur les germes de références. Les bactéries testées présentent une sensibilité à l'huile essentielle du thymus mais à des degrés différents, vu le diamètre des zones d'inhibition obtenu qui varie pour la même concentration de l'huile essentielle d'une souche à une autre.

- Souche *Staphylococcus aureus* : pour cette souche, on observe que les zones d'inhibitions varient de manière significative et sont proportionnelles aux différentes concentrations. La souche manifeste une sensibilité relativement élevée par rapport aux autres souches bactériennes, ce qui implique que notre huile présente un effet inhibiteur contre la souche *Staphylococcus aureus* (figure IV.4.a.).
- *Staphylococcus epidermidis*: les résultats de la sensibilité de cette souche vis-à-vis de l'huile essentielle du thymus montrent des zones d'inhibitions moins élevées que les zones d'inhibitions de *Staphylococcus aureus* mais n'empêche que notre huile essentielle présente un caractère inhibiteur contre cette souche (figure IV.4.b.).
- *Escherichia Coli* : les résultats de la sensibilité, vis-à-vis de nos échantillons diffusés montrent des zones d'inhibitions presque équivalentes à ceux de *Staphylococcus epidermidis*, cela prouve que l'huile essentielle a un caractère inhibiteur contre *Escherichia coli* (figure IV.4.c.).
- *Pseudomonas aeruginosa* : l'huile essentielle présente un effet inhibiteur faible contre la souche de *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui montre que notre huile a un caractère inhibiteur faible contre cette souche par rapport aux autres souches (figure IV.4.d.).



**Figure IV.4.** Sensibilité des souches : **a)** *Staphylococcus aureus*, **b)** *Staphylococcus epidermidis*, **c)** *Escherichia coli*, **d)** *Pseudomonas aeruginosa*, **e)** *Candida albicans* et **f)** *Saccharomycèse serivisial* .

- **Levures**

Le meme principe est appliqué aux levures afin de déterminer leur profil de sensibilité vis-à-vis de l'huile essentielle. Dans ce travail, on a étudié l'effet de l'HE sur deux espèces disponibles au laboratoire microbiologique du groupe pharmaceutique Sidal de Médéa, ils s'agissent du *Candida albicans* (figure IV.4.e.) et *Saccharomycèse serivisial* (figure IV.4.f.), les diamètres de ces zones d'inhibitions sont tres importantes. On confirme que l'huile essentielle du thymus présente un caractère antifongique élevé vis-à-vis de ces deux levures.

Les résultats obtenus en général sont en accord avec les études précédemment rapportés dans la littérature. Toutes les souches ont montré un certain degré de sensibilité à l'huile essentielle du thymus.

**Tableau IV.10.** Les résultats des zones d'inhibitions des différentes souches à différentes concentrations.

	Milieu de Culture	50 %	25 %	10 %	5 %	1 %
<b>Bactéries</b>						
<b>Staphylococcus aureus (Gram +)</b>	Soya agar	55 mm	46 mm	36 mm	23 mm	20 mm
<b>Staphylococcus epidermidis (Gram +)</b>	Milieu 11	54 mm	40 mm	34 mm	23 mm	15 mm
<b>Escherichia coli (Gram -)</b>	Soya agar	52 mm	34 mm	28 mm	14 mm	11 mm
<b>Pseudomonas aeruginosa (Gram -)</b>	Cetrimide agar	16 mm	13 mm	12 mm	11 mm	–
<b>Lévures</b>						
<b>Candida albicans</b>	Sabouraud	Diamètre occupe toute la zone	Diamètre occupe toute la zone	38 mm	24 mm	19 mm
<b>Saccharomyces serivisial</b>	Sabouraud	Diamètre occupe toute la zone	42 mm	37 mm	22 mm	14 mm

Une échelle de mesure de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est mise par Meena et Sethi en 1994, classant les diamètres des zones d'inhibitions de la croissance microbienne en 04 classes [60]:

- Fortement inhibitrice lorsque :  $\varnothing \geq 28$  mm de la zone d'inhibition ;
- Modérément inhibitrice lorsque :  $28 \text{ mm} > \varnothing > 16$  mm de la zone d'inhibition ;
- Légèrement inhibitrice :  $16 \text{ mm} > \varnothing > 10$  mm de la zone d'inhibition ;
- Non inhibitrice lorsque :  $0 < 10$  mm de la zone d'inhibition.

L'HE du thymus a présenté une action fortement inhibitrice au contact de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et modérément inhibitrice au contact de

*Pseudomonas aeruginosa*. Chez les levures, nous observons la présence d'une action fortement inhibitrice de la croissance de *Candida Albicans* et de *Saccharomycèse servivialis*.

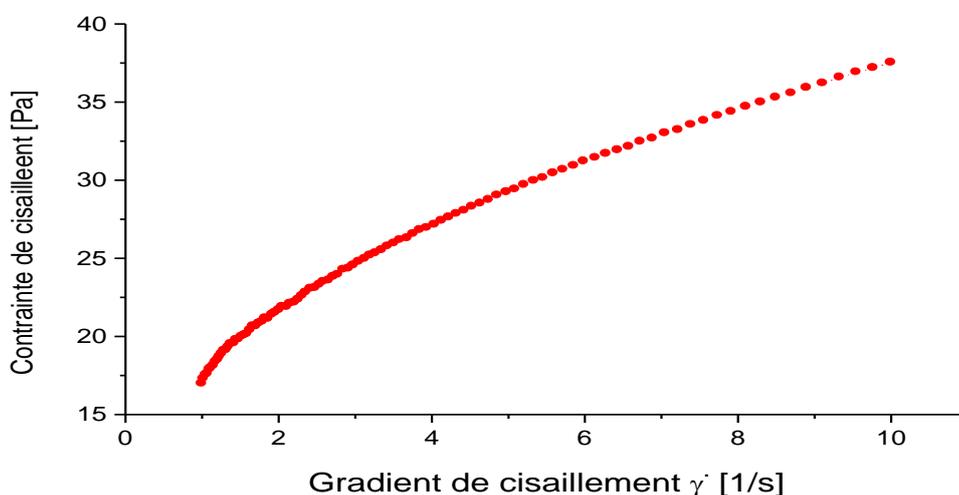
## IV.5. Résultats des tests rhéologiques

### IV.5.1. Etude de comportement rhéologique du Gel

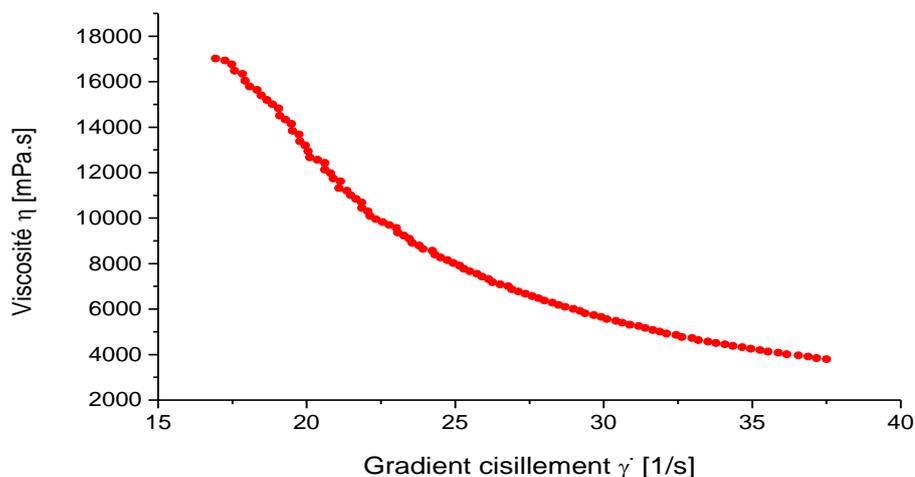
Les résultats des tests rhéologiques réalisés sur le gel sont présentés ci-dessous :

#### IV.5.1.1. Réponses en tests d'écoulements

Les résultats de test d'écoulement de gel à blanc (gel préparé à partir du CPB, eau distillée et tri-éthanol), réalisé le premier (1<sup>er</sup>) jour sont présentés en échelle log-log dans les figures (IV.5) et (VI.6).



