

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de Biochimie et biologie
cellulaire et moléculaire

قسم البيوكيمياء و البيولوجيا
الخلوية و الجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science Biologique

Spécialité : Biochimie appliquée

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Évaluation de l'efficacité antiseptique de l'huile essentielle de
Cinnamomum cassia sous sa forme libre et encapsulée dans la silice
mésoporeuse**

Présenté par : SEGHIRI Ferial

Le : 21/06/2023

Haci hadjer

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mr /KITOUNI Rachid (MCB- Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : Mr / BOUANIMBA Nour (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mr / BEZZI Tarek (MRB – Centre de Recherche en Biotechnologie, Constantine).

Année universitaire

2022/2023

Remerciement

[الحمد لله رب العالمين] [الفاتحة : 1]

Tout d'abord, nous exprimons notre gratitude envers Allah, le tout Puissant, de nous avoir attribué la force et la patience pour mener à bien ce travail qui reflète cinq années de notre parcours universitaire

Ce travail ne serait pas riche et ne aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et la supervision du **Dr .BEZZI TAREK**, nous le remercions pour avoir encadré ce travail avec toute sincérité, et professionnalisme, et pour sa présence constante, ses conseils, ses efforts et avant tout sa gentillesse

Nous voulons remercier **Dr. KITOUNI Rachid** et **Dr. BOUANIMBA Nour** de nous avoir fait honneur de jury et évalués ce mémoire

Nous tenons à exprimer notre appréciation et notre gratitude au **Dr. BENSOUICI Chawki**, maître de recherche de classe A et Chef du Laboratoire de Biochimie au CRBT pour nous avoir accueillis et acceptés de travailler dans son laboratoire, nous tenons à remercier tout son équipe **Mr.Houasnia Mourad** et Mme **GALI Linda**, et plus particulièrement **Mme OUFROUKH**

Karima

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers **Mr. DEBBI Ali**, docteur en phytopathologie et maître de recherche de classe B, et Chef du Laboratoire de mycologie au CRBT, pour nous avoir fourni des protocoles d'activité antifongique, et pour son aide précieuse et ses explications claires et détaillées, et à tous son équipe surtout **Mme BOULAHBEL Houda**

Le remerciement est destiné aussi à **Mr BOUMEGOURA Ali** et **Mme BLLARA Seloua**, ingénieurs au Laboratoire de Biochimie Moléculaire

Nous tenons à exprimer nos remerciements à la fois à **Mme IKHLEF Assia** et à **Mme MEGHEZZI Asma**, ingénieurs au Laboratoire de microbiologie

La plus grande part d'appréciation, de louanges et de remerciements revient à **Mme Latoui Rayenne**, doctorante en génie des procédés pharmaceutiques pour sa précieuse contribution dans la partie de la nanoencapsulation, nous lui adressons nos plus sincères reconnaissances pour le temps et les efforts qu'elle a consacrés à notre projet, et tout particulièrement pour sa remarquable humilité

Et à tous ceux qui nous ont rendu des informations ou même un mot gentil pendant cette période

Dédicace

Je suis reconnaissant envers Allah pour m'avoir accordé la force, la patience, la volonté, et le courage afin de pouvoir réaliser ce modeste travail

Je dédie mon mémoire de fin d'études accompagné d'un profond d'amour ;

À ma très chère maman , "BEDJAOUI SABAH", qui a toujours été mon soutien continu et ma source d'espoir durant les moments difficiles, il est impossible de trouver les mots pour décrire l'étendue de mon amour et l'étendue de mes remerciements pour les sacrifices et les efforts que tu as consentis pour moi .Tu es la seule à mériter éloges et appréciation , je t'aime infiniment, ma mère, et je prie pour que Allah te préserve en bonne santé et réalise tous tes vœux.

À mon cher père, "ABD-ALRAHIM", à qui j'espère que Allah lui accorde le bonheur, le contentement et la tranquillité d'esprit.

À mon frère, "MEBAREK", mon ami d'enfance et mon compagnon dans ma jeunesse.

À mon frère "KHALED", sur qui j'ai pu et je pourrai compter dans l'avenir.

À la fleur de mon cœur et de mon âme à mon petit frère "HAIDER", qui rend toujours ma vie heureuse avec ses gestes spontanés, son innocence, et son beau sourire.

À toute ma grande famille, et à mes adorables amis "IMANE" et "HAYAM".

Ferial seghiri



Dédicace

Avec la générosité et l'aide d'ALLAH Le majestueux qui m'a donné la patience, le courage et la santé, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

*À celui qui ne cesse de se sacrifier pour moi, à ma fierté et mon bonheur, à mon très cher parents **Lakhdar** et **Khadidja**. Merci pour vos patiences, l'amour, le soutien, l'encouragement et les orientations durant toutes mes années d'étude. Ce travail, et ce que je suis aujourd'hui sont le fruit de tous les efforts que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance. Que Dieu te donne une longue et joyeuse vie.*

*À ma grand-mère **Fella**. La miséricorde de Dieu son âme*

*À ma chère sœur **Ikram** et mon unique frère **Mohamed Khaled**, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.*

*À mon adorable amie **Aya**, qui m'a accompagné durant mon chemin d'étude depuis 8 ans. Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur et de réussite.*

*À mes chères copines : **Samia** et **Bouthayna**. Merci pour vos aides, vos soutiens et la motivation que vous m'avez offert durant toute l'année.*

À tous les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet, je vous dédie ce travail.

Haci hadjer



Remerciements	
Dédicace	
Dédicace	
Introduction générale.....	1
Chapitre I Huile essentielle de Cinnamomum Cassia	
1. Huiles essentielles.....	6
1. 1.Généralités.....	6
1. 2.Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	7
1.3.Déterminants de la stabilité des huiles essentielles	7
1.4.Composition chimique des huiles essentielles	8
1.4.1.Terpènes	8
1.4.2. Composés aromatiques	8
1.5.2. Extraction par hydrodistillation	10
1.6. Conditions de conservation et de stockage des huiles essentielles	12
2.1. Description botanique de Cinnamomum cassia.....	14
2.2. Habitat géographique	15
3.1 Propriétés physiques de l'HE de Cinnamomum cassia	16
3.2.Composition chimique d'HE de l'écorce de Cinnamomum cassia	17
3.3.Activités biologiques d'HE de l'écorce de Cinnamomum cassia.....	17
3.3.1Activité antibactérienne.....	18
3.3.2.Activité antifongique.....	19
Chapitre II : Nanoencapsulation à base de silice mésoporeuse	
1.Nanoencapsulation	22
1.1Généralités.....	22
1.2.Domaine d'application de la nanoencapsulation et ses bénéfices.....	23
2.Nanoparticules (NPs) :	25
2.1.Nanoparticules organiques	25
2.2.Nanoparticules inorganiques :.....	26
3.Nanoparticule de silice mésoporeuse	27
3.1.Généralités.....	27
3.2.Domaine d'application des nanoparticules de silice mésoporeuse	28
3.3.Avantages des nanoparticules de silice mésoporeuse	29
3.4.Synthèse des nanoparticules de silice mésoporeuse	29
3.4.1.Méthode « Stöber » pour synthétiser des MSN	29
3.4.2.Procédé sol – gel (chimie douce)	31
4. Nanoencapsulation d'HE par le procédé sol-gel en miniémulsion.....	33
4.1Miniémulsion	34

4.2.Tensioactif	35
5.Caractérisation des Nanoparticules.....	36
5.1.Taille et indice de polydispersité	36
5.2.La charge de surface	38
5.3.Analyse des groupes fonctionnels d'une surface des NPs de silice poreuse	39
6.Paramètres d'évaluation de nanoencapsulation	39
6.1. Efficacité d'encapsulation	39
6.2.Taux de chargement	40
7.Libération des principes actifs	40
8. Evolution des nanoparticules (NPs) comme système de vectorisation	40

Chapitre III : Matériels et méthodes

1.Matériels, matières biologiques et produits chimiques utilisés	44
1.1Matériels.....	44
1.1.1. Verreries et outillages	44
1.1.2. Équipements	45
1.2. Matériels biologique.....	45
1.3.Produits chimiques :.....	47
2. Protocoles Expérimentaux.....	48
2.1. Extraction d'HEEC par hydrodistillation :	48
2.2. Détermination du rendement en HEEC :	49
2.3. Tests d'activités antiseptiques d'HEEC.....	49
2.3.1. Détermination du pouvoir antimicrobien de l'HEEC	49
2.3.2. Détermination du pouvoir antifongique de l'HEEC :.....	51
2.4. Synthèse des nanoparticules de silice.....	53
2.5. Caractérisation des nanoparticules.....	54
2.5.1. Mesure de la taille, la charge et l'indice de polydispersité	54
2.5.2. Analyse de surface des formulations synthétisées	55
2.6. Paramètres d'évaluation de système d'encapsulation.....	56
2.6.1. Efficacité d'encapsulation	56
2.6.2. Taux de chargement	56
2.7. Relargage de l'HEEC au cours de temps	58
2.8.Étude du pouvoir antiseptique d'HEEC après la nanoencapsulation.....	59
2.8.1.Évaluation du pouvoir antibactérien d' HEEC encapsulé	59
2.8.2.Évaluation du pouvoir antifongique d' HEEC encapsulé	59

Chapitre IV : Résultats et discussion

1. Extraction de l'HEEC	61
1.1. Détermination de rendement en HE de Cinnamomum cassia	61
1.2. Caractéristiques organoleptiques de l'HE de Cinnamomum cassia.....	62
2. Évaluation des activités antiseptique	63
2.1. Activité antibactérienne d'HE de Cinnamomum cassia.....	63
2.2. Activité antifongique d'HE de Cinnamomum cassia.....	66
3. Synthèse des nanoparticules de silices mésoporeuse	67
3.2. Caractérisation des nanoparticules (taille, charge, PDI).....	68
3.2.1.La taille des nanoparticules	69
3.2. 2.L'indice de polydispersité	70
3.2.3.Charge de surface	70
4. Paramètres d'évaluation de système d'encapsulation.....	71
4.1. Efficacité d'encapsulation (EE) :.....	71
4.2. Taux de chargement (TC) :.....	72
5. Analyse des groupes fonctionnels de surface des formulations synthétisées	73
6. Relargage de l'HEEC au cours de temps	76
7. Pouvoir antiseptique d'HECC encapsulé.....	76
7.1. Pouvoir antibactérien d'HECC encapsulé	76
7.2. Pouvoir antifongique d'HECC encapsulé	77
Conclusion générale.....	79
Références bibliographiques.....	82
Résumé.....	95

Figure 1. Facteurs affectant la stabilité des huiles essentielles.....	7
Figure 2. Méthodes d'extraction des huiles essentielles.....	10
Figure 3. Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation.....	11
Figure 4. Différence phénotypique entre la cannelle de ceylan (vraie cannelle) et la cannelle de casse (fausse cannelle).....	13
Figure 5. Illustrations d'un arbre, de feuilles, de fleurs et de fruits de <i>Cinnamomum cassia</i>	15
Figure 6. Composants chimiques de l'huile essentielle d'écorce de <i>Cinnamomum cassia</i> .	17
Figure 7. Diverses activités biologiques de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i>	18
Figure 8. Illustration d'un système de nanoencapsulation.....	22
Figure 9. Fonctionnalités propres de la technologie de la nanoencapsulation	24
Figure 10. Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques.....	25
Figure 11. les nanoparticules organiques.....	26
Figure 12. les nanoparticules inorganiques	26
Figure 13. les propriétés structurales des nanoparticules de silice mésoporeuse	27
Figure 14. Exemples d'application des MSNP	28
Figure 15. Illustration des avantages de MSNP	29
Figure 16. Stratégie de synthèse pour la silice mésoporeuse.....	30
Figure 17. Schéma montrant les éléments de base de la fabrication de silice mésoporeux	31
Figure 18. Structure chimique de précurseur silicique (TEOS) et tensioactif (CTAB).....	31
Figure 19. Stratégie de synthèse pour la silice mésoporeuse.....	33
Figure 20. Représentation schématique de la préparation HE /silice nanocapsule	34
Figure 21. Schéma simplifié d'un tensioactif.....	35
Figure 22. Structure micellaire sphérique.....	36
Figure 23. Représentation de diamètre hydrodynamique d'une particule.....	37
Figure 24. Représentation de la double couche électrique du potentiel zêta.....	38
Figure 25. Illustration de l'évolution des nanoparticules comme systèmes des nanovecteurs des principes actifs.....	41
Figure 26. Les bâtonnets de la cannelle et leurs broyat	45
Figure 27. Dispositif d'hydrodistillation (Clevenger)	48
Figure 28. Procédure adaptée pour l'encapsulation d'HEEC par la méthode sol gel en miniémulsion	54

Figure 29. Courbe spectral représentant l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour l'HEEC.....	57
Figure 30. Courbe d'étalonnage de l'HEEC	58
Figure 31. Huile essentielle de Cinnamomum cassia	62
Figure 32. Effet de différentes concentrations d' HEEC contre S. aureus	63
Figure 33. Effet de différentes concentrations d' HEEC contre E.coli	63
Figure 34. Effet de différentes concentrations d' HEEC contre Fusarium oxysporum.....	67
Figure 35. Aspect de solution des formulations	68
Figure 36. Histogramme de la taille des nanoparticules synthétisées	69
Figure 37. Histogramme d'efficacité d'encapsulation pour les formulations synthétisées	71
Figure 38. Histogramme de taux de chargement pour les formulations synthétisées	72
Figure 39. Spectre FTIR de la formulation vide.....	73
Figure 40. Spectre FTIR de l'HEEC libre	74
Figure 41. Spectre FTIR des formulations chargées en HEEC	75
Figure 42. Courbe de libération d'HEEC encapsulé	76
Figure 43. Effet d'HEEC encapsulé sur la souche S.aureus.....	77
Figure 44. Effet d'HEEC encapsulé sur la souche usarium oxysporum	77

Tableau 1. Propriétés physiques de l'HE de <i>Cinnamomum cassia</i>	16
Tableau 2. Stabilité des dispersions pour différentes valeurs de potentiel zêta	39
Tableau 3. Les deux souches bactériennes utilisées avec leurs gram et référence.....	46
Tableau 4. Produits chimiques employés	47
Tableau 5. Dilutions d'HEEC préparées pour l'activité antimicrobienne.....	50
Tableau 6. Dilutions d'HEEC préparées pour l'activité antifongique	52
Tableau 7. Formulations utilisées pour la préparation de nanoparticules de silice	53
Tableau 8. Absorbance de la solution en fonction de sa concentration	57
Tableau 9. Le rendement d'huile essentielle de la <i>Cinnamomum cassia</i> obtenu par hydrodistillation.....	61
Tableau 10. Comparaison entre les caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>Cinnamomum cassia</i> qui l'on obtenu avec d'autres études sur cette huile	62
Tableau 11. Diamètres d'inhibition en mm induits par différentes concentrations d'HEEC contre <i>S. aureus</i>	64
Tableau 12. Diamètres d'inhibition en mm induits par différentes concentrations d'HEEC contre <i>E. coli</i>	64
Tableaux 13. Évaluation du degré de sensibilité des souches testées en fonction des diamètres d'inhibition obtenus.....	65
Tableau 14. Taux d'inhibition obtenue selon la concentration d'HEEC	66
Tableau 15. Les résultats des mesures de la taille, du potentiel zêta et de l'indice de polydispersité (PDI) obtenus à l'aide du Nanosizer.....	69
Tableau 16. Les résultats du calcul de l'efficacité de l'encapsulation	71
Tableau 17. Les résultats du calcul de taux de chargement	72

Liste d'abréviation

Abs	Absorbance
CMC	Concentration micellaire critique
CTAB	Bromure de cetyltriméthylammonium
DLS	Diffusion dynamique de la lumière
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité Optique
DH	Diamètre hydrodynamique
E .Coli	Escherichia coli
EE	Efficacité d'encapsulation
FTIR	Fourier Transformed Infrared spectroscopy
HD	Hexadécane
HE	Huile essentielle
HEEC	Huile essentielle d'écorce de Cinnamomum cassia
MH	Mueller Hinton
MSNP	Mesoporous Silica Nanoparticule
NPs	Nanoparticules
PDI	Indice de Polydispersité (Polydispersity Index)
PDA	Potato-Dextrose-Agar
TEOS	Orthosilicate de tétraéthyle
TC	Taux de chargement
T(+)	Témoin positif
T(-)	Témoin négatif
S.aureus	Staphylococcus aureus
PDI	Indice de Polydispersité (Polydispersity Index)

Introduction générale

L'attractivité de la recherche dans le domaine des plantes aromatiques et médicinales ne cesse de croître en raison de la demande actuelle des consommateurs pour des produits naturels, compte tenu des bénéfices et des gains qu'ils procurent, qui sont directement liés aux composés qu'ils produisent par métabolisme secondaire (*Dhifi et al., 2016*). Les huiles essentielles faisant partie des métabolites secondaires végétaux, et sont également connues sous les noms d'huiles volatiles, d'huiles éthérées ou d'essences (*Baser & Buchbauer, 2009*). Au fil du temps, les huiles essentielles ont suscité l'intérêt de nombreux secteurs pharmaceutiques, nutritionnels, cosmétiques et agricoles (*Fometu et al., 2019*); grâce à leur composition chimique, et leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, anti-oxydantes, anticancéreuses, antidiabétiques, antitoxines ; antidépressives, et antistress (*Raut & Karuppaiyl, 2014*). Il existe actuellement environ 3000 huiles essentielles connues, dont plus de 300 sont commercialement importantes pour diverses industries. En fait, on estime que le marché mondial des huiles essentielles atteindra 13,94 milliards de dollars avec une demande de plus de 370000 tonnes d'ici 2024 (*Bravo Cadena et al., 2018*).

Cependant, l'utilisation et la commercialisation des huiles essentielles sont très limitées et présentent des difficultés de manipulation et de stockage, et constituent également un défi en raison de leurs propriétés physico-chimiques telles qu'une faible solubilité dans l'eau, une volatilité élevée, une faible stabilité due à l'oxydation et un risque de dégradation principalement lié à des facteurs environnementaux tels que la température, la lumière, l'humidité et l'oxygène (*Pavoni et al., 2020*).

De nombreux efforts sont déployés pour développer des technologies ou des techniques visant à réduire les barrières et les limitations à l'utilisation des huiles essentielles, parmi lesquelles la nanoencapsulation est une approche prometteuse pour limiter ces obstacles, qui dépend de la création d'une barrière physique qui empêche l'exposition des composés actifs des huiles volatiles aux facteurs environnementaux qui provoquent leur décomposition et leur évaporation (*Albuquerque et al., 2022*).

Récemment, les chercheurs ont accordé une grande affection au développement de l'utilisation de la silice mésoporeuse dans le monde de la nanotechnologie, en particulier dans les systèmes d'encapsulation à l'échelle nanométrique, car la silice mésoporeuse est thermiquement stable, chimiquement inerte, peu coûteuse, facile à synthétiser, non toxique,

biocompatible, et aussi a très bonne flexibilité vers la fonctionnalisation de surface (***Bravo Cadena et al., 2018***).

Ce projet de mémoire de mémoire est d'encapsuler l'huile essentielle de cannelle (*Cinnamomum cassia*) dans des nanoparticules de silice mésoporeuse à l'aide d'une méthode sol-gel en miniémulsion. Cette approche vise à protéger l'huile essentielle contre l'oxydation et améliorer sa solubilité et à contrôler sa libération à partir des nanovecteurs.

La revue bibliographique de cette étude est articulée en deux chapitres ; le premier chapitre aborde des généralités sur les huiles essentielles, en particulier l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, le deuxième chapitre traite du concept d'encapsulation, et en particulier de l'application de la silice mésoporeuse comme nanoporteur pour enfermer le composé d'intérêt. Cet aperçu bibliographique constitue un appui incontournable à la partie expérimentale et à l'interprétation de nos résultats.

La partie pratique repartie en deux chapitres dont le troisième chapitre est consacré à la description des matériels et des méthodes générales utilisées pour la réalisation de la présente étude et le quatrième chapitre est dédiée pour les principaux résultats et leur discussion.

Étude bibliographique

Chapitre I :
Huile essentielle de
Cinnamomum Cassia

1. Huiles essentielles

1. 1. Généralités

L'histoire de l'utilisation des plantes aromatiques remonte à des milliers d'années, de l'Antiquité à environ 5000 avant JC, en parfumerie, en ethnomédecines, comme source d'épices et comme conservateur alimentaire. Au cours des dernières décennies, il y a eu une permutation évolutive marquée dans divers secteurs vers l'emploi des produits naturels, et à la suite de ce regain d'intérêt, le domaine de la recherche sur les plantes aromatiques s'est élargi pour inclure la pharmacologie, l'écologie, l'agriculture, la cosmétique, et l'alimentation (*Margaris et al., 1982*).

Les plantes en général et les plantes aromatiques en particulier sont capable de produire des substances naturelle très diversifiés car elles se caractérisent par deux types de métabolisme ; le métabolisme primaire fournit des composants de base en grande quantité, qui sont les glucides et leurs dérivés, les lipides, les protéines et les acides nucléiques, tandis que le métabolisme secondaire produit des métabolites en petite quantité comme les huiles essentielles (*HADDOUCHI & BENMANSOUR, 2008*).

Les huiles essentielles, également connues sous le nom d'essences, d'huiles volatiles, d'huiles éthérées ou d'étherols (*Berger, 2007*), sont des métabolites secondaires isolés et extraits des plantes. Elles sont des mélanges naturel, complexes ,et volatils qui ont un arôme très fort et attrayant (*Carson & Hammer, 2011 ; Kalemba & Kunicka, 2003*), et sont obtenus à partir de diverses parties végétal comme les écorces, les feuilles, les fleurs, les bourgeons, les graines, les racines, les tiges ,les bois et les fruits (*Aziz et al., 2018*).

Les essences dans les plantes aromatiques sont synthétisées et sécrétés par l'intermédiaire des cellules ou des organes particuliers où elles restent localisées, ces structures histologiques spécialisés sont souvent situées sur, à proximité de la surface de la plante et elles varient selon les familles botaniques (*HADDOUCHI & BENMANSOUR, 2008*). Les cellules aromatiques végétales qui sécrètent les huiles essentielles sont très diverses morphologiquement, allant des trichomes hautement spécialisés aux cellules non spécialisées, aux osmophores et aux cellules sécrétoires de l'épiderme des pétales (*Rehman et al., 2016*).

Le rôle exact que jouent les huiles essentielles dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Il a été démontré qu'elles ont un effet attractif envers les animaux qui servent à la pollinisation, et à la dispersion des graines, un effet répulsif contre les herbivores, un effet allélopathique, et servent également de moyen de défense contre les organismes phytopathogènes (**Bouhdid et al., 2012**).

1. 2. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont constituées des molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (**Bruneton, 1993**). Elles partagent propriétés communes propriétés, notamment leur solubilité dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau, et elles présentent un indice de réfraction élevé, de plus est également très altérables et sensibles à l'oxydation. À température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles. (**Dhifi et al., 2016 ; Bruneton, 1993**), ces huiles essentielles sont également très concentrées, ce qui leur confère une forte teneur en principes actifs (**Jouault, 2012**).

1.3. Déterminants de la stabilité des huiles essentielles

L'une des propriétés des huiles essentielles est qu'elles sont instables et oxydées après exposition à des facteurs externes tels que l'oxygène, la température et la lumière (**Turek & Stintzing, 2013**).

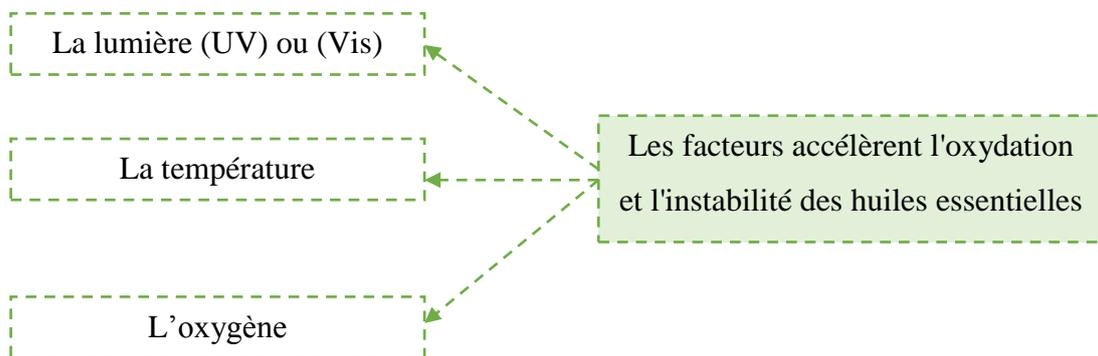


Figure 1. Facteurs affectant la stabilité des huiles essentielles

1.4.Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont synthétisés dans une variété des structures, et sa diversité est due au nombre de composés et à leurs propriétés différentes (*Dhifi et al., 2016*), de sorte qu'une seule huile essentielle pur peut contenir jusqu'à 100 composants, bien que beaucoup contiennent environ 20 à 60 (*Carson & Hammer, 2011*).

La constitution d'huile essentielle peut être différenciée en deux classes, la classe principale étant d'origine terpène, et la deuxième est représentée par les composants aromatiques :

1.4.1.Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures de la classe la plus vaste, et la plus diversifiée des composés organiques volatils, avec plus de 30 000 composés différents, qui ont responsables de leurs caractéristiques. Ils sont produits à partir de la condensation d'unité isopréniques C_5H_8 avec deux liaisons insaturées. Les terpènes ont des nombreuses structures isomères cycliques ou linéaires, et sont subdivisés selon le nombre d'unité isopréniques en monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), diterpènes($C_{20}H_{32}$) jusqu'aux polyterpènes $(C_5H_8)_n$, et la plupart des HE sont un mélange très complexe de monoterpènes et sesquiterpènes (*Carson & Hammer, 2011 ; Tongnuanchan & Benjakul, 2014*).

1.4.2. Composés aromatiques

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane contenant une ou plusieurs unités C_6-C_3 , où C_6 étant un cycle benzénique, et ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les monoterpènes et sesquiterpènes(Couic-Marinier & Lobstein, 2013). Les phénylpropanoïdes importants comprennent les acides hydroxycinnamiques, l'anéthole, le chavicol, l'eugénol et leurs dérivés méthylés, l'estragol (méthyl chavicol), ainsi que le cinnamaldéhyde (*Carson & Hammer, 2011*).

