République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Yahia Farés de Médéa

Faculté de la Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Génie des procédés pharmaceutiques

Thème

FORMULATION DES EMULSIONS D'HUILES ESSENTIELLES EXTRAITES D'AGRUME POUR UNE APPLICATION PHARMACEUTIQUE

Présenté par :

BOUAMRA Ines Friha

BEKHTI Hadjer

Dirigé par :

Dr YOUCEF ETTOMI Khadidja

Promotion 2019/2020

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحضير و دراسة مستحلبات بسيطة من الزيت في الماء مخصصة للاستخدام الصيدلاني. تعتمد المستحلبات المقترحة على زيت أساسي، ألا وهو زيت *C. sinensis* (البرتقال الحلو) باعتبارها مصدرا للجزيئات الطبيعية النشطة بيولوجيًا ،وله العديد من الخصائص العلاجية مع بوليمر حيوي كمستحلب، وهو البكتين مادة ذات خصائص مضادة للميكروبات. تم استخلاص الزيوت الاساسية عن طريق التقطير المائي بمردود 1.473% , تراكيز البوليمر الحيوي المستعمل تتفاوت اعتمادًا على استقرار المستحلبات. وبالتالي سيكون من الضروري دراسة تأثير تركيز البكتين على استقرار و بيولوجية التركيبات. سيتم أيضًا تقييم الأنشطة البيولوجية للزيوت الأساسية وحدها وكذلك لمستحلباتها. ستكون هذه الدراسة مفيدة لتطوير نظام أكثر كفاءة بخصائص فيزيائية و مضادة للأكسدة واعدة لمجال واسع من التطبيق.

كلمات مفتاحية: الزيوت الاساسية للحمضيات- طريقة التقطير بالبخار- مستحلب- بكتين- النشاط البيولوجي

Résumé

L'objectif de cette étude est de formuler et caractériser des émulsions simples huile dans eau (H/E), destinée à une application pharmaceutique. Les émulsions proposées sont à base d'une huile essentielle (HE), à savoir l'huile de *C. sinensis* (Orange douce) comme source potentielle de molécules naturelles bioactives, et ayant plusieurs propriétés thérapeutiques et d'un biopolymère émulsifiant, qui est la pectine, substance ayant des propriétés antimicrobiennes. Les HEs de *Citrus sinensis* ont été extraites par hydrodistillation avec un rendement de l'ordre de 1.473%. Les concentrations massiques totales du biopolymère utilisé seront variées selon la stabilité des émulsions. Il serait intéressant alors d'étudier l'effet de la concentration en pectine sur la stabilité et la rhéologie des formulations. L'évaluation des activités biologiques des huiles essentielles seules et en émulsion seront également démontrée. Cette étude serait utile pour développer un système plus efficace avec des caractéristiques physiques et antioxydantes prometteuses pour un large champ d'application.

Mots clés: Huile essentielle de *Citrus-sinensis*, Hydrodistillation, Emulsion, Pectine, Activité biologique

Abstract

The purpose of this study is to formulate and characterize simple emulsions oil-in-water (O/W), intended for pharmaceutical application. The proposed emulsions are based on an essential oil (EO), namely the *C. sinensis* (Sweet Orange) essential oil as a potential source of natural bioactive molecules, possessing several therapeutic properties and an emulsifying biopolymer, which is pectin, a substance with antimicrobial properties. *C. sinensis* EOs were extracted by hydrodistillation with a yield of the order of 1.473%. The total mass concentrations of the biopolymer used will vary depending on the stability of the emulsions. It would then be interesting to study the effect of the pectin concentration on the stability and the rheology of the formulations. The evaluation of the biological activities of essential oils alone and in emulsion will also be demonstrated. This study would be useful to develop a more efficient system with promising physical and antioxidant characteristics for a wide field of application.

Keywords: *Citrus sinensis* essential oil, Hydrodistillation, Emulsion, Pectin, Biological activity.

Remerciements

Avant tout, l'ouvrage dédié à **ALLAH**, notre créateur et maitre de l'univers de toutes ses bontés, de nous avoir envoyé le prophète MOHAMED qui est notre premier éducateur puis de nous avoir donné tout, du courage pour finir ce travail de recherche.

Nous tenons en premier à remercier **Dr. YOUCEF ETTOUMI Khadidja** pour son encadrement, son aide et ses conseils avisés tout au long de ce projet, sa présence a énormément compté pour l'accomplissement de cette mémoire.

Nos remerciements vont particulièrement au président et membres de jury qui nous font l'honneur de juger ce travail.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire de biologie 1 du Hall Technologique de l'université de Médéa. Nous tenons donc à remercier l'ensemble du personnel nous ayant aidé et soutenu pendant la mise en œuvre de nos travaux.

Ce travail n'aurait pu aboutir ni même voir le jour sans le soutien et l'appui de nos familles, à nos chers parents nous ne saurons exprimer notre profonde reconnaissance envers leur compréhension et leur patience dans les moments les plus difficiles.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

A ma chère mère **KHELEF Aicha**, pour tous ses sacrifices, son amour, sa tendresse, son soutien et ses prières tout au long de mes études,

A mon père **BOUAMRA Azzedine** que dieu le protège,

A ma chère sœur **BOUAMRA Yousra** pour son encouragements permanents, et son soutien moral,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux, et le fruit de votre soutien infaillible,

Merci d'être toujours là pour moi.

BOUAMRA Inès Friha

Dédicaces

Je dédie cette mémoire master à…....

À mes généreux parents, que Dieu les protège et prolonge leur vie

À ma chère sœur

A mes frères, que dieu les guide

À ma grande famille

À mes meilleurs amis

BEKHTI Hadjer

Table des matières

Résumé

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Liste des abréviations et des symboles

Liste des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION GENERALE 01

PARTIE I : SYNTHSE BIBLIOGRAPHIQUE 03

I.1 HUILES ESSENTIELLES 03

I.1.1 Définitions 03

I.1.2 Techniques d'extraction des huiles essentielles 03

a) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau 04

b) Extraction par distillation sèche 04

c) Extraction par expression à froid 05

d) Extraction par solvant organique 07

e) Extraction par fluide à l'état supercritique 08

I.1.3 Propriétés thérapeutiques des composés chimiques des huiles essentielles 09

a) Les phénols 09

b) Aldéhydes aromatiques à noyau benzénique 09

c) Aldéhydes monoterpéniques 10

d) Aldéhydes monoterpéniques 10

e) Les oxydes 11

f) Les cétones 11

g) Les monoterpènes 12

h) Les esters 12

i) Les éthers 13

j) Les alcools sesquiterpéniques 13
I.1.4 Propriétés physiques 14
I.1.5 Toxicité des huiles essentielles 14
I.2 HUILE ESSENTIELLE D'ORANGE DOUCE 15
I.2.1 Histoire et botanique 15
I.2.2 Caractéristiques de l'huile essentielle d'orange douce 16
a) Les limonènes, de précieux actifs 17
b) Plus de protection avec les monoterpénols 17
c) Les cétones, des actifs amincissants 18
d) Les bienfaits des aldéhydes terpéniques 18
I.2.3 Utilisations d'huile d'orange douce 18
I.2.4 Effets secondaires de l'huile essentielle d'orange douce 19
I.3 LES EMULSIONS 19
I.3.1 Définition 19
I.3.2. Stabilisation d'émulsion par des agents de surface 20
I.3.3 Émulsification 22
a) Principe 22
b) Usage 22
I.3.4 Concept de formulation d'une émulsion 22
a) Variables de formulation physicochimique 22
b) Variables de composition 23
c) Variables mécaniques 23
I.3.5 Stabilité des émulsions 23
a) Stabilité physique 23
i. Crémage et sédimentation 23
ii. Floculation 24
iii. Coalescence 24
iv. Inversion de phase 24

v. Murissement d'Ostwald 24
b) Stabilité chimique 25
c) Stabilité microbiologique 25
I.4 UTILISATION D'INTERFACES COMPLEXES DE POLYMERE POUR STABILISATION D'EMULSION 25
I.4.1. Généralités sur les polymères 25
I.4.2 Comportement des polymères aux interfaces 25
I.4.3 La pectine 26
I.4.4 Historique de la pectine 26
I.4.5 Sources de la pectine 27
I.4.6 Structure de la pectine 27
a) Monomères d'acide galacturonique 28
b) Degré d'estérification 28
I.4.7 Propriétés physiques de la pectine 28
a) Solubilité 29
b) Propriétés stabilisantes 29
c) Propriétés viscosifiantes 29
d) Propriétés gélifiantes 29
i. Pectine HM 29
ii. Pectine LM 31
PARTIE II : MATERIELS ET METHODES 32
II.1 INTRODUCTION 32
II.2 PRODUITS ET MATERIELS UTILISES 32
II.3 MATIERE PREMIERE VEGETALE 33
II.4 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES 33
II.4.1 Protocole expérimental 33
II.4.2 Calcul de rendement en huiles essentielles 35

II.4.3 Caractérisation physicochimique des huiles extraites 35
II.5 FORMULATION DES EMULSIONS D'HE D'AGRUMES 35
II.5.1 Caractérisation physico-chimique des émulsions préparées 35
a) Examen macroscopique 35
b) Examen microscopique 35
c) Mesure de la viscosité 36
d) Test de stabilité 36
i. Stabilité à la centrifugation 36
ii. Stabilité à la chaleur et au froid 36
e) Détermination du sens 36
f) Détermination du pH 36
II.6 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE PAR LA TECHNIQUE DE MACRO-DILLUSION EN MILIEU LIQUIDE 37
II.7 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR DPPH 37
II.8 CONCLUSION 38
PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS 39
III.1 INTRODUCTION 39
III.2 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES 39
III.2.1 Rendement de l'extraction 39
III.2.2 Caractères organoleptiques de l'huile essentielle 39
CONCLUSION GENERALE 40
Annexe
Références bibliographiques

Liste des abréviations et des symboles

AFNOR	Association française de normalisation
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DM	Degré de méthoxylation
E	Phase Aqueuse
E/H	Emulsion inverse Eau Dans Huile
E/H/E	Emulsion double directe
E.coli	*Escherichia coli*
HE	Huile essentielle
H/E	Emulsion directe Huile Dans Eau
H/E/H	Emulsion double inverse
HLB	Hydrophilic- lipophilic balance (balance hydrophile-lipophile)
Pectine HM	High methoxy –pectin (pectine hautement méthylée)
Pectine LM	Low methoxy-pectin (pectine faiblement méthylée)
TH	Tensioactif hydrophile
TL	Tensioactif lipophile
v/v	Volume/ volume
w/w	weight/ weight (poids/ poids)

Listes des figures

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Figure I.1: Distillation par entraînement à la vapeur	04
Figure I.2: Procédé de distillation sèche	05
Figure I.3: Sfumatrice	06
Figure I.4 : Pélatrice	06
Figure I.5: Détail de la Pélatrice	07
Figure I.6: Schéma de principe d'extraction par CO_2 supercritique	08
Figure I.7 : Structure des quelques composés phénoliques	09
Figure I.8: Cinnamaldéhyde	09
Figure I.9 : Structure chimique de citral et de citronellal	10
Figure I.10: Structure des quelques monoterpénols	10
Figure I.11: Structure chimique de 1,8 cinéole	11
Figure I.12: Structure des quelques cétones	11
Figure I.13: Structure des quelques monoterpènes	12
Figure I.14: Structure des quelques esters	12
Figure I.15: Structure des quelques éthers	13
Figure I.16: Structure des quelques alcools sesquiterpéniques	13
Figure I.17: Coupe transversale d'orange douce	15
Figure I.18 : Représentation des différents types d'agents de surface utilisés pour la stabilisation d'émulsion.	21
Figure I.19: Formes d'instabilité d'une émulsion	24
Figure I.20: Représentation de copolymères amphiphiles adsorbés à l'interface eau-huile dans le cas d'une émulsion H/E. **a)** Cas d'un copolymère statistique **b)** Cas d'un copolymère dibloc	26
Figure I.21: Structure de la pectine	27
Figure I.22: Représentation de la molécule de D-acide galacturonique, D-galactose et du cycle pyranose	28
Figure I.23: Zone de jonction des pectines HM lors de la gélification	30
Figure I.24: Mécanisme de gélification de la pectine LM	31

