

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 de biologie moléculaire et cellulaire قسم

البيو كيمياء والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie*

N° d'ordre :

N° de série :

مناقشة مذكرة تخرج ضمن القرار 1275

START UP 2023

Production de masque facial à base d'alginate et d'huiles essentielles extraites de *Citrus sinensis*

Présenté par : BOULIFA Nardjis

Le 04/07/2023

MERABET Aya Yasmine

Encadreur : Mr.NOUADRI Tahar

MCA – Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Président : Mr.NECIB Youcef

Professeur - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Examineur : Mme.BENNAMOUN Leila

MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1.

Maison de l'entrepreneuriat :Mme. BENSOUICI Aicha

Secteur socioéconomique :M. BOUBENIDER Hichem (Catalyse Lab)

Année universitaire

2022 – 2023

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné courage, force et volonté pour réaliser ce travail.

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance et toute notre gratitude à notre promoteur **Dr Nouadri Tahar** maitre de conférences à l'université frère mentouri constantine 1, pour l'aide et le suivi qu'elle nous a fournis tout au long de la réalisation de ce mémoire. Ses conseils et ses encouragements nous ont permis de mener à bien ce mémoire.*

*Un grand merci pour les membres du jury qui nous fait l'honneur de présider et d'examiner ce travail. Professeur **NECIB Youcef** et Docteur **BENNAMOUN L.** MCB Université Frères Mentouri, Constantine 1. Nous remercions chaleureusement tous qui nous aidés de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail: Mme Chouh Amina , Dr ZEGHBI Nassim lotfi, Dr Dekhimouche Chahra ,Dr Medoukali Imen . Dr Kebaili Fethi Farouk, Nos vifs remerciements au personnel des laboratoires: de Biochimie de la facultés de la science de la nature et de la vie , centre de la recherche biotechnologique constantine.*

Aya yasmine

Nardjis

Dédicace

Je voudrais adresser une dédicace spéciale à mes parents, mes frères Adib et Yasser, ainsi qu'à sa femme Öznur. Vous êtes ma famille, ma source de soutien et d'amour inconditionnel. Votre présence dans ma vie est inestimable et je suis reconnaissante de vous avoir à mes côtés.

À Nardjis, ma binôme et amie d'enfance merci d'être toujours là pour moi, de partager des moments inoubliables et de me soutenir dans tous les aspects de ma vie.

A mes meilleurs amis Roa et Sabrina.

À toute personne qui a contribué à l'achèvement de ce travail

Aya yasmine

Dédicace

Je tiens à dédier cette mémoire à des personnes très spéciales dans ma vie.

- ✚ Je souhaite adresser mes sincères remerciements à **mes parents**, qui ont toujours été présents pour moi. Leur amour, leur soutien et leurs encouragements constants m'ont permis d'arriver jusqu'ici.
- ✚ Je suis également reconnaissante envers mon frère **Abdelhadi**, pour sa présence et ses conseils précieux tout au long de ce parcours académique.
- ✚ Je souhaite également exprimer ma gratitude envers mes chères sœurs **Amira, Kawther et Feriel**, qui ont toujours été là pour moi, me motivant et m'inspirant. Leur soutien inconditionnel et leur amour ont été des piliers essentiels dans ma vie.
- ✚ À mon adorable neveu **Mohamed**, qui apporte une joie indescriptible à ma vie. Sa présence m'a apporté un équilibre et une motivation supplémentaire pour persévérer dans mes études.
- ✚ Je tiens à remercier la personne la plus gentille **Islem**, dont le soutien et les encouragements ont été précieux tout au long de cette période de rédaction de ma mémoire.
- ✚ À **Aya**, ma binôme et amie d'enfance merci d'être toujours là pour moi, de partager des moments inoubliables et de me soutenir dans tous les aspects de ma vie.
- ✚ À mes adorables amies **Roa, Sabrina, Feriel et Kamilia**.

