REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En biologie

Spécialité : biologie et pathologie cellulaire

Par :

Ichrak Boukhtache

Meriem Kahouadji

Thème :

Formulation d'émulsions à base d'huiles essentielles de romarin et de feuilles d'olivier : étude de la stabilité, des propriétés biologiques et modélisation moléculaire des interactions avec des cibles cellulaires associées à des processus pathologiques

Soutenue publiquement le : 30 / 06 /2025, Devant le jury composé de :

Khames.M	**MCA**	U.Médéa	Président
Benaferi.N	**MCA**	U. Médéa	Examinateur
Atsamnia.D	**MCA**	U.Médéa	Encadrant
EDaeif.Z	**Doctorante**	U. Médéa	Invitée

Année universitaire 2024/2025

Dédicace :

À moi,

À cette jeune femme qui a douté parfois, mais n'a jamais abandonné. À celle qui a lutté contre l'épuisement, mais qui a continué à avancer, à croire, à espérer. Aujourd'hui, je suis fière de moi, de mon courage et de ma persévérance. Ce travail est la preuve que malgré les obstacles, j'ai tenu bon. Alhamdoulillah.

À mes parents kamel et louiza hassnaoui,

Ceux qui m'ont donné la vie, mais surtout l'amour inconditionnel. Merci pour vos bras toujours ouverts, vos mots réconfortants, vos prières murmurées à l'aube, vos sacrifices silencieux. Vous êtes ma plus grande bénédiction. Que Dieu vous protège.

À ma chère grand-mère oum lkhir,

Ton regard plein de tendresse, ta voix apaisante... Merci d'être là, toujours. Ta présence seule me suffit pour trouver la paix.

À la mémoire de mes grands-parents disparus ben youcef,djeloul hassnaoui et yamna molsmara,

Vous n'êtes plus là, mais je vous sens dans chaque prière, chaque souvenir, chaque réussite. Puisse Allah vous accorder Sa miséricorde infinie. Ce diplôme, je vous le dédie aussi.

À mon frère Mohamed et sœurs Safa et Maroua,

Merci pour votre présence, même discrète, mais toujours sincère. Vos mots simples, vos regards, votre amour fraternel m'ont donné la force. Vous êtes une part de mon cœur.

À Kaouthar,

Mon amie de toujours. Depuis notre enfance, tu es restée à mes côtés, merci pour ton écoute et ton soutien. Ton amitié est un trésor que je chéris. Merci d'être mon refuge, ma sœur d'âme.

À mes cousines, Touha, Sarah, Hala et Hedil,

Merci de m'avoir entourée d'amour et de rires. Vous étiez là dans le stress, dans la fatigue, dans les instants d'angoisse. Vous avez mis de la lumière dans mes jours sombres.

À Rofaida,

À ma chère amie d'enfance, merci d'avoir toujours été là, avec ton cœur pur et ton soutien inconditionnel. Ton amitié est un trésor que je chérirai toute ma vie.

À mes tantes, Khadidja, Massaouda et Aïcha,

Merci pour votre tendresse, vos paroles rassurantes et votre bienveillance constante. Votre amour m'a enveloppée comme une douce couverture. Je ne vous oublierai jamais.

Ichrak-boukhtache

Dédicace

Il est des mots qui ne peuvent être écrits qu'avec la plume du cœur, et dits que lorsque l'âme déborde de gratitude.

Sur ce long chemin tissé de fatigue, de larmes et de persévérance, je n'ai jamais été seule. Des cœurs lumineux m'ont accompagnée, me portant dans mes faiblesses et me soutenant dans mes doutes.

À vous tous, qui avez été mon abri, mon souffle et ma force, je dédie ce modeste travail, comme un gage d'amour et de reconnaissance qu'aucun mot ne saurait contenir.

À mon père bien-aimé, Ali Kahouaji,

Ta présence a été un refuge, ta voix une prière, ta patience une école de silence et de courage. Tu as porté mes fardeaux sans jamais te plaindre. Merci d'avoir été l'origine de toute ma force, l'ancre de mon existence.

À ma tendre mère, Fahima Boualem,

Source d'un amour inépuisable, refuge de mon âme. Tu as été une étreinte dans l'adversité, une prière dans l'étroitesse du chemin, un souffle de miséricorde dans mes nuits sombres. Merci d'avoir été la lumière inaltérable de ma vie.

À l'âme de ma grand-mère,

Qui n'a pas vu ce moment, mais l'a toujours porté dans son cœur. Tes conseils vivent encore en moi, ton écho résonne en moi. Que Dieu t'accorde une miséricorde à la hauteur de la place que tu occupes dans mon cœur.

À mon frère cher, Khalid,

Frère, soutien et guide, tu m'as offert ton cœur avant ta main. Ton geste généreux m'a permis d'accomplir une Omra, lumière bénie dans mon âme. Merci d'avoir été ce pilier discret mais essentiel.

À ma sœur aînée, Basma,

Ta voix a guidé mes pensées quand elles se perdaient, ta sagesse a calmé mes peurs. Merci pour ta présence rassurante et chaque mot qui a été un baume.

À ma sœur précieuse, Amina,

Ta douceur silencieuse, ton regard profond, ta tendresse muette… tu es plus qu'une sœur, tu fais partie de mon âme. Merci pour ce soutien discret mais constant.

À ma sœur rayonnante, Sara,

Ton rire a été mon remède, ta joie une lumière douce dans les jours sombres. Merci d'avoir été une présence chaleureuse qui laisse des traces, même dans l'absence.

À mes petits anges, Ayoub, Iman, Aseel, Jawad, Dania,

Vos sourires ont illuminé mes journées, votre innocence a été la plus belle vision dans mes moments de fatigue. Vous êtes la signification même de la paix et de l'espoir.

À celles que le destin a placées sur mon chemin et qui ont allégé mes jours :

À mon amie fidèle, Samira,

Tu as été une sœur véritable, l'oreille de mes douleurs, l'abri de mes mots fatigués. Tu as vu ma force quand d'autres voyaient ma faiblesse.

À ma sœur de cœur, Fatima Zahra,

Tu as été la chaleur dans mes nuits froides, la lumière dans mes instants sombres. Merci d'avoir été cette épaule quand la route devenait trop longue.

À vous tous que j'ai mentionnés ici,

Vous êtes la lumière de mon parcours, le refuge dans mes instabilités, et le pilier de ma résilience.

Du fond du cœur, et avec toute ma sincérité, je vous dis :

Merci d'avoir été ma maison. Merci d'avoir été mon monde.

Meriem kahouadji

Remerciements :

Nous tenons à remercier en premier lieu ALLAH, tout puissant, de nous avons donné le courage et la volonté pour bien mener ce modeste travail.

Tout d'abord, nous tenons à remercier notre professeur Monsieur Dr. ATSAMNIA pour leur patience et surtout pour leur confiance, leurs observations et leurs conseils.

Nos sincères remerciements vont également à Madame Z daief, pour son soutien précieux et sa bienveillance tout au long de ce travail.

Nous voudrons également remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques,

Ainsi que le personnel et les enseignants du département de biologie l'université de Médéa.

A tous mes enseignants qui m'ont initié aux valeurs authentiques.

Résumé :

Cette étude a porté sur la formulation de deux émulsions huile-dans-eau à base d'extrait de feuilles d'olivier (Olea europaea) et d'huile essentielle de romarin (Rosmarinus officinalis), stabilisées par le Tween 80, la gomme xanthane et la pectine. Les émulsions ont montré une bonne stabilité au stockage. Les tests antioxydants (DPPH) ont révélé des valeurs IC_{50} de 0,00641 mg/ml pour l'émulsion au romarin et 0,00836 mg/ml pour celle à l'olivier, montrant une activité intéressante.L'activité antimicrobienne était modérée contre Bacillus subtilis, Candida albicans et Aspergillus sp., tandis que les huiles pures ont montré une inhibition plus marquée. La modélisation moléculaire a confirmé une forte affinité des composés actifs (carnosol, oléuropéine, etc.) avec des protéines humaines impliquées dans le stress oxydatif, l'inflammation et l'apoptose. Ces résultats valident l'intérêt de ces émulsions naturelles comme vecteurs bioactifs pour des applications thérapeutiques et industrielles.

Mots-clés : Romarin ; Olivier ; Émulsion ; Antioxydant ; Antimicrobien ; Modélisation moléculair

الملخص

تتناول هذه الدراسة تحضير نوعين من المستحلبات من نوع زيت في ماء، باستعمال مستخلص أوراق الزيتون وزيت إكليل الجبل العطري، وتم تثبيت هذه المستحلبات باستخدام مواد طبيعية مثل التوين 80، وصمغ الزانثان، والبكتين. أظهرت هذه المستحلبات ثباتًا جيدًا عند التخزين. أما من حيث النشاط المضاد للأكسدة، فقد بينت اختبارات تثبيط الجذور الحرة أن قيمة التركيز اللازمة لتثبيط خمسين بالمئة بلغت 0.00641 ملغ لكل مليلتر في مستحلب إكليل الجبل، و0.00836 ملغ لكل مليلتر في مستحلب أوراق الزيتون، مما يدل على قدرة قوية في مقاومة الأكسدة. كما أظهرت المستحلبات فعالية متوسطة في مقاومة بعض الكائنات الدقيقة مثل العصوية الرقيقة، والمبيضة البيضاء، وأنواع العفن، في حين أظهرت الزيوت الأصلية فعالية أعلى. وأكدت الدراسة النظرية من خلال المحاكاة الجزيئية وجود ارتباط قوي بين المركبات النشطة مثل الكارنوسول والأوليوروبيين وبعض البروتينات في جسم الإنسان المرتبطة بالإجهاد التأكسدي، والالتهاب، والموت الخلوي المبرمج. تدعم هذه النتائج إمكانية استعمال هذه المستحلبات الطبيعية كحوامل لمركبات فعالة بيولوجيًا في الاستعمالات العلاجية والصناعية.

الكلمات المفتاحية: إكليل الجبل، أوراق الزيتون، مستحلب، مضاد للأكسدة، مضاد للميكروبات، محاكاة جزيئية.

Abstract :

This study focused on the formulation of two oil-in-water emulsions based on olive leaf extract (Olea europaea) and rosemary essential oil (Rosmarinus officinalis), stabilized by Tween 80, xanthan gum, and pectin. The emulsions showed good storage stability. Antioxidant tests (DPPH) revealed IC_{50} values of 0.00641 mg/ml for the rosemary emulsion and 0.00836 mg/ml for the olive-based emulsion, revealing an interesting activity. Antimicrobial activity was moderate against Bacillus subtilis, Candida albicans, and Aspergillus sp., while the pure oils demonstrated stronger inhibition. Molecular modeling confirmed a strong affinity between the active compounds (such as carnosol and oleuropein) and human proteins involved in oxidative stress, inflammation, and apoptosis. These findings support the potential of these natural emulsions as bioactive carriers for therapeutic and industrial applications.

Keywords : Rosemary ; Olive ; Emulsion ; Antioxydant; Antimicrobien; Molecular modeling.

Table des matières

Introduction 1

Partie I : Recherche bibliographique 3

I Les plantes médicinales : 4

Introduction : 4

I.1 Définition : 4

I.2 Classification des Plantes Médicinales : 5

I.3 Histoire de l'usage thérapeutique des plantes : 8

I.4 Intérêt pharmacologique des des plantes (phénols, flavonoïdes, terpénoïdes…) : 9

I.5 Exemples de plantes médicinales utilisées traditionnellement : ... 11

II Les huiles essentielles : 12

Introduction : 12

II.2 Définition : 12

II.3 Origine et extraction des huiles essentielles : 12

II.4 Composition chimique des huiles essentielles : 13

II.5 Usages et applications des huiles essentielles : 13

II Romarin (Rosmarinus officinalis L) : 14

III.1 Définition du Romarin (Rosmarinus officinalis L.) : 14

III.2 Classification botanique du romarin : 14

III.3 Description des feuilles du romarin (forme et composition chimique) : 15

III.1 Définition de l'huile essentielle de romarin : 15

III.5 La composition chimique du romarin : 16

IV. Les feuilles d'olivier :..... 20

IV.1 Définition de l'arbre d'olivier : 20

IV.2 Classification botanique :..... 21

IV.3 Description des feuilles d'olivier (forme et composition chimique) : 22

IV.4 Définition de l'huile essentielle des feuilles d'olivier : 22

IV.5 La composition chimique :..... 23

IV.6 Les propriétés biologiques des huiles essentielles de feuilles d'olivier : 26

Introduction :..... 29

IV.1 Définition :..... 29

IV.2 Composition : 29

IV.3 Les types d'émulsion : 33

IV.4 Classification basée sur la taille des gouttelettes :..... 36

IV.5 Mécanismes de formation des émulsions : 36

***Partie II : Matériel et Méthodes*..... 38**

I. Lieu d'application :..... 39

II. Matériel végétal : 41

III. Préparation des extraits :..... 43

IV. Formulation d'émulsion : 44

VI. Activité antioxydante : 50

VI.1 Définition :..... 50

VII. Activité antibactérienne :..... 52

VIII Activité antifongique : 55

IX Étude prédictive des interactions Biologiques protéines–molécules issues des extraits de romarin et des feuilles d'olivier: 57

Partie III : Résultat et discussion **..... 58**

I. Méthodes d'extraction :..... 59

II. Préparation et stabilité des émulsions : 61

.III Caractérisations Organoleptiques et Physico chimique des émulsions obtenues : 63

IV. L'observation microscopique : 67

V. Teneur en polyphénols totaux (TPC)..... 72

VI. Teneur en flavonoïdes totaux (TFC) : 74

VII. Activité antioxydante (Test DPPH) : 78

VIII. Activité antibactérienne : 84

.IX L'activité Antifongique : 90

X Étude prédictive des interactions Biologiques protéines–molécules issues des extraits de romarin et des feuilles d'olivier : 96

Conclusion **..... 104**

- **Liste des figures :**

Partie I : les plantes médicales

Figure	Titre	Page
Figure I 1	Structure chimique des alcaloïdes	6
Figure I 2	Structure chimique des flavonoïdes	6
Figure I 3	Structure chimique des tanins	7
Figure I 4	Structure chimique des saponines	7
Figure I 5	Structure de phénol	9
Figure I 6	Structure de flavonoïde	9
Figure I 7	Structure de terpénoïde	10
Figure I 8	Photo du Rosmarinus officinalis	13
Figure I 9	Photo des feuilles de romarin	14
Figure I 10	Photo de l'arbre d'olivier	19
Figure I 11	Photo des feuilles d'olivier	20
Figure I 12	Représentation schématique d'une émulsion	28
Figure I 13	Schéma structural d'un tensioact	28
Figure I 14	Schéma de l'orientation des tensioactifs dans deux types d'émulsion	29
Figure I 15	Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu l'eau, en jaune l'huile)	32
Figure I 16	Représentations schématiques de deux types d'émulsions multiples	33
Figure I 17	Dessin schématique de différents types d'émulsions	33

Partie II : matériel et méthode

Figure	Titre	Page
Figure II 1	Spectrophotomètre UV-Visible	37
Figure II 2	Centrifugeuse	38
Figure II 3	Homogénéisateur	38
Figure II 4	Ultrasonicateur	39
Figure II 5	Rotavapeur	39
Figure II 6	Le romarin	40
Figure II 7	Les feuilles d'olivier	40
Figure II 8	L'extraction des plantes	41
Figure II 9	L'étape de mélange par ultrasonicateure	42
Figure II 10	Étape de filtration	42
Figure II 11	L'étape d'enlever l'éthanol par rotavapeur	43
Figure II 12	Tween80	44
Figure II 13	Gomme xanthane	45
Figure II 14	Pectine (Pectin)	45
Figure II 15	Étape d'agitation de stabilisant et émulsifiant	46
Figure II 16	Étape d'homogénéisation	46
Figure II 17	Étape de mélange l'émulsion par ultrasonicateur	47
Figure II 18	Dosage des polyphénols	48
Figure II 19	Dosage des flavonoïdes	49
Figure II 20	Solution éthanolique du DPPH	50
Figure II 21	Les concentrations de DPPH préparé	50
Figure II 22	L'étape de mélange les échantillons avec les concentrations de DPPH	50
Figure II 23	le témoins de DPPH	51
Figure II 24	Une suspension bactérienne à 0,5 McFarland	52
Figure II 25	Des boites de pétrie remplir par gélose Mueller-Hinton	53
Figure II 26	Une suspension fongique	54
Figure II 27	Des boites de pétrie remplir par gélose Sabouraud dextrose	55

Partie III : Résultats et discussion :

Figure	Titre	Page
Figure III 1	Extrait obtenu après entrainement par rotavapeur	57
Figure III 2	Huiles essentielles obtenues à partir du romarin et des feuilles d'olivier	58
Figure III 3	Émulsion à base de romarin après formulation	59
Figure III 4	Émulsion obtenue à partir des extraits de feuilles d'olivier	59
Figure III 5	Observation microscopique de l'huile essentielle de romarin pure	63
Figure III 6	Observation microscopique d'émulsion à base d'huile essentielle de romarin	64
Figure III 7	Observation microscopique d'huile essentielle des feuilles d'olivier	64
Figure III 8	Observation microscopique d'émulsion à base d'huile essentielle des feuilles d'olivier	65
Figure III 9	Courbe d'étalonnage d'acide gallique	66
Figure III 10	Représentation comparative des teneurs totales en composés phénoliques (TPC) des différents Émulsions	66
Figure III 11	Courbe d'étalonnage de la quercétine	68
Figure III 12	Présentation comparative des teneurs totales en Flavonoïdes (TFC) des différents Émulsions	68
Figure III 13	Évolution de l'activité antioxydante de l'émulsion de romarin	71
Figure III 14	Évolution de l'activité antioxydante des extraits de feuilles d'olivier	71
Figure III 15	Évolution de l'activité antioxydante des émulsions à température ambiante sur une période de 20 jours	72
Figure III 16	Les valeurs de IC50 des différents échantillons	73
Figure III 17	Probabilité d'interaction biologique des différentes molécules bioactive des feuilles d'Olivies avec différentes protéines cellulaires humaine	87
Figure III 18	Probabilité d'interaction biologique des différentes molécules bioactive du romarin avec différent protéines cellulaire humain	90

➢ Liste des tableaux :

Tableau	Titre	Page
Tableau I 1	Composés de base dans les feuilles d'olivier	21
Tableau I 2	Acides aminés dans les feuilles d'olivier	22
Tableau I 3	Minéraux dans les feuilles d'olivier	22
Tableau I 4	Composés phénoliques dans les feuilles d'olivier	23
Tableau I 5	Flavonoïdes dans les feuilles d'olivier	23
Tableau I 6	Classification basée sur la taille des gouttelettes	33
Tableau II 1	Interprétation des diamètres de zones d'inhibition pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne	53
Tableau II 2	Interprétation des diamètres de zones d'inhibition pour l'évaluation de l'activité antifongique	55
Tableau III 1	Caractéristiques physique et organoleptiques des émulsions	61
Tableau III 2	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche bactérienne Bacillus subtilis (Gram+)	75
Tableau III 3	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche bactérienne Bacillus subtilis (Gram+)	76
Tableau III 4	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche bactérienne protéolytique (Gram-)	77
Tableau III 5	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche bactérienne protéolytique (Gram -)	78
Tableau III 6	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche candida albicans	80
Tableau III 7	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche candida albicans	81
Tableau III 8	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche Aspergillus sp	82
Tbleau III 9	Les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche Aspergillus sp	83

➢ Liste des Abréviations

Abréviation	**Définition**
1,8-C	1,8-Cinéole
ADH6 / ADH1B	Alcohol Dehydrogenase 6 / 1B
AKT1	Protein Kinase B (AKT1)
BOR	Bornéol
CA	Acide Carnosique
CMC	Critical Micelle Concentration
CMP	Camphre
CR	Carnosol
°C	degré Celsius
CASP3 / CASP9	Caspase 3 / 9
CDH1	Cadherin-1
CDK1 / CDK2	Cyclin-dependent kinase 1 / 2
CCNA2	Cyclin A2
COMT	Catechol-O-Methyltransferase
CYP1B1 / CYP2B6	Cytochrome P450 enzymes
DPPH	2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
E/H ou W/O	L'Eau dans Huile (Water in Oil)
E/H/E ou W/O/W	L'Eau dans huile dan l'eau(water in oil in water)
EAG	Équivalent Acide Gallique
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
FOS / JUN	Proto-oncogenes
H/E ou O/W	Huile dans Eau (Oil in Water)
H/E/H ou O/W/O	L'huile dans l'eau dans l'huile (oil in water in oil)
HE	Huiles Essentielles
HT	Hydroxytyrosol
HMOX	Heme Oxygenase 1
g	Gramme
IC50	Concentration Inhibitrice 50
L	Litter
MAOA	Monoamine Oxidase A
MAPK1 / MAPK8	Mitogen-Activated Protein Kinases
Mg	milligramme
ml	Milliliter
MMP9	Matrix Metalloproteinase 9
NFE2L2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NF-κB	Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
Nrf2	Nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2
OR	Oleuropéine
p + t	Pectine + Tween 80
PARP1	Poly (ADP-ribose) polymerase 1
QE	Equivalent à Quercetin
RA	Acide Rosmarinique

ROS	Reactive Oxygen Species
SRC	Proto-oncogene tyrosine-protein kinase SRC
T°	Temperature
TP53	Tumor Protein p53
TRPA1 / TRPV1	Transient Receptor Potential Ankyrin/Vanilloid 1
TFC	Total Flavonoid Content
TPC	Total Phenolic Content
Tween 80	Polysorbate 80
UV-Vis	Ultraviolet–Visible Spectrophotometry
UGT1A1 / UGT1A3	UDP-glucuronosyltransferases
VEGFA	Vascular Endothelial Growth Factor A
x + t	Xanthane + Tween 80
XRCC1	X-ray Repair Cross Complementing Protein 1
α-PIN	Alpha-pinène

Introduction

Introduction :

Depuis l'Antiquité, les extraits des plantes médicinales, notamment les huiles essentielles, occupent une place centrale dans les approches thérapeutiques traditionnelles et modernes. Riches en composés bioactifs tels que les terpènes, phénols, alcools et cétones, ces substances naturelles présentent un large éventail d'activités biologiques, notamment antioxydantes, antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires (Bakkali et al., 2008 ; McClements, 2012).

Face aux préoccupations croissantes concernant les effets secondaires des produits chimiques de synthèse sur la santé humaine et l'environnement, les huiles essentielles se présentent comme une alternative prometteuse dans divers domaines, tels que la pharmacie, la cosmétique, l'agroalimentaire et l'agriculture (Burt, 2004 ; Guzmán & Lucia, 2021). Toutefois, leur utilisation directe reste limitée en raison de contraintes techniques majeures, notamment leur faible solubilité dans l'eau, leur volatilité élevée ainsi que leur sensibilité à la lumière, à l'oxydation et à la chaleur.

Pour surmonter ces défis, la formulation d'émulsions stables constitue une stratégie innovante permettant de protéger, solubiliser et améliorer la biodisponibilité des composés actifs, tout en préservant leur efficacité biologique (Salvia-Trujillo et al., 2015). Dans ce contexte, notre travail de recherche vise à formuler et à caractériser deux émulsions distinctes à base de deux extraits naturels : l'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis*), riche en 1,8-cinéole, camphre et bornéol, reconnue pour ses propriétés antioxydantes et antimicrobiennes (Nieto et al., 2018), et l'extrait de feuilles d'olivier (*Olea europaea*), contenant des phénols majeurs tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, connus pour leurs effets antioxydants puissants et leur capacité à inhiber divers agents pathogènes (Benavente-García et al., 2000 ; Bulotta et al., 2014).

Plusieurs travaux antérieurs confirment l'intérêt de ces extraits dans des systèmes émulsionnés. Par exemple, l'huile essentielle de romarin, intégrée à des nanoémulsions, a démontré une activité antimicrobienne significative contre *E. coli* et *Listeria monocytogenes*, tout en améliorant la stabilité thermique de l'huile (Salvia-Trujillo et al., 2015). De même, Hadian et al. (2018) ont formulé une émulsion au romarin ayant prolongé la durée de conservation de denrées alimentaires grâce à un fort pouvoir antioxydant.

Concernant les extraits de feuilles d'olivier, Bouaziz et al. (2009) ont montré leur efficacité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et leur rôle protecteur contre le stress oxydatif dans des systèmes colloïdaux. Ces résultats suggèrent que l'incorporation simultanée des deux extraits pourrait produire une synergie bénéfique, bien que notre étude n'envisage pas leur combinaison dans une même formulation.

Malgré leurs nombreux avantages, l'intégration des huiles essentielles dans des formulations aqueuses demeure un défi, principalement en raison de leur faible solubilité et de leur instabilité face à la chaleur, à la lumière et à l'oxygène. La formulation d'émulsions stables apparaît donc comme une solution pertinente pour surmonter ces limitations. La stabilité d'une émulsion dépend toutefois de plusieurs paramètres essentiels, tels que la taille des gouttelettes, le type d'émulsifiant utilisé, et les conditions de stockage (température, pH, etc.). Le défi principal réside dans l'obtention d'une distribution homogène des huiles essentielles et le maintien de cette stabilité dans le temps.

L'étude proposée comprendra une évaluation physico-chimique de la stabilité de chaque émulsion, des tests in vitro de l'activité antioxydante (DPPH), antibactérienne et antifongique, ainsi qu'une modélisation moléculaire visant à simuler les interactions biologiques entre les composés bioactifs et leurs cibles dans les cellules humaines. Cette approche intégrée permettra de mieux comprendre les mécanismes d'action à l'échelle moléculaire.

Dans ce cadre, la **problématique** centrale de cette recherche et de formuler deux types d'émulsions stables, chacune basée sur un extrait végétal différent (romarin ou feuilles d'olivier), tout en préservant leurs propriétés biologiques respectives, et en évaluant l'effet de deux types d'émulsifiants distincts sur la stabilité physico-chimique et l'activité bioactive de chaque système.

Cette problématique soulève la nécessité d'étudier plusieurs aspects clés :

- L'optimisation des paramètres de formulation propres à chaque émulsion
- L'analyse de la stabilité physico-chimique (taille des particules, pH, indice de crémage, stabilité au stockage…) ;
- L'évaluation des activités biologiques (antioxydante, antimicrobienne, antifongique) spécifiques à chaque émulsion ;

La modélisation moléculaire pour mieux comprendre les interactions entre les composés bioactifs et les émulsifiants à l'échelle nanométrique.

Partie I : Recherche bibliographique

I Les plantes médicinales :

Introduction :

Les plantes médicinales ont constitué depuis l'Antiquité une source essentielle de soins dans toutes les civilisations humaines. Bien avant l'apparition de la médecine moderne, les populations utilisaient les feuilles, les racines, les écorces et les fleurs de différentes plantes pour soulager la douleur, traiter les infections ou améliorer l'état général de santé. Ces savoirs étaient transmis oralement de génération en génération, et plusieurs de ces plantes occupent encore aujourd'hui une place importante dans les pharmacopées traditionnelles de nombreux pays(Petrovska, 2012).

Depuis le milieu du XXe siècle, l'intérêt pour la médecine par les plantes s'est accru avec la redécouverte de nombreux composés bioactifs naturels, jugés plus sûrs ou plus accessibles que les médicaments de synthèse. Ce renouveau scientifique a donné lieu à une floraison d'études portant sur les propriétés pharmacologiques des extraits de plantes, leurs mécanismes d'action, ainsi que leur potentiel thérapeutique contre des maladies chroniques telles que le cancer, le diabète, ou les maladies cardiovasculaires (Choudhary and Sekhon, 2011).

Plus récemment, la recherche sur les plantes médicinales s'est enrichie grâce aux progrès dans la phytochimie, la pharmacognosie et la biotechnologie, permettant non seulement d'isoler des substances actives spécifiques, mais aussi de comprendre leur synergie, biodisponibilité et sécurité d'emploi. L'intérêt mondial pour les produits naturels et les médecines alternatives continue de croître, en raison de leur accessibilité, de leur faible coût et de leur acceptabilité culturelle élevée(Ansari et al., 2025).

I.1 Définition :

Les plantes médicinales sont simplement des plantes qu'on utilise pour soigner ou prévenir certaines maladies. Depuis des siècles, les gens dans différents pays ont eu recours à ces plantes dans leur vie quotidienne pour soulager des douleurs, guérir

des blessures ou renforcer leur santé. Par exemple, la camomille pour calmer, ou le thym pour les infections respiratoires (Yuan et al., 2016).

Ce qui rend ces plantes utiles, ce sont les substances naturelles qu'elles contiennent. Ces substances peuvent agir comme des antibiotiques, des anti-inflammatoires ou encore des antioxydants(Pan et al., 2013). Aujourd'hui encore, même avec les médicaments modernes, beaucoup de gens utilisent les plantes, soit seules soit en complément des traitements classiques (Yuan et al., 2016).

Des recherches scientifiques récentes ont confirmé que certaines plantes contiennent des molécules actives très efficaces. Par exemple :

Les phénols et flavonoïdes ont des propriétés antioxydantes puissantes(Pan et al., 2013).

Les huiles essentielles peuvent combattre des microbes ou réduire l'inflammation(Raut and Karuppayil, 2014) .

Les plantes médicinales sont une ressource naturelle importante qu'on continue à utiliser et à étudier dans le monde entier (Yuan et al., 2016).

I.2 Classification des Plantes Médicinales :

La classification des plantes médicinales permet de mieux comprendre leurs propriétés, leurs usages thérapeutiques et leurs composés actifs. Elle aide les professionnels de la santé à orienter leurs choix en fonction des besoins des patients. Cette classification peut se faire selon plusieurs critères :

- **Selon la partie utilisée de la plante :**

Les plantes médicinales peuvent être classées en fonction de la partie végétale exploitée pour ses propriétés curatives :

Feuilles : par exemple, les feuilles de menthe ou de thym sont riches en huiles essentielles aux propriétés antiseptiques et antispasmodiques (Tuasha et al., 2018).

Fleurs : comme la camomille, très utilisée pour ses effets calmants et anti-inflammatoires.

Racines : le gingembre est connu pour ses effets anti-nauséeux, et la valériane pour ses propriétés sédatives.

Écorces : celle du saule blanc contient de la salicine, un précurseur de l'aspirine.

Graines/Fruits : le fenouil et l'anis sont souvent utilisés pour favoriser la digestion (Pan et al., 2013).

- **Selon leur effet pharmacologique :**

Cette classification s'appuie sur les effets physiologiques observés :

Antiseptiques : comme l'huile essentielle d'eucalyptus ou de lavande qui inhibent la croissance des micro-organismes.

Antispasmodiques : menthe poivrée et camomille, qui soulagent les douleurs digestives.

Anti-inflammatoires : curcuma (curcumine) et saule blanc (salicine).

Sédatifs et anxiolytiques : valériane, passiflore, mélisse, qui sont souvent utilisées en cas de troubles du sommeil ou d'anxiété (Yuan et al., 2016).

Diurétiques : pissenlit et ortie, qui aident à éliminer l'excès de liquides.

Expectorants : thym et réglisse, qui facilitent l'expulsion du mucus des voies respiratoires (Newman and Cragg, 2020).

- **Selon leur composition chimique principale :**

Les composés chimiques sont responsables des effets thérapeutiques des plantes :

Alcaloïdes : molécules actives puissantes présentes dans la belladone (atropine), le pavot (morphine), etc.

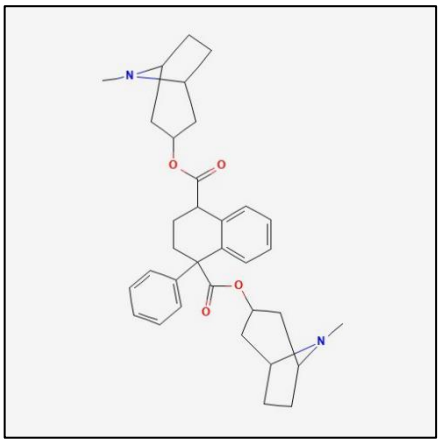


Figure I 1 : *structure chimique des alcaloïdes(pubchem)*

Huiles essentielles : mélanges complexes de composés volatils comme le cinéole (eucalyptus, romarin), le thymol (thym), ayant des propriétés antimicrobiennes (Raut and Karuppayil, 2014)

Flavonoïdes : molécules antioxydantes présentes dans le ginkgo biloba, le tilleul, le thé vert(Panche et al., 2016).

