



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

قسم الكيمياء الحيوية و البيولوجيا الخلوية و الجزيئية
Département de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialités : Biochimie Appliquée et Biochimie de Nutrition

Intitulé :

**Huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum L.* :
Activité antibactérienne et utilisation comme agent
conservateur dans la fabrication du yaourt**

Présenté et soutenu par :

Le : 28/06/2018

Imene BOUGUessa

Hana RECHOUM

Jury d'évaluation :

Président :	Y. NECIB	Professeur	UFM Constantine
Rapporteur :	B. BOUSEBA	MC-B	UFM Constantine
Examineur :	S. CHIBANI	MC-A	UFM Constantine

**Année universitaire
2017 - 2018**

Remerciements

*Nous remercions **ALLAH** qui nous a données la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadreur Monsieur **BOUSEBA Bachir**, maître de conférences (classe B) à l'Université Frères Mentouri-Constantine, pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement monsieur **Y. NECTB**, Professeur à l'Université Frères Mentouri-Constantine, d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nous exprimons mes vifs remerciements à monsieur **S CHIBANI**, maître de conférence (classe A) à l'Université Frères Mentouri-Constantine, d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.*

*Nous remercions vivement les Professeurs **A. ZERTAL** et **A. BOULKAMH**, pour nous avoir accueillies au sein du laboratoire des Techniques Innovantes de Préservation de l'Environnement (**LTIPE**) - Université Frères Mentouri-Constantine.*

Un très grand merci à nos parents pour leur grand soutien tout au long de nos études et pour la confiance qu'ils nous ont toujours témoignée.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Ce travail modeste est dédié :

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A mes chères sœurs,..... pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mon cher frère Mohamed,pour leur appui et leur encouragement,

À tous mes amis surtout Lynda et Hayat

À tous mes chers enseignants qui ont enseigné moi au long de ma vie scolaire

Hana

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes parents S. M et B. Slimane

A mon mari Bouhzem et à toute sa famille

A mes frères Khaled, Zidane, Haroun, Yasser

A ma sœur Aya

A tous mes amis surtout Ahlem et mon partenaire Hana

Imene

Table des matières

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : La famille des <i>Lamiaceae</i> (<i>Labiatae</i>) et le genre <i>Ocimum</i>	3
I. 1 – Ordre des Lamiales	3
I. 2 – La famille des <i>Lamiaceae</i> et le genre <i>Ocimum</i>	3
I. 3 – Le basilic (<i>Ocimum basilicum</i> L.).....	4
II. 4 – L’huile essentielle d’ <i>Ocimum basilicum</i>	5
Chapitre II : Les huiles essentielles	8
II. 1- Définition	8
II. 2- Sources naturelles d'huiles essentielles	8
II. 3- Constituants d’huiles essentielles.....	9
II. 3- Méthodes de production d'huiles essentielles.....	10
II. 4- Utilisation d'huiles essentielles.....	12
Chapitre III: Le yaourt	25
III.Le yaourt	14
III. 1- Généralité sur le yaourt.....	14
III.2- Yaourt et huiles essentielles.....	17
ETUDE EXPERIMENTALE	
Chapitre IV : Matériel et méthodes	19
IV. Matériel et méthodes	19
IV. 1- Plan d’expérimentation.....	19
IV. 2- Matériel végétal	19
IV. 3- Souches bactériennes et réactifs	20
IV. 3. 1- Souches bactériennes	20
IV. 3. 2- Produits et Réactifs chimiques.....	21
IV. 4- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	21
IV. 4. 1-Hydrodistillation	21
IV. 4. 2-Récupération des huiles essentielles	21
IV. 4. 3- Influence du temps d’extraction sur le rendement en huile essentielle	23
IV. 5- Activité antibactérienne des huiles essentielles	23
a)Préparation d’inoculum.....	23
b)Préparation des disques.....	24

Table des matières

c)Test d'activité antibactérienne	24
d)Lecture des résultats.....	25
IV. 6- Essai d'utilisation de l'huile essentielle dans les denrées alimentaires (Yaourt)	25
IV. 6. 1- Technique de fabrication du yaourt	25
IV. 6. 2- Conservation des pots de yaourt	26
IV. 6. 3- Analyse organoleptique et microbiologique	27
IV. 6. 3. 1- Analyse physicochimique et analyse organoleptique ou sensorielles	27
IV. 6. 3. 2- Analyse microbiologique	27
a)Préparation des dilutions décimales	27
b)Ensemencement de boites pétries	28
c) Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.....	28
Chapitre V : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	28
V. 1- Extraction des huiles essentielles	28
V. 2- Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle.....	28
V. 3- Activité antibactériennedes huiles essentielles	29
V. 4- Essai d'utilisation de l'huile essentielle dans les denrées alimentaires (Yaourt).....	31
V. 4. 1- Analyses physicochimiques et organoleptiques ou sensorielles	31
V. 4. 2- Analyse microbiologique	33
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVE	35
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	37

LISTE D'ABREVIATION

CPG/SM : Chromatographie en Phase Gazeuse/ Spectrométrie de Masse

E.coli : *Escherichia coli*

FTAM : Flore totale aérobie mésophile

J : Jours

HD : Hydrodistillation

HE : Huile essentielle

Gram- : Gram négatif

Gram+ : Gram positif

MO : Microorganisme

pH : Potentiel d'hydrogène

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

UFC : unité formant colonie

WHO: World Health Organization

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Les 14 ordres de la sous-classe <i>Asteridae</i>	3
Figure 2: <i>Ocimum basilicum L.</i>	5
Figure 3: Composés obtenus dans l'huile essentielle de basilic analysée par la technique CG/SM (1000 µg / mL dans l'acétone).....	6
Figure 4: Organes végétaux contenant des huiles essentielles	9
Figure 5: Groupes chimiques hétérogènes présents dans l'huile essentielle	10
Figure 6: Méthodes de production d'huiles essentielles à partir de matières végétales	10
Figure 7: Unité de distillation à l'eau et à la vapeur.....	11
Figure 8: Unité d'hydrodistillation.....	12
Figure 9: Voies d'utilisation du lactose (lac) et du galactose (gal) chez <i>Streptococcus thermophilus</i>	15
Figure 10: Principaux composés aromatiques présents dans le yaourt.	16
Figure 11: Voies métaboliques de formation d'acétaldéhyde et d'acétyl-CoA	17
Figure 12: Viabilité des bactéries lactiques du yogourt conservé à 4°C pendant 21 jours	18
Figure 13: Plan expérimental	19
Figure 14: La partie aérienne sèche de la plante : <i>Ocimum basilicum L.</i>	20
Figure 15: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger	22
Figure 16: Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'HE obtenue.....	24
Figure 17: Erlens et pots contenant le yaourt préparé (témoin, 10µl HE, 20µl HE et 50µl HE)	26
Figure 18: Incubation des pots de yaourt à 38 °C pendant 3 heures (témoin, 10µl HE, 20µl HE et 50µl HE).....	26
Figure 19: Préparation des dilutions décimales	28
Figure 20: Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la plante <i>Ocimum basilicum L.</i> par hydrodistillation	28
Figure 21: Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de la plante <i>Ocimum basilicum L.</i> à différents temps d'extraction (contre <i>E. coli</i>)	30
Figure 22: Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de la plante <i>Ocimum basilicum L.</i> à différents temps d'extraction (contre <i>Staphylococcus aureus</i>).....	30
Figure 23: Activité inhibitrice d'HE obtenue pendant 60 min contre <i>Escherichia coli</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	31

Table des matières

Figure 24: Valeurs de pH des échantillons témoin, 10µl HE et 50µl HE après 0 jour de conservation à la T° ambiante.....	33
Figure 25: Effet de l'huile essentielle sur la croissance des MO après 7 jours de conservation (T° ambiante).....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: La position systématique de l'espèce (<i>Ocimum basilicum L.</i>).....	5
Tableau 2: Composition du lait écrémé et un yaourt ordinaire.....	17
Tableau 3: Analyses physicochimiques et organoleptiques du yaourt après 0 jour de conservation à la T° ambiante).....	32
Tableau 4: Nombre la flore totale aérobie mésophile (FTAM) durant la période de conservation à la température ambiante	33

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION

La plupart des produits alimentaires utilisés par l'homme sont susceptibles d'être altérés avec le temps. Cette altération est d'origine physique, chimique, biochimique ou microbienne.

Différentes maladies sont liées à la consommation de ces produits alimentaires altérés, surtout celles causées par les microbes. Selon **Nout et ses collaborateurs 2003**, ces maladies sont les suivantes: les maladies infectieuses qui sont dues à la prolifération de germes pathogènes ; les toxi-infections dont les germes produisent des substances spécifiques ; les intoxications qui sont dues à des exotoxines produites par les microorganismes. Dans ce dernier cas, la présence des germes eux-mêmes dans l'organisme de l'hôte n'est pas indispensable.

L'altération d'un produit alimentaire est caractérisée par des dommages physiques, des changements chimiques (oxydation, changements de couleur) ou l'apparition de goûts désagréables et de mauvaises odeurs causées surtout par la croissance microbienne (**Gram et al., 2002**).

Dans le but de garder les produits alimentaires dans un état consommable pour une longue durée, de nombreuses méthodes de conservation ont été employées depuis les temps anciens jusqu'à nos jours. Ces méthodes de conservation reposent sur les techniques suivantes : la chaleur (appertisation, pasteurisation, stérilisation) ; le froid (réfrigération, congélation, surgélation) ; la modification de l'atmosphère ; la séparation et l'élimination de l'eau (salage, lyophilisation) ; les additifs (ajout d'un agent conservateur).

À l'heure actuelle, de nombreux spécialistes dénoncent l'utilisation d'additifs chimiques et démontrent à quel point ils sont dangereux pour la santé humaine. D'un autre côté, ils conseillent et encouragent l'utilisation d'additifs naturels, en particulier ceux extraits de plantes médicinales.

Les extraits de plantes peuvent, en combinaison avec d'autres technologies telles que la transformation et l'emballage, préserver les aliments pendant de plus longues périodes (**Yasmina Sultanbawa, 2015**).

À titre d'exemple, on peut citer les huiles essentielles qui font l'objet de nombreux tests de conservation de divers aliments tels que la viande hachée, les fromages, les légumes, les salades, les produits à base de poisson et les poulets (**Sagdic et al., 2015**).

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier la possibilité de conserver un produit laitier, en l'occurrence le yaourt, grâce à l'utilisation d'huiles essentielles extraites de la plante "le basilic", qui est vendue par des herboristes dans la région de Constantine.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. La famille des *Lamiaceae* (*Labiatae*) et le genre *Ocimum*

I. 1 – Ordre des *Lamiales*

L'ordre des *Lamiales* est parmi les grands ordres de sous-classe *Asteridae* (*Astériidées*), ce sont des plantes dicotylédones (**Figure 1**).

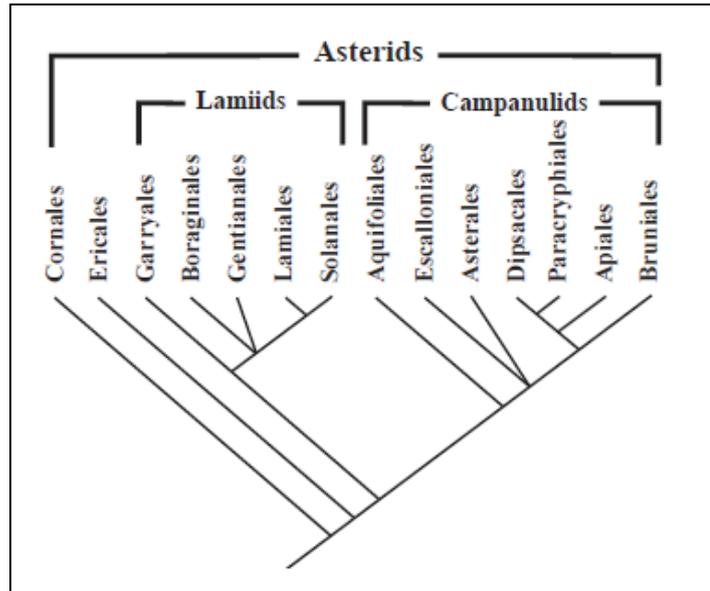


Figure 1: Les 14 ordres de la sous-classe *Asteridae* (Simpson, 2010).

Selon la classification phylogénétique APG III (2009), l'ordre des *Lamiales* renferme 23 familles:

Acanthaceae ; *Bignoniaceae*; *Byblidaceae*; *Calceolariaceae*; *Carlemanniaceae*; *Gesneriaceae* ; ***Lamiaceae*** (*Labiatae*) ; *Lentibulariaceae* ; *Linderniaceae* ; *Martyniaceae* ; *Oleaceae* ; *Orobanchaceae* ; *Paulowniaceae* ; *Pedaliaceae* ; *Phymaceae* ; *Plantaginaceae* ; *Plocospermataceae*; *Schlegeliaceae*; *Scrophulariaceae*; (incl. *Myoporaceae*); *Stilbaceae* ; *Tetrachondraceae* ; *Tomandersiaceae* ; *Verbenaceae*.

I. 2 – La famille des *Lamiaceae* et le genre *Ocimum*

La famille des *Lamiaceae* (communément appelées *Lamiacées*, *Labiacées* ou *Labiées*) est une assez grande famille de plantes dicotylédones qui comprend environ 236 – 238 genres et 6500 – 7170 espèces. Ces espèces sont presque cosmopolites, mais absentes dans les régions les plus froides de haute latitude ou l'altitude (Harley *et al*, 2004 ; Simpson, 2010).