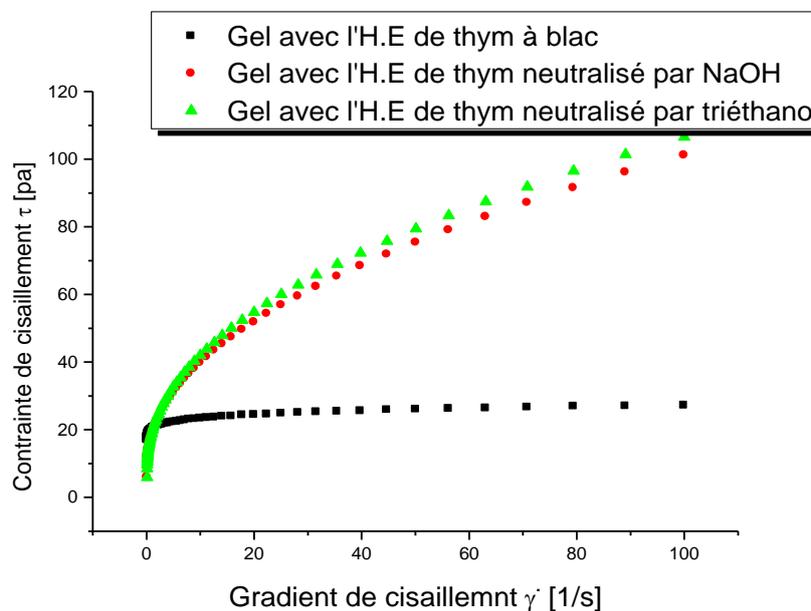
**Figure IV.5.** Courbe d'écoulement du gel à blanc : la contrainte  $\tau = \dot{\gamma}$  .



**Figure IV.6.** Courbes d'écoulement du gel à blanc : la viscosité en fonction de gradient de cisaillement  $\dot{\gamma}$  .

La figure IV.5., présente la courbe de contrainte de cisaillement ( $\tau = f(\dot{\gamma})$ ). On remarque que la contrainte  $\tau$  augmente avec la vitesse de cisaillement, donc le comportement de gel à blanc est bien non-Newtonien. Alors on peut modéliser la courbe par le modèle de HARSHEL-BERCKLY. De la figure IV.6., on remarque une diminution de la viscosité de cisaillement ( $\tau$ ) avec le taux de cisaillement ( $\dot{\gamma}$ ) représentée en échelle Linéaire, du gel à blanc préparé et testé le premier (1<sup>er</sup>) jour. Ces figures montrent que le gel à blanc a un comportement rhéofluidifiant (pseudo plastique), avec une contrainte seuil. Alors, on peut le modéliser avec le modèle de HARSHEL-BERCKLY.

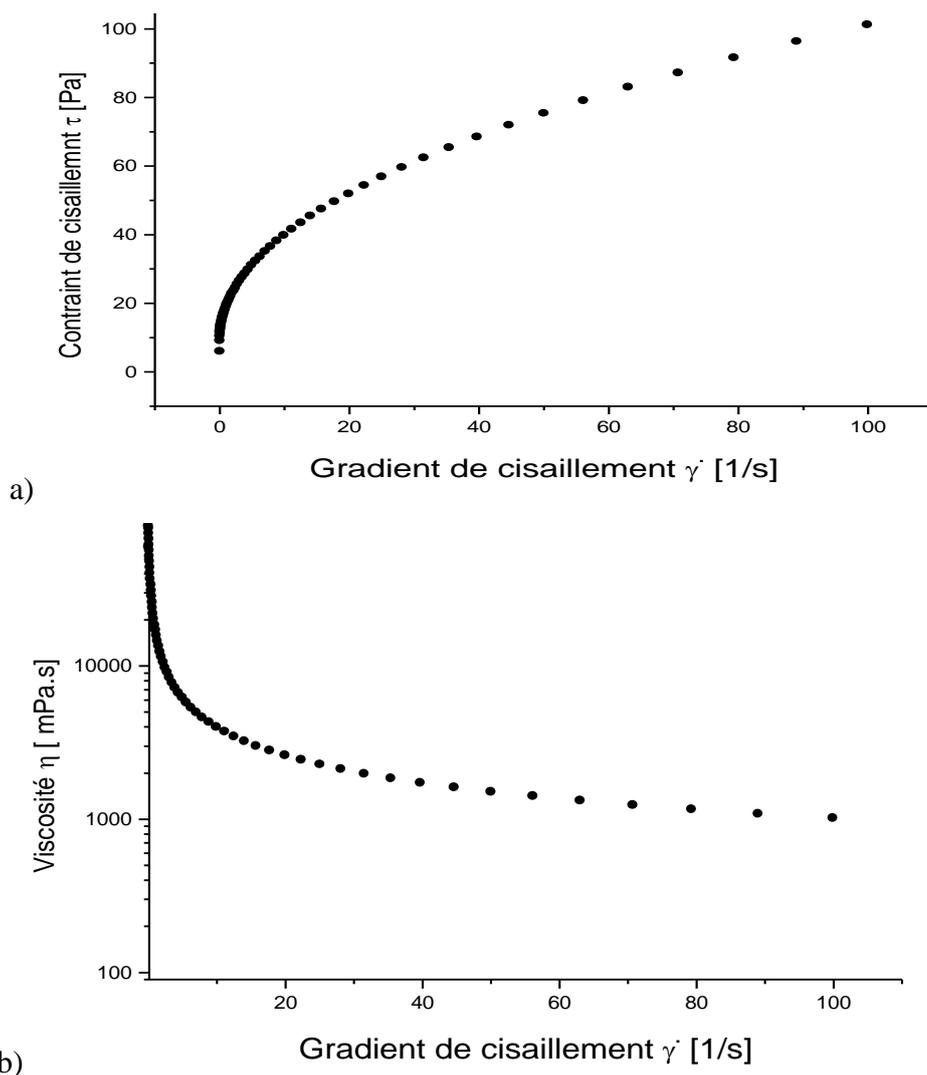
Les résultats obtenus des tests d'écoulements du premier jour des 03 gels (Gel avec H.E de thym à blanc, Gel avec H.E de thym neutralisé avec NaOH et Gel avec H.E de thym neutralisé avec triéthanol) sont rassemblés dans la figure IV.7.



**Figure IV.7.** Comparaison des 3 gels (Gel avec H.E de thym à blanc testé premier jour, Gel avec H.E de thym neutralisé avec NaOH et Gel avec H.E de thym neutralisé avec triéthanol : testés deuxième jour).

D'après ces résultats, on constate que ces graphes présentent le même comportement rhéofluidifiant, avec différentes valeurs de contrainte critique qu'on peut modéliser avec le modèle de HARSHEL BERCKLY. La courbe du gel de thym neutralisé avec le NaOH et du gel neutralisé par le triéthanol sont presque identiques. Quant au gel à blanc, celui-ci a présenté une contrainte inférieure par rapport aux deux autres gels.

Les tests, réalisés le deuxième jour de la préparation, sont représentés respectivement par la figure IV.8.a., et la figure IV.8.b., qui représentent respectivement les rhéogrammes de  $\tau(\dot{\gamma})$  et  $\eta(\dot{\gamma})$  du gel de thym préparé avec le gélifiant CPB plus (+) le Triéthanol.