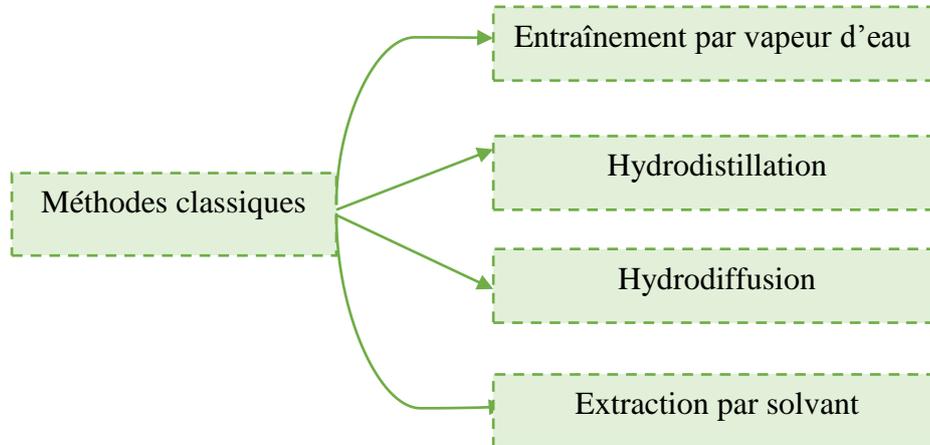
1.5.Extraction des huiles essentielles

1.5.1.Méthodes d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate et la plus important du processus. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborées par le végétal (*HADDOUCHI & BENMANSOUR, 2008*).

Les huiles essentielles peuvent être extraites de plusieurs parties des plantes aromatiques, en employant différentes méthodes et techniques. Le facteur clé pour garantir la qualité d'une huile essentielle est sa méthode d'extraction, car la procédure d'extraction inappropriée peut endommager ou altérer l'identité chimique de l'HE, et la perte de bioactivité et propriétés naturelles ; elle peut entraîner un changement de couleur et saveur, une odeur désagréable, ou une viscosité accrue (*Tongnuanchan & Benjakul, 2014*). Ces techniques d'extraction peuvent être classées en deux catégories : les méthodes classiques et les méthodes innovantes (*Aziz et al., 2018 ; Stratakos & Koidis, 2016*).

- **Méthodes classiques**



- **Méthodes innovantes**

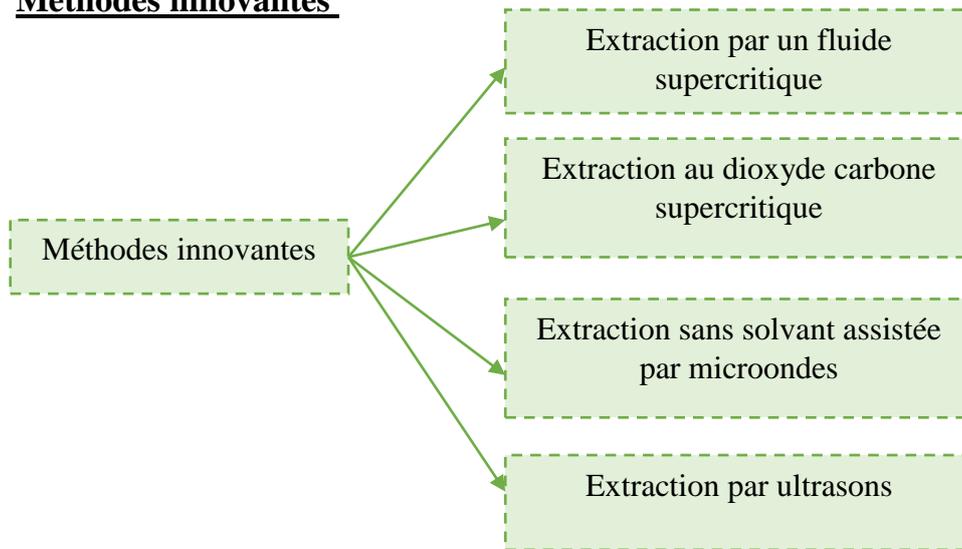


Figure 2.Méthodes d'extraction des huiles essentielles

1.5.2. Extraction par hydrodistillation

La méthode utilisée dans notre projet est l'hydrodistillation (actuellement connue sous le nom de montage Clevenger) ; qui consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau, qui est ensuite portée à ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques avec la vapeur d'eau sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Cette méthode est simple dans son principe et son appareillage n'est pas coûteux(*Lucchesi, 2005*)

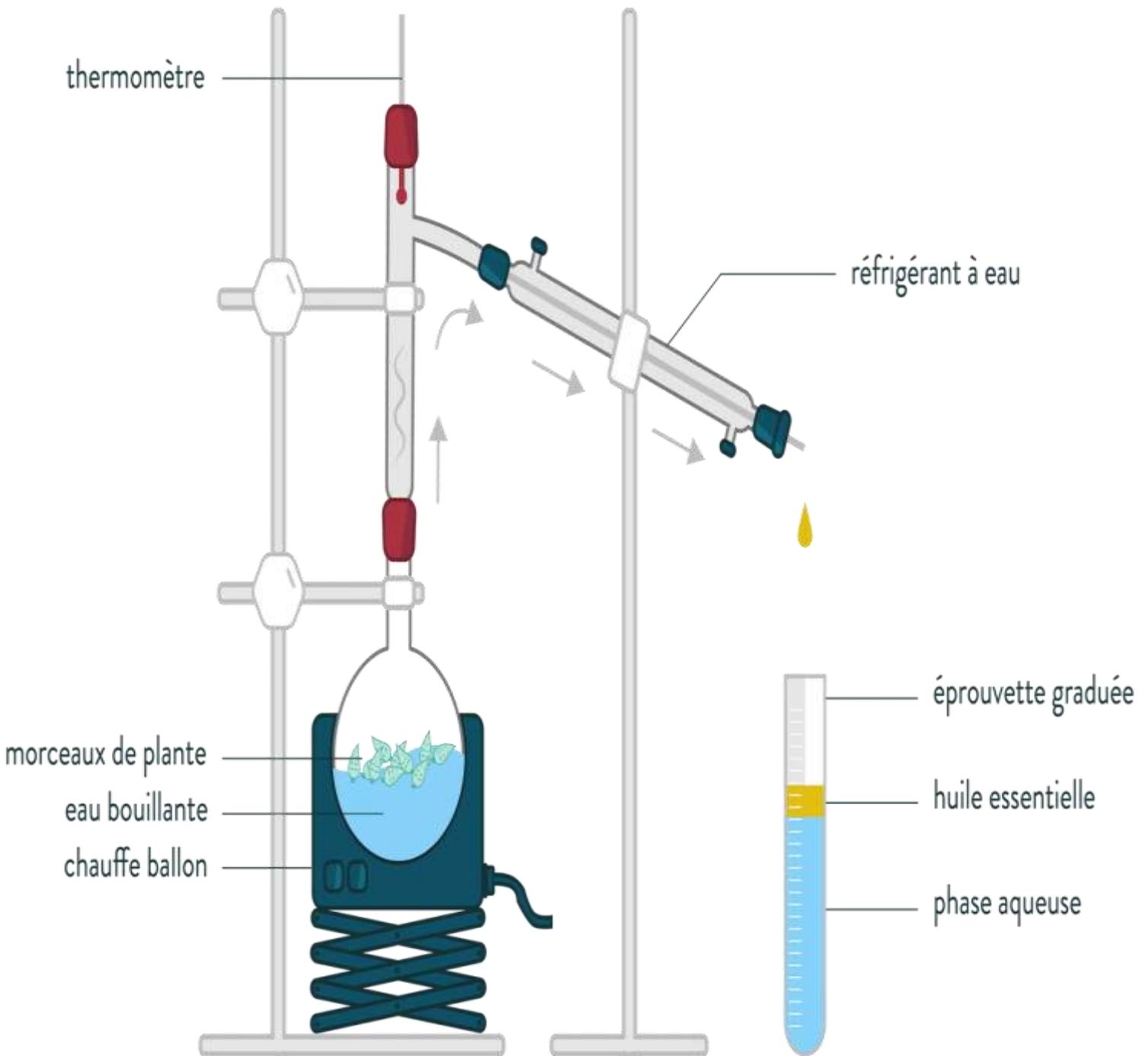


Figure 3. Extraction d'huile essentielle par hydrodistillation

1.5.3. Paramètres influant sur le procédé d'extraction et son rendement

- **État de la plante**

L'état de la plante affecte l'extraction, en plus la récolte doit être au stade végétatif lorsque la plante est plus riche en essences, et cette période varie d'une plante à l'autre, et

différentes parties de la même plante (fleur, feuille, tige, écorce, racine) peuvent produire des essences différentes (*Bousbia, 2011*).

- **Température d'extraction**

La température d'extraction est limitée par la température d'ébullition du solvant utilisé, et l'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité. Elle doit être limitée pour éviter les risques d'évaporation des composés thermosensibles (*Leybros & Frémeaux, 1990*).

- **Nature du solvant**

Les substances d'intérêt sont extraites en fonction de leur affinité pour le solvant de sorte que le choix du solvant est très important ; Il doit être d'une grande pureté et avoir un faible point d'ébullition pour pouvoir être éliminé facilement en limitant la perte de composés volatils, et il doit pouvoir extraire les composés polaires et non polaires (non sélectifs) (*Bousbia, 2011*).

- **La durée de l'extraction**

La durée de l'extraction (longue ou prolongée) dépend du procédé d'extraction utilisé et de l'objectif de l'extraction (*Bernard et al., 1988*).

1.6. Conditions de conservation et de stockage des huiles essentielles

De nombreux processus de dégradation peuvent altérer les propriétés de l'huile essentielle et/ou compromettre l'intégrité de l'huile essentielle pendant le stockage. Par conséquent, il est recommandé d'utiliser des flacons propres et secs en aluminium vernissé ou en acier inoxydable, ou en flacon teinté. Et il est conservé à l'abri de la chaleur et de la lumière. Dans certains cas, des antioxydants appropriés peuvent être ajoutés (*Desmares et al., 2008*).

2. Brève histoire

La cannelle ou *Cinnamomum* fait partie de épices qui sont les plus anciennement commercialisées, aromate très recherché, sa valeur marchande a toujours été des plus élevée quelle que soit l'époque. L'origine de terme cannelle viendrait du latin 'canna' signifiant roseau ou tuyau, tandis que le terme scientifique *Cinnamomum* est dérivé du mot grec *kinnamomn* ou *kinnamomon*, signifiant bois doux. Son histoire est remonte à 2700 av. JC, et elle a été écrite pour la première fois dans la botanique chinois, car ce sont les chinois l'ont largement adoptée, et ont pu distinguer ses variés taxonomies, et ils l'ont exportée vers les Égyptiens pour l'utiliser non seulement en aromatisation, mais pour l'embaumement. Mais la naissance de la cannelle d'origine remonte à l'île de Sri Lanka et est connue sous le nom de cannelle de Ceylan de très bonne qualité qui dénommé *C.zeylanicum* ou *C.verum*. Ensuite, d'autres types de cannelle dite secondaire qui sont souvent regroupées sous le terme générique de cassia ont commencé à être commercialisés, qui sont de qualité moins bonne à la cannelle de Ceylan (*Ravindran et al., 2003 ; Lallemand et al., 2000*).

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à la cannelle de Chine : *Cinnamomum cassia*, car c'est la plus commune et la plus présente sur les marchés commerciaux en Algérie.



Figure 4. Différence phénotypique entre la cannelle de Ceylan (vraie cannelle) et la cannelle de casse (fausse cannelle)

2.1. Description botanique de *Cinnamomum cassia*

○ L'arbre

Cinnamomum cassia (également connu sous le nom de *Cinnamomum aromaticum*, cannelle de Chine) appartient à la famille Laurel (Lauraceae) du règne végétal qui sont des plantes aromatiques d'une hauteur de 20 à 30 m (Zaidi et al., 2015), (Al-Samydai et al., 2018), à feuilles persistantes lisses, coriaces, opposées, ovales à lancéolées avec des lames de 5 à 9 cm de long (*Reculeau-Arnoud, s. d.*).

○ Les fleurs

Les fleurs sont petites, blanches à jaune pâle et ont une odeur désagréable, unisexuée et disposées en panicules terminales à l'aisselle des feuilles, et ses inflorescences sont des grappes très ramifiées, régulières et à 6 pétales (*Reculeau-Arnoud, s. d.; Edet, 2004*).

○ Le fruit

Le fruit est une baie charnue enserrée dans une cupule rigide, pyriforme (1,5 -2 cm), vert foncé virant à maturité au pourpre – rouge marron. Il n'est pourvu que d'une seule graine (*Reculeau-Arnoud, s. d.*).

○ L'écorce

La partie utilisée du cannelier est son écorce, qui est récoltée depuis un tronc qui est rugueuse et épaisse, est d'abord verdâtre puis devient grisâtre à l'extérieur et brun rougeâtre à l'intérieur. Il est récolté environ trois ou quatre ans après la plantation de l'arbre, pendant la saison des pluies en mai/juin et octobre/novembre, lorsque les feuilles sont légèrement rosées, mais n'ont pas encore atteint sa maturité. Cette période correspond à une intense circulation de sève, qui facilite la séparation ultérieure de l'écorce et du bois. La partie interne de l'écorce est récupérée puis séchée après l'avoir dépouillée de son épiderme, une fois séchée elle s'enroule sur elle-même, formant des bâtonnets en forme tubulaires. Et ses bâtonnets sont plus fins, plus sombres et plus ternes par rapport à ceux de *Cinnamomum zeylanicum*, et d'un point de vue du goût, sont plus piquants, moins sucrés et légèrement amères (*Lallemand et al., 2000 ; Reculeau-Arnoud, s. d. ; Edet, 2004*).



Figure 5. Illustrations d'un arbre, de feuilles, de fleurs et de fruits de *Cinnamomum cassia*

2.2. Habitat géographique

La production mondiale de cannelle chinoise est limitée aux régions tropicales humides d'Asie du Sud-est représentées en Chine, en Inde, en Ouganda, au Vietnam, au Bangladesh et au Pakistan (Zaidi et al., 2015). *Cinnamomum cassia* est cultivé à plus de 500 mètres au-dessus du niveau de la mer, a une plage de température moyenne de 15 à 27°C et nécessite une pluviométrie annuelle moyenne va 2000 à 2400 mm (Radhakrishnan et al., 1992) .

2.3. Taxonomie de *Cinnamomum cassia*

S'appuyant sur de nombreux ouvrages et encyclopédies spécialisés dans les plantes aromatiques qui ont fiché la classification de *Cinnamomum cassia* comme suit (Paul, 2001) :

- Règne : *Plantae*
- Sous règne : *Tracheobionta*

- Division : *Magnoliophyta*
- Classe : *Magnoliopsida*
- Sous classe : *Magnoliidae*
- Ordre : *Lurales ou magoliales*
- Famille : *Lauracées*
- Genre : *Cinnamomum*
- Nom binominal : *Cinnamomum aromaticum*
- Noms scientifique : *Cinnamomum cassia*
- Partie utilisée : Écorce

3. Huile essentielle de l'écorce de *Cinnamomum cassia*

L'huile essentielle de *Cinnamomum* est un liquide volatil, hydrophobe, légèrement visqueux, généralement de couleur jaunâtre. Son arôme est doux, épicé et boisé. Cette huile essentielle est généralement extraite par hydrodistillation à partir des écorces ou des feuilles du cannelier, où elle représente 4% de ses composants (*Stevens & Allred, 2022*).

3.1 Propriétés physiques de l'HE de *Cinnamomum cassia*

Tableau 1. Propriétés physiques de l'HE de *Cinnamomum cassia*

(*Stevens & Allred, 2022*)

Propriété physique	Valeur typique	Gamme
Rotation optique	-1	-20+20
Gravité spécifique	1.02	1.01-1.07
Indice de réfraction	1.59	1.53-1.61
Point d'ébullition	248 °C	248-249 °C
Couleur	Jaune foncé	Jaune à marron clair
Arôme	Épicé, doux	Épicé, vif, boisé

3.2. Composition chimique d'HE de l'écorce de *Cinnamomum cassia*

La composition chimique de l'huile de *cinnamomum* varie en fonction d'un certain nombre de facteurs, notamment la partie de la plante utilisée, l'âge de l'arbre, la saison et l'emplacement de la croissance et la méthode d'extraction (*Haddi et al., 2017*).

Les principaux constituants de l'écorce *C. cassia* sont le cinnamaldéhyde (42.4-89.4%), coumarine (1.9%), cinnamylacétate (0.1-5.4%), alcool cinnamique (0.04%), Bornéol (1.3%), Linalol (0.08-0.16%), Eugénol (0.03-1.08%), Salicyaldéhyde (0.04-1.8%), alpha-terpinéol (2%), Benzaldéhyde (0.4-2.3%) (*Stevens & Allred, 2022 ; Haddi et al., 2017*).

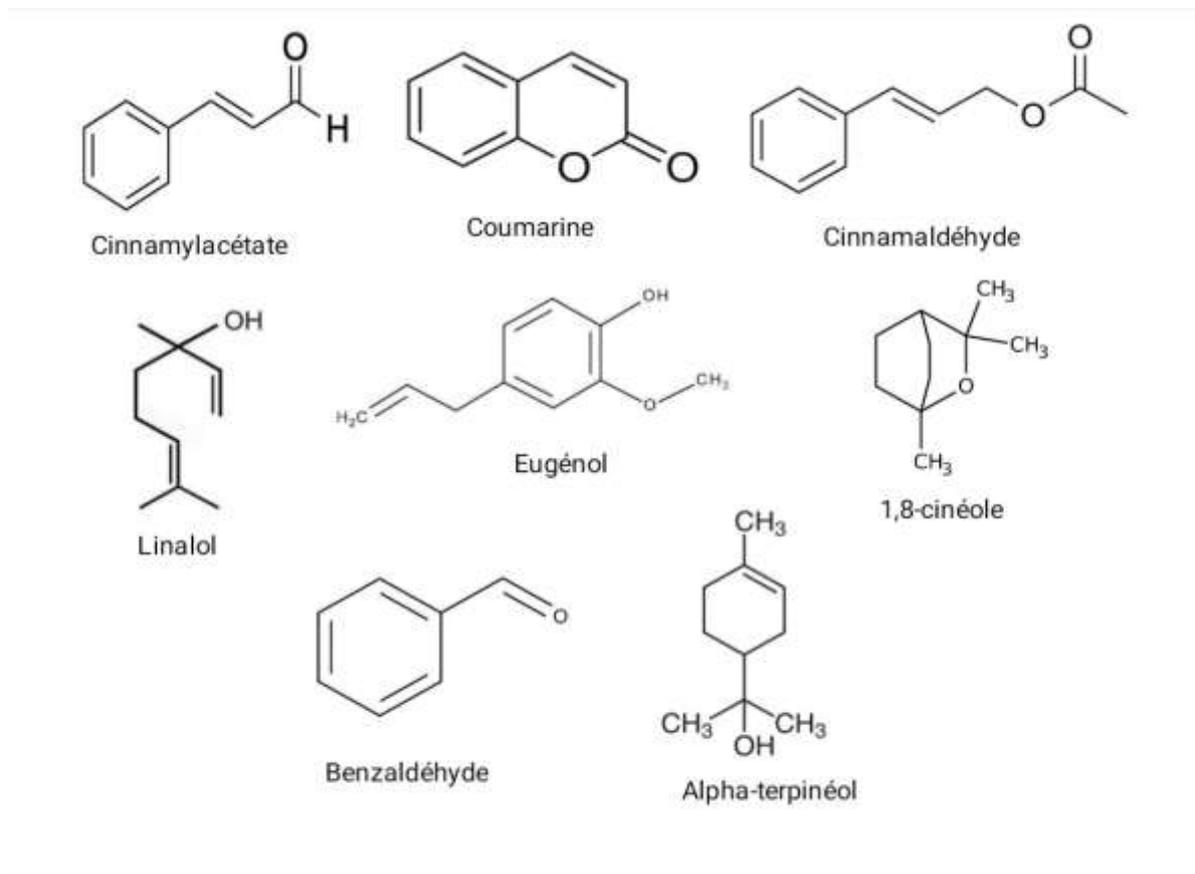


Figure 6. Composants chimiques de l'huile essentielle d'écorce de *Cinnamomum cassia*

3.3. Activités biologiques d'HE de l'écorce de *Cinnamomum cassia*

La cannelle est utilisée en médecine depuis des temps immémoriaux, et c'était l'une des principales plantes de la médecine traditionnelle chinoise. Ces utilisations ont donné

aux chercheurs le désir de mettre en évidence les propriétés biologiques de *Cinnamomum*. Étant donné que presque tous les types de cannelle ont des propriétés très similaires, la cannelle chinoise est considérée comme alternative à la cannelle de Ceylan, l'étude des propriétés peut être généralisée (Edet, 2004).

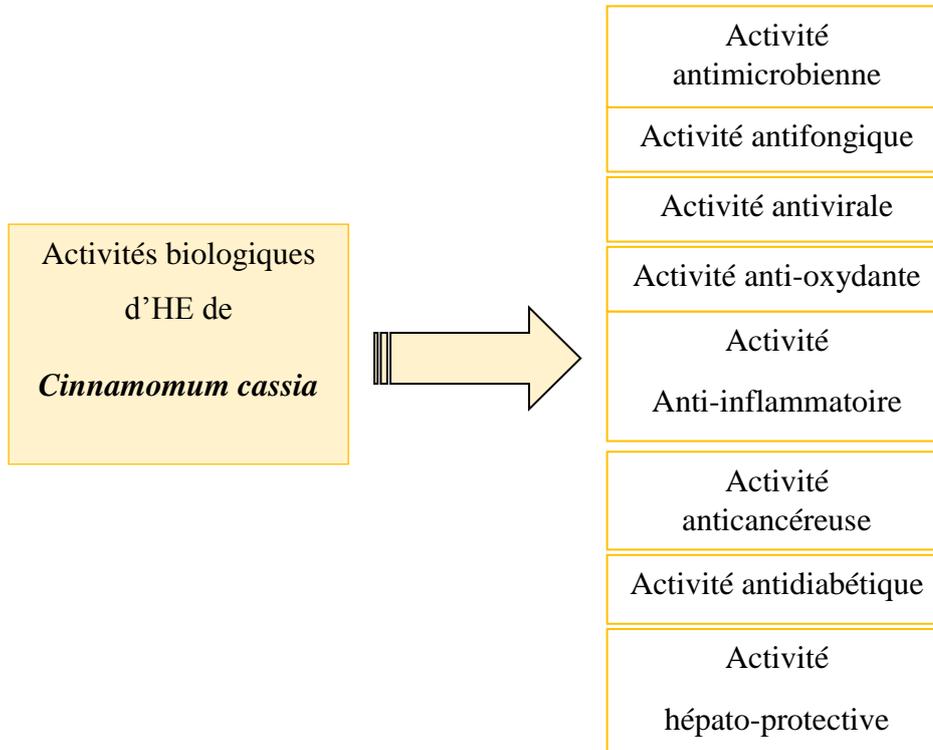


Figure7. Diverses activités biologiques de l'huile essentielle de *Cinnamomum*

Dans le cadre de notre étude, nous avons focalisé notre attention sur deux propriétés antiseptiques de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, à savoir son activité antibactérienne et antifongique.

3.3.1 Activité antibactérienne

Les huiles essentielles de *Cinnamomum* ont été largement étudiées pour leurs effets antimicrobiens sur diverses bactéries Gram-positives et Gram-négatives, qui montrait une activité puissante contre *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogene*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis* et autres. Il a été constaté dans des études que la propriété antibactérienne est attribuée à sa composante majeure, le cinnamaldéhyde

(*Haddi et al., 2017*). Bien que, son mécanisme d'action des huiles essentielles ne soit pas encore complètement élucidé. Plusieurs études de recherche indiquent que l'action antibactérienne d'essences est attribuée à leur capacité à pénétrer les membranes bactériennes et à présenter une activité inhibitrice pour les propriétés fonctionnelles de la cellule bactérienne telles que l'empêcher de produire l'ATP, ou par endommager au cytoplasme en détruisant les protéines et les lipides qu'il contient, ce qui conduit à la mort des bactéries (*Bouhdid et al., 2012 ; Calo et al., 2015*).

3.3.2. Activité antifongique

D'après plusieurs études *in vivo* et *in vitro*, les huiles essentielles de *Cinnamomum* et leurs principaux composants ont des effets inhibiteurs importants contre plusieurs champignons comme *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium sambucinum*, *Phaeoconiella chlamydospora*, *Trichophyton rubrum*, *Microsporum gypseum* et autres. Quant au mécanisme de l'effet de l'HE de *Cinnamomum* sur la morphologie des cellules fongiques, il a été étudié à l'aide de la microscopie électronique (MEB) qui a montré une paroi cellulaire gonflée, une membrane plasmique rompue, avec fuite de matrice cytoplasmique et un hyphes nettement ratatiné, aplatis, et effondré. De plus, l'huile de cannelle a inhibé la biosynthèse de l'ergostérol, endommageant de manière significative la structure de la membrane cellulaire, provoquant la fuite d'ions intracellulaires, de protéines et affecte le métabolisme énergétique des champignons en diminution des activités de la succinate déshydrogénase (SDH) et de la malate déshydrogénase (MDH) dans l'acide tricarboxylique (cycle TCA) (*Abdalla, 2018*).

3.4. Domaine d'application d'HE de *Cinnamomum cassia*

- **Agriculture**

Plusieurs études ont démontré que l'huile de cannelle est un pesticide naturel efficace qui peut être appliqué comme insecticide, acaricide, nématocide, fongicide et bactéricide, ainsi qu'un bon potentiel répulsif. En outre, l'un de ses avantages est qu'il est sans danger pour l'utilisateur et l'environnement (*Haddi et al., 2017*).

- **Santé alimentaire**

Le bœuf est l'un des types de viande les plus couramment consommés comme source des protéines à l'échelle mondiale. Toutefois, la durée de conservation du bœuf est relativement courte en raison de son taux d'humidité élevé et teneur en matières grasses qui peut faciliter la prolifération de la détérioration microbienne et rancissement dû aux réactions d'oxydation. Les films comestibles peuvent augmenter la durée de conservation et maintenir la qualité des aliments grâce à une perméabilité sélective à l'humidité et au transport de l'oxygène, et en inhibant l'oxydation des lipides. Des substances antimicrobiennes comme des huiles essentielles telles que l'huile de cannelle sont appliquées sur des films comestibles pour conserver la viande (*Utami et al., 2019*).

- **Thérapeutique**

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que l'huile essentielle de cannelle et son composant majoritaire le cinnamaldéhyde améliore les niveaux d'insuline et de glycémie, et améliore la fonction des enzymes directement impliquées dans le métabolisme du glucose. En utilisant la modélisation moléculaire *in silico*, les chercheurs peuvent prédire les mécanismes enzymatiques potentiels par lesquels les composants clés de l'huile essentielle de cannelle peuvent entraîner des effets secondaires indésirables (*Stevens & Allred, 2022*).

- **Cosmétique**

L'huile essentielle contient le composé eugénol, le cinnamaldéhyde et la coumarine, qui peuvent réduire les imperfections de l'acné sur le visage gras. De plus, la cannelle contient également de la vitamine C, qui joue un rôle et protège la peau des rayons ultraviolets des effets nocifs du vieillissement prématuré et empêche la formation de mélanine. L'huile essentielle de cannelle peut être mélangée à des produits de beauté tels que des savons à base de plantes et utilisée pour les soins de la peau (*Atmanto, 2019*).