Cette famille se compose surtout de plantes hermaphrodites, parfois gynodioïques, des herbes, des arbustes ou rarement des arbres, souvent avec de courts trichomes glandulaires pédonculés produisant des huiles éthérées aromatiques (**Simpson, 2010**).

D'après **Li et Chang, 2016** le nom de basilic est dérivé du mot grec, basileus, qui signifie «royal» en raison du parfum royal de cette herbe. Le basilic est communément connu sous le nom de genre *Ocimum*.

Les principaux caractères morphologiques du genre *Ocimum* sont (**Paton et al., 1999 ; Charles, 2013**):

- Les feuilles peuvent être pétiolées ou sessiles, souvent dentée à la marge,
- L'inflorescence typique est un thyrses, composée de cymes (1-3 fleurs) opposées,
- Le calice est généralement peu tubulaire ou en forme d'entonnoir, il est droit ou légèrement incurvé,
- La corolle est généralement droite, mais peut être courbée légèrement vers le bas,
- Les fleurs sont blanches, verdâtres ou roses blanches,
- Concernant l'androcée, Il y a toujours 4 étamines, une paire antérieure qui se fixent près de l'embouchure corolle et une paire postérieure qui se fixent à la base corolle,
- L'ovaire chez toutes les espèces est divisé en 4,

Le genre *Ocimum* comprend entre 30 et 160 espèces, les plus cultivées pour la production d'huiles essentielles sont: *O. africanum*, *O. americanum*, *O. basilicum*, *O. gratissimum* et *O. tenuiflorum* (**Shasany et al., 2007 ; Carović-stanko et al., 2009**).

I. 3 –Le basilic (*Ocimum basilicum* L.)

Le basilic est un nom commun pour l'herbe culinaire *Ocimum basilicum* L. (**figure 2**). Est une plante aromatique annuelle, originaire de l'Inde et de l'Asie du Sud, où elle est cultivée depuis plus de trois mille ans (**Darrah, 1974 ; Mahajan et al., 2012**).

Selon **Li et Chang, 2016** cette plante fleurit habituellement au début de l'été et peut être récoltée en plein d'été. Elle est produite commercialement dans de nombreux pays comme l'Égypte, l'Inde, l'Indonésie, le Mexique et les États-Unis. En 1999, les États-Unis ont importé 3574 tonnes de feuilles de basilic séchées.



Figure 2: *Ocimum basilicum* L. (Li et Chang, 2016).

Le tableau suivant représente la classification classique de cette plante (basilic)

Tableau 1: La position systématique de l'espèce (*Ocimum basilicum* L.). (Darrah, 1974 ; Mahajan *et al*, 2012).

Règne	Classification
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Ocimum</i>
Espèce	<i>Basilicum</i>

II. 4 – L'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* L.

La composition et le contenu de l'huile de basilic varient largement avec les cultivars, les régions géographiques, les tissus, les stades de croissance, la régulation de la croissance, les conditions de culture, la fertilisation et l'amendement du sol et les conditions de récolte. Le rendement en huile de basilic était d'environ 0,1-0,7% (Li et Chang, 2016).

Les composants majoritaires de l'huile de basilic comprennent le linalol, l'estragole (méthyl chavicol), l'anéthole, l'eugénol et le méthyleugénol (figure 3) (Vieira et Simon, 2000 ; Charles, 2013 ; Li et Chang, 2016).

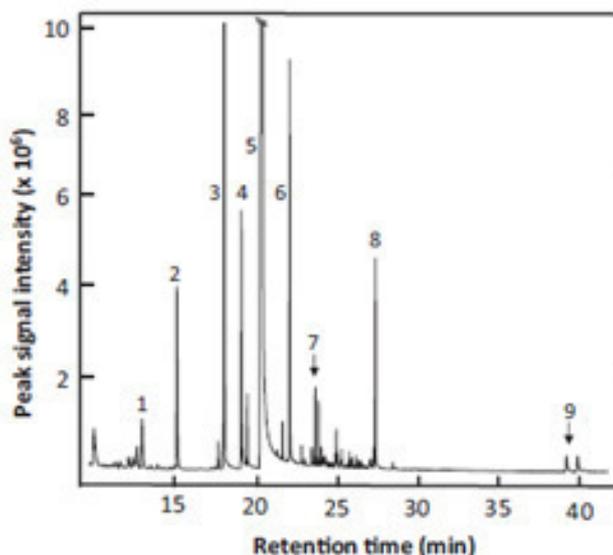


Figure 3: Composés obtenus dans l'huile essentielle de basilic analysée par la technique CPG/SM (1000 µg / mL dans l'acétone). (Li et Chang, 2016)

- 1, α -pinene; 2, linalool; 3, *trans*-anethole; 4, 4-methoxy benzaldehyde;
 5, estragole; 6, 1-methoxy-4-(1-methoxypropyl)-benzene;
 7, *trans*-caryophyllene; 8, 2,3-dihydro-1*H*-indene-5-ol;
 9, 1-(1,1-dimethyl)-2-methoxy-4-methyl-3,5-dinitrobenzene.

Certains facteurs affectent la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de cette plante. A titre d'exemple, **Baritoux et ses collaborateurs (1992)** ont constaté que les pertes d'huile essentielle totale, après séchage d'un grand échantillon de basilic frais (*Ocimum basilicum L.*) à 45 °C pendant 12 heures suivi d'un stockage pendant trois, six et sept mois, étaient respectivement de 19%, 62% et 66%.

Une autre étude a affirmé que la composition chimique des huiles essentielles de la plante *Ocimum basilicum L.* diffère considérablement d'une saison à une autre et que le linalol était le principal constituant (56,7-60,6%), suivie de l'epi- α -cadinol (8,6 - 11,4%), α -bergamotène (7,4 - 9,2%), γ -cadinène (3,3- 5,4%), germacrène D (1,1- 3,3%) et camphre (1,1 - 3,1%) (**Hussain et al., 2008**).

II. Les huiles essentielles

II. 1-Définition

Une huile essentielle telle que définie par l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) dans le document 9235.2 (**Schmidt, 2010**) : "tout produit obtenu à partir de matière première végétale - soit par distillation à l'eau ou à la vapeur ou - de l'épicarpe des agrumes par un procédé mécanique, soit - par distillation sèche".

Les huiles essentielles est un mélange complexe de composés volatils produits par des organismes vivants et isolés uniquement par des moyens physiques (pressage et distillation) à partir d'une plante entière ou d'une partie de plante d'origine taxonomique connue (**Franz et Novak, 2010**).

II. 2-Sources naturelles d'huiles essentielles

Selon **Handa, 2008**, les huiles essentielles sont généralement extraites à partir d'une ou de plusieurs parties de la plante. Ces différentes parties sont :

- les fleurs (rose, jasmin, œillet, giroflier, mimosa, romarin, lavande) ;
- les feuilles (menthe, Ocimum, Citronnelle, jamrosa) ;
- les feuilles et les tiges. géranium, patchouli, verveine, cannelle) ;
- l'écorce (cannelle, cassia) ;
- le bois (cèdre, pin) ;
- les racines (angélique, sassafras, vétiver, valériane) ;
- les graines (fenouil, coriandre, carvi, aneth, muscade) ;
- les fruits (bergamote, orange, citron, genévrier) ;
- les rhizomes (gingembre, calamus, curcuma) ;
- les gommes ou exsudats d'oléorésine (baumier du Pérou, baume de Tolu, styrax, myrrhe, benjoin).

Les organes végétaux contenant des huiles essentielles naturelles sont illustrés dans la **figure 4**.

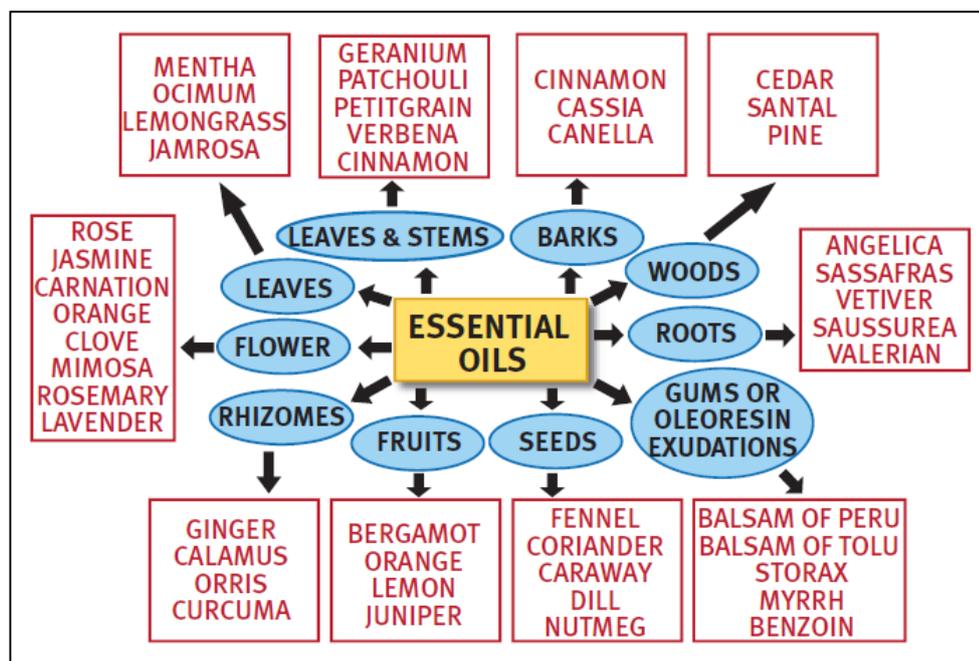


Figure 4: Organes végétaux contenant des huiles essentielles (Handa, 2008)

II. 3-Constituants d'huiles essentielles

Les principaux constituants des huiles essentielles sont présentés dans la **figure 5**. La plupart des huiles essentielles sont constituées d'hydrocarbures, de terpènes, de lactones, de phénols, d'aldéhydes, d'acides, d'alcools, de cétones et d'esters.

Les composés oxygénés (alcools, esters, aldéhydes, cétones, lactones, phénols) sont la principale source d'odeur. Ils sont plus stables contre les influences oxydantes et résinifiantes que les autres constituants.

Les constituants insaturés tels que les monoterpènes et les sesquiterpènes ont tendance à s'oxyder ou à se résorber en présence d'air et de lumière.

La connaissance des caractéristiques physiques de chacun de ces constituants tels que le point d'ébullition, la stabilité thermique et la relation vapeur-pression-température constitue une importance primordiale dans leur développement technologique.

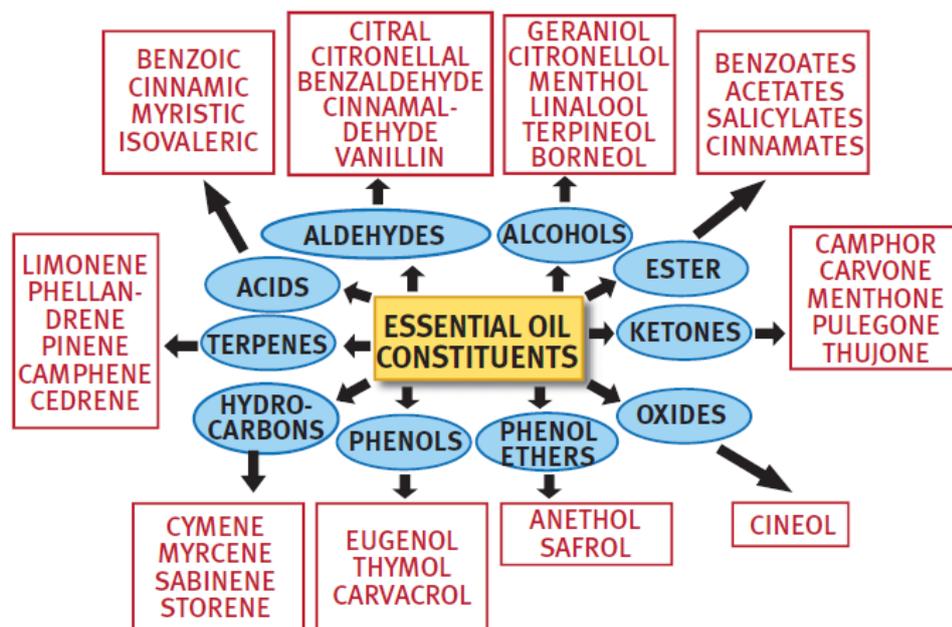


Figure 5: Groupes chimiques hétérogènes présents dans l'huile essentielle (Handa, 2008)

II. 3- Méthodes de production d'huiles essentielles

Les méthodes de production d'huiles essentielles à partir de matières végétales sont résumées dans la figure 6.