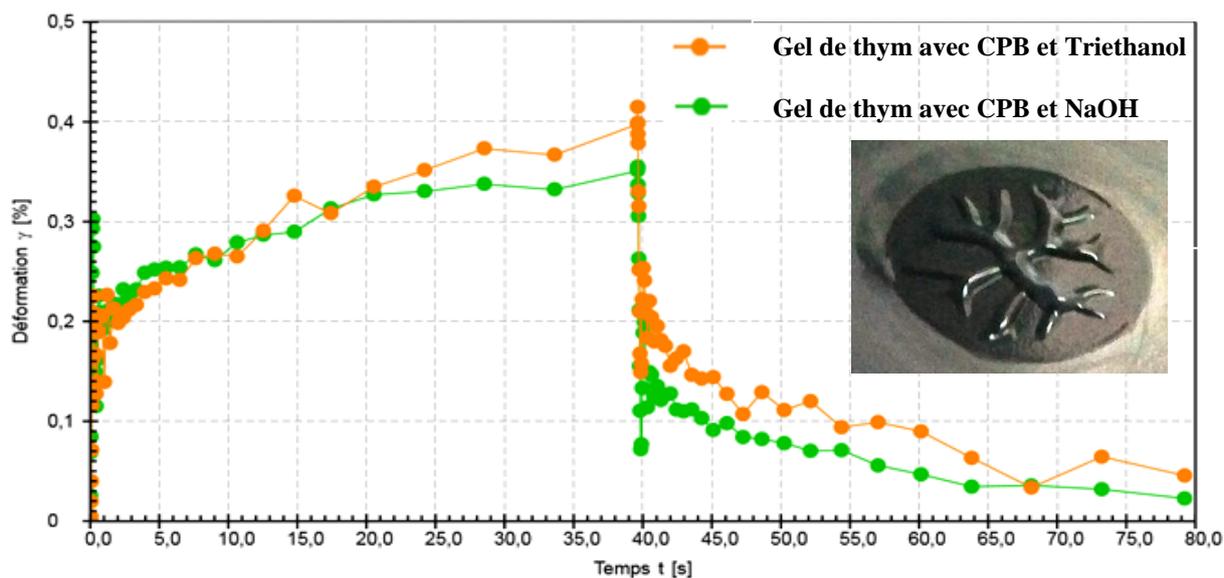


**Figure IV.8.** Rhéogramme de test d'écoulement du gel de thym préparé avec le gélifiant cpb et le Triéthanol : testé après une journée de repos: a)  $\tau(\dot{\gamma})$  et b)  $\eta(\dot{\gamma})$ .

On observe encore que le gel présente un comportement rhéofluidifiant avec presque les mêmes valeurs de contrainte et de viscosité, donc le produit n'a pas changé son comportement.

#### IV.5.1.2. Réponses des Tests de fluages

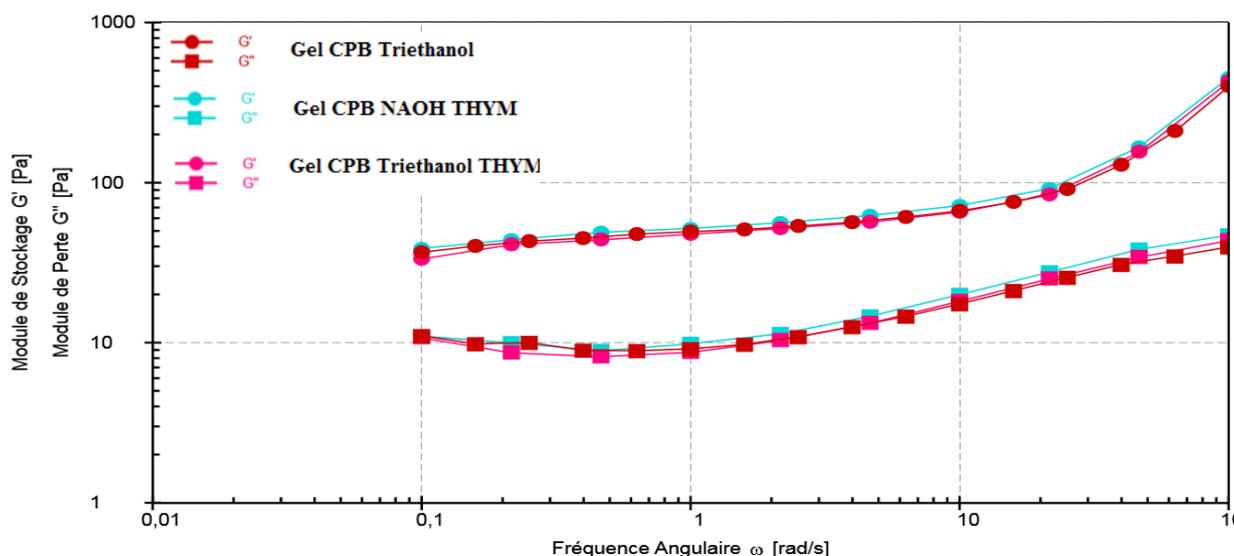
La figure IV.9., montre les résultats issus d'un essai du fluage-recouvrance effectué sur les gels de thym préparé avec CPB plus le triéthanol et CPB plus le NaOH pendant 80s. Ces courbes représentent la déformation ( $\gamma$ ) en fonction de temps ( $t$ ). Ce résultat est typique d'un comportement viscoélastique : le fluage subie lors de l'application d'un échelon de contrainte  $\tau = 0,01$  Pa, débute par une élasticité instantanée puis retardée et il finit par une pente qui traduit une perte irréversible due d'un écoulement dans l'intervalle [15, 40] s.



Dans la recouvrance (suppression de la contrainte), le matériau récupère une partie de la déformation instantanément puis une partie retardée. On remarque encore le gel neutralisé avec le NaOH est plus solide que celui neutralisé avec le Triéthanol.

#### IV.5.1.3. Réponses des tests dynamiques

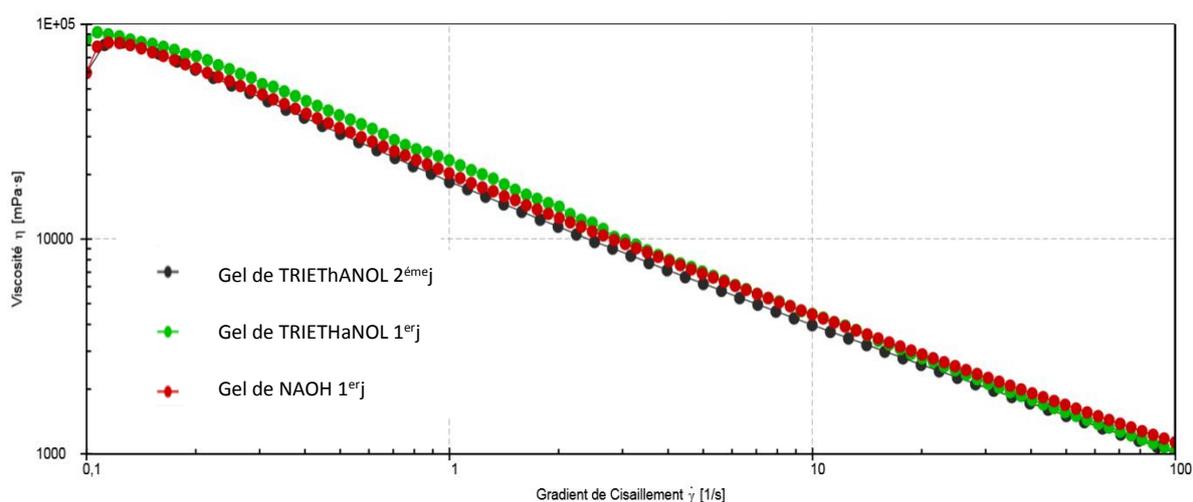
La réponse de l'échantillon à la sollicitation sinusoïdale est donnée par l'évolution des modules de stockage  $G'$  et de perte  $G''$  en fonction de la fréquence angulaire  $\omega$  [rad/s].



Dans cette étude tous les tests dynamiques ont été réalisés en domaine linéaire. La figure IV.10., montre que les gels préparés ont un comportement solide viscoélastique dépendant de la fréquence. Il ressort que le module  $G'(\omega)$  qui correspond à la composante élastique de la réponse et qui traduit donc l'énergie stockée dans le matériau est supérieure que le module  $G''(\omega)$  qui représente une quantité proportionnelle à l'énergie dissipée lors de la déformation. Cette perte est due de la viscosité. L'évolution de ces paramètres caractéristiques des trois gels est presque identiques, une légère supériorité des paramètres du gel neutralisé avec le NaOH (courbe en bleu).