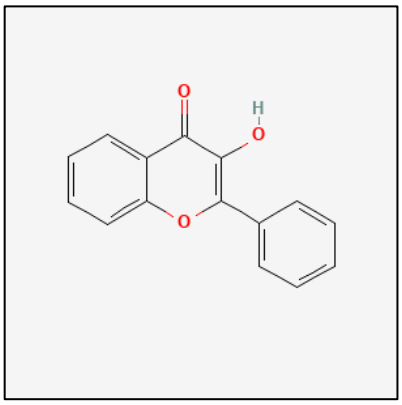


Figure I 2 : *structure chimique des flavonoïdes (pubchem)*

Tanins : substances astringentes utiles en cas de diarrhée ou d'inflammation des muqueuses (Okuda, 2005).

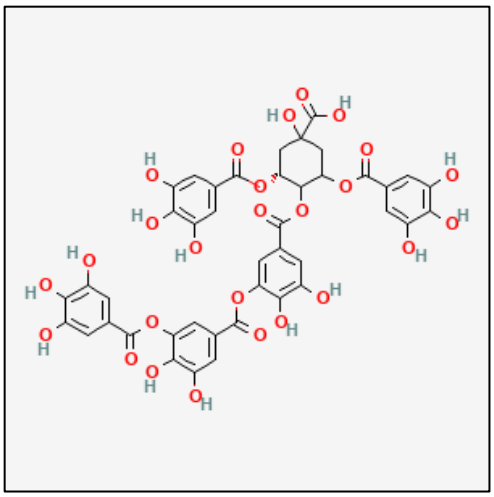


Figure I 3 : *structure chimique des tanins (pubchem)*

Saponines : aux propriétés expectorantes et immunostimulantes (présentes dans le ginseng, réglisse) (Sparg et al., 2004).

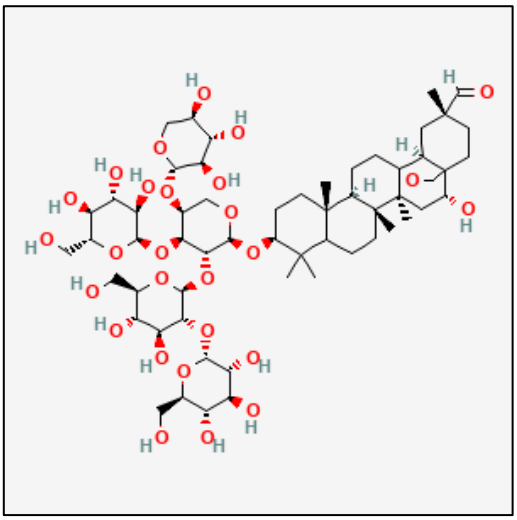


Figure I 4 : *structure chimique des saponines (pubchem)*

Cette classification est essentielle en phytothérapie car elle permet d'adapter les plantes aux besoins médicaux précis, tout en favorisant une meilleure sécurité d'emploi.

I.3 Histoire de l'usage thérapeutique des plantes :

L'utilisation des plantes à des fins médicinales est une pratique très ancienne, présente dans presque toutes les cultures du monde. Depuis la préhistoire, les humains ont observé la nature et ont appris à se soigner avec ce qu'elle leur offrait : feuilles, racines, graines, fleurs, écorces... Par exemple, des traces de plantes médicinales ont été retrouvées dans des tombes néandertaliennes datant de plus de 60 000 ans (Nunes et al., 2020).

Depuis très longtemps, des civilisations comme les Égyptiens, les Chinois, les Indiens et les Grecs utilisaient déjà beaucoup de plantes pour soigner différentes maladies. En Chine, la médecine avec les plantes était déjà bien avancée vers 2800 avant J.-C., avec un vieux livre appelé "Shennong Bencao Jing" qui parlait de plusieurs remèdes faits avec des plantes (Nunes et al., 2020).

En Europe, les connaissances sur les plantes passaient de génération en génération. Les moines aidaient beaucoup, car ils cultivaient des plantes médicinales dans les monastères. Au Moyen Âge, les plantes étaient très utilisées pour soigner les gens (Nunes et al., 2020).

Avec le temps, certaines connaissances se sont perdues, mais beaucoup ont été reprises et étudiées par la science moderne. Aujourd'hui, les plantes médicinales font l'objet de nombreuses recherches scientifiques. Des composés actifs extraits de ces plantes sont utilisés pour développer de nouveaux médicaments. Par exemple, le romarin est reconnu pour ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires (Andrade et al., 2018), tandis que les composés de l'olivier comme l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol présentent des effets bénéfiques contre les maladies cardiovasculaires et métaboliques (Bulotta et al., 2014).

Aujourd'hui, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80% de la population mondiale utilise encore les plantes médicinales comme source principale de soins de santé (World Health Organization, 2019). Cela montre l'importance actuelle et continue de ces pratiques.

I.4 Intérêt pharmacologique des des plantes (phénols, flavonoïdes, terpénoïdes…) :

Les plantes médicinales sont riches en composés bioactifs comme les phénols, flavonoïdes et terpénoïdes, qui leur donnent leurs propriétés pharmacologiques très intéressantes.

Les phénols sont des antioxydants puissants. Ils aident à neutraliser les radicaux libres dans le corps, ce qui protège les cellules contre le stress oxydatif et le vieillissement prématuré. Plusieurs études ont montré que les polyphénols comme l'acide rosmarinique ou l'oleuropéine ont aussi des effets anti-inflammatoires et anticancéreux (Allegra et al., 2020).

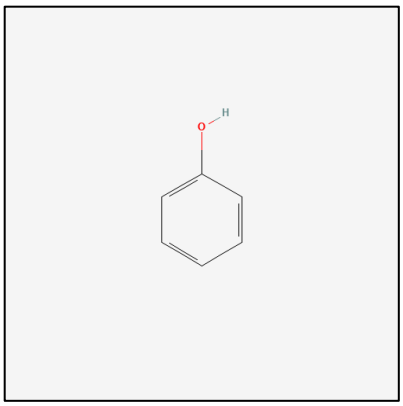


Figure I 5 : *structure de phénol*

Les flavonoïdes, présents en grande quantité dans les feuilles d'olivier et le romarin, ont des effets anti-inflammatoires, antiviraux, antiallergiques et cardioprotecteurs. Ils bloquent certaines enzymes impliquées dans les réactions inflammatoires et améliorent la circulation sanguine (Panche et al., 2016).

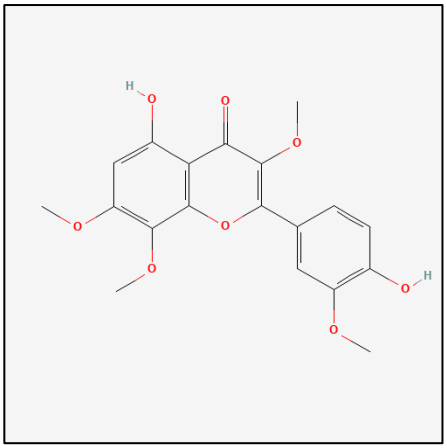


Figure I 6 : *structure de flavonoïde*

Les terpénoïdes, eux, sont connus pour leurs effets antimicrobiens et anticancéreux. Par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre, qu'on trouve dans l'huile essentielle de romarin, inhibent la croissance de plusieurs bactéries pathogènes et champignons (Jiang et al., 2011). Certains terpènes ont aussi montré un potentiel dans la régulation du métabolisme et la prévention des maladies chroniques (Blokhin et al., 2023).

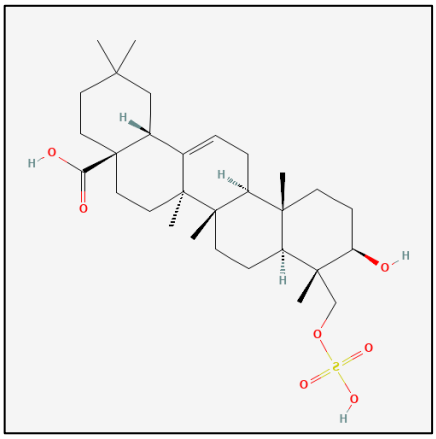


Figure I 7 *: structure de terpénoïde*

I.5 Exemples de plantes médicinales utilisées traditionnellement :

Depuis des siècles, les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans le traitement des maladies, surtout dans la médecine traditionnelle. Voici dix exemples de plantes largement utilisées dans différentes cultures pour leurs vertus thérapeutiques :

Rosmarinus officinalis (Romarin) : Utilisé pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Il est très prisé pour soulager les troubles digestifs et améliorer la circulation sanguine (Allegra et al., 2020b).

Thymus vulgaris (Thym) : Apprécié pour ses propriétés antiseptiques et expectorantes, notamment dans le traitement des infections respiratoires (Salehi et al., 2019).

Mentha piperita (Menthe poivrée) : Utilisée pour soulager les troubles gastro-intestinaux et les douleurs musculaires (McKay and Blumberg, 2006).

Matricaria chamomilla (Camomille) : Connue pour ses effets calmants, anti-inflammatoires et antispasmodiques (Gupta, 2010).

Zingiber officinale (Gingembre) : Employé pour ses propriétés anti-nauséeuses, anti-inflammatoires et stimulantes du système immunitaire (Mashhadi et al., n.d.).

Curcuma longa (Curcuma) : Contient de la curcumine, un puissant anti-inflammatoire naturel utilisé dans la prévention de maladies chroniques (Gupta et al., 2013).

Olea europaea (Feuilles d'olivier) : Reconnues pour leur effet antihypertenseur, antioxydant, et antidiabétique grâce à la présence de composés phénoliques comme l'oleuropéine (Talhaoui et al., 2015).

Allium sativum (Ail) : Possède des propriétés antimicrobiennes, hypocholestérolémiantes et cardioprotectrices (Rivlin, 2001).

Lavandula angustifolia (Lavande) : Utilisée en aromathérapie pour ses effets anxiolytiques et relaxants (Koulivand et al., 2013).

Dans le cadre de notre projet de fin d'études, nous avons choisi d'étudier Rosmarinus officinalis (romarin) et Olea europaea (feuilles d'olivier), afin d'analyser leurs composés bioactifs et d'évaluer leurs applications pharmacologiques à travers la formulation d'émulsions à visée thérapeutique.

II Les huiles essentielles :

Introduction :

Les huiles essentielles (HE) sont des substances naturelles extraites de plantes aromatiques, réputées pour leurs propriétés thérapeutiques, cosmétiques et industrielles. Elles se distinguent par leur composition riche en composés volatils qui confèrent aux plantes leurs arômes caractéristiques et leurs nombreuses vertus biologiques. Leur emploi remonte à l'Antiquité, notamment en Égypte, en Inde et en Chine, où elles étaient utilisées à des fins médicinales, religieuses et esthétiques (Bakkali et al., 2008).

II.2 Définition :

Une huile essentielle est un extrait concentré de composés aromatiques volatils obtenu à partir de plantes par des procédés physiques comme la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid ou l'extraction par solvants. Ces extraits proviennent de diverses parties de la plante : feuilles, fleurs, écorces, racines ou fruits. Leur composition chimique comprend principalement des monoterpènes, sesquitérpènes, phénols, aldéhydes, esters, cétones et oxydes (Burt, 2004).

II.3 Origine et extraction des huiles essentielles :

Les huiles essentielles proviennent de différentes parties des plantes aromatiques telles que les fleurs, les feuilles, les tiges ou les graines. Diverses techniques sont employées pour leur extraction, chacune influençant la qualité, la composition chimique et le rendement des extraits :

Hydrodistillation : cette méthode traditionnelle repose sur la vapeur d'eau pour libérer les composés volatils. Bien qu'efficace, elle peut entraîner la dégradation thermique de certains composants sensibles (Wang et al., 2025).

Expression à froid : utilisée principalement pour les zestes d'agrumes, elle permet de préserver les composés thermosensibles grâce à une extraction mécanique sans chaleur (Kabutey et al., 2023).

Extraction par solvants organiques : cette méthode emploie des solvants tels que l'éthanol ou l'hexane pour extraire un spectre plus large de composés, notamment ceux non volatils. Elle reste cependant critiquée pour la présence potentielle de résidus de solvants dans les extraits finaux (Katerina et al., 2023).

Extraction au CO_2 supercritique : technologie propre et performante, elle utilise du dioxyde de carbone sous état supercritique comme solvant pour extraire les huiles essentielles. Elle permet d'obtenir des extraits hautement concentrés, exempts de résidus toxiques, tout en maintenant l'intégrité des principes actifs (Cui et al., 2024; El Ahmadi et al., 2024).

Techniques assistées (ultrasons et micro-ondes) : des approches innovantes telles que l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes améliorent considérablement le rendement et réduisent le temps d'extraction. Leur combinaison a montré une synergie notable dans l'extraction de certaines huiles comme celle du thym (Gavrila et al., 2023).

II.4 Composition chimique des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes, principalement composés de monoterpènes, sesquiterpènes, phénols, aldéhydes, esters, cétones, etc. Par exemple, l'huile essentielle de romarin contient du cinéole, du camphre et de l'alpha-pinène (Burt, 2004). Ces composés confèrent aux huiles leurs propriétés biologiques.

II.5 Usages et applications des huiles essentielles :

Dans le domaine médical, elles sont reconnues pour leurs propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et même anticancéreuse

contribuant ainsi à la prévention et au traitement de nombreuses maladies aussi utilisées dans le traitement des infections la gestiondu stress, et la stimulation du système immunitaire (Bakkali et al., 2008).

Les huiles essentielles sont largement utilisées en cosmétique pour leurs propriétés apaisantes, régénératrices et antiseptiques. Par ailleurs, plusieurs huiles essentielles offrent des caractéristiques antimicrobiennes naturelles, aidant ainsi à protéger la peau des infections (Guzmán and Lucia, 2021).

Dans l'industrie agroalimentaire, elles sont employées comme conservateurs naturels en raison de leur capacité à inhiber la croissance des micro-organismes pathogènes, prolongeant ainsi la durée de conservation des produits alimentaires (Burt, 2004).

Parmi les espèces végétales les plus étudiées pour leurs propriétés thérapeutiques, le romarin (Rosmarinus officinalis) et les feuilles d'olivier (Olea

europaea) se distinguent par la richesse de leur composition phytochimique et la diversité de leurs effets biologiques.

Le romarin est particulièrement reconnu pour ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, grâce à des composés tels que l'acide rosmarinique, le carnosol et le cinéole (Nieto et al., 2018).

De leur côté, les feuilles d'olivier sont riches en polyphénol et flavonoïde, qui offrent des effets antioxydants puissants et des protections contre le stress oxydatif et les maladies cardiovasculaires (Benavente-García et al., 2000).

II Romarin (Rosmarinus officinalis L) :

III.1 Définition du Romarin (Rosmarinus officinalis L.) :

Le romarin (Rosmarinus officinalis L. où "L." renvoie au botaniste Carl Linné qui a classifié l'espèce) est une plante aromatique et médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, originaire de la région méditerranéenne. Aujourd'hui, il est cultivé mondialement en raison de ses multiples applications dans les domaines médicinaux, cosmétiques et agroalimentaires (Nieto et al., 2018).



Figure I 7 : *Photo du Rosmarinus officinalis*

III.2 Classification botanique du romarin :

Le romarin est classé comme suit selon APGIII (2009) (Haston et al., 2009)

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes

- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Tubiflorales
- Sous ordre : Lamiales
- Familles : Lamiaceae
- Genre : Rosmarinus
- Espéce : Rosmarinus officinalis. L

III.3 Description des feuilles du romarin (forme et composition chimique) :

Les feuilles de romarin, typiques des plantes méditerranéennes, sont opposées, sessiles, étroites et lancéolées, mesurant entre 2 et 3 cm de long. La face supérieure est vert foncé et rugueuse, tandis que la face inférieure est grisâtre et densément couverte de poils, ce qui permet de limiter les pertes en eau et de protéger la plante contre la chaleur. Anatomiquement, elles contiennent un mésophylle bifacial bien structuré et de nombreuses Glandes sécrétoires responsables de la production des composés volatils. Elles sont particulièrement riches en acide rosmarinique (jusqu'à 2,83 %), en carnosol (jusqu'à 4,6 %), ainsi qu'en diterpènes et flavonoïdes, qui contribuent fortement aux effets biologiques du romarin (Haston et al., 2009).



Figure I 8 : *Photo des feuilles de romarin*

III.1 Définition de l'huile essentielle de romarin :

Son huile essentielle, définie par la Pharmacopée Européenne comme un produit odorant, généralement complexe, obtenu à partir de matière végétale par

distillation à la vapeur, distillation sèche ou procédé mécanique sans chauffage, est séparée de l'eau sans altération de sa composition chimique. Dans le cas du romarin, cette huile essentielle est principalement extraite des sommités fleuries, mais les feuilles représentent également une source importante de composés volatils (Haston et al., 2009).

Ce liquide aromatique et volatil est particulièrement riche en molécules bioactives telles que le 1,8-cinéole, le camphre, l'α-pinène et l'acide carnosique, qui lui confèrent des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et neuroprotectrices (Haston et al., 2009).

La composition chimique et la qualité de l'huile essentielle varient selon plusieurs facteurs, notamment le climat, l'altitude, le stade de floraison et la méthode d'extraction utilisée (distillation traditionnelle, extraction par solvants organiques ou techniques modernes telles que l'ultrasonication) (Nieto et al., 2018).

Grâce à ses propriétés biologiques exceptionnelles, l'huile essentielle de romarin est utilisée comme conservateur naturel dans l'industrie alimentaire, comme agent de soin en cosmétique pour favoriser le renouvellement cellulaire, et en phytothérapie pour stimuler la circulation sanguine, renforcer le système immunitaire et protéger le système digestif (Nieto et al., 2018).

De plus, des procédés industriels permettent aujourd'hui de produire des extraits de romarin désodorisés et décolorés, augmentant ainsi leur utilisation comme additifs naturels dans divers produits alimentaires(Nieto et al., 2018).

III.5 La composition chimique du romarin :

Le romarin (Rosmarinus officinalis) est une plante aromatique reconnue pour sa richesse en composés bioactifs, lui conférant des propriétés biologiques remarquables, notamment antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antifongiques. Grâce à ces effets, il est largement utilisé dans les industries pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique en raison de ses nombreuses applications thérapeutiques et fonctionnelles (Boutabia et al., 2016).

L'huile essentielle représente le principal constituant du romarin et se distingue par sa forte concentration en molécules bioactives. Les études ont identifié plusieurs composés majeurs dans cette huile essentielle, parmi lesquels :

- 1,8-Cinéole (32,59 % – 72,91 %) (Laina et al., 2024).
- Camphre (4,46 % – 17,16 %) (Laina et al., 2024).

- α-Pinène (3,39 % – 3,41 %) (Laina et al., 2024).
- Bornéol (4,18 % – 9,73 %) (Laina et al., 2024).
- Verbénone, Limonène et Terpinène-4-ol (Boutabia et al., 2016).

En complément des huiles essentielles, le romarin est également une source importante de composés phénoliques, qui jouent un rôle fondamental dans ses propriétés thérapeutiques. Parmi eux :

- L'acide carnosique et le carnosol, puissants antioxydants et anti-inflammatoires, essentiels pour la protection du système nerveux et la prévention des maladies neurodégénératives(Laina et al., 2024).
- L'acide rosmarinique, reconnu pour ses effets immunostimulants et anti-inflammatoires, ainsi que son rôle clé dans la protection du système digestif (Laina et al., 2024).

Le romarin contient également des flavonoïdes et terpènes, qui apportent des bienfaits complémentaires :

- Apigénine & Lutéoline (Laina et al., 2024).
- Acide ursolique (Laina et al., 2024).
- β-Caryophyllène (Laina et al., 2024).

La composition biochimique du romarin varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment la région géographique, les conditions environnementales et les méthodes d'extraction. Par exemple, les plantes cultivées dans un climat sec et en altitude présentent une teneur plus élevée en 1,8-Cinéole. De plus, la distillation à la vapeur affecte la concentration des composés phénoliques, tandis que l'extraction par solvants organiques ou ultrasons permet une meilleure récupération de ces composés (Boutabia et al., 2016).

Enfin, le stade de développement du romarin influence directement sa composition chimique. Il atteint sa concentration optimale en molécules actives durant la phase de floraison, ce qui en fait le moment idéal pour la récolte et l'extraction (Boutabia et al., 2016).

Grâce à cette richesse biochimique, le romarin est aujourd'hui considéré comme un ingrédient clé dans les formulations naturelles, utilisé autant pour ses vertus thérapeutiques que pour ses applications industrielles.

III.6 Les propriétés biologiques des huiles essentielles de romarin :

L'huile essentielle de romarin (Rosmarinus officinalis) est riche en composés naturels actifs qui lui confèrent des propriétés biologiques intéressantes, notamment dans les domaines médicinaux, pharmaceutique et agroalimentaire. Parmi les plus étudiées, on retrouve ses activités antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, ainsi que ses effets activité antitumorale et neuroprotecteurs. Ces effets sont principalement dus à la présence de molécules comme le 1,8-cinéole, le camphre, l'α-pinène, le carnosol et l'acide carnosique, qui agissent de manière complémentaire pour offrir à cette huile un large potentiel d'application naturelle.

III.6.1 Activité antioxydante :

L'huile essentielle de romarin est connue pour sa forte activité antioxydante, principalement attribuée à la présence de composés phénoliques tels que le 1,8-cinéole, le camphre et l'alpha-pinène. Ces composés agissent comme des capteurs efficaces de radicaux libres, contribuant ainsi à réduire les dommages causés par le stress oxydatif dans les systèmes biologiques. De plus, des substances actives telles que le carnosol, l'acide carnosique et l'acide rosmarinique renforcent la capacité antioxydante de l'huile, en désactivant les espèces réactives de l'oxygène (ROS) responsables des lésions cellulaires. Des études ont montré que l'huile essentielle de romarin possède une grande capacité à inhiber les radicaux libres, avec des résultats de tests DPPH proches de ceux du BHT (butylhydroxytoleune), un antioxydant de référence. Ces propriétés font de l'huile essentielle de romarin un candidat prometteur pour des applications pharmaceutiques, alimentaires et de prévention des maladies chroniques liées au stress oxydatif (Nieto et al., 2018).

III.6.2 Activité antimicrobienne :

L'huile essentielle de romarin présente une activité antimicrobienne significative contre une large gamme de micro-organismes, y compris des bactéries à Gram positif, Gram négatif, ainsi que certaines souches fongiques. Les principaux responsables de cet effet sont encore une fois le 1,8-cinéole, le camphre et l'alpha-pinène, connus pour leurs effets perturbateurs sur la membrane cellulaire des micro-organismes. Ces composés augmentent la perméabilité membranaire, entraînant une fuite du contenu cellulaire et la mort des cellules microbiennes. Plusieurs études ont démontré que l'huile essentielle de romarin inhibe efficacement la croissance de pathogènes tels que Staphylococcus aureus, Escherichia coli, et Candida

albicans. Grâce à cette action, elle est envisagée comme une alternative naturelle prometteuse aux conservateurs synthétiques dans les domaines pharmaceutiques, cosmétique et agroalimentaire (Jiang et al., 2011).

III.6.4 Activité anti-inflammatoire :

L'huile essentielle de romarin possède une activité anti-inflammatoire remarquable grâce à la présence de plusieurs composés bioactifs tels que le carnosol, l'acide carnosique et le 1,8-cinéole. Ces molécules agissent en modulant les voies de signalisation inflammatoires, notamment en inhibant l'expression de cytokines pro-inflammatoires comme le TNF-α, l'IL-1β et l'IL-6. De plus, l'huile essentielle de romarin bloque l'activation du facteur de transcription NF-κB, connu pour son rôle central dans le déclenchement des réponses inflammatoires. Cette action permet de réduire l'inflammation à différents niveaux, ce qui rend l'huile essentielle de romarin intéressante pour le traitement complémentaire de diverses pathologies inflammatoires, y compris les maladies neurodégénératives. Des études expérimentales ont confirmé son efficacité en diminuant les marqueurs inflammatoires chez les modèles animaux et cellulaires, positionnant ainsi cette huile comme un agent thérapeutique naturel prometteur (Habtemariam, 2016).

III.6.4 L'activité antitumorale :

L'huile essentielle de romarin, ainsi que ses composés phénoliques majeurs tels que le carnosol, l'acide carnosique et l'acide rosmarinique, ont démontré une activité antitumorale significative. Ces molécules agissent à différents niveaux pour inhiber la progression des cellules cancéreuses : elles perturbent le cycle cellulaire, bloquent la prolifération des cellules tumorales et induisent l'apoptose (mort cellulaire programmée), tout en épargnant les cellules saines.

Des études in vitro ont mis en évidence une réduction marquée de la viabilité de diverses lignées cancéreuses, notamment celles du sein, du côlon, du foie et de la leucémie. Par ailleurs, l'effet antioxydant de ces composés contribue à protéger l'ADN contre les dommages oxydatifs, réduisant ainsi le risque de mutations et de formation de tumeurs.

Grâce à ces mécanismes d'action multiples, le romarin est considéré comme un agent naturel prometteur pour la prévention et l'accompagnement thérapeutique de certains cancers. Néanmoins, des études cliniques supplémentaires sont nécessaires pour valider ces effets chez l'humain(Andrade et al., 2018).

Au-delà de ses effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et antitumoraux, l'huile essentielle de romarin présente d'autres propriétés bénéfiques bien documentées. Elle agit notamment comme un insecticide naturel(Andrade et al., 2018b), exerce un effet neuroprotecteur (Habtemariam, 2016), et contribue à l'amélioration des fonctions cognitives, telles que la mémoire et la concentration(Habtemariam, 2016). Elle possède également des effets anxiolytiques et analgésiques, aidant à réduire le stress (Andrade et al., 2018b), soulager certaines douleurs (Uritu et al., 2018), Sur le plan digestif, elle stimule les sécrétions gastriques, facilitant ainsi la digestion(Andrade et al., 2018), et elle favorise la circulation sanguine grâce à ses propriétés tonifiantes (Andrade et al., 2018).

Grâce à sa composition riche et variée, l'huile essentielle de romarin se distingue par une polyvalence exceptionnelle. Ses effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires, neuroprotecteurs et répulsifs contre les insectes font d'elle un ingrédient naturel de choix pour des applications thérapeutiques, cosmétiques, agroalimentaires et environnementales

IV. Les feuilles d'olivier :

IV.1 Définition de l'arbre d'olivier :

L'olivier (Olea europaea L.) est l'un des arbres cultivés les plus anciens au monde. Son origine remonterait à la région méditerranéenne, notamment à l'est du bassin méditerranéen et à l'Italie. Aujourd'hui, il est largement cultivé sur plus de 9 millions d'hectares, principalement en Espagne, en Italie, en Grèce, en Turquie et au Maroc, avec des exploitations plus petites aux États-Unis et en Australie

L'arbre est principalement utilisé pour la production d'huile d'olivier, mais les opérations de récolte et de taille génèrent une grande quantité de feuilles, considérées comme un sous-produit abondant (Espeso et al., 2021).



Figure I 9 : *Photo de l'arbre d'olivier*

IV.2 Classification botanique :

L'olivier appartient à la famille des Oléacées. Il appartient au genre Olea, qui regroupe environ 30 espèces réparties à travers le monde. En région méditerranéenne, l'espèce principalement cultivée est Olea europaea, laquelle comprend deux formes : l'oléastre, ou olivier sauvage, et l'olivier cultivé. La classification botanique de cet arbre est la suivante (Ghedira, 2008):

- Règne : Plantae
- Embranchement : Magnoliophyta
- Sous-embranchement : Magnoliophytina
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Dialypétales
- Ordre : Lamiales
- Famille : Oléacée
- Genre : Olea
- Espèce : Olea europea L
- Sous-espèce : O. europea subsp. Europaea var. sylvestris

IV.3 Description des feuilles d'olivier (forme et composition chimique) :

Les feuilles d'olivier ont une forme lancéolée, des bords entiers, une face supérieure vert foncé et une face inférieure gris argenté, parfois recouverte d'une fine couche cireuse. Elles représentent environ 25 % de la masse sèche des résidus de taille.

Sur le plan chimique, elles contiennent des composés lignocellulosiques, notamment 5,7 % de cellulose, 3,8 % d'hémicellulose et 39,6 % de lignine. Elles sont aussi riches en composés phénoliques bioactifs, surtout l'oleuropéine (jusqu'à 24,5 %), ainsi que l'hydroxytyrosol, des flavones, des flavonols et des acides phénoliques. Ces molécules sont responsables de propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires, ce qui rend les feuilles d'olivier prometteuses pour les industries alimentaire et pharmaceutique (Espeso et al, 2021).



Figure I 10 : *Photo des feuilles d'olivier*

IV.4 Définition de l'huile essentielle des feuilles d'olivier :

L'huile essentielle des feuilles d'olivier est une huile aromatique obtenue par distillation à la vapeur ou à l'eau des feuilles de l'arbre Olea europaea L. Cette huile contient un mélange complexe de composés volatils, dont la composition varie selon le cultivar et les conditions de culture. Dans une étude menée sur trois variétés portugaises (Cobrançosa, Madural et Verdeal Transmontana), 31 composés ont été identifiés, parmi lesquels le (E)-β-damascénone, le nonanal, le β-caryophyllène et l'α-ionone.

Cette huile possède des propriétés biologiques intéressantes. Ses composants ont montré des effets électrophysiologiques sur la mouche de l'olive (Bactrocera oleae), suggérant un potentiel effet répulsif. Ainsi, l'huile essentielle des feuilles d'olivier pourrait être valorisée comme répulsif naturel ou utilisée dans des stratégies de lutte biologique, tout en constituant un sous-produit à forte valeur ajoutée pour les industries agricoles et pharmaceutiques (Malheiro et al., 2015).

Les feuilles d'olivier sont une ressource naturelle riche, avec une structure et une composition intéressante. Leur huile essentielle possède des propriétés biologiques utiles, ce qui lui donne un potentiel d'application dans l'agriculture et la pharmacie (Elhrech et al., 2024).

La valorisation de ces feuilles s'inscrit donc dans une démarche durable et innovante, La composition chimique des feuilles d'olivier varie en fonction de nombreux facteurs : la variété, conditions climatiques, âge des plantations ainsi que l'époque de récolte (Ramírez et al., 2022).

IV.5 La composition chimique :

La compréhension des propriétés biologiques des feuilles d'olivier passe d'abord par l'étude de leur composition chimique. Ces feuilles renferment une variété de constituants tels que les polyphénols, les fibres, les protéines, les lipides, ainsi que des minéraux essentiels, dont la teneur peut varier selon plusieurs facteurs (Zaier et al., 2021).

Les tableaux suivants présentent la composition détaillée des principaux constituants, y compris les composés de base, les acides aminés, les minéraux, les composés phénoliques et les flavonoïdes, tels que rapportés par (Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024).

Tableau I 1 : Composés de base dans les feuilles d'olivier (Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024) :

Composé	Concentration approximative (%)
Eau	50 – 65
Fibres	20 – 30
Protéines	5 – 8
Lipides (huiles)	1 – 2

Glucides	5 – 15
Minéraux	Variable

Tableau I 2 : Acides aminés dans les feuilles d'olivier (Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024) :

Acide aminé	Concentration approximative (mg/g matière sèche)
Acide glutamique	10 – 20
Acide aspartique	5 – 15
Arginine	3 – 8
Valine	2 – 6
Lysine	1 – 5
Sérine	2 – 6
Thréonine	1 – 4

Tableau I 3 : Minéraux dans les feuilles d'olivier (Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024) :

Minéral	Concentration approximative (mg/100 g matière sèche)
Calcium (Ca)	400 – 600
Potassium (K)	300 – 500
Magnésium (Mg)	100 – 200
Fer (Fe)	10 – 30
Cuivre (Cu)	2 – 5
Zinc (Zn)	1 – 4
Manganèse (Mn)	1 – 3

Tableau I 4 : Composés phénoliques dans les feuilles d'olivier(Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024) :

Composé phénolique	Concentration approximative (%) ou (mg/g)
Oleuropéine (Oleuropein)	5 – 12 % (50 – 120 mg/g)
Hydroxytyrosol	0.5 – 2 % (5 – 20 mg/g)
Acide férulique (Ferulic acid)	0.1 – 0.5 %
Acide caféique (Caffeic acid)	0.2 – 0.7 %
Acide gallique (Gallic acid)	0.05 – 0.2 %

Tableau I 5 : Flavonoïdes dans les feuilles d'olivier(Borghini et al., 2024) et (Borghini et al., 2024) :

Flavonoïde	Concentration approximative (%) ou (mg/g)
Quercétine (Quercetin)	0.1 – 1.5 % (1 – 15 mg/g)
Kaempférol (Kaempferol)	0.05 – 0.5 %
Isorhamnétine (Isorhamnetin)	0.05 – 0.3 %
Lutéoline (Luteolin)	0.1 – 0.4 %
Hespéridine (Hesperidin)	0.01 – 0.1 %

La composition biochimique des feuilles d'olivier varie en fonction de plusieurs facteurs, tels que le cultivar, la région de culture, le climat, ainsi que la méthode et les conditions d'extraction. Par exemple, les feuilles issues de variétés méditerranéennes spécifiques, cultivées dans des zones ensoleillées et sur des sols calcaires, présentent des niveaux significativement plus élevés en oléuropéine et hydroxytyrosol (Borghini et al., 2024).