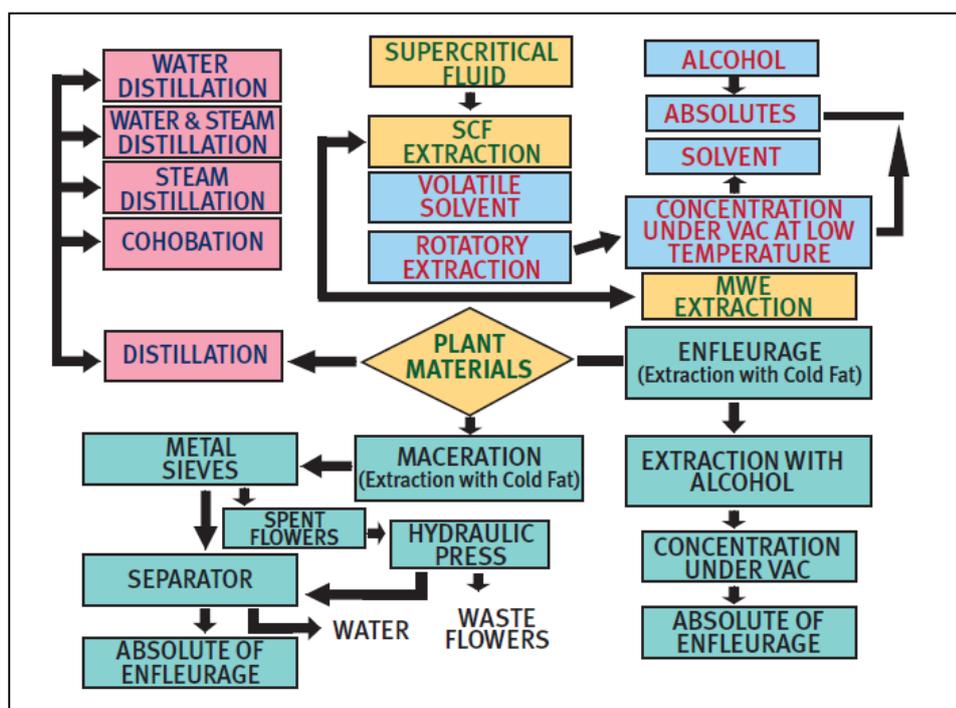


Figure 6: Méthodes de production d'huiles essentielles à partir de matières végétales (Handa, 2008)

Trois types de distillation ont été utilisés pour l'extraction des huiles essentielles à partir des plantes (KONE, 2001 ; Handa, 2008 ; Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014) :

- i. La distillation à l'eau et à la vapeur ou «Water Distillation»: Le matériel végétal à traiter est séparé de l'eau bouillante qui se trouve au fond de l'appareil utilisé (**figure 7**). Le mélange vapeur huile essentielle est ensuite récupéré par condensation.

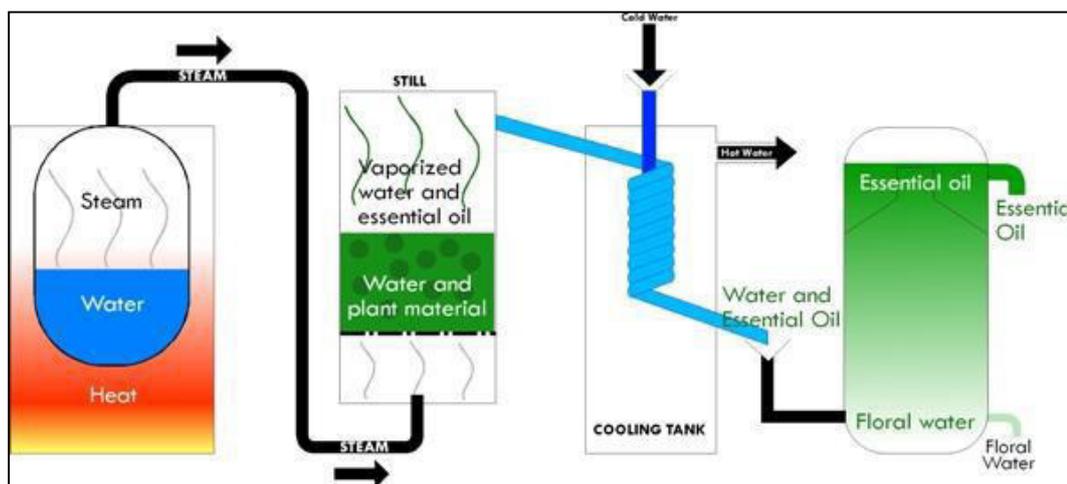


Figure 7: Unité de distillation à l'eau et à la vapeur (Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014)

- ii. Distillation à la vapeur d'eau ou « Steam Distillation »: Le procédé d'extraction est basé sur l'utilisation de la vapeur générée dans un réacteur séparé.
- iii. Hydrodistillation : Le matériel végétal à traiter est entièrement immergée dans l'eau, qui est ensuite portée à ébullition (**figure 8**). La vapeur d'eau en s'échappant emporte avec elle l'huile essentielle recherchée.

L'hydrodistillation implique les principaux processus physico-chimiques suivants:

- **Hydrodiffusion** : la diffusion des huiles essentielles et de l'eau chaude à travers les membranes des plantes.

Les membranes des cellules végétales sont presque imperméables aux huiles volatiles. Mais, lorsque le matériel végétal est imbibé d'eau bouillante, une partie de l'huile volatile se dissout dans l'eau présente à l'intérieur des glandes sécrétrices, et cette solution huile-eau pénètre par osmose dans les membranes gonflées et finit par atteindre la surface extérieure, où l'huile est vaporisée par passage de vapeur.

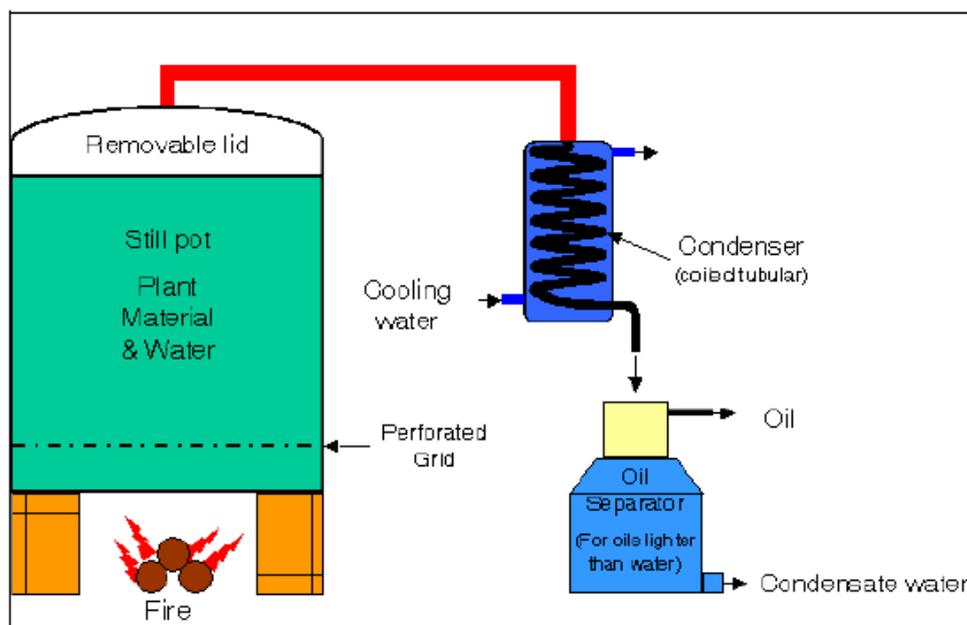


Figure 8: Unité d'hydrodistillation (Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014)

- **Hydrolyse** : réaction chimique entre l'eau et certains constituants d'huiles essentielles. Si la quantité d'eau est grande, elle diminue le rendement en huile essentielle.
- **Décomposition par la chaleur**: Presque tous les constituants des huiles essentielles sont instables à haute température. Pour obtenir une meilleure qualité d'huile, la distillation doit être effectuée à basse température.

II. 4- Utilisation d'huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles est extrêmement diversifiée et dépend étroitement de la source, de la qualité et de la procédure d'extraction de ces composés (Ríos, 2016 in « Preedy, 2016 »).

En générale, les huiles essentielles sont utilisées dans les domaines suivants :

- 1) Produits cosmétiques.
- 2) Médecine et produits pharmaceutiques.
- 3) Dans l'industrie agroalimentaire.
- 4) Comme pesticides.

Tous les produits agroalimentaires contiennent des microorganismes. Certains ne présentent aucun risque pour les consommateurs, mais d'autres sont pathogènes et peuvent se développer suite à une mauvaise conservation ou après dépassement de la date limite de conservation (BORGES, 2014).

Jusqu'à 30% des personnes dans les pays industrialisés souffrent chaque année d'une maladie d'origine alimentaire et en 2005, au moins 1,8 millions de personnes sont mortes de maladies diarrhéiques dans le monde. Une grande partie de ces cas peut être attribuée à la contamination de la nourriture et de l'eau potable (**WHO, 2007**).

Selon la même référence, les principales maladies d'origine alimentaire dues aux micro-organismes suivants : Les salmonelles (*Salmonella*), La bactérie *Campylobacter* (Gram négatif), *Escherichia coli* O157 entérohémorragique (EHEC) et la bactérie *Vibrio cholerae*.

Des études in vitro ont démontré une activité antibactérienne des huiles essentielles (EO) contre *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* O157: H7, *Shigelladysenteria*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* à des niveaux entre 0,2 et 10 µl /mL (**Burt, 2004**).

Des études sur des viandes fraîches, des produits à base de viande, du poisson, du lait, des produits laitiers, des légumes, des fruits et du riz cuit ont montré que la concentration nécessaire pour obtenir un effet antibactérien significatif est d'environ 0,5 à 20 µl dans les aliments et environ 0,1-10 µl/ mL dans des solutions pour le lavage des fruits et légumes (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles peuvent se révéler dangereuses pour la santé. Il est donc nécessaire de connaître leur source, leur qualité (non falsifiée, non contaminée par des pesticides) et de respecter scrupuleusement les doses prises et le choix du mode d'administration. (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

III. Le yaourt

III. 1- Généralité sur le yaourt

Le yaourt ainsi que les produits laitiers fermentés similaires sont depuis longtemps très populaires dans les pays méditerranéens (Balkans, Afrique du Nord), dans le centre et le sud-ouest de l'Asie (Mongolie, Turquie, Irak, Iran, Syrie) et dans l'Europe centrale (**Zourari et al., 1992**).

Selon la même référence, le terme "yogourt" est le produit résultant de la fermentation du lait grâce à l'action de deux bactéries lactiques thermophiles, *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus*, qui doivent être retrouvées vivantes dans le produit final (= 10 millions cfu.g⁻¹ de yogourt).

Les yaourts sont divisés en deux groupes (**Paci Kora, 2004**):

- ❖ Yaourts fermes : dont la fermentation a lieu en pots, ce sont généralement des yaourts nature ou aromatisés.
- ❖ Yaourts brassés : dont la fermentation a lieu en cuve avant le conditionnement, ce sont généralement des yaourts brassés nature ou aux fruits.

Le rôle des streptocoques et des lactobacilles dans la fabrication du yaourt peut être résumé comme suit: (i) acidification du lait ; (ii) synthèse de composés aromatiques ; (iii) développement de la texture et de la viscosité, principalement pour le yaourt brassé (**Zourari et al., 1992 ; Chaves et al., 2002**).

Ces bactéries consomment le lactose (diholoside, composé de l'association de deux sucres simples, le glucose et le galactose) présent dans le lait pour produire de l'acide lactique : c'est la fermentation lactique.

La **figure 9** résume les voies proposées pour le transport du lactose et du galactose et leur utilisation par *Streptococcus thermophilus*. Le métabolisme des glucides par la bactérie *Lactobacillus bulgaricus* n'a pas été suffisamment étudié.

Les composés aromatiques les plus importants du yaourt sont : l'acétaldéhyde, l'acétone, l'acétoïne et le diacétyle en plus des acides acétiques, formique, butanoïque et propanoïque (**Figure 10**).

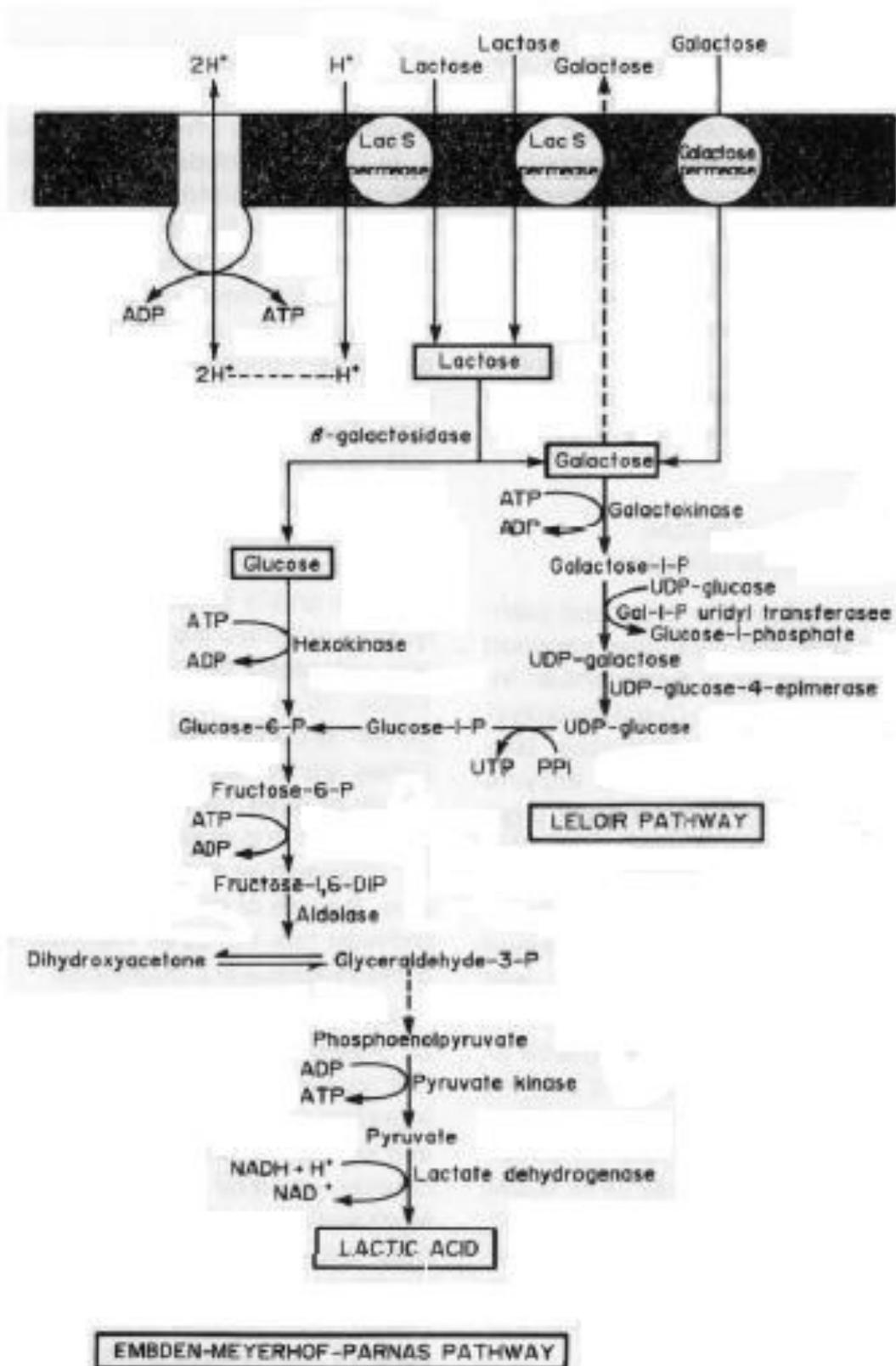


Figure 9: Voies d'utilisation du lactose (lac) et du galactose (gal) chez *Streptococcus thermophilus*. In « Zourari et al., 1992 ».