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	
Figure II.1 Zestes de *C. sinensis* (orange douce)	33
Figure II.2: Montage d'hydrodistillation	34
Figure II.3: Ballon semi rempli de zestes et d'eau distillée	34
Figure II.4 : Réaction du DPPH avec une molécule donneuse du proton	38

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS	
Figure III.1: Huile essentielle de *C. sinensis*	41

Liste des tableaux

PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Tableau I.1: La composition biochimique d'HE d'orange douce est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production.	17

PARTIE II : MATERIELS ET METHODES	
Tableau II.1: Matériels et produits utilisés	32
Tableau II.2 : Aspect des émulsions selon la taille des globules	35

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'utilisation des huiles essentielles en parfumerie, dans les rituels religieux, en cuisine, en cosmétologie et en thérapeutique est avérée depuis l'Antiquité. Depuis quelques années l'utilisation des huiles essentielles connaît un véritable essor, ceci est en rapport avec un grand engouement pour les médecines naturelles, en effet un grand nombre de personnes les considèrent comme une alternative à la médecine allopathique classique notamment avec tous ses effets indésirables. [1]

Les huiles essentielles sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, de leurs activités antioxydantes, antibactériennes et antifongiques [2]. Elle est utilisée pour les troubles digestifs, les troubles cutanés (cicatrisation, peaux grasses..), elle est aussi utilisée pour l'amincissement et les cellulites et pour parfumer tout mélange aromatique à masser, diffuser ou consommer. [3]

Les émulsions sont omniprésentes dans les domaines de l'industrie alimentaire, cosmétique et chimique, ou encore dans le domaine paramédical. Elles permettent d'obtenir des textures et des propriétés particulières dans un produit. Les gouttelettes présentes dans une émulsion peuvent interagir avec d'autres composés afin de créer de nouvelles structures, assurer la diffusion de principes actifs ou encore favoriser le transport de molécules hydrophobes. [4]

La problématique qui se pose est : Comment faire pour fabriquer une émulsion H/E qui aide à la cicatrisation des plaies à base de l'huile essentielle de *C. sinesis* (orange douce) , quelle la quantité de biopolymère de pectine nécessaire pour faire la stabilisation de l'émulsion et quels sont les tests nécessaire pour faire l'étude sur l'huile essentielle et sur l'émulsion ?

C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à valoriser les écorces d'agrumes par extraction des huiles essentielles à partir des zestes de *Citrus sinensis* (orange douce).Ces extraits ont été proposés pour la formulation de systèmes dispersés biologique ou naturels en tant que composés actifs ou excipients. Sachant que ce domaine de formulation aqueuse intéresse un nombre croissant de domaines d'applications (agro-alimentaire, cosmétique et galénique). Des analyses physico-chimiques ont été ensuite abordés afin d'évaluer l'efficacité de ces biomolécules.

Dans cette optique, le manuscrit est donc structuré en deux grandes parties :

- Une première partie, dans laquelle nous présenterons une revue bibliographique des connaissances sur les huiles essentielles, l'huile essentielle de *Citrus-sinensis*, les émulsion, et la pectine.
- Une deuxième partie, consistant en une présentation détaillée du matériel et des méthodes expérimentales utilisés dans ce travail : L'extraction huiles essentielles et l'identification de leurs propriétés physicochimiques ainsi que la formulation des émulsions d'HE d'agrumes à base de pectine hautement méthylée, ensuite l'étude de l'activité biologiques y compris antimicrobienne et antioxydantes de l'huile essentielle seule et en émulsion, enfin l'évaluation de ces émulsions pour l'application cutanée.
- La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats ainsi que leurs interprétations et discussion.

Partie I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 HUILES ESSENTIELLES

I.1.1 Définitions

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils caractérisés par une forte odeur, elles sont formées dans les plantes aromatiques en tant que métabolites secondaires. Les huiles essentielles peuvent être considérées comme des substituants appropriés aux additifs chimiques destinés à l'industrie alimentaire. La composition des huiles essentielles peut être modifiée à la suite de l'oxydation, des interactions chimiques, ou de la volatilisation. Pour limiter la dégradation ou la perte de composition pendant le traitement et le stockage des HE, et pour contrôler la libération du composé au site souhaité, l'encapsulation de ces huiles est bénéfique avant leur utilisation dans les aliments ou les boissons. [5]

L'**AFNOR** (Association française de normalisation) définit quant à elle une huile essentielle comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entrainement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe de Citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (AFNOR, 2000). [6]

Cette définition révèle d'une part que les huiles essentielles sont dotées d'une composition complexe, et d'autre part qu'elles peuvent être obtenues par différents procédés de fabrication. Ces deux remarques permettent d'ores et déjà d'arguer qu'il ne peut exister de réglementation, ni de solution globale en ce qui concerne les huiles essentielles. [6]

I.1.2 Techniques d'extraction des huiles essentielles

Le mode d'obtention de l'huile essentielle va différer selon la plante ou la partie de la plante utilisée. Selon la 7ème édition de la Pharmacopée Européenne, l'obtention de l'huile essentielle s'effectue soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage (expression à froid). Il existe cependant d'autres méthodes : l'extraction par hydrodistillation, par solvant organique volatil, à l'eau surchauffée, au CO_2 supercritique, par ultrasons et par micro-ondes. [6]

a) Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

A la différence de l'hydrodistillation, cette technique comme le montre la Figure I.1 ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile essentielle. [6]

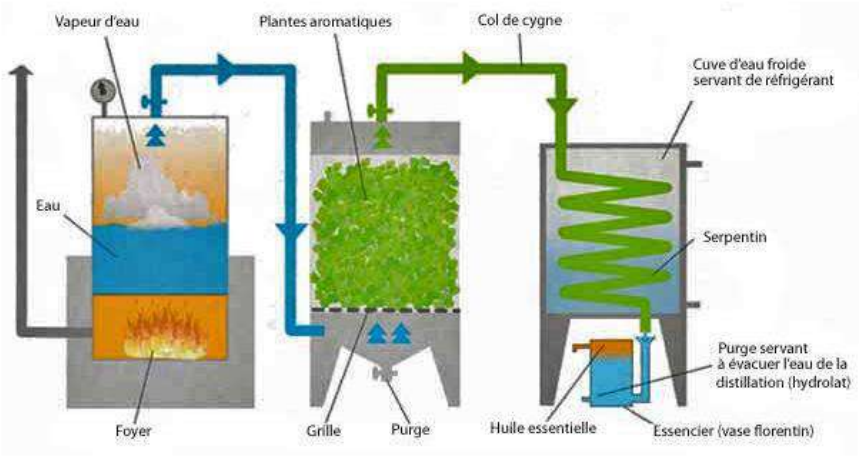


Figure I.1: Distillation par entraînement à la vapeur [6]

b) Extraction par distillation sèche

La distillation « sèche », aussi appelée distillation destructive, est utilisée pour la séparation des produits chimiques liquides contenus dans des matériaux solides. On peut ainsi obtenir, à partir du bois, par calcination, de la créosote (mélange de phénols), de l'alcool méthylique et de nombreux autres produits.

En revanche, rares sont les documents se rapportant à la distillation sèche en tant que méthode d'extraction de composés aromatiques volatils. Pourtant, il s'agit d'une méthode d'extraction des huiles essentielles caractéristique des végétaux fragiles tels que les pétales de rose. Dans le domaine de l'extraction végétale, la distillation sèche consiste à chauffer de façon très modérée les plantes ou parties de

plantes sans ajout d'eau ni de solvants organiques, puis à condenser les substances volatiles (Figure I.2). L'avantage de cette méthode est la température à laquelle se déroule l'extraction: inférieure à 100°C, ce qui évite la dénaturation de certaines molécules thermosensibles. Mais si cette technique présente un avantage certain au niveau de la qualité, elle aboutit cependant à des rendements extrêmement faibles en huile essentielle. [6]

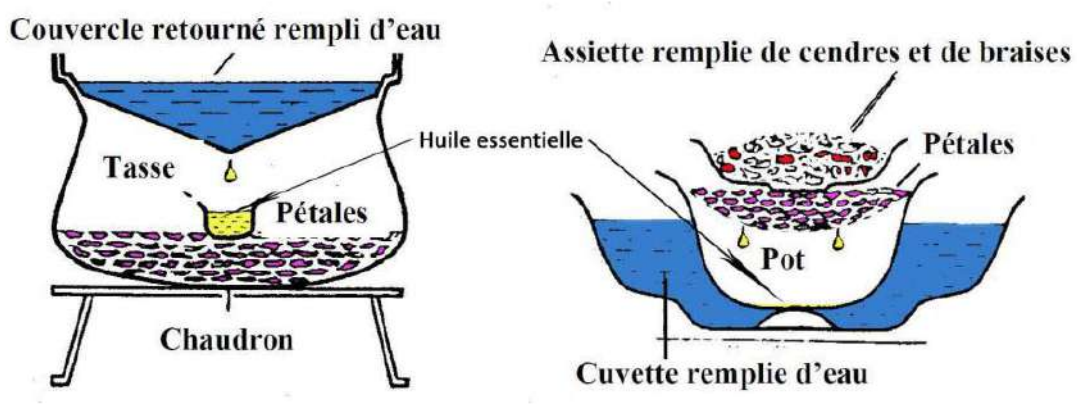


Figure I.2: Procédé de distillation sèche [6]

c) Extraction par expression à froid

Les huiles essentielles de fruits d'hespéridés ou encore d'agrumes ont une très grande importance dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. Cependant, ce sont des produits fragiles en raison de leur composition en terpènes et aldéhydes. C'est pourquoi, spécifiquement pour cette catégorie de matière première, est utilisé un procédé totalement différent d'une distillation classique, qui est l'expression à froid. Le principe de cette technique est basé sur la rupture ou la dilacération des parois des sacs oléifères contenues dans l'écorce des fruits et sur la pression du contenu de ces sacs sur les parois. [6]

Certains constituants apolaires et non volatils, peuvent être entrainés par l'essence lors de l'expression manuelle, tels que des flavonoïdes, terpénoïdes tri et tétra, stéroïdes, acides gras et furocoumarines substituées. La plupart de ces composés apolaires non volatiles sont potentiellement toxiques.

Les machines utilisées pour l'expression à froid ont été perfectionnées pour aboutir à la méthode dite d'extraction « in-line ». Cette méthode permet l'obtention à partir des fruits entiers, du jus de fruit et de l'huile essentielle sans que ces deux

produits soient en contact au cours du traitement. Il existe deux types de machine : la première est la sfumatrice qui traite l'écorce du fruit séparément de la pulpe (Figure I.3). Elle coupe le fruit en plusieurs quartiers puis une action combinée de compression-dépression au niveau de l'écorce libère l'essence. Le jus est extrait avant l'huile essentielle. [6]



Figure I.3: Sfumatrice [6]

La seconde machine est la Pélatrice (Figure I.4) : elle exerce sur l'écorce une action abrasive en lacérant la surface externe du fruit pour libérer l'essence (Figure I.5). L'huile essentielle est extraite avant le jus de fruit. [6]



Figure I.4 : Pélatrice [6]



Figure I.5: Détail de la Pélatrice [6]

Cependant l'utilisation de grande quantité d'eau dans la majeure partie de ces procédés peut altérer la qualité des huiles essentielles par dissolution des composés oxygénés et par hydrolyse. En outre, la présence d'eau peut être source de micro-organismes. [6]

d) Extraction par solvant organique

L'extraction par un solvant volatil est une technique élaborée au XVIII^{ème} siècle, inspiré de l'enfleurage (extraction grâce à des graisses animales, pratiquement disparue car très longue et couteuse) et utilisée par les industries car les rendements sont meilleurs. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée.