Chapitre II :
*Nanoencapsulation à base de
silice mésoporeuse*

1. Nanoencapsulation

1.1 Généralités

La nanotechnologie est l'une des clés de la recherche en ce début de XXI^e siècle, et elle est devenue la voie révolutionnaire de développement technologique de gestion des particules à l'échelle du nanomètre (un milliard de fois plus petit qu'un mètre)(McNeil, 2005) . Au cours des deux dernières décennies, les progrès de la nanotechnologie et de la nanoscience ont ouvert la porte à l'application de la nanoencapsulation qui peut fournir des nanoparticules de 1 à 100 nm, cependant, les définitions récentes ont décrit des dimensions de 1 à 300 nm , et d'autres de 1 à 1000 nm (*Ngwuluka et al., 2020*).

L'encapsulation est une technologie ancienne utilisée dans de nombreuses industries différentes avec une variété des techniques ou des processus; en tant que concept général, il s'agit d'un procédé visant à piéger, recouvrir ou emprisonner une substance ou un mélange de substances à l'aide des matériaux appropriés (*Risch, 1995 ; Fabela-Morón et al., 2022*).

La substance à encapsuler est souvent un liquide, mais il peut s'agir d'un solide ou d'un gaz et s'appelle "core", c'est-à-dire le noyau ou le composé interne qui représente le constituant actif, tandis que le matériau à partir duquel l'encapsulation est matérialisée s'appelle "shell" c'est-à-dire la coque ou la membrane qui isole le constituant actif et le protège des influences extérieures (*Risch, 1995 ; Fabela-Morón et al., 2022*).

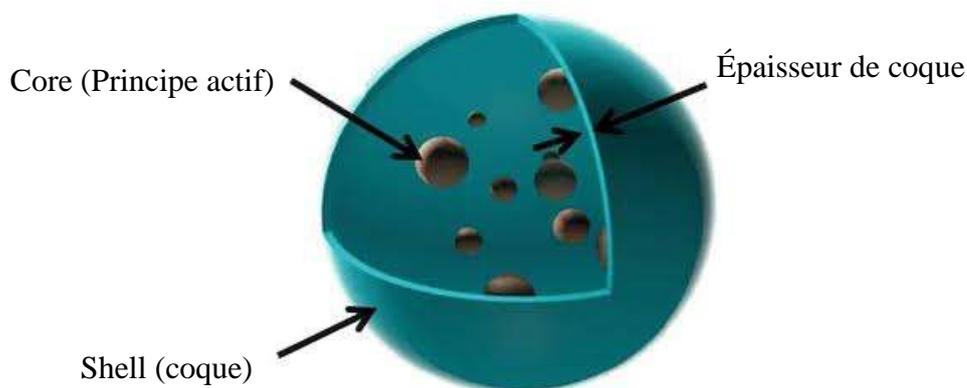


Figure 8. Illustration d'un système de nanoencapsulation

1.2. Domaine d'application de la nanoencapsulation et ses bénéfices

Pharmacologique et thérapeutique

Les nanomédicaments sont une nouvelle forme prometteuse de médicament, dont l'approche consiste à fixer le principe actif sur un nano-vecteur (i.e. dix à cent fois plus petit qu'une cellule vivante). Les nanoporteurs des médicaments protègent les principes actifs sensibles à la dégradation, améliorent le ciblage grâce à la fonctionnalisation chimique de la surface des nanovecteurs, permettent également la pénétration dans les cellules et la délivrance de principes actifs intracellulaires, en plus de jouer un rôle efficace dans l'amélioration de l'activité, et de l'efficacité, et la réduction de la toxicité et les effets secondaires (*Couvreur, 2021*).

- **Nutritionnel**

Le secteur alimentaire et de la santé accorde une attention croissante à la nanoencapsulation car elle a le potentiel de diriger la production qualitative et quantitative d'aliments fonctionnels plus sûrs et de haute qualité. Grâce à cette technologie, il vise à améliorer la stabilité et la durée de conservation des composés, à les protéger de la contamination et de la dégradation pendant la transformation, la distribution et le stockage ,et également à jouer un rôle dans l'intégration des additifs alimentaires ,le masquage des goûts indésirables ,altération la saveur des ingrédients alimentaires, améliorer leur texture et augmenter leur biodisponibilité ,en plus d'augmenter la solubilité des ingrédients fonctionnels pour améliorer leur valeur nutritionnelle (*Pateiro et al., 2021 ; Nile et al., 2020*).

- **Agriculture**

Les engrais et les pesticides jouent un rôle majeur dans l'amélioration de la productivité agricole. Cependant, les agriculteurs doivent s'engager à équilibrer les avantages et les risques de dégradation de l'environnement résultant de l'utilisation aveugle des techniques agrochimiques. La nanotechnologie et la nanoencapsulation semblent viser à réduire au minimum l'utilisation des produits agrochimiques avec un indice de bénéfice plus élevée grâce à l'utilisation de :

Les nanopesticides sont des nanostructures utilisées pour transporter les produits agrochimiques, qui sont appliqués sur les cultures, dans le but de tuer les insectes, les champignons ou tout ce qui nuit à la plante sans l'endommager, en plus de réduire le pourcentage de produits chimiques absorbés par les plantes pour réduire la toxicité dans production agricole. Les nano-engrais permettent de contrôler la libération des nutriments contenus dans l'engrais, qui peuvent se présenter sous la forme d'une émulsion de nanoparticules afin que les plantes les absorbent réellement sans perdre de nutriments, sans aucun impact négatif sur le sol ou les plantes et micro-organismes qui y vivent (*Bastenx, 2022 ; Desclaux et al., s. d. ; Nuruzzaman et al., 2016*).

- **Cosmétique**

Les antioxydants sont parmi les ingrédients actifs les plus abondants dans les produits de soins de la peau, qui retardent le vieillissement cutané causé par les agresseurs environnementaux tels que la pollution, les rayons infrarouges (IR) et ultraviolets (UV). Les antioxydants sont partiellement ou complètement hydrolysés en formes inactives à haute température (40°C) ou sous lumière, ce qui réduira l'efficacité du produit et changera sa coloration pendant le stockage. L'encapsulation est l'une des approches les plus réalistes pour résoudre le problème de la stabilité de l'ingrédient actif et de sa protection contre les facteurs externes, l'encapsulation au niveau nano afin que les particules soient si petites qu'elles soient plus facilement et efficacement absorbées par l'épiderme (*Das & Wong, 2020*). D'après ce qui a été dit précédemment dans les applications de nanoencapsulation, ses avantages et ses propres fonctionnalités peuvent être résumés comme suit (*Le Priol, 2019*):

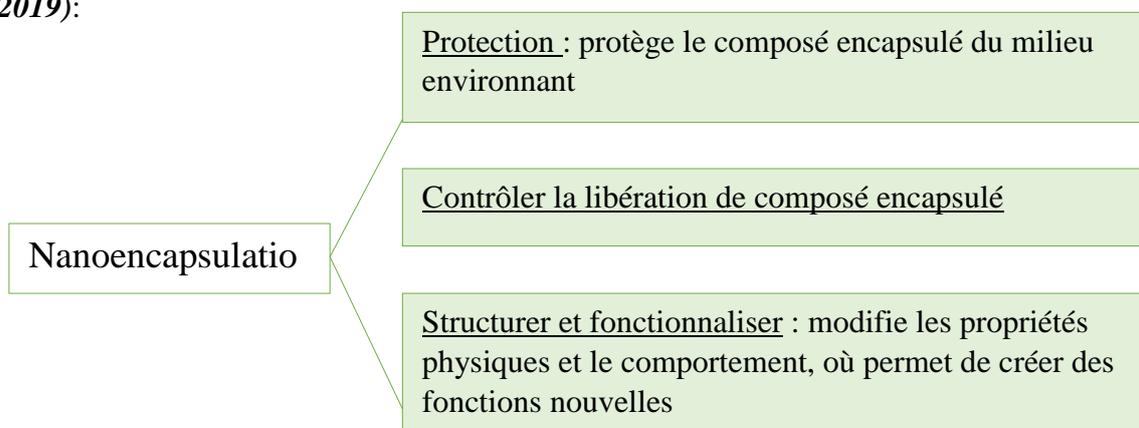


Figure 9. Fonctionnalités propres de la technologie de la nanoencapsulation

2. Nanoparticules (NPs) :

Ce chapitre met l'accent sur un type particulier des nanoparticules, qui sont des NPs inorganique, et plus précisément la silice mésoporeuse comme nanoporteur d'HE.

Les nanoparticules sont définies comme des particules dispersées ou particules solides de taille portée de 10-1000 nm, Les composés bioactifs sont dissous, emprisonnés, encapsulés ou attachés à une matrice des nanoparticules (Mohanraj & Chen, 2006). Les NP peuvent être regroupés en deux grandes catégories, à savoir les **nanoparticules organiques** qui comprennent les NPs à base lipidiques et les NPs à base polymère, et des **nanoparticules inorganiques** comprennent les NPs magnétiques, les NPs de métaux nobles, et les NPs à base des matériaux semi-conducteurs (*Mitchell et al., 2021 ; Vadlapudi et al., 2013*).

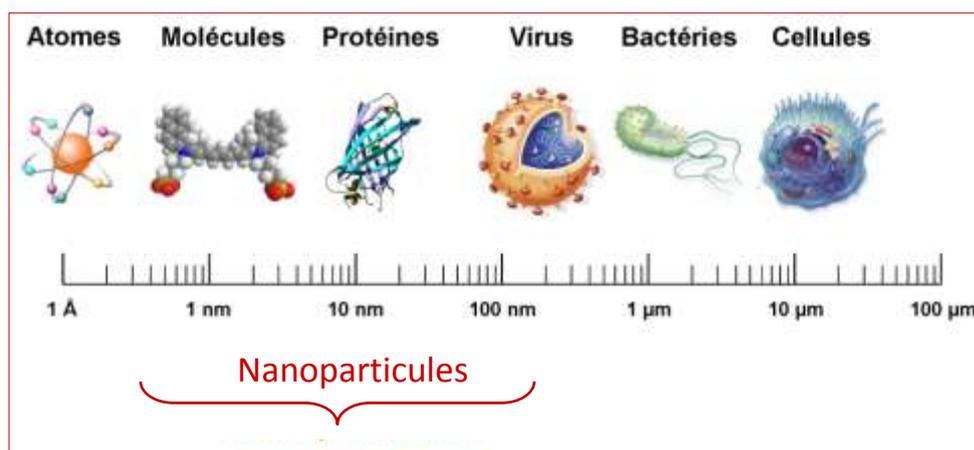


Figure 10. Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques

2.1. Nanoparticules organiques

Les nanoparticules organiques peuvent être distinguées en deux groupes, les nanoparticules organiques à base de lipidiques comme les liposomes, les nanoémulsions et les nanoparticules lipidiques solides (*Plaza Oliver et al., 2021*), tandis que les nanoparticules organiques à base de polymère telles que les nanocapsules, les nanosphères, les dendrimères, les micelles de polymère et les polymersome (*R. De et al., 2022 ; Wilczewska et al., 2012*).

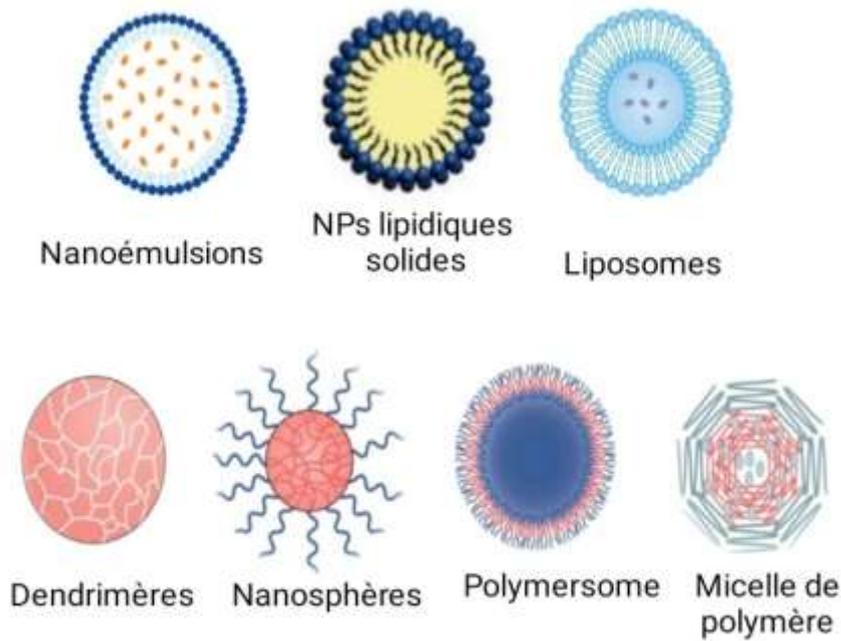


Figure 11. les nanoparticules organiques (*Mitchell et al., 2021*)

2.2.Nanoparticules inorganiques :

Les NPs inorganiques sont des particules d'oxyde métallique ou des composants métalliques (*Bayda et al., 2018*) , qui présentent des propriétés physiques, électriques, magnétiques et optiques uniques en raison de la nature des matériaux de base eux-mêmes, et sont formulés et conçus avec précision dans une variété de tailles, de compositions et de géométries. Parmi les NPs inorganiques les plus utilisées : métalliques (ex : NPs d'or), magnétiques (ex : NPs d'oxyde de fer magnétique), NPs mésoporeuses de silice (*Mitchell et al., 2021 ; Qiu et al., 2018*)

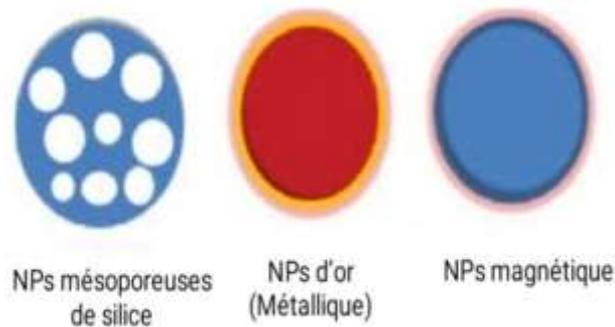


Figure 12. les nanoparticules inorganiques (*Mitchell et al., 2021*)

3. Nanoparticule de silice mésoporeuse

3.1. Généralités

Les matières siliceuses mésoporeuses (MSM) ont été signalées pour la première fois par Kuroda au Japon et ses collaborateurs, et par 15 scientifiques de Mobil Oil aux États-Unis au début des années 1990 (*Manzano & Vallet-Regí, 2020*). Les nanoparticules de silice mésoporeuses (MSNP) font partie des nanomatériaux inorganiques, qui ont attiré l'attention des chercheurs au fil des années, en raison de leurs propriétés morphologiques supérieures telles qu'une distribution ordonnée des pores qui présentent des tailles homogènes ajustables, une surface élevée, en plus de propriétés physiques et chimiques attrayantes, telles qu'une stabilité colloïdale et thermique, une dispersion élevée, et la facilité de fonctionnalisation de la surface grâce aux groupes silanols (*Kankala et al., 2020*). La topologie exceptionnelle avec une surface poreuse et des architectures internes de MSNP les rend exceptionnelles avec des propriétés anticipées qui pourraient être bien réglées en ajustant les conditions de synthèse (*Kankala et al., 2020*).

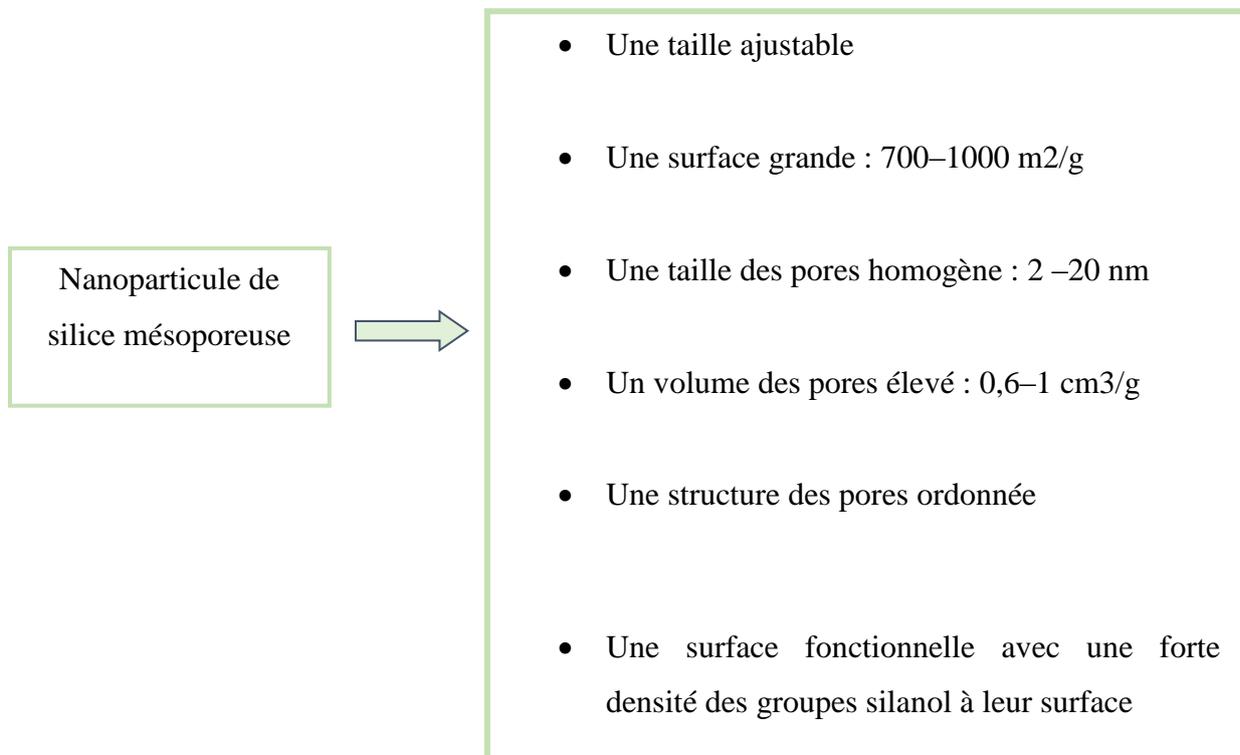


Figure13. les propriétés structurales des nanoparticules de silice mésoporeuse (*Manzano & Vallet-Regí, 2020 ; Vallet-Regí et al., 2017*)

3.2. Domaine d'application des nanoparticules de silice mésoporeuse

L'application de la silice mésoporeuse est devenue une réalisation majeure, qui a suscité un grand intérêt dans la recherche en nanotechnologie, et de nombreux domaines l'ont considérée comme l'un des nanoporteurs de matière active les plus importants (*Pal et al., 2020*).

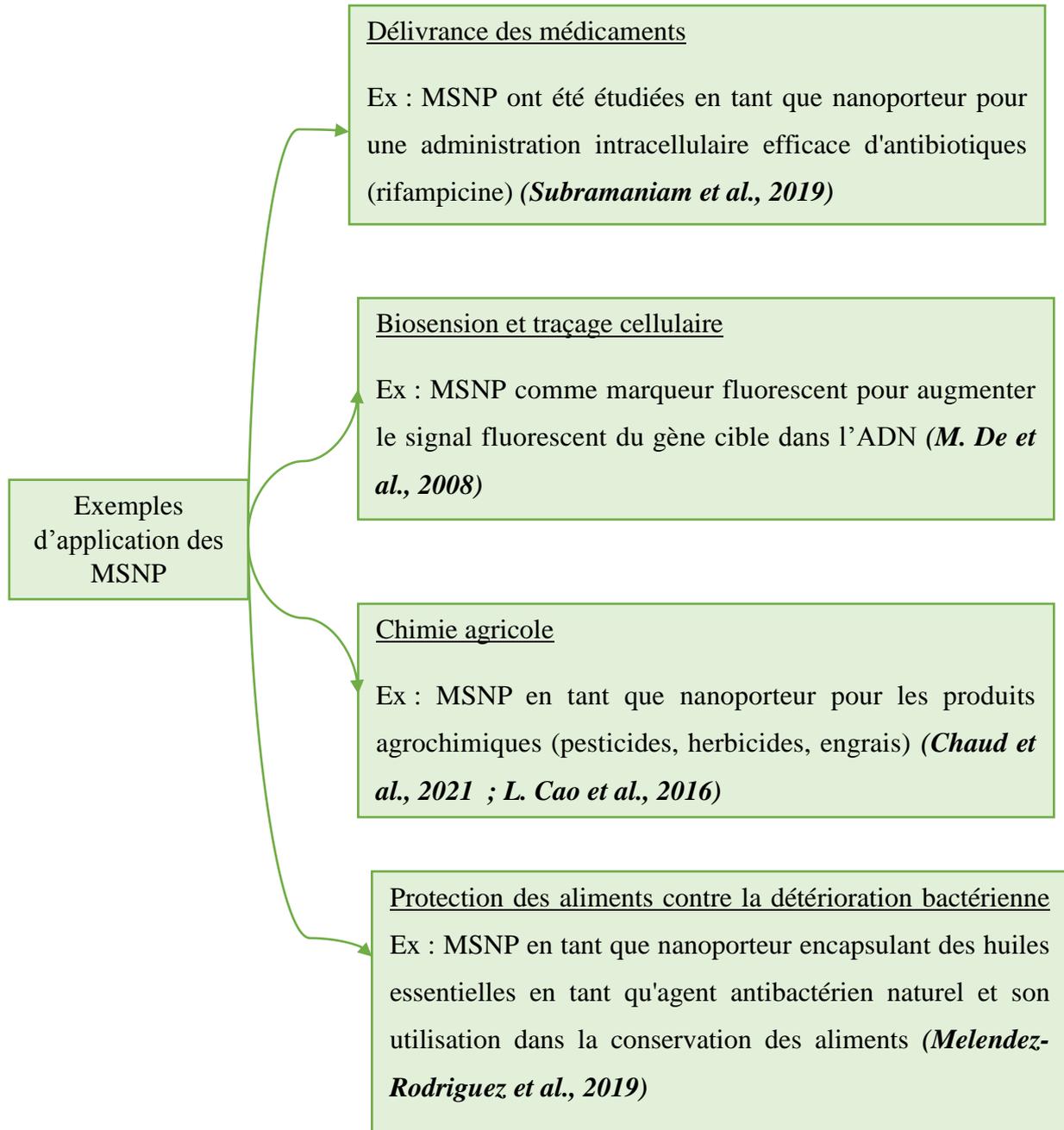


Figure 14. Exemples d'application des MSNP

3.3. Avantages des nanoparticules de silice mésoporeuse

Tout en utilisant un nanomatériau dans des applications biologiques pratiques, la compatibilité avec la cellule vivante est un point important à considérer. Une substance biocompatible ne devrait produire aucun effet toxique.

L'avantage majeur du MSN est sa haute biocompatibilité *in vivo*. Selon des études sur la biodistribution, la toxicité et l'excrétion du MSN, ils ont constaté que les particules de silice se dégradent en acide orthosilicique 'Si (OH) 4' dans l'eau, puis absorbé par l'organisme pour utiliser la silice comme oligo-élément. La US-Food and Drug Administration (US-FDA) classe la silice comme "généralement reconnue comme sûre" (*Kankala et al., 2020 ; Watermann & Brieger, 2017 ; Bharti et al., 2015*).

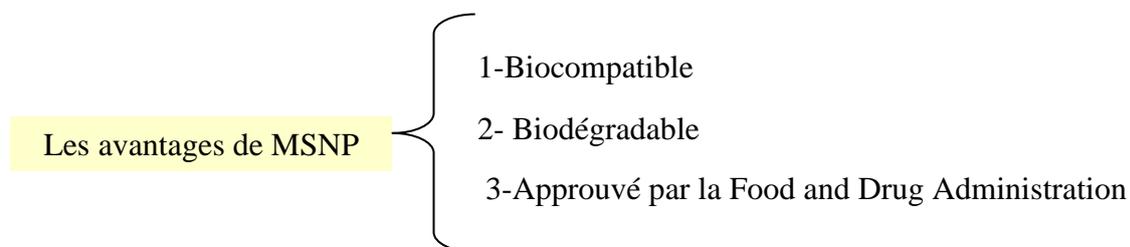


Figure15. Illustration des avantages de MSNP

3.4. Synthèse des nanoparticules de silice mésoporeuse

Les nanoparticules de silice mésoporeuses (MSNP) sont composées d'oxyde métallique amorphe colloïdal, et une compréhension approfondie de leur mécanisme de formation est cruciale pour obtenir des nanoparticules aux propriétés souhaitées.

Conventionnellement, les nanoparticules de silice mésoporeuses (MSN) sont produites par la méthode « Stöber » via le procédé sol-gel qui repose sur la polymérisation d'élément inorganique (silice) sur l'élément organique (tensioactif) (*Manzano & Vallet-Regí, 2020 ; Wu et al., 2013*).

3.4.1. Méthode « Stöber » pour synthétiser des MSN

En 1968, Stöber et al. ont rapporté une méthode efficace pour la synthèse de nanoparticules de silice monodispersées, qui reste la méthode de synthèse la plus largement utilisée pour les nanoparticules de silice (*Wu et al., 2013*).

L'approche « stöber modifiée » repose sur l'utilisation de tensioactifs tels que le bromure de cétréméthylammonium (CTAB) comme patron (agents directeurs de structure), en plus de polymères, d'agents formant des micelles, le tout agité dans de l'eau /co-solvant dans des conditions de base, après auquel l'orthosilicate de tétraéthyl (TEOS) est ajouté en tant que précurseur pour la condensation de silice.

Lorsque la concentration de tensioactif est supérieure à la concentration micellaire critique (CMC), un auto-assemblage des CTAB se produit, où ils s'agrègent pour former des micelles, puis les particules de silice se condensent autour de la surface des micelles pour construire un réseau d'oxyde (*Vazquez et al., 2017 ; Watermann & Brieger, 2017 ; Pal et al., 2020*).