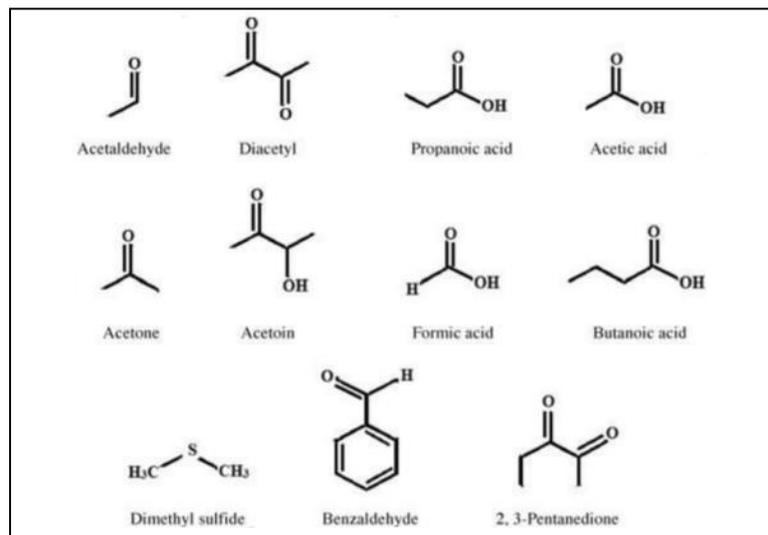


Figure 10: Principaux composés aromatiques présents dans le yaourt (Routray and Mishra, 2011)

Pendant la fermentation du yaourt, l'acétaldéhyde peut être produit directement à partir du métabolisme du lactose à la suite du pyruvate décarboxylation. Il peut être produit (i) directement par le pyruvate décarboxylase ou le pyruvate oxydase ou (ii) indirectement par la formation de l'acétyl coenzyme A (intermédiaire) par le pyruvate déshydrogénase ou le pyruvate formate lyase (figure 11).

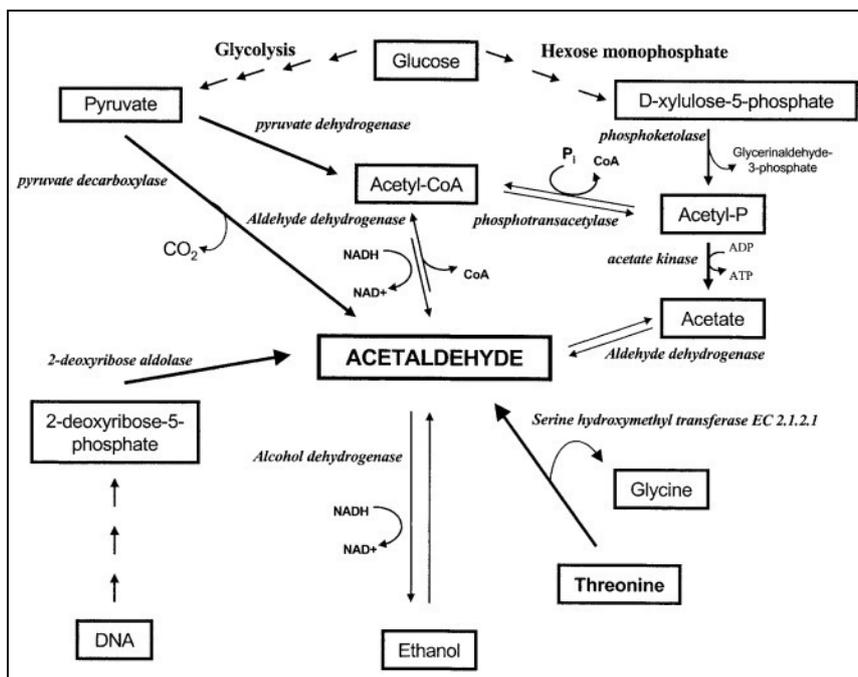


Figure 11: Voies métaboliques de formation d'acétaldéhyde et d'acétyl-CoA (Chaves et al., 2002).

III. 2- Yaourt et huiles essentielles

Le yaourt de bonne qualité est un produit laitier de grande valeur nutritionnelle, il constitue une source très riche en protéines, en calcium, en vitamines et d'autres composés (**tableau 2**). Un peu de contamination peut détériorer sa qualité et peut avoir des effets très négatifs sur la santé du consommateur (**Ahmad et al., 2013**).

Tableau 2: Composition du lait écrémé et un yaourt ordinaire (**Deeth et Tamime, 1981**)

Constituent (per 100 g)	Milk (skim)	Yogurt (low fat, plain)
Energy value (KJ)	150.00	220.00
<i>Major constituents (g)</i>		
Protein	3.50	5.00
Fat	0.10	1.00
Lactose	5.00	5.00
Galactose	c.00	1.50
Lactic acid	c.00	1.00
Citric acid	0.20	0.30
Potassium	0.15	0.24
Calcium	0.12	0.18
Phosphorous	0.10	0.14
Chloride	0.10	0.18
Sodium	0.05	0.08
Bacterial mass	0.00	0.15
<i>Minor constituents (mg)</i>		
Orotic acid	7.00	4.00
Hippuric acid	2.00	c.00
Fumaric acid	1.00	8.00
Succinic acid	c.00	19.00
Benzoic acid	0.50	7.00
Cholesterol	2.00	7.00
Urea	0.40	0.02
Glucose	c.00	30.00
5' - CMP	0.60	c.00
5' - UMP	0.20	0.50
3' - + 5' - GMP	c.00	0.40
5' - AMP	c.00	0.10
NAD	c.00	0.60

La qualité du yaourt est régie par un certain nombre de facteurs depuis le début du processus de fabrication jusqu'à la date limite de consommation. La saveur (goût et odeur) et la texture sont les plus importants de ces facteurs (**Soukoulis et al., 2007**).

Ces deux facteurs sont également affectés par plusieurs paramètres tels que : la source du lait, la culture de départ (starter culture), les conditions du processus de fabrication, la

température d'incubation, les additifs et les conditions de conservation (Soukoulis et al., 2007 ; Routray and Mishra, 2011).

Récemment, la demande de produits alimentaires dits «naturels» a augmenté, car elle ne présente pas de risques pour la santé humaine. Sur cette base, de nombreux chercheurs ont essayé de remplacer les additifs chimiques, en particulier ceux liés à la qualité et à la conservation du yaourt, par des produits d'origine naturelle tels que les extraits végétaux.

A titre d'exemple, Caleja et al., 2016 ont comparé les effets des conservateurs antioxydants naturels (décoctions de fenouil) et synthétiques (sorbate de potassium) dans le yaourt. Ils ont trouvé que les deux antioxydants n'ont pas provoqué de changements significatifs dans le pH et la valeur nutritionnelle, en comparaison avec les échantillons témoins (yaourt sans aucun additif). Et en plus de ça, les yaourts enrichis ont montré une activité antioxydante plus élevée, principalement ceux avec des additifs naturels.

Dans une autre étude, Mahmoudi et ses collaborateurs (2012) ont traité des échantillons de yaourt avec de l'huile essentielle de la plante *Teucrium polium* (40, 60 et 80 ppm) et *Lactobacillus casei* (108-109 cfu/ mL). Les échantillons ont été conservés à 4°C jusqu'à 28 jours. Le résultat de cette étude a montré que les HE n'ont eu aucun effet négatif sur les propriétés physicochimiques du yaourt et la viabilité de *Lactobacillus casei*.

Le même résultat a été trouvé lors d'utilisation de l'huile essentielle de la plante *Citrus sinensis*. L'addition de l'HE n'a aucun effet négatif sur la viabilité des bactéries lactiques qui sont maintenus pendant toute la durée de conservation (21 jours à 4°C) (figure 12).

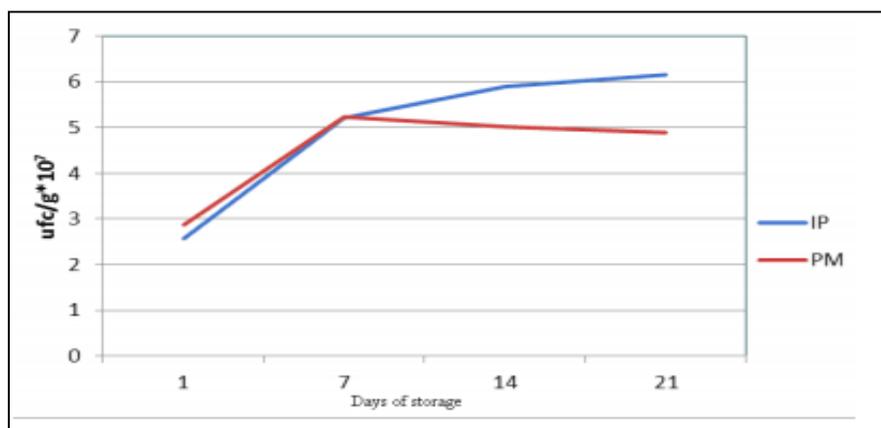


Figure 12: Viabilité des bactéries lactiques du yogourt conservé à 4°C pendant 21 jours (JIMBOREAN et al., 2016)

MATERIELS ET METHODES

IV. Matériel et méthodes

IV. 1- Plan d'expérimentation

Le plan d'expérimentation de cette étude est représenté dans l'organigramme suivant:

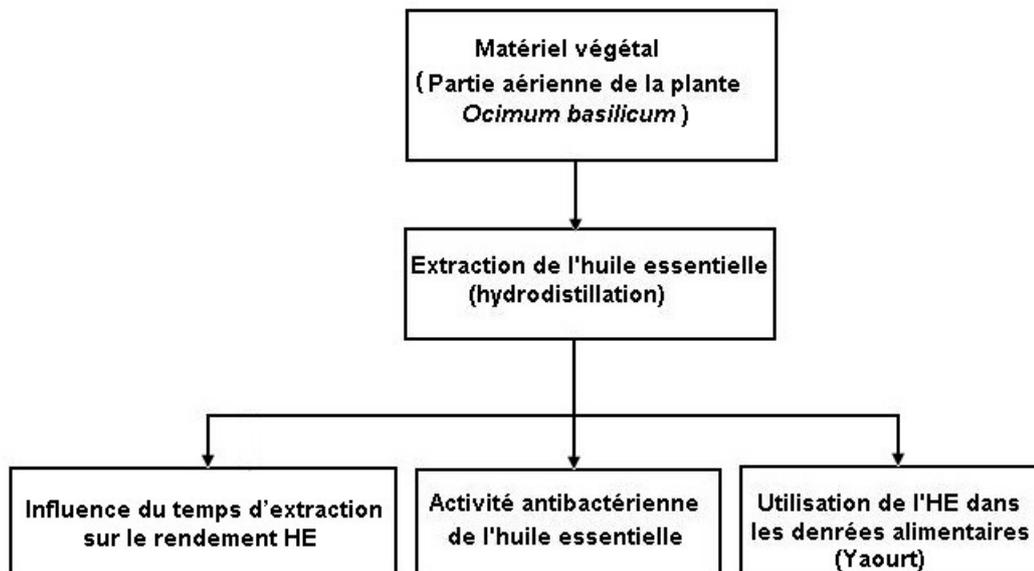


Figure 13: Plan expérimental

IV. 2- Matériel végétal

Dans cette étude, les échantillons du matériel végétal utilisé ont été achetés auprès d'un herboriste de la ville El Khroub (الخروب), située à quelques kilomètres de la ville de Constantine (Est de l'Algérie).

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne sèche de la plante : *Ocimum basilicum* L. (Figure 14).

D'après l'herboriste, cette partie aérienne de cette plante a été séchée à l'ombre et à température ambiante dans un endroit aéré.

Le matériel végétal sec a été conservé dans des sachets en plastique à la température ambiante, dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 14: La partie aérienne sèche de la plante : *Ocimum basilicum L.*

IV. 3- Souches bactériennes et réactifs

IV. 3. 1- Souches bactériennes

Les microorganismes utilisés dans ce travail sont généralement deux bactéries (Gram+ et Gram-) et un ferment lactique pour la fabrication du yaourt.