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont I'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone.

En fonction de la technique et du solvant utilisé on obtient (AFNOR):

- Des hydrolysats: extraction par solvant en présence d'eau ;
- Des alcoolats: extraction avec l'éthanol ;
- Des teintures ou solutions non concentrées obtenues à partir des matières premières traitées par l'éthanol ou des mélanges éthanol/eau ;
- De résinoïdes ou extraits éthanoliques concentrés ;
- Des oléorésines et des concrètes qui sont respectivement des extraits à froid et à chaud au moyen de solvants divers.

L'extraction par solvants organiques comporte des limites dues aux problèmes de sécurité et toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. [7]

e) Extraction par fluide à l'état supercritique

C'est un cas particulier de l'extraction par un solvant. L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone. Dans ce système le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus (Figure I.6) . La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles.

A ces différents avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'ininflammabilité du CO_2 et de l'absence de résidus de solvants d'extraction.

Le frein du développement de cette technologie est le cout élevé des appareillages lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars. [7]

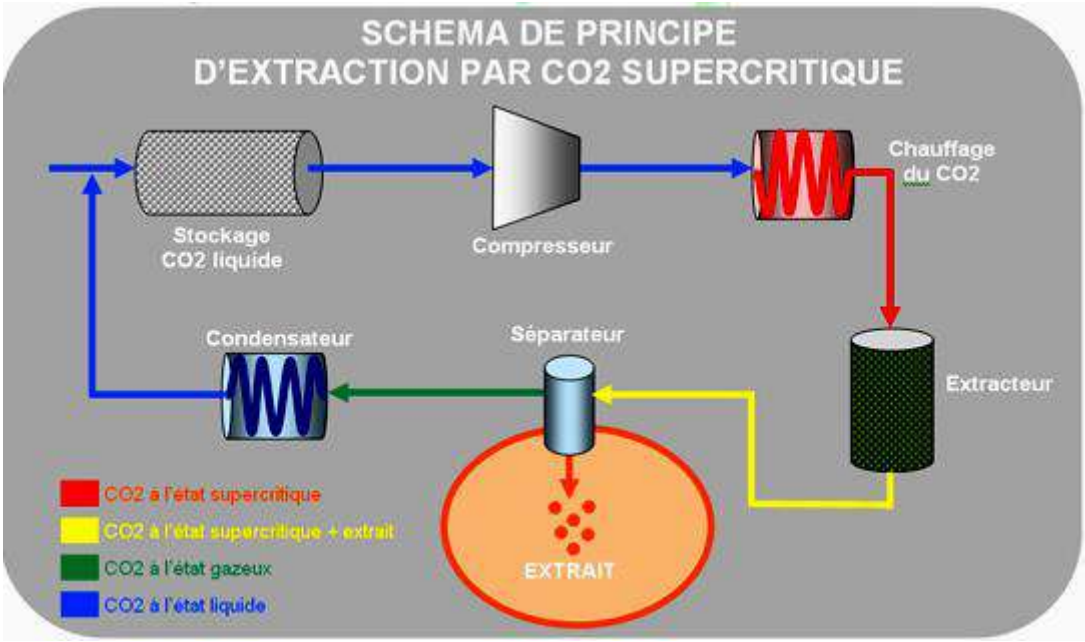


Figure I.6: Schéma de principe d'extraction par CO_2 supercritique. [7]

I.1.3 Propriétés thérapeutiques des composés chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes. Les constituants diffèrent qualitativement et quantitativement selon la plante utilisée ou l'organe utilisé. De nombreux facteurs sont à prendre en compte tels que la saison, le lieu de la récolte… On y trouve des alcools, des terpènes, des cétones, des phénols, des éthers, des oxydes, des aldéhydes, des acides… Pour une approche officinale, on peut regrouper les constituants en 10 familles chimiques différentes possédant chacune des propriétés différentes. Il faut cependant tenir compte de l'ensemble des composés, les huiles essentielles pouvant pénétrer facilement à travers la peau. [6]

a) Les phénols

Les composés phénoliques les plus couramment retrouvés sont : le carvacrol, le thymol et l'eugénol (Figure I.7). Ce sont des anti-infectieux puissants et polyvalents. Il faut cependant souligner leur importante Dermocausticité. [6]

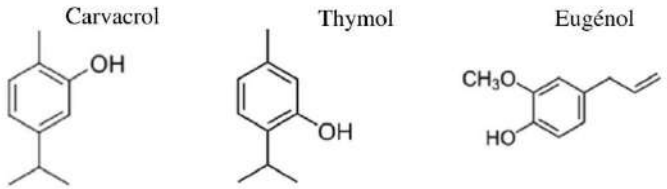


Figure I.7 : Structure des quelques composés phénoliques [6]

b) Aldéhydes aromatiques à noyau benzénique

Les aldéhydes aromatiques à noyau benzénique sont des anti-infectieux puissants à large spectre, immunostimulants et toniques. La molécule la plus courante est le cinnamaldéhyde (Figure I.8). A l'instar des phénols, ils sont dermocaustiques. [6]

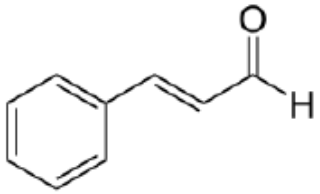


Figure I.8: Cinnamaldéhyde [6]

c) **Aldéhydes monoterpéniques**

Les aldéhydes monoterpéniques sont des molécules anti-inflammatoires à action rapide. On trouve notamment le citral (géranial et néral qui sont respectivement les isomères trans et cis) et le citronellal(Figure I.9). Comme les phénols et les aldéhydes aromatiques, ils sont dermocaustiques. [6]

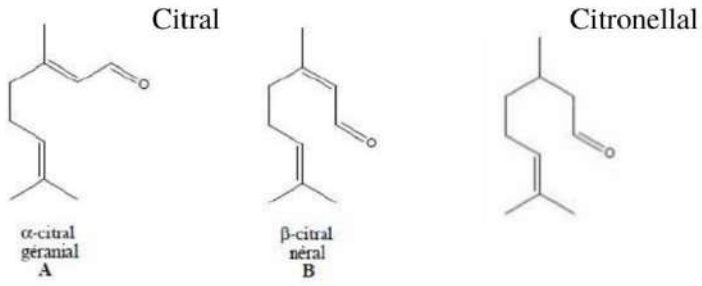


Figure I.9: Structure chimique de citral et de citronellal [6]

d) Les monoterpénols

Les monoterpénols sont des anti-infectieux (moins puissants que les phénols). Ils sont essentiellement représentés par l'α-terpinéol, le géraniol, le linalol et le menthol (Figure I.10**)**. Ils ne doivent pas être appliqués purs sur une grande surface cutanée. [6]

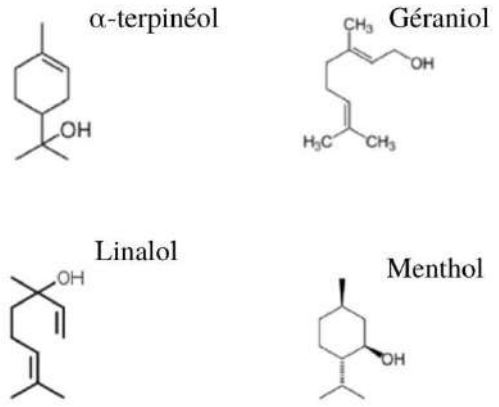


Figure I.10: Structure des quelques monoterpénols [6]

e) **Les oxydes**

Les oxydes sont des expectorants puissants et des mucolytiques. Ils sont aussi anti-infectieux. Le principal oxyde est le 1,8 cinéole (Figure I.11). Il doit être utilisé avec prudence chez l'asthmatique et présente un fort risque épileptogène. [6]

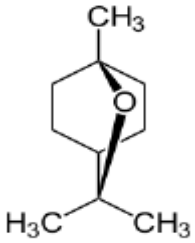


Figure I.11: Structure chimique de 1,8 cinéole [6]

f) Les cétones

Les cétones ont des propriétés surtout digestives par activité cholagogue et cholérétique mais elles sont neurotoxiques à fortes doses ou à doses répétées. On trouve par exemple : le camphre, la carvone, la menthone, la pinocamphone, la pipéritone ou encore la verbénone (Figure I.12). [6]

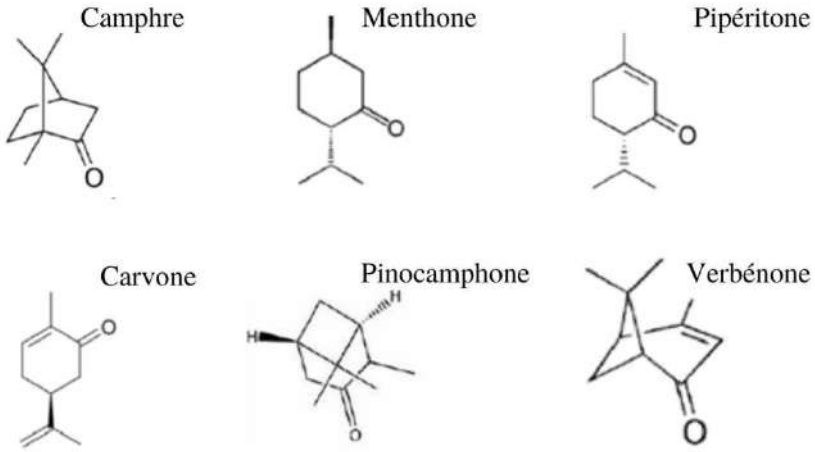


Figure I.12: Structure des quelques cétones [6]

g) **Les monoterpènes**

Les monoterpènes sont antiseptiques en diffusion atmosphérique. Ils ont une action révulsive par voie cutanée et sont des décongestionnants respiratoires et des molécules expectorantes. Ce sont notamment les α et β pinènes, le limonène, le sabinène, le terpinène et l'ocimène (Figure I.13) Une irritation cutanée peut survenir en leur présence. [6]

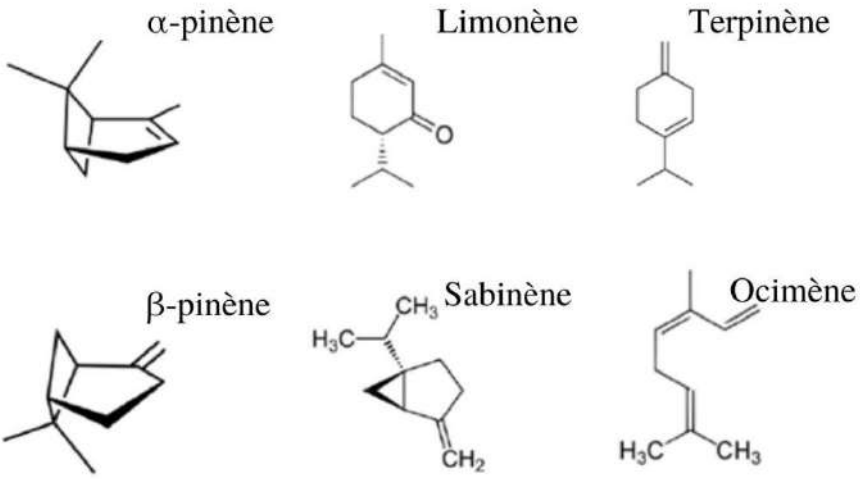


Figure I.13: Structure des quelques monoterpènes [6]

h) **Les esters**

Les esters ont une action calmante et sédative. Les principaux esters retrouvés sont les acétates d'eugényle, de géranyle, de linalyle et de méthyle (Figure I.14). Ils ne possèdent aucune contre-indication. [6]