À tous ceux mentionnés ci-dessus, je vous suis profondément reconnaissant pour votre amour, votre soutien et votre confiance en moi. Ce travail est aussi un accomplissement pour vous tous.

Nardjis

Table des Matières

Introduction

Chapitre 1

1	Généralités sur les agrumes	1
2	Composition chimique des écorces d'agrumes	1
3	Citrus sinensis (Oranger)	3
3.1	Composition chimique et valeur nutritive d'orange	4
4	La disponibilité des Oranges en Algérie	5

Chapitre 2

1	Définition des huiles essentielles	7
2	Composition chimique	7
2.1	Terpènes	7
2.2	Composés aromatiques	8
2.3	Composés phénoliques	8
3	Propriétés des huiles essentielles	9
3.1	Propriétés physicochimiques	9
3.2	Propriétés biologiques	9
3.3	Propriétés médicinales	10
4	Techniques d'extraction	10
4.1	Hydro-distillation	10
4.2	Entrainement à la vapeur d'eau	11
4.3	Extraction par soxhlet	11
4.4	Extraction par solvants volatils	12
5	Méthodes d'analyses	13
5.1	Chromatographie en phase gazeuse (cpg)	13
5.2	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (cpg /sm)	15
5.3	Résonance magnétique nucléaire RMN	16
6	Activités biologiques	17

6.1	Activité antimicrobienne des huiles essentielles	18
6.2	Activité antioxydante des huiles essentielles	18
6.3	Activité anti-inflammatoire	18
7	Domaines d'application des huiles essentiels.....	18
7.1	Pharmacologie.....	18
7.2	Aromathérapie	19
7.3	Agroalimentaires	19
7.4	Cosmétologie et parfumerie	19
8	L'alginate	20
8.1	Définition de l'alginate	20
8.2	Les différentes sources d'alginate.....	20
9	Concept d'encapsulation.....	21
9.1	Technique et efficacité d'encapsulation	21
9.2	L'intérêt de l'encapsulation par l'alginate pour les huiles essentielles	22
 Chapitre 3		
1	Les activités biologiques des huiles essentiels.....	25
1.1	L'activité antioxydante	25
	Les antioxydants enzymatiques	25
	Les antioxydants non enzymatiques	26
	Mécanisme d'action des antioxydants.....	27
	Quelques activités biologiques antioxydantes.....	28
	Test du DPPH.....	29
	Test de l'activité antiradicalaire pour le radical ABTS•+.....	30
1.2	L'activité antibactérienne.....	31
	Souches bactériennes utilisées	32
	Mécanisme d'action de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	32
2	Le masque d'alginate	33
 Matériels et méthodes		
1	Matériel végétal	35
1.1	Description morphologique de l'espèce <i>Citrus sinensis</i>	35

2	Méthode de travail.....	35
2.1	Préparation des échantillons	35
2.2	Extraction d'huiles essentielles par hydrodistillation	36
	Détermination du rendement d'extraction	38
2.3	Mesure de l'activité antibactérienne des huiles essentielles	38
2.4	Mesure de l'activités anti-oxydante.....	39
	Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)	39
	Test de l'activité antiradicalaire pour le radical ABTS+•	40
2.5	Encapsulation des huiles essentielles	42
	Préparation d'alginate de sodium.....	42
	Préparation de la solution chlorure de calcium	42
2.6	Préparation du masque.....	43
	Méthodes des analyses physico-chimique et microbiologique	44
3	Rendement d'huile.....	45
4	Aromatogramme d'huile de <i>Citrus sinensis</i>	45
5	L'activité Anti-oxydante de l'huile essentielle de <i>Citrus sinensis</i>	46
5.1	DPPH.....	46
6	Analyses Physico-chimique du masque	47
7	Analyses Microbiologique du masque	48
	Conclusion et perspectives	49
	Résumé.....	50
	Références.....	53
	BMC.....	59

Introduction

L'utilisation d'ingrédients naturels dans les produits cosmétiques et les soins de la peau est devenue une tendance croissante, motivée par la recherche de solutions durables et respectueuses de l'environnement. L'alginate, un composé extrait d'algues brunes, et les huiles essentielles d'orange, obtenues à partir des déchets d'orange, ont émergé comme des ingrédients prometteurs pour les formulations des produits cosmétiques. Dans cette étude, nous explorons la production d'un masque facial à base d'alginate et d'huile essentielle extraite des déchets d'orange, en mettant l'accent sur leurs propriétés bénéfiques pour la peau.