### *Influence du temps sur le gel*

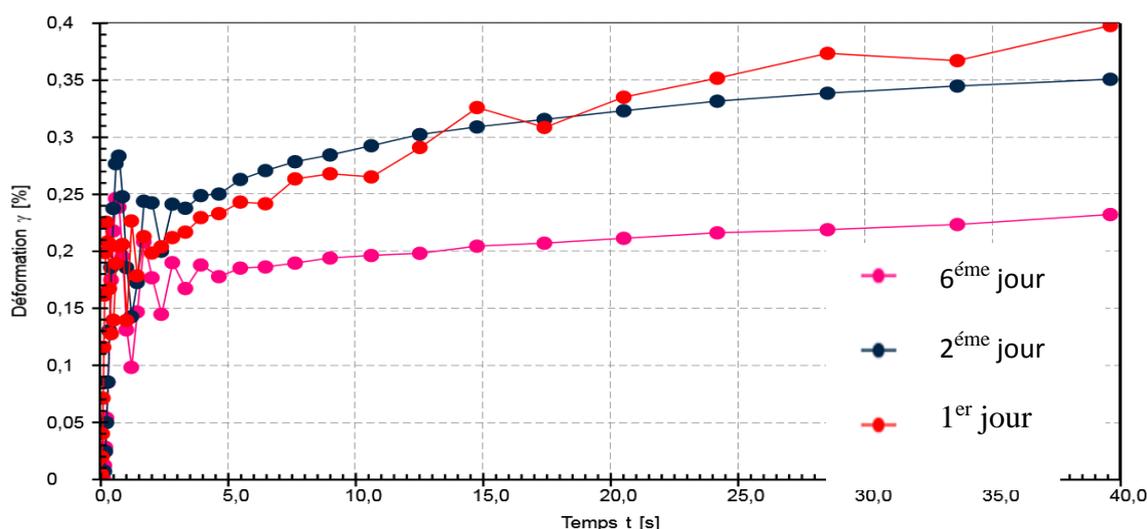
Afin d'étudier la stabilité des gels préparés, on a réalisé des tests rhéologiques pour différentes dates. Les réponses des tests d'écoulements des gels de thym préparés avec triéthanol (testés le premier (1<sup>er</sup>) et deuxième (2<sup>ème</sup>) jour) et avec NaOH (testé le premier (1<sup>er</sup>)) à 20°C sont présentées dans la figure IV.11.



**Figure IV.11.** Comparaison entre les deux gels de thym : gel de Triéthanol et gel de NaOH testés à température 20°C, le premier et deuxième jour de ses préparations.

La superposition des trois courbes veut dire qu'elles ont le même comportement rhéofluidifiant avec une faible différence en ordre de grandeur.

Pour ce qui concerne le fluage, les gels se solidifient avec le temps puisque la déformation diminue avec le temps, comme l'illustre la figure IV.12., ce qui veut dire que le temps influe sur sa structure. Le gel de thym, neutralisé avec le NaOH, devient de plus en plus solide dans le temps, on peut le remarquer sur la courbe en noir où le gel est devenu moins déformable que le premier (1<sup>er</sup>) jour et le sixième (6<sup>ème</sup>) jour encore moins déformable que le deuxième (2<sup>ème</sup>) donc nous pouvons conclure qu'il tend vers la solidification.



**Figure IV.12.** Evolution du comportement du gel de thym, préparé par le CPB et NaOH, avec le temps en fonction des nombres des jours.

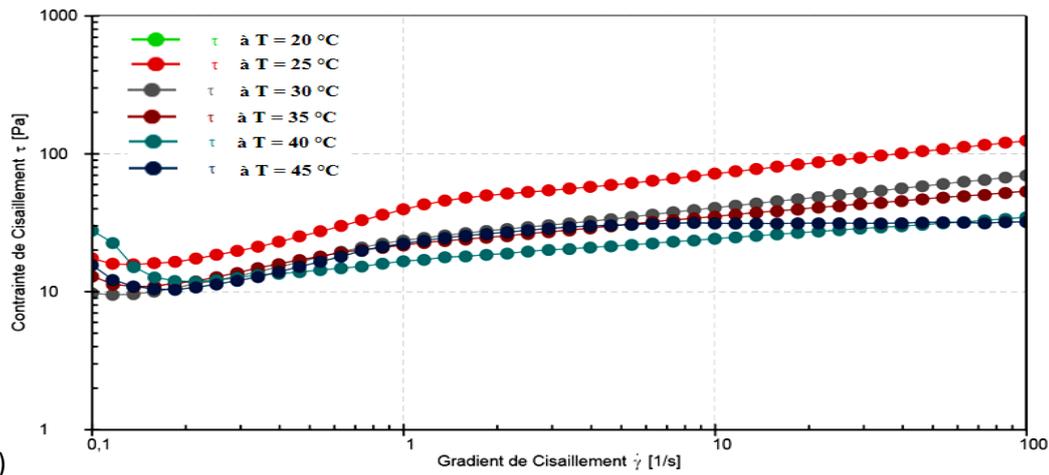
Egalement, les mêmes constats ont été faits pour le gel neutralisé avec le Triéthanol. Les mêmes tests ont été réalisés sur ces gels après un mois. Les résultats obtenus, et qui n'ont été présentés dans ce manuscrit, montrent que les gels se stabilisent après une phase transitoire de quelques jours.

#### IV.5.2. Etude de comportement rhéologique de la Crème

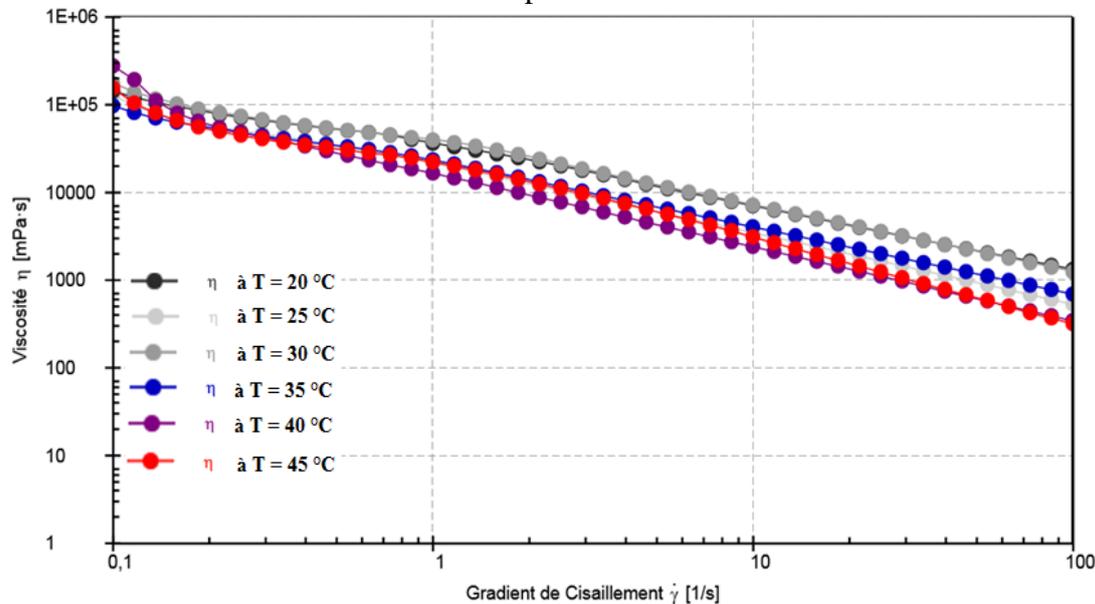
Les résultats des tests rhéologiques réalisés sur la crème sont présentés et discutés ci-dessous :

##### IV.5.2.1. Réponses des tests d'écoulements

Les figures IV.13 et IV.14, représentent les différentes courbes d'écoulements qui sont respectivement : la contrainte de cisaillement  $\tau(\dot{\gamma})$  et la viscosité apparente  $\eta(\dot{\gamma})$  de la même crème de thym préservée à température ambiante, testée le neuvième (9<sup>ème</sup>) jour après sa formulation en variant la température de 20 °C à 45 °C. On constate que la viscosité et la contrainte de la crème de thym, préservée à température ambiante et testée le neuvième (9<sup>ème</sup>) jour en variant la température de 20 °C à 45 °C que les courbes à température 20 °C et 25°C sont identiques et plus stable (homogène) . Par contre à partir de 30°C la crème commence à se dégrader. Les résultats de d'autres tests que nous avons réalisés sur la même crème conservée à basse température et qui n'ont pas été représentés dans ce mémoire montre que ce produit est devenu plus fragile que celui conserve à température ambiante. Donc, il est préférable de préservée cette crème dans l'intervalle de température [20-25] °C.