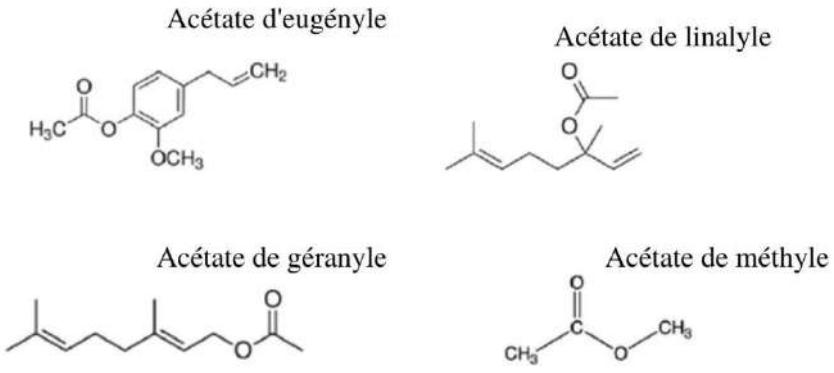


Figure I.14 : Structure des quelques esters [6]

i) **Les éthers**

Les éthers sont des antispasmodiques puissants. On citera le méthyl chavicol, le méthyl eugénol ou le trans-anéthol(Figure I.15). Ils ne doivent pas être utilisés à forte dose. [6]

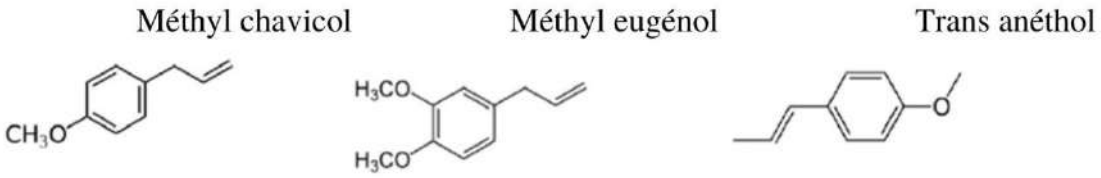


Figure I.15: Structure des quelques éthers [6]

j) **Les alcools sesquiterpéniques**

Cette famille possède des indications diverses selon les huiles essentielles. Il faut prendre des précautions d'utilisation en cas de cancers hormono-dépendants ou de mastoses que ce soit par voie interne ou externe. On trouve le bisabolol, le cédrol, le farnésol ou encore le viridiflorol(Figure I.16). [6]

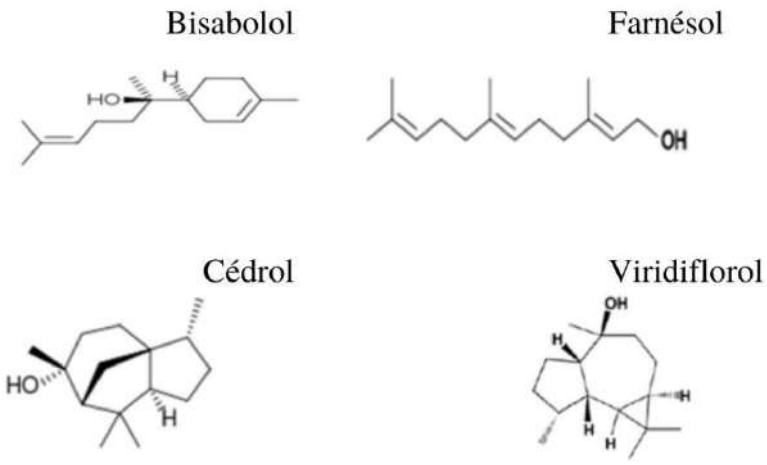


Figure I.16: Structure des quelques alcools sesquiterpéniques [6]

I.1.4 Propriétés physiques

Les HE sont :

- Liquides à température ambiante. A base température certaines HE se solidifient comme celle d'anis par exemple ;
- De consistance huileuse mais non grasse ;
- Volatiles (contrairement aux huiles fixes et odorantes). Leur volatilité augmente avec la chaleur ;
- Densité inférieure à celle de l'eau sauf celles de cannelle, sassafras, girofle rarement colorées,
- Solubles dans l'alcool jusqu'à concurrence de 5 %, les solvants organiques apolaires, les corps gras ;
- Insolubles dans l'eau.

(Pharmacopée Européenne, 2010) [7]

I.1.5 Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme"**.** En effet, bien que naturelle, il est capital d'intégrer la notion de la dualité « efficacité-toxicité » car toutes substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique.

La toxicité des HE est directement liée à leur composition chimique, les composés polyinsaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols…). [7]

I.2 HUILE ESSENTIELLE D'ORANGE DOUCE

I.2.1 Histoire et botanique

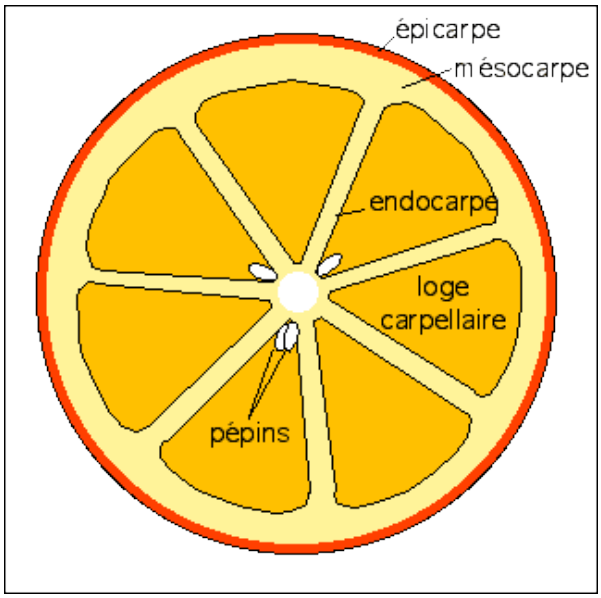


Figure I.17: Coupe transversale d'orange douce [8]

L'orange douce ou encore « citrus sinensis » est un imposant arbre d'une hauteur de 2 à 3 mètres. Il est composé de feuilles arborant continuellement une couleur verte et qui sont égayées par des fleurs blanches évoquant un parfum délicat. L'arbre de citrus sinensis offre des fruits juteux dont l'écorce est particulièrement odorante et riche en actif vertueux. [9]

Affectionnant les terres riches où le soleil et l'eau sont favorables, cet arbre est actuellement produit dans de nombreux pays notamment au Brésil, aux États-Unis, en Chine et en Inde. [9]

L'orange douce est une plante aux propriétés thérapeutiques. Utilisée depuis plusieurs années dans la médecine traditionnelle chinoise, elle est un indispensable des soins destinés à faciliter la digestion. Quant à son huile essentielle, celle-ci recèle une myriade de bienfaits avantageux sur le plan psychique et aussi sur la beauté. On l'apprécie en soin de bien-être et relaxant, mais on l'utilise également en formulation des cosmétiques apaisants et cicatrisants. [9]

L'huile essentielle d'orange douce est une huile de soin à effet bonne mine. Cette essence naturelle aux qualités tonifiantes élimine les impuretés et les cellules mortes de la peau pour enfin révéler son éclat naturel. Caractérisée par un doux

parfum fruité, elle repulpe les tissus lésés et combat les signes de fatigues et de l'âge.[10]

Les troubles cutanées ainsi que les chevelures grasses et pelliculées sont les principales préoccupations de l'huile essentielle d'orange douce. Cette incontournable huile cosmétique assure la bonne hydratation et réduit l'activité de sudation de l'épiderme. Grâce aux monoterpènes (actifs tonifiants et anti-infectieux), elle s'oppose aux attaques des micro-organismes et préserve ainsi la peau des inflammations, des infections et des inconforts.

Ayant un effet astringent et drainant circulatoire, l'huile essentielle d'orange douce garantit une peau sans cellulite. Elle stimule l'activité lymphatique et encourage de ce fait l'élimination des toxines et des cellules graisseuses. De cette manière, elle prévient l'accumulation des matières grasses sous la peau. Son pouvoir raffermissant permet de rétablir la souplesse et la fluidité de l'épiderme. En soin du visage, l'huile essentielle d'orange douce permet de lutter contre le vieillissement. [10]

I.2.2 Caractéristiques de l'huile essentielle d'orange douce

L'huile essentielle d'orange douce est extraite par expression à froid. Les zestes de l'agrume sont hachés puis pressés pour en faire écouler l'essence naturelle. Le liquide obtenu aura une couleur jaune orangée et sera légèrement limpide. Il exhalera une note fruitée et chaude très rafraîchissante.

Riche en principes actifs, les vertus conférées par l'essence de l'orange douce sont grandement influencées par les limonènes. Présents à 70 %, cet actif de la famille des monoterpènes est la source des vertus antiinfectieuses, apaisantes et tonifiantes de l'huile essentielle. [10]

Tableau I.1: La composition biochimique d'HE d'orange douce est susceptible d'évoluer en fonction des conditions de production. [11]

Composés chimiques principaux	Monoterpènes (Limonène)	60% à 80%
Autres composés chimiques	Monoterpénols	2% à 6%
	Cétones (Carvone)	2% à 3%
	Aldéhydes terpéniques	1% à 3%
	Coumarines	
	Furocoumarines	

a) Les limonènes, de précieux actifs

Les actifs tonifiants sont souvent moins considérés que d'autres. Bien que les agents hydratants, cicatrisants et anti-radicalaires soient des indispensables dans la rituelle beauté, les tonifiants en sont également.

De la famille des monoterpènes, le limonène est un puissant tonifiant. Son rôle est de booster les bienfaits de l'huile essentielle d'orange douce. Il maximisera entre autres le pouvoir hydratant et assainissant de celle-ci. Le limonène renforcera la barrière protectrice et fera en sorte que la peau ne soit plus sensible au vent, au froid et aux rayons solaires.

Il mettra à disposition des actifs anti-infectieux visant à prévenir les infections cutanées. En soin de peau abîmée, le tonus conféré par les monoterpènes permettra d'encourager le mécanisme de cicatrisation. Enfin, activant le système lymphatique, le limonène favorise l'élimination des cellules mortes et des toxines dans le but de préserver la qualité de l'épiderme. [10]

b) Plus de protection avec les monoterpénols

Étant des anti-infectieux à large spectre, les monoterpénols mettent à disposition des agents antifongiques et bactéricides essentiels dans la protection de la peau et des cheveux. Ils assainissent le tissu et préviennent les problèmes dermatologiques tels que les comédons, les irritations, l'hypersécrétion de sébum et les infections. Assurant la qualité du cuir chevelu, les monoterpénols empêchent le développement des

pellicules et apaisent les démangeaisons. Ils renforcent la protection des follicules pileux afin de réduire les chutes**.** [10]

c) Les cétones, des actifs amincissants

Les cétones sont des agents dépuratifs efficaces dans la lutte contre les peaux d'orange. Ils stimulent la dissolution des masses graisseuses et restaurent la souplesse ainsi que la fluidité de la peau. En quête d'une jambe fine? Utilisez l'essence d'orange douce pour activer l'élimination des surplus de gras localisés sur l'abdomen et les cuisses.