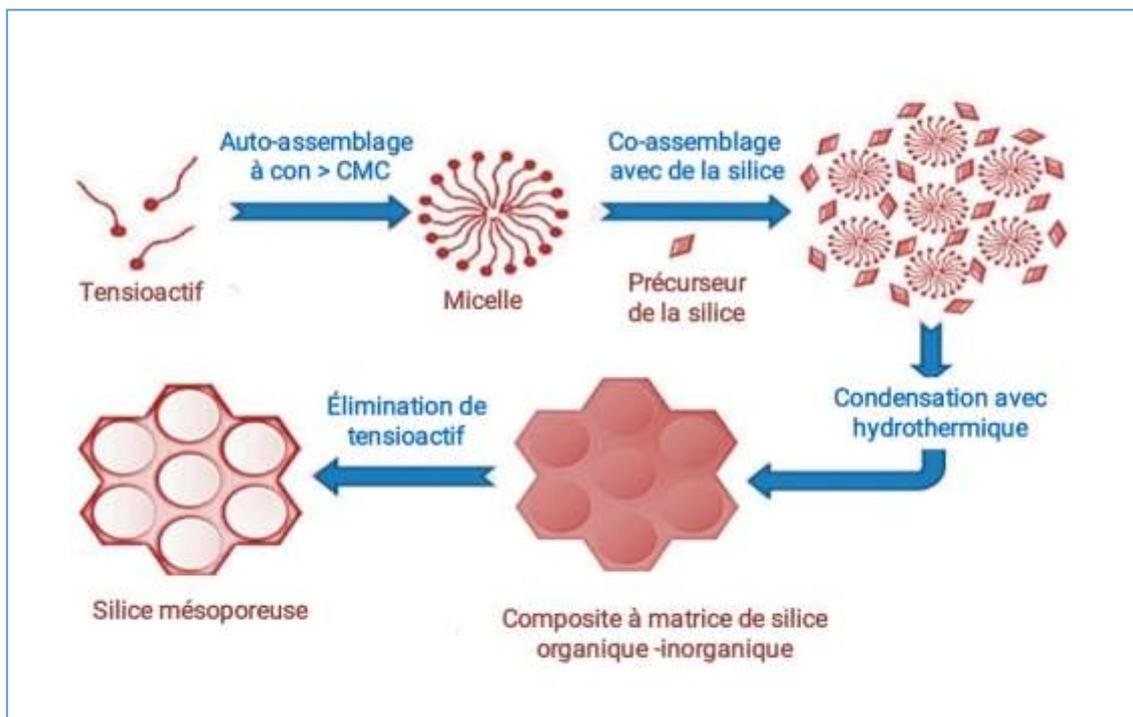


Figure 16. Stratégie de synthèse pour la silice mésoporeuse (*Pal et al., 2020*)

De manière générale, la synthèse des MSN nécessite l'utilisation de quatre éléments essentiels :

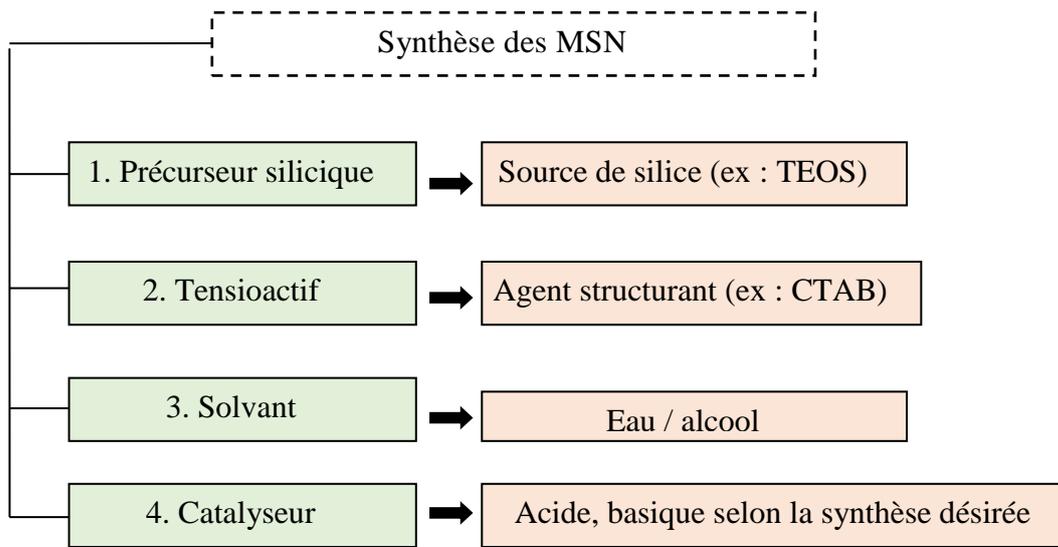


Figure 17. Schéma montrant les éléments de base de la fabrication de silice mésoporeuse

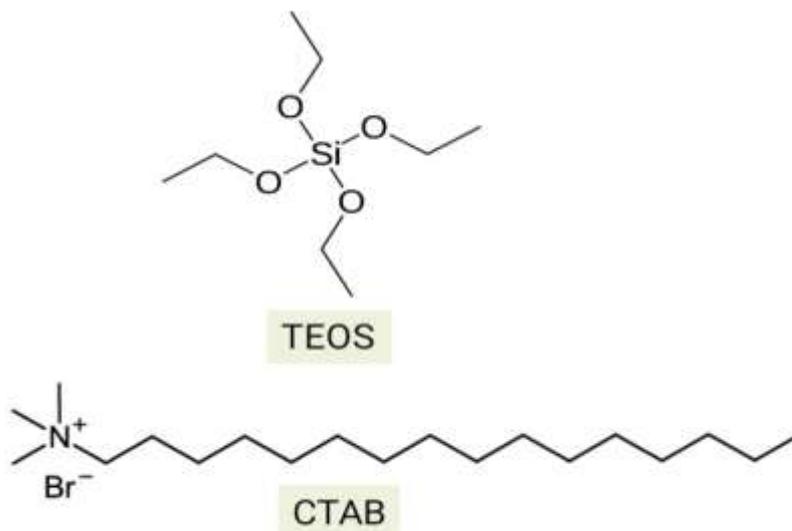


Figure 18. Structure chimique de précurseur silicique (TEOS) et tensioactif (CTAB)

3.4.2. Procédé sol – gel (chimie douce)

Le terme sol-gel est l'abréviation des mots (solution – gélification), il représente la transformation d'un sol (une dispersion stable des particules colloïdales dans un solvant) en une phase gel (réseau, solide, continu, tridimensionnel, qui renferme à l'intérieur de ses

pores une phase liquide), par la succession de deux types des réactions d'hydrolyse et de condensation à des températures nettement plus basses que celles des voies classiques de synthèse (*Young, 2002 ; Technique, 2004*).

➤ **Réaction d'hydrolyse :**

Cette étape consiste à convertir les groupes alcoxy (-OR) du précurseur de silice en groupes hydroxyle (-OH), ce qui entraîne la génération d'un groupe fonctionnel appelé silanol (Si-OH) et la libération de molécules d'alcool ; dans lequel cette phase se déroule dans une solution aqueuse avec l'ajout de co-solvants organiques, tels que les alcools qui facilitent la solubilité complète de précurseur dans l'eau, en présence ou en absence d'un catalyseur acide ou basique (*Young, 2002 ; Elaloui & Pajonk, 2000*).



➤ **Réaction de condensation :**

Il s'agit de la deuxième étape du procédé sol-gel, le groupe silanol (Si-OH) peut subir une condensation avec un autre groupe silanol (Si-OH) (équation 1.2), ou avec un groupe alcoxy (Si-OR) (équation 1.3), ce qui entraîne la formation des ponts siloxanes forts (-Si-O-Si) et la libération de l'alcool ou de l'eau in situ.

Ces réactions conduisent à la gélification et à la formation d'un gel constitué des chaînes (Si-OH-Si) (*Young, 2002 ; Elaloui & Pajonk, 2000*).



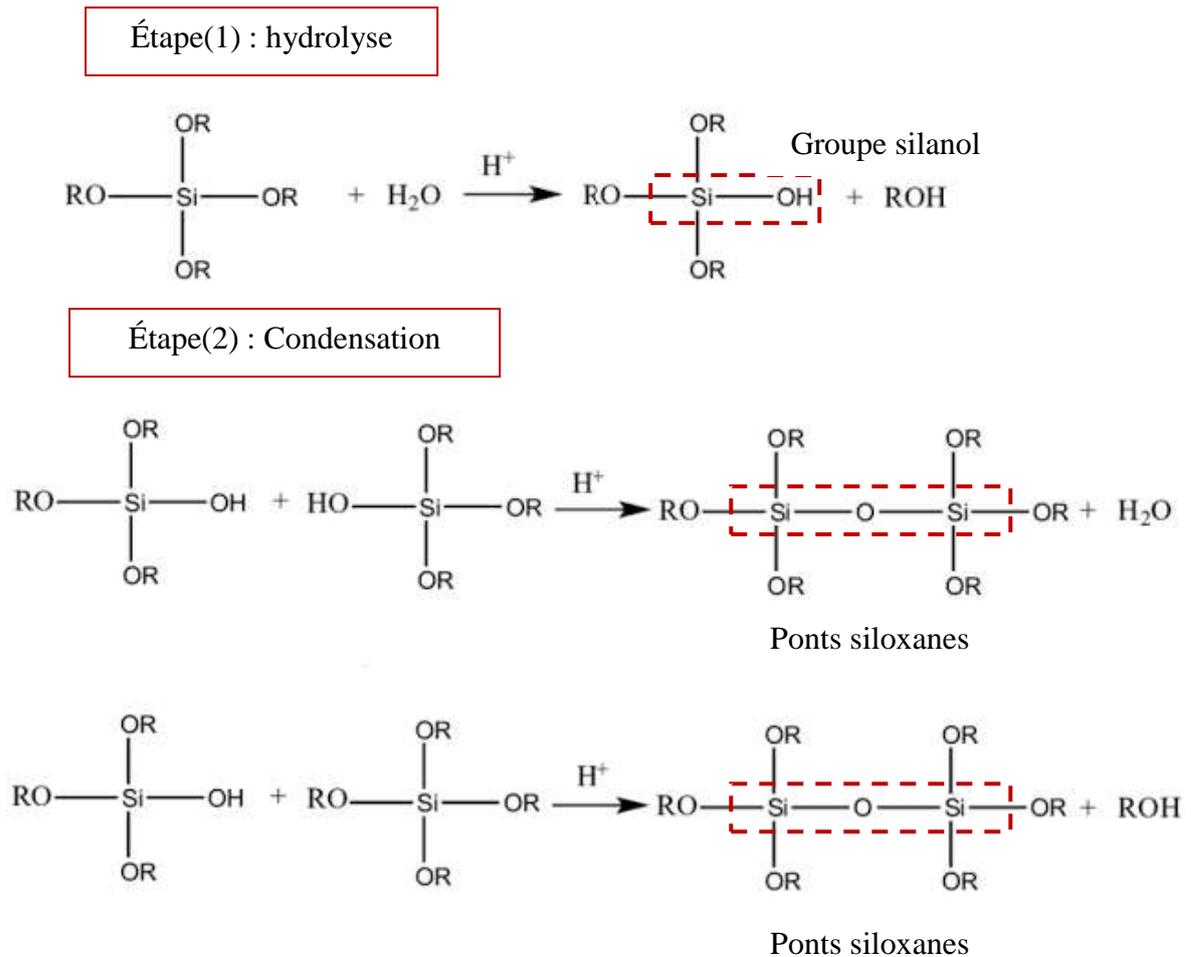


Figure 19. Stratégie de synthèse pour la silice mésoporeuse

Les paramètres contrôlant les cinétiques d'hydrolyse et de condensation sont principalement le pH, la température du milieu réactionnel et la quantité de précurseur et d'eau/solvant utilisé (*Young, 2002*).

4. Nanoencapsulation d'HE par le procédé sol-gel en miniémulsion

L'axe que nous avons suivi dans notre étude est d'encapsuler l'HEEC par la méthode sol-gel en miniémulsion de type huile dans l'eau (H/E).

Depuis le début des années 1990, la technologie sol-gel est utilisée pour encapsuler une large gamme de molécules comme des colorants, des huiles, des biomolécules plus complexes telles que des enzymes, et même des entités biologiques telles que les bactéries

4.2.Tensioactif

Les tensioactifs, également appelés agents de surface, sont des molécules amphiphile possédant une tête hydrophile qui est constituée d'un ou plusieurs groupement(s) polaire(s) pouvant être sous forme anionique, cationique, non ionique et amphotères, et une queue lipophile qui est constituée d'une ou plusieurs chaîne(s) hydrocarbonée(s) aliphatique(s), pouvant prendre différentes formes (linéaire, ramifiée, aromatique)(Milpied-Homsi, 2002),(Rico-Lattes, 2007).

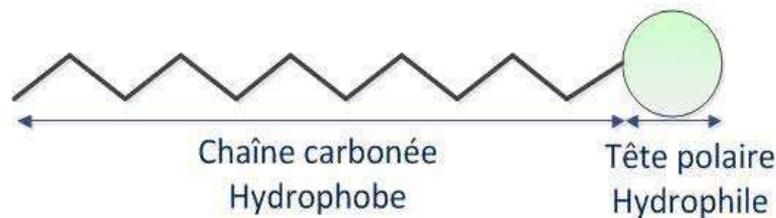


Figure 21.Schéma simplifié d'un tensioactif

En solution aqueuse, les tensioactifs ont tendance à s'organiser en des micelles qui se forment spontanément lorsque la concentration du tensioactif est atteinte la "concentration micellaire critique" (CMC).

L'architecture d'une micelle en milieu aqueux est telle que les chaînes hydrophobes sont à l'intérieur, tandis que les parties hydrophiles sont situées à la surface en contact avec l'eau. En milieu organique, l'architecture s'inverse et les micelles formées sont appelées "micelles inverses". Les tensioactifs s'auto-organisent en différentes structures pour afin de minimiser la tension superficielle existant entre leur partie hydrophobe et la phase aqueuse. Selon le paramètre d'empilement ($P = V/aI$) $< 1/3$ permet de prévoir le d'auto-organisation sphériques des tensioactifs dans l'eau (*Benamor, 2011*).

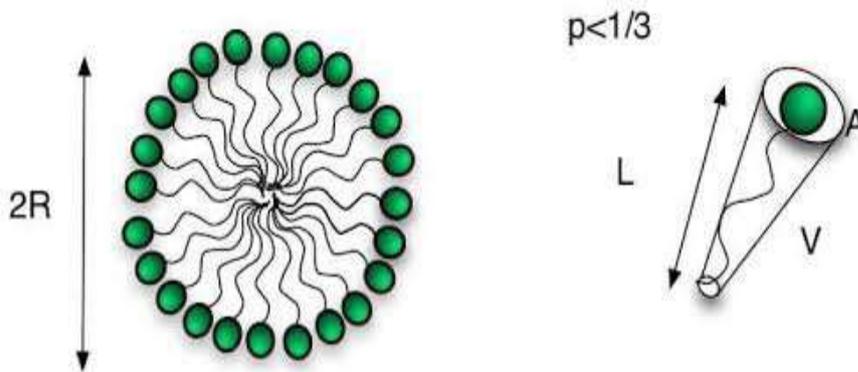


Figure 22. Structure micellaire sphérique

5. Caractérisation des Nanoparticules

Notre étude se focalise sur la caractérisation de trois paramètres physico-chimiques à l'aide du Zetasizer : la taille, la charge et l'indice de polydispersité. De plus, nous utilisons la spectroscopie FTIR pour identifier les liaisons chimiques présentes à la surface des nanoparticules de silice mésoporeuse.

5.1. Taille et indice de polydispersité :

L'analyse de la taille des nanoparticules est un critère très important pour leur caractérisation, qui est mesurée par la diffusion dynamique de la lumière (DLS). La diffusion dynamique de la lumière est une technique d'analyse spectroscopique qui permet d'accéder au diamètre hydrodynamique des particules dans le domaine submicronique, et qui utilise le mouvement Brownien comme une « signature » de la taille des particules en suspension par la mesure de leur coefficient de diffusion D (Mainard & Jacob, 2016).

Le principe de cette technique est basé sur la diffusion de la lumière par les nanoparticules qui sont principalement soumises aux chocs continus avec les molécules du liquide qui provoquent un mouvement aléatoire des particules appelé mouvement brownien. Ce mouvement est corrélé d'une part au diamètre hydrodynamique des particules, qui correspondent à la taille de la particule qui diffuse la lumière, et d'autre part au coefficient de diffusion, la viscosité du solvant et la température (Mainard & Jacob, 2016).

L'appareil mesure la lumière diffusée pour déterminer la taille et la distribution de taille des nanoparticules en utilisant la formule de Stokes-Einstein suivante.

$$d(h) = \frac{KT}{3 \pi \eta D}$$

Où $d(h)$: diamètre hydrodynamique

K : constant de Boltzmann

T : température absolue

η : viscosité

D : coefficient de diffusion

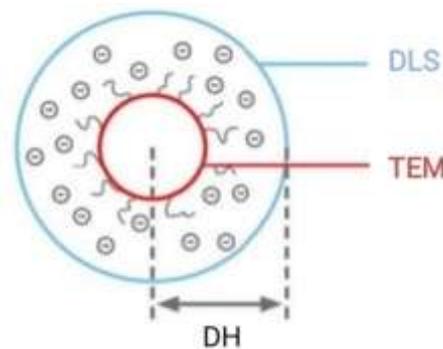


Figure 23. Représentation de diamètre hydrodynamique d'une particule

La diffusion dynamique de la lumière (DLS) permet ainsi d'obtenir une estimation de la distribution de taille par l'indice de polydispersité de la suspension (*Lammari, 2021*). D'après les recommandations de l'IUPAC, le terme "polydispersité" est utilisé pour décrire le degré de non-uniformité d'une distribution granulométrique. Le PDI, également connu sous le nom d'indice d'hétérogénéité, est calculé en ajustant deux paramètres aux données de corrélation à l'aide de l'analyse des cumulants.

L'indice de polydispersité (PDI) est une valeur adimensionnelle utilisée pour évaluer la distribution des tailles des particules dans un système colloïdale. Il varie de 0 à 1, où une valeur proche de 0 indique une distribution étroite (monodispersée), telle que toutes les particules de la solution colloïdale ont des tailles similaires. Et une valeur proche de 1 indique une distribution large (polydispersé), telle que toutes les particules de la solution colloïdale ont des tailles similaires (*Danaei et al., 2018*).

5.2.La charge de surface :

Dans une solution ionique ou suspension, les nanoparticules acquiert un nuage des ions organisés qui l'entourent sous forme d'une double couche électrique appelé le plan de cisaillement : la première couche d'ions liés appelée Stern adhère fortement à la particule, tandis que la deuxième couche appelée diffuse y adhère faiblement. Au fur et à mesure que la particule se déplace (en raison de la diffusion brownienne), une distinction est créée entre les ions de la couche diffuse qui se déplacent avec la nanoparticule et les ions qui restent avec le dispersant en vrac. Le potentiel électrostatique à cette limite de "plan de glissement" est appelé potentiel zêta et est lié à la charge de surface de la nanoparticule (Clogston & Patri, 2011).

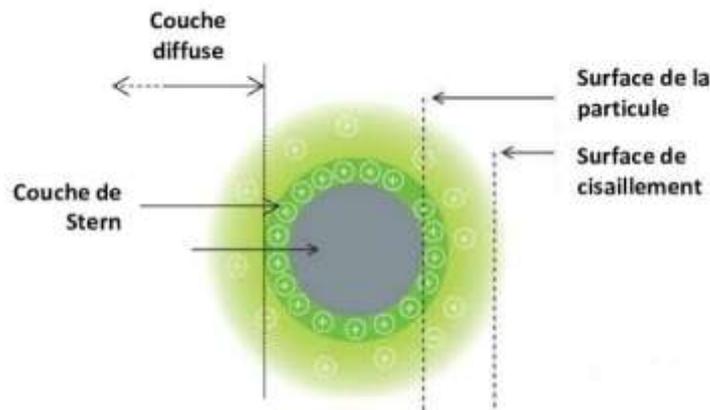


Figure 24. Représentation de la double couche électrique du potentiel zêta

Le potentiel zêta est considéré comme un indice de stabilité des systèmes colloïdaux, dans lequel le tableau suivant montre la stabilité des nanoparticules mesurée selon potentiel zêta (Lammari, 2021):

Tableau 2. Stabilité des dispersions pour différentes valeurs de potentiel zêta

Potentiel zêta (mV)	Stabilité du colloïde
±10 à ±30	Stabilité faible
±30 à ±40	Stabilité modérée
±40 à ±60	Stabilité bonne
Plus de ±61	Stabilité excellente

5.3. Analyse des groupes fonctionnels d'une surface des NPs de silice poreuse

La spectroscopie FTIR est une méthode analytique qualitative et quantitative qui fournit des informations sur les détails structuraux des molécules et des matériaux. C'est une technique très pratique et facile qui se base sur l'interaction entre les rayonnements infrarouges (IR) et les mouvements internes des molécules. La FTIR peut nous renseigner sur la présence des molécules ancrées à la surface et/ou dans les pores des NPs et sur la nature de leur interaction avec la charpente silicique (*Bouchoucha, 2017*).

6. Paramètres d'évaluation de nanoencapsulation

6.1. Efficacité d'encapsulation

L'efficacité d'encapsulation est l'un des paramètres les plus importants dans la caractérisation des nanoparticules formulées. L'EE% est défini comme étant la quantité de la substance active présente dans les NP par rapport à la quantité initiale introduite dans la formulation (*Lammari, 2021*).

$$EE(\%) = \frac{\text{Quantité de l'HE initiale} - \text{Quantité de l'HE non encapsulé}}{\text{Quantité de HE}} \times 100$$

6.2.Taux de chargement

Le taux de chargement correspond à la masse de la substance active encapsulée par rapport à la masse de nanoparticules (*Lammari, 2021*).

$$TC (\%) = \frac{\text{Quantité de l'HE initiale} - \text{Quantité de l'HE non encapsulé}}{\text{masse des nanoparticules}} \times 100$$

7.Libération des principes actifs

Les substances actives sont maintenues et protégées dans le cœur des nanoparticules durant une période de temps définie, deux systèmes sont distingués pour leur libération :

Libération contrôlée :

Elle concerne que le principe actif soit relargué de façon prolongée au cours de temps ; grâce à l'affinité du principe actif pour le milieu extérieur ou la perméabilité de la membrane de la particule qui provoque sa diffusion vers l'extérieur (*Duclairoir, 2000*).

Libération déclenchée :

Elle concerne d'un facteur extérieur peut provoquer la relargage qui peut être total ou instantané (*Duclairoir, 2000*).

8. Evolution des nanoparticules (NPs) comme système de vectorisation

Les nanoparticules sont synthétisées en tant que systèmes de nanovecteurs et en tant qu'unités de support pour les substances bioactives (*Rambaran, 2020*) , et depuis le développement des premiers nanoporteurs dans les années 70, la nanotechnologie a considérablement progressé vers la production de nanocomposites d'une manière intelligente qui permet le contrôle et le ciblage (*Ferjaoui, 2020 ; Wan, 2012*).

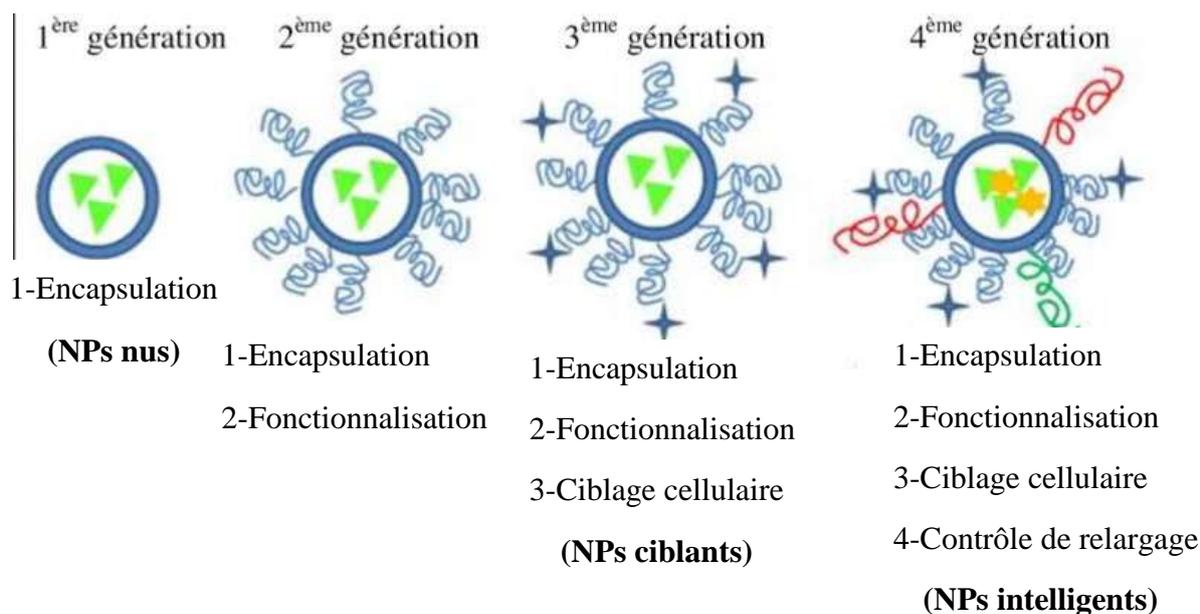


Figure 25. Illustration de l'évolution des nanoparticules comme systèmes des nanovecteurs des principes actifs

Les nanovecteurs se distinguent en plusieurs générations en fonction de leurs caractéristiques et de leurs capacités. **La première génération**, appelée "nus", fait référence aux nanovecteurs qui n'ont pas subi de modifications chimiques à leur surface et qui ne sont pas conçus pour un ciblage spécifique. En revanche, **la deuxième génération** de nanovecteurs est revêtue d'une couche de polymères hydrophiles tels que le polyéthylène glycol (PEG) afin d'améliorer leur stabilité. **La troisième génération** de nanovecteurs, également connue sous le nom de "ciblant", est développée en ajoutant des ligands (marqueurs de ciblage) à la surface des nanoparticules. Ces ligands permettent aux nanovecteurs de se lier spécifiquement à des récepteurs, ce qui améliore considérablement l'efficacité et la précision du ciblage. Par ailleurs, **la quatrième génération** de nanovecteurs, qualifiée d'"intelligente", présente des vecteurs qui réagissent de manière adaptée à leur environnement. Ces nanovecteurs intelligents sont en réalité des vecteurs de troisième génération dotés de composants sensibles à des facteurs extracellulaires tels que le pH, la lumière, la température et le champ magnétique (Ferjaoui, 2020 ; Wan, 2012).

Étude expérimentale

Chapitre III :
Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, nous présentons la partie pratique qui regroupe les différentes techniques expérimentales utilisées dans la mise en œuvre de ce projet, qui ont été réalisées au niveau du Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt).

Nous avons d'abord commencé par extraire l'huile essentielle de l'écorce de la plante cannelier, et évaluer ses activités antiseptiques. Puis nous l'avons encapsulé pour obtenir des nanoparticules aux caractéristiques distinctes ont été étudiées et analysées. Ensuite, nous avons estimé le taux de libération d'HE à partir de ces nanoparticules, et réévalué ses activités antiseptiques après la nanoencapsulation.

1. Matériels, matières biologiques et produits chimiques utilisés

1.1 Matériels

1.1.1. Verreries et outillages

- ✓ Mortier et pilon.
- ✓ Spatule.
- ✓ Entonnoir.
- ✓ Ballon (1 litre).
- ✓ Pipettes pasteur en verre.
- ✓ Capsule de pesée.
- ✓ Eppendorf (1.5 ml, 2 ml).
- ✓ Erlenmeyers (1000 ml, 250 ml).
- ✓ Éprouvettes (1000 ml, 50 ml).
- ✓ Bêchers (25 ml, 500 ml, 1000 ml).
- ✓ Boudin de dialyse (membrane de cellulose 12KD).
- ✓ Micropipettes (1000 µl, 100 µl, 10 µl).
- ✓ Barreaux magnétiques.
- ✓ Cuve en Quartz pour spectrophotomètre UV-visible.
- ✓ Tubes hémolyse et tubes à essais.
- ✓ Boîtes de Pétri stériles.
- ✓ Écouvillons de coton stériles.
- ✓ Anse de platine et pince.
- ✓ Des disques de papier Whatman™ N°3.