Gram positif : *Staphylococcus aureus*

Gram négatif : *Escherichia coli*

Les deux bactéries sont pathogènes et sont connues pour leur forte antibiorésistance et leur pouvoir invasif et toxique chez l'homme (**Bencheqroun et al., 2012**).

Ces deux souches bactériennes ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université frères Mentouri – Constantine 1.

Ferment lactique pour yaourt : Le ferment lactique utilisé dans ce travail a été obtenu à partir d'une laiterie privée - Constantine, Algérie. Il est composé de deux micro-organismes, *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*, responsables de la fermentation lactique ou lacto-fermentation qui transforme le lait en yaourt.

Streptococcus thermophilus : Cocci, gram positif, anaérobie facultative, immobile, microaéroophile, résistante au chauffage à 60°C pendant 30 minutes.

Lactobacillus delbrueckii ; sous-espèce *bulgaricus* : Bacilles, gramme positif, immobile asporulés, thermophile T° optimale de croissance environ 42°C.

IV. 3. 2- Produits et Réactifs chimiques

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) ; Sulfate de magnésium (MgSO_4) ; Chlorure de sodium (NaCl) ; Méthanol (CH_3OH).

IV. 4- Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

Les huiles essentielles ont été extraites à partir des feuilles de la plante *Ocimum basilicum* selon la méthode décrite par **Bouzidi, 2016**.

Le protocole expérimental de cette méthode est comme suit :

IV. 4. 1-Hydrodistillation

Cette manipulation a été effectuée à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation Clevenger (**figure 15**).

- Introduire 100 g des feuilles sèches de la plante dans un ballon de 2 litres,
- Imprégner ces feuilles dans l'eau distillée,
- Porter l'ensemble à ébullition ; en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec,

IV. 4. 2-Récupération des huiles essentielles

- Récupérer le condensat, résulte de la condensation des vapeurs dégagées qui en traversant le réfrigérant du Clevenger, dans des tubes à fond conique 50 mL (Falcon) ;
- Deux phases obtenues dans chaque tube, une phase organique contenant les huiles essentielles et une autre aqueuse (hydrolat aromatique) contient une quantité non négligeable d'huile essentielle.
- Ajouté un déshydratant (0,5 g), sulfate de magnésium (MgSO_4), afin d'éliminer toute trace d'eau qui pourraient encore rester dans la phase organique (les huiles essentielles),
- Mettre les tubes Falcon dans un réfrigérateur à 4°C pendant une nuit, ensuite récupérer les huiles essentielles à l'aide d'une seringue et les mettre dans des tubes 5 ml,
- Conserver les tubes contenant les huiles essentielles à l'abri de la lumière et à 4°C jusqu'à leur utilisation.

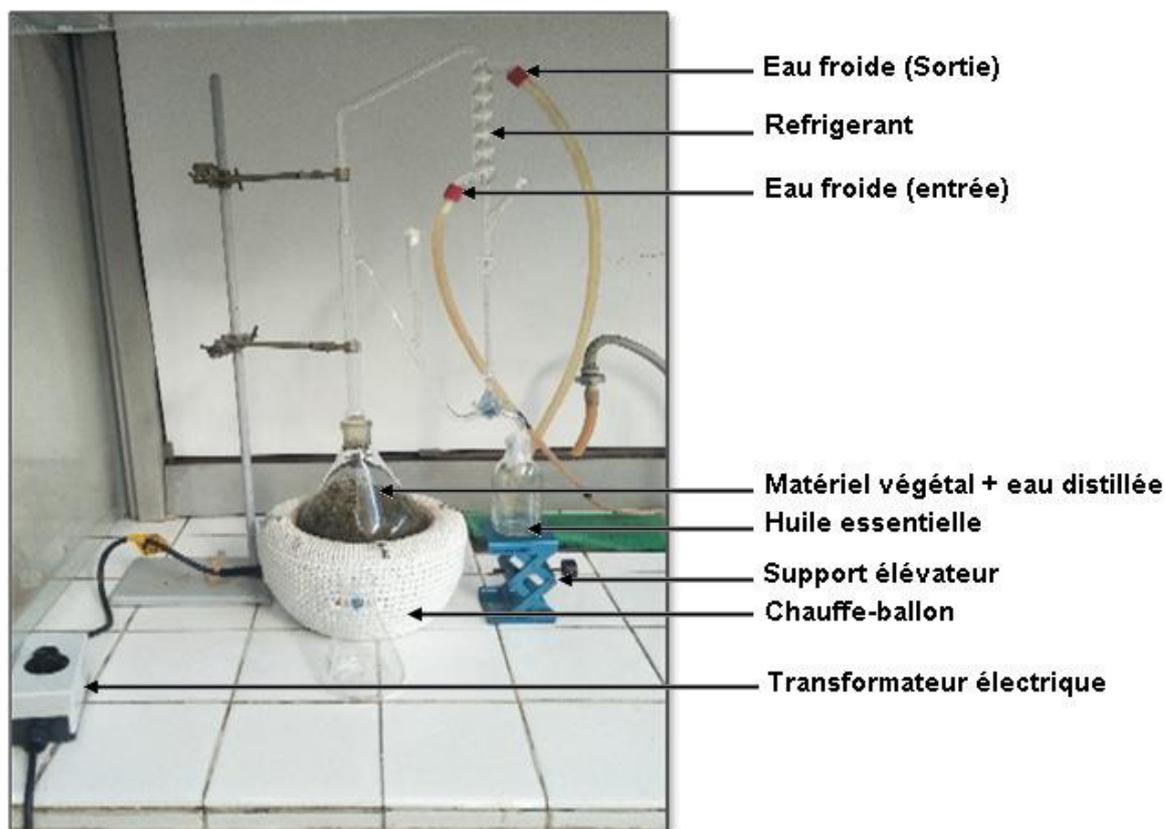


Figure 15: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger

Le principe de fonctionnement du Clevenger est basé sur l'extraction des huiles essentielles sous l'effet de l'eau chaude. Cette dernière provoque la libération des molécules volatiles (HE) qui s'évaporent et se condensent ensuite à travers un réfrigérant. Le mode d'emploi de cet appareil est le suivant:

- Placer la matière végétale dans le ballon à fond rond de 2 L;
- Ajouter de l'eau distillée jusqu'à ce que le matériel végétal soit complètement submergé;
- Ouvrir le robinet d'eau froide relié au réfrigérant ;
- Faire bouillir doucement le mélange matière végétale et eau distillée;

- mettre le trait blanc sur 1
- ensuite sur 3, quand l'eau va commencer à bouillir



Transformateur électrique

- La vapeur remonte dans une colonne et par la suite dirigée vers le condensateur (réfrigérant) ;
- Deux phases sont récupérées, une inférieure aqueuse et l'autre supérieure organique contenant l'huile essentielle.

IV. 4. 3- Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle

Protocol expérimental

- Récupérer les huiles essentielles en quantités correspondantes à des intervalles de 30 min, étalées sur 4 heures,
- Peser (en grammes) la masse des huiles essentielles obtenues à l'aide d'une balance de précision,
- Calculer le rendement, exprimé en pourcentage (%), par la formule suivante (AFNOR, 1986):

$$R\% = (m1/m0) \times 100$$

R : rendement en huile essentielle

m1 : masse en grammes de l'huile essentielle

m0 : masse en grammes du matériel végétal

IV. 5- Activité antibactérienne des huiles essentielles

Le but de cette manipulation est d'évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, extraites à partir de la partie aérienne de la plante étudiée (*Ocimum basilicum L.*), vis-à-vis des germes pathogènes contaminant les denrées alimentaires et responsables de certaines infections.

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Athamena, 2009 ; Bassolé *et al.*, 2011).

Le principe de cette méthode est comme suit :

La souche bactérienne utilisée est étalée sur la surface d'une boîte de pétri contenant le milieu gélosé adéquat, par la suite le disque de papier filtre « Wathman N°1 » imbibé d'huile essentielle testé est déposé sur la surface de cette boîte de pétri. Après la période d'incubation à l'étuve, la zone d'inhibition de croissance apparaît autour de disque est mesurée à l'aide d'une règle graduée. Le diamètre de la zone est proportionnel à l'efficacité antibactérienne de l'extrait testé.

Cette manipulation comporte plusieurs étapes :

a) Préparation d'inoculum

L'inoculum de chaque bactérie (*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*) a été préparé selon le protocole expérimental suivant :

- Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie bactérienne bien isolée.
- Transvaser le contenu de l'ose dans un tube contenant 5 ml de bouillon nutritif stérile,
- Incuber par la suite les tubes à essai à 37°C pendant 24 h.

b) Préparation des disques

- Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N° 1),
- Stériliser les disques à l'autoclave, à 120°C pendant 20 minutes.

c) Test d'activité antibactérienne

- Mettre la gélose nutritive au bain-marie (100°C) ; une fois fondue la maintenir à 45°C jusqu'à utilisation,
- Couler dans les boîtes de pétri une quantité de gélose nutritive équivalente à 18 mL;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification (15 minute),
- Ouvrir le tube contenant l'inoculum devant le bec bunsen et ensemercer les boîtes de pétri par stries serrées à l'aide d'un écouvillon stérile ;
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée,
- Déposer les disques imprégnés d'HE délicatement sur la surface de gélose (Trois disques par boîte) (**figure 16**);

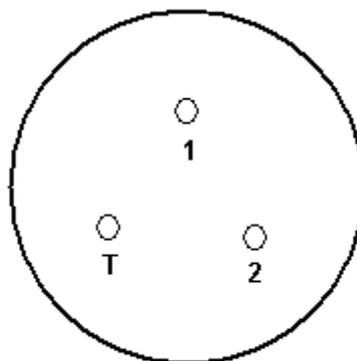


Figure 16: Ensemencement et dépôt des disques imprégnés d'HE obtenue

- T = disque sec, non imprégné d'HE (témoin)
- 1 = disque imprégné d'HE (1ère répétition)
- 2 = disque imprégné d'HE (2ème répétition)

- Placer les boîtes de pétri à basse température (+4 °C) pendant 15 à 30 min afin de permettre aux HE de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier ;

- Retirer les boîtes du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h. Les boîtes doivent être placées couvercle en bas.

d) Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

IV. 6- Essai d'utilisation de l'huile essentielle dans les denrées alimentaires (Yaourt)

Le but de cette manipulation est d'étudier la possibilité d'utilisation de l'huile essentielle extraite de la plante *Ocimum basilicum L.* comme agent conservateur et aromatique dans les produits laitiers, en particulier ceux à forte consommation tels que les yaourts.

On peut résumer ce test dans les étapes suivantes.

- Technique de fabrication du yaourt,
- Conservation des pots de yaourt,
- Analyse organoleptique et microbiologique.

IV. 6. 1- Technique de fabrication du yaourt

Le protocole de cette technique est le suivant :

- Verser 1 litre de lait de vache cru (sachet de 1 litre) dans un Erlen de 2 litres stérile;
- Chauffer le lait en plaçant l'Erlen dans un bain marie à 90 °C pendant 20 minutes, puis refroidir-le jusqu'à 40 °C ;
- Laisser le lait refroidi dans l'étuve à 37 °C pendant 30 minutes ;
- Ajouter stérilement (devant le bec bunsen) 90 g de sucre et 0,188 g de ferment lactique ;
- Distribuer le lait, après agitation, dans quatre erlens stériles : (témoin, 10 µl HE, 20 µl HE et 50 µl HE) ;
- Ajouter les concentrations d'HE correspondantes;
- Après agitation manuelle, distribuer le contenu de chaque erlen dans des pots de yaourt (environ 40 mL/pot) (**figure 17**);



Figure 17: Erlen et pots contenant le yaourt préparé (témoin, 10 μ l HE, 20 μ l HE et 50 μ l HE)

- Incuber les pots de yaourt à 38 °C pendant 3 heures (**figure 18**), puis à la température ambiante pendant une nuit.



Figure 18: Incubation des pots de yaourt à 38 °C pendant 3 heures (témoin, 10 μ l HE, 20 μ l HE et 50 μ l HE)

IV. 6. 2- Conservation des pots de yaourt

Les pots de yaourt ont été conservés à la température ambiante pendant 7 jours et les différentes analyses (physicochimique, organoleptique ou sensorielle et microbiologique) ont été effectuées après 0 jour, 4 jours et 7 jours.

IV. 6. 3- Analyse organoleptique et microbiologique

IV. 6. 3. 1-Analyse physicochimique et analyse organoleptique ou sensorielles

- 1) Les propriétés organoleptiques du yaourt ont été évaluées après 0 jour de conservation à la température ambiante. Les principaux éléments utilisés dans cette évaluation sont : L'aspect visuel (forme, couleur), la texture, le goût, l'odeur (l'arôme).
- 2) L'analyse physicochimique a été effectuée après 0 jour de conservation à la température ambiante, par mesure du pH et de la température du yaourt dans chaque pot.

IV. 6. 3. 2- Analyse microbiologique

Le but de cette manipulation est d'évaluer l'effet de l'huile essentielle sur la conservation du yaourt. Cette évaluation repose sur le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile qui se trouve dans le yaourt pendant la période d'incubation et en présence ou en absence de l'huile essentielle.

Les échantillons analysés sont : Témoin, 10 µl HE, et 50 µl HE. Les échantillons de la concentration 20 µl HE ont été annulés à cause de manque de matériel.