Outre cette propriété amaigrissante, la cétone a plus d'un arc à sa portée. Elle s'avère être anti-inflammatoire et cicatrisante. Elle a donc de quoi favoriser le renouvellement de votre peau lésée. Elle apaisera non seulement les rougeurs et les irritations, mais accélérera aussi la reconstruction des cellules cutanées. Vous arborerez ainsi une peau saine et neuve. [10]

d) Les bienfaits des aldéhydes terpéniques

Les aldéhydes terpéniques accroissent l'action anti-inflammatoire et calmante de l'huile essentielle d'orange douce. Ils interviennent dans la réparation des peaux abîmées et traitent par ailleurs les troubles du cuir chevelu. [10]

I.2.3 Utilisations d'huile d'orange douce

- Bonne pour l'acné ;
- Forte activité antibactérienne, l'huile d'orange présente de puissants effets antimicrobiens contre les bactéries pathogènes courantes (*Staphylococcus aureus, Listeria monocytogens* et *Pseudomonas aeruginosa*. l'*E. Coli*);
- Réduit l'inflammation de la peau, les zestes d'agrumes sont utilisés depuis longtemps pour traiter les maladies inflammatoires de la peau. Ce n'est que récemment que des scientifiques ont étudié l'utilisation de l'huile d'orange ;
- Antioxydants;

- Anti-anxiété;
- Remède naturel pour le sommeil;
- Aide à la cicatrisation des plaies à cause de ces propriétés antibactériennes ;
- Bonne pour les cheveux, l'huile d'orange douce peut aider à soulager les démangeaisons et l'inflammation associées à un cuir chevelu sec ou à des pellicules. [12]

I.2.4 Effets secondaires de l'huile essentielle d'orange douce

- En cas de dilution, les irritations et les réactions allergiques sont rares, elle est généralement bien tolérée lorsqu'elle est utilisée par voie topique pour les soins de la peau et des cheveux ;
- Contrairement à certaines huiles essentielles qui provoquent une photosensibilité, ce qui signifie qu'elles augmentent la sensibilité au soleil, l'huile d'orange n'est pas phototoxique ;
- Les femmes enceintes et celles qui allaitent doivent éviter d'utiliser l'huile essentielle d'orange douce, car il n'y a pas de données cliniques disponibles sur la sécurité pendant ces périodes ;
- Contrairement à l'huile de girofle et à plusieurs autres qui provoquent des maux de tête lorsqu'elles sont utilisées en aromathérapie, cet effet secondaire est extrêmement rare avec l'orange ;
- L'huile est comestible si elle est de qualité alimentaire. Les petites quantités peuvent être consommées sans danger, à condition qu'elles soient diluées conformément aux instructions du fabricant. |12]

I.3 LES EMULSIONS

I.3.1 Définition

Une émulsion est un mélange de deux phases non miscibles, telles que l'eau (E) et l'huile (H) par exemple. Une des deux phases, appelée phase dispersée, étant dispersée dans l'autre phase, dite continue, sous forme de gouttelettes grâce à un apport d'énergie. Les émulsions sont des systèmes qui ne sont pas à l'équilibre thermodynamique mais dans un état métastable. Il existe plusieurs types d'émulsions :

- Les émulsions simples sont formées de gouttes liquides dispersées dans la phase continue. Il en existe deux sortes : les émulsions, constituées d'une phase huile dispersée dans une phase aqueuse, stabilisées par un tensioactif hydrophile (TH) sont dites émulsions directes et sont notées H/E et les émulsions, composées d'une phase aqueuse dispersée dans une phase huile stabilisées par un tensioactif lipophile (TL), ces dernières sont dites inverses et sont notées E/H.

- Les émulsions doubles directes (E/H/E) ou inverses (H/E/H) qui sont des dispersions de gouttelettes internes dispersées dans des globules eux-mêmes dispersés dans la phase continue.

Les interfaces des gouttes de ces systèmes sont généralement stabilisées par des agents de surface tels que des tensioactifs, des polymères, des protéines ou des particules colloïdales. [13]

I.3.2. Stabilisation d'émulsion par des agents de surface

De par leur nature, les émulsions sont des systèmes qui ont une grande quantité d'interfaces. Celles-ci doivent être protégées pour les conserver.

Il s'agit de composés amphiphiles, autrement dit qui possèdent deux parties ayant des affinités différentes : l'une hydrophile (polaire), l'autre hydrophobe (ou lipophile, apolaire). Ces composés vont s'adsorber spontanément à l'interface eau/huile. Les agents de surfaces peuvent être des molécules ou bien des particules solides. Les petites molécules amphiphiles sont appelées des tensioactifs, la partie polaire peut être ionique ou non. Les polymères présentant un caractère amphiphile (blocs ou branches de polarités différentes) peuvent également s'adsorber aux interfaces. Enfin, Ramsden en 1903 et Pickering en 1907 ont montré qu'il était possible de stabiliser des émulsions par adsorption de petites particules solides à la surface des gouttes, de tels systèmes sont appelés « émulsions de Pickering ».(Figure I.18) [14]

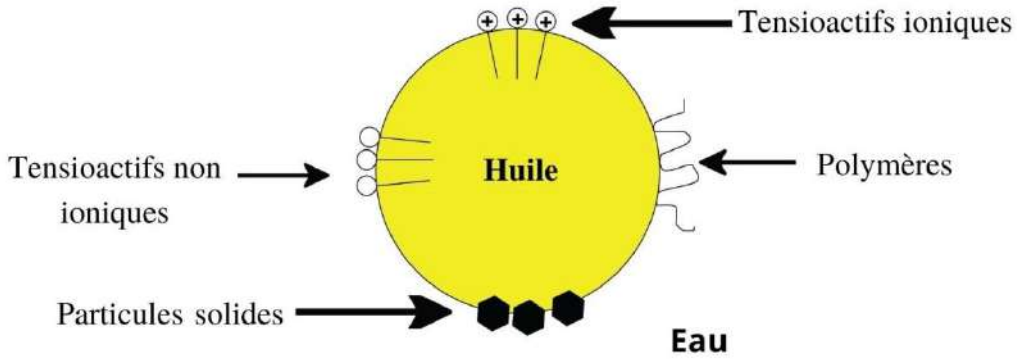


Figure I.18 : Représentation des différents types d'agents de surface utilisés pour la stabilisation d'émulsion. [14]

Les tensioactifs ont une énergie d'adsorption-désorption de l'ordre de l'énergie d'agitation thermique, ils sont donc en équilibre dynamique entre l'interface et la phase continue.

La nature de l'agent de surface conditionne le sens de l'émulsion. D'après la règle empirique de Bancroft, la phase continue d'une émulsion est celle dans laquelle l'agent de surface est le plus soluble. Les molécules amphiphiles peuvent être caractérisées par leur balance hydrophile-lipophile (**HLB** : hydrophilic-lipophilic balance, notion introduite par Griffin en 1949, qui quantifie les proportions des parties hydrophiles et hydrophobes et permet de prédire le sens d'une émulsion selon la molécule utilisée. La définition de la HLB est parfois contestée, mais un autre moyen de caractériser ces molécules est de considérer la courbure spontanée qu'elles adoptent à l'interface eau-huile selon leur géométrie (surface optimale par tête polaire, longueur de la partie apolaire, volume total).

Les agents de surface participent à la fabrication de l'émulsion. Leur choix, ainsi que celui des phases, a une influence sur l'émulsion obtenue, c'est la formulation. L'autre paramètre déterminant pour fabriquer une émulsion est la manière d'obtenir les gouttes dispersées: l'émulsification. [14]

I.3.3 Émulsification

a) Principe:

L'émulsification est définie comme un processus de dispersion d'un liquide dans un second liquide non miscible. Le principe consiste à inclure le matériau de base dans l'un des liquides (organique) qui est dispersé en petites gouttelettes sphériques dans l'autre (aqueuse) pour encapsuler les composants bioactifs. Un système qui contient une dispersion des gouttelettes d'huile dans une phase aqueuse est appelée une émulsion huile dans l'eau (H/E), et le vice versa. Les émulsions sont préparées en homogénéisant l'huile, l'eau, et l'émulsifiant tous ensemble et à l'aide d'un dispositif mécanique connu sous le nom d'un homogénéisateur (un mélangeur à cisaillement élevé, un homogénéisateur à haute pression, un broyeur colloïdal, un sonicateur ou un homogénéisateur membranaire). Les gouttelettes d'huile étant entourées d'une fine couche interfaciale constituée de molécules d'émulsifiants qui stabilisent l'émulsion. [5]

b)Usage:

La technologie d'émulsification est une étape clé dans la microencapsulation des huiles. Elle est généralement utilisée pour l'encapsulation de composés bioactifs dans les solutions aqueuses, qui peuvent soit être utilisées directement à l'état liquide ou être séchées (par pulvérisation ou lyophilisation) après émulsification pour former des poudres.

Les avantages de ces systèmes sont une facilité relative de préparation et un faible coût, mais ils présentent des inconvénients de l'instabilité physique (lorsqu'ils sont exposés à la chaleur, la congélation, le séchage, les pH extrêmes et les concentrations élevées de minéraux) et d'un contrôle de libération limité. [5]

I.3.4 Concept de formulation d'une émulsion

Il existe trois catégories de variables qui influencent le type d'émulsion :

a) **Variables de formulation physicochimique**

Ce sont les variables intensives (indépendantes des concentrations) associées à l'état d'équilibre du système. Il s'agit de tous les paramètres physiques ou chimiques

comme la température, la pression, la nature des constituants et le type d'électrolyte. [15]

b) **Variables de composition**

Ce sont les variables extensives associées aux quantités et proportions des composants principaux du système : l'eau, l'huile et le tensioactif. Les deux variables les plus communément utilisées sont la concentration en tensio-actif et le rapport eau/huile. [15]

c) **Variables mécaniques**

Ce sont les variables associées au protocole d'émulsification comme l'ordre d'incorporation des composants, la géométrie du dispositif d'agitation, la vitesse d'agitation ou l'énergie mécanique fournie. [15]

I.3.5 Stabilité des émulsions

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables. La stabilité des émulsions est donc d'ordre cinétique et est liée à la physico-chimie du système qui peut ralentir, voire inhiber les mécanismes physiques qui conduisent à la démixtion des phases. [15]

a) Stabilité physique

L'émulsion ne doit pas montrer de démixtion, qui peut être provoquée par la coalescence ou par un phénomène de crémage/sédimentation (la phase continue apparaît mais la phase interne peut être redispersée). La stabilité physique inclut aussi une invariance du comportement rhéologique et de la granulométrie. Il existe plusieurs mécanismes de déstabilisation. [15]

i. Crémage et sédimentation

Le crémage est une forme d'instabilité qui correspond au déplacement verticale des particules de la phase dispersée sous l'influence de la gravité. Dans le cas des émulsions, ce déplacement se fait généralement vers le haut (crémage proprement

dit). Lorsque les particules de la phase dispersée se rassemblent à la partie inférieure, le phénomène est appelé sédimentation. [16]

ii. Floculation

La floculation correspond au rassemblement des gouttelettes pour constituer des agrégats sans perdre leur individualité. Le film interfacial demeure intact. Il faut noter que contrairement au crémage la floculation n'est pas toujours facilement réversible. [16]

iii. Coalescence

La coalescence est une forme d'instabilité dans laquelle les gouttelettes floculées perdent leur film interfacial et fusionnent pour former des gouttelettes plus grosses d'une façon irréversible. [16]

iv. Inversion de phase

L'inversion de phase est une forme d'instabilité qui se traduit par un brusque changement du sens de l'émulsion (transformation d'une émulsion E/H en une émulsion H/E ou inversement). [16]

v. Murissement d'Ostwald

C'est un processus irréversible qui dépend d'une part de la granulométrie et d'autre part de la surpression de Laplace. Les gouttes les plus petites disparaissent au profit des plus grosses par transfert de matière à travers la phase continue. [15]

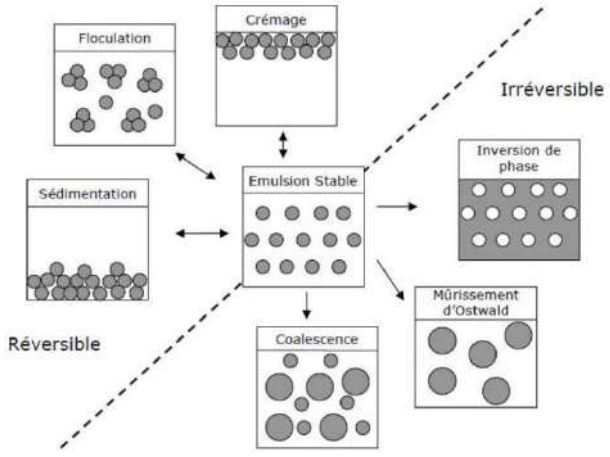


Figure I.19: Formes d'instabilité d'une émulsion [17]

b) Stabilité chimique

Aucun des composants de l'émulsion ne doit participer à une réaction chimique pouvant soit modifier de manière grave la stabilité physique, soit perturber les propriétés applicatives (aspect, couleur, odeur, efficacité). [15]

c) Stabilité microbiologique

La formulation ne doit pas être un milieu de culture pour levures, moisissures et germes bactériens, au risque de se dégrader (modification de viscosité, de couleur, d'odeur, démixtion), mais surtout pour éviter tout problème applicatif. [15]

I.4 UTILISATION D'INTERFACES COMPLEXES DE POLYMERE POUR STABILISATION D'EMULSION

I.4.1. Généralités sur les polymères

Les polymères sont des macromolécules, c'est-à-dire des molécules géantes constituées d'un grand nombre de sous-unités, appelées monomères, qui s'enchaînent dans l'espace de manière linéaire ou avec des ramifications et qui peuvent aller jusqu'à trois dimensions. Ce sont des composés de haut poids moléculaire.