**Figure IV.13.** Effet de la température T sur les courbes d'écoulement  $\tau(\dot{\gamma})$  de la crème de thym, préservée à température ambiante et testée le 9<sup>ème</sup> jour en variant la température de 20 °C à 45 °C.

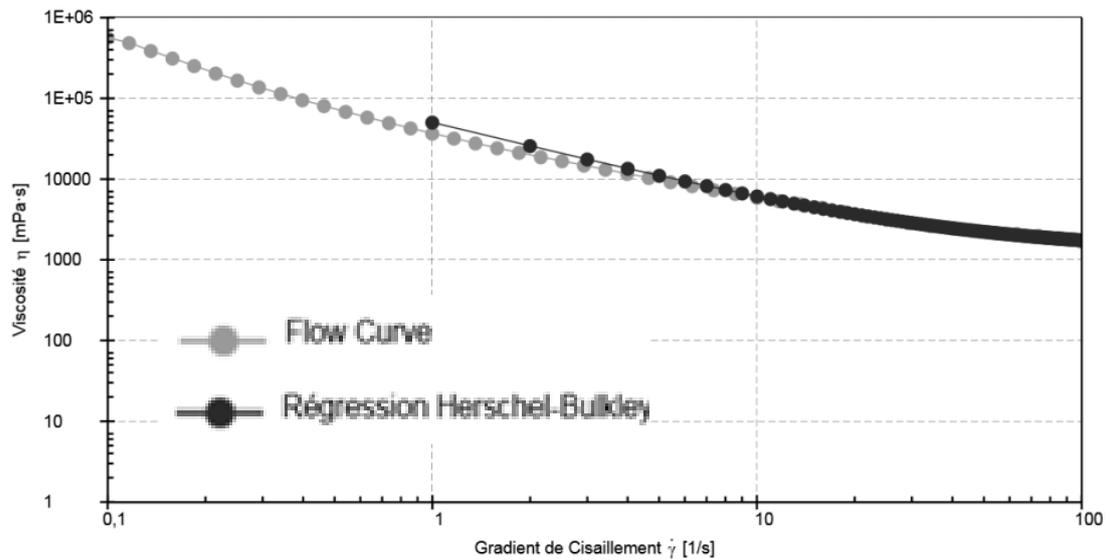


**Figure IV.14. :** Effet de la température T sur les courbes d'écoulement  $\eta(\dot{\gamma})$  de la crème de thym, préservée à température ambiante et testée le 9<sup>ème</sup> jour en variant la température de 20 °C à 45 °C.

**Modélisation en écoulement**

De tous les résultats obtenus, on a observé que la crème a un écoulement de type rhéofluidifiant qu'on peut l'analyser avec la loi de puissance. La figure IV.15., présente une analyse de test d'écoulement de la crème avec le modèle de HERSCHEL-BELKY. On remarque que le modèle, donné par l'équation cité ci-dessous, superpose très bien les données expérimentales :

$$\begin{cases} \eta = \left( \frac{48,65}{\dot{\gamma}} + 1,181\dot{\gamma}^{1,013-1} \right) \dot{\gamma} & \tau > \tau_0 \\ \dot{\gamma} = 0 & \tau \leq \tau_0 \end{cases} \quad \text{(Eq. IV.1)}$$

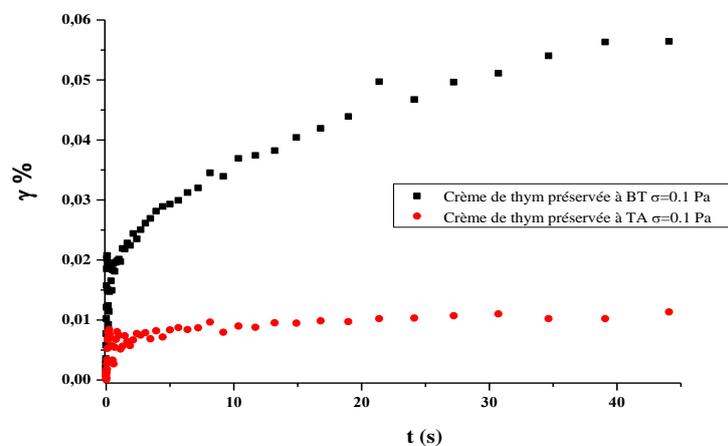


**Figure IV.15.** Evolution de la viscosité en fonction de gradient de cisaillement modélisé avec la loi de puissance.

Ce modèle permet de représenter le comportement rhéologique de ces fluides avec différentes contraintes seuil  $\tau_0$  et puissances  $n$ .

#### IV.5.2.2. Réponses des tests de fluages

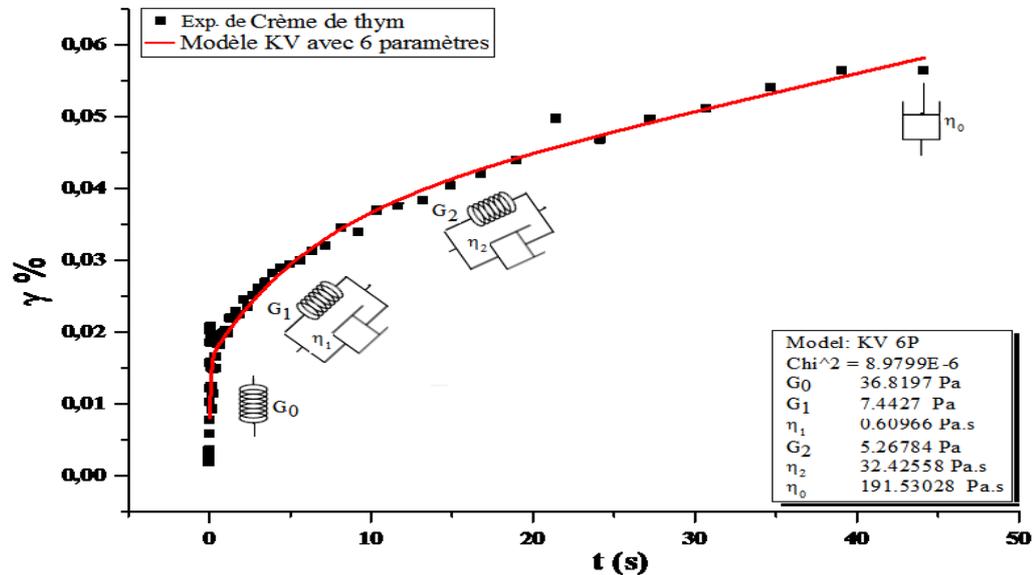
La figure ci-dessous illustre l'évolution du comportement de la crème de thym préservée à basse température et la crème conservée à température ambiante et testées le 9<sup>ème</sup> jour à 20 °C. On remarque que la crème préservée à basse température est plus déformable que celle préservée à température ambiante par rapport à la température ambiante en fonction du temps. Cette dernière est apparait plus homogène que la première, mais les deux présentent un comportement viscoélastique qu'on peut les modéliser par le modèle de kelvin-voigt généralisé.



**Figure IV.16.** Evolution du comportement de la crème de thym préservée à basse température et à température ambiante testée à neuvième jour.