1.1.2. Équipements

- ✓ Mixeurs de laboratoire rotatif-E8130.
- ✓ Balance de précision (KERN-PEJ).
- ✓ Balance analytique (KERN ABJ-NM).
- ✓ Hydrodistillateur Clevenger.
- ✓ Agitateur à plaque chauffante (ISOTEMP).
- ✓ Ultrasonicateur (VIBRA CELL).
- ✓ Centrifugeuse (5804 R Eppendorf et MIKRP 220R HETTICH).
- ✓ Spectrophotomètre (Thermo Scientific Evolution 160 UV-VIS v8.01).
- ✓ Spectrophotomètre Infrarouges à Transformée de Fourier (IRAffinity-1S SHIMADZU).
- ✓ Zetasizer (100 HORIBA Scientific).
- ✓ pH- mètre (METTELER TOLEDO).
- ✓ Hotte biologique (CLEAN BENCH SCBN -1013 SHINSAENG).
- ✓ Étuve (MEMMERT).
- ✓ Autoclave (SYSTEC).
- ✓ Vortex (ZX3 VELP SCIENTIFICA).

1.2. Matériels biologique

- ✓ **Matériel végétal**
 - Écorce de cannelle (*Cinnamomum cassia*)



Figure 26. Les bâtonnets de la cannelle et leurs broyat

✓ **Les souches bactériennes**

Tableau 3. Les deux souches bactériennes utilisées avec leurs gram et référence

Nom de souche	Gram	Référence de la souche
<i>Escherichia coli</i>	Gram-	ATTCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram+	ATTCC25923

✓ **La souche mycélienne**

- *Fusarium oxysporum f.sp lycopersici* 4287

✓ **Disque antibiotiques**

- Céfotaxime 30 µg : antibiotique de la famille des bêtalactamines qui inhibe sélectivement la synthèse des peptidoglycanes conduisant à la lyse bactérienne.

✓ **Milieux de culture**

▪ **La gélose Mueller Hinton**

➤ Préparation :

38 g de poudre gélose Mueller-Hinton sont ajoutés à 1000 ml d'eau distillée, bouillis pendant quelques secondes jusqu'à dissolution complète et stérilisés dans l'autoclave.

▪ **La gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA)**

➤ Préparation :

200 g de pommes de terre coupées en petits morceaux, qui sont placés avec 300 ml d'eau distillée, et bouillis à 100°C pendant 20-25 min, puis filtrés pour obtenir du jus de pomme de terre. 20 g d'agar sont dissous dans 300 ml d'eau distillée, et 15 g de dextrose y sont ajoutés pour être ajoutés au jus de pomme de terre, et le volume du mélange est ajusté jusqu'à 1000 ml avec l'eau distillée, et il est placé dans l'autoclave pour stériliser.

1.3.Produits chimiques :

Tableau 4.Produits chimiques employés

Produit chimique	Formule chimique	Apparence	Masse molaire	Masse volumique	Pureté %
Orthosilicate de tétraéthyle (TEOS)	$\text{Si}(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_4$	Liquide incolore	208.32g/mol	0.933 g/cm ³	≥99
Bromure de cetyltriéthylammonim (CTAB)	$\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{NBr}$	Poudre blanche	364.46 g/mol	364.46 g/cm ³	≥98
Hexadécane(HD)	$\text{C}_{16}\text{H}_{34}$	Liquide incolore	226,44 g/mol	0.77 g/cm ³	≥99
Éthanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	Liquide incolore	46.07 g/mol	0,79 g/cm ³	≥96
Diméthylsulfoxyde (DMSO)	$\text{C}_2\text{H}_6\text{SO}$	Liquide incolore	78.13 g/mol	1.101 g/cm ³	≥99.99
Chlorure de potassium	KCl	Cristal incolore	74.55 g/mol	1.98 g/cm ³	≥99
Chlorure de sodium	NaCl	Cristal incolore	58.44 g/mol	2.17 g/cm ³	≥99.4
Phosphate disodique	Na_2HPO_4	Cristal incolore	141.96 g/mol	0.96 g/cm ³	≥98
Phosphate dipotassique	K_2HPO_4	Poudre blanche	174.18 g/mol	2.44 g/cm ³	≥99
Sulfate de sodium	Na_2SO_4	Poudre blanche	142.04 g/mol	2.68 g/cm ³	≥99.99

2. Protocoles Expérimentaux

2.1. Extraction d'HEEC par hydrodistillation :

L'extraction se fait par hydrodistillation de montage Clevenger, en broyant 100 g de *Cinnamomum cassia*, et les immergeant dans un ballon en verre de 1 litre contenant suffisamment d'eau distillée sans le remplir complètement pour éviter les débordements au cours l'ébullition.

Le mélange est mis à bouillir pendant 5h, où le chauffage crée une vapeur d'eau chargée en HEEC, qui se dirige vers le refroidisseur où se produit la condensation, et il se forme des gouttelettes qui s'accumulent dans la burette à robinet, et du fait de la différence de densité, l'HEEC flotte à la surface d'eau ce qui conduit à la formation des deux phases non miscibles : phase aqueuse et phase huileuse , où la partie de l'huile essentielle réside dans l'eau florale . L'HEEC récupérée sont traitées sulfate du sodium(Na_2SO_4) afin d'éliminer l'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase organique. Elles sont conservées au réfrigérateur à 4°C, dans un Eppendorf opaque bien bouchés à l'abri de la lumière et de la chaleur.



Figure 27. Dispositif d'hydrodistillation (Clevenger)

2.2. Détermination du rendement en HEEC :

Après avoir extrait et récupéré l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, on évalue le rendement en utilisant la formule suivante : le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière végétale utilisée (*Karima et al., 2014*).

$$R = m/m_0 \times 100$$

R : rendement en huile essentielle (%).

m : masse en gramme de l'huile essentielle.

m₀: masse en gramme de la matière végétale sèche.

2.3. Tests d'activités antiseptiques d'HEEC

2.3.1. Détermination du pouvoir antimicrobien de l'HEEC

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne de l'HEEC, nous avons adopté « *in vitro* » une approche d'appréciation qualitative appelée « l'aromatogramme » qui est basée sur la technique de diffusion en disques sur milieu gélosé (Mueller- Hinton), et a été testée sur deux souches, *E.coli* et *S.aureus*.

Le principe de la technique repose sur l'imprégnation des disques par l'HEEC, qui est déposé à la surface d'un milieu gélosé pré-ensemencé en surface avec une suspension bactérienne. Après l'incubation, suite au contact entre l'HEEC et la bactérie cible, des vides se forment autour des disques, appelés zones d'inhibition. L'effet antimicrobien est évalué en mesurant la zone d'inhibition en fonction du diamètre d'inhibition en mm. Sur la base de ces mesures, les souches sont classées comme sensibles, très sensibles, extrêmement sensibles ou résistantes à l'HEEC. Les étapes suivies sont décrites comme suit (*Moreira et al., 2005*) :

Préparation des dilutions de l'HEEC

Quatre dilutions d'HEEC sont réalisées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) de manière à obtenir quatre concentrations (100%, 50% ,10% ,5%).

Tableau 5. Dilutions d'HEEC préparées pour l'activité antimicrobienne

Dilution	Concentration	Quantité
1ère dilution (HE pur)	100%	250µl (HE) + 0 µl DMSO
2ème dilution	50%	125 µl (HE) +125 µl DMSO
3ème dilution	10%	25 µl (HE) + 225 µl DMSO
4ème dilution	5%	12.5µl (HE) +237.5µl DMSO

Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries, puis incubées dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées. Les colonies isolées ont servi à préparer l'inoculum.

Préparation de l'inoculum bactérien

Se fait par prélèvement de colonies bien isolées d'une culture jeune et pure de (18- 24h), introduites à l'aide d'une anse de platine dans une tube à hémolyse contenant du bouillon de Mueller Hinton , de sorte à avoir une suspension d'une opacité de 0.5 Mc Farland, qui à équivalente à une densité optique de 0.13-0.19 à 600 nm.

Ensemencement

Après avoir versé le milieu de culture gélosé MH dans des boîtes de Pétri, l'ensemencement est réalisé avec l'inoculum fraîchement préparé ; qui consiste à tremper un écouvillon dans la suspension puis le frotter sur toute la surface de la gélose.

Imprégnation des disques par l'HEEC

Les disques sont en papier Whatman™ N°3 6 mm, qui ont été préalablement stérilisés, deux disques sont imprégnés de 10 µl d'HEEC de diverses concentrations (100%, 50%, 10%, 5%) et posés à la surface de la gélose ensemencé. D'autres disques, chargés de 10 µl de DMSO sont utilisés comme contrôle négatif, tandis qu'un contrôle positif est l'antibiotique « Céfotaxime ».

Disques de dépôt

Toujours dans des conditions stériles et à l'aide de pinces stériles, les disques trempés ont été placés sur le milieu, puis les boîtes ont été laissées pendant 2 heures à 4°C, puis incubées à 37°C pendant (18-24 heures) dans l'étuve.

Lecture d'aromatogramme

Après l'incubation, la lecture des résultats se fait visuellement par l'observation d'une zone circulaire transparente autour des disques correspondant à l'absence de la croissance de bactérie cible, dont le diamètre halos d'inhibitions est mesuré en mm à l'aide d'une règle. D'après Ponce et al, la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

2.3.2. Détermination du pouvoir antifongique de l'HEEC :

L'activité antifongique a été évaluée *'in vitro'* en mesurant l'effet de l'HEEC sur la croissance mycélienne du champignon *Fusarium oxysporum*. Le principe consiste à incorporer l'HE testée à différentes concentrations dans le milieu de culture gélosé PDA (Potato -Dextrose -Agar). Une fois le milieu solidifié, des disques de champignon ont été ensemencé à sa surface, puis le tout a été placé en incubation. Les étapes de la technique sont décrites comme suit (*Dennis & Webster, 1971*):

Préparation des milieux de cultures contenant différentes concentrations en HEEC

Expérimentalement, une gamme de concentrations a été préparée (0.3% ,0.15% ,0.075%, 0.035%) ; en diluant un volume donné d'HEEC (300 µl ,150µl, 75µl, 35µl) dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) pour obtenir 1ml comme volume final, dont chaque concentration a ensuite été versée dans 100 ml de milieu PDA.

Tableau 6. Dilutions d'HEEC préparées pour l'activité antifongique

Dilution	Concentration	Quantité
1ère dilution	0.3%	300µl (HE) +700µl DMSO+100ml PDA
2ème dilution	0.15%	150µl (HE) +850 µl DMSO+100ml PDA
3ème dilution	0.075%	75µl (HE) +925 µl DMSO+100ml PDA
4ème dilution	0.035%	35µl (HE) +965 µl DMSO+100ml PDA

De même, 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA comme témoin positif, tandis que le témoin négatif contenait du milieu PDA sans aucun autre additif. Ensuite, Chaque 100 ml de milieu PDA contenant l'HEEC est coulés dans une quatre boîtes de Pétri (répété 4 fois) afin de minimiser l'erreur expérimentale.

Ensemencement et incubation

Par la suite, à partir d'un tapis mycélien jeune et pure du *Fusarium oxysporum*, un disque de 5 mm de diamètre est prélevé à l'aide de pipette pasteur en verre, et placé aseptiquement au centre de la boîte de Pétri contenant du milieu PDA mélangé à l'HEEC testée. Puis les boîtes Pétri sont fermées hermétiquement et ont été laissées pendant 6 jours à 25°C dans l'étuve.

Évaluation de la croissance du *Fusarium oxysporum*

Après la période d'incubation, les résultats sont lus visuellement en observant la croissance fongique qui est mesurée en millimètres, et le résultat de chaque concentration est exprimé en pourcentage appelé taux d'inhibition (TI%), qui est calculé selon la formule :

$$TI (\%) = 100 \times (DC - DE) / DC$$

TI(%) = Taux d'inhibition exprimé en pourcentage.

DC= Diamètre de colonies dans les boîtes (témoin positif – ddi (mm)).

DE = Diamètre de colonies dans les boîtes contenant l'extrait de plante – ddi (mm).

ddi = Diamètre de disque initiale (5 mm).

2.4. Synthèse des nanoparticules de silice

La préparation est basée sur le procédé sol-gel en miniémulsion de type huile dans l'eau (H/E), et elle s'effectue selon les étapes suivantes :

➤ L'émulsion :

Pour faire cette étape, nous devons préparer la phase aqueuse (continue) qui consiste à dissoudre 0,018 g de CTAB dans un 12,5 mL d'eau ultrapure, et à bien la dissoudre en agitant de 700 rpm, à 40 °C. D'autre part, 0.75 g de TEOS ,0.06 g HD et 0.25 g d'HEEC ont été mélangés pour former la phase huileuse (dispersés). Ensuite, la solution organique a été ajoutée goutte à goutte à la solution aqueuse et laisser sous agitation de 700 rpm pendant 15 min à T° ambiante. Ce protocole a été cité de l'article (*Z. Cao et al., 2015*), et est considéré comme un test préliminaire, et après cela, nous avons créé des formulations contenant une quantité accrue d'HEEC présentées dans le tableau 7.

Tableau 7. Formulations utilisées pour la préparation de nanoparticules de silice

Formulation	CTAB(g)	HEEC(g)	TEOS(g)	HD(g)
MSNP vide (Témoin)	0.018	0	0.75	0.06
MSNP 0.25	0.018	0.25	0.75	0.06
MSNP 0.5	0.018	0.5	0.75	0.06
MSNP 0.75	0.018	0.75	0.75	0.06

➤ La miniémulsion :

Pour passer à cette étape, nous utilisons l'ultrasonicateur pendant 9 min (12s de marché, 6s d'arrêt) à une amplitude de 42% sous refroidissement par glace.

➤ La réaction sol –gel :

Toutes les solutions obtenues après la miniémulsion ont été soumises sous agitation continue de 400 rpm, pendant 24 h, à 40 °C pour opérer la réaction sol-gel.

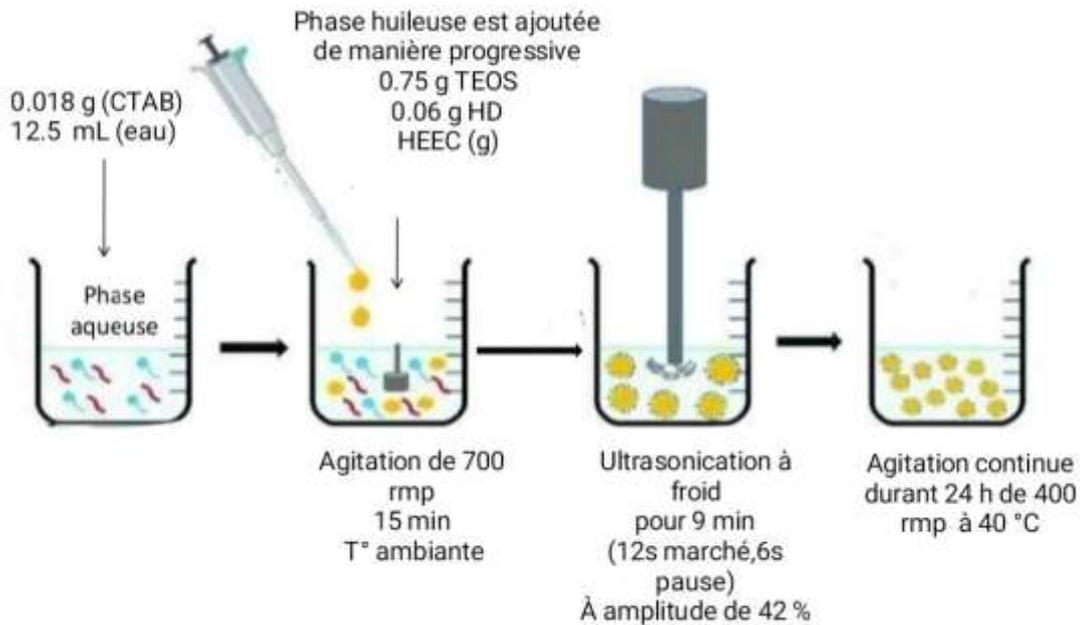


Figure 28. Procédure adaptée pour l'encapsulation d'HECC par la méthode sol gel en miniémulsion

2.5. Caractérisation des nanoparticules

2.5.1. Mesure de la taille, la charge et l'indice de polydispersité

✓ Principe de système d'analyse Zetasizer

▪ La taille

Le principe de fonctionnement du Nanosizer repose généralement sur une technique appelée diffusion dynamique de la lumière (DLS) qui est une analyse spectroscopique non destructive. Lorsqu'une particule est éclairée par un faisceau lumineux, la lumière se diffuse dans différentes directions en fonction de la taille de la particule. L'appareil mesure ensuite l'intensité de la lumière diffusée à différents angles, ce qui permet d'obtenir des informations sur le diamètre hydrodynamique de particule en suspension (*Bouchoucha, 2017*).

▪ **Le potentiel zêta**

Le potentiel zêta correspond à la mesure de la charge électrostatique de la surface des nanoparticules, qui repose sur la mobilité électrostatique de la surface des NPs, qui reposent sur la mobilité électrophorétique (UE) des particules pour détecter le potentiel au niveau de la double couche électrique située à leurs surfaces (*Bouchoucha, 2017*).

✓ **Protocol et paramètre d'appareillage**

Un volume de 1 ml de chaque formulation (MSN vide, MSN0.25, MSN0.5, MSN0.75) a été dilué dans 4 ml d'eau ultra pure, les dilutions obtenues ont subi ensuite une ultrasonication 2 min (15s de marché, 5s d'arrêt) à une amplitude de 30%.

La taille, le potentiel zêta, et l'indice de polydispersité des nanoparticules ont été évaluée par diffusion dynamique de la lumière (DLS) à l'aide d'un ZetasizerNanoZS configuration de rétrodiffusion ($\theta = 90^\circ$) à une longueur d'onde laser de $\lambda = 633$ nm. La température de la cellule de diffusion a été fixée à 25°C et les données ont été analysées avec la version 7.03 du logiciel Zetasizer.

2.5.2. Analyse de surface des formulations synthétisées

✓ **Principe de système d'analyse FTIR**

Le principe de base du système d'analyse FTIR repose sur l'interaction des molécules avec la lumière infrarouge. Lorsque la lumière infrarouge traverse un échantillon, certaines longueurs d'onde sont absorbées par les molécules constitutives de l'échantillon. Cette absorption est spécifique aux groupes fonctionnels présents dans les molécules, ce qui permet d'identifier les composés chimiques présents (*Bouchoucha, 2017*).

✓ **Protocol et paramètre d'appareillage**

Les formulations (MSN vide, MSN0.25, MSN0.5, MSN0.75), et HEEC ont été analysées structurellement afin de déterminer leurs groupes fonctionnels à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge (FTIR), les données ont été analysées avec le logiciel spectrum.

2.6. Paramètres d'évaluation de système d'encapsulation

2.6.1. Efficacité d'encapsulation

Afin de déterminer cette grandeur, la suspension de nanoparticules a été centrifugée avec une vitesse de 12.000 rpm, pendant 45min à 25C°. Le surnageant est récupéré et dilué 200X dans l'éthanol. L'absorbance par spectrophotomètre UV-Vis est déterminé à 287nm, et pour la concentration d'huile non encapsulée déterminée à partir de la courbe d'étalonnage HECG dans une solution d'éthanol. A partir de ces données, l'efficacité d'encapsulation (EE) est calculée par la formule suivante :

$$EE(\%) = \frac{\text{Quantité de l'HE initiale} - \text{Quantité de l'HE non encapsulé}}{\text{Quantité de HE}} \times 100$$

2.6.2. Taux de chargement

Afin de déterminer cette grandeur, le culot obtenu après centrifugation est séché à l'air libre puis pesé. Le taux de chargement est calculé par la formule suivante :

$$TC (\%) = \frac{\text{Quantité de l'HE initiale} - \text{Quantité de l'HE non encapsulé}}{\text{masse des nanoparticules}} \times 100$$

La longueur d'onde HEEC a été déterminée par une procédure de balayage spectral est une option disponible sur le spectrophotomètre UV-Vis qui génère une courbe spectral représentant l'absorbance en fonction de la longueur d'onde.

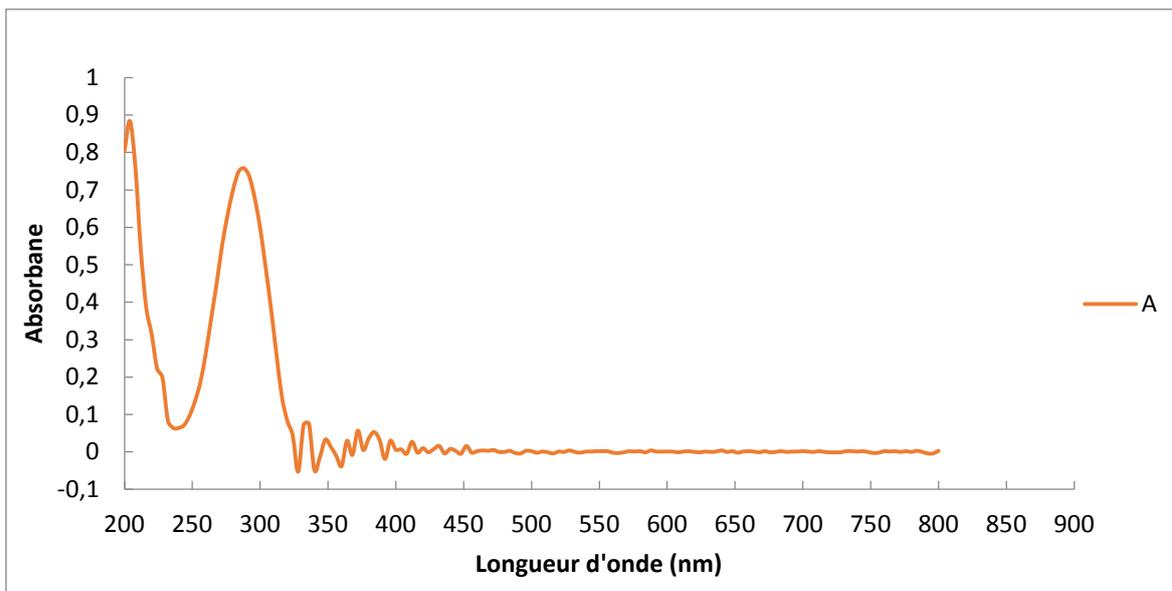


Figure 29. Courbe spectral représentant l'absorbance en fonction de la longueur d'onde pour l'HEEC

La concentration d'HEEC non encapsulée déterminée à partir de la courbe d'étalonnage d'HEEC dans une solution d'éthanol, qui a été établie en mesurant l'absorbance d'une gamme de concentrations connues.

Tableau 8. Absorbance de la solution en fonction de sa concentration

Solution	1	2	3	4	5	6	7
Concentration (mg/ml)	$4 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
Absorbance	0.066	0.153	0.196	0.394	0.780	1.52	1.92

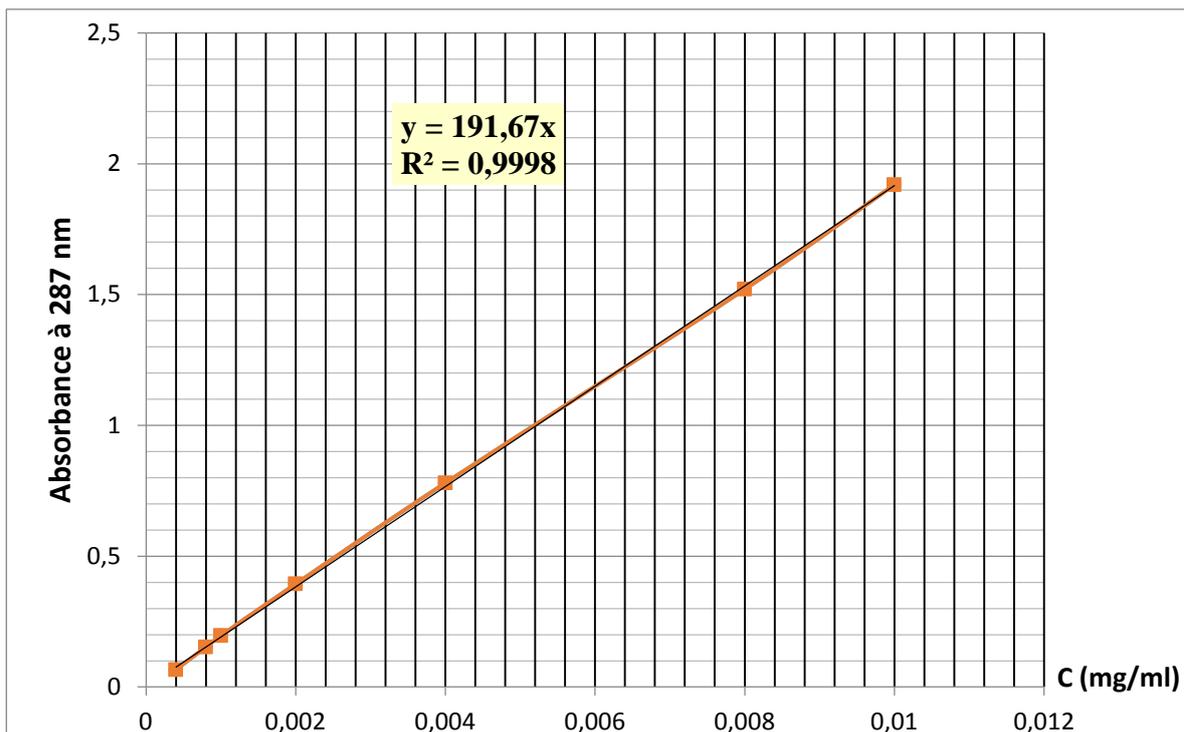


Figure 30. Courbe d'étalonnage de l'HEEC

2.7. Relargage de l'HEEC au cours de temps

Dans cette expérience, l'objectif est de déterminer si l'HEEC est progressivement libérée des nanoporteurs au fil du temps par diffusion à travers une membrane de cellulose (12 KD). Pour cela, une formulation MSN 0.5 a été diluée avec 8 ml de tampon phosphate salin (PBS) après quoi l'échantillon a été placé dans un boudin de dialyse. Ce boudin de dialyse a ensuite été inséré dans des récipients contenant 350 ml de PBS à un pH de 7,7. Le système a été soumis à une agitation constante de 120 rpm à température ambiante pendant 48 heures. Toutes les heures, un volume de 2 ml a été prélevé pour une analyse spectrophotométrique. Il convient de noter que chaque fois qu'un prélèvement était effectué, le volume prélevé était remplacé par du PBS pH 7,7. Le taux de libération est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux de libération (\%)} = \frac{\text{masse d'HEEC libérée}}{\text{masse initiale d'HEEC}}$$

Pour calculer la concentration d'HEEC libéré, nous utilisons l'équation de la courbe d'étalonnage dans la figure 30.