Il existe des polymères naturels, comme par exemple la cellulose et les polymères synthétiques qui sont fabriqués selon différentes méthodes : réactions de polymérisation, de polycondensation et de polyaddition. Ils sont utilisés dans de très nombreux domaines d'applications, comme par exemple pour fabriquer les plastiques d'emballage.

Les polymères peuvent être utilisés en solution, par exemple pour leur synthèse chimique (polymérisation en solution), pour les analyser (spectroscopies ou diffusion de rayonnement) ou comme additifs dans les formulations liquides en tant qu'agents rhéologiques ou agents de surface.[14]

I.4.2 Comportement des polymères aux interfaces

Les polymères utilisés pour la stabilisation d'interfaces eau-huile doivent avoir un caractère amphiphile, c'est-à-dire posséder des régions hydrophiles et hydrophobes. La distribution de ces régions le long de la chaîne polymère va conduire

à différentes conformations adsorbées à l'interface. La Figure I.20 représente les cas de deux types de copolymères : l'un statistique avec une répartition aléatoire le long de la chaîne des parties hydrophiles et hydrophobes, l'autre dibloc où les régions sont simplement juxtaposées :

Dans cet exemple, les copolymères considérés sont de type ─(A)n-(B)m─ où les monomères A sont hydrophobes (en rouge sur la Figure I.20 et les monomères B sont hydrophiles (en bleu). [14]

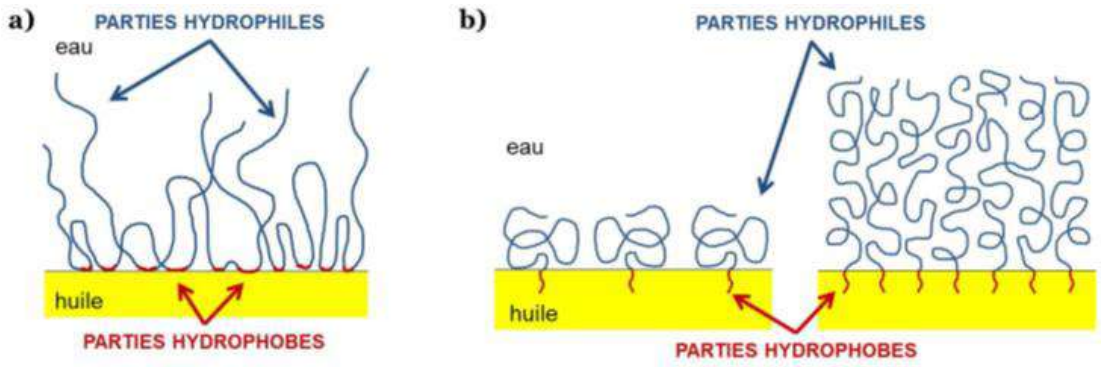


Figure I.20: Représentation de copolymères amphiphiles adsorbés à l'interface eau-huile dans le cas d'une émulsion H/E.

a) Cas d'un copolymère statistique

b) Cas d'un copolymère dibloc [14]

I.4.3 La pectine

La pectine a été découverte il y a plus de 200 ans. En raison de la masse de propriétés positives, la pectine est largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Et pour usage domestique, cette substance est spécialement produite industriellement.

La pectine est un polysaccharide naturel ayant subi un processus de purification, qui est essentiellement un glucide complexe. La pectine est un composé organique, est une substance granuleuse de couleur sable clair, sans goût ni odeur. La pectine a pour objectif principal la gélification, l'encapsulation; dans les aliments, elle agit comme un épaississant et un stabilisant. La pectine se trouve dans les agrumes et certains légumes. [18]

I.4.4 Historique de la pectine

L'auteur de la découverte de la pectine était le chimiste français Henri Braconno, qui avaient isolé la pectine du jus de prune. Cependant, plus récemment, lors de l'étude des manuscrits égyptiens antiques, les experts ont trouvé une référence à «de la glace transparente aux fruits qui ne fond pas même sous le chaud soleil de Memphis». Les scientifiques en sont venus à la conclusion qu'il s'agissait de la première mention de gelée faite avec l'utilisation de pectines.

Traduit du grec, Son nom est issu du mot « pektikos » qui signifie se congeler ou se solidifier. C'est l'un des composés de l'acide galacturonique et est présent dans presque toutes les plantes supérieures. Particulièrement riche en fruits et certains types d'algues. [18]

I.4.5 Sources de la pectine

Les sources végétales de pectine sont nombreuses. En voici quelques exemples :

- betterave à sucre ;
- cabosse de cacao ;
- pomme ;
- écorce d'agrumes (pamplemousse, citron, orange) ;
- fruits tropicaux (fruit de la passion, goyave, mangue) ;
- jus de fruits industriels ;
- capitules de tournesol.

Toutefois, les pectines industrielles sont principalement extraites du marc de pomme et de l'écorce de *citrus*. [19]

I.4.6 Structure de la pectine

La structure de la pectine (Figure I.21) fait encore l'objet de nombreuses études. L'importante hétérogénéité de cette famille de polymère et les limites technologiques rendent la caractérisation de sa structure difficile. [20]

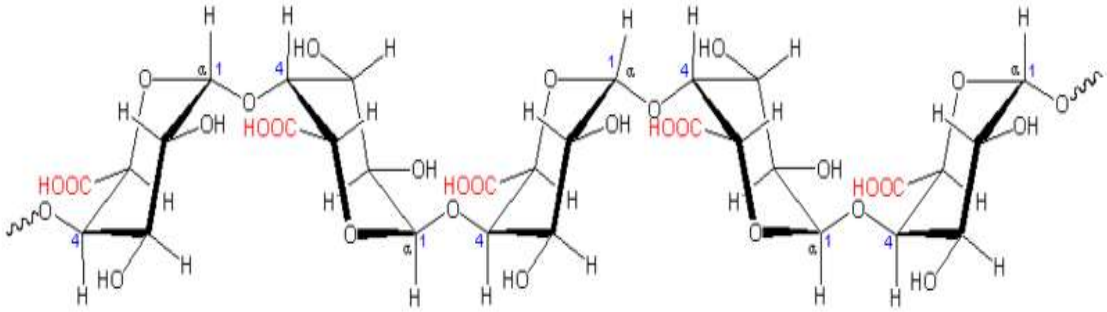


Figure I.21: Structure de la pectine [20]

a) Monomères d'acide galacturonique

La pectine est majoritairement formée de monomères d'acide galacturonique. Ce monomère est un acide uronique, obtenu par oxydation du carbone 6 du monosaccharide de galactose. L'acide galacturonique est un hexose, cyclisé sous une forme de pyranose galacturonique. Dans les polymères de pectine, on retrouve principalement la forme D de l'acide galacturonique (Figure I.22). [20]

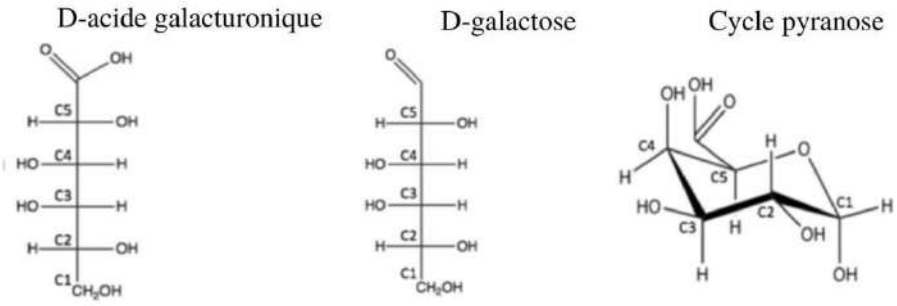


Figure I.22: Représentation de la molécule de D-acide galacturonique, D-galactose et du cycle pyranose. [20]

b) Degré d'estérification

Sur les chaînes linéaires, les fonctions acides carboxyliques des monomères galacturoniques peuvent subir une méthoxylation. Ainsi, il sera défini le degré de méthoxylation (DM) correspondant à la proportion des fonctions acides méthylées. Deux types de pectines sont alors identifiées les « pectines hautement méthylées » (HM), correspondant à plus 50% de méthylation des fonctions acides, et les « pectines faiblement méthylées » (LM), correspondant à moins de 50% de méthylation des fonctions acides. [20]

I.4.7 Propriétés physiques de la pectine

La pectine est principalement utilisée dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique pour ses propriétés physiques. Ces propriétés sont généralement dépendantes de sa structure. [20]

a) Solubilité

La structure de la pectine la rend insoluble dans le solvant organique et soluble dans l'eau. La solubilité dans l'eau est généralement dépendante de la distribution des groupements méthoxylés et de la masse molaire. La solubilité de la pectine augmente avec la diminution du DM et pour les petites masses molaires de pectine. La pectine se solubilise grâce à 3 étapes successives : hydratation, gonflement et dissolution. [20]

b) Propriétés stabilisantes

Les stabilisants sont des additifs qui permettent de maintenir l'état physico-chimique du produit. Trois stratégies sont envisageables pour obtenir cette propriété. La première consiste à augmenter la viscosité de la solution. La deuxième crée un réseau assurant le maintien en suspension des particules. Le troisième masque les éléments qui peuvent interagir entre eux. [20]

c) Propriétés viscosifiantes

La viscosité est la grandeur qui relie le taux de cisaillement à la contrainte. Les agents dits viscosifiants ont la propriété de modifier le comportement de la phase continue, sans former des zones de jonction contrairement aux gélifiants et certains stabilisants. La pectine HM possède cette caractéristique due à son haut poids moléculaire. [20]

d) Propriétés gélifiantes

La gélification est un procédé qui consiste à former un gel. On peut définir un gel comme "un système colloïdal : les molécules gélifiantes sont des macromolécules qui forment un réseau en se solvatant. Ce réseau tridimensionnel solide contient entre ses mailles une phase liquide". [20]

i. Pectine HM

La gélification des pectines HM est permise par un ensemble de liaisons hydrogènes et d'interactions hydrophobes (Figure I.23) formant un réseau tridimensionnel, comprenant un solvant. [20]

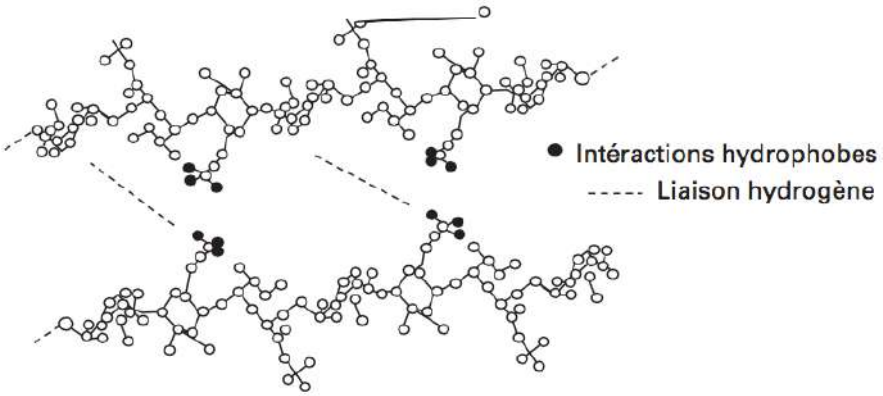


Figure I.23: Zone de jonction des pectines HM lors de la gélification [20]

- **Liaisons hydrogènes**

Pour les chaînes de pectine HM, les liaisons hydrogènes interviennent entre les groupes méthoxyles, carboxyles et hydroxyles. Ces forces intra- et intermoléculaires, considérées d'intensité faible, représentent 70% de la force du gel. [20]

- **Interactions hydrophobes**

Les interactions hydrophobes sont essentielles à la formation d'un gel pour les pectines HM. Celles-ci impliquent les fonctions méthoxylées des monomères d'acides galacturoniques. Ainsi, le degré de méthoxylation de la pectine aura un impact sur le réseau formé. [20]

- **Facteurs affectant la gélification de la pectine HM**

Le pH est un facteur affectant la gélification de la pectine. Lorsqu'il est inférieur au pKa des fonctions carboxyliques des acides galacturonique (pKa ≈ 3,5). La concentration en polyols (sucres) dans la chaîne de pectine joue un rôle dans la formation des liaisons hydrogènes. Les sucres agissent comme un déshydratant facilitant le rapprochement des chaînes et donc la formation de liaisons hydrogènes.