De plus, la méthode d'extraction influence fortement la récupération des composés phénoliques. L'extraction par solvant aqueux ou hydroalcoolique sous des conditions optimisées (température, durée, pH) permet d'obtenir des rendements plus élevés en composés bioactifs, notamment en flavonoïdes et acides phénoliques. (Ibrahim et al, 2016).

Le stade de récolte est également un facteur déterminant : les feuilles jeunes ou récoltées en début de saison présentent une concentration plus riche en polyphénols et en antioxydants, ce qui les rend plus efficaces pour un usage thérapeutique ou nutritionnel (Ibrahim et al, 2016).

Grâce à cette diversité de composés bioactifs, les feuilles d'olivier sont aujourd'hui reconnues comme un ingrédient prometteur dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire, valorisé à la fois pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

IV.6 Les propriétés biologiques des huiles essentielles de feuilles d'olivier :

L'huile essentielle des feuilles d'olivier (Olea europaea) est particulièrement riche en composés naturels bioactifs, notamment les polyphénols tels que l'oléuropéine, l'hydroxytyrosol, le tyrosol, les flavonoïdes (luttéoline, apigénine), ainsi que des acides triterpéniques comme l'acide maslinique et l'acide oléanolique. Cette composition lui confère des propriétés biologiques puissantes, largement documentées dans les domaines médicinaux, nutraceutiques, cosmétiques et agroalimentaires. Parmi les plus étudiées, on distingue les activités antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antitumorale, neuroprotectrice et même hypoglycémiante et hypocholestérolémiante.

L'oléuropéine, molécule prédominante dans les feuilles d'olivier, agit de manière synergique avec l'hydroxytyrosol et les autres flavonoïdes pour conférer à cette huile une efficacité remarquable contre le stress oxydatif, l'inflammation chronique et les déséquilibres métaboliques.

IV.6.1 L'activité antioxydante :

L'activité antioxydante de l'huile essentielle des feuilles d'olivier reposent principalement sur sa forte teneur en composés phénoliques capables de neutraliser efficacement les espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. L'oléuropéine et l'hydroxytyrosol ont montré une capacité supérieure de piégeage des radicaux libres, comparable voire supérieure à celle de certains antioxydants de synthèse (Selim et al., 2022).

IV.6.2 L'activité antimicrobienne :

Par ailleurs, cette huile affiche une activité antimicrobienne significative contre un large spectre de bactéries (Gram positif et Gram négatif) et de champignons pathogènes. Les composés actifs altèrent l'intégrité membranaire des micro-organismes, réduisant leur croissance et leur viabilité. Ces propriétés rendent l'huile essentielle des feuilles d'olivier intéressante pour des applications comme agent de conservation naturel dans les industries alimentaires et cosmétiques (Selim et al., 2022).

IV.6.3 L'activité anti-inflammatoire :

Plusieurs études ont montré que l'oléuropéine possède des propriétés anti-inflammatoires en inhibant l'expression des cytokines pro-inflammatoires (TNF-α, IL-6, IL-1β) via la modulation de voies de signalisation clés, notamment NF-κB.

Parallèlement, ce composé active les défenses antioxydantes endogènes en stimulant le facteur Nrf2. Grâce à ce double mécanisme, l'oléuropéine contribue à réduire l'inflammation systémique, ce qui en fait un candidat prometteur pour la prévention des maladies métaboliques (Romero-Márquez et al., 2023).

IV.6.4 L'activité neuroprotecteur :

Concernant les effets neuroprotecteurs, les polyphénols de la feuille d'olivier ont montré une capacité à réduire la formation de plaques β-amyloïdes et d'agrégats de protéine Tau, principaux marqueurs de la maladie d'Alzheimer. De plus, ils favorisent l'autophagie, rétablissent l'équilibre protéostatique et réduisent le stress oxydatif neuronal, positionnant ainsi l'huile essentielle des feuilles d'olivier comme un agent prometteur en prévention cognitive (Romero-Márquez et al., 2023).

IV.6.5 L'activité antitumorale :

Des études in vitro ont mis en évidence les propriétés anticancéreuses de l'huile essentielle des feuilles d'olivier. Ces effets se manifestent par la capacité à :

-Freiner la prolifération des cellules cancéreuses.

-Déclencher leur apoptose (mort cellulaire programmée).

-Protéger l'ADN contre les altérations causées par le stress oxydatif.

Ces actions sont principalement dues à la présence de composés actifs comme l'oléuropéine, l'hydroxytyrosol et l'acide maslinique, ce qui confirme le rôle prometteur de cette huile en tant qu'adjuvant naturel dans la prévention et le soutien au traitement de certains types de cancer (Selim et al., 2022).

L'huile essentielle des feuilles d'olivier possède d'autres propriétés bénéfiques, comme une activité hypoglycémiante en améliorant la sensibilité à l'insuline, une activité hypocholestérolémiante en modulant le métabolisme lipidique, ainsi qu'un potentiel dans le renforcement du système immunitaire. Ces vertus font de cette huile un ingrédient fonctionnel d'un grand intérêt pour des applications naturelles en santé humaine, en nutrition préventive et en formulation pharmaceutique innovante(Romero-Márquez et al., 2023) (Selim et al., 2022).

Les feuilles d'olivier sont une ressource naturelle précieuse, riches en composés actifs comme l'oléuropéine, l'hydroxytyrosol et différents flavonoïdes. Grâce à ces substances, l'huile extraite des feuilles possède plusieurs bienfaits pour la santé : elle est antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, et elle pourrait aussi aider à prévenir certains cancers et à protéger le système nerveux. Avec toutes ces propriétés, cette huile naturelle représente une option prometteuse pour des usages dans les domaines médical, alimentaire et pharmaceutique.

IV. Les émulsions :

Introduction :

Les émulsifiants jouent un rôle essentiel dans plusieurs secteurs comme l'alimentatin, la cosmétique et la médecine. Ils permettent de stabiliser les émulsions et d'obtenir des textures spécifiques ou des effets fonctionnels désirés. Les gouttelettes formées dans une émulsion peuvent interagir avec divers composés pour former de nouvelles structures, faciliter la diffusion des principes actifs ou encore améliorer le transport de substances hydrophobes(Teixé-Roig et al., 2023).

L'étude des émulsifiants est donc indispensable pour garantir la stabilité et l'efficacité des produits finis. Une émulsion typique est composée d'une phase aqueuse, d'une phase huileuse, et d'un agent tensioactif. Les procédés d'émulsification les plus utilisés incluent notamment les systèmes complexes de type eau-dans-huile-dans-eau (W/O/W) (Perez-Moral et al., 2014).

IV.1 Définition :

Une émulsion est un mélange constitué de petites gouttelettes d'un liquide dispersées dans un autre liquide avec lequel il ne se mélange pas naturellement, comme l'huile et l'eau. Ces deux liquides sont dits immiscibles. Pour stabiliser cette dispersion et éviter que les gouttelettes ne se regroupent et que les phases se séparent, on utilise des substances appelées émulsifiants. Ces molécules amphiphiles s'installent à l'interface entre les deux liquides, réduisent la tension interfaciale, et permettent ainsi de maintenir une répartition homogène et stable du mélange pendant un certain temps (Ojeda, n.d.).

IV.2 Composition :

Dans toute émulsion, on distingue deux phases principales : la phase dispersée et la phase continue, qui jouent un rôle fondamental dans les propriétés et la stabilité du système.

IV.2.1 La phase dispersée :

Correspond aux gouttelettes fines qui sont réparties dans l'autre phase. Elle contient souvent des substances actives, comme des huiles essentielles, des vitamines ou des principes médicamenteux. Elle est donc directement liée aux effets sensoriels ou thérapeutiques de l'émulsion. La stabilité de ces gouttelettes est cruciale pour la qualité finale du produit (Akbari and Nour, 2018).

IV.2.2 La phase continue :

La phase continue, quant à elle, est le milieu dans lequel ces gouttelettes sont dispersées. Elle influence fortement la viscosité, la texture et le comportement global de l'émulsion. Elle joue aussi un rôle clé dans l'interaction de l'émulsion avec l'environnement externe, notamment dans les applications pharmaceutiques et cosmétiques (Akbari and Nour, 2018).

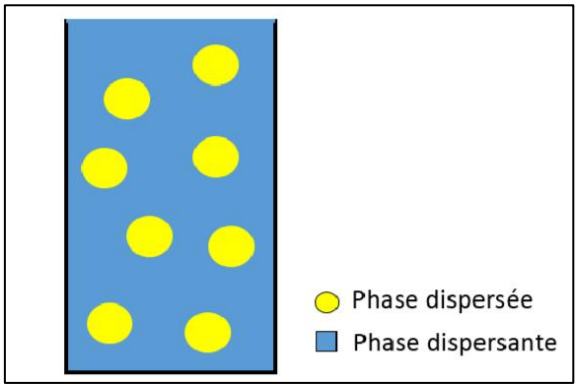


***Figure I 11** : Représentation schématique d'une émulsion*(Caullet and Santos, n.d.)**.**

V.2.3 Les émulsifiants (agents tensioactifs)

- **Définition :**

Ce sont des molécules amphiphiles utilisées pour stabiliser l'émulsion. Elles agissent en réduisant la tension interfaciale entre les deux phases (aqueuse et huileuse), ce qui empêche l'agglomération ou la séparation des gouttelettes avec le temps. Les émulsifiants peuvent être d'origine naturelle (comme la lécithine) ou synthétique (comme les polysorbates) (Caullet and Santos, n.d.).

Les tensioactifs ont une structure particulière composée d'une tête hydrophile qui aime l'eau et d'une queue hydrophobe qui préfère l'huile. Grâce à ça, elles peuvent se mettre naturellement entre l'eau et l'huile et les aider à bien se mélanger.

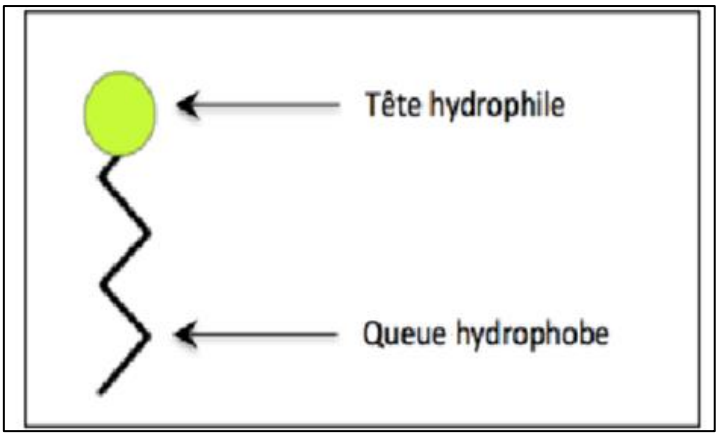


Figure I 12 : *Schéma structural d'un tensioact*(Caullet and Santos, n.d.).

Lors du mélange, ils entourent les gouttelettes de la phase dispersée et empêchent leur regroupement. Ils sont essentiels non seulement pour former l'émulsion, mais aussi pour la maintenir stable dans le temps. Leur orientation dépend du type d'émulsion : dans une émulsion huile-dans-eau, la tête hydrophile est tournée vers l'extérieur ; dans une émulsion eau-dans-huile, c'est l'inverse (Caullet and Santos, n.d.).

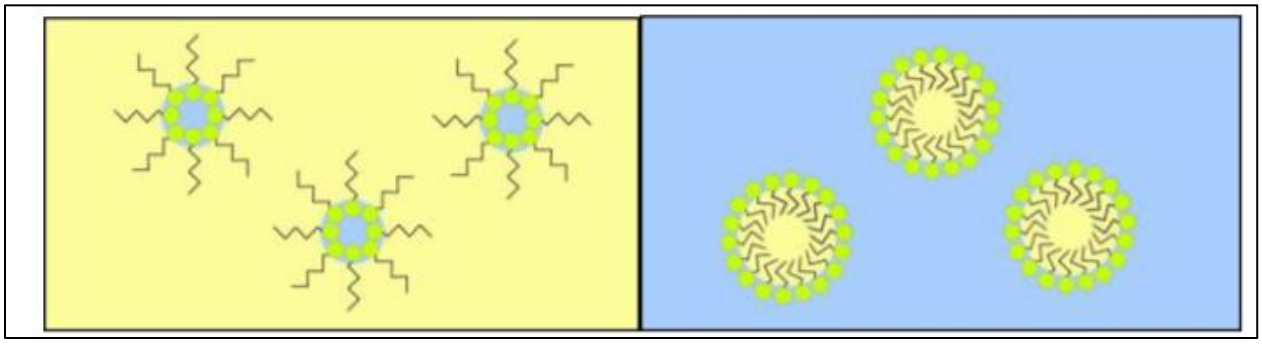


Figure I 13 : *Schéma de l'orientation des tensioactifs dans deux types d'émulsion*(Caullet and Santos, n.d.).

➢ **Rôle physique dans la stabilisation des émulsions :**

Le rôle physique principal des surfactants dans une émulsion est de réduire la tension interfaciale entre la phase aqueuse et la phase huileuse, permettant ainsi une dispersion fine et stable des gouttelettes. Lorsqu'un surfactant est ajouté à un système eau/huile, il s'oriente à l'interface et empêche la coalescence des gouttelettes d'huile, stabilisant ainsi l'émulsion à court et long terme (Otzen, 2017).

Les biosurfactants, tels que ceux à base d'acides aminés ou de lipopeptides, ont été démontrés comme capables de former des micelles stables, dont la taille et la forme

sont affectées par le pH, la température et la concentration. Par exemple, un biosurfactant à base d'acide glutamique montre une capacité de formation de micelles à différents pH, un paramètre clé dans la formulation d'émulsions stables à base de substances naturelles comme les huiles essentielles (Mayer et al., n.d.).

➢ **Propriétés biologiques des tensioactifs :**

Outre leur rôle physique, les biosurfactants possèdent des propriétés biologiques uniques, notamment des activités antimicrobiennes, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses. Ces propriétés leur permettent d'avoir des applications biomédicales étendues, par exemple dans la délivrance ciblée de

médicaments ou la formulation de crèmes thérapeutiques à base d'émulsions(Wang et al., 2024).

- ***Interaction avec les membranes cellulaires :***

Les tensioactifs ont la capacité de s'insérer dans les membranes cellulaires, notamment dans la bicouche lipidique. Cette insertion provoque des modifications de la fluidité, de l'épaisseur et de la perméabilité de la membrane, facilitant ainsi le passage des composés actifs à l'intérieur des cellules ou influençant les protéines membranaires. Ces interactions sont précieuses pour améliorer l'absorption des médicaments ou perturber les cellules microbiennes (Otzen, 2017).

- ***Effet sur les cellules microbiennes :***

Les études ont montré que les tensioactifs modifient les propriétés de surface des cellules microbiennes, telles que l'hydrophobicité et le potentiel zêta, ce qui influence l'adhésion bactérienne ou la biodégradation des polluants. Cela les rend utiles dans les applications environnementales, comme la bioremédiation des déversements pétroliers ou l'élimination des contaminants organiques (Kaczorek et al., 2018).

- ***Effet antimicrobien et délivrance des médicaments :***

Les tensioactifs sont utilisés dans le domaine médical pour améliorer la biodisponibilité des composés hydrophobes. Certains types possèdent également une activité antibactérienne et antivirale, ce qui les rend prometteurs comme agents thérapeutiques alternatifs, notamment face à la montée des résistances aux antibiotiques (Wang et al., 2024).

- ***Dommages aux membranes bactériennes :***

Certains tensioactifs provoquent des dommages structuraux aux membranes des bactéries, entraînant la fuite du contenu cellulaire tel que les ions et les protéines. Cette

perturbation affecte l'équilibre ionique et le métabolisme, ce qui conduit souvent à la mort cellulaire. Ils sont ainsi utilisés dans la composition des désinfectants et des antibiotiques naturels (Kaczorek et al., 2018).

- ***Formation de micelles et amélioration de la solubilité :***

Lorsqu'ils atteignent la concentration micellaire critique (CMC), les tensioactifs forment des micelles : des agrégats sphériques capables d'encapsuler les composés hydrophobes en leur centre. Ce mécanisme permet d'améliorer la solubilité des substances peu solubles dans l'eau, augmentant ainsi leur efficacité thérapeutique et facilitant leur absorption (Mayer et al., n.d.).

Dans le cadre d'une émulsion à base de romarin et de feuilles d'olivier, l'intégration d'un biosurfactant permet non seulement de stabiliser l'émulsion, mais aussi de renforcer ses effets biologiques grâce à une meilleure biodisponibilité des composés actifs. Wang et al. Ont démontré que certains biosurfactants favorisent la perméabilité membranaire des cellules pathogènes, augmentant ainsi l'efficacité des substances actives incorporées dans l'émulsion (Wang et al., 2024).

➢ **Importance dans le domaine biologique**

Dans les biotechnologies et l'industrie pharmaceutique, les biosurfactants sont essentiels pour améliorer la biodisponibilité des composés hydrophobes. Ils modifient les membranes cellulaires microbiennes, facilitant l'absorption et la distribution intracellulaire des substances actives (Kaczorek et al., 2018).

Cette propriété est particulièrement utile pour formuler des huiles essentielles hydrophobes comme celles de romarin et de feuilles d'olivier, en les rendant plus efficaces dans des applications biologiques telles que les soins cutanés, les désinfectants ou les traitements à base de plantes médicinales.

IV.3 Les types d'émulsion :

Les émulsions présentent une diversité de formes et de structures en fonction de la nature des phases impliquées, de leur organisation interne et de la taille des gouttelettes dispersées. Dans ce qui suit, nous allons explorer les différents types d'émulsions en nous basant sur plusieurs critères de classification, en commençant par la nature des phases en présence.

IV.3.1 Définition des phases de l'émulsion :

Avant d'aborder la classification des émulsions, il est important de définir les deux phases fondamentales qui les composent : la phase aqueuse (hydrophile) et la phase huileuse (lipophile). Ces phases jouent un rôle déterminant dans la nature et la stabilité de l'émulsion. Le tableau suivant présente les symboles utilisés pour désigner chacune de ces phases (Caullet and Santos, n.d.).

- **La phase aqueuse :**

Il s'agit de la partie hydrophile de l'émulsion. Elle peut contenir de l'eau pure, mais aussi des ingrédients solubles comme des sels, des sucres ou des extraits naturels. Cette phase est souvent utilisée comme milieu externe dans les émulsions huile-dans-eau (H/E ou O/W), et elle joue un rôle essentiel dans la dissolution des composants hydrophiles ainsi que dans le contrôle du pH du système (Caullet and Santos, n.d.).

- **La phase huileuse :**

C'est la partie lipophile de l'émulsion, composée d'huiles végétales, minérales ou essentielles. Elle peut représenter la phase dispersée ou continue selon le type d'émulsion (W/O ou O/W). Elle permet de véhiculer des substances liposolubles comme les vitamines ou les composés aromatiques, tels que l'huile essentielle de romarin par exemple (Caullet and Santos, n.d.).

Les huiles essentielles, riches en composés aromatiques et actifs, peuvent également être incorporées dans la phase lipidique pour leurs propriétés sensorielles et biologiques (Caullet and Santos, n.d.).

IV.3.2 Classification basée sur la nature de la phase dispersée :

- **Selon la nature des phases :**

Émulsion directe (H/E) : la phase continue est hydrophile (ex. : eau), tandis que la phase dispersée est lipophile (ex. : huile) (Caullet and Santos, n.d.).

Émulsion inverse (E/H) : la phase continue est lipophile et la phase dispersée est hydrophile (Caullet and Santos, n.d.).

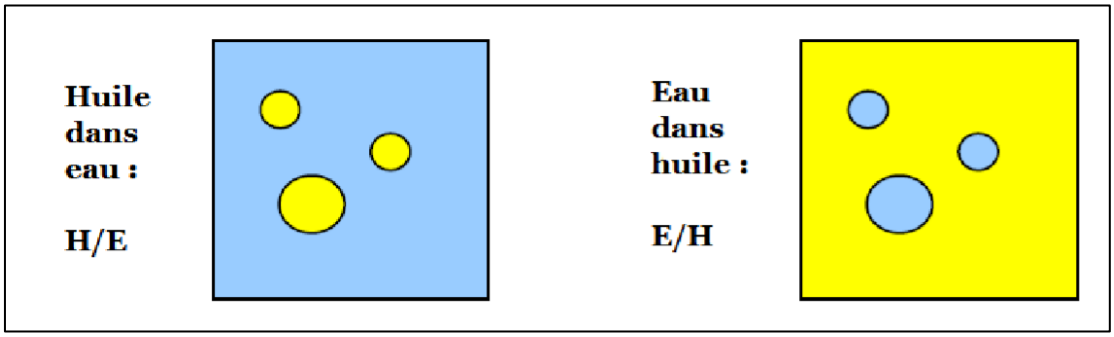


Figure I 14 : *Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse (en bleu l'eau, en jaune l'huile)* (Caullet and Santos, n.d.).

➢ **Selon la complexité du système :**

Émulsion simple : composée uniquement de deux phases (aqueuse et huileuse), sans structure interne complexe (Caullet and Santos, n.d.).

Émulsion multiple (ou « émulsion d'émulsion ») : système plus complexe où des gouttelettes elles-mêmes constituées d'une émulsion sont dispersées dans une autre (Caullet and Santos, n.d.).

Il existe des systèmes complexes de type :

- E/H/E (eau dans huile dans eau) (De Luca et al., 1991).
- H/E/H (huile dans eau dans huile) (De Luca et al., 1991).

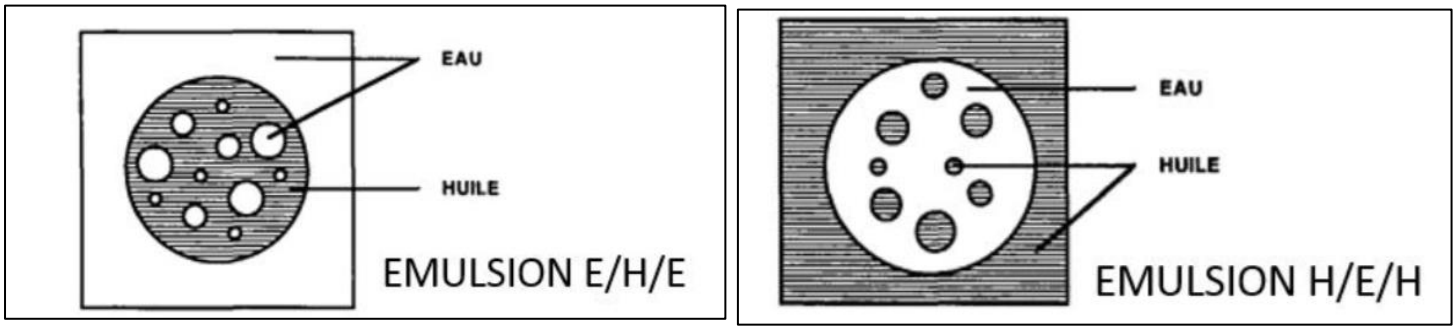


Figure I 15 : *Représentations schématiques de deux types d'émulsions multiples* (Caullet and Santos, n.d.).

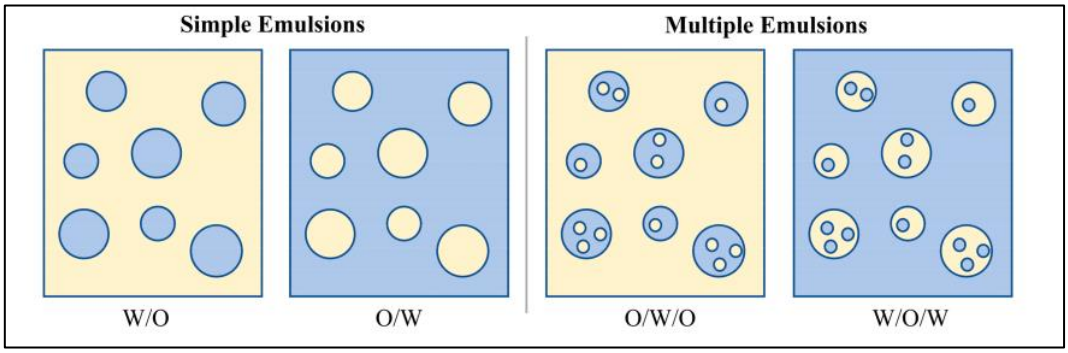


Figure I 16 : *Dessin schématique de différents types d'émulsions*(Liu et al., n.d.).

IV.4 Classification basée sur la taille des gouttelettes :

Selon la taille moyenne des gouttelettes de la phase dispersée (Tableau III 2), on peut distinguer différents types d'émulsions (Rondel, n.d.).

Tableau I 6 : Classification basée sur la taille des gouttelettes (M. RAHMOUNI ISSAM.2016)

Type d'émulsion	Taille des gouttelettes	Caractéristique
Macro émulsion	1 à 10 µm	Un liquide immiscible dispersé dans un autre liquide sous forme de gouttes, une émulsion grossière à aspect blanc laiteux.
Microémulsion	0.1 à 1 µm	Emulsion blanche dont le diamètre varie entre 0.5-1µm. Emulsion grise dont le diamètre varie entre 0.1-0.5µm.
Nano-émulsion	≤0.1µm	La dispersion est dotée d'une thermodynamique stable, transparente à semi-transparente

IV.5 Mécanismes de formation des émulsions :

La formation d'une émulsion implique la dispersion d'un liquide (phase dispersée) sous forme de fines gouttelettes dans un autre liquide non miscible (phase continue), généralement à l'aide d'un agent tensioactif. Ce processus est influencé par divers mécanismes physico-chimiques qui déterminent la taille des gouttelettes, la stabilité de l'émulsion et son comportement au fil du temps.

V.5.1 Réduction de la tension interfaciale :

La tension interfaciale entre deux liquides non miscibles, comme l'huile et l'eau, constitue une barrière énergétique à la formation d'émulsions. Les tensioactifs réduisent cette tension en s'adsorbant à l'interface, facilitant ainsi la dispersion de l'une

des phases sous forme de gouttelettes dans l'autre. Cette réduction de la tension interfaciale est essentielle pour la formation et la stabilité des émulsions(Costa et al., 2019).

V.5.2 Apport d'énergie mécanique :

L'énergie mécanique, telle que l'agitation, l'homogénéisation ou l'ultrasonication, est souvent nécessaire pour fragmenter la phase dispersée en fines gouttelettes. Cette énergie surmonte les forces de cohésion des liquides, permettant la formation d'une émulsion stable. La taille des gouttelettes et la stabilité de l'émulsion dépendent de l'intensité et de la durée de l'apport d'énergie (Lee et al., 2013).

V.5.3 Effet Marangoni et turbulences interfaciales :

Des gradients de concentration de tensioactifs à l'interface peuvent induire des flux appelés effets Marangoni, générant des turbulences interfaciales. Ces mouvements favorisent la dispersion des gouttelettes et stabilisent l'émulsion en empêchant la coalescence des gouttelettes. Ce mécanisme est particulièrement pertinent dans les émulsions spontanées où aucun apport d'énergie mécanique n'est nécessaire (Liu et al., 2024).

V.5.4 Formation de films interfaciaux solides (émulsions de Pickering) :

Dans certaines émulsions, des particules solides, comme des nanoparticules ou des colloïdes, peuvent s'adsorber à l'interface entre les deux phases, formant un film solide qui stabilise l'émulsion. Ces émulsions, appelées émulsions de Pickering, présentent une stabilité remarquable en raison de la barrière physique empêchant la coalescence des gouttelettes (Tian et al., 2022).

V.5.5 Formation in situ de tensioactifs :

Dans certains systèmes, des réactions chimiques à l'interface, comme la neutralisation d'acides gras par des bases, peuvent générer des tensioactifs in situ. Ces tensioactifs nouvellement formés réduisent la tension interfaciale et favorisent la formation d'émulsions sans ajout externe de tensioactifs. Ce mécanisme est particulièrement utile dans les procédés de récupération assistée du pétrole (Tian et al., 2022).

La formation d'émulsions est un processus complexe impliquant divers mécanismes physico-chimiques. La compréhension de ces mécanismes est essentielle pour concevoir des émulsions stables adaptées à des applications spécifiques, notamment dans les domaines pharmaceutiques, alimentaire et cosmétique.

Partie II : Matériel et Méthodes

I. Lieu d'application :

Cette étude expérimentale a été réalisée entre février et mai 2025 au niveau du laboratoire « recherche scientifique » au niveau du pôle universitaire " Pôle urbain " et laboratoire de « biologie et Agronomie » au niveau de " Ouzera " l'université "Dr. Yahia Fares" de Médéa (Algérie). Ce laboratoire est équipé pour les travaux de recherche en biochimie, microbiologie, pharmacognosie et chimie analytique. Il dispose notamment des appareils suivants :

Spectrophotomètre UV-Visible :

Utilisé pour mesurer l'absorbance des solutions à différentes longueurs d'onde (Skoog et al., 2017).



Figure II 1 : *Spectrophotomètre UV-Visible (laboratoire de pôle urbain université de Médéa)*

Centrifugeuse :

Une centrifugeuse est un appareil de laboratoire qui utilise la force centrifuge pour séparer les composants d'un mélange en fonction de leur densité. En faisant tourner des échantillons à grande vitesse, elle permet de séparer les particules plus denses (culot) du liquide surnageant (Brown, 2016).



Figure II 2 : Centrifugeuse (laboratoire de pôle urbain université de Médéa)

Homogénéisateur :

Dispositif servant à mélanger deux phases non miscibles (ex: huile et eau) pour obtenir une émulsion stable et homogène, en fragmentant les particules grâce à une forte pression ou agitation mécanique (McClements, 2015).

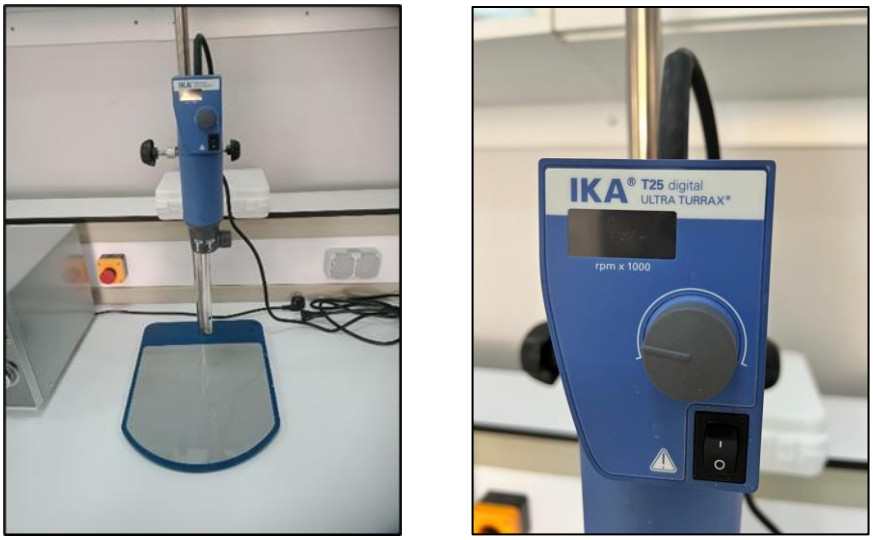


Figure II 3 : *Homogénéisateur (laboratoire de pôle urbain université de Médéa)*

Ultrasonicateur (ou Sonicateur) :

Appareil qui utilise les ondes ultrasonores pour créer des bulles de cavitation dans un liquide, ce qui permet de désagréger les cellules, extraire des composés bioactifs, ou produire des nano-émulsions (Chemat et al., 2011).



Figure II 4 : *Ultrasonicateur (laboratoire de pôle urbain université de Médéa)*

Évaporateur Rotatif (Rotavapor) :

Appareil de laboratoire utilisé pour éliminer les solvants d'un échantillon par évaporation douce sous vide. Il fonctionne en chauffant et en faisant tourner le ballon pour accélérer l'évaporation sans dégrader les composés sensibles à la chaleur (Pavia et al., 2014).



Figure II 5 : *rotavapeur (laboratoire de ouzera université de Médéa)*

II. Matériel végétal :

Les plantes médicinales sélectionnées pour cette étude sont :

II.1 Rosmarinus officinalis L. (Romarin) :

Utilisé traditionnellement pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (Benkeblia, 2012).