Le mode opératoire de cette manipulation est le suivant :

a) Préparation des dilutions décimales (figure 19)

- Peser aseptiquement 10 g de yaourt à l'aide d'une balance de précision;
- Introduire cette quantité de yaourt dans un erlen- meyer contenant 90 mL d'eau physiologique stérile, cette suspension constitue alors la suspension mère (dilution 10^{-1});
- Prélever aseptiquement 1 mL de la suspension mère et mettre le dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, la dilution ainsi obtenue est de 10^{-2} ;
- Pour obtenir la dilution de 10^{-3} , reprendre 1 mL de la dilution précédente (10^{-2}) et mettre le dans un autre tube contenant le même volume d'eau physiologique stérile (9 mL) ;
- Répéter cette opération jusqu'à l'obtention de la dilution de 10^{-6} .

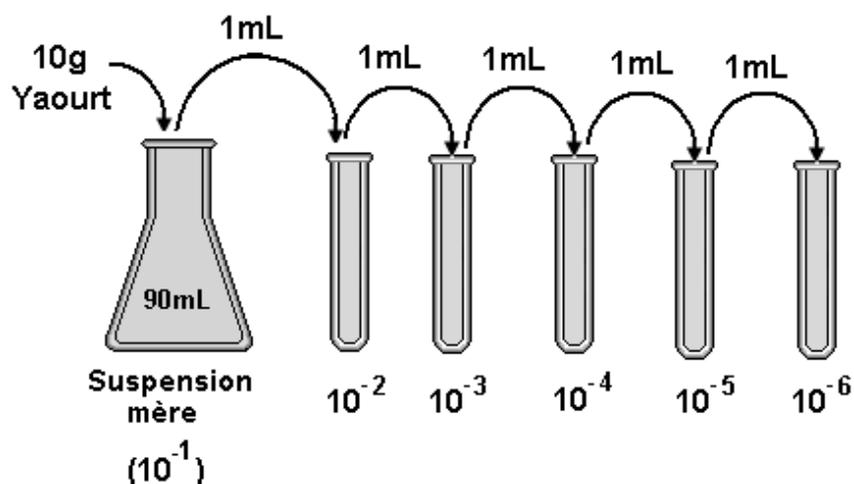


Figure 19: Préparation des dilutions décimales

b) Ensemencement de boîtes pétries

- Après homogénéisation, transférer 1 mL de ces dilutions décimales successives dans des boîtes de pétri stériles en tenant compte des conditions de stérilité ;
- Couler une couche de gélose (maintenue à 45 °C) dans chaque boîte de pétri ;
- Procéder à des mouvements circulaires de la boîte de pétri sur la paillasse dans un sens puis dans l'autre afin que la suspension soit bien mélanger avec la gélose ;
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification (15 minute),
- Placer les boîtes de pétri dans l'étuve à 30 °C pendant 72 heures. Les boîtes doivent être placées couvercle en bas.

c) Dénombrement de la flore aérobique mésophile totale

Après la période d'incubation nécessaire, procéder au comptage des colonies pour chaque boîte de pétri.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

V. 1- Extraction des huiles essentielles

Nous rappelons que les huiles essentielles ont été extraites à partir de la partie aérienne sèche de la plante *Ocimum basilicum L.*, à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger. Cette méthode d'extraction est fournie des huiles essentielles de couleur jaune-clair avec une très forte et persistante odeur.

V. 2- Influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle

L'étude de la cinétique d'extraction consiste à étudier l'évolution du rendement en huile essentielle contenue dans la matière végétale en fonction du temps (à des intervalles de 30 min, étalées sur 4 heures).

Le rendement est calculé par le rapport de la masse en grammes de l'huile essentielle obtenu et la masse en grammes de la partie aérienne sèche de la plante *Ocimum basilicum L.* (100 g).

Les résultats de cette manipulation sont illustrés dans la figure suivante :

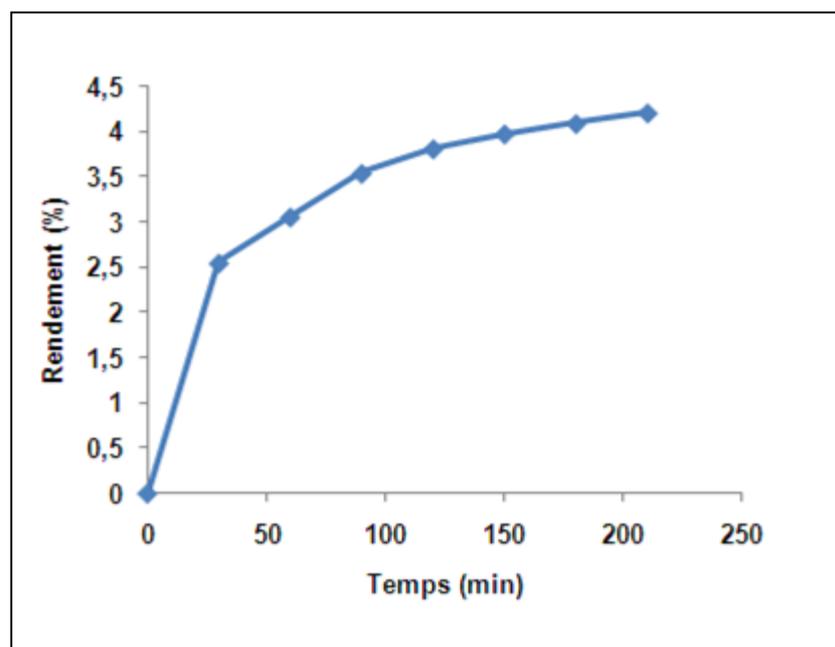


Figure 20 : Cinétique d'extraction de l'huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum L.* par hydrodistillation

D'après ce résultat, nous pouvons conclure que le temps nécessaire pour la récupération de l'huile contenue dans le matériel végétal étudié est divisé en trois phases:

- La première phase, qui correspond à la phase maximale du rendement d'extraction en huile essentielle, environ 1,3327%. Cette augmentation rapide du rendement est observée dans l'intervalle de temps de 0 à 30 minutes.
- La deuxième phase est observée dans l'intervalle de temps de 30 à 120 minutes et se caractérise par une légère augmentation du rendement (environ 0,2711%).
- Enfin, dans la troisième phase, après 120 minutes, la courbe tend vers la stabilisation (augmentation d'environ 0,1175%), ce qui correspond au rendement maximum possible à atteindre dans ces conditions expérimentales.

Au vu de ce résultat, on peut déduire que le facteur temps d'extraction a un impact important sur le rendement en huile essentielle extraite à partir de la plante *Ocimum basilicum* L. Cette conclusion est en parfait accord avec les résultats de certains travaux de recherche avec d'autres plantes médicinales (Muhammad Hazwan et al., 2012 ; Zheljzkov et al., 2013 ; Zheljzkov et al., 2014).

A titre d'exemple Zheljzkov et al., 2013 ont observé que le rendement en huile essentielle extraite à partir des fleurs sèches de lavande (0,5 - 6,8%) atteint un maximum à 60 min. ils ont observé également que le temps de distillation a un effet significatif sur la concentration des composés suivants: Cinéole, fenchol, camphre et l'acétate de linalool.

V. 3- Activité antibactérienne des huiles essentielles

La méthode de diffusion des disques sur milieu solide (gélose nutritif) a pour but d'évaluer le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle obtenue, contre les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Nous avons calculé le pouvoir antibactérien par la différence entre le diamètre de la zone inhibitrice de l'huile essentielle et celui de la zone inhibitrice du témoin (sans huile essentielle).

Cette méthode a permis d'obtenir les résultats représentés dans les deux figures 21 et 22.

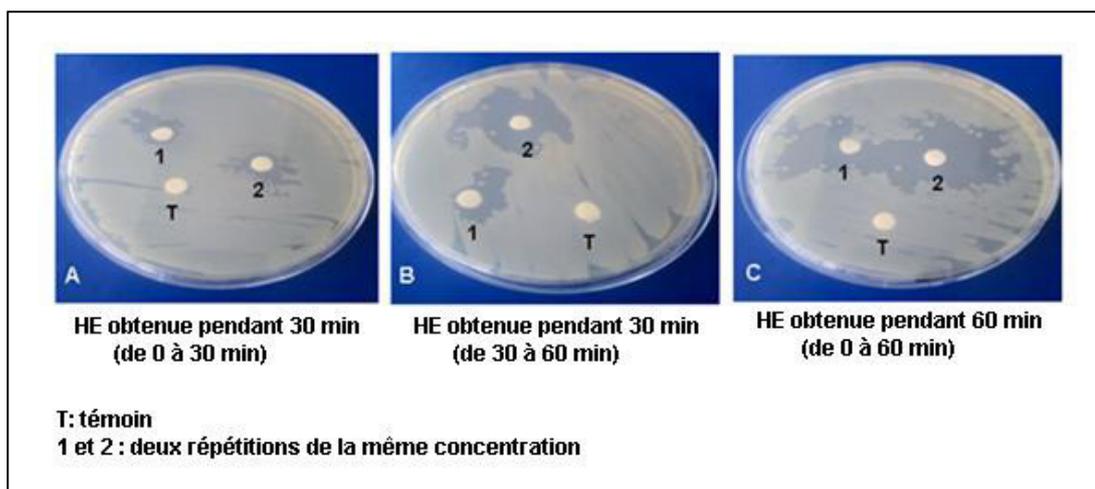


Figure 21 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de la plante *Ocimum basilicum L.* à différents temps d'extraction (contre *E. coli*)

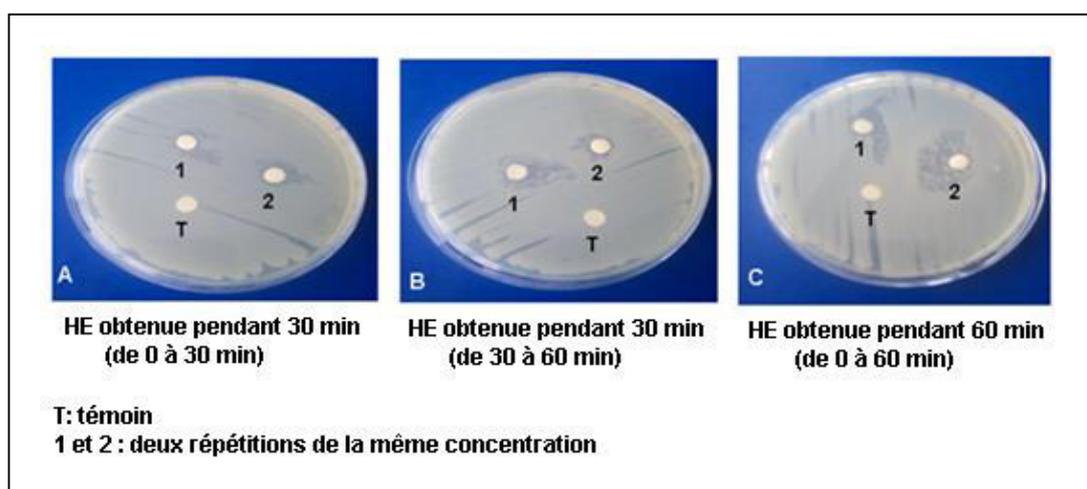


Figure 22 : Activité antibactérienne de l'huile essentielle extraite à partir de la plante *Ocimum basilicum L.* à différents temps d'extraction (contre *Staphylococcus aureus*)

D'après ces résultats on peut noter les remarques suivantes :

- Le diamètre des zones d'inhibition diffère d'un temps d'extraction à un autre. Cette variation de l'activité antibactérienne explique la diversité en compositions chimiques d'huile essentielle extraite à partir de la plante *Ocimum basilicum L.* à différents temps d'extraction. Ceci est en accord avec ce que nous avons observé dans le cas de la manipulation précédente, étude de l'évolution du rendement en huile essentielle contenue dans la matière végétale en fonction du temps.

- L'huile essentielle obtenue présente une activité inhibitrice plus importante contre la bactérie *Escherichia coli* par rapport à la bactérie *Staphylococcus aureus*, notamment dans le cas **HE obtenue pendant 60 min (figure 23)**.

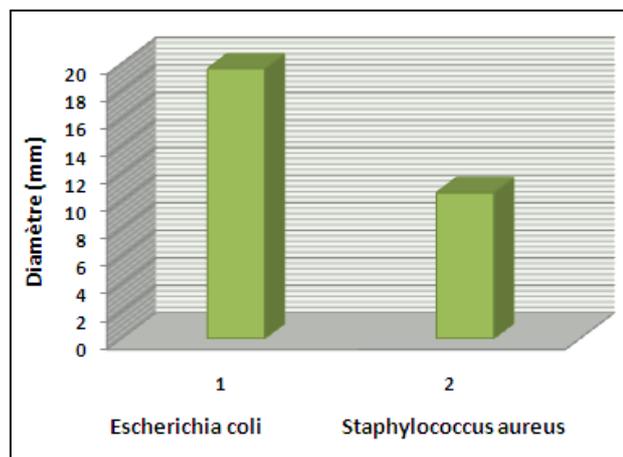


Figure 23 : Activité inhibitrice d'HE obtenue pendant 60 min contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*

La sensibilité des bactéries aux différents extraits se diffère d'une espèce à l'autre, car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier (Athmani, 2009).

V. 4- Essai d'utilisation d'huile essentielle dans les denrées alimentaires (Yaourt)

Après la fabrication du yaourt, les pots de ce dernier ont été conservés à la température ambiante pendant 7 jours. Les différentes analyses ont été réalisées durant cette conservation.