D'abord l'alginate est un polymère naturel extrait des algues brunes. Il possède des propriétés hydratantes, apaisantes et raffermissantes pour la peau. Sa capacité d'absorption de l'eau permet de maintenir l'hydratation cutanée, tandis que ses propriétés apaisantes contribuent à apaiser les irritations et les rougeurs de la peau. De plus, l'alginate peut former un film élastique sur la peau, donnant un effet raffermissant et améliorant l'apparence des rides et des ridules.

L'alginate a été largement étudié aussi pour ses activités biologiques dans le domaine de la peau. Des études ont démontré ses propriétés hydratantes, apaisantes et raffermissantes. L'alginate peut améliorer l'hydratation cutanée en maintenant l'équilibre hydrique de la peau. Il possède également des propriétés apaisantes, réduisant les irritations et les rougeurs cutanées. De plus, grâce à sa capacité à former un film élastique, l'alginate peut donner un effet raffermissant à la peau, réduire l'apparence des rides et des ridules temporaires.

D'autre part, les huiles essentielles d'orange sont obtenues par distillation à la vapeur de l'écorce d'orange. Elles sont riches en antioxydants, notamment la vitamine C, ce qui confère des propriétés antioxydantes à ces huiles. Les huiles essentielles d'orange peuvent aider à protéger la peau contre les radicaux libres et à prévenir le vieillissement prématuré. De plus, elles possèdent des propriétés tonifiantes, éclaircissantes et apaisantes pour la peau.

Ensuite, les huiles essentielles d'orange ont été étudiées pour leurs activités biologiques bénéfiques pour la peau. Elles possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Les huiles essentielles d'orange sont riches en antioxydants tels que la vitamine C, qui aident à protéger la peau contre les dommages causés par les radicaux libres et à prévenir

le vieillissement prématuré. De plus, elles présentent des propriétés antimicrobiennes, aidant à éliminer aussi les bactéries de la peau. Leurs propriétés anti-inflammatoires peuvent contribuer à apaiser les irritations cutanées.

Après, l'utilisation des déchets d'orange pour extraire les huiles essentielles présentent un double avantage environnemental et économique. Les déchets d'orange sont généralement considérés comme des sous-produits, mais ils contiennent des composés aromatiques précieux. L'extraction des huiles essentielles à partir de ces déchets permet de valoriser ces résidus et de les transformer en ingrédients actifs pour les produits cosmétiques.

Enfin, le masque à base d'alginate est un produit naturel d'algues marines enrichie par des huiles essentielles, il est formulé pour préparer la peau et favorisant ainsi la pénétration des substances actives des huiles essentielles, éliminant aussi les impuretés, les débris, les bactéries, les cellules mortes de la peau. Ce masque permet de retrouver une peau douce et un teint uniforme.

Notre travail consiste à étudier la composition d'un masque facial à base d'alginate enrichie par l'huile essentielle d'écorce d'orange on a les caractéristiques physico-chimique telle que le pH, la densité, la couleur, et l'odeur, et les activités antibactérienne sur *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, et une activité anti-oxydante de DPPH.



Partie Bibliographique

Chapitre 1

Les agrumes

1 Généralités sur les agrumes

Les agrumes, qui figurent parmi les cultures commerciales les plus significatives cultivées sur tous les continents de la planète, ont suscité un intérêt accru en raison de leurs caractéristiques nutritives et de leur utilité médicinale.