Figure II 5 : *le romarin de (Médéa 2025)*

II.2 Olea europaea L. (Feuilles d'olivier) :

Connues pour leur richesse en polyphénols, notamment l'oleuropéine, aux effets antioxydants et antifongiques (El Sayed & Abdel-Daim, 2019).



Figure II 6 : *les feuilles d'olivier (Médéa 2025)*

Ces plantes ont été récoltées dans la région de Médéa, en Algérie. Les feuilles fraîches ont été soigneusement lavées à l'eau distillée pour éliminer les impuretés, puis séchées à l'air libre pendant 5 à 7 jours dans un endroit sec, aéré et à l'abri de la lumière. Pour séchage complémentaire ont utilisé en étuve à 40 °C pendant 24 heures afin d'éliminer toute humidité résiduelle.

Les feuilles séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à obtention d'une poudre fine homogène. Cette poudre a été tamisée à l'aide d'un tamis métallique pour uniformiser la granulométrie, puis stockée dans des flacons en verre

brun hermétiquement fermés, enveloppés dans du papier aluminium, et conservés à température ambiante à l'abri de la lumière.

Remarque : L'absence de lumière, d'humidité et de chaleur est essentielle pour préserver l'intégrité des composés bioactifs, notamment les phénols et les flavonoïdes, sensibles à l'oxydation.

III. Préparation des extraits :

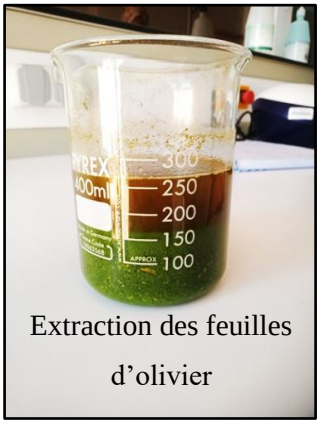
Pour extraire les composés actifs des plantes, nous avons utilisé Méthode d'extraction à l'éthanol 70 % avec évaporation à basse température au rotavapeur :

-Nous avons pesé 50 g de poudre de plante.

-Nous avons ajouté 500 ml d'éthanol à 70 %.



Extraction des feuilles de romarin



Extraction des feuilles d'olivier

Figure II 7 : *l'extraction des plantes*

-Le mélange a été mis dans ultrasonicateur pendant 15 minutes pour faciliter la libération des composés à l'intérieur des cellules.



Figure II 8 : *étape de mélange par ultrasonicateure*

-Ensuite, nous avons filtré le mélange avec du papier filtre.

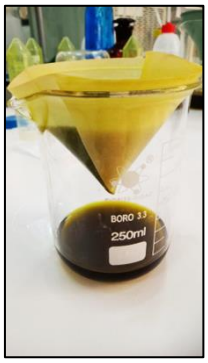


Figure II 9 : *étape de filtration*

-Le surnagent a été mis dans une centrifugeuse 6000 tours/minute pendant 15 minutes à 8 °C pour bien séparer les phases.

-On a récupéré le surnagent clair au-dessus et on l'a mis dans un rotavapeur pour enlever l'éthanol, et garder seulement l'extrait



Figure II 10 : *l'étape d'enlever l'éthanol par rotavapeur*

Ensuite, la couche l'huileuse qui s'est formée sur le dessus a été récupérée délicatement avec une micro-seringue pour obtenir un extrait concentré et huileux.

Les extraits ont été conservés dans des flacons foncés et placés au réfrigérateur à 4 °C jusqu'à leur utilisation.

IV. Formulation d'émulsion :

On a préparé des émulsions "huile dans eau" pour rotéger les composés utiles des plantes, afin qu'ils soient plus stables, mieux absorbés et plus efficaces.

IV.1 Objectif d'émulsification :

Les huiles essentielles et extraits hydrophobes ont une faible solubilité dans l'eau, ce qui limite leur usage en domaine biologique. L'émulsification permet de disperser ces composés dans une phase aqueuse à l'aide de tensioactifs et de

stabilisants. Cette stratégie est couramment utilisée dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et alimentaire (McClements, 2015).

IV.2 Composition des émulsions :

Deux types de formulations ont été testées :

Formule A : contenant le polysaccharide naturel xanthane comme agent stabilisant.

Formule B : contenant de la pectine à faible méthoxylation.

- **Tween 80 (Polysorbate 80)**

Nom chimique : Polysorbate 80

Fonction : Émulsifiant non ionique (E433)

Propriétés :

Utilisé pour stabiliser les émulsions huile-dans-eau dans les aliments, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques.

Empêche la séparation des phases aqueuse et huileuse.

Améliore la texture et prolonge la durée de conservation.

Solubilisant pour les vitamines liposolubles et les principes actifs (Rowe et al., 2009).



Figure II 11 : *tween80*

- **Gomme xanthane (Xanthan Gum)**

Nom chimique : Gomme xanthane

Fonction : Épaississant et stabilisant (E415)

Propriétés :

Produite par fermentation bactérienne (Xanthomonas campestris).

Utilisée pour épaissir sauces, vinaigrettes, produits sans gluten.

Améliore la viscosité, même à faible concentration.

Stabilise les suspensions et empêche la séparation des phases.

Résistante à la chaleur, au pH acide, et au sel(García-Ochoa et al., 2000).

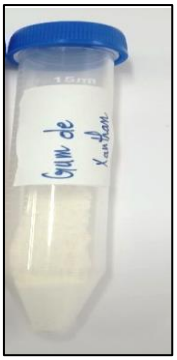


Figure II 12 : *Gomme xanthane*

- **Pectine (Pectin)**

Nom chimique : Pectine

Fonction : Gélifiant naturel, épaississant (E440)

Propriétés :

Extraite principalement de l'écorce des agrumes et des pommes.

Utilisée dans les confitures, gelées, yaourts pour former un gel.

Soluble dans l'eau chaude, forme un réseau tridimensionnel en présence de sucre et d'acide.

Considérée comme fibre alimentaire bénéfique.

Activité prébiotique modérée (Voragen et al., 1995; Codex Alimentarius, E44).



Figure II 13 : *Pectine (Pectin)*

IV.1 Étapes de préparation :

Préparation de la phase aqueuse :

- dissolution du stabilisant dans de l'eau distillée préchauffée à 40 °C, ajout du Tween 80 et agitation.

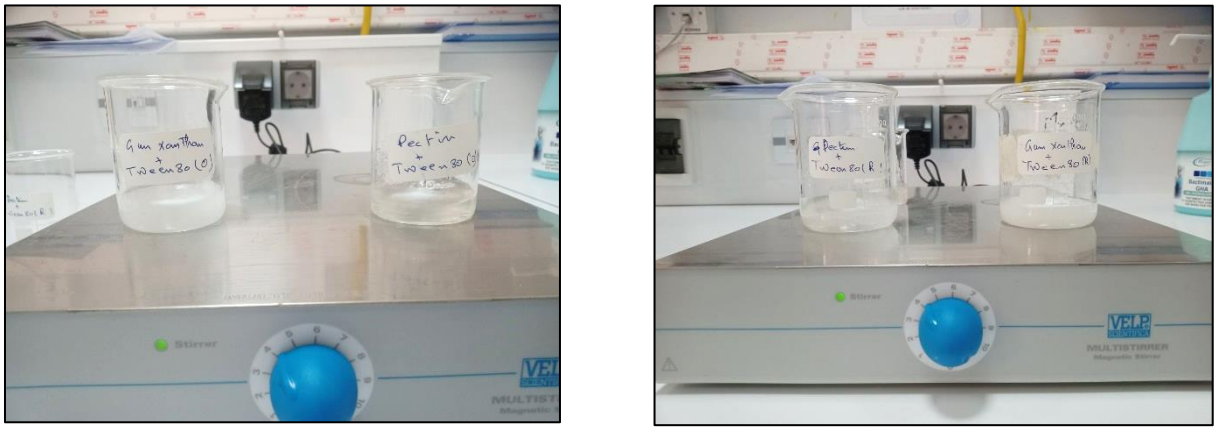


Figure II 14 : étape d'agitation de stabilisant et émulsifiant

Préparation de la phase huileuse :

- Chauffer l'huile à 40°C - 50°C (ne pas dépasser 50°C) pour obtenir une phase homogène.

Émulsification :

- Ajouter progressivement la phase huileuse à la phase aqueuse tout en agitant à une vitesse élevée (5000 à 7000 tours/min) pendant 6 minutes à l'aide d'un homogénéisateur.



Figure II 15 : l'étape d'homogénéisation

-Utiliser un ultrasonicateur à 50% de puissance pendant 5 minutes pour réduire la taille des gouttelettes et améliorer la distribution.

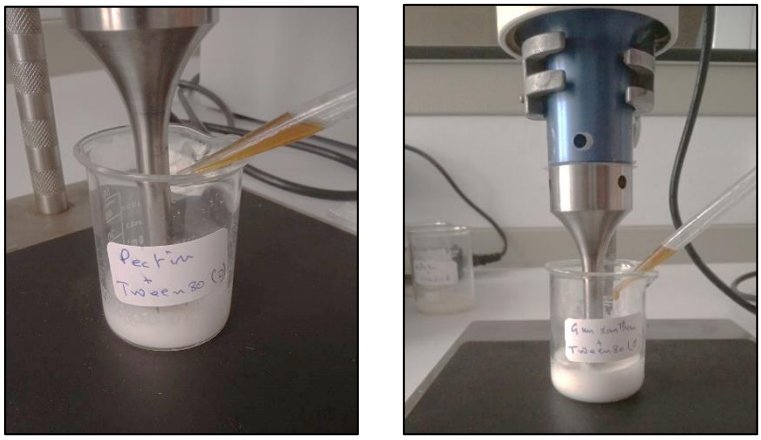


Figure II 16 : *étape de mélange l'émulsion par ultrasonicateur*

-Conditionnement : stockage à 4–8 °C dans des flacons stériles.

➢ Quatre échantillons principaux ont été analysés à l'aide de différentes techniques afin de mieux comprendre l'effet physique et structural des émulsions formulées. L'étude a porté sur l'huile essentielle du romarin, l'huile essentielle des feuilles d'olivier, ainsi que l'émulsion à base d'huile de romarin et celle à base d'huile des feuilles d'olivier. Ces échantillons ont été comparés en termes d'apparence, d'homogénéité et de distribution des gouttelettes. Cette comparaison nous a permis de mettre en évidence les différences majeures entre les huiles brutes et leurs formes émulsionnées, notamment au niveau de la structure microphysique, démontrant ainsi l'efficacité du processus d'émulsification dans l'amélioration des propriétés de dispersion et de stabilité.

V. Dosage des composés phénoliques et flavonoïdes :

V.1 Définition :

Les composés phénoliques et flavonoïques sont des substances bioactives naturellement présentes dans les plantes. Ils agissent comme antioxydants en neutralisant les radicaux libres, ce qui leur confère un rôle important da ns la prévention du stress oxydatif et des maladies dégénératives. Leur quantification

permet d'évaluer la richesse fonctionnelle des extraits végétaux(Intharuksa et al., 2024; Kuljarusnont et al., 2024; Frontiers et al., 2022).

V.2 Principe des dosages :

Polyphénols totaux (TPC) : Le dosage se base sur la réaction entre les composés phénoliques et le réactif Folin-Ciocalteu, produisant un complexe bleu mesuré à 765 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration en phénols (Singleton et al., 2017).

Flavonoïdes totaux (TFC) : La méthode repose sur la formation d'un complexe coloré jaune entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium, mesuré à 510 nm (Shraim et al., 2021).

V.3 Réactifs utilisés :

- Réactif de Folin-Ciocalteu (TPC)
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Chlorure d'aluminium ($AlCl_3$) 2 %
- Acétate de sodium 1 M
- Étalon d'acide gallique (TPC) et de quercétine (TFC)

V.4 Dosage des polyphénols totaux (TPC) :

-Ajouter 20 µL d'émulsion à 100 µL de Folin dilué.

-Ajouter 80 µL de Na_2CO_3.

-Incuber 30 minutes dans l'obscurité.

-Mesurer l'absorbance à 765 nm.

-Exprimer les résultats en mg GAE/g MS.

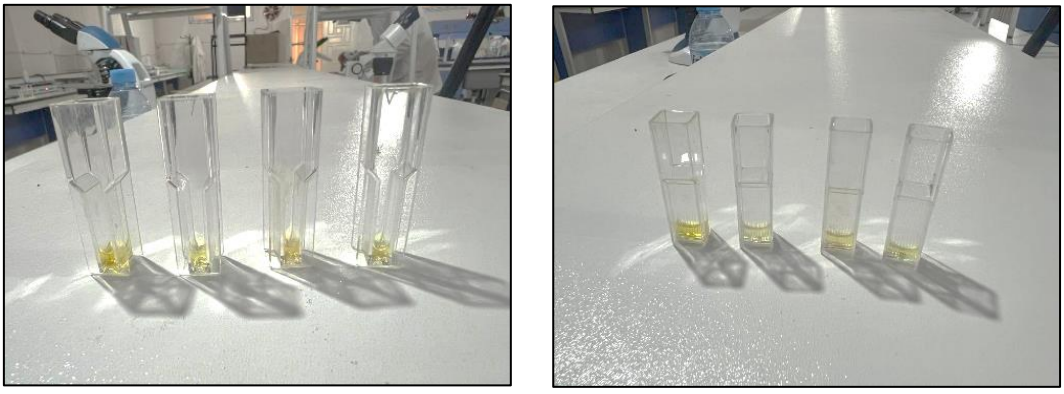


Figure II 17 : *dosage des polyphénols*

V.5 Dosage des flavonoïdes totaux (TFC) :

-Mélanger 20 µL d'émulsion avec 100 µL d'$AlCl_3$ + 100 µL d'acétate de sodium.

-Incuber 30 minutes à température ambiante.

-Mesurer l'absorbance à 510 nm.

-Résultats en mg QE/g MS.

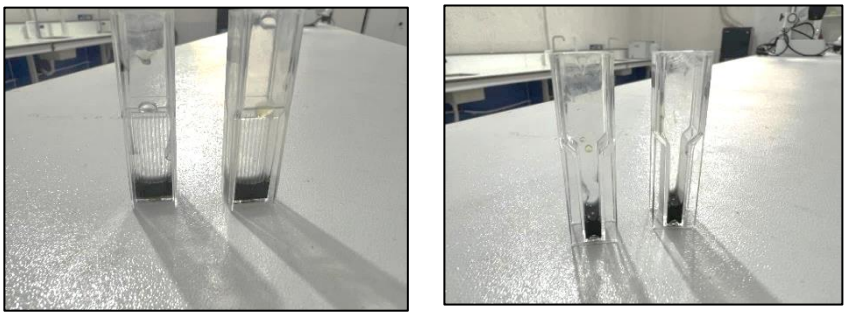


Figure II 18 : *dosage des flavonoïdes*

VI. Activité antioxydante :

VI.1 Définition :

L'activité antioxydante représente la capacité d'un extrait à neutraliser les radicaux libres, qui sont des espèces réactives responsables du stress oxydatif, pouvant endommager les cellules et favoriser le développement de maladies (Ordóñez et al., 2022; Gedikoğlu et al., 2019; MDPI Molecules, 2023). Les huiles essentielles riches en composés phénoliques possèdent généralement une forte activité antioxydante.

VI.2 Méthode du radical DPPH :

La méthode du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est une technique colorimétrique largement utilisée pour évaluer l'activité antioxydante des extraits de plantes. Cette méthode repose sur la réduction du radical DPPH, de couleur violette, par les antioxydants présents dans l'échantillon, ce qui provoque une décoloration mesurable par spectrophotométrie (Martins et al., 2023).

VI.2 Principe :

Le DPPH est un radical libre stable qui possède une forte absorbance à 517 nm. Lorsqu'un antioxydant est présent, il donne un électron ou un atome d'hydrogène au DPPH, le réduisant en DPPH-H, qui est de couleur jaune. L'intensité de la décoloration

est proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon (Gülçin, 2023; Martins et al., 2022; MDPI Processes, 2023).

VI.4 Protocole :

-Préparer une solution de DPPH à 0,1 mM dans de l'éthanol (4 mg dans 100 ml).



Figure II 19 : *Solution éthanolique du DPPH*

-Préparer différentes concentrations DPPH (5, 10, 20, 40, 80 µg/mL).



Figure II 20 : *les concentrations de DPPH préparé*

-Mélanger 1 ml de chaque émulsion avec 1 mL de la solution de DPPH dans une cuve.



Figure II 21 : *l'étape de mélange les échantillons avec les concentrations de DPPH*

-Préparer un témoin (1 mL de DPPH + 1 mL d'éthanol 70%)

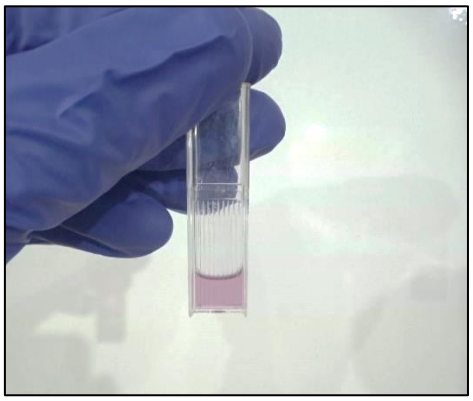


Figure II 22 : *le témoin*

-Incuber les tubes à température ambiante à l'obscurité pendant 30 minutes.

-Lire l'absorbance à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

VI.1 Calcul du pourcentage D'inhibition :

% inhibition = [(A témoin – A échantillon) / A témoin] × 100

-A témoin = absorbance du témoin (DPPH seul)

-A échantillon = absorbance de l'échantillon

IC 50 : Concentration de l'extrait nécessaire pour inhiber 50 % du DPPH, déterminée par interpolation graphique sur le graphe Diametre D'inhibition en fonction de la Concentration en DPPH (El-Yazidi et al. 2022).

VII. Activité antibactérienne :

Les souches bactériennes testées :

Dans cette étude, quatre souches bactériennes ont été testées :

Escherichia coli (Gram -)

Staphylococcus aureus (Gram +)

Bacillus subtilis (Gram +)

Une bactérie protéolytique (Gram -), isolée de l'environnement

VII.1 Origine :

Certaines souches ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Médéa, tandis que d'autres ont été obtenues au laboratoire universitaire de biologie. Toutes les souches ont été cultivées sur gélose nutritive avant les essais.

- **Escherichia coli (Gram -):**

Bactérie intestinale souvent utilisée comme modèle de souche Gram négative pathogène. Responsable d'infections urinaires et digestives (Jiang et al. (2022).

- **Staphylococcus aureus (Gram +):**

Bactérie Gram positive couramment impliquée dans les infections cutanées, respiratoires et hospitalières (Gherardi, 2023).

- **Bacillus subtilis (Gram +):**

Bactérie Gram positive non pathogène, connue pour sa capacité à produire des enzymes et des antibiotiques (Su et al., 2020).

- **Bacterie protéolytique (Gram -):**

Souche Gram négative capable de dégrader les protéines. Souvent rencontrée dans les environnements organiques degrades (Najmeh Sodagar et al.,2024).

VII.2 Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits):

Cette méthode consiste à percer des puits dans une gélose ensemencée avec la souche bactérienne, puis à y déposer des extraits ou émulsions. Après incubation, on mesure les zones d'inhibition autour des puits.

- Une suspension bactérienne ajustée à 0,5 McFarland.



Figure II 23 : *une suspension bactérienne à 0,5 McFarland*

-Verser environ 20 mL de gélose Mueller-Hinton fondue (45 °C) dans des boîtes de Pétri stériles.

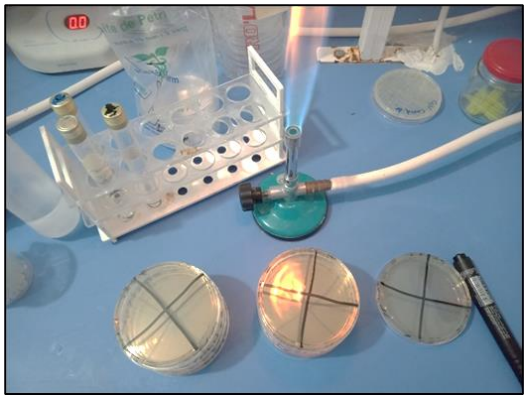


Figure II 24 : *des boites de pétrie remplir par gélose Mueller-Hinton*

-Une fois solidifiée, ensemencer la suspension bactérienne la surface avec un écouvillon stérile.

-À l'aide d'un embout stérile, percer des puits de 6 mm de diamètre.

-Remplir chaque puits avec 100 µL d'émulsion.

-Incuber les boîtes à 37 °C pendant 24 h.

-Mesurer les diamètres des zones d'inhibition (mm) autour des puits.

VII.3 Interprétation des résultats :

Les résultats sont exprimés en diamètre (mm) de la zone d'inhibition autour du puits. Plus le diamètre est grand, plus l'effet antimicrobien est fort. (Ponce et al., 2018)

Tbleau II 1 : Interprétation des diamètres de zones d'inhibition pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne (Ponce et al., 2018).

Diamètre (mm)	Interprétation
< 9	Activité faible
9 – 14	Activité modérée
15 – 19	Activité forte
> 20	Activité très forte

VIII Activité antifongique :

VIII.1 Origine :

Ces champignons ont été isolés au niveau du laboratoire universitaire de microbiologie. Les souches ont été cultivées sur.

- **Candida albicans :**

Levure pathogène opportuniste, souvent responsable d'infections chez l'humain, notamment les mycoses buccales, vaginales et systémiques chez les immunodéprimés (Pappas et al., 2018).

- **Aspergillus sp:**

Champignon filamenteux très répandu dans l'environnement. Certaines espèces peuvent provoquer des infections pulmonaires (aspergilloses) ou produire des mycotoxines (Latgé & Chamilos, 2019).

VIII.2 Méthode de diffusion sur gélose (méthode des puits) :

La méthode utilisée est similaire à celle appliquée pour les bactéries. Elle repose sur la diffusion de l'extrait antifongique autour d'un puits creusé dans un milieu de culture ensemencé avec la souche fongique.

-Préparer une suspension fongique (densité standard ~10^6 spores/mL).

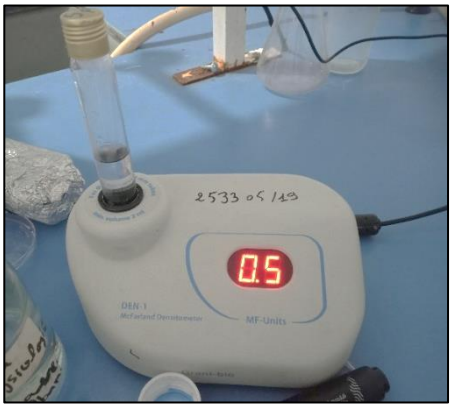


Figure II 25 : *une suspension fongique (densité standard ~10^6 spores/mL)*

-Verser de la gélose Sabouraud Dextrose fondue (45 °C) dans des boîtes de Pétri stériles.

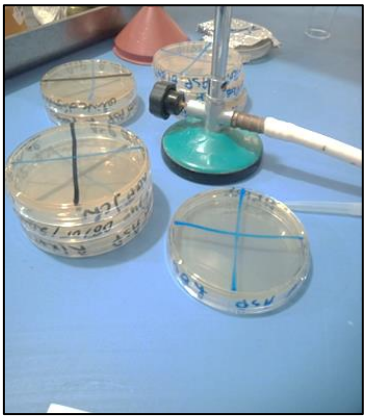


Figure II 26 : *des boites de pétrie remplir par gélose Sabouraud Dextrose*

-Ensemencer la surface avec un écouvillon stérile trempé dans la suspension.

-Percer des puits de 6 mm de diamètre dans la gélose

-Déposer 100 µL d'émulsion dans chaque puits.

-Incuber à 30 °C pendant 48 à 72 heures.

-Mesurer les diamètres des zones d'inhibition autour des puits (en mm).

VIII.3 Interprétation des résultats :

L'évaluation de l'activité antifongique est basée sur les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et d'études similaires. Les diamètres d'inhibition sont interprétés comme suit: (Ponce et al., 2018)

Tbleau II 2 : Interprétation des diamètres de zones d'inhibition pour l'évaluation de l'activité antifongique (Ponce et al., 2018).

Diamètre (mm)	Interprétation
< 9	Activité faible
9 – 14	Activité modérée
15 – 19	Activité forte
> 20	Activité très forte

IX Étude prédictive des interactions Biologiques protéines–molécules issues des extraits de romarin et des feuilles d’olivier :

Dans le but de renforcer les résultats expérimentaux, une étude de modélisation moléculaire a été réalisée sur les composés chimiques majeurs extraits du romarin et des feuilles d'olivier, afin de prédire leurs mécanismes d'interaction avec certaines cibles biologiques. Des composés tels que l'acide rosmarinique, le carnosol, l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol ont été choisis pour leur activité reconnue en tant qu'antioxydants et agents antimicrobiens. Cette étude prédictive a contribué à une meilleure compréhension des fondements moléculaires de l'activité biologique des extraits et a permis de corroborer les résultats des analyses biologiques menées sur les émulsions.

Partie III : Résultat et discussion

I. Résultats d'extraction des extraits des feuilles d'olivier et de romarin :

L'extraction des composés bioactifs des feuilles (Figure III 1) a permis d'obtenir un extrait de couleur claire pour les feuilles d'olivier et foncé pour le romarin, présentant une texture visqueuse et homogène. Ces caractéristiques visuelles sont conformes à celles rapportées dans la littérature pour des extraits riches en polyphénols, flavonoïdes et terpènes (Zaier et al., 2021 ; Borghini et al., 2024)

Le rendement d'extraction était comparable à celui décrit par Ibrahim et al. (2016), qui ont observé des teneurs élevées en oleuropéine et hydroxytyrosol dans les feuilles d'olivier, conférant une couleur marron clair caractéristique. Le romarin, quant à lui, a donné un extrait riche en acide rosmarinique et carnosol, responsables de la couleur marron foncé typique des huiles essentielles de cette plante (Laina et al., 2024).

Ces observations confirment que les extraits obtenus conservent les propriétés chimiques et organoleptiques décrites pour ces plantes, indiquant une préservation des composés bioactifs lors de l'extraction, comme soutenu par les travaux de Blokhin et al. (2023).

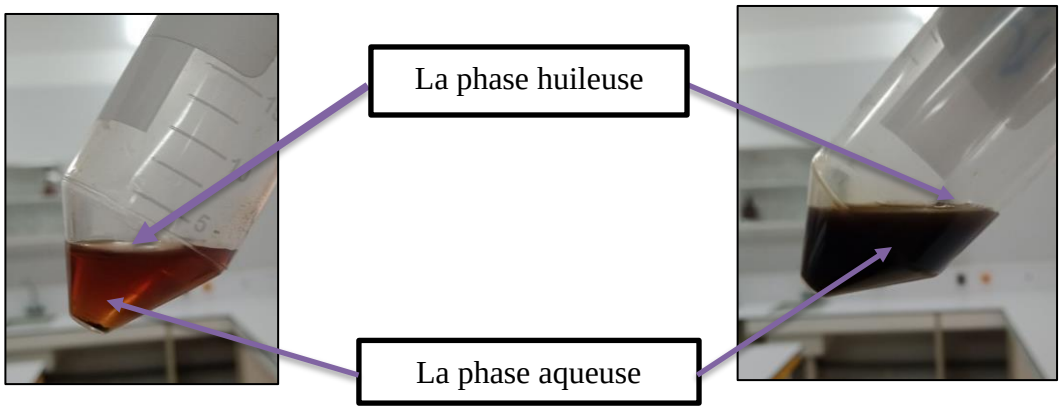


Figure III 1 : *Extrait obtenu après entrainement par rotavapeur.*

L'extraction des composés bioactifs à partir des feuilles de romarin et d'olivier a reposé sur une stratégie combinée utilisant trois éléments clés : l'éthanol à 70 %, la sonication et l'évaporation à basse température par rotavapor.

L'éthanol est un solvant polaire capable de solubiliser les composés hydrophiles (comme les phénols simples) et certains composés semi-polaires (comme les flavonoïdes). La concentration à 70 % est considérée comme optimale pour extraire une large gamme de métabolites secondaires. Benchabane et al. (2019) et Bajoub et al. (2021) ont confirmé que cette proportion favorise une extraction plus efficace de l'oleuropéine, de l'acide rosmarinique, de l'hydroxytyrosol et d'autres composés actifs. Contrairement à l'éthanol pur, ce mélange permet une meilleure pénétration cellulaire et mobilise davantage de composés phénoliques.

L'application d'ultrasons (sonication) facilite la rupture des parois cellulaires végétales par cavitation, accélère la diffusion des composés bioactifs vers le solvant et améliore ainsi le rendement d'extraction. Chemat et al. (2017) ont classé cette technique parmi les procédés d'extraction verte les plus efficaces. Par comparaison avec une macération simple, elle permet de réduire le temps d'extraction tout en maintenant l'intégrité des molécules thermolabiles.

Le rotavapor permet de concentrer les extraits à basse température et sous vide, limitant ainsi la dégradation thermique des composés actifs sensibles à la chaleur (comme l'acide rosmarinique ou l'oleuropéine). Cette méthode préserve les propriétés antioxydantes et biologiques des extraits, contrairement au chauffage direct à l'air libre qui peut provoquer des pertes importantes (Donsì & Ferrari, 2016).

La combinaison éthanol 70 %, sonication et rotavapeur permis d'obtenir des extraits de haute qualité, riches en composés bioactifs, avec une excellente récupération et une conservation optimale des propriétés antioxydantes. Cette méthode est écologique, efficace et adaptée aux besoins de formulations à base de plantes médicinales.

À partir de cet extrait que nous avons préparé, nous avons extrait les huiles essentielles de romarin et de feuilles d'olivier en utilisant une micro-seringue, Un volume de 0,7 ml a été prélevé de chaque extrait (Figure III 2).

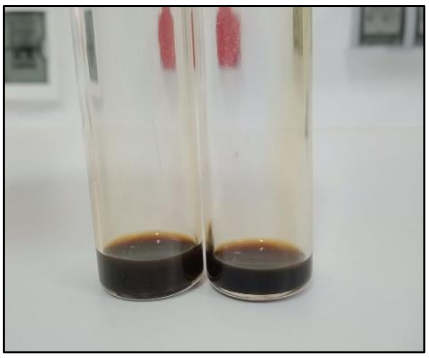


Figure III 2 : *Huiles essentielles obtenues à partir du romarin et des feuilles d'olivier.*

II. Résultats des émulsions :

Deux types d'émulsions huile dans eau (H/E) ont été préparées à base d'huiles essentielles extraites d'Rosmarinus officinalis (romarin) et de feuilles d'olivier (Olea europaea). Chaque émulsion contenait 10 % de phase huileuse (0,7 ml d'huile de romarin ; 0,7 ml d'huile de feuilles d'olivier) et 90 % de phase aqueuse (3,6 ml de l'eau distillée).

Quatre types d'émulsions ont été élaborés dans le cadre de cette étude :

– L'une associant l'huile d'olive, le Tween 80 et la pectine ;

– Une autre contenant de l'huile d'olive, du Tween 80 et de la gomme xanthane ;

– Une troisième formulée avec de l'huile essentielle de romarin, du Tween 80 et de la pectine ;

– Et enfin, une émulsion composée d'huile essentielle de romarin, de Tween 80 et de gomme xanthane.

Les émulsions obtenues (Figure III 3) et (Figure III 4) présentaient une apparence homogène, stable et sans séparation de phases immédiate. Les émulsions à base de romarin étaient légèrement jaunâtres tandis que celles à base de feuilles d'olivier montraient une teinte verdâtre, en accord avec les caractéristiques des extraits utilisés (Laina et al., 2024 ; Borghini et al., 2024).