De plus, les interactions hydrophobes se retrouvent renforcées et stabilisées par la présence des sucres. [20]

ii. Pectine LM

La pectine LM possède des interactions similaires à la pectine HM (liaisons hydrogènes et liaison hydrophobes). Cependant, la pectine LM est capable de former des liaisons de coordination en présence de cations donnant naissance à un réseau.

La présence de cations avec la pectine entraine la formation d'interactions entre les chaînes, formant des ponts cationiques. Ces associations sont responsables de la formation d'un gel (Figure I.24). La force de ces interactions est influencée par des facteurs intrinsèques (masse molaire, régions ramifiées, distribution des groupements méthoxylés, DM) et extrinsèques (pH, température et concentration en cation, nature du cation). [20]

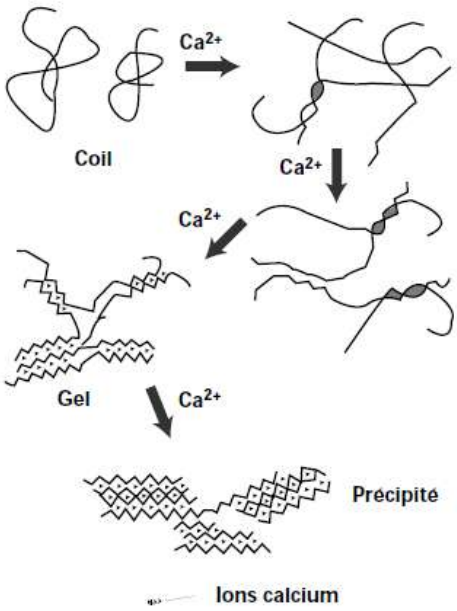


Figure I.24: Mécanisme de gélification de la pectine LM [20]

Partie II :

MATERIELS

Et

METHODES

II.1 INTRODUCTION

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire « Biologie I » au niveau du Hall technologique de l'université "Dr. Yahia Fares" de Médéa

Le but de notre travail est de formuler et caractériser des émulsions simples huile dans eau (H/E), à base d'huile essentielle extraites d'oranges douces (*C. sinensis)* comme principe actif et en utilisant un polysaccharide émulsifiant « la pectine ». Pour ce faire, on projetait d'accomplir les tâches suivantes :

- Extraction des huiles essentielles à partir des écorces de *C. sinensis* (orange douce) par hydrodistillation;
- Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles extraites;
- Formulation des émulsions d'HE d'agrumes à base de pectine hautement méthylé;
- Etude de l'activité biologique y compris l'activité antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles seules et en émulsion;
- Evaluation de ces émulsions pour l'application cutanée.

II.2 PRODUITD ET MATERIELS UTILISES

Tableau II.1: Matériels et produits utilisés

Matériels	Produits
○ Chauffe ballon ○ Ballon de 250 ml ○ Réfrigérant ○ Pompe à eau ○ Eprouvette de 50 ml ○ Tubes à essai ○ Pipette pasteur ○ Balance ○ Béchers ○ Pipette jaugé 10 ml ○ Barreau magnétique ○ Plaque agitatrice ○ Homogénéiseur à tige 18	○ Eau distillée ○ Zestes d'oranges douces ○ Chlorure de sodium (NaCl) ○ Sulfate de sodium (Na_2SO_4) ○ HE ○ Eau distillée ○ Pectine HM ○ Glycérol

II.3 MATIERE PREMIERE VEGETALE

La matière végétale utilisée dans cette étude sont des fruits d'agrumes d'espèce *C. sinensis* (oranges douces) .Ils sont très cultivés en Algérie surtout dans la région de Mitidja. La récolte a été réalisée durant la période durant le mois de Février jusqu'à la mi-Mars Les fruits soigneusement collectés, ont été lavés à l'eau et séchés avec une serviette, et le zeste (épicarpe d'agrume) a été récupéré à l'aide d'un économe (Figure II.1).



Figure II.1: Zestes de *C. sinensis* (orange douce)

II.4 EXTRACTION DES HUILES ESEENTIELLES

Dans cette partie, on a procédé à l'extraction des huiles essentielles à partir des écorces d'agrumes par hydrodistillation.

II.4.1 Protocole expérimental

1) Le montage expérimental utilisé pour le procédé d'hydrodistillation est représenté sur la (Figure II.2) en assurant que l'eau qui passe dans le réfrigérant est très froide et que tout le montage est à l'abri de la lumière. La récupération de la vapeur condensée se fait dans l'éprouvette;
2) Remplir le ballon avec du zeste et d'eau distillée où le rapport (zestes/eau)= (1/2). Le ballon doit être à demi rempli (Figure II.3);
3) Faire la distillation environ 20 minutes dès l'ébullition du mélange. L'éprouvette de récupération doit être couverte pour éviter l'évaporation d'huile;

4) Le distillat recueilli subit un relargage par l'ajout de quelques cristaux de chlorure de sodium (le NaCl ayant plus d'affinité à l'eau qu'à l'huile essentielle incite celle-ci à flotter, puisque les huiles essentielles sont moins denses que l'eau).
5) Après la distillation, récupérer l'huile former sur la surface d'eau dans un petit tubes à essai par une pipette pasteur;
6) Ajouter du sulfate de sodium pour éliminer toute trace d'eau dans la phase organique, on a ajouté du sulfate de sodium(Na_2SO_4)
7) L'huile essentielle ainsi récupérée est conservée à basse température (4°C), à l'abri de la lumière dans un flacon en verre, hermétiquement clos pour éviter toute dégradation.



Figure II.2: Montage d'hydrodistillation



Figure II.3: Ballon mi- rempli de zestes et d'eau distillée

II.4.2 Calcul de rendement en huiles essentielles

Le rendement en HEs est le rapport entre la masse de HEs extraite et la masse de la matière première à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et il est calculé par la formule suivante :

$$\boldsymbol{R_{HE} = (m_{HE}/m_{M.V}) * 100} \qquad \text{(II.1)}$$

$\boldsymbol{R_{HE}}$: Rendement en huile essentielle (%).

$\boldsymbol{m_{HE}}$: Masse de l'huile essentielle en gramme.

$\boldsymbol{m_{M.V}}$: Masse de la matière végétale en gramme.

II.4.3 Caractérisation physicochimique des huiles extraites

La caractérisation physico-chimique des huiles essentielles consiste à déterminer les paramètres suivants : Le pH, la densité, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice de saponification, ainsi que l'indice d'ester. Les méthodes utilisées pour déterminer les indices physico- chimiques sont celles indiquées par le recueil de normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) (voir annexe 1)

II.5 FORMULATION DES EMULSIONS D'HE D'AGRUME

II.5.1 Caractérisation physico-chimique des émulsions préparées

a) Examen macroscopique [21]

Description détaillée de chaque émulsion obtenue (légère, épaisse, opaque, couleur et odeur).

b) Examen microscopique [21]

Tableau II.2 :Aspect des émulsions selon la taille des globules [21]

Taille des globules	Apparence microscopique
> 5 µm	Emulsions grossières ± stables.
5 µm à 1 µm	Emulsions moyennes laiteuses blanche.
1 µm à 0.1 µm	Emulsions fines à reflets bleutés.
< 0.1 µm	- Emulsions légèrement translucides - Microémulsions translucides. - Solutions micellaires.

c) Mesure de la viscosité [21]

Pour l'étude de la viscosité des émulsions pharmaceutiques, les appareils les plus utilisés est : les viscosimètres à mobile tournant.

Mode opératoire :

- Introduire dans un tube à essai l'émulsion préparée.
- Régler chaque fois la vitesse de rotor.
- Lire la valeur de la viscosité sur l'écran de l'appareil.

d) Test de stabilité [22]

i. Stabilité à la centrifugation

Mode opératoire:

- Soumettre les émulsions à des accélérations relativement élevées (de l'ordre de 3000 tours/min) ;
- Observer l'aspect des émulsions, noter les instabilités éventuelles : crémage, sédimentation, séparation de phase.

ii. Stabilité à la chaleur et au froid

Mode opératoire:

- Placer les émulsions dans une étuve portée à des températures variables (généralement 5°C et 50°C) pendant un temps déterminé (4 à 6 semaines) ;
- Contrôler l'émulsion, à des intervalles de temps données: aspect macroscopique, taille des particules, viscosité et sens de l'émulsion.

Les émulsions peuvent subir des cycles alternes 5°C et 50°C (conditions de transport et de stockage extrêmes).

e) Détermination du sens [22]

Méthode par dilution: une émulsion H/E se dilue facilement dans l'eau.

f) Détermination du pH [21]

La valeur du pH est souvent importante pour la conservation, et pour les incompatibilités. Cette détermination se fait avec pH-mètres, directement sur l'émulsion

Mode opératoire:

- Une fois l'appareil étalonné, on rince les électrodes à l'eau distillée.
- Verser une quantité suffisante de l'échantillon dans le récipient de mesure.
- Introduire l'électrode dans cette émulsion.
- Lire la valeur du pH sur l'écran de l'appareil.

II.6 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE PAR LA TECHNIQUE DE MACRO-DILLUSION EN MILIEU LIQUIDE

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L).

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide.

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de 2 en 2, suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boite. [23]

II.7 EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE PAR DPPH [24]

Principe de méthode :

Le composé chimique 2,2- dipényl -1- picrylhydrazyle (DPPH) est l'un des radicaux libre qui possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote (Figure II.4). Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forme pas des dimères et restent dans leur forme monomère relativement stable à température ambiant. Cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH, cette couleur disparait en présence d'antioxydants lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl.

L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons, le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm.

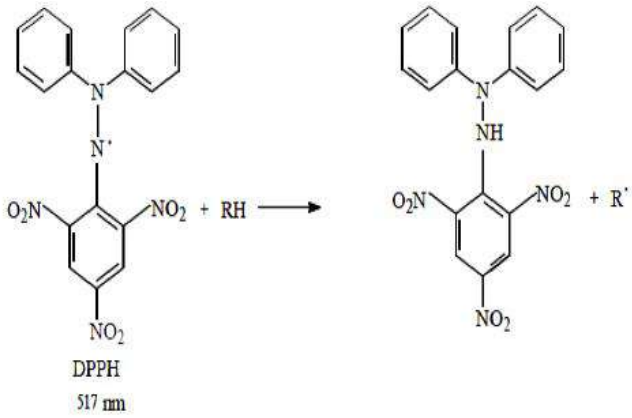


Figure II.4: Réaction du DPPH avec une molécule donneuse du proton [24]

II.8 CONCLUSION

Cette partie présente les matériels et produits nécessaires pour chaque étape ainsi les protocoles poursuivis pour la formulation, il présente aussi les tests nécessaire pour garantir une formulation conforme.