V. 4. 1- Analyses physicochimiques et organoleptiques ou sensorielles

Selon Paci Kora, 2004, l'analyse sensorielle est une approche indispensable à l'évaluation de la qualité d'un produit alimentaire.

Dans cette étude, les analyses physicochimiques et sensorielles ont été réalisées sur les échantillons de yaourt uniquement au début de la conservation (après 0 jour à la température ambiante) en raison du risque de contamination microbienne. Les échantillons représentatifs ont été dégustés par nous-même.

Ces analyses permettent d'apprécier la qualité du yaourt à travers les paramètres suivants: le pH, la température, la texture, l'apparence, la couleur et le goût.

Les résultats de cette analyse sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 3: Analyses physicochimiques et organoleptiques du yaourt après 0 jour de conservation à la T° ambiante

	pH	Température	Texture	Odeur	Couleur
Témoin	4,54	20	Visqueuse	Absence	blanche
10 µl HE	4,55	21	Visqueuse	Arôme du basilic	blanche
50 µl HE	4,71	19	Visqueuse	Arôme du basilic	blanche

Deux observations ont été tirées de ces résultats :

- 1) Le yaourt fabriqué par nos propres moyens est en grande partie similaire à celui du yaourt nature ordinaire, en particulier dans le cas témoin. Il est caractérisé en présence de HE (10 µl HE et 50 µl HE) par une texture visqueuse, un arôme d'huile de basilic et une couleur blanche.

D'après **Monzur et al., 2004**, la couleur du yaourt est généralement dépend de la couleur du lait utilisé, de la couleur caramélisée du lait obtenu lors du chauffage ou de la matière colorante ajoutée.

- 2) Une très légère différence du pH a été détectée entre les échantillons de yaourt (**figure 24**). Cette différence est liée à la présence et à la concentration d'huile essentielle.

Ce résultat montre que la présence et la concentration d'huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum L.* n'ont pas affecté de manière significative le pH des échantillons de yaourt au début de cette conservation. Cette observation a été obtenue également par d'autres chercheurs avec d'autres plantes médicinales (**ÖZTÜRK et al., 2017**).

Peut-être cette légère différence en valeurs de pH observée est attribuée à l'utilisation de glucides résiduels par la flore microbienne existant dans les échantillons de yaourt et à la production d'acide lactique, de petites quantités de CO₂ et d'acide formique à partir du lactose (**Parmjit et Shinde, 2012**).

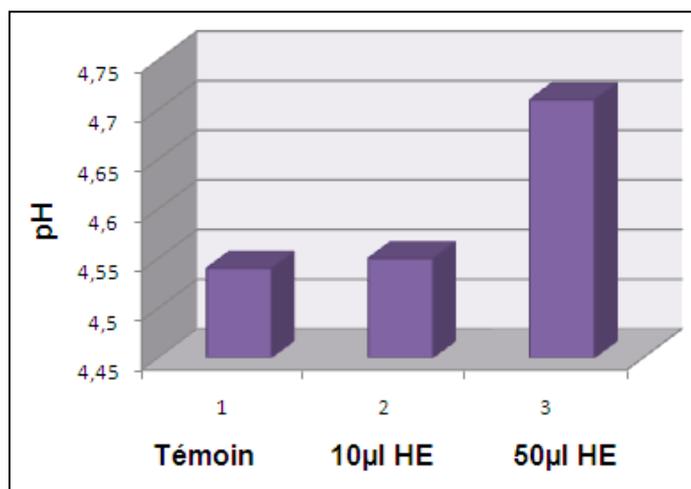


Figure 24 : Valeurs de pH des échantillons **témoin, 10 µl HE et 50 µl HE** après 0 jour de conservation à la T° ambiante.

V. 4. 2- Analyse microbiologique

Nous rappelons que le but de cette manipulation est d'évaluer l'effet de l'huile essentielle sur la conservation du yaourt. Cette évaluation repose sur le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM) qui se trouve dans le yaourt pendant la période d'incubation et en présence ou en absence de l'huile essentielle. Les échantillons analysés sont : Témoin, 10 µl HE, et 50 µl HE.

La flore totale aérobie mésophile reflète la qualité microbiologique générale d'un produit naturel, elle peut dans certains cas constituer un indicateur de qualité sanitaire (**Bouzidi, 2006**).

Les résultats de cette manipulation sont représentés dans le **tableau 4** et la **figure 25**.

Tableau 4: Nombre la flore totale aérobie mésophile (FTAM) durant la période de conservation à la température ambiante

	FTAM ($\times 10^{-4}/\text{ml}$)	
	0 jour	7 jours
Témoin	2	30
10 µl HE	2	3
50 µl HE	1	0

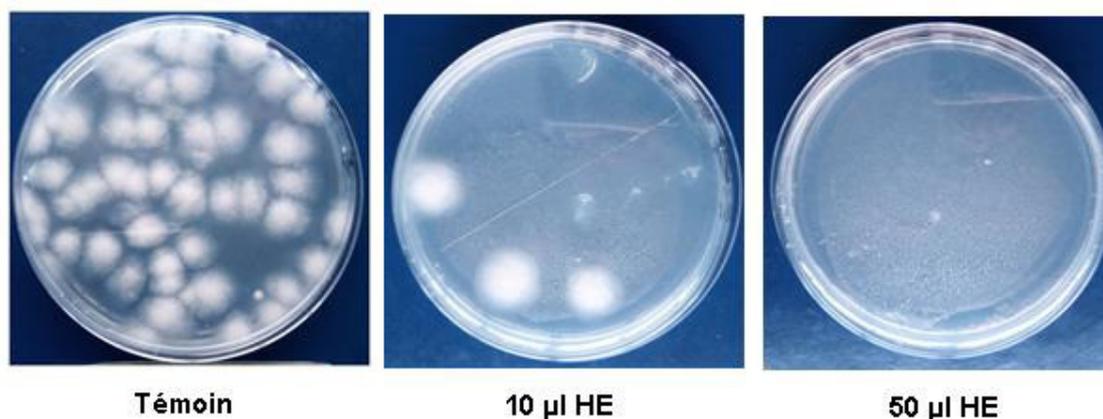


Figure 25 : Effet de l'huile essentielle sur la croissance des MO après 7 jours de conservation (T° ambiante)

La **figure 25** montre la présence de moisissures en nombre important dans les pots de yaourt qui ne contiennent pas d'huile essentielle (plus de 30×10^4 UFC/mL) et son absence totale dans les pots contenant 50 µl HE. Indépendamment de la question de savoir si ces micro-organismes sont dangereux ou ne présentent aucun risque pour la santé humaine, ils sont au moins indésirables pour les consommateurs.

D'après ce résultat nous pouvons conclure que l'huile aromatique extraite à partir de la partie aérienne du basilic joue un rôle clair dans la conservation du yaourt, c'est un résultat très important et surtout que cette plante médicinale ne présente aucun danger pour la santé humaine. Au contraire, d'après **Bora et al., 2011** de nombreuses recherches ont prouvé son efficacité comme remède contre certaines maladies telles que : l'anxiété, le diabète, les maladies cardio-vasculaires, les maux de tête, la douleur du nerf, les maladies neurodégénératives et comme anticonvulsivant et anti-inflammatoire.

Elle est utilisée également comme ingrédient dans les parfums, les savons, les préparations capillaires, les crèmes dentaires et les bains de bouche (**Holm, 1999**).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude, réalisée sur la partie aérienne de la plante basilic (*Ocimum basilicum L.*), était de: (i) déterminer l'influence du temps d'extraction sur le rendement en huile essentielle ; (ii) mettre en évidence l'activité antibactérienne de ces composés contre deux bactéries pathogène et enfin (iii) examiner la possibilité de son utilisation comme agent conservateur et aromatique dans la fabrication du yaourt.

Dans la première partie, nous avons étudié l'évolution du rendement en huile essentielle contenue dans la matière végétale en fonction du temps d'extraction à des intervalles de 30 min, étalées sur 4 heures.

L'huile essentielle a été extraite à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger. Le rendement calculé correspond au rapport entre la masse (en grammes) de l'huile essentielle obtenue et 100 grammes de la partie aérienne sèche de la plante étudiée.

Nos résultats indiquent que le facteur temps a un impact significatif sur le rendement d'extraction. Le rendement optimal a été obtenu après 120 minutes. Par conséquent, il est déconseillé de prolonger le temps d'extraction au-delà de 2 heures.

Dans la deuxième partie de ce travail, nous avons évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle obtenue vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Les résultats obtenus montrent que l'HE de basilic exerce un effet inhibiteur contre les deux souches testées. Cette capacité inhibitrice est plus importante contre la bactérie *Escherichia coli* que la bactérie *Staphylococcus aureus*.

En dernière partie, les pots du yaourt fabriqué par nos propres moyens (témoin, 10 µl HE et 50 µl HE) ont été conservés à la température ambiante pendant 7 jours et les analyses organoleptique et microbiologique ont été effectuées après 0 jour, 4 jours et 7 jours.

Nous avons remarqué la présence de moisissures en grand nombre dans les pots de yaourt ne contenant pas cette huile (plus de 30×10^4 UFC/mL après 7 jours de conservation à température ambiante) et son absence totale dans les pots contenant 50 µl HE.

En conclusion, on peut affirmer que l'HE de la plante *Ocimum basilicum* protège efficacement contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, d'une part, et qu'il n'est pas utile de prolonger l'extraction des HEs par hydrodistillation au-delà de 120 minutes, d'autre part.

Concrètement, nous encourageons l'utilisation de cette huile essentielle comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt, surtout que cette plante ne présente aucun danger pour la santé humaine. Au contraire, elle est utilisée comme remède contre certaines maladies telles que l'anxiété, le diabète, les maladies cardio-vasculaires, les maux de tête, la douleur du nerf, les maladies neurodégénératives et comme anticonvulsivant et anti-inflammatoire. Elle est utilisée également comme ingrédient dans les parfums, les savons, les préparations capillaires, les crèmes dentaires et les bains de bouche.

Il serait également intéressant de réaliser d'autres études pour :

- Évaluer les autres activités biologiques de cette huile, notamment l'activité antioxydant et l'activité antifongique.
- La possibilité d'utiliser cette huile comme additif naturel en industrie agroalimentaire.

Références bibliographique

Références bibliographiques

(A)

AFNOR(1986) Huiles essentielles. Recueil de normes françaises. Edition Tec & Doc Lavoisier. 2^{ème} édition.

Ahmad, I., Gulzar, M., Shahzad, F., Yaqub, M. and Zhoor, T. (2013) Quality assessment of yogurt produced at large (industrial) and small scale. *The Journal of Animal and Plant Sciences*. 23 (1 Suppl.): 58-61.

ATHAMENA S. (2009) Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *cuminum cyminum* et les feuilles de *rosmarinus officinalis* et l'évaluation de l'activité biologique. Thèse de magister, université El-Hadjlakhdar, Batna.

(B)

BARITAUX O., RICHARD H., TOUCHE J., DERBESY M. (1992) Effects of drying and storage of herbs and spices on the essential oil. Part I. Basil, *Ocimum basilicum* L. *Flavour Fragr. J.*, 7: 267–271.

Bassolé IHN, Lamien-Meda A, Bayala B, Ogame LC, Ilboudo AJ, Franz C, Novak J, Nebié RC, Dicko MH. (2011) Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18(12): 1070-1074.

Bencheqroun H.K., Ghanmi M., Satrani B., Aafi A. & Chaouch A., (2012) Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. (Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*). *Bull. Soc. R. Sci. Liège*, 81: 4-21.

Bora, E., Fornito, A., Radua, J., Walterfang, M., Seal, M., Wood, S.J., Yücel, M., Velakoulis, D., Pantelis, C.(2011) Neuroanatomical abnormalities in schizophrenia: a multimodal voxel wise meta-analysis and meta-regression analysis. *Schizophrenia Research* 127, 46–57.

Borges F. (2014) Sécurité sanitaire des aliments. ENSAIA, Université de Lorraine : 55 pages.

Bouzidi Nebila (2016) Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artemisia herba alba* Asso », Thèse de Doctorat, UNIVERSITE Mustapha Stambouli de Mascara : 130 pages.

Burt, S., (2004) Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223–253.

(C)

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Caroch, M., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2016) Fortification of yogurts with different antioxidant preservatives: A comparative study between natural and synthetic additives. *Food Chemistry*, 210: 262–268.

Carovic-Stanko, K., Liber, Z., Besendorfer, V., Javornik, B., Bohanec, B., Kolak, I., et al. (2009) Genetic relations among basil taxa (*Ocimum* L.) based on molecular markers, nuclear DNA content, and chromosome number. *Plant Systematics and Evolution*, 285: 13–22.

Charles D.J. (2013) Basil in Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. *Springer Science+Business Media New York* : 173-179.

Chaves A.C.S.D. Fernandez M. Lerayer A.L.S. Mierau I. Kleerebezem M. Hugenholtz J. (2002) Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 : 5656–5662.

Couic-Marinier, F. and A. Lobstein (2013) Mode d'utilisation des huiles essentielles. *Actual pharm*; 52 (525): 26-30.

(D)

Darrah, H.H., (1974) Investigations of the cultivars of basils (*Ocimum*). *Econ. Bot.* 28, 63- 67.

Deeth H.C. and Tamime A.Y. (1981) Yoghurt: Nutritive and therapeutic aspects. *J. Food Protect*, 44: 78-86.

(E)

Erich Schmidt (2010) Production of Essential Oils in «Handbook of essential oils: science, technology, and applications» edited by K.H.C. Baser, G. Buchbauer. Taylor & Francis, Boca Raton: 83-1119.