2.8.Étude du pouvoir antiseptique d'HEEC après la nanoencapsulation

2.8.1.Évaluation du pouvoir antibactérien d'HEEC encapsulé

Nous avons appliqué les mêmes étapes du protocole précédent de la technique de diffusion en disque sur milieu gélosé (Muller-Hinton) à base d'aromatogramme, visant à étudier l'effet de l'huile essentielle de cannelle encapsulée sur la souche *S.aureus*.

Un volume de 250 µl a été prélevé de la formulation MSN 0,5 d'HEEC encapsulé avec une concentration de 5%, correspondant à la concentration de la 4ème dilution ; que nous avons précédemment réalisée lors de l'étude de l'HEEC sous sa forme libre, puis deux disques ont été imprégnés de 10 µl de la formulation MSN 0.5 et déposés à la surface de la gélose ensemencé par la suspension bactérienne . D'autres disques chargés de 10 µl de MSN vide sont utilisés comme contrôle négatif, tandis que l'antibiotique (céfotaxime) est un contrôle positif.

2.8.2.Évaluation du pouvoir antifongique d'HEEC encapsulé

Nous avons suivi la même procédure que le protocole précédent pour étudier l'effet de l'HEEC encapsulée sur *Fusarium oxysporum*.

Un volume de 700 µl a été prélevé de la formulation MSN 0,5, et versé dans 100 ml de PDA, ce qui correspond à la concentration précédemment testée de 0,035% d'HEEC libre. De même, 1 ml de MSN vide a été ajouté à 100 ml de milieu PDA comme témoin positif, tandis que le témoin négatif contenait du milieu PDA sans aucun autre additif. Ensuite, Chaque 100 ml de milieu PDA contenant l'HEEC est coulés dans une quatre boîtes de Pétri (répété 4 fois) afin de minimiser l'erreur expérimentale. Un disque de 6 mm de diamètre, à partir d'un tapis mycélien a été placé au centre d'une boîte de Pétri contenant du milieu PDA mélangé avec de l'HEEC encapsulé, les boîtes ont ensuite été placées dans une étuve à 25°C pendant 6 jours.

Chapitre IV:
Résultats et discussion

1. Extraction de l'HEEC

1.1. Détermination de rendement en HE de *Cinnamomum cassia*

Le rendement en huile essentielle est déterminé par rapport à 100 g de poudre d'écorce de *Cinnamomum cassia*, qui a été extraite par hydrodistillation et est calculé par la formule suivante : $R = m/m_0 \times 100$

R : rendement en HE (%).

m : masse en gramme de l'HE.

m₀ : masse en gramme de la matière végétale sèche.

Tableau 9. Le rendement d'huile essentielle de la *Cinnamomum cassia* obtenu par hydrodistillation

Espèce végétal	masse en (g) de la matière végétale sèche	masse en(g) de l'huile essentielle	Rendement (%)	Durée d'extraction
<i>Cinnamomum cassia</i>	100 g	1.7601 g	1.76%	5 h

Le calcul du rendement a montré une rentabilité d'environ 1,76 %, ce qui est proche du rendement obtenu par Karima et al de 1,5 % pour 100 g de *Cinnamomum cassia* avec la même méthode d'extraction (Karima et al., 2014). La différence du rendement de l'huile essentielle est tout à fait normale, puisqu'il dépend de plusieurs facteurs à savoir tels que les conditions de hydrodistillation et sa durée, les impacts environnementaux et biologiques comme les conditions climatiques locales et l'âge physiologique de l'arbre de cannellier, et le mode de préparation de l'écorce (*Lallemand et al., 2000 ; School of Life Sciences and Technology, Institut Teknologi Bandung et al., 2019*).

1.2. Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Cinnamomum cassia*

Après extraction de l'HEEC par la technique d'hydrodistillation, il s'est avéré être une huile liquide, légèrement visqueuse, de couleur jaunâtre pâle, d'odeur puissant, boisée et doux. Les caractéristiques organoleptiques obtenus sont représentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Comparaison entre les caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Cinnamomum cassia* qui l'on obtenu avec d'autres études sur cette huile

Aspect	couleur	Odeur	
liquide mobile claire	jaune à jaune foncé	Épicée	<i>(LES HUILES ESSENTIELLES DE CANNELLIER, s. d.)</i>
liquide légèrement visqueux	jaune à marron clair	épicée Boisé Doux	<i>(Stevens & Allred, 2022)</i>
Liquide légèrement visqueuse	jaune pâle	arôme boisé, doux et puissant	L'HEEC extraite dans notre étude

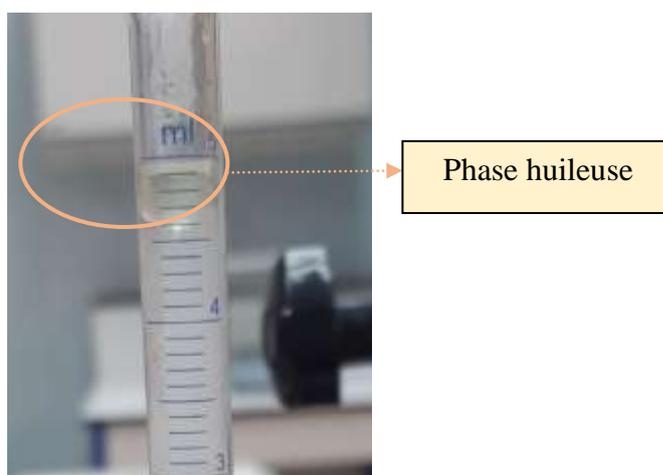


Figure 31. Huile essentielle de *Cinnamomum cassia*

Une comparaison des caractéristiques organoleptiques de notre huile essentielle avec d'autres travaux utilisant la même méthode d'extraction et les mêmes conditions a montré une grande similarité.

2. Évaluation des activités antiseptique

2.1. Activité antibactérienne d'HE de *Cinnamomum cassia*

L'évaluation du pouvoir antibactérien d'HEEC vis-à-vis des deux souches bactériennes : *E. coli* et *S. aureus* a été réalisée in vitro par la technique de diffusion au disque sur milieu gélosé (Muller-Hinton) selon l'approche d'aromatogramme. La figure 32 et la figure 33 montrent l'effet de différentes concentrations d'HEEC sur les deux microorganismes utilisés dans le test.

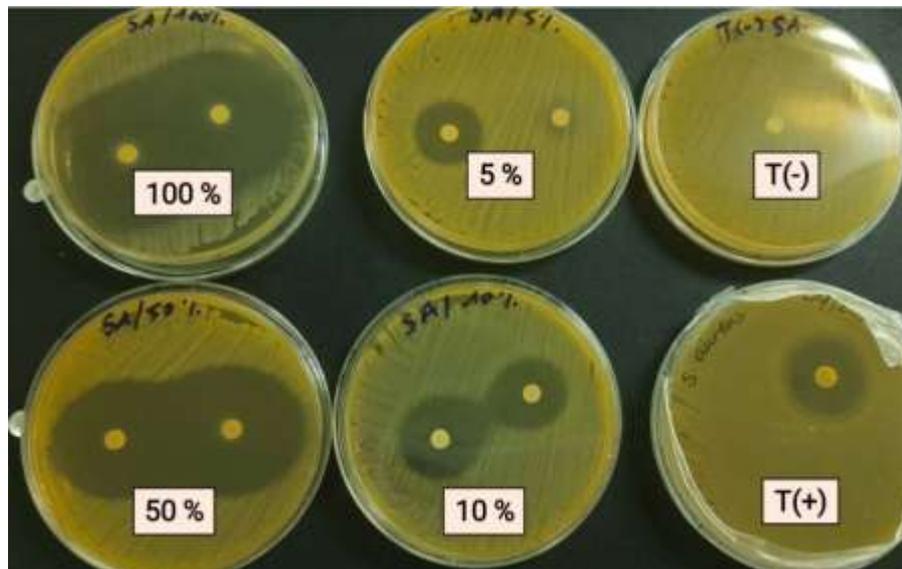


Figure 32. Effet de différentes concentrations d' HEEC contre *S. aureus*

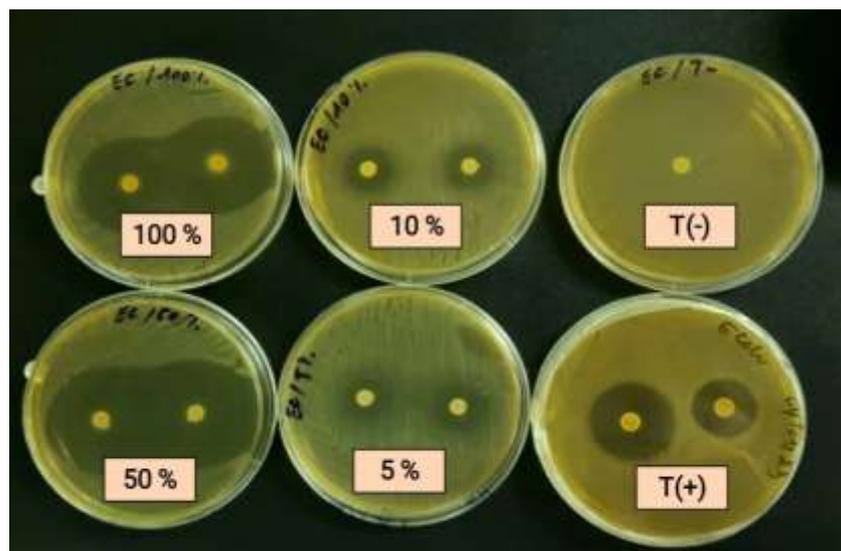


Figure33. Effet de différentes concentrations d' HEEC contre *E.coli*

Les résultats obtenus par mesure des diamètres d'inhibition de la croissance des microorganismes qui représentent la moyenne des diamètres des halos des deux disques, sont reportés dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11. Diamètres d'inhibition en mm induits par différentes concentrations d'HEEC contre *S. aureus*

	Diamètre d'inhibition (mm)					
	T(-)	T(+)	100%	50%	10%	5%
<i>S.aureus</i>	0	24	46	36	24.5	10.5

Tableau 12. Diamètres d'inhibition en mm induits par différentes concentrations d'HEEC contre *E. coli*

	Diamètre d'inhibition (mm)					
	T(-)	T(+)	100%	50%	10%	5%
<i>E.coli</i>	0	28	35.5	39	15.5	14.5

D'après Ponce et al, la sensibilité à l'huile a été classée par le diamètre des halos d'inhibition :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

L'évaluation de la sensibilité des souches bactériennes à l'huile essentielle testée est indiquée des les tableaux 13.

Tableaux 13. Évaluation du degré de sensibilité des souches testées en fonction des diamètres d'inhibition obtenus

	Concentration d'HEEC	Diamètre d'inhibition (mm) d'HEEC	Diamètre d'inhibition (mm) de référence	Évaluation de sensibilité
<i>S. aureus</i>	100%	D= 46	D > 20	extrêmement sensible (+++)
	50%	D=36	D > 20	extrêmement sensible (+++)
	10%	D=24.5	D > 20	extrêmement sensible (+++)
	5%	D=10.5	9 < D < 14	Sensible (+)

	Concentration d'HEEC	Diamètre d'inhibition (mm) d'HEEC	Diamètre d'inhibition (mm) de référence	Évaluation de sensibilité
<i>E.coli</i>	100%	D= 35.5	D > 20	extrêmement sensible (+++)
	50%	D=39	D > 20	extrêmement sensible (+++)
	10%	D=15.5	15 < D < 19	Très sensible (+)
	5%	D=14.5	9 < D < 14	Sensible (+)

D'après les résultats des figures 32 et 33, et les tableaux 11, 12 et 13, il est évident que l'HEEC a un fort effet inhibiteur sur la croissance des deux souches : *E. coli* et *S. aureus*. Les zones d'inhibition pour les concentrations de cette huile à 100% et 50% pour les deux souches dépassent le témoin positif le céfotaxime. De plus, les résultats démontrent que les deux souches étaient extrêmement sensibles à la concentration (100%) d'HEEC pure, et

ont également montré une sensibilité à la plus faible concentration (5%). Notamment, à une concentration 100% (HEEC pur), la souche *S. aureus* Gram+ de diamètre 46mm est plus sensible à cette substance testée qu'*E.coli* de Gram- de diamètre 35.5mm.

Des études ont établi que les propriétés antibactériennes de l'huile d'écorce de cannelle sont principalement dues à son composant majeur, le cinnamaldéhyde, causant ainsi des altérations notables dans la structure des membranes cellulaires des bactéries. Des études ont mentionné qu'une caractéristique primordiale des huiles essentielles est leur nature hydrophobe, qui leur permet d'interagir avec les lipides présents dans les membranes cellulaires bactériennes et les mitochondries, ce qui a pour effet d'augmenter leur perméabilité. Cette augmentation de la perméabilité peut entraîner une fuite importante au niveau des cellules bactériennes et la libération de molécules et d'ions essentiels, ce qui aboutit finalement à la mort des bactéries (*Haddi et al., 2017 ; Calo et al., 2015*).

2.2. Activité antifongique d'HE de *Cinnamomum cassia*

L'évaluation d'efficacité antifongique d'HEEC envers *Fusarium oxysporum*, a été réalisée par la technique d'incorporation de milieu de culture (PDA) à des différentes concentrations avec l'HEEC, suivie de l'inoculation des disques de champignons. Après incubation, les résultats de chaque concentration sont exprimés en pourcentage sous forme de taux d'inhibition (TI%). Les résultats sont montrés dans la figure 34 et les taux d'inhibition sont présentés dans le tableau 14.

Tableau 14. Taux d'inhibition obtenue selon la concentration d'HEEC

La concentration d'HEEC	0.3%	0.15%	0.075%	0.035%
Taux d'inhibition(%)	100%	100%	100%	100%

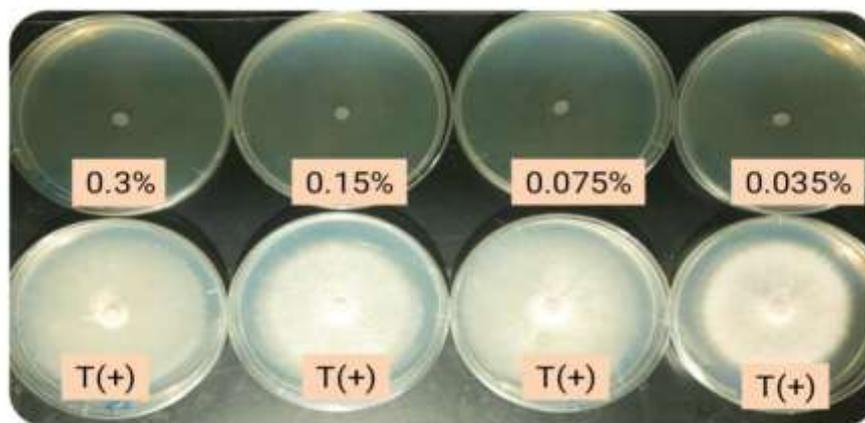


Figure 34. Effet de différentes concentrations d' HECC contre *Fusarium oxysporum*

Sur la base des résultats menés sur *Fusarium oxysporum*, il a été révélé que l'HECC présentait une puissante activité antifongique. Au cours de cette évaluation, il a été remarqué que même à une concentration très faible d'huile (0,035 %), une inhibition totale de la croissance mycélienne était observée. Les études réalisées ont également permis de mettre en évidence que les propriétés antifongiques de l'HECC sont attribuables en grande partie à son composant principal, le cinnamaldéhyde. Le mode d'action de l'huile essentielle de cannelle sur les cellules fongiques a été étudié pour comprendre son effet. Il agit en inhibant la synthèse de l'ergostérol, ce qui entraîne d'importants dommages à la structure de la membrane cellulaire, provoquant ainsi la fuite d'ions et de protéines des cellules. De plus, il perturbe le métabolisme énergétique des champignons, ce qui se traduit par une diminution de l'activité de la déshydrogénase succinate (SDH) et de la malate déshydrogénase (MDH) dans le cycle de l'acide tricarboxylique (cycle TCA) (*Abdalla, 2018*).

3. Synthèse des nanoparticules de silices mésoporeuse

3.1. Aspect des solutions de différentes formulations

Après 24 h d'agitation à 40°C, les formulations obtenues se présentent sous forme des solutions colloïdales. Les formulations chargées en 0.5g, 0.25g, 0.75g d'HECC se distinguent par leur aspect opaque, tandis que les formulations dépourvues d'HECC sont caractérisées par leur transparence légèrement turbide. Les résultats des suspensions obtenus ont représentées dans la figure 35.

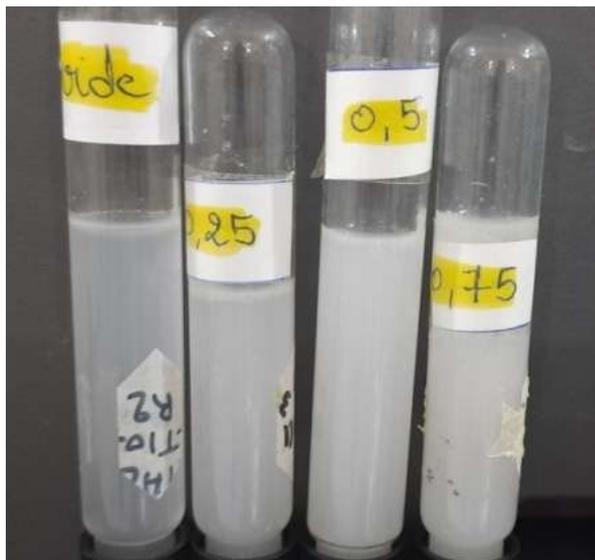


Figure 35. Aspect des solutions de différentes formulations

L'apparence visuelle des solutions colloïdales est influencée par la taille des particules. Lorsque le diamètre des particules est inférieur à 50 nm, les solutions colloïdales sont totalement transparentes, mais elles deviennent complètement opaques lorsque le diamètre des particules dépasse 100 nm (*Aubert, 2011*). Cette variation d'apparence suggère que les nanoparticules vides ont une taille plus petite que celles contenant de l'HE.

Il est observé que les solutions colloïdales de silice mésoporeuse deviennent de plus en plus troubles que la quantité croissante d'HECC chargée en elles. Comme mentionné précédemment, lorsque la taille des nanoparticules dispersées dans la solution plus grand, leur apparence devient plus opaque. Cela constitue une preuve préliminaire que la quantité de substance encapsulée dans les nanoparticules affecte leur taille. En d'autres termes, plus la quantité d'HE n'est élevée, plus la taille des nanoparticules de silice mésoporeuse augmentent.

3.2. Caractérisation des nanoparticules (taille, charge, PDI)

Après avoir mesuré la taille, l'indice de polydispersité et la charge des nanoparticules de silice synthétisées, les résultats sont consignés dans le tableau 15.

Tableau 15. Les résultats des mesures de la taille, du potentiel zêta et de l'indice de polydispersité (PDI) obtenus à l'aide du Nanosizer

Formulation	Taille (nm)	PDI	Potentiel zêta (mV)	pH
Vide	57	0.098	7.2	5.33
MSNP 0.25	73.7	0.112	12.7	5.34
MSNP 0.5	124.7	0.202	29.2	5.00
MSNP 0.75	551.0	0.533	16.1	5.37

3.2.1. La taille des nanoparticules

Les résultats de la caractérisation de la taille des nanoparticules, qu'elles soient vides ou remplies d'huile essentielle, sont représentés dans l'histogramme 36.

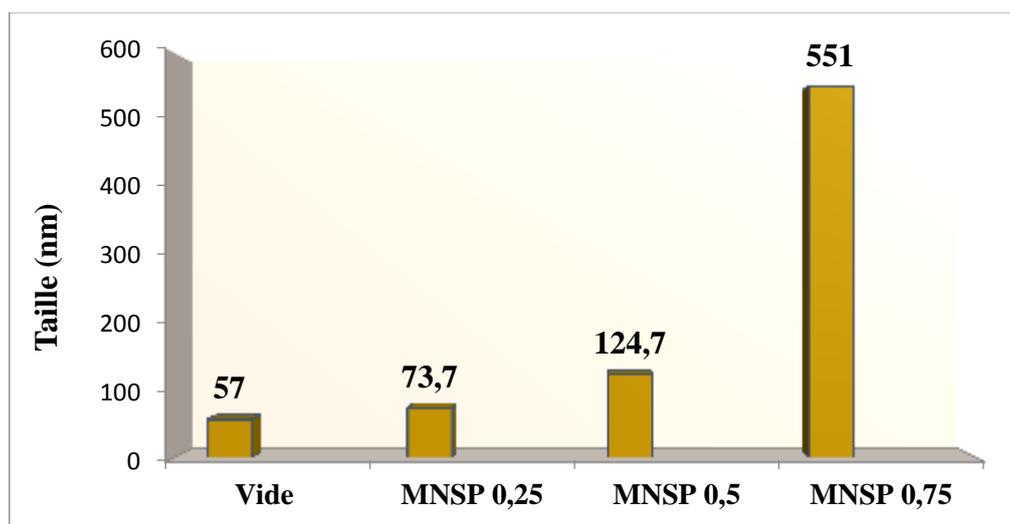


Figure 36. Histogramme de la taille des nanoparticules synthétisées

En se référant aux mesures obtenues grâce au Nanosizer et révélées dans le tableau 15 et dans l'histogramme 36, nous avons constaté que la taille de la formulation sans HEEC était de 57 nm. De manière correspondante, il y eu une augmentation de la taille des nanoparticules dispersées dans la solution colloïdale MSNP 0.25 (73.7 nm), MSNP0.5 (124.7 nm), MSNP0.75 (551.0 nm).

Les formulations contenant de l'HEEC présentaient une relation de corrélation directe entre la quantité d'HEEC chargée dans les particules et leur taille. Ce résultat a confirmé et renforcé la validité de notre première observation sur la corrélation entre la taille des particules et l'aspect des solutions colloïdales.

3.2. 2.L'indice de polydispersité

En ce qui concerne les valeurs de l'indice de polydispersité utilisé pour décrire la distribution granulométrique, qui va de 0 à 1, où une valeur proche de 0 indique une distribution étroite (monodisperse), ce qui signifie que la majorité des particules sont de tailles similaires et proches, tandis qu'une valeur proche de 1 indique une distribution large (polydisperse) signifie qu'il existe une grande variation de la taille des particules (Danaei et al., 2018). Les compositions MSN vide, MSN 0,25, MSN 0,5 et MSN 0,75 présentent des valeurs de PDI proches de zéro, ce qui suggère que la taille des particules dans la solution colloïdale est similaire et homogène.

3.2.3.Charge de surface

Le potentiel zêta est un paramètre utilisé pour évaluer la stabilité des systèmes colloïdaux. Les résultats présentés dans le tableau 15 montrent que le potentiel zêta des nanoparticules de silice pour les formulations varie de **7,2 mV à 29,2 mV**, et selon les études bibliographiques (Lammari, 2021), les systèmes colloïdaux ayant un potentiel zêta inférieur à 30 mV sont considérés comme des systèmes de faible stabilité. On note également que le potentiel zêta des particules de silice chargées positivement peut être dû aux groupements silanol présents à la surface des nanoparticules. Ces groupements silanol sont des groupements fonctionnels constitués d'un atome de silicium lié à un groupement hydroxyle (Si-OH). La charge des groupes silanol dépend de l'environnement chimique et des conditions expérimentales. Dans notre étude, toutes les solutions colloïdales avaient un pH compris entre 5 et 5,37, indiquant qu'elles étaient acides. Dans les solutions à pH acide, les groupes silanol peuvent être protonés, c'est-à-dire qu'ils peuvent gagner un proton (H^+) et former des groupes silanol chargés positivement ($SiOH_2^+$).

4. Paramètres d'évaluation de système d'encapsulation

4.1. Efficacité d'encapsulation (EE) :

L'efficacité d'encapsulation est un critère important pour évaluer la capacité d'un système d'encapsulation à retenir efficacement l'HECC. Les résultats de l'efficacité d'encapsulation pour les formulations (**MSNP 0.25**, **MSNP 0.5**, **MSNP 0.75**) ont été calculés et présentés dans le tableau 16 et ces résultats ont également été traduits sous forme d'histogramme dans la figure 37.

Tableau 16. Les résultats du calcul de l'efficacité de l'encapsulation

Formulation	MSNP 0.25	MSNP 0.5	MSNP 0.75
EE (%)	93.61%	96.46%	97.69%

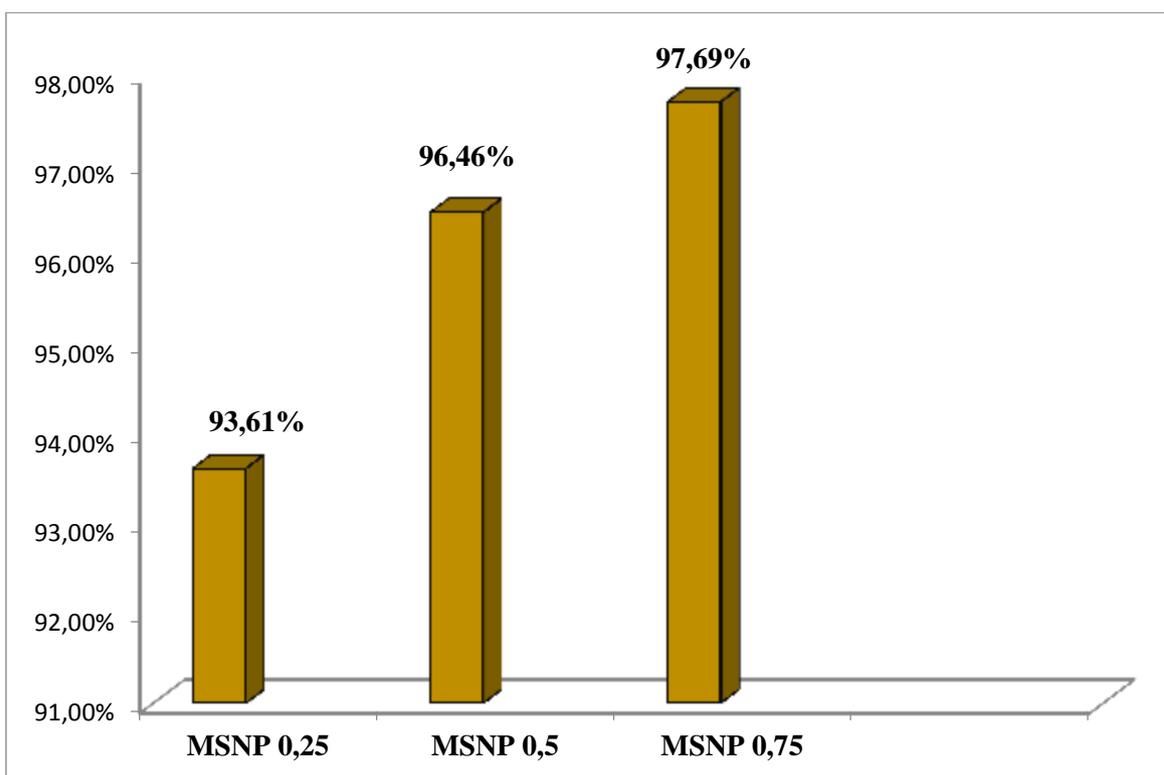


Figure37. Histogramme d'efficacité d'encapsulation pour les formulations synthétisées

Les résultats obtenus des taux d'encapsulation élevés et assez proches pour toutes les formulations, variant de 93,61% à 97,69%. Cela suggère que notre système est efficace

pour emprisonner les gouttelettes d'huile à l'intérieur des nanoparticules de silice mésoporeuse.