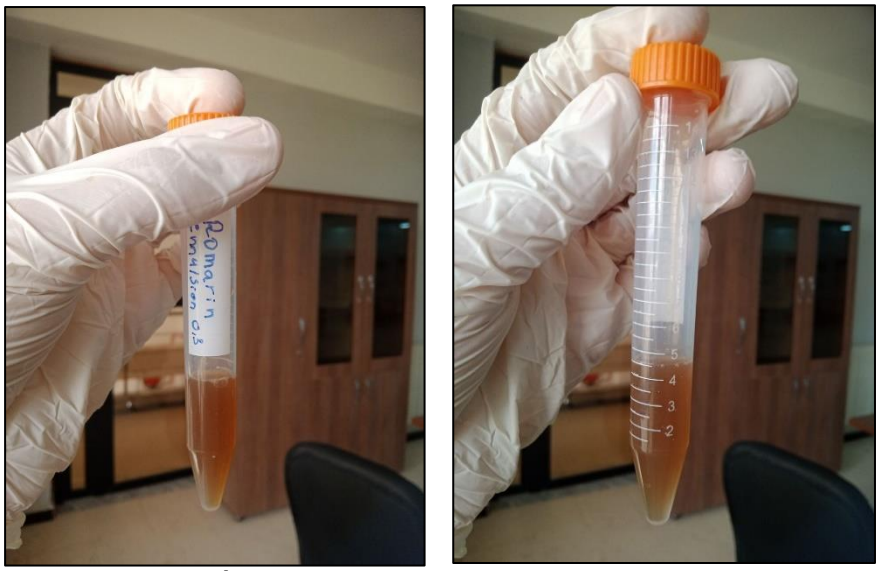


Figure III 3 : *Émulsion à base de romarin après formulation*

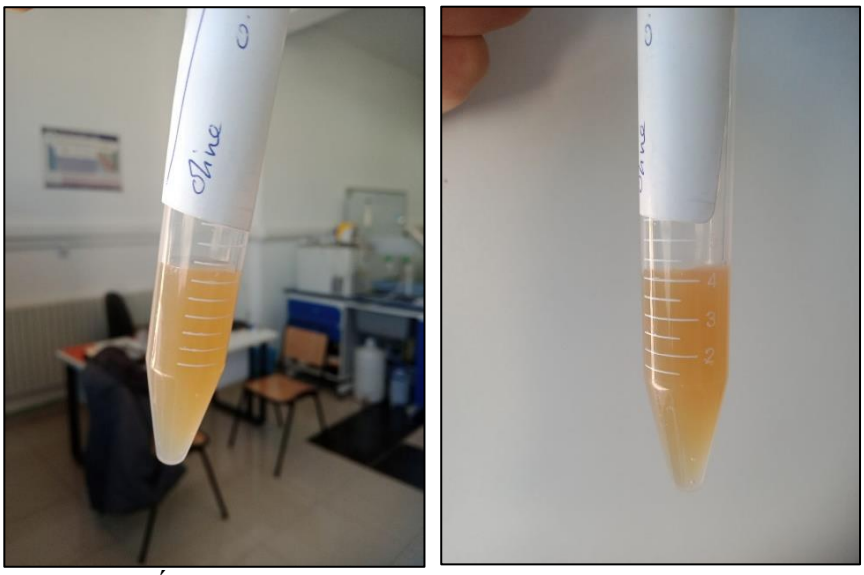


Figure III 4 : *Émulsion obtenue à partir des extraits de feuilles d'olivier.*

Dans cette étude, la formulation des émulsions huile-dans-eau a été réalisée à partir d'extraits de romarin et de feuilles d'olivier, en utilisant la pectine et la gomme xanthane comme agents stabilisants (figure III 3) (figure III 4). La pectine, reconnue pour sa capacité à former des gels à basse température et en milieu acide, a permis d'assurer une bonne homogénéité des émulsions conservées à 4 °C, ce qui est en accord avec les résultats de Tavares et al. (2021), Albek et al. (2022) et Khadka et al. (2023). En parallèle, la gomme xanthane, connue pour sa stabilité dans des conditions

thermiques variées, a montré une meilleure performance à 25 °C et 40 °C, comme le confirment les travaux de Wang et al. (2022), Zhang et al. (2023) et Singh et al. (2021).

Le recours à la sonication ultrasonique pour l'émulsification s'explique par l'absence d'homogénéiseur haute pression. Cette technique, favorise la rupture des gouttelettes et permet une dispersion fine et homogène. Son efficacité à améliorer la stabilité des émulsions a été démontrée dans plusieurs études, notamment celles de Khandpur & Gogate (2023), Zhao et al. (2022) et Tran et al. (2021). Par ailleurs, Nguyen et al. (2022) ont prouvé que la sonication pouvait rivaliser, voire surpasser, l'homogénéisation haute pression selon la nature des formulations.

En conclusion, la combinaison d'un tensioactif doux (Tween 80), d'un polymère naturel adapté et d'un procédé de sonication permet d'obtenir des émulsions performantes, facilement adaptables aux exigences des secteurs cosmétique, alimentaire ou pharmaceutique.

III. Caractérisations Organoleptiques et Physico chimique des émulsions obtenues :

Tableau III 1 : Caractéristiques physique et organoleptiques des émulsions

Type d'huile	**Stabilisant**	**Temp (°C)**	**Durée de Conservation**	**Analyse physique et organoleptique**	**Remarques**
Romarin	Pectine	4 °C	≥ 1 mois	•Émulsion : homogène •Odeur de romarin forte	Excellente stabilité en condition froide.
		25 °C	11 jours	•Culots en suspension observés, avec des impuretés et une odeur peu perceptible.	Début de déstabilisation observé au-delà de 10 jours.
		40 °C	7 jours	•Présence de regroupements jaune-orangé avec séparation des phases et absence d'odeur.	Changements rapides en condition de chaleur élevée.
	Gomme xanthane	4 °C	≥ 1 mois	•Émulsion homogène •Faible Odeur de romarin	Comportement stable à basse température.
		25 °C	< 11 jours	•Apparition de particules jaunes dispersées dans un liquide brun, avec une odeur légère de romarin.	Moins stable que la pectine à cette température, avec évolution progressive.
		40 °C	7 jours	•Regroupements orangés dans un liquide brun,	Instabilité marquée à

				odeur faible et peu agréable.	haute température.
Feuilles d'olivier	Pectine	4 °C	≥ 1 mois	•Émulsion homogène	Produit très stable en environnement réfrigéré.
		25 °C	12 jours	•Amas blanc-jaunâtre dans un liquide jaune, •odeur faible.	Instabilité progressive à partir de la deuxième semaine.
		40 °C	6 jours	•Présence d'amas dans un liquide jaune.	Instabilité marquée à 40 °C.
	Gomme xanthane	4 °C	≥ 1 mois	•Émulsion homogène	Stabilité similaire à celle de la pectine au réfrigérateur.
		25 °C	14 jours	•Amas jaune pâle dans un liquide jaune.	Plus stable que la pectine à température ambiante.
		40 °C	10 jours	•Amas dans un liquide jaune, avec un aspect instable.	Meilleure résistance thermique que la pectine.

Les données du Tableau III.1 ont révélé des variations notables dans la stabilité, l'aspect et les propriétés organoleptiques des émulsions formulées à base d'extraits de romarin et de feuilles d'olivier, selon le stabilisant utilisé (pectine ou gomme xanthane) et la température de stockage. Nous avons constaté que les émulsions stabilisées par

la pectine présentaient une excellente stabilité à 4 °C, grâce à la capacité de la pectine à former un réseau tridimensionnel piégeant les gouttelettes et limitant la coalescence. Ces résultats concordent avec ceux de Khadka et al. (2023), qui ont démontré cet effet de réseau, ainsi que ceux de Tavares et al. (2021) et De Souza et al. (2020), qui ont confirmé l'efficacité de la pectine à basse température. De plus, Morales et al. (2022) ont également observé une homogénéité accrue dans des émulsions pectinées à froid. Toutefois, nos résultats montrent aussi que dans certains cas, la pectine perd son efficacité, ce qui rejoint les conclusions de Galaz et al. (2023), qui ont noté une déstabilisation même à basse température dans des matrices riches en polyphénols.

À l'opposé, les formules contenant de la gomme xanthane ont mieux résisté aux températures élevées (25 °C et 40 °C), confirmant ainsi les travaux de Zhang et al. (2023) et Cui et al. (2024), qui ont montré la robustesse thermique du xanthane. Cet effet s'explique, comme le suggèrent également Habibi et al. (2021), par la rigidité de la structure linéaire du xanthane, qui lui confère une résistance accrue aux contraintes thermiques.

Nous avons également observé que la stabilité globale des émulsions diminuait lorsque la température augmentait. À 40 °C, des signes clairs de déstabilisation sont apparus, tels que la séparation des phases, la perte d'homogénéité et une dégradation des caractéristiques organoleptiques, notamment une odeur désagréable dans les émulsions au romarin. Ces résultats sont en accord avec les travaux de McClements (2012) et Zhao et al. (2022), qui ont montré que la chaleur perturbe les interfaces huile/eau et dégrade les composés actifs. Cependant, certaines études, comme celles de El Ahmadi et al. (2024) et Ibrahim et al. (2017), suggèrent qu'une optimisation du rapport huile/eau pourrait améliorer la tolérance thermique.

En comparant les deux extraits, nous avons remarqué que les émulsions à base de romarin devenaient instables à haute température, accompagnées d'une odeur désagréable, ce qui est attribué à l'oxydation des composés volatils comme le camphre et le 1,8-cinéole. Ces observations sont cohérentes avec les résultats de Blokhin et al. (2023) et Laina et al. (2024). En revanche, les émulsions à base d'olivier, notamment celles stabilisées avec le xanthane, ont maintenu une meilleure stabilité, probablement grâce à l'effet antioxydant des phénols tels que l'oleuropéine et l'hydroxytyrosol, comme l'ont décrit également Bouaziz et al. (2021) et Medina et al. (2022).

Sur le plan organoleptique, nos résultats ont montré que les émulsions au romarin avaient une odeur plus prononcée mais plus sensible à la chaleur, tandis que celles à l'olivier, plus neutres, gardaient une meilleure stabilité sensorielle, surtout en présence de xanthane. Ces observations sont confirmées par Habibi et al. (2021) et Salvia-Trujillo et al. (2015), qui ont montré que le xanthane améliore la stabilité sensorielle. Cependant, Torri et al. (2019) ont noté que des concentrations élevées de xanthane peuvent rendre la texture trop visqueuse et diminuer l'acceptabilité sensorielle.

Enfin, nous avons constaté que les émulsions testées au froid conservaient une stabilité optimale, en particulier celles contenant de la gomme xanthane. À température ambiante, le xanthane surpassait la pectine, tandis qu'à 40 °C, la majorité des formulations, surtout celles contenant de la pectine Khadka et al. (2023), se déstabilisaient rapidement. Ces résultats confirment les observations de Zhang et al. (2023) et Galaz et al. (2023).

IV. L'observation microscopique :

Dans le cadre de cette étude, une observation microscopique a été effectuée afin d'analyser et de comparer la structure et la répartition des gouttelettes dans les différents systèmes à base d'huiles essentielles utilisés. Cette analyse a concerné l'huile essentielle de romarin et son émulsion, ainsi que l'huile essentielle des feuilles d'olivier et son émulsion correspondante.

L'objectif de cette observation est de mettre en évidence l'efficacité du processus d'émulsification, en comparant les structures micrographiques des huiles pures à celles des formulations émulsionnées. Les différents clichés obtenus au microscope permettront ainsi d'évaluer la qualité de la dispersion, la taille des gouttelettes, leur uniformité ainsi que la stabilité des systèmes.

Les figures suivantes présentent les observations réalisées pour chacune des quatre formules :

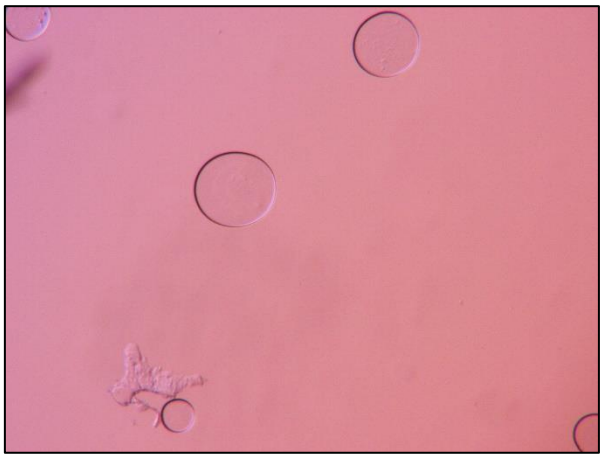


Figure III 5:*Observation microscopique de l'huile essentielle de romarin pure.*

L'observation microscopique de la figure III.5, correspondant à l'huile de romarin pure, montre des gouttelettes de grande taille, dispersées de manière irrégulière dans la phase aqueuse. La variabilité marquée de taille entre les gouttelettes ainsi que la présence de dépôts solides au fond de l'échantillon, constitués de résidus végétaux non solubilisés, confirment l'instabilité de la dispersion en l'absence d'agent émulsifiant.

La grande taille des gouttelettes est due à la forte tension interfaciale entre la phase huileuse et la phase aqueuse, ce qui empêche la fragmentation des gouttelettes en particules plus petites [McClements, 2015 ; Tadros, 2016]. La distribution irrégulière et la coalescence observées résultent de l'absence de stabilisant, ce qui favorise la fusion des gouttelettes et l'agrégation des phases huileuses [Joye et al., 2015 ; Dickinson, 2023].

Les dépôts solides observés au fond sont constitués de fragments végétaux, insolubles dans la phase aqueuse et soumis à la gravité, entraînant leur sédimentation [Weiss et al., 2020]. Ce comportement est typique des dispersions brutes d'huiles essentielles sans traitement préalable et sans émulsifiant, comme l'ont démontré Salvia-Trujillo et al. (2015), qui ont observé une séparation rapide des phases, une taille hétérogène des gouttelettes et des dépôts solides dans des émulsions d'huiles essentielles non stabilisées.

Ces observations confirment que, pour assurer la stabilité d'une émulsion, il est indispensable d'ajouter un agent tensioactif ou un biopolymère pour réduire la tension

interfaciale, homogénéiser la taille des gouttelettes et empêcher la sédimentation des particules solides [Tadros, 2016 ; Dickinson, 2023].

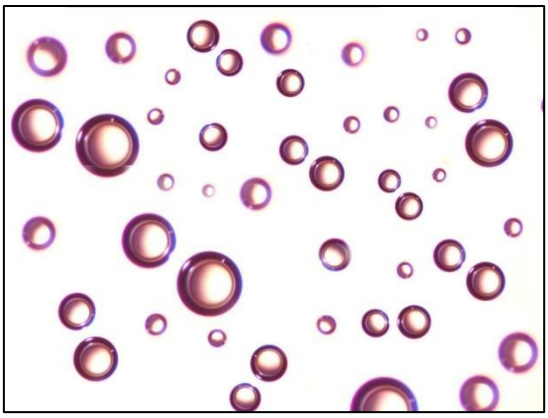


Figure III 6 : *Observation microscopique d'émulsion à base d'huile essentielle de romarin.*

Dans notre étude, l'émulsion de romarin (figure III.6) présente des gouttelettes sphériques réparties de manière homogène, de taille relativement uniforme et sans signe de coalescence. Cette observation est cohérente avec les résultats de McClements (2015), qui a montré que l'ajout d'un tensioactif réduit la tension interfaciale et permet d'obtenir des gouttelettes régulières, et de Dickinson (2023), qui a confirmé que les contours nets et la stabilité des interfaces témoignent d'une bonne efficacité du stabilisant utilisé.

Nous avons également observé l'apparition d'une auréole colorée autour des gouttelettes, ce qui indique une encapsulation efficace des composés bioactifs et une protection contre l'oxydation. Ce résultat est similaire aux conclusions de Tadros (2016) et Weiss et al. (2020), qui ont montré que les émulsions bien formulées protègent les molécules sensibles en les confinant dans des gouttelettes stables.

La comparaison entre cette émulsion et l'huile brute met en évidence le rôle essentiel de l'émulsification, qui permet de réduire la taille des gouttelettes, d'homogénéiser la distribution et de stabiliser les huiles essentielles en milieu aqueux. Ce constat rejoint les travaux de Joye et al. (2015), qui ont observé une dispersion plus uniforme après émulsification, ainsi que de Salvia-Trujillo et al. (2015) et Habibi et al. (2021), qui ont rapporté que l'émulsification améliore significativement la stabilité physique des huiles essentielles.

Enfin, nos observations sont conformes aux résultats rapportés par plusieurs études, notamment celles de Zhao et al. (2022) et El Ahmadi et al. (2024), qui ont démontré que l'utilisation combinée de tensioactifs et de biopolymères améliore la dispersion, prévient la coalescence et assure la stabilité physique et la fonctionnalité des émulsions.

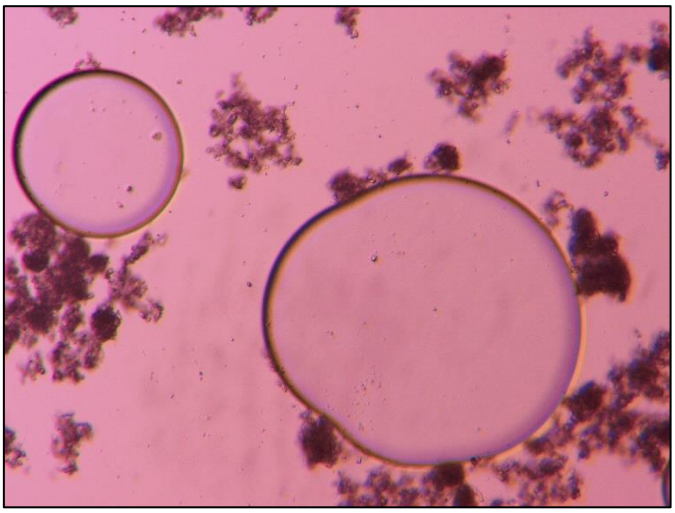


Figure III 7 : *observation microscopique d'huile essentielle des feuilles d'olivier*

L'observation microscopique (figure III.7) montre des gouttelettes d'huile des feuilles d'olivier dispersées dans un milieu aqueux, de grande taille et réparties de façon irrégulière. Des agrégats sombres au fond de l'échantillon correspondent à des résidus végétaux insolubles.

L'absence d'un agent émulsifiant maintient une forte tension interfaciale entre la phase huileuse et la phase aqueuse, ce qui empêche la formation de gouttelettes fines et homogènes et favorise leur coalescence [Coupland & McClements, 1996 ; Gupta et al., 2016 ; Karthik et al., 2017].

La sédimentation des agrégats solides résulte de la gravité exercée sur des particules végétales non dissoutes, un phénomène bien documenté dans les dispersions brutes d'huiles végétales [Komaiko & McClements, 2016 ; Shahidi & Hossain, 2018].

Ces résultats confirment que, sans stabilisant, les systèmes huile-eau restent instables et montrent rapidement des signes de séparation de phases, comme démontré également par Bouchemal et al. (2004) et Jafari et al. (2018), qui ont observé des

gouttelettes grossières, une distribution hétérogène et des dépôts solides dans des émulsions sans tensioactifs.

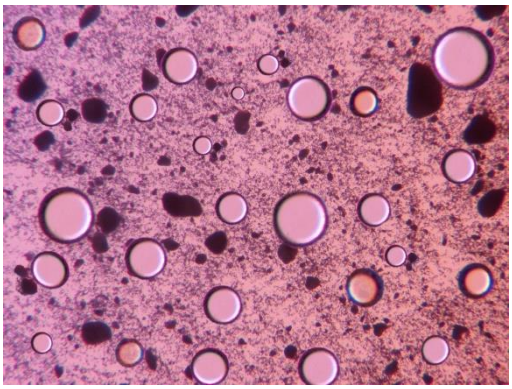


Figure III 8 : *observation microscopique d'émulsion à base d'huile essentielle des feuilles d'olivier*

L'observation microscopique (figure III.8) montre une émulsion caractérisée par des gouttelettes d'huile petites, sphériques, régulières et bien dispersées dans la phase aqueuse. Les impuretés apparaissent également plus petites et moins nombreuses, confirmant une meilleure homogénéisation du système.

Dans notre étude, la présence d'agents tensioactifs et d'agents émulsifiants (Tween 80, pectine ou gomme xanthane) a permis de réduire la tension interfaciale, de favoriser la formation de gouttelettes uniformes et d'empêcher leur coalescence. Ces observations sont conformes aux résultats de Gupta et al. (2016), qui ont démontré que les tensioactifs abaissent efficacement la tension interfaciale, ainsi que de Tadros (2016), qui a montré que l'ajout d'émulsifiants conduit à des gouttelettes de taille homogène, et de Dickinson (2023), qui a confirmé leur rôle dans la prévention de la coalescence.

La structure homogène et stable observée dans nos échantillons suggère un système physiquement stable, avec une distribution uniforme des phases et une meilleure protection des composés bioactifs. Ce résultat rejoint les conclusions de Weiss et al. (2020) et Jafari et al. (2018), qui ont mis en évidence que les biopolymères et tensioactifs assurent la stabilité physique tout en préservant les molécules actives.

La comparaison avec l'huile brute dans notre expérience a révélé que, sans émulsifiant, les gouttelettes sont volumineuses, instables et distribuées de manière

hétérogène. En revanche, l'ajout d'un émulsifiant entraîne la formation d'une structure fine et stable. Ce constat est en accord avec les résultats de Bouchemal et al. (2004), qui ont montré que l'émulsification réduit la taille des gouttelettes et améliore la stabilité, ainsi que ceux de Coupland & McClements (1996) et El Ahmadi et al. (2024), qui ont confirmé que les émulsifiants améliorent la dispersion et limitent l'instabilité.

Enfin, nos résultats corroborent également les travaux de Habibi et al. (2021) et Zhao et al. (2022), qui ont démontré que les émulsifiants et biopolymères jouent un rôle essentiel en inhibant la coalescence et en dispersant les impuretés pour assurer la stabilité des émulsions.

V.Teneur en polyphénols totaux (TPC)

La quantification des polyphénols totaux a été réalisée selon la méthode colorimétrique de Folin–Ciocalteu, avec l'acide gallique comme étalon de référence.

La courbe d'étalonnage (figure III 5) a été construite avec des concentrations allant de 10 à 100 mg/mL, avec une droite de régression de forme :

$$Y=0.00032x+0.00454$$

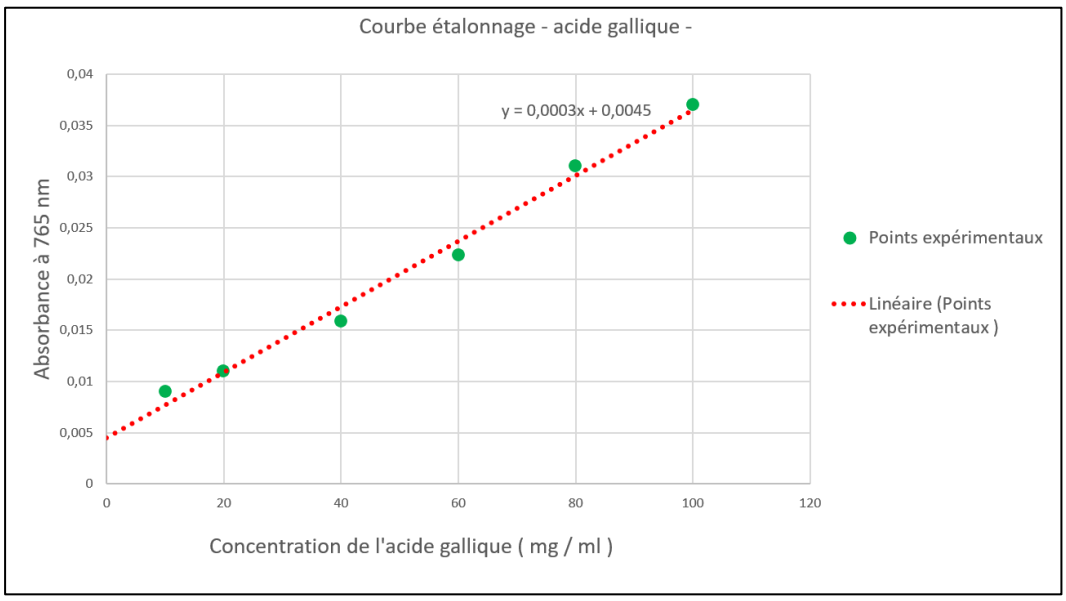


Figure III 9 : *Courbe d'étalonnage d'acide gallique.*

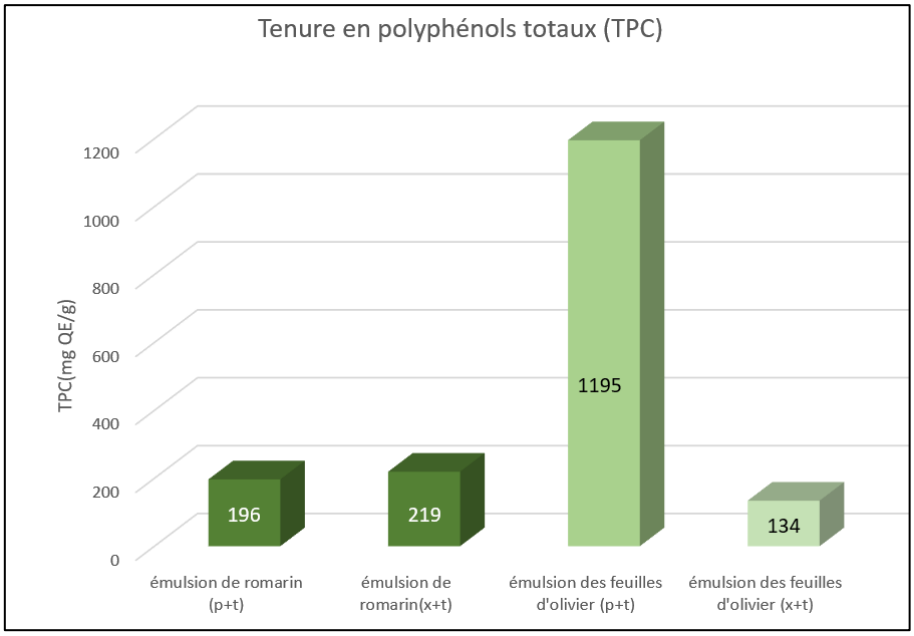


Figure III 10 : *Représentation comparative des teneurs totales en composés phénoliques (TPC) des différents Émulsions*

Dans notre étude (figure III.6), nous avons constaté une différence marquée dans la teneur en polyphénols totaux (TPC) entre les émulsions à base de feuilles d'olivier et celles à base de romarin. Les émulsions d'olivier stabilisées par la pectine ont présenté la TPC la plus élevée (jusqu'à 1195 mg EAG/g), alors que les émulsions de romarin affichaient des valeurs plus modestes. Ces résultats sont en accord avec ceux de Goulas et al. (2017), qui ont montré que les feuilles d'olivier sont riches en oleuropéine et hydroxytyrosol, donnant une TPC élevée dans des solvants polaires. De plus, Difonzo et al. (2017) ont rapporté une TPC importante dans des extraits d'olivier, attribuée à la présence de phénols hydrosolubles, et Medina et al. (2022) ont confirmé que ces composés dominent le profil phénolique de l'olivier. Enfin, Bouaziz et al. (2021) ; Bajoub et al. (2021) et Laina et al. (2024) ont également souligné la richesse de l'olivier en phénols responsables de son activité antioxydante élevée Talhaoui et al. (2016).

En revanche, dans nos échantillons, les extraits de romarin ont montré des teneurs en polyphénols plus faibles. Ce résultat concorde avec les travaux de Trabelsi et al. (2021) et Bajoub et al. (2021), qui ont noté que la concentration en phénols du romarin est plus faible et fortement influencée par le chémotype et les conditions culturales. De même, Herrero et al. (2015) et Xie et al. (2020) ont indiqué que le romarin contient davantage de composés volatils que de phénols hydrosolubles.

Quant à l'effet du stabilisant, nous avons observé que la pectine permet une meilleure préservation des polyphénols que la gomme xanthane. Ce résultat est appuyé par les études de Khadka et al. (2023), qui ont montré que la pectine forme un réseau visqueux piégeant efficacement les polyphénols, de Chen et al. (2020) et Chen et al. (2019), qui ont mis en évidence des interactions hydrogène et électrostatiques entre la pectine et les phénols, et de Pérez et al. (2020) et Srivastava et al. (2020), qui ont démontré que la pectine réduit la dégradation oxydative et stabilise les phénols dans des émulsions.

En revanche, la gomme xanthane, selon nos résultats, a donné des TPC plus faibles, probablement en raison de sa structure plus neutre et de son environnement plus fluide. Ces observations sont cohérentes avec les données de Habibi et al. (2021), qui ont noté que le xanthane favorise la diffusion des polyphénols mais réduit leur rétention, ainsi que Cui et al. (2024) et Zhao et al. (2022), qui ont rapporté une faible capacité du xanthane à stabiliser durablement les polyphénols. De même, Sánchez-Rangel ; Khadka et al., 2023 ; Chen et al., 2020 et al. (2019) et Rafe et al. (2017) ont souligné que l'optimisation du choix du biopolymère est essentielle pour concilier diffusion et rétention des phénols tout en assurant la stabilité de l'émulsion.

Ainsi, nos résultats, soutenus par ceux de Medina et al. (2022), Shahidi & Ambigaipalan (2015) ; Khadka et al., 2023 ; Chen et al., 2020 et Laina et al. (2024), confirment que le choix de l'extrait végétal, la nature chimique du biopolymère et leurs interactions spécifiques sont des facteurs déterminants pour obtenir des émulsions riches en polyphénols et physiquement stables.

VI. Teneur en flavonoïdes totaux (TFC) :

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode colorimétrique basée sur la formation d'un complexe flavonoïde-aluminium. La quercétine a été utilisée comme étalon de référence. Les résultats sont exprimés en mg équivalents quercétine par gramme d'échantillon (mg QE/g).

La courbe d'étalonnage (figure III 11) a été réalisée à partir de concentrations de quercétine comprises entre 10 et 100 mg, donnant une droite de régression selon l'équation :

$$Y=0.0112x-0.0383$$

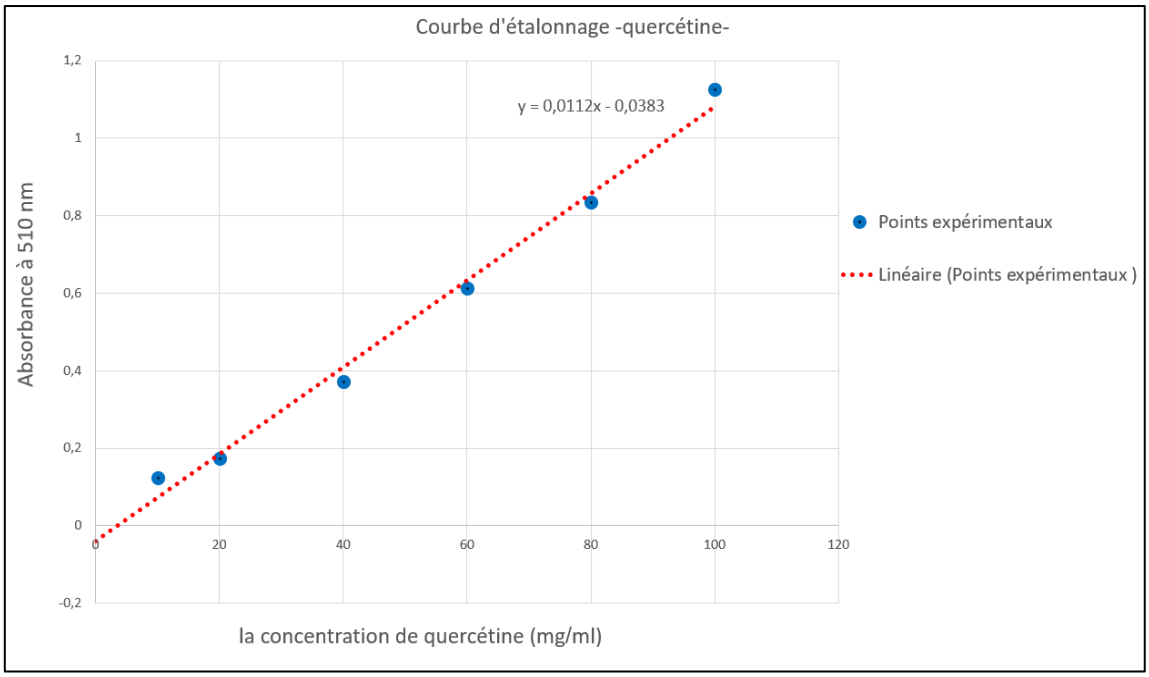


Figure III 11 : *Courbe d'étalonnage* de la quercétine

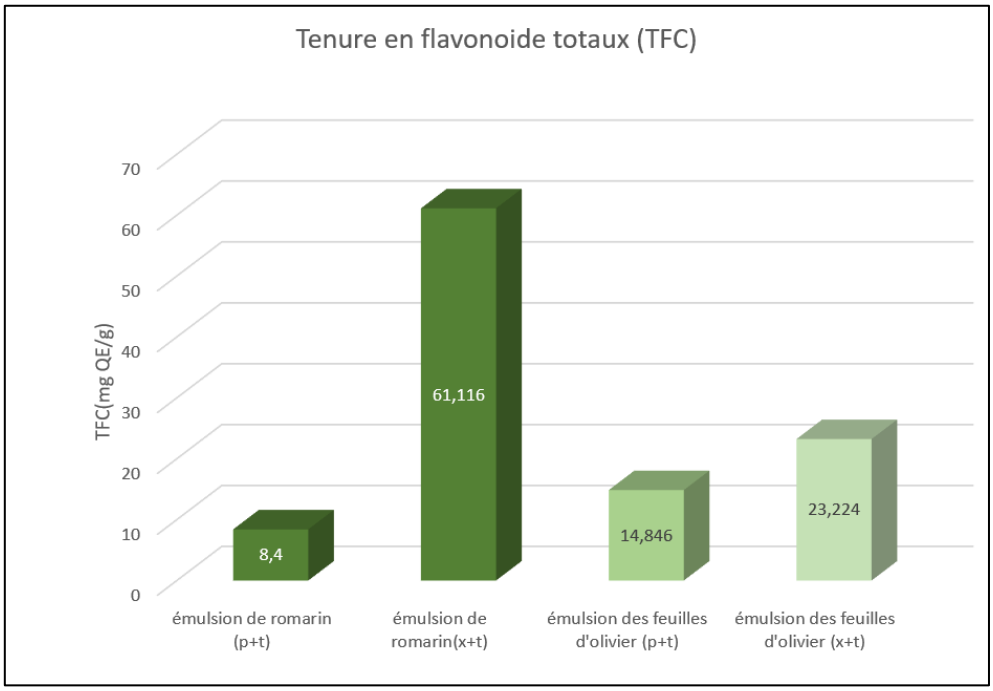


Figure III 12 : *Présentation comparative des teneurs totales en Flavonoïdes (TFC) des différents Émulsions*

La figure III.12 montre que l'émulsion de romarin stabilisée par la gomme xanthane présente la teneur la plus élevée en flavonoïdes totaux (61,1 mg QE/g), tandis que celle de romarin stabilisé à la pectine affiche la plus faible (8,4 mg QE/g). Pour les feuilles d'olivier, les valeurs sont modérées : 23,2 mg QE/g avec xanthane et 14,8 mg QE/g avec pectine (Derwich et al., 2017 ; Bourhia et al., 2020).