*Modélisation en fluage*

Dans ce manuscrit, on a pris à titre exemple le modèle d'une seule courbe de fluage. L'analyse du résultat de fluage de la crème de thym avec le modèle de kelvin voigt généralisé, de 6 paramètres est présentée dans la figure IV.17.



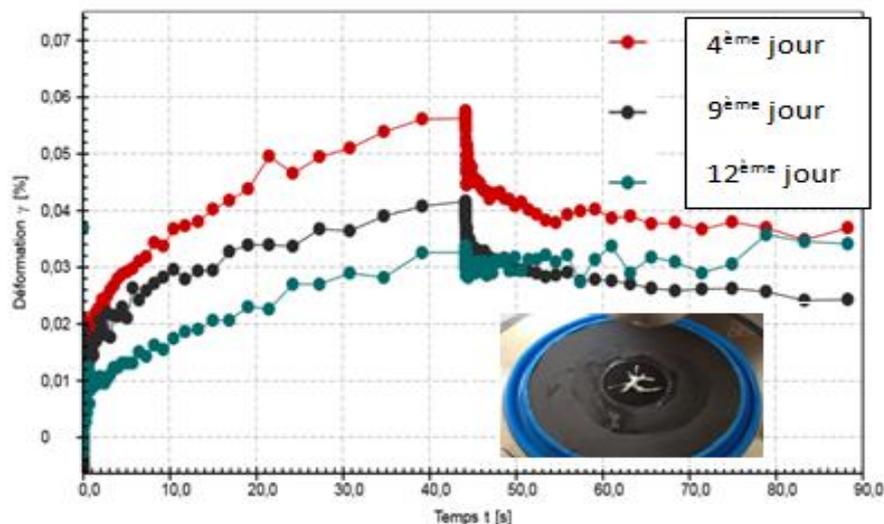
**Figure IV.17.** Evolution de comportement de la crème de thym préservée à basse température et à température ambiante testé le neuvième jour.

On remarque que le modèle, donné par l'équation cité ci-dessous, superpose très bien les données expérimentales :

$$\gamma = \frac{\tau_0}{G_0} + \frac{\tau_0}{G_1} \left( 1 - e^{-\frac{G_1 * t}{\eta_1}} \right) + \frac{\tau_0}{G_1} \left( 1 - e^{-\frac{G_2 * t}{\eta_2}} \right) + \frac{\tau_0}{\eta_0} t \quad (\text{Eq. IV.2})$$

Au début on a une déformation instantanée (élasticité), représentée par un ressort, puis avec les deux solides viscoélastiques de kelvin voigt, qui représentent l'élasticité retardée et à la fin on a une viscosité, représentée par un amortisseur, qui se traduit par l'apparition d'une pente.

On a, également, étudié l'effet du temps sur la crème. La figure IV.18. Représente l'évolution de la déformation de la crème de thym préservé à basse température en fonction des nombres de jours.



**Figure IV.18.** Evolution de la déformation de la crème de thym en fonction de temps de conservation (nombre de jours).

En comparant la déformation de la crème conservée à basse température et testée après quatre (4), neuf (9) et douze (12) jours après sa préparation, on constate que :

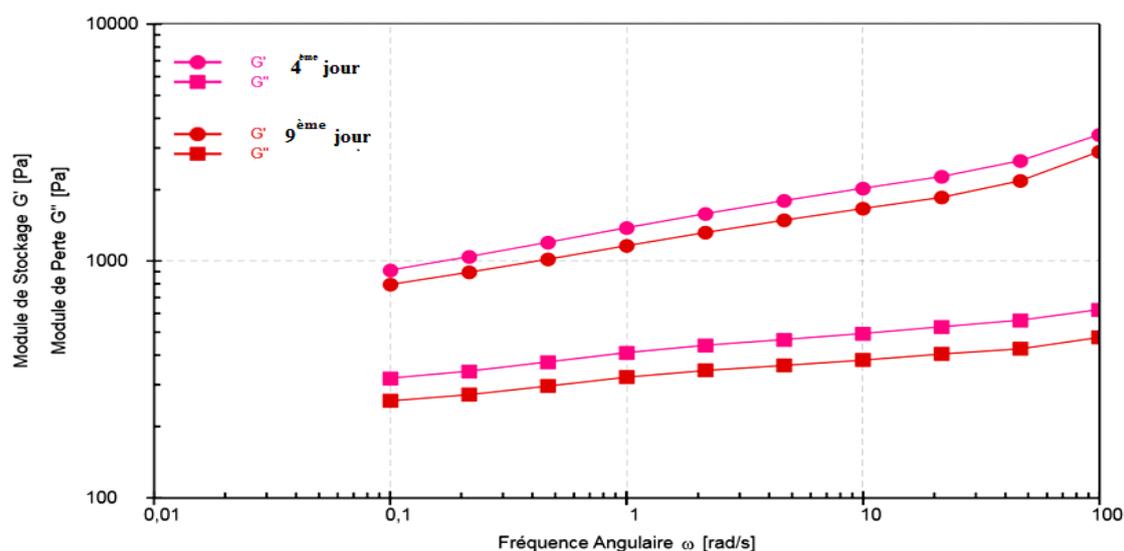
- l'élasticité instantanée diminue en fonction des nombres des jours comme l'illustre la figure ci-dessus c'est-à-dire le produit n'a pas gardé ces propriétés ;
- l'élasticité retardée augmente légèrement ainsi que la viscosité (diminution de la pente) ;
- la crème de quatrième (4<sup>ème</sup>) jour est la plus déformable ;
- pour la recouvrance, on constate que la crème de thym récupère une partie seulement de la déformation.

La crème conservée à température ambiante récupère plus de déformation en recouvrance que la crème de basse température (résultats non représentés dans ce travail).

### IV.5.2.3. Réponses des tests dynamiques

Nous étudions ici l'évolution des modules dynamiques ( $G'$  et  $G''$ ) de la crème de thym préservé à température ambiante, testée le quatrième (4<sup>ème</sup>) et le neuvième (9<sup>ème</sup>) jour de sa préparation. La figure IV.19., montre que la crème de thym testée le 4<sup>ème</sup> jour est beaucoup plus stable (visqueux-élastique) par rapport à la crème de thym testée le 9<sup>ème</sup> jour.

A travers cette figure, nous remarquons que les paramètres caractérisant la crème testée le 9<sup>ème</sup> jour (rouge) est légèrement inférieurs à ceux de la crème testée le 4<sup>ème</sup> jour c'est-à-dire stable visqueux-élastique par rapport aux deux autres. On constate que la crème conservée à température ambiante est stable, comme le montre ainsi, les résultats de fluage et d'écoulement.



**Figure IV.19.** Comparaison entre les paramètres viscoélastiques ( $G'$  et  $G''$ ) de la crème de thym, préservée à température ambiante, testée le quatrième et le neuvième jour de sa préparation.

Nous avons également étudié l'effet de température de la crème du thym. Les résultats obtenus montrent que la température influe sur la crème. La crème de thym, conservée à température ambiante, commence à se dégrader à partir de 30 °C.

### Conclusion

Les résultats obtenus des tests réalisés sur l'HE de thymus serpolet, de la région de Djendel wilaya de Ain Defla en Algérie, indiquent que les paramètres physico-chimiques des échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de références établies par les normes. Ces paramètres physico-chimiques diffèrent suivant l'origine de l'huile essentielle de thymus. Ainsi une huile du Mali n'aura pas les mêmes valeurs de paramètres qu'une huile d'Algérie ou différentes régions de même pays. Autres que les conditions édaphiques, ces paramètres sont influencés par les conditions climatiques et de cultures des plantes. L'analyse CG/SM, montre que l'essence d'HE du thym serpolet est constituée des composants majoritaires suivants : Dehydro-Carvenolide (60,32 %), Limonène (10,41%), Sabinène hydrate-cis (6,57), Pinocarveol-trans (2,16%) et alpha-Pinène (1,26%). Grâce aux méthodes spectroscopiques, on a pu obtenir les types de vibrations, les groupements, les liaisons et la longueur d'onde maximale. L'HE de thym extrait dans le cadre de ce projet présente une activité antimicrobienne très importante. A travers les tests rhéologiques de la crème et les gels préparés, nous pouvons déduire que la température et le temps influent ses comportements mécaniques. La majorité des résultats obtenus sont conformes à ceux de la littérature. En améliorant les conditions de travail, on peut des produits plus stables et de bonne qualité.