4.2. Taux de chargement (TC) :

Le taux de chargement est un critère important pour évaluer la quantité d'HECC qui incorporée et retenue avec succès dans le système d'encapsulation. Les résultats de taux de chargement pour les formulations (**MSNP 0.25**, **MSNP 0.5**, **MSNP 0.75**) ont été calculés et présentés dans le tableau 17 et ces résultats ont également été traduits sous forme d'histogramme dans la figure38

Tableau 17. Les résultats du calcul de taux de chargement

Formulation	MSNP 0.25	MSNP 0.5	MSNP 0.75
DL (%)	78.01%	80.38%	81.41%

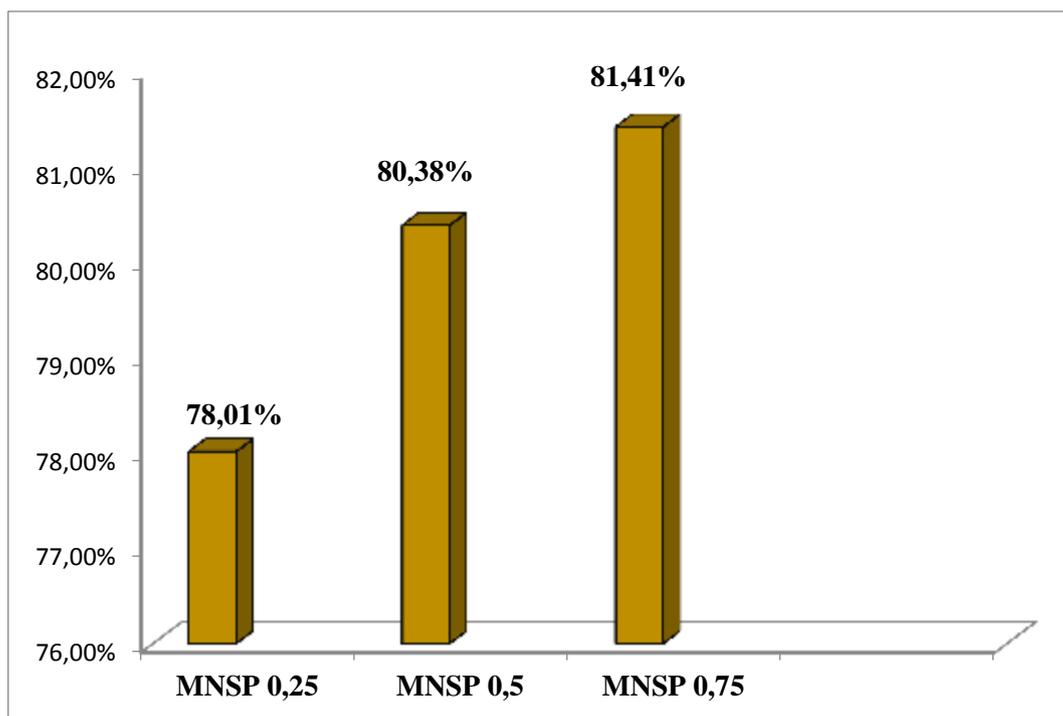


Figure 38. Histogramme de taux de chargement pour les formulations synthétisées

Les résultats des taux de chargement sont cohérents avec ceux de l'efficacité d'encapsulation, avec une variation de **78.01% à 81,41%**. Ces chiffres soulignent l'aptitude des nanoparticules de silice mésoporeuse à incorporer efficacement l'HECC.

5. Analyse des groupes fonctionnels de surface des formulations synthétisées

A l'aide de la spectroscopie infrarouge ; les groupes fonctionnels ont été déterminés pour l'HEEC libre, les NPs de silice vides et chargées pour les formulations MSN 0.25, MSN 0.5, MSN 0.75. Les résultats sont montrés dans les figures 39, 40 et 41.

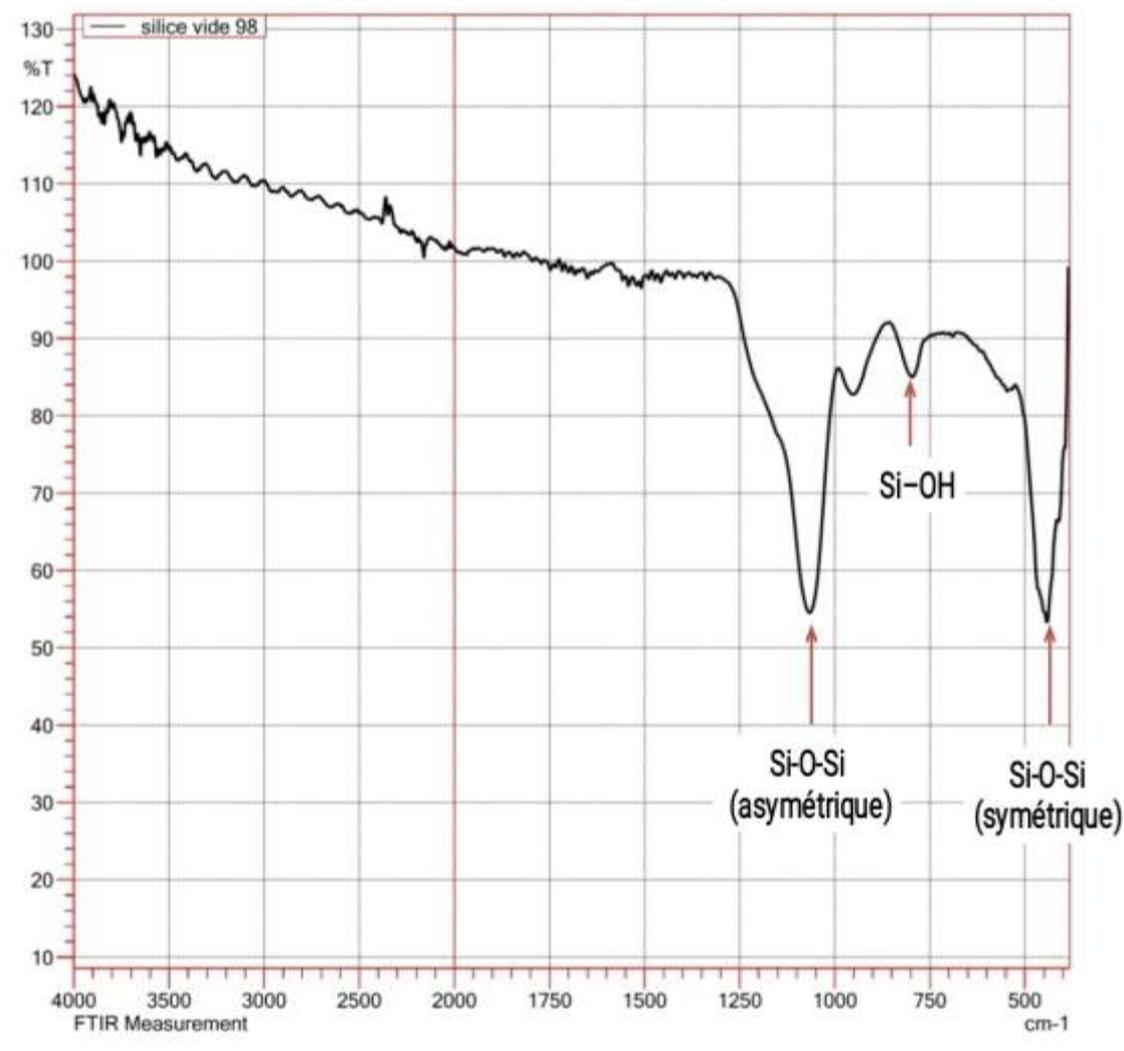


Figure 39. Spectre FTIR de la formulation vide

Le spectre FTIR de la formulation vide montre deux bandes d'absorption significatives, dans lequel le pic d'absorption situé entre 400 et 500 cm^{-1} pouvant être lié à la vibration de

l'étirement **symétrique** des groupes **siloxane (Si-O-Si)**. Tandis que le pic d'absorption situé entre 1000 et 1200 cm^{-1} peut être attribué à la vibration de l'étirement **asymétrique** des groupes **siloxane (Si-O-Si)**. En outre, le pic correspondant à 800 cm^{-1} peut être lié à la vibration de déformation angulaire des liaisons **(Si-OH)** ce qui suggère la présence de groupe hydroxyle sur la surface de la silice mésoporeuse (*Rovani et al., 2019*).

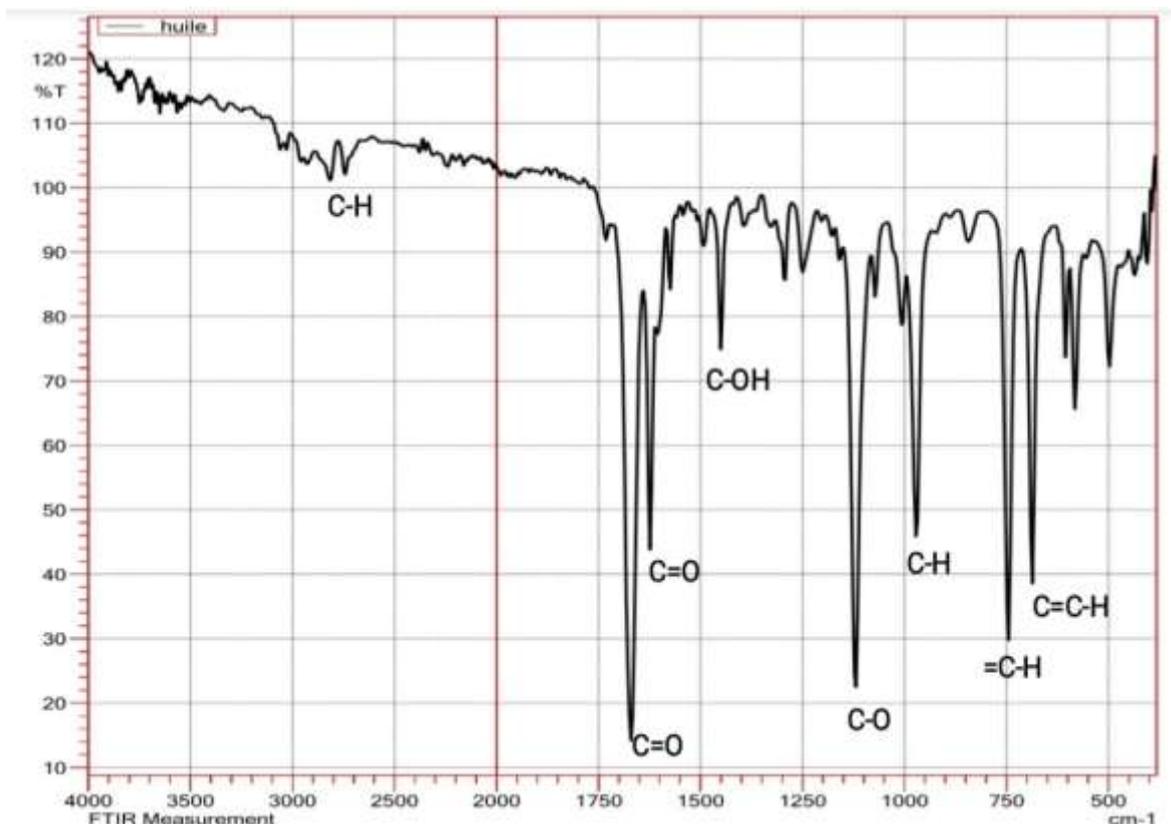


Figure 40. Spectre FTIR de l'HEEC libre

L'observation générale du spectre FTIR pour l'HEEC permet d'observer un nombre relativement important de bandes d'absorption ; dans lequel la partie du spectre allant de 2550 à 2950 cm^{-1} est constituée de deux pics qui définissent la liaison **C-H** des **alcanes**. Tandis que les deux pics de différentes amplitudes allant de 1600 à 1700 cm^{-1} correspondent à la liaison **C = O** des **aldéhydes** qui sont servent les pics principaux correspondant au cinnamaldéhyde et ses dérivés (majeurs composants de l'HEEC). De plus, le pic n'entre 1400 et 1475 cm^{-1} exprime la liaison **C-OH** des **alcools**, et le pic correspondant à 1124 cm^{-1} est attribué aux liaisons **C-O** des **éthers, acides** et **alcools**. Et aussi, les pics entre 950 et 1000 cm^{-1} sont caractéristiques du **C-H** des **alcanes**, alors que,

les pics à 750 cm^{-1} et 682 cm^{-1} respectivement sont attribués aux liaisons = **C-OH** pour le benzène et **C = C-H** pour les alcènes (Medjani & Maguemoun, 2017).

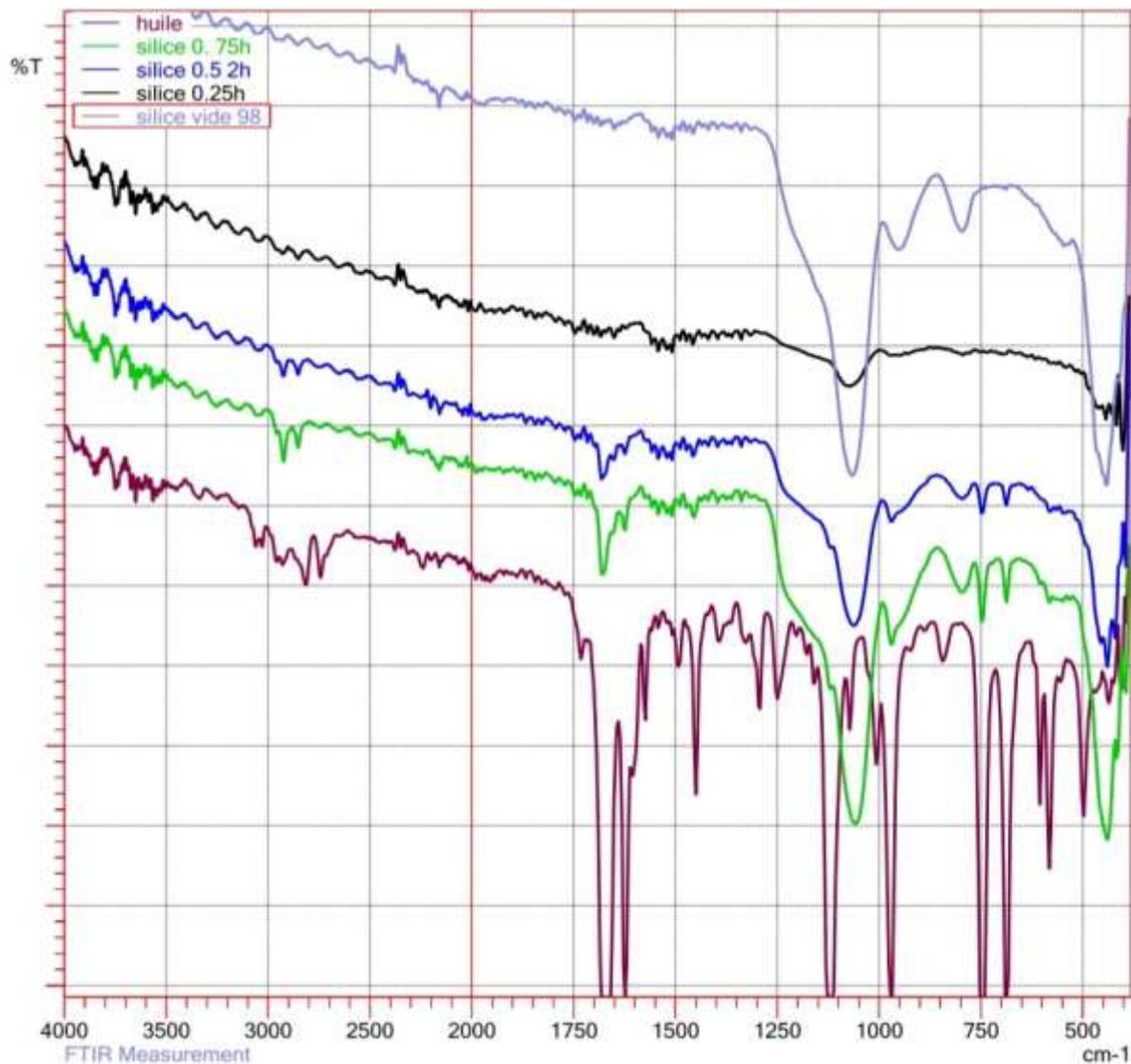


Figure 41. Spectre FTIR des formulations chargées en HEEC

La figure 41 présente les résultats du spectre FTIR des formulations chargées en HEEC (MSN 0,25, MSN 0,5, MSN 0,75) en comparaison avec les bandes d'absorption de la silice mésoporeuse vide et avec les bandes d'absorption de l'HEEC libre. Les observations révèlent que les formulations chargées en HEEC contiennent les caractéristiques des nanoparticules de silice, représentées par les groupes Si-O-Si et Si-OH, et de plus, elles présentent également des liaisons d'HEEC, ce qui confirme sans équivoque la présence d'HEEC à l'intérieur des pores des nanoparticules de silice.

6. Relargage de l'HEEC au cours de temps

Les résultats de la libération de l'HECC des NPs de silice mésoporeuse après un suivi de 48 heures sont rapportés dans la figure 42.

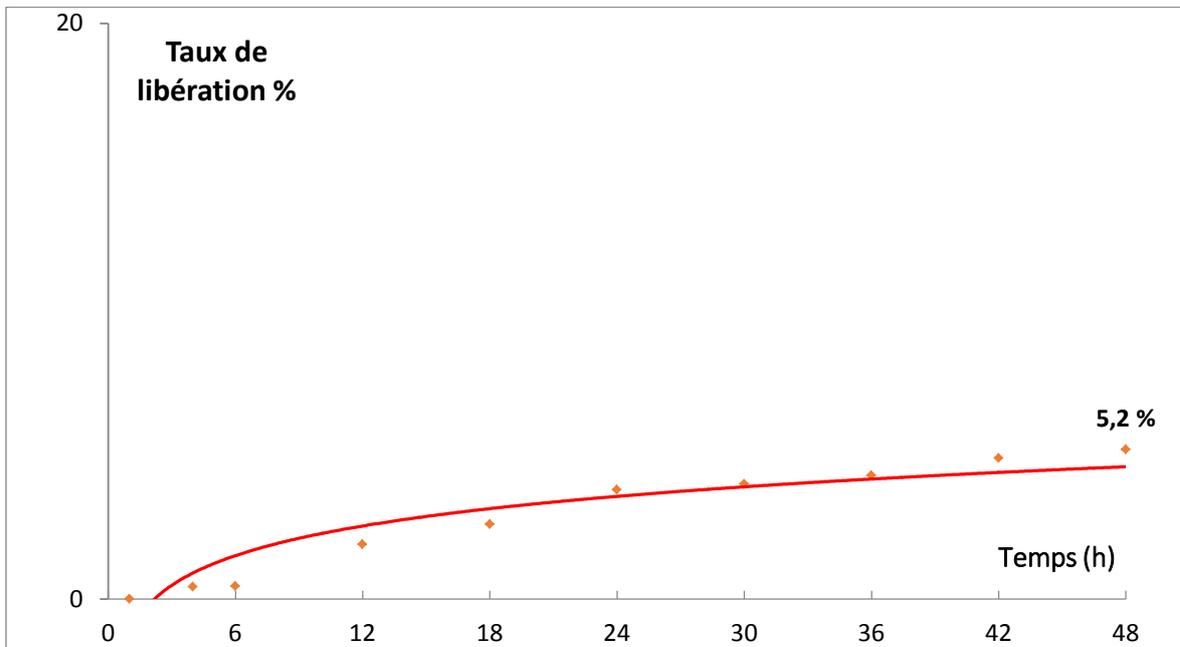


Figure 42. Courbe de libération d'HEEC encapsulé

D'après les informations fournies dans la figure 42, le taux de libération maximale d'HEEC pendant la période de 48 h était de **5,2 %**. Cette observation suggère que l'HEEC était fortement retenue dans des nanoparticules de silice, ce qui entraîne une libération très lente avec un taux très faible.

7. Pouvoir antiseptique d'HECC encapsulé

7.1. Pouvoir antibactérien d'HECC encapsulé

L'évaluation du pouvoir antibactérien d'HEEC encapsulé issu de la formulation MSNP **0.5** vis-à-vis de la souche bactérienne *S. aureus* a été réalisée in vitro par la technique de diffusion au disque sur milieu gélosé (Muller-Hinton) selon l'approche d'aromatogramme. Les résultats sont indiqués dans la figure 43.



Figure 43. Effet d'HEEC encapsulé sur la souche *S. aureus*

Les résultats obtenus ont démontré que, suite à une incubation de 24 heures, l'HEEC encapsulée ainsi que les NPs de silice vides testées contre *S. aureus* n'ont présenté aucune activité antibactérienne. Cette observation peut être attribuée à l'emprisonnement des HECC par la silice mésoporeuse, ce qui limite leur diffusion vers la bactérie. De plus, l'utilisation de la courbe de libération dans la figure 42 a révélé une libération lente et faible de l'HEEC à partir des NPs de silice, suggérant qu'une quantité insuffisante de substance active a été libérée, ce qui explique l'absence d'effet antibactérien.

7.2. Pouvoir antifongique d'HECC encapsulé

L'évaluation de l'activité antifongique du composé HECC encapsulé issu de la formulation MSNP 0,5 contre *Fusarium oxysporum*, a donné les résultats montrés dans la figure 44.

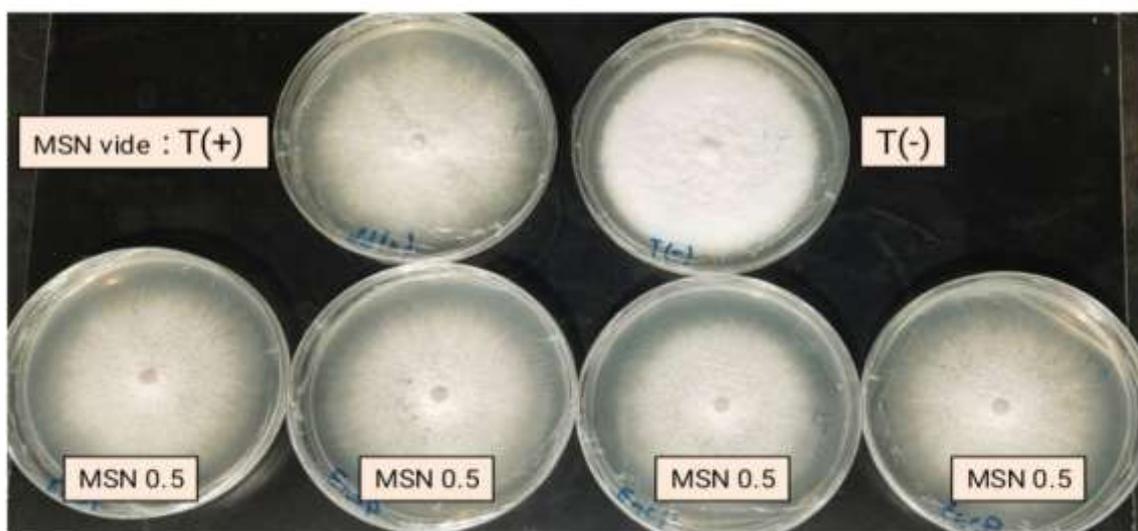


Figure 44. Effet d'HEEC encapsulé sur la souche *Fusarium oxysporum*

Les résultats ont révélé que, suite à une période d'incubation de 6 jours, les nanoparticules de silice vides et chargées d'HEEC testées contre *Fusarium oxysporum* n'ont démontré aucune activité inhibitrice de la croissance fongique. Cette constatation peut être expliquée par la forte rétention des agents actifs par la silice mésoporeuse, ou n'étant pas relargués en concentration suffisante dans le milieu de culture, ce qui a conduit à la croissance du champignon.

Conclusion générale

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer la faisabilité de l'encapsulation de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* en tant qu'agent bioactif dans des nanoparticules de silice mésoporeuse, en utilisant la méthode sol-gel en miniémulsion.

La mise en place de ce projet implique la réalisation de plusieurs phases successives, pouvant être subdivisées en étapes spécifiques et étudiées. La première étape a été consacrée à l'extraction de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* par hydrodistillation, ce qui a abouti à un rendement satisfaisant de 1,76% pour 100 g de poudre végétale. Par la suite, le pouvoir antiseptique de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* a été évaluée ; et qui a révélée une forte efficacité contre les souches bactériennes *E. coli* et *S. aureus*, ainsi que contre le champignon *Fusarium oxysporum*.

En ce qui concerne la deuxième étape, qui constitue la visée principal, il s'agit de la préparation de trois formulations des NPs de silice mésoporeuse chargées de quantités croissantes d'HEEC. L'approche sol-gel en miniémulsion s'est avérée performant pour la création de ces nanoporteurs, car l'efficacité d'encapsulation a atteint des taux compris entre 93,61% et 97,69%, tandis que le taux de chargement de l'HEEC a atteint des valeurs comprennent entre 78,01% et 81,41% pour toutes les formulations. Par la suite, le diamètre hydrodynamique des nanosystèmes synthétisés a été évalué et a été constaté qu'il était inférieur à 600 nm ($d_h < 600$ nm), et la taille des nanoparticules de silice était également associée à la quantité d'huile chargée à l'intérieur. De surcroit, l'indice de polydispersité (PDI) proche de 0 a été obtenu, ce qui indique une monodispersée des nanoparticules dans la solution colloïdale. D'autre part, la stabilité des suspensions colloïdales a été évaluée en mesurant la charge de surface des nanoparticules, en la valeur maximale mesurée était de 29,2 inférieurs à 30 mV, suggérant des systèmes faiblement stables en raison des conditions expérimentales. En supplément, Par le biais de spectre FTIR, les groupes fonctionnels caractéristiques des nanoparticules de silice ont été identifiés, où ils sont représentés par des groupes silanol et siloxane.

Dans la troisième et dernière étape, la finalité était d'examiner la possibilité de libérer l'HEEC encapsulée à partir des nanoparticules de silice mésoporeuse dans lequel le taux de libération obtenu était extrêmement faible, atteignant seulement 5,2% sur une période de 48 heures. Par ailleurs, dans le cadre de l'étude de dégagement d'HEEC encapsulée, son

capacité antiseptique a été réévaluée à l'égard des microorganismes, mais aucun pouvoir bactérien ou fongique important n'a été observée, confirmant ainsi les résultats précédents montrant une faible libération de substance emprisonné.