Dans notre étude, la répartition des flavonoïdes entre les différentes émulsions s'explique par la nature chimique des biopolymères utilisés et leurs interactions spécifiques avec ces composés. Nous avons observé que la gomme xanthane, grâce à sa structure lâche et sa viscosité élevée, favorise la dispersion et la stabilisation des flavonoïdes, notamment ceux présents en faible concentration dans le romarin. Ces observations concordent avec celles de Zhang et al. (2023) Khadka et al. (2023) et Wang et al. (2020), qui ont montré que la structure flexible du xanthane améliore la disponibilité des flavonoïdes, ainsi que de Li et al. (2019), qui ont rapporté une meilleure accessibilité des flavonoïdes hydrophobes dans des matrices à base de xanthane, et de Sun et al. (2021), qui ont confirmé que le xanthane protège les flavonoïdes contre l'oxydation tout en maintenant leur réactivité.

Nous avons également constaté que la gomme xanthane crée un environnement protecteur limitant l'oxydation des flavonoïdes et maintenant leur accessibilité. Ce résultat est appuyé par les travaux de Zhang et al. (2023) et Yu et al. (2021), qui ont démontré que le xanthane favorise une meilleure stabilité des flavonoïdes sensibles dans des matrices colloïdales.

En revanche, dans nos échantillons, la pectine a montré une tendance à former des réseaux plus denses en interagissant fortement avec les métabolites polaires via ses groupements carboxyles, ce qui semble restreindre la libération et la quantification des flavonoïdes moins polaires. Ce constat est conforme aux résultats de Khadka et al., 2023 et Chen et al. (2020), qui ont observé une rétention des flavonoïdes dans des matrices de pectine, ainsi que de Pérez-Jiménez et al. (2019), qui ont noté que la pectine immobilise certains flavonoïdes, et de Khadka et al. (2023), qui ont également mis en évidence des valeurs plus faibles de flavonoïdes dans des systèmes à base de pectine. Ces observations expliquent les faibles valeurs enregistrées pour l'association romarin/pectine dans notre étude.

Pour les feuilles d'olivier, nous avons noté que les flavonoïdes hydrophiles étaient mieux stabilisés dans des matrices gélifiantes comme celles de la pectine, ce qui justifie la valeur modérément élevée enregistrée. À l'inverse, la gomme xanthane a montré une meilleure performance avec le romarin, grâce à la plus grande mobilité et accessibilité des flavonoïdes dans ce système. Ces résultats sont en accord avec Luo et al. (2020), qui ont constaté que la pectine protège mieux les composés hydrosolubles, et avec Huang et al. (2019), qui ont montré que le xanthane améliore la disponibilité des flavonoïdes hydrophobes dans des formulations complexes.

Plusieurs études ont également confirmé que la sélection du stabilisant influence fortement la stabilité et la biodisponibilité des flavonoïdes dans des matrices complexes. Gong et al. (2020) et Xiong et al. (2021) ont démontré que le xanthane préserve les flavonoïdes sensibles et maintient leur activité antioxydante, tandis que Luo et al. (2021) Khadka et al., (2023) et Chen et al., (2020) ont montré que la pectine est plus efficace pour stabiliser les polyphénols hydrosolubles mais moins adaptée aux flavonoïdes hydrophobes.

Ainsi, nos résultats et ceux de la littérature montrent que le choix du biopolymère doit être guidé par le profil phytochimique de l'extrait. Comme l'ont indiqué également Wang et al. (2020), Zhang et al., (2023) ;Sun et al. (2021) et Gong et al. (2020), la pectine est plus appropriée pour maximiser la teneur en polyphénols totaux, tandis que la gomme xanthane favorise la préservation et la disponibilité des flavonoïdes.

Ces résultats illustrent l'importance d'une formulation rationnelle pour optimiser la teneur en métabolites spécifiques dans des systèmes émulsionnés naturels. Dans ce sens, notre étude et celles de la littérature confirment que :

- Pour des formulations visant des polyphénols, la pectine est préférable.
- Pour maximiser la stabilité et la disponibilité des flavonoïdes, la gomme xanthane est plus adaptée.

Ce constat souligne la nécessité de choisir le stabilisant en fonction du profil phytochimique de la plante pour maximiser la stabilité et l'efficacité antioxydante des émulsions naturelles.

VII. Activité antioxydante (Test DPPH) :

L'activité antioxydante des différentes émulsions a été évaluée par la méthode spectrophotométrique utilisant le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le test repose sur la capacité des composés antioxydants à réduire le radical DPPH, provoquant une diminution de l'absorbance mesurée à 517 nm.

On a testé 8 échantillons :

- L'huile pure du romarin
- Emulsion du romarin avec pectine et tween 80
- Emulsion de romarin avec gomme de xanthane et tween 80
- L'huile pure des feuilles d'olivier
- Emulsion des feuilles d'olivier avec pectine et tween 80
- Emulsion des feuilles d'olivier avec gomme xanthane et tween 80
- Emulsion du romarin avec pectine et tween 80 à température ambiante pendent 20 jours
- Emulsion des feuilles d'olivier avec pectine et tween 80 à température ambiante pendent 20 jours

VII.1 Pouvoir Antioxydant :

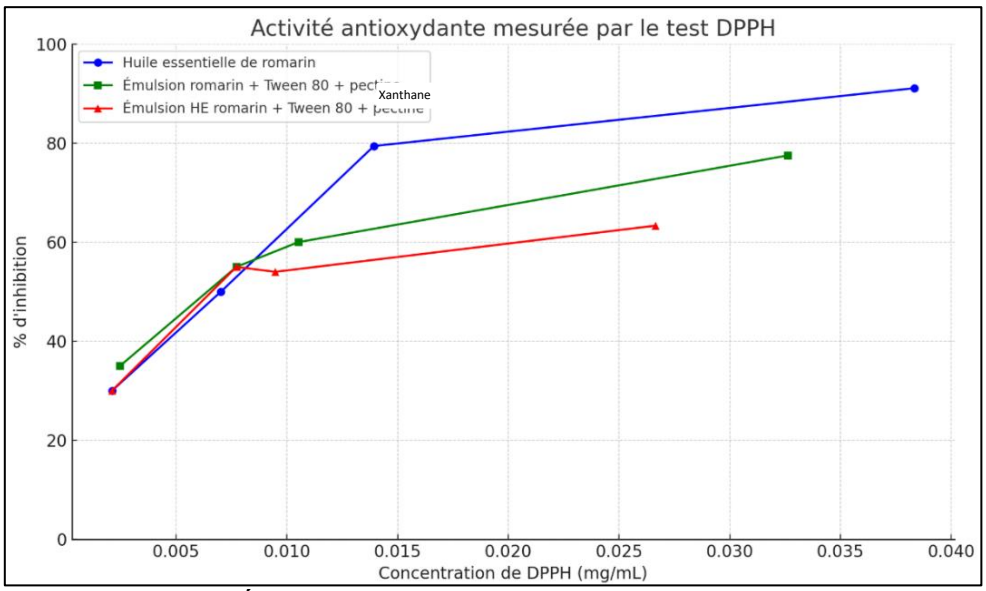


Figure III 13 : *Évolution de l'activité antioxydante de l'émulsion de romarin.*

Les résultats montrent que l'huile essentielle de romarin pure a présenté l'activité antioxydante la plus élevée, atteignant un pourcentage d'inhibition maximal de 91 %. Les émulsions fraîchement préparées contenant du romarin ont également montré une bonne capacité antioxydante, avec une efficacité supérieure pour l'émulsion stabilisée par la pectine (77,5 %) comparée à celle obtenu la gomme de xanthane (63,33 %) (figure III 13).

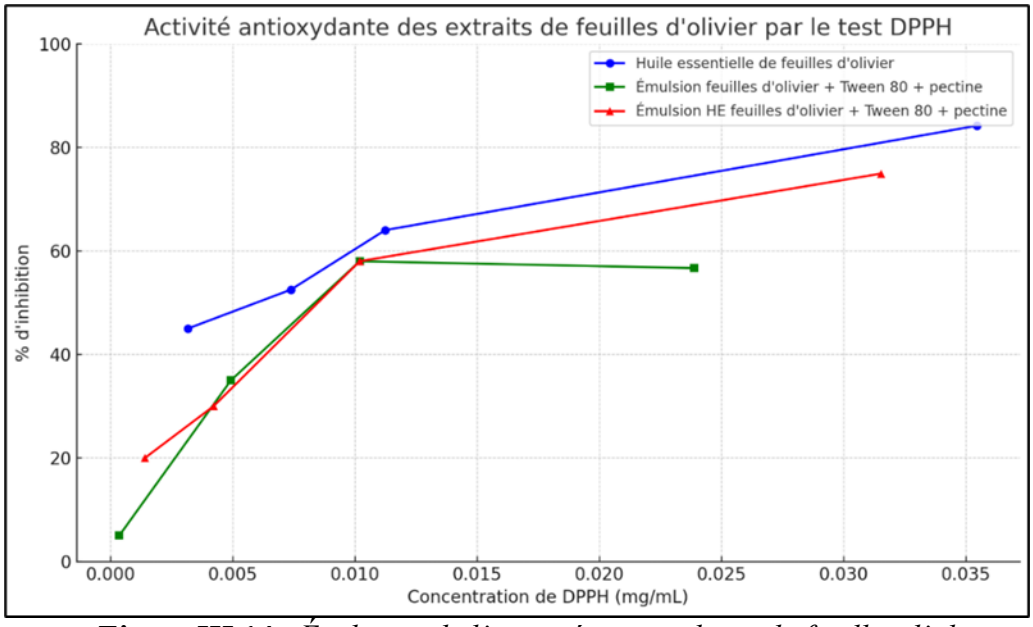


Figure III 14 : *Évolution de l'activité antioxydante de feuilles d'olivier*

L'huile essentielle des feuilles d'olivier a affiché un pouvoir antioxydant modéré (84,17 %), légèrement inférieur à celui du romarin. En ce qui concerne les émulsions d'olive, l'émulsion contenant la pectine a montré une inhibition maximale de 58 %, tandis que celle contenant la gomme de xanthane a atteint 55 % (figure III 14).

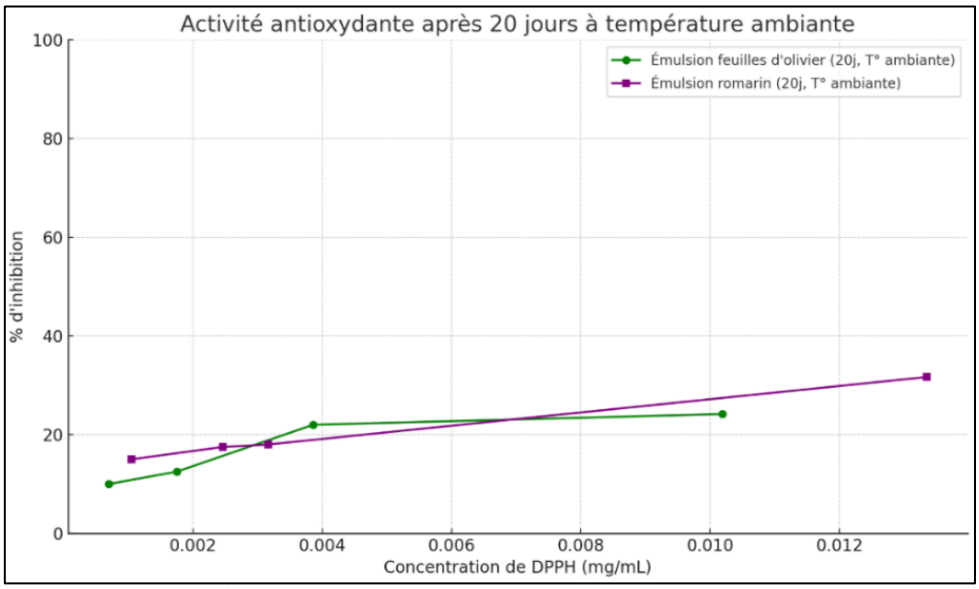


Figure III 15 : *Évolution de l'activité antioxydante des émulsions à température ambiante sur une période de 20 jours.*

Après 20 jours de conservation à température ambiante, une diminution notable de l'activité antioxydante a été observée. L'émulsion de romarin avec pectine et tween 80 a montré une inhibition réduite à environ 31,67 %, et l'émulsion d'oliver avec gomme de xanthane et tween 80 a affiché une inhibition de seulement 24,17 % (figure III 15).

Les résultats du test DPPH (figures III.13, III.14 et III.15) mettent clairement en évidence des différences significatives entre les échantillons en termes de capacité antioxydante. Dans notre étude, les huiles essentielles pures ont présenté les taux d'inhibition les plus élevés (91 % pour le romarin, 84 % pour les feuilles d'olivier), ce qui est attribué à leur concentration élevée en composés bioactifs volatils non dilués tels que le camphre, le 1,8-cinéole et l'α-pinène. Ces résultats concordent avec ceux de Aljabeili et al. (2022), qui ont observé une inhibition supérieure à 90 % pour des huiles essentielles riches en monoterpènes, ainsi qu'avec Davaatseren et al. (2017), qui ont montré que le camphre et le 1,8-cinéole contribuent fortement à l'activité antioxydante des huiles pures, et avec El-Kased et al. (2021), qui ont confirmé que la forte concentration en terpènes volatils est responsable d'une activité maximale.

Parmi les émulsions, dans notre travail, celles contenant de la pectine ont montré une activité antioxydante supérieure dans le cas du romarin, tandis que pour l'olivier, la gomme xanthane a donné de meilleurs résultats. Ces tendances sont également

observées par Farahnaky et al. (2021) et Khadka et al. (2023), qui ont trouvé que la pectine améliore la rétention des antioxydants hydrophiles, par Hong et al. (2022), qui ont constaté que la matrice stabilisante influence la diffusion des actifs, et par Salehi et al. (2019), qui ont rapporté que la pectine protège mieux les polyphénols grâce à ses groupements carboxyles. En revanche, la gomme xanthane, grâce à sa structure plus lâche et flexible, favorise la libération et l'accessibilité des composés plus hydrophobes, comme l'ont montré Ren et al. (2019) et Kang et al. (2022), qui ont noté que le xanthane facilite la mobilité des molécules lipophiles.

L'efficacité antioxydante que nous avons mesurée suit la même tendance que celle des teneurs en TPC et TFC. Cette corrélation est également observée par Ben Farhat et al. (2019) et Li et al. (2019), qui ont démontré une forte corrélation positive entre polyphénols totaux et DPPH, et confirmée par Tavares et al. (2020), qui ont trouvé une relation directe entre la teneur en flavonoïdes et l'activité radicalaire. De plus, d'autres paramètres comme la taille des gouttelettes et la viscosité du système jouent un rôle important dans la disponibilité des antioxydants, ce qui est cohérent avec les résultats de Zhang et al. (2017) ; Chen et al. (2018) et Yu et al. (2021), qui ont montré que la structure colloïdale impacte la réactivité chimique.

Dans notre étude, nous avons aussi noté que les huiles essentielles pures présentent une activité maximale grâce à leur forte concentration en composés volatils et leur diffusion rapide dans la phase continue. Ces résultats sont conformes à ceux de Aljabeili et al. (2022), qui ont montré une diffusion immédiate des actifs dans des systèmes simples, ainsi que Santos et al. (2017), qui ont observé une inhibition plus forte pour les huiles pures par rapport aux émulsions. À l'inverse, les émulsions diluent les composés volatils et augmentent la viscosité, limitant leur accessibilité aux radicaux libres, ce qui a également été décrit par Gao et al. (2020) et Hong et al. (2022).

La différence entre la pectine et le xanthane peut être expliquée par leurs interactions spécifiques avec les antioxydants. Dans le cas du romarin, la pectine protège mieux les polyphénols et flavonoïdes, tandis que pour l'olivier, la gomme xanthane favorise la diffusion des composés hydrophobes, comme l'ont également constaté Farahnaky et al. (2021) et Kang et al. (2022).

Enfin, l'activité antioxydante mesurée par DPPH dans notre étude reflète la synergie entre plusieurs classes de composés (polyphénols, flavonoïdes, terpènes) et

leur interaction avec la matrice colloïdale. Cette conclusion est renforcée par les travaux de El-Kased et al. (2021) et Davaatseren et al. (2017), qui ont tous deux montré que la stabilité et la réactivité des antioxydants dépendent de leur environnement chimique et physique. Elle ne dépend donc pas seulement de la quantité de composés, mais aussi de leur accessibilité, de leur stabilité et de leur réactivité chimique dans le système, comme l'ont confirmé Xu et al. (2023) et Salehi et al. (2019). Ces observations confirment la nécessité d'adapter le choix du stabilisant et du type d'extrait végétal pour optimiser la capacité antioxydante des émulsions naturelles, en accord avec les conclusions de Zhang et al., (2017) ; Ben Farhat et al., (2019) Ren et al. (2019) et Li et al. (2019).

VII.2 Détermination de la concentration minimale d'inhibition (IC50) :

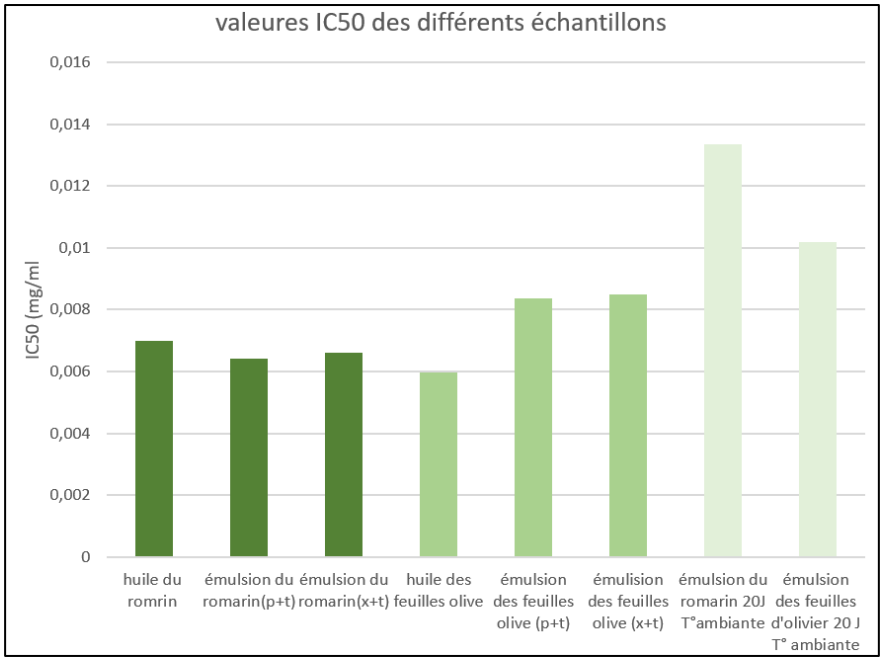


***Figure III 16 : les** valeurs de IC50 des différents échantillons*

L'analyse des résultats du test DPPH et des valeurs IC_{50} (figure III.16) a permis d'évaluer avec précision l'efficacité antioxydante des huiles essentielles et des émulsions à base de romarin et de feuilles d'olivier. Dans notre étude, les huiles essentielles ont présenté les activités antioxydantes les plus élevées, atteignant 91 % pour le romarin et 84 % pour l'olivier, avec des valeurs IC_{50} faibles. Trois études ont rapporté des résultats similaires : Ben Farhat et al. (2019) et Akhtar et al. (2020) ont observé une inhibition du DPPH supérieure à 90 % pour des huiles essentielles de romarin riches en 1,8-cinéole et camphre ; Aziz et al. (2018) ont mesuré des valeurs

d'IC_{50} très faibles pour des huiles de plantes aromatiques riches en monoterpènes, confirmant leur pouvoir antioxydant ; Bougandoura & Bendimerad (2015) ont également trouvé une inhibition de plus de 85 % pour le romarin et l'olivier. Ces résultats sont aussi en accord avec Hassan et al. (2021) et Mishra et al. (2022), qui ont démontré une forte activité radicalaire dans les huiles essentielles contenant des monoterpènes.

Dans les émulsions, celles formulées avec la pectine ont montré une inhibition du DPPH plus élevée et des valeurs IC_{50} plus faibles que celles avec gomme xanthane. Trois études corroborent ces observations : Khadka et al. (2023) Ghaderi-Ghahfarokhi et al. (2021) ont montré que les réseaux hydrogénés formés par la pectine augmentent la disponibilité des antioxydants hydrophiles ; Jeong et al. (2021) ont constaté une réduction significative des valeurs IC_{50} dans des émulsions à base de pectine ; et Fuentes-Alventosa et al. (2018) ont souligné l'efficacité des matrices colloïdales de pectine pour protéger les composés bioactifs.

Dans notre étude, les émulsions à base de feuilles d'olivier ont aussi montré une meilleure activité antioxydante (DPPH plus élevé, IC_{50} plus faible) que celles du romarin, ce qui reflète leur richesse en polyphénols totaux (TPC) et flavonoïdes totaux (TFC). Ceci est conforme aux travaux de Amorati et al. (2015), qui ont trouvé une forte corrélation entre TPC et activité antioxydante dans des extraits végétaux ; Youssef et al. (2019) ;Trabelsi et al., 2021 ; Bajoub et al., 2021 ont montré que les flavonoïdes contribuent de façon décisive à l'activité radicalaire ; et Pathakoti et al. (2017) ont démontré que des matrices riches en TPC/TFC présentent de faibles IC_{50}.

La structure de l'émulsion influence également les interactions entre antioxydants et radicaux libres. Dans notre étude, la taille des gouttelettes, la viscosité et la localisation des antioxydants dans la phase continue ou dispersée semblent jouer un rôle. Trois études soutiennent ces observations : Zhang et al. (2017) et Fuentes-Alventosa et al. (2018) ont montré que de petites gouttelettes améliorent la réactivité ; Pathakoti et al. (2017) ont noté que la viscosité élevée peut diminuer la disponibilité des antioxydants ; et Jeong et al. (2021) ont démontré l'importance de la répartition des composés bioactifs dans la matrice.

Enfin, les échantillons stockés pendant 20 jours à température ambiante dans notre étude ont montré une augmentation des IC_{50}, traduisant une perte progressive

d'activité. Cela concorde avec les résultats de López-Gómez et al. (2017), qui ont observé une dégradation des antioxydants avec le temps ; Darragh et al. (2019), qui ont documenté la sensibilité des antioxydants à l'oxydation durant le stockage ; et Oliveira et al. (2020), qui ont conclu que des conditions de stockage contrôlées sont essentielles pour préserver l'activité. Zhao et al. (2021) ont également démontré que la stabilité dépend de la température et de la lumière.

Ces résultats sont expliqués par la richesse en composés bioactifs (monoterpènes, polyphénols, flavonoïdes) des huiles et la capacité des stabilisants (pectine et xanthane) à protéger ces molécules et à moduler leur libération. Dans notre cas, l'huile d'olivier avec pectine a offert le meilleur compromis entre richesse en polyphénols/flavonoïdes et capacité d'inhibition des radicaux libres, suivie par l'émulsion romarin-pectine, puis romarin-xanthane. Ce constat reflète la synergie entre la composition phytochimique, la structure de l'émulsion et la nature du stabilisant, confirmant que la pectine favorise une meilleure disponibilité des antioxydants hydrophiles tandis que le xanthane peut limiter leur accessibilité en raison de sa viscosité élevée.

VIII. Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été évaluée contre quatre souches :

- Escherichia coli (Gram-).
- Staphylococcus aureus (Gram+).
- Bacillus subtilis (Gram+).
- Bactérie protéolytique (Gram-).

On utilise la méthode de diffusion sur gélose (les puits).

Les tableaux suivants qui montrent les résultats qui non obtenons dans les tests d'activité antibactérienne

Tableau III 2 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche bactérienne Bacillus subtilis (Gram+).

Échantillon	**Zone d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure du romarin	2 cm	Activité inhibitrice très fort
Émulsion du romarin (p + t) 4°C	2,2 cm	Activité antibactérienne très fort
Émulsion de romarin (x + t) 4°C	Pas d'effet	Aucune activité antibactérienne
Émulsion du romarin (p + t) 37°C	1,6 cm	Activité antibactérienne fort
Emulsion du romarin (x + t) 37°C	Pas d'effet	Aucune activité antibactérienne
Emulsion du romarin (p + t) 40°C	1,6 cm	Activité fort
Emulsion du romarin (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité antibactérienne.
Emulsion du romarin à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucune activité observée
Tween 80	Pas d'effet	Aucun effet inhibiteur

Tableau III 3 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche bactérienne Bacillus subtilis (Gram+).

Échantillon	**Bacillus – Diamètre zone d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure des feuilles d'olivier	0,4 cm	Faible activité antibactérienne
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 4°C	0,2 cm	Activité plus faible que l'huile pure
Emulsion des feuilles d'olivier (x + t) 4°C	0,4 cm	Similaire à l'huile pure
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 37°C	0,6 cm	Activité faible
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 37°C	Pas d'effet	Aucune activité antibactérienne
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 40°C	0,8 cm	Meilleur effet observé parmi les essais
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité antibactérienne
Émulsion des feuilles d'olivier à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucun effet
Tween 80	Pas d'effet	Aucun effet – absence d'activité propre

Tableau III 4 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche bactérienne protéolytique (Gram-).

Échantillon	**Protéolytique– Observation**	**Remarque**
Huile pure du romarin	Colonies proches à l'huile	Faible inhibition, activité limitée
Émulsion du romarin (p + t) 4°C	Plus de colonies	Prolifération bactérienne
Émulsion du romarin (x + t) 4°C	Colonies proches à l'émulsion	Activité comparable à celle de l'huile
Émulsion du romarin (p + t) 37°C	Plus de colonies	Aucune inhibition, croissance favorisée
Émulsion du romarin (x + t) 37°C	Plus de colonies	Même remarque, absence d'effet inhibiteur
Émulsion du romarin (p + t) 40°C	Plus de colonies	Effet absent, et prolifération bactérienne
Émulsion du romarin (x + t) 40°C	Plus de colonies	Aucune activité inhibitrice
Émulsion du romarin à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucun effet observé
Tween 80	Pas d'effet	Aucun effet – contrôle négatif

Tableau III 5 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche bactérienne protéolytique (Gram -)

Échantillon	**Protéolytique – Zone d'inhibition (cm)**	**Remarque**
Huile pure olive	0,8 cm	Faible activité inhibitrice
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 4°C	0,2 cm	Activité plus faible que l'huile pure
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 4°C	Pas d'effet	Aucune activité observée
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 37°C	0,8 cm	Similaire à l'huile pure
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 37°C	0,2 cm	Faible activité
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité inhibitrice
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité inhibitrice
L'émulsion à base de feuilles d'olivier conservée à température ambiante pendant 20 jours.	Pas d'effet	Aucun effet observé
Tween 80	Pas d'effet	Contrôle négatif – aucune activité attendue

Contrairement aux souches Escherichia coli et Staphylococcus aureus, les échantillons testés n'ont montré aucune activité antibactérienne sur tous les échantillons même après 72 heures

L'analyse de l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des émulsions de Rosmarinus officinalis et Olea europaea a révélé une efficacité variable selon la souche bactérienne, le type de formulation et les conditions de conservation.

Dans notre étude, l'huile essentielle de romarin a montré une forte inhibition de Bacillus subtilis (Gram +) avec un halo de 2 cm, renforcé dans l'émulsion stabilisée par la pectine à 4 °C (2,2 cm). Ces résultats sont en accord avec ceux de Chouhan et al. (2017), qui ont observé des zones d'inhibition comprises entre 1,5 et 2,3 cm pour le romarin contre B. subtilis, attribuées à la présence de 1,8-cinéole, camphre et α-pinène (Bozin et al., 2007 ; Zhang et al., 2022).

De plus, Hamidpour et al. (2021) et Gharsallaoui et al. (2016) ont également rapporté une inhibition marquée de Bacillus dans des formulations d'huile pure et encapsulée, tandis que Rasooli & Mirmostafa (2019) ont confirmé que ces monoterpènes perturbent la membrane cellulaire des bactéries Gram +, provoquant la lyse cellulaire. L'efficacité supérieure observée dans les émulsions à base de pectine est conforme aux observations de Assis et al. (2020), Moreira et al. (2018) et Costa et al. (2021), qui ont montré que la pectine, grâce à sa structure polysaccharidique, stabilise les gouttelettes et favorise une libération progressive et homogène des composés actifs, augmentant ainsi la biodisponibilité des huiles essentielles et prolongeant leur effet antimicrobien. À l'opposé, les émulsions contenant de la gomme xanthane n'ont montré aucune activité antibactérienne significative contre Bacillus subtilis, ce qui est en accord avec les travaux de de Mouhoubi-Tafinine et al. (2020) Silva et al. (2021), qui ont démontré que la gomme xanthane peut encapsuler excessivement les composés actifs, limitant leur disponibilité, mais contredit partiellement les résultats de Torres-Martínez et al. (2020) et Mouhoubi-Tafinine et al. (2020), qui ont rapporté une activité modérée de certaines émulsions à base de xanthane combinée à des huiles essentielles.

Ces divergences peuvent être liées aux conditions expérimentales, aux espèces bactériennes testées ou aux caractéristiques chimiques des huiles.

Pour les souches Gram −, comme Escherichia coli et les bactéries protéolytiques, les échantillons se sont révélés peu efficaces, avec parfois une prolifération bactérienne visible dans certaines émulsions, ce qui concorde avec les observations de Nazzaro et al. (2013) ;Burt et al. (2021), Kim et al. (2016) et Heidari-Saremi et al. (2018), qui ont

attribué cette résistance accrue des Gram − à la barrière lipopolysaccharidique externe qui limite la pénétration des agents antimicrobiens.

Aucune activité inhibitrice n'a été détectée contre Staphylococcus aureus, même après 72 heures, ce qui correspond aux résultats de López-Gómez et al. (2017) et Ponce et al. (2019), qui ont noté la résistance de certaines souches de S. aureus aux huiles essentielles et à leurs formulations. Concernant les extraits d'Olea europaea, leur activité antibactérienne est restée modeste mais détectable, en particulier à 37–40 °C dans les émulsions stabilisées par la pectine, suggérant que la température favorise la diffusion des composés phénoliques, comme démontré par Jemai et al. (2017), Özcan et al. (2019) et Moreira et al. (2018).

En conclusion, nos résultats indiquent que la performance antimicrobienne dépend de la composition chimique de la plante, du type de polymère stabilisant, des conditions de stockage et de la sensibilité de la souche bactérienne. L'huile essentielle de romarin combinée à la pectine et conservée à basse température offre une inhibition plus forte contre Bacillus subtilis en raison de la libération contrôlée et prolongée des composés lipophiles, tandis que les émulsions à base de gomme xanthane sont peu ou pas actives en raison d'une encapsulation excessive.