## Conclusion Générale

L'objectif général de ce mémoire était l'étude rhéologique des formulations à base des huiles essentielles. Afin d'atteindre cet objectif, on est passé par plusieurs étapes. Sur la lumière d'une étude bibliographique détaillée, nous avons préparé et étudié, lors de ce travail, deux formulations à base de thym.

L'utilisation des huiles essentielles demande beaucoup de précautions, vu que ces huiles, parmi lesquelles huile de thym, ont un caractère acide dû de sa composition en principes actifs. Il est donc fondamental de savoir précisément ce que contient une huile essentielle pour l'utiliser en sécurité et surtout pour se garantir le meilleur résultat en fonction de ce que l'on attend d'elle. Pour cela, son introduction dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques doit être dans les normes, généralement diluée dans les solutions antiseptiques ou avec faibles concentrations dans les gels et les crèmes. Dans notre étude, on a pu préparer une crème et un gel à base de quelques gouttes seulement de l'huile essentielle de thym serpolet avec les produits disponibles au niveau de nos laboratoires. Mais bien avant cette préparation, on a remarqué un rendement moyen de 1,235 % de notre HE après l'extraction. D'autant que les paramètres physico-chimiques diffèrent suivant l'origine de la plante du thymus, les résultats des tests ont indiqué que les paramètres physico-chimiques des échantillons analysés se trouvent dans les fourchettes de références établies par les normes.

Ensuite nous avons tenté d'analyser l'HE du thym en mettant en œuvre les techniques chromatographiques et les méthodes spectroscopiques. L'analyse CG/SM montre que l'essence d'HE du thym serpolet est composé des composants majoritaires suivants : Dehydro-Carvenolide (60,32 %), Limonene (10.41%), Sabinene hydrate « cis » (6.57), Pinocarveol « trans » (2.16%) et Alpha-Pinene (1.26%). Et en mettant en œuvre les méthodes spectroscopiques et grâce à ces méthodes on a pu obtenir les types de vibrations, les groupements, les liaisons et la longueur d'onde maximale.

Du côté microbiologique, l'évaluation de l'activité antimicrobienne a permis de montrer par la méthode d'aromatogramme un grand effet inhibiteur de l'huile essentielle du thymus serpolet sur les six (6) souches de références testées, il semble que les HEs soient

## Conclusion Générale

---

plus efficaces sur les bactéries à Gram positif, que sur les bactéries à Gram négatif. Les plus sensibles sont *Candida albicans*, *Saccharomycèse serivisial* et *Staphylococcus aureus*.

En fonction de ces résultats on a préparé nos deux produits (gel et crème) avec une concentration de 1% de l'huile de thymus serpolet. Et nous avons procédé aux tests rhéologiques à différentes températures, en fonction du temps et en appliquant des contraintes de cisaillement sur les deux produits (gel et crème). Ces tests nous ont montré que :

- La température influe sur la crème car la crème de thym, qui commence à se dégrader à partir d'un certain niveau de température. La crème préservée à basse température est plus fragile que celle gardée à température ambiante, même si les deux deviennent plus dégradables en augmentant la température au-delà de 25 °C.
- Le gel, se solidifie dans une phase transitoire de quelques jours puis se stabilise d'une façon permanente ce qui veut dire que le gel nécessite une amélioration en composition dans un milieu stérilisé ou qu'on n'a pas pris un temps suffisant pour avoir une phase permanente précoce d'un gel stable.

Ce travail pourrait être approfondie et complété : vu que le coté rhéologique a montré que la crème est un produit stable et homogène à température ambiante donc ce qui veut dire que la conservation est facile et la crème ne change pas de propriétés à température ambiante donc c'est un produit de qualité. Mais quant au gel, c'est un produit de qualité également mais il est plus stable avec le NaOH que le triéthanol. Le travail peut être approfondie en faisant des tests anti-oxydants, charge bactériennes des deux produits, tout en tenant compte de leur toxicité afin de les mettre sur le marché. Car ils ont été préparé à la base de l'huile essentielle du thymus serpolet et on vient de le démontrer que cette huile a un grand effet inhibiteur sur les 6 souches de références testées.

## Références Bibliographiques

- [1] Zeghib A., « Etude phytochimique et activités anti-oxydante, antiproliférative, antibactérienne et antivirale d'extraits et d'huiles essentielles de quatre espèces endémique du genre thymus », thèse de doctorat, phytochimie, université Constantine 1 (Algérie), 2013.
- [2] Barnes H., et Walters H., « An introduction to rheology », 1<sup>st</sup> Edition. Elsevier Science, 1989.
- [3] Das Neves J., da Silva M.V., Gonçalves M.P., Amaral M.H., and Bahia M.F., Rheological Properties of Vaginal Hydrophilic Polymer Gels. *Current Drug Delivery*, 6(1), pp.83 – 92, 2009.
- [4] Madi A., « Caractérisation et comparaison du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques », mémoire de magister, biotechnologie végétale, université Mentouri Constantine (Algérie), 2010.
- [5] Zeghad N., « Etude du contenu poly phénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne », mémoire de magister, biotechnologie végétale, université Mentouri Constantine (Algérie), 2009.
- [6] Dob T., Dahmane D, Chelghoum C, « Studies on the essential oil composition and antimicrobial activity oh the essential oil of thymus algeriensis Boiss et Reuter », the international journal oh aromatherapy, 16, pp. 95 – 100. 2006.
- [7] Nickavar B. Mojab F, Dolat A-R, « Analysis of the essential oils of two thymus species from Iran, food chemistry », 90, pp. 609 – 611, 2006.
- [8] Mebarki N., « Extraction de l'huile essentielle de thymus fontanesii et application à la formulation d'une forme médicamenteuse – antimicrobienne », mémoire de magister, industrie pharmaceutique, université de boumerdes, 2010.
- [9] Lucienne D., « Les plantes médicinales d'Algérie », berti éditions, Alger, p. 215, 2007.
- [10] Abdelli W., « Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de Juniperus phoenicea et de Thymus vulgaris », thèse de doctorat, interactions micro-organismes, hôtes et environnements, universite abdelhamid ibn badis – mostaganem (Algérie), 2017.
- [11] Cowan M.M., « Plant products as antimicrobial agents », *Clin. Microbiologie. Rev*,

- pp.564 – 582, 1999.
- [12] Takeuchi H., Luz G, Fuzita T, « New monoterpene glucoside from the aerial parts of thyme (*Thymus vulgaris* L.) » *Biosc, Biotechnol, Biochem*, pp.1131 – 1134, 2004.
- [13] Angela M., Laur V., Daniela H., Dragulescu C., Iuliana A et Olah N.K., « Polyphenolic analyses from *Thymus* species », *Production romany academy*, 2007 (3), pp.117-121, 2008.
- [14] Özcan M., Chalchat J.-C., « Aroma profile of *Thymus vulgaris* L », growing wild in Turkey. *Bulg. J. Plant. Physiol.*, pp.68-73, 2004.
- [15] Bendif Hamdi., « Caractérisation phytochimique et détermination des activités biologiques in vitro des extraits actifs de quelques Lamiaceae: *Ajuga iva* (L.) Schreb., *Teucrium polium* L., *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.) Greuter & Burdet et *Rosmarinus eriocalyx* Jord & Fourr», thèse de doctorat, biotechnologie végétale, université d'alger (Algérie), 2017.
- [16] Danièle F., « HUILES ESSENTIELLES», quotidien malin éditions, France, p. 175, 2014.
- [17] El Ajjouri M., « Etude de la composition chimique et de l'efficacité des huiles essentielles de quelques espèces du genre *thymus* dans la préservation du bois contre les champignons lignivores », thèse de doctorat, science du bois, université de rabat (Maroc), 2013.
- [18] Benayache F., « Etude phytochimique et biologique de l'espèce *Thymus numidicus* Poiret », mémoire de magister, chimie organique, université de Constantine 1 (Algérie), 2013.
- [19] Sachetti G., Maietti S., Muzoli M., Radice M., et Bruni R., « Comparative evaluation of 11 essential oils of different origins functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods », *food chemistry*, 91, pp. 621 – 632, 2005.
- [20] Ouraini D., Agoumi A., Amrani M., Alaoui M.I., Cherrah Y et Bellabas M.A., « Activité antifongique de l'acide oléique et des huiles essentielles de *thymus saturejoides* L et de *mentha pulegium* L, comparé aux antifongiques dans les dermatoses mycosiques », *Phytothérapie*, 1, pp. 6 – 14, 2007.
- [21] Pinto E., Pina-Vaz C., Salgueiro L., Cavaleiro C., Palmeira A et Rodrigues A., « Antifungal activity of the essential oil of *thymus pulegioides* on *candida*, *aspergillus* and dermatophytes species », *Journal of medical microbiology*, 55, pp. 1367 – 1373, 2006.