En raison de contraintes de temps, nous n'avons pas pu compléter les autres expériences prévus, tels que le suivi cinétique de la libération en modifiant le pH de PBS, la fonctionnalisation de surface des nanoparticules par greffage de groupes amines en utilisant des précurseurs APTES, et la caractérisation morphologique des nanoparticules de silice mésoporeuse par microscopie électronique à balayage (MEB).

Dans la perspective de ce projet, il est possible d'améliorer les inconvénients et les limitations liés à la stabilité colloïdale, au relargage et à la fonctionnalisation de surface des nanoparticules de silice chargées d'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*. Cela permettrait d'utiliser ces nanoparticules comme système de vectorisation avec une libération contrôlée et un ciblage élevé, en particulier dans le domaine agricole en tant que fongicide naturel contre *Fusarium oxysporum*, un phytopathogène qui cause des dommages aux cultures de tomates. De plus, ces nanoparticules pourraient également être utilisées dans le domaine de la sécurité alimentaire en tant que conservateur pour les viandes contre les bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Références bibliographiques

A

- Abdalla, W. (2018).** Antibacterial and antifungal effect of cinnamon. *Microbiology Research Journal International*, 23(6), 1-8.
- Albuquerque, P. M., Azevedo, S. G., de Andrade, C. P., D'Ambros, N. C. de S., Pérez, M. T. M., & Manzato, L. (2022).** Biotechnological Applications of Nanoencapsulated Essential Oils : A Review. *Polymers*, 14(24).
- Al-Samydai, A., Al-Mamoori, F., Shehadeh, M., & Hudaib, M. (2018).** Anti-diabetic activity of cinnamon : A review. *International Research Journal of Pharmacy and Medical Sciences*, 1(5), 43-45.
- Atmanto, D. (2019).** Influence of the Addition of the Essential Oil of Cinnamon (*Cinnamomum burmanii*) in Soap Against Skin Care. *KnE Social Sciences*, 587-595.
- Aubert, T. (2011).** *Nanoparticules de silice fonctionnelles à base de cluster d'éléments de transition* [PhD Thesis]. Université Rennes 1.
- Aubert, T. (2011).** *Nanoparticules de silice fonctionnelles à base de cluster d'éléments de transition* [PhD Thesis]. Université Rennes 1.
- Aziz, Z. A., Ahmad, A., Setapar, S. H. M., Karakucuk, A., Azim, M. M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M. A., & Ashraf, G. M. (2018).** Essential oils : Extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. *Current drug metabolism*, 19(13), 1100-1110.

B

- Barbé, C. J., Kong, L., Finnie, K. S., Calleja, S., Hanna, J. V., Drabarek, E., Cassidy, D. T., & Blackford, M. G. (2008).** Sol-gel matrices for controlled release : From macro to nano using emulsion polymerisation. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 46, 393-409.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2009).** *Handbook of essential oils : Science, technology, and applications*. CRC press.
- Bastenx, A. (2022).** Utilisation de la nanotechnologie Dans le développement d'engrais organiques et de pesticides. *International Journal of Science and Society*, 4(4), 173-182.
- Bayda, S., Hadla, M., Palazzolo, S., Riello, P., Corona, G., Toffoli, G., & Rizzolio, F. (2018).** Inorganic nanoparticles for cancer therapy: A transition from lab to clinic. *Current medicinal chemistry*, 25(34), 4269-4303.
- Benamor, T. (2011).** *Synthèse et caractérisation de silices mésoporeuses hydrophobes à porosité contrôlée* [PhD Thesis]. Mulhouse.
- Berger, R. G. (2007).** *Flavours and fragrances : Chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer Science & Business Media.
- Bernard, T., Perineau, F., Bravo, R., Delmas, M., & Gaset, A. (1988).** Extraction des huiles essentielles : Chimie et technologie. *Informations chimie (Paris)*, 298, 179-184.
- Bharti, C., Nagaich, U., Pal, A. K., & Gulati, N. (2015).** Mesoporous silica nanoparticles in target drug delivery system : A review. *International journal of pharmaceutical investigation*, 5(3), 124.
- Bouchoucha, M. (2017).** *Développement de nanoparticules de silice mésoporeuse multifonctionnelles : Synthèse, caractérisation et applications biomédicales* [PhD Thesis]. Université Laval.

Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D., Manresa, A., & Zhiri, A. (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : Pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de Pharmacie Clinique*, 31(3), 141-148.

Bousbia, N. (2011). *Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires* [PhD Thesis]. Université d'Avignon.

Bravo Cadena, M., Preston, G. M., Van der Hoorn, R. A. L., Townley, H. E., & Thompson, I. P. (2018). Species-specific antimicrobial activity of essential oils and enhancement by encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. *Industrial Crops and Products*, 122, 582-590.

Bruneton, J. (1993). *Pharmacognosie : Phytochimie plantes médicinales*.

C

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.

Cao, L., Zhang, H., Cao, C., Zhang, J., Li, F., & Huang, Q. (2016). Quaternized chitosan-capped mesoporous silica nanoparticles as nanocarriers for controlled pesticide release. *Nanomaterials*, 6(7), 126.

Cao, Z., Xu, C., Ding, X., Zhu, S., Chen, H., & Qi, D. (2015). Synthesis of fragrance/silica nanocapsules through a sol-gel process in miniemulsions and their application as aromatic finishing agents. *Colloid and Polymer Science*, 293, 1129-1139.

Carson, C. F., & Hammer, K. A. (2011). Chemistry and bioactivity of essential oils. *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*, 203-238.

Caruso, F. (2010). *Modern techniques for nano-and microreactors/-reactions* (Vol. 229). Springer.

- Chaud, M., Souto, E. B., Zielinska, A., Severino, P., Batain, F., Oliveira-Junior, J., & Alves, T. (2021).** Nanopesticides in agriculture : Benefits and challenge in agricultural productivity, toxicological risks to human health and environment. *Toxics*, 9(6), 131.
- Clogston, J. D., & Patri, A. K. (2011).** Zeta potential measurement. *Characterization of nanoparticles intended for drug delivery*, 63-70.
- Couic-Marinier, F., & Lobstein, A. (2013).** Composition chimique des huiles essentielles. *Actualités pharmaceutiques*, 52(525), 22-25.
- Couvreur, P. (2021).** Chapitre 6: Les nanomédicaments: une approche intelligente pour le traitement des maladies sévères. In *La chimie et la santé* (p. 105-124). EDP Sciences.
- D
- Danaei, M., Dehghankhold, M., Ataei, S., Hasanzadeh Davarani, F., Javanmard, R., Dokhani, A., Khorasani, S., & Mozafari, M. R. (2018).** Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10(2), 57.
- Das, S., & Wong, A. B. (2020).** Stabilization of ferulic acid in topical gel formulation via nanoencapsulation and pH optimization. *Scientific Reports*, 10(1), 1-18.
- De, M., Ghosh, P. S., & Rotello, V. M. (2008).** Applications of nanoparticles in biology. *Advanced Materials*, 20(22), 4225-4241.
- De, R., Mahata, M. K., & Kim, K.-T. (2022).** Structure-Based Varieties of Polymeric Nanocarriers and Influences of Their Physicochemical Properties on Drug Delivery Profiles. *Advanced Science*, 9(10), 2105373.
- Dennis, C., & Webster, J. (1971).** Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma : III. Hyphal interaction. *Transactions of the British Mycological Society*, 57(3), 363-IN2.
- Desclaux, S., Baylac, V., & Bouvier, V. (s. d.).** *Nanosizer ZS90, MALVERN Instruments S.A.*

Desmares, C., Laurent, A., & Delerme, C. (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles : Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits

cosmétiques contenant des huiles essentielles. *Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France.*

Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines, 3(4), 25.*

Duclairoir, C. (2000). Encapsulation and industrial applications; Encapsulation et applications industrielles. *Actualite Chimique.*

E

Edet, F. (2004). *La cannelle de Ceylan et ses activités biologiques* [PhD Thesis]. Thèse de doctorat. Université.

Elaloui, E., & Pajonk, G. M. (2000). Synthèse sol-gel : Application à la silice. *J Société Chimique Tunisie, 4, 607.*

F

Fabela-Morón, M. F., Pérez-Ruíz, R. V., Ruíz-Hernández, R., Arce-Vázquez, M. B., Aguilar-Toalá, J. E., Jiménez-Guzmán, J., & García-Garibay, J. M. (2022). Encapsulation of bioactive compounds of food interest: Applications, current advances, challenges, and opportunities. *Agro Productividad.*

Ferjaoui, Z. (2020). *Synthèse et caractérisation de nanoparticules magnétiques répondantes pour des applications en thérapie cancéreuse* [PhD Thesis]. Université de Lorraine.

Fometu, S., Shittu, S., Herman, R., & Ayepa, E. (2019). *Essential Oils and their applications-A mini review. 4*, 1-13.

H

Haddi, K., Faroni, L. R., & Oliveira, E. E. (2017). Cinnamon oil. In *Green pesticides handbook* (p. 117-150). CRC Press.

HADDOUCHI, F., & BENMANSOUR, A. (2008). Huiles essentielles, obtentions, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 3(8).

J

Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. *Université de Lorraine, Nancy*.

K

Kale, S. N., & Deore, S. L. (2017). Emulsion micro emulsion and nano emulsion : A review. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 8(1), 39.

Kalemba, D., & Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, 10(10), 813-829.

Kankala, R. K., Han, Y.-H., Na, J., Lee, C.-H., Sun, Z., Wang, S.-B., Kimura, T., Ok, Y. S., Yamauchi, Y., & Chen, A.-Z. (2020). Nanoarchitected structure and surface biofunctionality of mesoporous silica nanoparticles. *Advanced materials*, 32(23), 1907035.

Karima, B., Aicha, T., & Belabid, L. (2014). Efficacité de l'huile essentielle de la cannelle (Cinnamomum cassia) sur des champignons phytopathogènes. *PhytoChem & BioSub Journal*, 8, 214-220.

L

Lallemand, H., Pirot, N., Dornier, M., & Reynes, M. (2000). La cannelle : Historique, production et principales caractéristiques. *Fruits*, 55(6), 421-432.

Lammari, N. (2021). *Nanoencapsulation des huiles des plantes extraites par CO2 supercritique pour des applications pharmaceutiques* [PhD Thesis]. Université de Lyon.

Le Priol, L. (2019). *Étude de la co-encapsulation d'huiles alimentaires oxydables et d'antioxydants phénoliques* [PhD Thesis]. Université de Technologie de Compiègne.

Leal-Calderon, F., Schmitt, V., & Bibette, J. (2007). *Emulsion Science : Basic Principles*. Springer Science & Business Media.

LES HUILES ESSENTIELLES DE CANNELLIER. (s. d.).

Leybros, J., & Frémeaux, P. (1990). Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, 2, J2780-1.

Lucchesi, M.-E. (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles* [PhD Thesis]. Université de la Réunion.

M

Mainard, M., & Jacob, D. (2016). Comprendre. La mesure de taille de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière. *Photoniques*, 83, 40-44.

Manzano, M., & Vallet-Regí, M. (2020). Mesoporous Silica Nanoparticles for Drug Delivery. *Advanced Functional Materials*, 30(2), 1902634.

- Margaris, N. S., Koedam, A., & Vokou, D. (1982).** *Aromatic Plants : Basic and Applied Aspects : Proceedings of an International Symposium on Aromatic Plants.* Springer Science & Business Media.
- McNeil, S. E. (2005).** Nanotechnology for the biologist. *Journal of Leukocyte Biology*, 78(3), 585-594.
- Medjani, C., & Maguemoun, K. (2017).** *Extraction, analyse et évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle essentielle de la cannelle de chine* [PhD Thesis]. UMMTO.
- Melendez-Rodriguez, B., Figueroa-Lopez, K. J., Bernardos, A., Martínez-Máñez, R., Cabedo, L., Torres-Giner, S., & M. Lagaron, J. (2019).** Electrospun antimicrobial films of poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) containing eugenol essential oil encapsulated in mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials*, 9(2), 227.
- Milpied-Homsy, B. (2002).** Le point sur les tensioactifs. *GERDA-Progrès en dermato-allergologie*, 8, 65-71.
- Mitchell, M. J., Billingsley, M. M., Haley, R. M., Wechsler, M. E., Peppas, N. A., & Langer, R. (2021).** Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 20(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
- Mohanraj, V. J., & Chen, Y. (2006).** Nanoparticles—A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v5i1.14634>
- Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005).** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 565-570.

Ngwuluka, N. C., Abu-Thabit, N. Y., Uwaezuoke, O. J., Erebor, J. O., Ilomuanya, M. O., Mohamed, R. R., Soliman, S. M. A., Elella, M. H. A., & Ebrahim, N. A. A. (2020). Natural Polymers in Micro- and Nanoencapsulation for Therapeutic and Diagnostic Applications : Part I: Lipids and Fabrication Techniques. In *Nano- and Microencapsulation—Techniques and Applications*. IntechOpen.

Nile, S. H., Baskar, V., Selvaraj, D., Nile, A., Xiao, J., & Kai, G. (2020). Nanotechnologies in food science : Applications, recent trends, and future perspectives. *Nano-micro letters*, *12*, 1-34.

Nuruzzaman, M. D., Rahman, M. M., Liu, Y., & Naidu, R. (2016). Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides : A new window for safe application. *Journal of agricultural and food chemistry*, *64*(7), 1447-1483.

P

Pal, N., Lee, J.-H., & Cho, E.-B. (2020). Recent trends in morphology-controlled synthesis and application of mesoporous silica nanoparticles. *Nanomaterials*, *10*(11), 2122.

Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., & Lorenzo, J. **M. (2021).** Nanoencapsulation of promising bioactive compounds to improve their absorption, stability, functionality and the appearance of the final food products. *Molecules*, *26*(6), 1547.

Paul, I. (2001). Encyclopédie des plantes médicinales, Ed. *Larousse-Bordas Paris*, *14*.

Pavoni, L., Perinelli, D. R., Bonacucina, G., Cespi, M., & Palmieri, G. F. (2020). An Overview of Micro- and Nanoemulsions as Vehicles for Essential Oils : Formulation, Preparation and Stability. *Nanomaterials*, *10*(1), Article 1.

Plaza Oliver, M., Santander-Ortega, M., & Lozano, M. (2021). Current approaches in lipid-based nanocarriers for oral drug delivery. *Drug Delivery and Translational Research*, 11.

Q

Qiu, K., Durham, P. G., & Anselmo, A. C. (2018). Inorganic nanoparticles and the microbiome. *Nano Research*, 11, 4936-4954.

R

Radhakrishnan, V. V., Madhusoodhan, K. J., & Kuruvilla, K. M. (1992). Cinnamon-the spicy bark. *Spice india*, 5(4), 12-13.

Rambaran, T. F. (2020). Nanopolyphenols: A review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1335.

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

Ravindran, P. N., Nirmal-Babu, K., & Shylaja, M. (2003). *Cinnamon and cassia: The genus Cinnamomum*. CRC press.

Reculeau-Arnoud, X. (s. d.). *HIPPOCRATUS – PRIMUM NON NOCERE*.

Rehman, R., Hanifand, M., Mushtaq, Z., Mochona, B., & Qi, X. (2016). “Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants”. *Natural Products Chemistry and Research*, 04, 227.

Rico-Lattes, I. (2007). En route vers de nouveaux médicaments auto-organisés dans l’eau. *Actual. Chim*, 305.

Risch, S. J. (1995). *Encapsulation: Overview of uses and techniques*.

Rovani, S., Santos, J. J., Corio, P., & Fungaro, D. A. (2019). An alternative and simple method for the preparation of bare silica nanoparticles using sugarcane waste ash, an abundant and despised residue in the Brazilian industry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 30, 1524-1533.

S

School of Life Sciences and Technology, Institut Teknologi Bandung, Fajar, A., Ammar, G. A., Hamzah, M., Manurung, R., & Abduh, M. Y. (2019). Effect of tree age on the yield, productivity, and chemical composition of essential oil from *Cinnamomum burmannii*. *Current Research on Biosciences and Biotechnology*, 1(1), 17-22.

Stevens, N., & Allred, K. (2022). Antidiabetic potential of volatile cinnamon oil : A review and exploration of mechanisms using in silico molecular docking simulations. *Molecules*, 27(3), 853.

Stratakos, A. C., & Koidis, A. (2016). Methods for extracting essential oils. In *Essential oils in food preservation, flavor and safety* (p. 31-38). Elsevier.

Subramaniam, S., Thomas, N., Gustafsson, H., Jambhrunkar, M., Kidd, S. P., & Prestidge, C. A. (2019). Rifampicin-loaded mesoporous silica nanoparticles for the treatment of intracellular infections. *Antibiotics*, 8(2), 39.

T

Technique, D. (2004). Le Procédé Sol-Gel. *Rescoll centre technologique*.

Tongnuanchan, P., & Benjakul, S. (2014). Essential oils : Extraction, bioactivities, and their uses for food preservation. *Journal of food science*, 79(7), R1231-R1249.

Turek, C., & Stintzing, F. C. (2013). Stability of essential oils : A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 12(1), 40-53.

U

Utami, R., Khasanah, L. U., Manuhara, G. J., & Ayuningrum, Z. K. (2019). Effects of Cinnamon Bark Essential Oil (*Cinnamomum burmannii*) on Characteristics of Edible Film and Quality of Fresh Beef. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 42(4).

V

Vadlapudi, V., Kaladhar, D., Behara, M., Sujatha, B., & Naidu, G. (2013). Synthesis of Green Metallic Nanoparticles (NPs) and Applications. *Oriental Journal of Chemistry*, 29(4), 1589-1595.

Vallet-Regí, M., Colilla, M., Izquierdo-Barba, I., & Manzano, M. (2017). Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery : Current insights. *Molecules*, 23(1), 47.

Vazquez, N. I., Gonzalez, Z., Ferrari, B., & Castro, Y. (2017). Synthesis of mesoporous silica nanoparticles by sol–gel as nanocontainer for future drug delivery applications. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 56(3), 139-145.

W

Wan, Y. (2012). *Développement de nanovecteurs polymériques et lipidiques fonctionnalisés par des anticorps pour cibler des cellules cancéreuses* [PhD Thesis]. Bordeaux 1.

Watermann, A., & Brieger, J. (2017). Mesoporous Silica Nanoparticles as Drug Delivery Vehicles in Cancer. *Nanomaterials*, 7(7), Article 7.

Wilczewska, A. Z., Niemirowicz, K., Markiewicz, K. H., & Car, H. (2012).

Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports*, 64(5), 1020-1037.

Wu, S.-H., Mou, C.-Y., & Lin, H.-P. (2013). Synthesis of Mesoporous Silica Nanoparticles.

Chemical Society reviews, 42.

Y

Young, S. K. (2002). *Overview of sol-gel science and technology.* ARMY RESEARCH LAB

ABERDEEN PROVING GROUND MD.

Z

Zaidi, S. F., Aziz, M., Muhammad, J. S., & Kadowaki, M. (2015). Diverse pharmacological

properties of Cinnamomum cassia : A review. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*,

28(4).

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : SEGHIRI Ferial HACI Hadjer
Évaluation de l'efficacité antiseptique de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i> sous sa forme libre et encapsulée dans la silice mésoporeuse.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée	
<p>تم تنفيذ هذا العمل بهدف الحصول على درجة الماجستير ، ويتعلق موضوع البحث بإنتاج نظام تغليف نانوي للزيت العطري للقرفة (<i>Cinnamomum cassia</i>) من مادة غير عضوية. وقع اختيار مادة التغليف على السيليكا المسامية التي تشتهر بسهولة تركيبها ، وتكلفتها المعقولة ، واستقرارها الحراري ، وخملها الكيميائي ، وتوافقها البيولوجي ، فضلاً عن قدرتها على التعديل والتشغيل.</p> <p>في دراستنا ، تم تحضير جزيئات السيليكا النانوية باستخدام طريقة sol-gel في مستحلب صغير محمل بالزيت العطري المستخرج بالتقطير المائي. تتضمن هذه العملية التحلل المائي / تكثيف السلائف غير العضوية TEOS فوق قالب micelles. تم تحضير أربع تركيبات متميزة من المحاليل الغروية لجسيمات السيليكا النانوية ، بما في ذلك تركيبة فارغة وأخرى تحتوي على كميات مختلفة من الزيت العطري. تم فحص الخصائص الفيزيائية والكيميائية لهذه المحاليل الغروية ، مثل حجم الجسيمات ، وشحنة السطح ، وكفاءة التغليف ، ومعدل التحميل ، والمجموعات الوظيفية الموجودة على سطحها. تم أيضاً تقييم النشاط المطهر للزيت العطري في شكله الحر والمغلف وإطلاقه من ناقلات النانو التي تحتويه.</p> <p>أظهر توصيف الجسيمات النانوية لنظام التغليف كفاءة تزيد عن 80% ومعدل تحميل أكبر من 70% متجانسة حسب مؤشر PDI. علاوة على ذلك ، كانت شحنة السطح أقل من 30 مللي فولت ، مما يشير إلى ثبات منخفض للحلول المركبة. فيما يتعلق بتقييم النشاط البكتيري والفطري ، لوحظ أن الزيت العطري كان فعالاً للغاية عند استخدامه في شكله الحر ، بينما لم يظهر أي فعالية عند تغليفه بسبب الإطلاق المحدود لجسيمات السيليكا النانوية.</p>	
<p>الكلمات المفتاحية: كبسولة نانوية ، سيليكا ميسوبوروس ، جل سول ، مستحلب صغير ، زيت عطري ، قرفة القرفة ، الحجم ، الشحنة ، كفاءة التغليف ، معدل التحميل PDI ،</p>	
<p>Laboratoires de recherche : Laboratoire de Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt).</p>	
<p>Encadreur : BEZZI Tarek (MRB – CRBT Constantine). Président : KITOUNI Rachid (MCB – UFM Constantine). Examinateur : BOUANIMBA Nour (MCA – UFM Constantine).</p>	

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : SEGHIRI Ferial HACI Hadjer
Évaluation de l'efficacité antiseptique de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i> sous sa forme libre et encapsulée dans la silice mésoporeuse	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée	
<p>This work was carried out with a view to obtaining a master's degree, the subject of the research concerns the realization of a nanoscale encapsulation system for the essential oil of <i>cinnamon</i> (<i>Cinnamomum cassia</i>) from of an inorganic material. The choice of encapsulation material fell on mesoporous silica which is renowned for its ease of synthesis, its affordable cost, its thermal stability, its chemical inertness, its biological compatibility as well as its ability to be modulated and functionalized.</p> <p>In our study, the preparation of silica nanoparticles was carried out using the sol-gel method in miniemulsion loaded with essential oil extracted by hydrodistillation. This process involves the hydrolysis/condensation of the inorganic precursor TEOS within a micellar system. Four distinct formulations of colloidal solutions of silica nanoparticles were prepared, including an empty formulation and others containing different amounts of essential oil. The physicochemical properties of these colloidal solutions, such as particle size, surface charge, encapsulation efficiency, loading rate and functional groups present on their surface, were examined. The antiseptic activity of the essential oil in its free and encapsulated form and its release of nanocarriers were also evaluated.</p> <p>Characterization of the encapsulation system nanoparticles revealed an efficiency of more than 80% and a loading rate more than 70%. Measurements with the Nanosizer equipment revealed sizes less than 600 nm, with a homogeneous according to the PDI index. Moreover, the surface charge was less than 30mV, which indicates a low stability of the synthesized solutions. Regarding the evaluation of bacterial and fungal activity, it was observed that the essential oil was extremely effective when used in its free form, while it showed no effectiveness when encapsulated. due to a limited release of silica nanoparticles.</p>	
Mots-clefs Nanoencapsulation, silice mésoporeuse, sol gel, miniémulsion, huile essentielle, <i>Cinnamomum cassia</i> , taille, charge, PDI, efficacité d'encapsulation, taux de chargement.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Centre National de Recherche en Biotechnologie (CRBt).	
<p>Encadreur : BEZZI Tarek (MRB – CRBT Constantine).</p> <p>Président : KITOUNI Rachid (MCB – UFM Constantine).</p> <p>Examineur : BOUANIMBA Nour (MCA – UFM Constantine).</p>	

Année universitaire : 2022-2023	Présenté par : SEGHIRI Ferial HACI Hadjer
Évaluation de l'efficacité antiseptique de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i> sous sa forme libre et encapsulée dans la silice mésoporeuse.	
Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie appliquée	
<p>Ce travail a été réalisé en vue de l'obtention d'un master, le sujet de la recherche porte sur la réalisation d'un système d'encapsulation à l'échelle nanométrique de l'huile essentielle de cannelle (<i>Cinnamomum cassia</i>) à partir d'un matériau inorganique. Le choix de matériau d'encapsulation s'est porté sur la silice mésoporeuse qui est réputée pour sa facilité de synthèse, son coût abordable, sa stabilité thermique, son inertie chimique, sa compatibilité biologique ainsi que sa capacité à être modulée et fonctionnalisée.</p> <p>Dans notre étude, la préparation des nanoparticules de silice a été réalisée à l'aide de la méthode sol-gel en miniémulsion chargées en huile essentielle extraite par hydrodistillation. Ce processus implique l'hydrolyse /condensation du précurseur inorganique TEOS au sein d'un système micellaire. Quatre formulations distinctes de solutions colloïdales de nanoparticules de silice ont été préparées, comprenant une formulation vide et d'autres contenant différentes quantités d'huile essentielle. Les propriétés physico-chimiques de ces solutions colloïdales, telles que la taille des particules, la charge de surface, l'efficacité d'encapsulation, le taux de chargement et les groupes fonctionnels présents à leur surface, ont été examinées. L'activité antiseptique de l'huile essentielle sous sa forme libre et encapsulée et sa libération des nanoporteurs ont également été évaluées.</p> <p>La caractérisation des nanoparticules de système d'encapsulation a révélé une efficacité de plus de 80 % et un taux de chargement supérieure à 70 %. Les mesures effectuées avec l'équipement Nanosizer ont révélé des tailles inférieure à 600 nm, avec une distribution de taille homogène selon l'indice PDI. De plus, la charge de surface était inférieure à 30mV, ce qui indique une faible stabilité des solutions synthétisées. En ce qui concerne l'évaluation de l'activité bactérienne et fongique, il a été observé que l'huile essentielle était extrêmement efficace lorsqu'elle était utilisée dans sa forme libre, tandis qu'elle ne montrait aucune efficacité lorsqu'elle était encapsulée en raison d'une libération limitée des nanoparticules de silice.</p>	
Mot-cles Nanoencapsulation, silice mésoporeuse, sol gel, miniémulsion, huile essentielle, <i>Cinnamomum cassia</i> , taille, charge, PDI, efficacité d'encapsulation, taux de chargement.	
Laboratoires de recherche : Laboratoire de Centre National de Recherch en Biotechnologie (CRBt).	
<p>Encadreur : BEZZI Tarek (MRB – CRBT Constantine).</p> <p>Président : KITOUNI Rachid (MCB – UFM Constantine).</p> <p>Examineur : BOUANIMBA Nour (MCA – UFM Constantine).</p>	