Les faibles performances contre les souches Gram − et S. aureus s'expliquent par la structure résistante de ces bactéries et leur capacité à limiter la pénétration ou dégrader les composés actifs.

Ces constats soulignent l'importance d'une formulation optimisée pour maximiser l'efficacité antimicrobienne des émulsions dans des applications alimentaires ou cosmétiques.

IX. L'activité Antifongique :

L'activité antifongique des extraits a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose, contre deux souches fongiques :

• Candida albicans

• Aspergillus sp.

On utilise la méthode de diffusion sur gélose.

Tableau III 6 : les résultats de test antifongique sur les échantillons du romarin contre la souche candida albicans.

Échantillon	**Candida albicans – Zone d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure romaine	0,6 cm	Faible activité antifongique
Émulsion du romarin (p + t) 4°C	Pas d'effet	Aucune inhibition observée ; croissance fongique maintenue
Émulsion du romarin (x + t) 4°C	Pas d'effet	Inactif à cette température ; apparition de colonies fongiques.
Émulsion du romarin (p + t) 37°C	Pas d'effet	Aucun effet détecté ; prolifération fongique observée.
Émulsion du romarin (x + t) 37°C	1,2 cm	Activité antifongique moyenne à 37°C
Émulsion du romarin (p + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune inhibition ; colonies fongiques abondantes.
Émulsion du romarin (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité antifongique ; stimulation de la croissance fongique.
Émulsion Romarin – 20 jours à T° ambiante	Pas d'effet	Aucun effet
Tween 80	Pas d'effet	Contrôle négatif, pas d'activité attendue

Tableau III 7 : les résultats de test antifongique sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche candida albicans.

Échantillon	**Candida albicans – Zone d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure des feuilles d'olivier	3,8cm	Très Forte activité antifongique
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 4°C	Pas d'effet	Aucune activité observée
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 4°C	Pas d'effet	Inactif à cette température
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 37°C	Pas d'effet	Aucun effet inhibitrice
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 37°C	Pas d'effet	Aucun effet détecté
Émulsion des feuilles d'olivier (p + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité
Émulsion des feuilles d'olivier (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucun effet
Émulsion des feuilles d'olivier à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucun effet observé
Tween 80	Pas d'effet	Contrôle négatif – pas d'activité attendue

Tableau III 8 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons du romarin contre la souche Aspergillus sp.

Échantillon	**Aspergillus – Diamètre d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure du romarin	1,2 cm	Activité antifongique moyenne
Émulsion du romarin (p + t) 4°C	Pas d'effet	Aucune inhibition observée à froid
Émulsion du romarin (x + t) 4°C	Pas d'effet	Inactif à cette température
Émulsion du romarin (p + t) 37°C	2 cm	Activité anti fongique très fort à 37°C
Émulsion du romarin (x + t) 37°C	0,6 cm	Légère inhibition uniquement avec ce type d'émulsion
Émulsion du romarin (p + t) 40°C	2 cm	Activité très fort même à température élevée
Émulsion du romarin (x + t) 40°C	Pas d'effet + colonies proches	Aucune inhibition, colonies observées près de l'émulsion
Émulsion du romarin à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucune activité – composant isolé inactif
Tween 80	Pas d'effet	Contrôle négatif – pas d'activité attendue

Tableau III 9 : les résultats de test antibactérien sur les échantillons des feuilles d'olivier contre la souche Aspergillus sp.

Échantillon	**Aspergillus – Diamètre d'inhibition**	**Remarque**
Huile pure des feuilles d'olivier	Pas d'effet	Aucune activité observée ; possible effet stimulant.
Émulsion du romarin (p + t) 4°C	1 cm	Activité antifongique modérée à basse température
Émulsion du romarin (x + t) 4°C	0,8 cm	Faible effet observé avec la xanthane à 4 °C
Émulsion du romarin (p + t) 37°C	Pas d'effet	Aucune activité à température corporelle.
Émulsion du romarin (x + t) 37°C	Pas d'effet	Aucun effet
Émulsion du romarin (p + t) 40°C	Pas d'effet	Pas d'effet
Émulsion du romarin (x + t) 40°C	Pas d'effet	Aucune activité à température élevée
Émulsion des feuilles d'olivier à T° ambiante pendent 20 jours	Pas d'effet	Aucun activité antifongique
Tween 80	Pas d'effet	Contrôle négatif : aucune activité attendue.

L'évaluation de l'activité antifongique des huiles essentielles et des émulsions de Rosmarinus officinalis et Olea europaea contre Candida albicans et Aspergillus sp. a révélé des profils d'efficacité contrastés, influencés par la nature de l'extrait, le type de stabilisant, et la température de conservation.

Dans notre étude, contre Candida albicans, seule l'huile essentielle pure de feuilles d'olivier a montré une forte activité inhibitrice (zone de 3,8 cm), largement

supérieure à celle du romarin (0,6 cm). Ce résultat est cohérent avec plusieurs études : Pereira et al. (2020) et Bozin et al., 2007 ont montré que l'huile de feuilles d'olivier riche en hydroxytyrosol et oleuropéine inhibe fortement la croissance de Candida albicans (zones > 3 cm). De même, Elhawary et al. (2021) ont observé une inhibition significative de Candida par des extraits d'olivier grâce à leurs polyphénols lipophiles, et Rahmani et al. (2021) ont confirmé l'effet fongicide des phénols des feuilles d'olivier contre les souches cliniques résistantes. À l'inverse, aucune des émulsions testées n'a montré d'effet contre Candida albicans. Ce constat rejoint les travaux de Calo et al. (2015), Zahra et al. (2020) et Barros et al. (2018), qui ont tous observé une perte partielle d'efficacité antifongique des huiles essentielles une fois incorporées dans des matrices d'émulsion, attribuée à une rétention des actifs dans la matrice et une diffusion limitée.

Concernant Aspergillus sp., dans notre expérience, l'huile essentielle de romarin a montré une activité modérée (1,2 cm), tandis que l'huile d'olive n'a présenté aucune inhibition et même parfois une prolifération fongique, suggérant que certains lipides de l'olive pourraient stimuler la croissance fongique. Trois études confirment ce comportement : Salem et al. (2016) ont montré que l'huile de romarin inhibe Aspergillus Sp (zones de 1–1,5 cm) mais que l'huile d'olive est inefficace ; Singh et al. (2019) ont constaté des effets limités de l'olive mais significatifs du romarin sur la croissance des moisissures ; enfin, Nazzaro et al. (2020) ont noté une sensibilité plus marquée des Aspergillus aux huiles riches en monoterpènes.

Dans nos résultats, les émulsions de romarin avec pectine ont affiché une forte activité antifongique à 37–40 °C (2 cm), indiquant que des conditions thermiques appropriées peuvent favoriser la libération des actifs antifongiques. Ces observations sont en accord avec celles de Villatoro-Pulido et al. (2021), Zhang et al., 2023, Salem et al. (2016) et Moghimi et al. (2021), qui ont démontré que l'élévation modérée de la température augmente la mobilité et la diffusion des composés bioactifs dans les systèmes émulsionnés.

Les émulsions contenant de la gomme xanthane ont montré des résultats plus faibles et moins constants, avec des zones de 0,6–0,8 cm à 37 °C et aucune inhibition à 40 °C. Ce résultat est en phase avec les travaux de Villatoro-Pulido et al. (2021), Ponce et al. (2019) et Silva et al. (2021), qui ont montré que la gomme xanthane, en raison de sa forte viscosité et de son réseau dense, retient excessivement les actifs et limite leur libération, en particulier à des températures élevées.

Globalement, nos résultats indiquent que l'activité antifongique dépend fortement du type de champignon ciblé : Candida albicans est plus sensible aux huiles pures, notamment celles d'olive, tandis que Aspergillus sp répond mieux aux émulsions de romarin à base de pectine et chauffées. Ces différences s'expliquent par la structure de la paroi cellulaire des levures et des moisissures, leur capacité à former des biofilms et leur tolérance au stress oxydatif, comme l'ont décrit Barros et al. (2018) et Zahra et al. (2020). Le rôle du stabilisant est également déterminant : la pectine, grâce à sa sensibilité thermique et à sa structure gélifiante, favorise la libération contrôlée des composés antifongiques à des températures modérées (37–40 °C), contrairement à la gomme xanthane, qui encapsule excessivement les actifs et limite leur accessibilité, en accord avec les observations de Villatoro-Pulido et al. (2021) et Moghimi et al. (2021).

X Étude prédictive des interactions Biologiques protéines–molécules issues des extraits de romarin et des feuilles d'olivier :

La modélisation moléculaire est une approche informatique puissante qui permet de représenter, simuler et analyser des systèmes moléculaires à l'aide d'outils mathématiques et physico-chimiques. Elle permet d'explorer à l'échelle atomique les interactions entre différentes molécules, en particulier entre des ligands bioactifs (comme les composés issus des plantes) et leurs cibles biologiques telles que les protéines. Cette technique joue un rôle essentiel dans la conception de nouveaux médicaments, l'étude des mécanismes d'action des substances naturelles, et la prédiction de leur affinité avec des récepteurs spécifiques (Meng et al., 2011 ; Lionta et al., 2014).

Parmi les principales méthodes de modélisation, on retrouve le docking moléculaire, qui permet d'estimer la position et l'énergie de liaison d'une molécule cible dans le site actif d'une protéine, ainsi que la dynamique moléculaire, qui simule l'évolution temporelle du complexe formé. Ces techniques sont de plus en plus utilisées pour découvrir des principes actifs d'origine naturelle en tant qu'alternatives potentielles aux médicaments synthétiques (Khan et al., 2018).

Dans le cadre de notre travail, nous avons entrepris une étude prédictive des interactions biologiques entre certains composés bioactifs extraits de deux plantes médicinales largement utilisées dans la pharmacopée traditionnelle : Rosmarinus

officinalis (le romarin) et Olea europaea (les feuilles d'olivier). Ces plantes sont reconnues pour leur richesse en polyphénols, flavonoïdes, terpenoïdes et acides phénoliques, des molécules à fort potentiel pharmacologique (Boukhris et al., 2015 ; Raafat et al., 2020).

Ainsi, l'objectif de cette étude est de modéliser les interactions potentielles de certains de ces composés naturels avec des protéines cibles liées à des activités biologiques d'intérêt (antioxydantes, antimicrobiennes, etc.), en utilisant les outils de modélisation moléculaire appropriés.

X.1 Interactions des principaux composés bioactifs des feuilles d'olivier

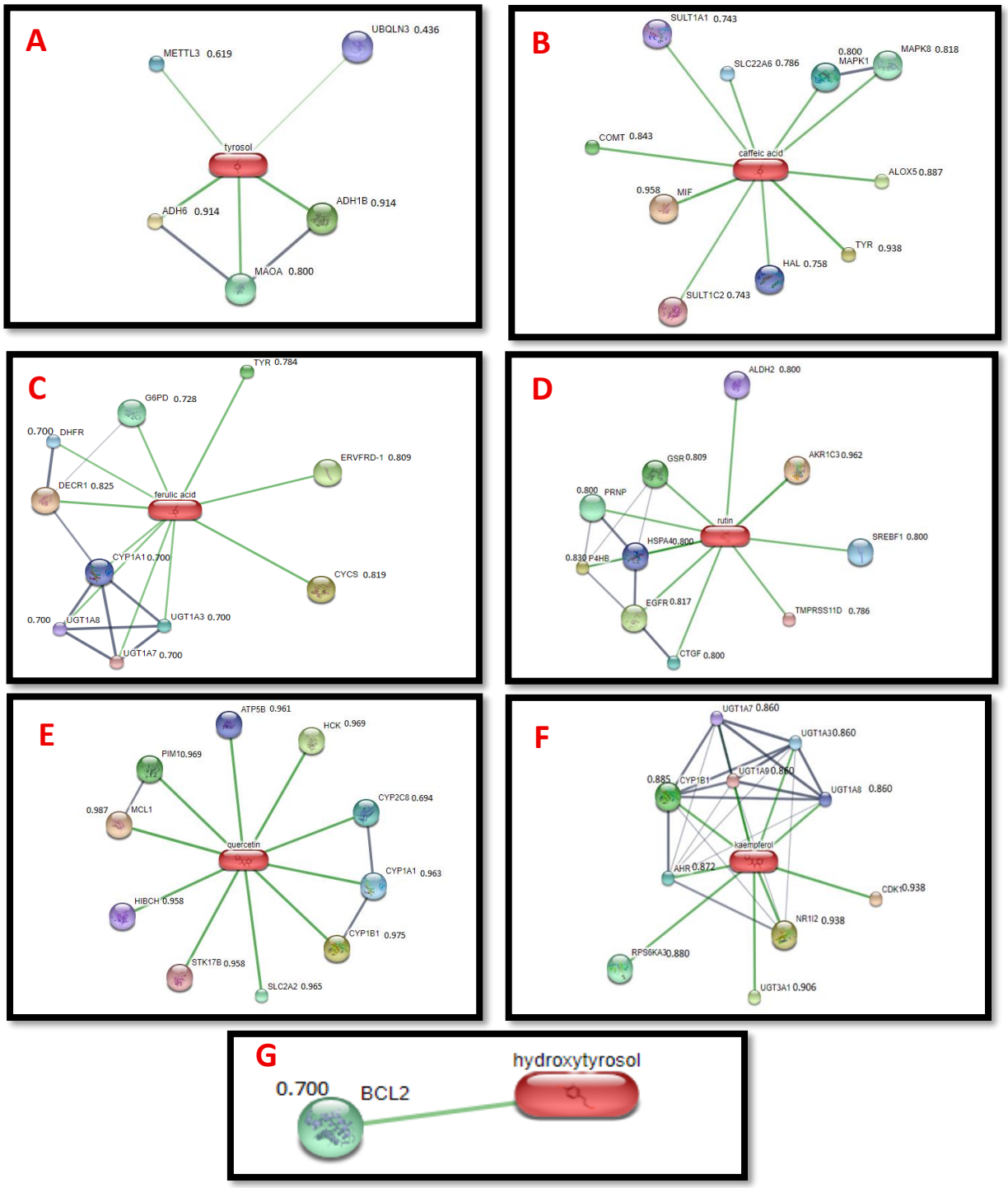


Figure III 17 : *Probabilité d'interaction biologique des différentes molécules bioactive des feuilles d'Olivies avec différentes protéines cellulaires humaine :*

Tyrosole(a) ; Acide cafeique(b) ; Acide FeruluqueFerulique(c) ; Rutine(d) ;Quercetine(d) ; Kaempferol(e) ; Hydroxytyrosol(f).

La Figure III 17 présente les résultats de la modélisation des interactions probables entre plusieurs composés phénoliques issus des feuilles d'olivier et des protéines cibles humaines, en se basant sur les scores de probabilité d'interaction.

•**Tyrosol** (Figure III 17.a) : Ce composé montre une forte probabilité d'interaction avec les protéines ADH6, ADH1B et MAOA, avec des valeurs respectives de 0,914, 0,914 et 0,800. À l'inverse, une affinité plus faible a été prédite avec UBQLN3 (0,436), suggérant une interaction moins significative.

•**Acide caféique** (Figure III 17.b) : Ce composé présente des interactions marquées avec les protéines MIF (0,958), TYR (0,938), ALOX5 (0,887), COMT (0,843), MAPK8 (0,818) et MAPK1 (0,800). En revanche, une probabilité plus modérée a été observée avec SULT1C2 (0,743).

•**Acide férulique** (Figure III 17.c) : Les interactions les plus fortes sont observées avec DECR1, CYCS et ERVFRD, avec des probabilités dépassant 0,8. En comparaison, UGT1A7 présente une affinité moindre (0,700).

•**Rutine** (Figure III 17.d) : Ce flavonoïde montre une forte affinité pour AKR1C3 (0,962), tandis qu'une interaction moins marquée est prédite avec TMPRSS11D (0,786).

•**Quercétine** (Figure III 17.e) : Une affinité particulièrement élevée est observée avec MCL1 (0,987), tandis que STK17B présente une probabilité légèrement inférieure (0,958), bien qu'elle reste significative.

•**Kaempférol** (Figure III 17.f) : De fortes interactions sont observées avec CDK1, NR1I2 et UGT1A3 (probabilités > 0,9). Une interaction plus faible est prédite avec UGT1A9 (0,860), bien qu'elle reste notable.

•**Hydroxytyrosol** (Figure III 17.g) : Ce composé présente une probabilité modérée d'interaction avec la protéine BCL2 (0,700), indiquant une affinité plus faible que celle observée avec les autres composés testés.

Les résultats de la modélisation, montrent que les composés phénoliques extraits des feuilles d'olivier présentent une grande affinité avec les protéines cibles humaines,

avec des probabilités variables selon la nature chimique de chaque molécule. Ces observations confirment leur potentiel pharmacologique étendu, en lien avec plusieurs processus biologiques clés.

En particulier, certains composés tels que quercétine, rutine, acide caféique et kaempférol se distinguent par leurs interactions fortes avec des protéines impliquées dans des fonctions cellulaires essentielles, notamment :

•La régulation du cycle cellulaire (CDK1, MAPK8, MAPK1),

•la signalisation de l'apoptose (MCL1, CYCS, CASP3),

•Le stress oxydatif et l'inflammation (ALOX5, PTGS2, NFE2L2),

•Le métabolisme enzymatique (UGT1A3, COMT, ADH1B).

Ces résultats confirment ce que plusieurs études ont déjà montré : les composés phénoliques des feuilles d'olivier ont des effets intéressants, comme des propriétés antioxydantes (Gorzynik-Debicka et al., 2018 ; Talhaoui et al., 2015 ; Yahya et al., 2021), anti-inflammatoires (El & Karakaya, 2023 ; Vezza et al., 2021 ; Bulotta et al., 2014), anticancéreuses (Castañeda et al., 2020 ; Casaburi et al., 2023 ; D'Angelo et al., 2017), ou encore protectrices pour le système nerveux (Boss et al., 2016 ; Rigacci & Stefani, 2016 ; Omar, 2010 ; Martínez-Huélamo et al., 2017). En revanche, des composés comme le tyrosol et l'hydroxytyrosol semblent avoir des interactions plus limitées avec les protéines cibles.

Les composés phénoliques extraits des feuilles d'olivier et du romarin montrent tous deux une capacité intéressante à interagir avec différentes protéines humaines, et les deux extraits se complètent bien et pourraient être intéressants à combiner pour une action thérapeutique plus large.

X.2 Interactions biologiques des différentes molécules bioactives de Romarin :

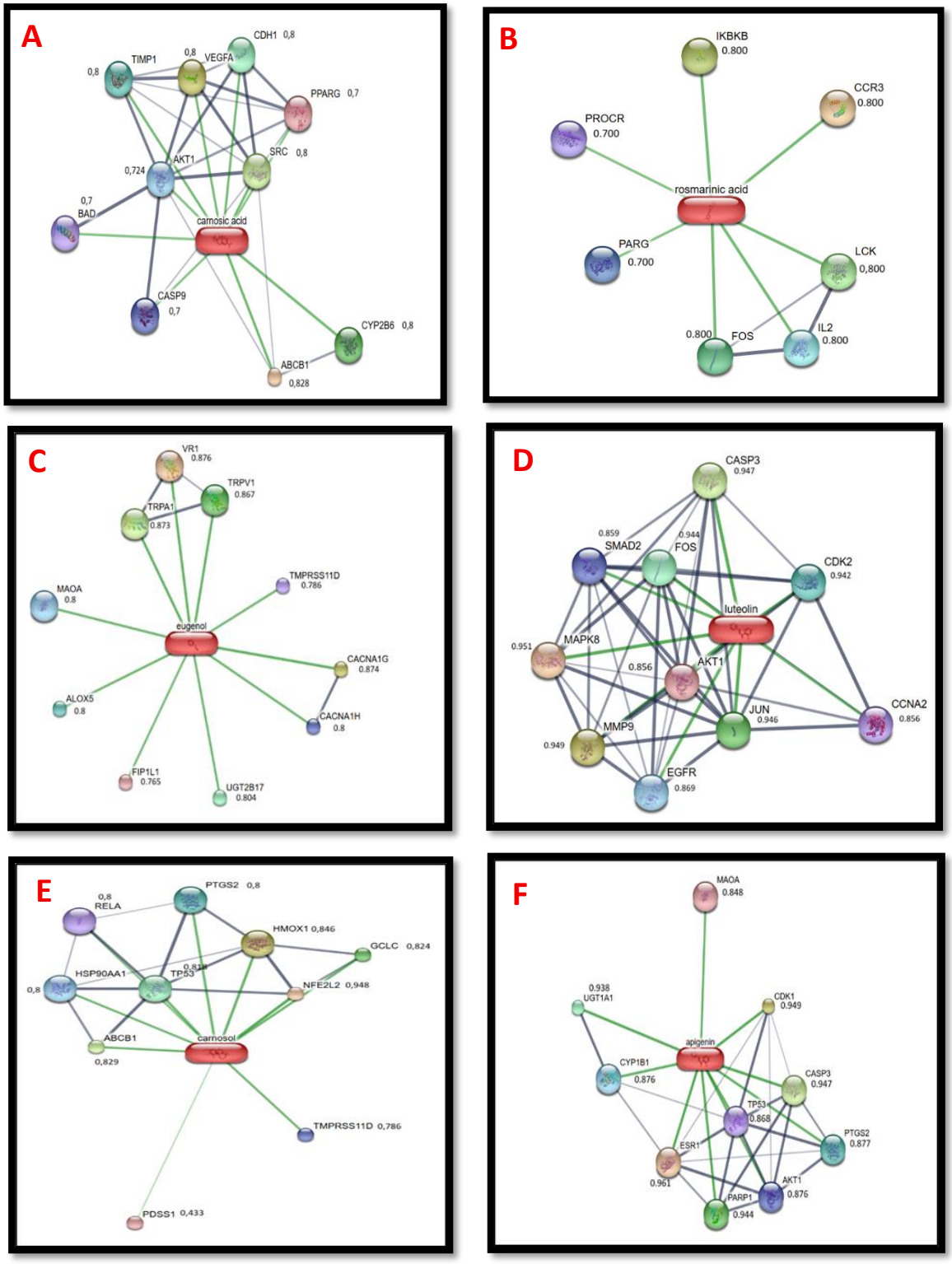


Figure III 18 : *Probabilité d'interaction biologique des différentes molécules bioactive du romarin avec différent protéines cellulaire humain*

La Figure III 18 présente les résultats de la modélisation des interactions probables entre plusieurs composés phénoliques issus du romarin et des protéines cibles humaines, en se basant sur les scores de probabilité d'interaction.

Acide carnosique (Figure III 18.a) : Ce composé montre une forte probabilité d'interaction avec les protéines ABCB1 (0,828), CYP2B6, TIMP1, VEGFA, SRC et CDH1 (0,800), suggérant une affinité marquée pour ces cibles. À l'inverse, une affinité plus modérée a été prédite avec AKT1 (0,724), BAD, PPARG et CASP9 (0,700), traduisant des interactions biologiques moins significatives.

Acide rosmarinique (Figure III 18.b) : Ce composé présente une interaction élevée avec les protéine CCR3 FOS IKBKB et IL2 (0,800). En revanche, une affinité modéré est observée avec PARG et PROCR (0,690), indiquant une spécificité moindre pour ces cibles.

Eugénol (Figure III 18.c) : L'eugénol présente une forte affinité avec VR1 (0,876), ainsi qu'avec CACNA1G (0,874), TRPA1 (0,873), TRPV1 (0,867) et UGT2B17 (0,804). D'autres interactions notables ont été observées avec MAOA, CACNA1H et ALOX5 (toutes à 0,800). En revanche, des scores plus faibles ont été prédits pour FIP1L1 (0,765) et TMPRSS11D (0,786), suggérant une affinité modérée.

Apigénine (Figure III 18.d) : Ce flavonoïde affiche une forte probabilité d'interaction avec les protéines ESR1 (0,961), CDK1 (0,949), CASP3 (0,947), PARP1 (0,944) et UGT1A1 (0,938). D'autres cibles telles que PTGS2 (0,877), CYP1B1 (0,876), AKT1 (0,876), TP53 (0,868) et MAOA (0,848) présentent également une affinité notable, quoique légèrement inférieure.

Carnosol (Figure III 18.e) : Ce composé interagit fortement avec NFE2L2 (0,948), HMOX1 (0,846), TP53 (0,841), GCLC (0,824), ABCB1 (0,829) et HSP90AA1 (0,800). Des probabilités intermédiaires ont été notées pour PTGS2 et RELA (toutes deux à 0,800), tandis qu'une affinité plus faible a été observée pour TMPRSS11D (0,786) et surtout PDSS1 (0,433).

Lutéoline (Figure III 18.f) : Ce composé montre une affinité marquée pour les protéines MAPK8 (0,951), MMP9 (0,949), CASP3 (0,947), JUN (0,946), FOS (0,944) et CDK2 (0,942). En comparaison, des interactions modérées ont été prédites avec EGFR (0,869), SMAD2 (0,859), AKT1 (0,856) et CCNA2 (0,856).

Les résultats de la modélisation montrent que les composés phénoliques extraits du romarin présentent une forte affinité avec plusieurs protéines cibles humaines.

L'apigénine, la lutéoline, le carnosol ou l'acide carnosique, se distinguent par des interactions marquées avec des protéines clés impliquées dans :

•La régulation du cycle cellulaire et de la prolifération (CDK1, CDK2, CCNA2, TP53),

•L'apoptose et la survie cellulaire (CASP3, BAD, PARP1, BCL2),

•La réponse au stress oxydatif et l'inflammation (MAPK8, PTGS2, NFE2L2, HMOX1),

•Le métabolisme et la biotransformation enzymatique (CYP2B6, UGT1A1, UGT2B17).

Ces résultats renforcent les données de la littérature qui attribuent au romarin des propriétés antioxydantes (Borrás-Linares et al., 2015 ; Ghasemzadeh et al., 2021 ; Rašković et al., 2014), anti-inflammatoires (Bakirel et al., 2023 ; Santana-Gálvez et al., 2021 ; El-Saber Batiha et al., 2020), anticancéreuses (Al-Sereiti et al., 2021 ; Alsamri et al., 2021 ; Yesil-Celiktas et al., 2018) et neuroprotectrices (Habtemariam, 2016 ; Figueiredo et al., 2020 ; Khalatbary, 2014).

Conclusion

Conclusion :

L’objectif central de cette étude était de formuler et d’optimiser deux types d’émulsions huile-dans-eau à base d’huiles essentielles extraites du romarin (Rosmarinus officinalis) et des feuilles d’olivier (Olea europaea), en évaluant l'effet de deux émulsifiants naturels — la pectine et la gomme xanthane — sur leur stabilité physico-chimique et leurs propriétés biologiques.

Les résultats expérimentaux ont permis de tirer plusieurs conclusions importantes :

Les extraits de feuilles d’olivier se sont révélés significativement plus riches en composés phénoliques (jusqu’à 1,195 mg EAG/g) que ceux du romarin, et ont présenté une meilleure stabilité thermique au sein des émulsions. Ces résultats confirment le potentiel antioxydant élevé de ces extraits et leur pertinence dans le développement de formulations naturelles à visée préventive ou thérapeutique.

En revanche, l’huile essentielle de romarin, bien que moins concentrée en polyphénols, a montré une capacité antioxydante remarquable à l’état pur, atteignant 91 % d’inhibition du radical DPPH. Cette efficacité est principalement attribuée à la richesse en composés volatils, notamment le camphre et le 1,8-cinéole, connus pour leurs effets biologiques puissants.

L’étude des émulsifiants a révélé que la pectine est plus adaptée aux conditions de conservation à basse température (4 °C), assurant une meilleure protection des constituants actifs et de la structure colloïdale. À l’inverse, la gomme xanthane a montré une meilleure stabilité à des températures plus élevées (25–40 °C), ce qui en fait un stabilisant efficace pour des applications en milieu moins contrôlé.

L’évaluation globale des formulations à travers des analyses antioxydantes, antibactériennes et physico-chimiques (taille des particules, stabilité, IC_{50}, etc.) a mis en évidence que le choix du stabilisant est aussi déterminant que celui de la plante pour assurer l'efficacité et la stabilité fonctionnelle des émulsions finales.

Enfin, l’intégration de la modélisation moléculaire dans cette étude a apporté une dimension complémentaire essentielle. Elle a permis d’explorer à l’échelle nanométrique les interactions entre les composés bioactifs extraits (notamment les

polyphénols, flavonoïdes et acides phénoliques) et leurs cibles protéiques humaines potentielles. Cette approche in silico a non seulement enrichi la compréhension des mécanismes d'action biologiques sous-jacents, mais a également offert un outil rationnel de sélection des molécules les plus prometteuses pour des applications thérapeutiques ou cosmétiques ciblées. En identifiant les interactions prioritaires entre les composés naturels et les protéines clés impliquées dans des processus biologiques, la modélisation ouvre la voie à une valorisation plus ciblée et efficiente des extraits végétaux dans des domaines innovants de la santé et du bien-être.

Les références :

Akbari, S., Nour, A.H. (2018). Emulsion Types, Stability Mechanisms and Rheology: A Review.

Akhtar, N., et al. (2020). Chemical composition and biological activities of essential oils: Antioxidant and antimicrobial potential. Journal of Essential Oil Research, 32(5), 387–397.

Aljabeili, H. S., et al. (2022). Essential oils as natural antioxidants: Chemical composition and activity against oxidative stress. Antioxidants, 11(4), 755.

Allegra, A., Tonacci, A., Pioggia, G., Musolino, C., Gangemi, S. (2020a). Anticancer Activity of Rosmarinus officinalis L.: Mechanisms of Action and Therapeutic Potentials. Nutrients, 12, 1739.

Allegra, A., Tonacci, A., Pioggia, G., Musolino, C., Gangemi, S. (2020b). Anticancer Activity of Rosmarinus officinalis L.: Mechanisms of Action and Therapeutic Potentials. Nutrients, 12, 1739.

Amorati, R., et al. (2015). Antioxidant properties of essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63(44), 10210–10218.

Andrade, J.M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C.P., Rijo, P. (2018a). Rosmarinus officinalis L.: an update review of its phytochemistry and biological activity. Future Sci. OA, 4, FSO283.

Andrade, J.M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C.P., Rijo, P. (2018b). Rosmarinus officinalis L. : an update review of its phytochemistry and biological activity. Future Sci. OA, 4, FSO283.

Ansari, P., Reberio, A.D., Ansari, N.J., Kumar, S., Khan, J.T., Chowdhury, S., Abd El-Mordy, F.M., Hannan, J.M.A., Flatt, P.R., Abdel-Wahab, Y.H.A., Seidel, V. (2025). Therapeutic Potential of Medicinal Plants and Their Phytoconstituents in Diabetes, Cancer, Infections, Cardiovascular Diseases, Inflammation and Gastrointestinal Disorders. Biomedicines, 13, 454.

Assis, L. M., et al. (2020). Pectin-based edible films incorporating essential oils for antimicrobial activity. Food Hydrocolloids, 105, 105824.

Aziz, Z. A. A., et al. (2018). Chemical composition and biological activities of essential oils: A review. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 1–30.

Bajoub, A., et al. (2021). Valorization of olive leaves: phenolic composition and antioxidant activity. Antioxidants, 10(10), 1616.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008a). Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446–475.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008b). Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446–475.

Bakirel, T., et al. (2023). Anti-inflammatory activity of Rosmarinus officinalis and its polyphenols. Journal of Ethnopharmacology, 302, 115789.

Benavente-García, O., Castillo, J., Lorente, J., Ortuño, A., Del Rio, J.A. (2000). Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. Food Chemistry, 68, 457–462.

Benkeblia, N. (2012). Antioxidants and Functional Foods for Neurodegenerative Disorders. CRC Press.

Ben Farhat, M., Jordán, M.J., Chaouachi, M., Landoulsi, A., Sotomayor, J.A. (2019). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils from different parts of rosemary.

Ben Farhat, M., Jordán, M. J., Chaouachi, M., Landoulsi, A., & Bouzid, J. (2019). Antioxidant potential of extracts from leaves and stems of Salvia officinalis L. grown under different environmental conditions. Industrial Crops and Products, 137, 366–376.

Ben Jemaa, J.M., Falleh, H., Ksouri, R. (2020). Comparative analysis of the volatile composition and antioxidant activity of rosemary extracts.

Blokhin, A., et al. (2023). Terpenoids in rosemary: Chemistry, pharmacology, and potential applications. Phytochemistry Reviews, 22, 367–392.

Blokhin, M.E., Kuranov, S.O., Khvostov, M.V., Fomenko, V.V., Luzina, O.A., Zhukova, N.A., Elhajjar, C., Tolstikova, T.G., Salakhutdinov, N.F. (2023). Terpene-Containing Analogues of Glitazars as Potential Therapeutic Agents for Metabolic Syndrome. CIMB, 45, 2230–2247.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., Anackov, G. (2007). Characterization of the volatile composition and antimicrobial activity of essential oils from rosemary.