(F)

Franz, C. et Novak, J. (2010) Sources of Essential Oils. *In: in* « Essential oils in food preservation, flavor and safety» edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 39-82.

(G)

Gram, L., L. Ravn, M. Rasch, J. B. Bruhn, A. B. Christensen, and M. Givskov. (2002). Food spoilage—interactions between food spoilage bacteria. *Int. J. Food Microbiol*, 78: 79-97.

(H)

Handa, S.S., S.P.S. Khanuja, G. Longo and D.D. Rakesh (2008) Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology, Trieste: Page 40.

Harley, R.M., Atkins, S., Budantsev, A.L., Cantino, P.D., Conn, B.J., Grayer, R., Harley, M.M., De Kok, R.P.J., Krestovskaja, T., Morales, R., Paton, A. J., Ryding, O. & Upson, T. (2004) Labiatae. In: Kubitzki, K. (ed) The Families and Genera of Vascular Plants, Lamiales (except Acanthaceae including Avecenniaceae) VII: 167-275.

Holm, Y. (1999) Bioactivity of basil. *In* «Basil – the genus *Ocimum*. Medicinal and Aromatic Plants – Industrial Profiles», Vol. 10, UK, Harwood Academic Publishers: 113 – 135.

Hussain, A.I., Anwar, F., HussainSherazi, S.T., Przybylski, R. (2008) Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chem*, 108: 986–995.

(J)

Jimborean, M. A., Salanță, L. C., Tofană, M., Pop, C. R., Rotar, A. M., & Fetti, V. (2016) Use of essential oils from citrus sinensis in the development of new type of yogurt. Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj Napoca. *Food Science and Technology*, 73(1): 24–27.

(K)

KONE S. (2001) Extraction des huiles essentielles par distillation, gate Information Service, Eschborn, Germany: 6 Pages.

(L)

Li Qing X. et Chiou L. Chang (2016) Basil (*Ocimum basilicum* L.) Oils in « Essential oils in food preservation, flavor and safety » edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 231-238

(M)

Mahajan RV, Saran S, Kameswaran K, Kumar V, Saxena RK (2012) Efficient production of L-asparaginase from *Bacillus licheniformis* with low-glutaminase activity: optimization, scale up and acrylamide degradation studies. *Bioresour Technol*, 125: 11–16.

Mahmoudi R., Zare P., Hassanzadeh P., Nosratpour S. (2012) Effect of *Teucrium polium* Essential Oil on the Physicochemical and Sensory Properties of Probiotic Yoghurt. *J. Food Process Preserv*, 38(3): 880-888.

Muhammad Hazwan H., C.M. Hasfalina, J. Hishamuddin, Z.A. Zurina (2012) Optimization and Kinetics of Essential Oil Extraction from Citronella Grass by Ohmic Heated Hydro Distillation. *International Journal of Chemical Engineering and Applications* 3 (3): 173-177.

(N)

NOUT R., HOUNHOUGAN J. D. et BOEKEL T. V. (2003) Les aliments Transformation, Conservation et Qualité, Backhuyspublishers, Germany: 257.

(O)

Öztürk Hale, Sümeyye Aydın, Nihat Akın (2017) Effect of Lavender Powder on Microbial, Physicochemical, Sensory and Functional Properties of Yoghurt: *Int. J. Sec. Metabolite*, Vol. 4(3): 94-102.

(P)

Paci Kora (2004) Interactions physico-chimiques et sensorielles dans le yaourt brassé aromatisé: quels impacts respectifs sur la perception de la texture et de la flaveur?, *GMPA - Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires*: 206 pages.

Parmjit SP, Shinde C (2012) Effect of Storage on Syneresis, pH, *Lactobacillus acidophilus* Count, *Bifidobacterium bifidum* Count of Aloe vera Fortified Probiotic Yoghurt. *Curr. Res. Dairy Sci*, 4:17-23.

Paton, A., Harley, M.R., Harley, M.M. (1999) The Genus *Ocimum*. In: Hiltunen, R., Holm, Y. (Eds.), Basil. Harwood Academic Publishers, The Netherlands: 1–38.

(R)

Ranjitha J., Vijiyalakshmi S., (2014) Facile methods for the extraction of essential oil from the plant species - a review, *IJPSR*, Vol. 5(4): 1107-1115.

Ríos J. (2016) Essential Oils: What They Are and How the Terms Are Used and Defined. In: *in «Essential oils in food preservation, flavor and safety»* edited by Preedy, Victor R. Elsevier: 3-9.

Routray, W., & Mishra, H.N. (2011) Scientific and technical aspects of yogurt aroma and taste: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10: 208–220.

(S)

Sagdic O, Toker OS, Polat B, Arici M, Yilmaz MT. (2015) Bioactive and rheological properties of rose hip marmalade. *J. Food Sci. Technol.* 52, 6465-6474.

Shasany, A. K.; Shukla, A. K.; Khanuja, S. P. S.(2007) Medicinal and aromatic plants. In: ChittaranjanKole (Ed.). *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, Volume 6. Technical crops. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

Simpson. M. G. (2010) *Plant Systematics*, Second Edition, Academic Press is an imprint of Elsevier: 428-432.

Soukoulis C, Panagiotidis P, Koureli R, Tzia C (2007) Industrial yogurt manufacture: monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *J. Dairy Sci.* 90: 2641-2654.

(V)

Vieira R.F. et J.E. Simon (2000) Chemical characterization of basil (*Ocimum* spp.) found in the markets and used in traditional medicine in Brazil. *Econ. Bot.* 54: 207–216.

(W)

WHO (World Health Organization) (2007) *The World Health Report 2007 - A safer future: global public health security in the 21st century*. Geneva: WHO.

(Y)

Yasmina Sultanbawa (2015) Plant Extracts as Natural Antimicrobials Oils *in* « Microbial Food Safety AND Preservation Techniques» edited by V. Ravishankar Rai and Jamuna A. Bai. Taylor & Francis Group, an informa business, Boca Raton: 373-382.

(Z)

Zheljazkov V.D., Cantrell C.L., Astakie T., Jeliaskova E. (2013) Distillation time effect of lavender essential oil yield and composition. *J Oleo Sci*, 62 (4): 195-199.

Zheljazkov VD, Astatkie T, Schlegel V. (2014) Hydrodistillation extraction time effect on essential oil yield, composition, and bioactivity of coriander oil. *J Oleo Sci*. 63: 857–865.

Zourari A. Accolas J.P. Desmazeaud M.J. (1992) Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review. *Lait*, 72: 1–34.

RESUME

L'influence du temps sur le rendement d'extraction de l'huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum L.*, l'activité antibactérienne de cette huile et la possibilité de l'utiliser comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt, ont été étudiés.

Les huiles essentielles ont été extraites à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger et l'évolution du rendement d'extraction en fonction du temps a été déterminé. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle obtenue a été évaluée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Après la fabrication du yaourt par nos propres moyens, les pots de ce dernier (témoin, 10 µl HE et 50 µl HE) ont été conservés à la température ambiante pendant 7 jours et les analyses organoleptiques et microbiologiques ont été effectuées après 0 jour, 4 jours et 7 jours.

Les résultats obtenus montrent que: (i) le facteur temps d'extraction a un impact significatif sur le rendement en huile essentielle extraite de cette plante ; (ii) l'HE de basilic exerce un effet inhibiteur contre les deux souches testées. Cette capacité inhibitrice est plus importante contre la bactérie *Escherichia coli* que la bactérie *Staphylococcus aureus* ; (iii) l'absence totale des moisissures dans les pots contenant 50 µl HE, après 7 jour de conservation à la T° ambiante.

En conclusion, notre étude a prouvé l'efficacité des huiles essentielles extraites de la plante *Ocimum basilicum L.* contre des germes pathogènes et donc la possibilité d'utiliser ces huiles, aux vertus multiples, comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt. Elle a également permis d'établir le temps optimal pour l'extraction de ces huiles par hydrodistillation, en l'occurrence 120 minutes.

Mots clés: *Ocimum basilicum L.*, huile essentielle, activité antibactérienne, yaourt, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

The influence of time on the extraction yield of the essential oil of the plant *Ocimum basilicum L.*, the antibacterial activity of this oil and the possibility of using it as a preservative in the manufacture of yoghurt, were studied.

The essential oils were extracted using a Clevenger type hydrodistillation apparatus and the evolution of the extraction yield as a function of time was determined.

The antibacterial activity of the essential oil obtained was evaluated against to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, by the diffusion method on agar medium.

After the manufacture of the yogurt by our own means, the pots of the latter (control, 10 µl HE and 50 µl HE) were kept at room temperature for 7 days and the organoleptic and microbiological analyzes were carried out after 0 days, 4 days and 7 days.

The results obtained show that: (i) the extraction time factor has a significant impact on the yield of essential oil extracted from this plant; (ii) basil EO exerts an inhibitory effect against both strains tested. This inhibitory capacity is greater against *Escherichia coli* than *Staphylococcus aureus*; (ii) the total absence of molds in the pots containing 50 µl HE, after 7 days of storage at room temperature.

In conclusion, our study proved the effectiveness of essential oils extracted from the plant *Ocimum basilicum L.* against pathogenic germs and therefore the possibility of using these oils, with multiple virtues, as a preservative in the manufacture of yoghurt. It also allowed to establish the optimal time for the extraction of these oils by hydrodistillation, in this case 120 minutes.

Key words: *Ocimum basilicum L.*, essential oil, antibacterial activity, yogurt, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

ملخص

تمت دراسة تأثير الزمن على محصول الاستخلاص من الزيت الأساسي لنبات *Ocimum basilicum L.* ، والنشاط المضاد للبكتيريا لهذا الزيت وإمكانية استخدامه كمادة حافظة في صناعة الزيادي.

تم استخراج الزيوت العطرية باستخدام جهاز hydrodistillation من نوع Clevenger وتم تحديد تطور ناتج الاستخلاص بدلالة الوقت.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للزيت الأساسي الذي تم الحصول عليه ضد *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli* وذلك بواسطة طريقة الانتشار على بيئة الأجار.

بعد تصنيع الزيادي بوسائلنا الخاصة ، تم حفظ أوعية الأواني (الشاهد، 10 µl HE و 50 µl HE) تحت درجة حرارة الغرفة لمدة 7 أيام ، وتم إجراء التحليلات الحسية و الميكروبيولوجية بعد 0 أيام ، 4 أيام و 7 أيام.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها: (i) بأن عامل وقت الاستخلاص له تأثير كبير على محصول الزيت الأساسي المستخرج من هذا النبات. (ii) الزيت الأساسي له تأثير مثبت ضد السلالتين المختبرتين. هذه القدرة المثبطة كانت أكبر ضد *Escherichia coli* من بكتيريا *Staphylococcus aureus*. (iii) الغياب التام للعفن في الأواني التي تحتوي على 50µl HE ، بعد 7 أيام من التخزين تحت درجة حرارة الغرفة.

وفي الختام، أثبتت دراستنا فعالية الزيوت الأساسية المستخرجة من نبات *Ocimum basilicum* ضد الجراثيم المسببة للأمراض، وبالتالي إمكانية استخدام هذه الزيوت، مع فضائل متعددة، كمادة حافظة في صناعة الزيادي. كما سمح بتحديد الوقت الأمثل لاستخراج هذه الزيوت عن طريق hydrodistillation ، في هذه الحالة 120 دقيقة.

الكلمات المفتاحية: *Ocimum basilicum L.* ، الزيت العطري ، النشاط المضاد للبكتيريا ، الزيادي ، *Staphylococcus aureus* ، *Escherichia coli*.

Huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum* : Activité antibactérienne et utilisation comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée et Biochimie de Nutrition

Résumé

L'influence du temps sur le rendement d'extraction de l'huile essentielle de la plante *Ocimum basilicum* L., l'activité antibactérienne de cette huile et la possibilité de l'utiliser comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt, ont été étudiés.

Les huiles essentielles ont été extraites à l'aide d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger et l'évolution du rendement d'extraction en fonction du temps a été déterminé.

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle obtenue a été évaluée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, par la méthode de diffusion sur milieu gélosé.

Après la fabrication du yaourt par nos propres moyens, les pots de ce dernier (témoin, 10 µl HE et 50 µl HE) ont été conservés à la température ambiante pendant 7 jours et les analyses organoleptiques et microbiologiques ont été effectuées après 0 jour, 4 jours et 7 jours.

Les résultats obtenus montrent que: (i) le facteur temps d'extraction a un impact significatif sur le rendement en huile essentielle extraite de cette plante ; (ii) l'HE de basilic exerce un effet inhibiteur contre les deux souches testées. Cette capacité inhibitrice est plus importante contre la bactérie *Escherichia coli* que la bactérie *Staphylococcus aureus* ; (iii) l'absence totale des moisissures dans les pots contenant 50 µl HE, après 7 jours de conservation à la T° ambiante.

En conclusion, notre étude a prouvé l'efficacité des huiles essentielles extraites de la plante *Ocimum basilicum* L. contre des germes pathogènes et donc la possibilité d'utiliser ces huiles, aux vertus multiples, comme agent conservateur dans la fabrication du yaourt. Elle a également permis d'établir le temps optimal pour l'extraction de ces huiles par hydrodistillation, en l'occurrence 120 minutes.

Mots clés : *Ocimum basilicum* L., huile essentielle, activité antibactérienne, yaourt, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

Jury d'évaluation :

Président du jury :	Y. NACIB	(Professeure - UFM Constantine).
Rapporteur :	B. BOUSEBA	(MC-B- UFM Constantine).
Examineur :	S. CHIBANI	(MC-A - UFM Constantine).

Date de soutenance : 28/06/2018