## Références Bibliographiques

---

- [22] Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C, Martino M., Abou L., Vergnes M-F., « Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne », *Phytothérapie*, 6, pp. 160 – 164, 2008.
- [23] Hilan C., et Sfeir R., « Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae », *Lebanese science journal*, 7 (2), 2006.
- [24] Lahlou M., « Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils », *Phytothérapie research*, 18, pp. 435 – 448, 2004.
- [25] Marzouk Z., Marzouk B., Neffati A., Khemiss F., et Boukef A., « Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of tunisian rosmarinus officinalis L, oil from Kasrine », *Journal of food agriculture et environnement*, vol 4(3-4), pp. 61 – 65, 2005.
- [26] Cox S.D., et Mann C.M., « The mode of antimicrobial action of action of melaleuca alternifolia (tea tree oil) », *Journal of applied microbiology*, 88(1), pp. 170 – 175, 2000.
- [27] Glordani R., et Kaloustian J., « Action anticandidosique des huiles essentielles : leur utilisation concomitante avec des médicaments antifongiques », *Phytothérapie*, 3, pp. 121 – 124, 2006.
- [28] Chikhoun A., « Huiles essentielles de thym et d'origan : étude de la composition chimique, de l'activité antioxydante et antimicrobienne », mémoire de magister, sciences alimentaires, Institut national agronomique El Harrach (Algérie), 2017.
- [29] HENI S., « Sélection d'extraits bioactifs des espèces du genre *Thymus* comme conservateurs antibactériens naturels », thèse de doctorat, microbiologie appliquée, université badji mokhtar - annaba (Algérie), 2016.
- [30] Sefidkon F., et Dabiri M., « The composition of thymus serpyllum L. Oil », *Journal of essential oil research*, 16(3), pp.184-185, London, 2011.
- [31] Weihs D., « Bio-microrheology: A frontier in microrheology », *Biophysical Journal*, 91(11), pp.4296 – 4305, 2006.
- [32] Reiner M., « Rhéologie théorique ». Ed.par Dunod, Paris, p.187, 1955.
- [33] Midoux N., « Mécanique et rhéologie des fluides en génie chimique », Paris: Tec & Doc, p. 112.
- [34] Mezger T. G., « The Rheology Handbook », 2nd Edition, Vincentz Network, 2006.
- [35] Gareche M., « Caractérisation mécanique d'un fluide complexes » Thèse de magister I.N.H 1997.

## Références Bibliographiques

---

- [36] LE NEINDRE B., « Méthodes d'estimation pour les fluides ». Techniques de l'ingénieur, K479, 2005.
- [37] Coussot P., Grossiord J-L., « Comprendre la Rhéologie, de la circulation du sang à la prise du béton », EDP Sciences, 2001.
- [38] Barnes H., « tixotropy- A review, Journal of Non-Newtonian », Fluid Mechanics 70 (1-2) pp.1 – 33, 1997.
- [39] Bekkour K., « Caractérisation rhéologique et en écoulement d'émulsion d'huile de vaseline et d'eau et d'émulsion chargé en solide » thèse de doctorat à l'université de Louis Pasteur Strasbourg 1991.
- [40] Boualit M., Abdel H., « contribution à l'étude thermo-hydrodynamique des fluides binghamiens », thèse de doctorat, Génie mécanique, université de Boumerdes (Algérie), 2011.
- [41] Barnes H.A., « An introduction to rheology ». Elsevier, 1989.
- [42] Coussot P., Macroscopie V.S., « local rheology of yield stress fluids ». J. Non Newt. Fluid Mech (in Edition), 2008.
- [43] Patrick O., Rhéophysique : Ou comment coule la matière. Livre Belin, pp. 22 – 23, 2005.
- [44] Wallevik J.E., « Relationship between the Bingham parameters and slump, Cement and Concrete Research », 36, pp.1214-1221, 2006.
- [45] Upadhyay R.D., KALE D.D., « Rheological and optical properties of polypropylène filled with synthetic silicates and calcium carbonate », Journal of Polymer Research, 8(3), pp.175-181, 2001.
- [46] Kaouther B.A.A., « Relations entre propriétés rhéologiques et structure microscopique de dispersions de particules d'argile dans des solutions de polymères », thèse de doctorat, Mécanique, Université de Strasbourg institut de mécanique des fluides et des solides, CNRS-UDS.
- [47] Tanner R.I. et K.Walters, « Rheology : an historical perspective ». Elsevier, Amsterdam, 1998.
- [48] Bruneton J., « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales », 2ème édition TEC & DOC- Lavoisier, Paris, 406-417, France, 1993.
- [49] AFNOR., Recueil des Normes Françaises «huiles essentielles», AFNOR, Paris. P57, France, 1986.
- [50] AFNOR NF T 75-006., « Association Française de Normalisation Recueil de normes Française », "Huiles essentielles". AFNOR, Paris, France, 2000.

## Références Bibliographiques

---

- [51] Pharmacopée Européenne, 5.0, tome 2, 2005.
- [52] Burt S., « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review », *Int. J. Food Microbiol.* 94, pp. 223 – 253, 2004.
- [53] Tantaoui-Elaraki A., Lattoui N., Benjilali B., et Errifi A., « Antimicrobial activity of four chemically different essential oils », *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 6, pp.13 – 22, 1992.
- [54] Marwa H.S., et Ghada F.M., « Evaluation of topical Gel Bases Formulated with Various-Essential Oils for Antibacterial Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus », *Trop. J. of Pharmac. Res.* ; 12 (6), pp. 877 – 884, 2013.
- [55] Giordani R et Kaloustian J., « Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants », *Fitoterapia*, 79(3), pp.199 – 203, 2008.
- [56] Oulebsir-Mohandkaci H. et Ait Kaki R., « Essential oil of two Algerian aromatic plants *Thymus vulgaris* and *Eucalyptus globulus* as bio-insecticides against aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) », *Wulfenia Journal*, 22(2), pp.185 – 197, 2015.
- [57] Kelen M., Tepe B., « Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora », *Bioresource Technology*, 99(10), pp.4096 – 4104, 2008.
- [58] Bachir Raho G., Otsmane M., et Sebaa F., « Antioxidant capacity of essential oils of two *Juniperus* species from Northwest of Algeria », *American Journal of Applied and Industrial Chemistry*, 2(6), pp.33 – 36, 2016.
- [59] Hacèn M.B., Khaled Z., « Extraction, évaluation quantitative et qualitative de l'huile essentielle de romarin (*rosmarinus officinalis*) », *Mémoire Ingénieur d'état, biologie végétale, université saad dahleb-blida, Algérie*, 2013.
- [60] Meena M.R., Sethi V., « Antimicrobial activity of essential oils from spices », *Food Sci and tech, Mysore*, 31, 68 – 70, 1994.