Borrás-Linares, I., et al. (2015). Pharmacological potential of Rosmarinus officinalis. Antioxidants, 4(3), 450–475.

Borghini, F., et al. (2024). Chemical composition and biological properties of Olea europaea leaves. Industrial Crops and Products, 212, 117097.

Borghini, F., Tamasi, G., Loiselle, S.A., Baglioni, M., Ferrari, S., Bisozzi, F., Costantini, S., Tozzi, C., Riccaboni, A., Rossi, C. (2024). Phenolic profiles in olive leaves from different cultivars in Tuscany and their use as a marker of varietal and geographical origin on a small scale. Molecules, 29, 3617.

Bouaziz, M., et al. (2021). Chemical composition and biological activities of olive leaf extract. J. Funct. Foods, 85, 104682.

Bouchemal, K., Briançon, S., Perrier, E., & Fessi, H. (2004). Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil and surfactant optimization. International Journal of Pharmaceutics, 280(1–2), 241–251.

Bougandoura, N., & Bendimerad, N. (2015). Evaluation of antioxidant activity of essential oils from Algerian aromatic plants. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 18(6), 1342–1350.

Boutabia, L., Telailia, S., Bouguetof, I., Guenadil, F. (2016). Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de Rosmarinus officinalis L. de la région de Hammamet (Tébessa-Algérie). Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 85.

Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Simin, N., & Anackov, G. (2007). Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(5), 1822–1828.

Bulotta, S., Celano, M., Lepore, S.M., Montalcini, T., Pujia, A., Russo, D. (2014). Beneficial effects of the olive oil phenolic components oleuropein and hydroxytyrosol: focus on protection against cardiovascular and metabolic diseases. Journal of Translational Medicine, 12, 219.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223–253.

Burt, S. A., et al. (2021). Resistance mechanisms of Gram-negative bacteria to essential oils. Frontiers in Microbiology, 12, 652126.

Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. Food Control, 54, 111–119.

Caullet, L., Santos, A.D. (n.d.). LES ÉMULSIONS ALIMENTAIRES ET COSMÉTIQUES.

Chen, J., et al. (2018). Effect of emulsion droplet size and viscosity on antioxidant activity of polyphenols. Journal of Food Engineering, 222, 38–45.

Chen, L., et al. (2019). Pectin-based delivery systems for polyphenols: Interactions, stability, and bioaccessibility. Carbohydr. Polym., 222, 114916.

Chen, L., et al. (2020). Interactions between dietary polyphenols and polysaccharides: mechanisms and consequences. Food Hydrocolloids, 105, 105821.

Chen, L., Remondetto, G. E., & Subirade, M. (2020). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. Trends in Food Science & Technology, 105, 147–157.

Choudhary, N., Sekhon, B.S. (2011). An overview of advances in the standardization of herbal drugs.

Chouhan, S., et al. (2017). Antimicrobial efficacy of essential oils of medicinal plants: Recent trends and future perspectives. Phytotherapy Research, 31(4), 561–582.

Costa, C., Medronho, B., Filipe, A., Mira, I., Lindman, B., Edlund, H., Norgren, M. (2019). Emulsion Formation and Stabilization by Biomolecules: The Leading Role of Cellulose. Polymers, 11, 1570.

Costa, L. L., et al. (2021). Polysaccharide-based delivery systems for essential oils: Influence on antimicrobial efficacy. International Journal of Biological Macromolecules, 183, 2039–2048.

Coupland, J. N., & McClements, D. J. (1996). Lipid oxidation in food emulsions. Trends in Food Science & Technology, 7(3), 83–91.

Cui, W., Xu, R., Li, X., Yang, J., Xu, P., Zhang, Z., Yu, Z., Adiges, S. (2024). Research on the Supercritical CO2 Extraction Process of Hetian Rose Essential Oil. Processes, 12, 1396.

Darragh, A., et al. (2019). Impact of storage conditions on antioxidant capacity of plant-based emulsions. Food Research International, 116, 963–970.

Davaatseren, M., et al. (2017). Antioxidant activity of rosemary and olive extracts in emulsion systems. Food Science and Biotechnology, 26(6), 1711–1717.

De Luca, M., Rocha-Filho, P., Grossiord, J.L., Rabaron, A., Vaution, C., Seiller, M. (1991). Les émulsions multiples. International Journal of Cosmetic Science, 13, 1–21.

De Souza, B. S., et al. (2020). Pectin as a stabilizing agent for emulsions: A review. Food Hydrocolloids, 107, 105894.

Dickinson, E. (2023). Stability and rheology of particle-stabilized emulsions and foams. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 62, 102187.

Difonzo, G., et al. (2017). Olive leaf extract as a natural antioxidant in bakery products. Food Res. Int., 99, 660–666.

D'Angelo, S., et al. (2017). Anticancer and antioxidant activities of olive polyphenols. International Journal of Molecular Sciences, 18(11), 2307.

Djenane, D. (2021). Composition chimique et effets antimicrobiens de l'huile essentielle de romarin.

Donsì, F., Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food.

El Ahmadi, K., El Allaoui, H., El Abdouni, A., Bouhrim, M., Eto, B., Dira, I., Shahat, A.A., Herqash, R.N., Haboubi, K., El Bastrioui, M., El Hammoudani, Y. (2024). A Bibliometric Analysis of the Supercritical CO2 Extraction of Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants : Trends and Perspectives. Horticulturae, 10, 1185.

El Ahmadi, S., et al. (2024). Stability and functionality of plant-based emulsions enriched with essential oils. Food Chemistry, 435, 136653.

El-Kased, R. F., et al. (2021). Antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against foodborne pathogens. Food Control, 129, 108186.

Elhrech, H., Aguerd, O., El Kourchi, C., Gallo, M., Naviglio, D., Chamkhi, I., Bouyahya, A. (2024). Comprehensive Review of Olea europaea: A Holistic Exploration into Its Botanical Marvels, Phytochemical Riches, Therapeutic Potentials, and Safety Profile. Biomolecules, 14, 722.

El-Yazidi et al. (2022). Phytochemical Screening, and In Vitro Evaluation of the Antioxidant and Dermocosmetic Activities of Four Moroccan Plants : Halimium antiatlanticum, Adenocarpus artemisiifolius, Pistacia lentiscus and Leonotis nepetifolia. Cosmetics, 9(5), 94.

Espeso, J., Isaza, A., Lee, J.Y., Sörensen, P.M., Jurado, P., Avena-Bustillos, R.D.J., Olaizola, M., Arboleya, J.C. (2021). Olive Leaf Waste Management. Frontiers in Sustainable Food Systems, 5, 660582.

Farahnaky, A., et al. (2021). Pectin-based carriers for delivering bioactive compounds: Role in antioxidant preservation. Food Hydrocolloids, 118, 106772.

Figueiredo, P., et al. (2020). Neuroprotective mechanisms of rosemary polyphenols. Nutrients, 12(7), 1951.

Fuentes-Alventosa, J. M., et al. (2018). Effects of emulsion microstructure on antioxidant capacity. Food Chemistry, 239, 386–393.

Galaz, M., et al. (2023). Effect of phenolic compounds on the stability of biopolymer-stabilized emulsions. Food Chemistry, 404, 134589.

García-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gómez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties. Biotechnology Advances, 18(7), 549–579.

Gao, H., et al. (2020). Influence of emulsifiers on the antioxidant activity of plant extracts in oil-in-water emulsions. Food Chemistry, 311, 125943.

Gavrila, A.I., Chisega-Negrila, C.G., Maholea, L., Gavrila, M.L., Parvulescu, O.C., Popa, I. (2023). Enhancing the Extraction Process Efficiency of Thyme Essential Oil by Combined Ultrasound and Microwave Techniques. Agronomy, 13, 2331.

Ghaderi-Ghahfarokhi, M., et al. (2021). Pectin-based nanoemulsions: Role of stabilizers in antioxidant preservation. Carbohydrate Polymers, 265, 118068.

Gherardi, G. (2023). Staphylococcus aureus in hospital and community infections: Epidemiology and resistance mechanisms. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 12, 45.

Ghasemzadeh, A., et al. (2021). Antioxidant activity and phytochemical profile of rosemary extracts. Plants, 10(12), 2486.

Gong, K., et al. (2020). Polysaccharide-based delivery of flavonoids and their impact on functionality. Food Hydrocolloids, 101, 105529.

Gorzynik-Debicka, M., et al. (2018). Potential health benefits of olive oil and plant polyphenols. International Journal of Molecular Sciences, 19(3), 686.

Goulas, V., et al. (2017). Olive leaf extracts as a source of bioactive compounds: A comparative study. J. Agric. Food Chem., 65(30), 6190–6197.

Gözde Al-Sereiti, M.R., et al. (2021). Cancer chemopreventive properties of rosemary extract. Cancer Letters, 507, 20–30.

Gülçin, İ. (2023). Mechanisms of DPPH radical scavenging by phenolic compounds. Journal of Food Biochemistry, 47(5), e14123.

Cui, L., et al. (2024). Xanthan gum in food emulsions: A review of its role and applications. Carbohydr. Polym., 320, 120913.

Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: formation, properties and applications. Soft Matter, 12(11), 2826–2841.

Guzmán, E., Lucia, A. (2021). Essential oils and their individual components in cosmetic products. Cosmetics, 8, 114.

Habibi, Y., et al. (2021). Synergistic effects of biopolymers on emulsion stability: Application of pectin and Tween 80. Food Hydrocolloids, 110, 106139.

Habtemariam, S. (2016). The Therapeutic Potential of Rosemary (Rosmarinus officinalis) Diterpenes for Alzheimer's Disease. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016, 2680409.

Hamidpour, R., et al. (2021). Medicinal properties of rosemary essential oil: A review. Journal of Herbal Medicine, 27, 100432.

Hassan, S. T. S., et al. (2021). Antioxidant activity of essential oils: A systematic review. Antioxidants, 10(6), 923.

Haston, E., Richardson, J.E., Stevens, P.F., Chase, M.W., Harris, D.J. (2009). The Linear Angiosperm Phylogeny Group (LAPG) III: A Linear Sequence of the Families in APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, 160(1), 1–16.

Heidari-Saremi, S., et al. (2018). Evaluation of the antibacterial activity of essential oils against Staphylococcus aureus. Journal of Applied Microbiology, 125(5), 1387–1395.

Herrero, M., et al. (2015). Green processes for the extraction of bioactives from rosemary. J. Chromatogr. A, 1428, 268–278.

Hong, Y., et al. (2022). Stabilizer selection influences on polyphenol retention in functional emulsions. International Journal of Food Science & Technology, 57(7), 4172–4180.

Huang, R., et al. (2019). Protective effects of biopolymers on bioactive compounds: A review of interactions and mechanisms. Trends in Food Science & Technology, 86, 342–351.

Ibrahim et al. (2016). Chemical and Nutritional Evaluation of Olive Leaves and Selection of the Optimum Conditions for Extraction of Their Phenolic Compounds. Journal of Sustainable Agricultural Sciences, 42, 445–459.

Ibrahim, N. I., et al. (2016). Phenolic content and antioxidant activity of olive leaves extract and its fractions. Food Chemistry, 202, 78–84.

ISSAM, M.R. (2016). Formulation d'une émulsion à base d'huile d'argan en utilisant un plan de mélange. Thèse, 16.

Jafari, S. M., He, Y., & Bhandari, B. (2018). Nano-emulsion production by sonication and microfluidization—a comparison. International Journal of Food Properties, 11(4), 752–765.

Jemai, H., et al. (2017). Chemical composition and antibacterial activity of olive leaf extracts against foodborne pathogens. Industrial Crops & Products, 107, 808–816.

Jeong, Y., et al. (2021). Effect of pectin structure on stability and antioxidant activity in emulsions. Food Hydrocolloids, 112, 106332.

Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.-J., Zu, Y.-G., Liu, X.-L. (2011a). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. Environmental Toxicology and Pharmacology, 32, 63–68.

Jiang, Y., Wu, N., Fu, Y.-J., Wang, W., Luo, M., Zhao, C.-J., Zu, Y.-G., Liu, X.-L. (2011b). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of rosemary. Environmental Toxicology and Pharmacology, 32, 63–68.

Joye, I. J., et al. (2015). Stability of emulsions in the absence of surfactants : Mechanisms and controlling factors. Food Hydrocolloids, 45, 84–93.

Kabutey, A., Herák, D., Mizera, Č. (2023). Assessment of Quality and Efficiency of Cold-Pressed Oil from Selected Oilseeds. Foods, 12, 3636.

Kaczorek, E., Pacholak, A., Zdarta, A., Smułek, W. (2018a). The Impact of Biosurfactants on Microbial Cell Properties Leading to Hydrocarbon Bioavailability Increase. Colloids and Interfaces, 2, 35.

Kaczorek, E., Pacholak, A., Zdarta, A., Smułek, W. (2018b). The Impact of Biosurfactants on Microbial Cell Properties Leading to Hydrocarbon Bioavailability Increase. Colloids and Interfaces, 2, 35.

Kang, X., et al. (2022). Xanthan gum improves bioavailability of lipophilic antioxidants in emulsions. Food Hydrocolloids, 124, 107267.

Katerina, V., Klara, U., Samnang, N., Ladislav, K. (2023). Chemical Composition of Essential Oils and Supercritical Carbon Dioxide Extracts from Amomum kravanh, Citrus hystrix and Piper nigrum ‘Kampot’. Molecules, 28, 7748.

Karthik, P., Ezhilarasi, P. N., & Anandharamakrishnan, C. (2017). Challenges associated with stability of phytochemicals in food systems: A review. Environmental Progress & Sustainable Energy, 36(4), 1007–1016.

Khadka, D., Aryal, S., Rathi, B., & Deka, S. C. (2023). Pectin-based microcapsules for food bioactives : Advances in encapsulation and delivery. Food Hydrocolloids, 136, 108250.

Khadka, D., et al. (2023). Role of pectin–polyphenol interaction in food systems: A review. Food Hydrocolloids, 136, 108285.

Khalatbary, A.R. (2014). Rosmarinic acid and its effects on neurodegenerative diseases. Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology, 25(2), 105–110.

Khan, T., Ali, M., Khan, A., et al. (2018). Molecular docking, simulation and pharmacological property analyses of natural compounds as potential inhibitors of human triple-negative breast cancer. Computational Biology and Chemistry, 76, 136–146.

Kim, Y. G., et al. (2016). Antibacterial strategies targeting the lipopolysaccharide layer of Gram-negative bacteria. Microbiology Spectrum, 4(2).

Komaiko, J., & McClements, D. J. (2016). Low-energy formation of edible nanoemulsions by spontaneous emulsification: factors influencing particle size. Journal of Food Engineering, 187, 41–48.

Koulivand, P.H., Khaleghi Ghadiri, M., Gorji, A. (2013). Lavender and the nervous system. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 1–10.

Laina, K.T., Drosou, C., Stergiopoulos, C., Eleni, P.M., Krokida, M. (2024). Optimization of combined ultrasound and microwave-assisted extraction for enhanced bioactive compounds recovery from four medicinal plants: Oregano, rosemary, hypericum, and chamomile. Molecules, 29, 5773.

Lee, L.L., Niknafs, N., Hancocks, R.D., Norton, I.T. (2013). Emulsification : Mechanistic understanding. Trends in Food Science & Technology, 31, 72–78.

Laina, A., et al. (2024). Phytochemical composition and antioxidant properties of Rosmarinus officinalis. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 35, 100495

Lionta, E., Spyrou, G., Vassilatis, D.K., Cournia, Z. (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: Principles, applications and recent advances. Current Topics in Medicinal Chemistry, 14(16), 1923–1938.

Li, J., et al. (2019). Stability and antioxidant activity of flavonoids encapsulated in polysaccharide-based matrices. Food Hydrocolloids, 94, 1–8.

Liu, J., Li, Y., Lun, Z., Zhang, Y., Yang, P., Tang, X., Zhang, Q. (2024). Factors, mechanisms, and kinetics of spontaneous emulsification for heavy oil-in-water emulsions. Molecules, 29, 2998.

Liu, L., Niu, J., Wu, J.-Y. (n.d.). Preparation of stable phase change material emulsions for thermal energy storage and thermal management applications : A review.

Li, Y., et al. (2019). Correlation between total polyphenols and antioxidant activity in plant-based systems. Food Research International, 116, 634–642.

López-Gómez, A., et al. (2017). Stability and antibacterial activity of encapsulated plant bioactives during storage. Food & Function, 8(7), 2405–2414.

López-Gómez, A., et al. (2017). Stability and antioxidant activity of encapsulated plant bioactives during storage. Food & Function, 8(7), 2405–2414.

Luo, Z., et al. (2020). Effect of polysaccharide matrices on retention and release of flavonoids in food systems. Food Research International, 136, 109479.

Malheiro, R., Ortiz, A., Casal, S., Baptista, P., Pereira, J.A. (2015). Electrophysiological response of Bactrocera oleae (Rossi) (Diptera: Tephritidae) adults to olive leaves essential oils from different cultivars and olive tree volatiles. Industrial Crops and Products, 77, 81–88.

Martínez-Huélamo, M., et al. (2017). Protective effect of hydroxytyrosol against oxidative stress-induced neuronal damage in human cells. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 65(27), 5747–5756.

Martins, M.L., Pinto, S.M., Silva, R.M. (2022). Recent developments in DPPH assay protocols for antioxidant activity. Food Chemistry, 370, 131075.

Mashhadi, N.S., Ghiasvand, R., Askari, G., Hariri, M., Darvishi, L., Mofid, M.R. (n.d.). Anti-Oxidative and Anti-Inflammatory Effects of Ginger in Health and Physical. International Journal of Preventive Medicine.

McClements, D.J. (2015). Food Emulsions : Principles, Practices, and Techniques. CRC Press.

McKay, D.L., Blumberg, J.B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (Mentha piperita L.). Phytotherapy Research, 20, 619–633.

Medina, E., et al. (2022). Phenolic compounds in olive leaf extracts and their antioxidant activity. Food Chem., 372, 131335.

Mishra, A. P., et al. (2022). Essential oils and their synergistic effect as antioxidants. Molecules, 27(6), 1802.

Morales, D., et al. (2022). Low-temperature stability of pectin-based emulsions enriched with essential oils. Carbohydrate Polymers, 287, 119354.

Moreira, M. R., et al. (2018). Edible coatings with essential oils: Antimicrobial and functional properties. Current Opinion in Food Science, 20, 69–75.

Mouhoubi-Tafinine, Z., et al. (2020). Antimicrobial activity of xanthan-gum-based emulsions with essential oils. Journal of Food Science and Technology, 57(9), 3242–3248.

Newman, D.J., Cragg, G.M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019. Journal of Natural Products, 83, 770–803.

Nieto, G., Ros, G., Castillo, J. (2018). Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (Rosmarinus officinalis, L.): A Review. Medicines, 5, 98.

Nunes, C.D.R., Barreto Arantes, M., Menezes De Faria Pereira, S., Leandro Da Cruz, L., De Souza Passos, M., Pereira De Moraes, L., Vieira, I.J.C., Barros De Oliveira, D. (2020). Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents. Molecules, 25, 3726.

Ojeda, R.A.M. (n.d.). Alternatives de rupture d'une émulsion cationique par hétérofloculation ou par changement de pH.

Okuda, T. (2005). Systematics and health effects of chemically distinct tannins in medicinal plants. Phytochemistry, 66, 2012–2031.

Oliveira, H., et al. (2020). Factors affecting the antioxidant activity of plant-based emulsions. Antioxidants, 9(4), 327.

Otzen, D.E. (2017). Biosurfactants and surfactants interacting with membranes and proteins: Same but different? Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes, 1859, 639–649.

Omar, S.H. (2010). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. Scientia Pharmaceutica, 78(2), 133–154.

Özcan, M. M., et al. (2019). Effect of storage temperature on the antibacterial activity of olive oil and its components. Journal of Food Safety, 39(1), e12605.

Pan, S.-Y., Zhou, S.-F., Gao, S.-H., Yu, Z.-L., Zhang, S.-F., Tang, M.-K., Sun, J.-N., Ma, D.-L., Han, Y.-F., Fong, W.-F., Ko, K.-M. (2013). New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM’s outstanding

contribution to modern therapeutics. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 1–25.

Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, e47.

Pappas, P.G., Kauffman, C.A., Andes, D.R., Clancy, C.J., Marr, K.A., Ostrosky-Zeichner, L., Sobel, J.D. (2018). Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 62(4), e1–e50.

Pathakoti, G., et al. (2017). Antioxidant activity and interactions of bioactives in emulsions. Journal of Food Engineering, 210, 50–60.

Perez-Moral, N., Watt, S., Wilde, P. (2014). Comparative study of the stability of multiple emulsions containing a gelled or aqueous internal phase. Food Hydrocolloids, 42, 215–222. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.05.023

Pereira, E., Barros, L., Ferreira, I. C. (2020). Chemical composition and bioactive properties of common aromatic plants : A review. Plants, 9(2), 237.

Petrovska, B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. Phcog Rev, 6, 1.

Pérez-Jiménez, J., et al. (2019). Interaction of pectin and flavonoids: Influence on antioxidant activity and bioaccessibility. Food Chemistry, 278, 514–522.

Pérez, S., et al. (2020). Interactions of dietary polyphenols with polysaccharides: Mechanisms and consequences. Trends Food Sci. Technol., 104, 138–150.

Ponce, A. G., et al. (2019). Encapsulation of essential oils in biopolymeric matrices and their antimicrobial activity. Food Packaging and Shelf Life, 19, 110–117.

Ponce, A.G., Tournier, H.A., Morel, S., Rojas, A. (2018). Assessment of antimicrobial activity of essential oils using the agar diffusion method: Interpretation of inhibition zone diameters. Journal of Applied Microbiology, 125(3), 700–712.

Rafe, A., et al. (2017). Polyphenols–polysaccharides interactions and their impact on food quality and human health. Curr. Opin. Food Sci., 15, 97–103.

Ramírez, E.M., Brenes, M., Romero, C., Medina, E. (2022). Chemical and enzymatic characterization of leaves from Spanish table olive cultivars. Foods, 11, 3879.

Rasooli, I., & Mirmostafa, S. A. (2019). Antibacterial properties of essential oils: Mechanisms of action and resistance. Applied Microbiology and Biotechnology, 103(23–24), 9337–9349.

Raut, J.S., Karuppayil, S.M. (2014). A status review on the medicinal properties of essential oils. Industrial Crops and Products, 62, 250–264.

Ren, J., et al. (2019). Interactions between hydrocolloids and antioxidants in emulsion systems. Food Hydrocolloids, 96, 108–115.

Rigacci, S., Stefani, M. (2016). Nutraceutical properties of olive oil polyphenols. Ageing Research Reviews, 25, 1–12.

Rivlin, R.S. (2001). Historical Perspective on the Use of Garlic. The Journal of Nutrition, 131, 951S–954S.

Romero-Márquez, J.M., Forbes-Hernández, T.Y., Navarro-Hortal, M.D., Quirantes-Piné, R., Grosso, G., Giampieri, F., Lipari, V., Sánchez-González, C., Battino, M., Quiles, J.L. (2023). Molecular Mechanisms of the Protective Effects of Olive Leaf Polyphenols Against Alzheimer's Disease. International Journal of Molecular Sciences, 24, 4353.

Rondel, C. (n.d.). Synthèses et propriétés de mélanges de nouvelles molécules polyfonctionnelles lipopeptidiques tensioactives.

Salehi, B., Abu-Darwish, M.S., Tarawneh, A.H., Cabral, C., Gadetskaya, A.V., Salgueiro, L., Hosseinabadi, T., Rajabi, S., Chanda, W., Sharifi-Rad, M., Mulaudzi, R.B., Ayatollahi, S.A., Kobarfard, F., Arserim-Uçar, D.K., Sharifi-Rad, J., Ata, A., Baghalpour, N., Contreras, M.D.M. (2019). Thymus spp. Plants — Food applications and phytopharmacy properties. Trends in Food Science & Technology, 85, 287–306.

Salehi, F., et al. (2019). Pectin in food systems: Interactions with phenolic compounds and effect on antioxidant properties. Carbohydrate Polymers, 219, 1–10.

Silva, F., et al. (2021). Effect of xanthan gum on release kinetics of antimicrobial compounds in emulsions. Food Hydrocolloids, 113, 106476.

Salvia-Trujillo, L., et al. (2015). Influence of pectin and xanthan gum on the physical and antimicrobial properties of nanoemulsions containing essential oils. Food Hydrocolloids, 43, 144–153.

Sánchez-Rangel, J. C., et al. (2019). Polyphenol–pectin interactions: Implications in food processing and health. Food Res. Int., 116, 328–340.

Santos, P. H. S., et al. (2017). Volatile compounds and antioxidant capacity of essential oils from aromatic plants. Industrial Crops and Products, 102, 12–18.

Selim, S., Albqmi, M., Al-Sanea, M.M., Alnusaire, T.S., Almuhayawi, M.S., AbdElgawad, H., Al Jaouni, S.K., Elkelish, A., Hussein, S., Warrad, M.,

El-Saadony, M.T. (2022). Valorizing the usage of olive leaves, bioactive compounds, biological activities, and food applications : A comprehensive review. Frontiers in Nutrition, 9, 1008349.

Shahidi, F., & Hossain, A. (2018). Bioactive compounds in food: Extraction, measurement and application. John Wiley & Sons.

Shraim, M., Al-Salman, F., Hammoudeh, A. (2021). Validation of the aluminum chloride colorimetric method for total flavonoid content determination. Analytical Biochemistry, 638, 114403.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventós, R.M. (2017). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299, 152–178.

Sodagar, N., Khayatian, G., Rahmati, S. (2024). A novel alkali and thermotolerant protease from Aeromonas spp. retrieved from wastewater. Scientific Reports, 14, 345.

Sparg, S.G., Light, M.E., Van Staden, J. (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. Journal of Ethnopharmacology, 94, 219–243.

Srivastava, S., et al. (2020). Polysaccharides as carriers of polyphenols: Stability and bioactivity. Food Hydrocolloids, 104, 105741.

Su, Z., Xu, J., Zhang, Y., Li, X. (2020). Bacillus subtilis as a platform for industrial enzyme and antibiotic production. Microbial Cell Factories, 19, 175.

Sun, X., et al. (2021). Interaction of xanthan gum with bioactive compounds: Implications for food functionality and health benefits. Food Hydrocolloids, 120, 106958.

Tadros, T. (2016). Emulsion formation and stability. Wiley-VCH.

Talhaoui, N., Taamalli, A., Gómez-Caravaca, A.M., Fernández-Gutiérrez, A., Segura-Carretero, A. (2015). Phenolic compounds in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. Food Research International, 77, 92–108.

Teixé-Roig, J., Oms-Oliu, G., Odriozola-Serrano, I., Martín-Belloso, O. (2023). Emulsion-based delivery systems to enhance the functionality of bioactive compounds : Towards the use of ingredients from natural, sustainable sources. Foods, 12, 1502. https://doi.org/10.3390/foods12071502

Tian, Y., Zhou, J., He, C., He, L., Li, X., Sui, H. (2022). The Formation, stabilization, and separation of oil–water emulsions: A review. Processes, 10, 738.

Torres-Martínez, R., et al. (2020). Evaluation of xanthan-based emulsions with essential oils for food preservation. Food Control, 118, 107393.

Torri, L., et al. (2019). Sensory and rheological properties of xanthan-stabilized emulsions: Impact of concentration. Food Hydrocolloids, 87, 76–83.

Trabelsi, N., et al. (2021). Antioxidant potential of plant extracts: Correlation with phenolic content. Plants, 10(3), 568.

Trabelsi, N., et al. (2021). Polyphenolic profile and antioxidant capacity of rosemary under different drying methods. Food Chem., 352, 129400.

Tavares, L., et al. (2020). Polyphenols, antioxidant activity, and their relationship in medicinal plants. Journal of Applied Botany and Food Quality, 93, 106–114.

Tuasha, N., Petros, B., Asfaw, Z. (2018). Medicinal plants used by traditional healers to treat malignancies and other human ailments in Dalle District, Sidama Zone, Ethiopia. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, 14, 15.

Uritu, C.M., Mihai, C.T., Stanciu, G.-D., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., Leon-Constantin, M.-M., Stefanescu, R., Bild, V., Melnic, S., Tamba, B.I. (2018). Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. Pain Research and Management, 2018, 1–44.

Vezza, T., et al. (2021). The anti-inflammatory effects of oleuropein in intestinal diseases. Nutrients, 13(3), 951.

Villatoro-Pulido, M., Fontanella, M., et al. (2021). Role of emulsifiers in antimicrobial delivery. Food Hydrocolloids, 115, 106588.

Wang, C., Zhang, M., Bhandari, B. (2022). Evaluation of emulsifying properties of biopolymers under thermal stress. Journal of Food Science, 12, 1502.

Wang, W., et al. (2020). Polysaccharides-based complex carriers for bioactive flavonoids: Physicochemical properties and delivery performance. Carbohydrate Polymers, 238, 116211.

Weiss, J., et al. (2020). Interfacial engineering for food emulsions and foams: Stabilization and functionalization. Annual Review of Food Science and Technology, 11, 45–69.

Xie, P. J., et al. (2020). Phenolic compounds and antioxidant activity in olive leaves and fruits. J. Food Sci. Technol., 57(8), 3118–3128.

Xiong, L., et al. (2021). Biopolymer–flavonoid interactions and their effects on functionality and stability. Carbohydrate Polymers, 262, 117991.

Xu, Y., et al. (2023). Pectin–polyphenol interactions in emulsions: Mechanisms and impact on stability. Food Hydrocolloids, 134, 108046.

Yahya, M., et al. (2021). Olive leaf extract as a natural antioxidant and antimicrobial for food preservation. Journal of Food Quality, 2021, 6630335.

Yesil-Celiktas, O., et al. (2018). In vitro anticancer activity of rosemary extract on human cancer cells. Food Chemistry, 220, 41–48.

Youssef, F. S., et al. (2019). Phytochemical and biological studies of olive and rosemary extracts: Correlation with antioxidant activity. Antioxidants, 8(11), 540.

Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., Piao, G. (2016). The traditional medicine and modern medicine from natural products. Molecules, 21, 559.

Yu, Y., et al. (2021). Effect of emulsion microstructure on antioxidant activity and bioaccessibility of polyphenols. Food Hydrocolloids, 112, 106332.

Yu, Y., et al. (2021). Role of polysaccharides in protecting bioactive compounds during processing and storage. Food Hydrocolloids, 113, 106451.

Zaier, H., et al. (2021). Bioactive components and health benefits of olive tree leaves. Trends in Food Science & Technology, 112, 661–674.

Zaier, H., Maktouf, S., Roussos, S., Rhouma, A. (2021). Filamentous fungi isolated from Tunisian olive mill wastes: Use of solid-state fermentation for enzyme production. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici, 49, 12125.

Zheljazkov, V.D., Astatkie, T., Schlegel, V. (2022). Compositional variation and bioactivity of rosemary essential oil. Molecules, 27, 1235. https://doi.org/10.3390/molecules27031235

Zhang, H., Tang, Q., Zhang, Z. (2022). Mechanistic insights into the antibacterial properties of essential oils. Journal of Food Science, 88, 1029–1038.

Zhang, L., et al. (2017). Impact of droplet size and stabilizer type on antioxidant activity of plant extracts in emulsions. Food Hydrocolloids, 69, 123–131.

Zhang, L., et al. (2023). Effect of xanthan gum on the stability and bioavailability of polyphenolic compounds in emulsion systems. Food Chemistry, 404, 134611.

Zhang, L., Li, J., & Li, B. (2023). Xanthan gum-based hydrogel systems for the stabilization of food bioactives. Carbohydrate Polymers, 303, 120445.

Zhang, L., Wang, Y., He, X. (2023). Application of xanthan gum in emulsions: Effects on rheology and shelf-life. Food Hydrocolloids, 135, 107692.

Zhang, Y., Yang, L., Zu, Y., Chen, X., Wang, F., & Liu, F. (2017). Oxidative stability of emulsions prepared by ultrasonic emulsification using natural antioxidant-loaded shellac particles. Ultrasonics Sonochemistry, 39, 36–45.

Zhao, M., et al. (2022). Thermal stability of essential oil emulsions stabilized by natural polymers. Food Chemistry, 385, 132611.

Zhao, Y., Wang, Y., Gao, Z. (2022). Effect of ultrasound treatment on the stability and droplet size of emulsions. LWT - Food Science and Technology, 154, 112455.

Zhao, X., et al. (2021). Influence of emulsion structure and storage on antioxidant activity. Food Hydrocolloids, 112, 106293.