Partie III :

RESULTATS

Et

DISCUSSIONS

III.1 INTRODUCTION

Dans cette partie de notre travail, nous exposerons les résultats obtenus et leurs discussions en se rapportant seulement à l'extraction de l'huile essentielle de *C. sinensis* (orange douce), parce que malheureusement on n'a pas pu finir les autres étapes de ce projet à cause de l'épidémie du COVID-19.

III.2 EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

L'extraction des huiles essentielles de *C. sinensis* (orange douce) est faite par l'hydrodistillation à l'abri de la lumière où l'eau qui passe par le réfrigérant est froide. L'huile essentielle ainsi récupérée est conservée à basse température (4°C), à l'abri de la lumière dans un flacon en verre, hermétiquement clos pour éviter toute dégradation.

III.2.1 Rendement de l'extraction

Le rendement de l'extraction a été calculé selon l'équation (II.1). Il n'était pas constant, le rendement a été de minimum de 0.053%, de maximum de 3.4% et de moyenne de 1.473%. L'instabilité du rendement était due à la diversité des *C. sinensis* utilisées et la perte dans le montage.

III.2.2 Caractères organoleptiques de l'huile essentielle

L'huile récupérée était limpide, de couleur transparente jaunâtre, avec une forte odeur d'orange douce. (Figure III.1)

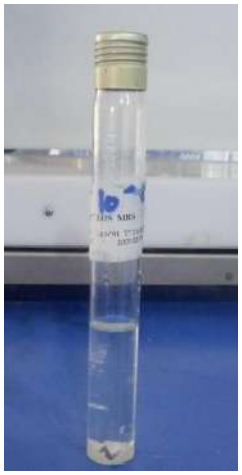


Figure III.1: Huile essentielle de *C. sinensi*

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la formulation et la caractérisation des émulsions simples huile dans eau (H/E), destinée à une application pharmaceutique.

Les émulsions huile-dans-eau sont stabilisées par la pectine de citrus commerciale (hautement méthylée). Les huiles essentielles d'agrume extraites représentent la phase huileuse. Et afin d'évaluer l'aptitude d'une émulsion H/E à base de pectine de garder les propriétés biologiques de l'huile essentielle encapsulé, il est nécessaire de déterminer l'activité antioxydante et antimicrobiennes des huiles essentielles seules et en émulsions à formuler une crème cicatrisante.

Dans ce contexte, notre recherche a été axée sur les points suivants:

- Procéder à l'extraction des huiles essentielles à partir de zestes des écorces de citrus d'orange (*Citrus sinensis*) par hydrodistillation;
- Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles extraites afin de confirmer leurs structures;
- Elaboration des émulsions d'HE simple à base de pectine hautement méthylée (HM), en étudiant l'effet de la variation de ses concentrations massiques sur la stabilité et la rhéologie des formulations;
- Caractérisation physico-chimiques des différentes émulsions formulées. Cette dernière consiste en une mesure de pH, de viscosité ainsi que des analyses macroscopiques, microscopiques et des analyses sur la stabilité et le sens de l'émulsion;
- Evaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et en émulsion par la méthode de Macro-dilution en milieu liquide;
- Evaluation de l'activité antioxydants de l'huile essentielle de *citrus* utilisée seule et en émulsions, par la méthode de réduction du DPPH°.

Malheureusement à cause de l'épidémie de COVID-19 on n'a pas pu finir notre travail, espérant qu'un jour quelqu'un d'autre pourra l'achever.

ANNEXE

1. CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE DES HUILES EXTRAITES

Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH indique si une solution est acide ou basique il est exprimé par une valeur numérique, il représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse. Le pH d'huile essentielle est déterminé à l'aide d'un PH mètre. [25]

Densité relative NF EN 1131 Décembre 1994

La densité relative de l'huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un égal volume d'eau distillée à 20°C [25]

Détermination de l'indice de réfraction : (AFNOR NF ISO 280 : 1999)

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante. [27]

Il est calculé à la température de référence t selon la formule suivante (AFNOR, 2000) :

$$n^{t} = n^{t'} + 0{,}0004\,(t' - t)$$

$n^{t'}$: valeur de lecture, obtenue à la température t´

t´ : température en °C de l'échantillon [29]

Détermination de l'indice d'acide : (NF ISO 1242 : 1999 (T 75-103))

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'HE. Les acides libres sont neutralisés par une solution d'éthanol (EtOH) titrée d'hydroxyde de potassium (KOH) [24]

Mode opératoire : [25]

On a Pesé 1 g d'H.E puits Introduire la prise d'essai dans un erlenmeyer. Ajouter 5 ml d'éthanol à 96° et 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine. Titrer le liquide avec

la solution de KOH (0,1 N) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes. Noter le volume de solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

Calcul d'indice d'acide (I.A) :

$$\boldsymbol{I.A} = V * 5.61/m$$

V : est le volume en millilitres de solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour le titrage.

m: est la masse en grammes de la prise d'essai

5,61 : correspond à 0,1 mole/l de KOH ajoutée.

Détermination de l'indice d'ester : (AFNOR NF T 75- 104 : 1994)

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'HE. L'hydrolyse des esters présents dans l'HE se fait par chauffage, dans des conditions définies, en présence d'une solution EtOH titrée de KOH et dosage en retour de l'excès d'alcali par une solution titrée d'HCl. [24]

Mode opératoire [26]

Les étapes suivies pour déterminer l'indice d'ester sont (Pharmacopée Européenne, 2001) :

- Introduire la prise d'essai dans une fiole de 250 ml de verre borosilicaté et d'un réfrigérant à flux

- Ajouter 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5 N et quelque billes de verre. Adapter le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min.

- Ajouter quelques gouttes de solution de phénolphtaléine et titrer immédiatement par l'acide chloroformique 0.5N (V_1ml d'acide chlorhydrique 0.5N)

- Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions (V_2 ml d'acide chlorhydrique 0.5N).

Calcul de l'indice d'ester IE : [28]

$$\boldsymbol{IE} = 28.05(V2 - V1)/P$$

IE : indice d'ester

$\mathbf{V_1}$: Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour l'essai à blanc

$\mathbf{V_2}$: Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour la détermination de l'indice

P : La masse en gramme de la prise d'essai

Indice de saponification : (ISO 3657 : 2000 F)

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour saponifier 1 g d'HE [27]

Calcul de l'indice de saponification IS: [26]

$$\boldsymbol{IS} = IE + IA$$

IE : indice d'ester

IA : indice d'acide

2. COMPOSITION DE BOUILLON MULLER HINTON (MHB) [28]

Infusion de viande	2 grammes
Hydrolysat de caséine	17.5 grammes
Amidon	1.5 grammes
Agar	17 grammes
Eau distillée	1000 ml

Le pH 7.3 ± 0.1 à 25°C

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

[1] DESRAMAUX M., 2018. (Huiles essentielles en dermocosmétologie), thèse de doctorat, université de Bordeaux, Bordeaux, p12

[2] DUNG, N.T., KIM, J.M., AND KANG, S.C., 2008. (Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of Cleistocalyx operculatus (Roxb.) Merr and Perry buds. Food and Chemical Toxicology 46: pp.3632-3639.

[3]https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/HuilesEssentielles/Fiche.aspx?doc=huile-essentielle-orange-douce [Consulté le 23/05/2020]

[4] CAULLET L., DOS SANTOS A., KNIPPER G., RUSALEN M. et SEIGNEUR., 2018. (Les émulsions alimentaires et cosmétiques), thèse de doctorat , université de Lorraine, Lorraine , p5

[5] ABDALLAOUI R., 2018. (La microencapsulation des huiles: meilleure approche pour la valorisation des produits alimentaires?), thèse de doctorat, université MOHAMMED V de Rabat, Rabat, p26-43

[6] LECLAIR T., 2013. (L'incorporation d'huiles essentielles dans les cosmétiques: quels en sont les intérêts et les risques?), thèse de doctorat, université de Nantes, Nantes, p36- 48

[7] DUVAL L., 2012. (Les huiles essentielles à l'officine), thèse de doctorat, université de médecine et de pharmacie de Rouen, p65-69

[8] http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Fruits/orange.htm [Consulté le 08/09/2020]

[9] https://www.eliabeaute.com/huile-essentielle-dorange-douce-pour-la-beaute-caracteristiques-et-bienfaits/. [Consulté le 02/06/2020]

[10] ATTOU A., 2017. (Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles De Quatre Plantes Aromatiques de l'Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydante et Antimicrobienne), thèse de doctorat, université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Tlemcen, p 11-12

[11] https://www.doctissimo.fr/sante/aromatherapie/guide-huiles-essentielles/huile-essentielle-d-orange-douce. [Consulté le : 15/06/2020]

[12] https://www.plus-saine-la-vie.com/huiles-essentielles/14-bienfaits-de-lhuile-essentielle-dorange-douce / [Consulté le: 01/06/2020]

[13] STASSE M., 2018. (Encapsulation d'espèces lipophiles actives par émulsion Double), thèse de doctorat, université de Bordeaux, Bordeaux, p24

[14] COLLIAT-DANGUS P., 2015. (Complexation interfaciale de polymères: propriétés et stabilité d'émulsions millimétriques), thèse de doctorat, université de Pierre et Marie Curie, Paris, p19-30

[15] IBRIR A et BAB CHIKH S., 2015. (Formulation et contrôle de qualité d'une crème cicatrisante a base du gel d'aloe vera et de la bave d'escargot), mémoire de master, université Dr. Yahia Fares de Médéa , p11-12

[16] LIMANI C et OUKACI F., 2014. (Etude de la stabilité des émulsions de PICKERING), Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p 6-9

[17] https://www.cosmessencebio.fr/2014/10/tout-savoir-sur-les-emulsions-les.html [Consulté le : 13/09/2020]

[18] https://geotoriya.ru/fr/vidy-i-pravila-ispolzovaniya-pektin---chto-eto-takoe-poleznye-svoistva.html. [Consulté le : 01/06/2020]

[19] https://alimentation.ooreka.fr/astuce/voir/602655/pectie
[Consulté le : 01/06/2020]

[20] JOAQUIM M., 2018. (La Pectine Applications d'un polymère biodégradable dans le domaine de la santé), thèse de doctorat, université d'Angers, Angers, p9-15

[21] ADALI K et BELHACHEMI M., 2016. (Formulation d'une émulsion a base des ingrédients naturel pour un usage pharmaceutique), mémoire de master, université Dr.Yahia Farés de Médéa, p32-36

[22] DJEBBAR M., 2018. (Les émulsions), cours universitaire, université Badji Mokhtar de Annaba, p42-52

[23] TOURE D., 2015. (Etude chimique et biologique des huiles essentiels de quatre plantes aromatiques et biologique médicinales de côté d'ivoire), thèse de doctorat, université Felix Houphoeut Boigny, Côte d'Ivoire, p 14,15

[24] TAHIRE K., 2018. (Les huiles essentielles de Rosmarinus officinales: caractéristiques physico-chimiques et activité antioxydante), mémoire de master, université Akli Mohanad Oulhadj, Bouira , p22-25

[25] BOUKHATEM M. N, HAMAIDI M. S, SAIDI F(1) , HAKIM Y., (Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du Géranium Rosat (Pelargonium graveolens L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie)), université Saad Dahleb de Blida, p39

[26] SAADOU Z et M^{r} TAHARI B., 2015. (Détermination des propriétés organoleptiques et physicochimiques des huiles essentielles: Rosmarinus officinalis, Origanum majorana, Mentha pulegium (Lamiacees)), mémoire de master, université Djilali Bounaama Khemis Milana, p43, 48,49

[27] Amara N et Boughérara Y., 2017. (Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (Cupressus Sempervirens L.)) Algerian Journal of Natural Product s 5:2 455-462

[28] https://microbiologyinfo.com/mueller-hinton-agar-mha-composition-principle-uses-and-preparation/ [Consulté le:16/09/2015],