Les fruits peuvent être consommés frais ou transformés en jus et confitures pour répondre aux besoins alimentaires. En effet, ces derniers sont riches en vitamines, minéraux et en fibres. Les fruits sont également utilisés dans la production de dérivés. Ainsi, environ un tiers des agrumes produits sont transformés, avec une attention particulière portée aux oranges (40% des oranges cueillies dans le monde sont transformées). Les dérivés obtenus sont notamment des jus de fruits et des huiles essentielles saisonnières. **(Bordeaux, 2011)**

2 Composition chimique des écorces d'agrumes

Les peaux d'agrumes contiennent une grande quantité de composants nutritionnels et fonctionnels tels que l'eau, les protéines, les sucres, les minéraux, les caroténoïdes, la vitamine C, les composés phénoliques, les huiles essentielles principalement le limonène et les fibres. **(M'hiri N, 2015) Tableau 1**

Cependant, la composition de ces peaux peut varier selon les facteurs environnementaux tels que la période de récolte, le climat et la qualité de sol. **(Goulas et al. 2012)**

Les peaux d'agrumes sont riches en fibres, en particulier en fibres hydro solubles telles que les pectines, et contiennent également des fibres insolubles telles que l'hémicellulose, la cellulose et la lignine.

Elles sont également riches en sucres solubles (6,52 – 47,81 g/100g bs) tels que le glucose, le fructose et le saccharose, ainsi qu'en protéines et en minéraux, mais pauvres en lipides. **(El – Kantar et al. 2018)**

Les peaux d'agrumes sont également une source d'huiles essentielles, Cependant, en raison de leur forte teneur en eau (variant de 2,97 – 3,79 g/100g bs), elles sont hautement périssables et peuvent fermenter et développer des moisissures.

Tableau 1 : Composition chimique globale d'écorce de quelques agrumes exprimée en g pour 100g base sèche (bs). (M'hiri N, 2015).

Composés	Orange	Mandarine	Citron	Pamplemousse
Eau	2,97(a) - 3,14(b)	3,79(b)	3,01(b)	-
Lipides	0,95(a)	1,57(c)	0,48(b)	-
	1,66(b)	2,97(b)	1,51(c)	-
	4,00(c)	-	1,89(d)	-
Protéines	1,79(b)	2,16(e)	5,87(b)	-
	2,67(e)	7,33(c)	6,79(d)	-
	7,90(f)	8,55(b)	7,88(g)	-
	8,01(a)	-	-	-
	9,06(c)	-	-	-
Glucides	15,01(b) 46,60(a)	8,50(c)	6,52(c)	-
	47,81(c)	18,27(b)	13,77(g)	-
		-	14,89(b)	-
Minéraux	2,56(c)	3,96(b)	2,52(c)	-
	3,31(a)	4,06(e)	4,68(b)	-
	3,45(b)	10,03(c)	-	-
Fibres	6,30(c)	7,14(e)	14,00(h)	82,69(j)
	13,38(e) 13,90(h)	27,89(b)	-	-
	41,64(b) 42,13(a)			
Caroténoïdes totaux	0,04(k)	0,20(k)	0,01(k)	-
Huiles essentielles	0,6 – 1 (r)			-
Vitamine C	0,145(s) -1,15(p)	0,280(s)	0,109(s)	-
Phénols totaux	0,67(e)	0,78(e)	2,45(b)	22,32(o)
	0,96(l)	2,91(b)	4,40(n)	-
	1,13(a)	17,21(o)	13,01(o)	-

3 *Citrus sinensis* (Oranger)

L'oranger est un petit arbre ou arbuste qui peut atteindre environ 10 à 15 mètres de hauteur. Cet arbre se caractérise par une multitude de rameaux qui forment une cime dense, avec un feuillage vert foncé, lisse, persistant et légèrement nervuré. Les feuilles sont coriaces, cireuses et alternes, et restent sur l'arbre toute l'année. La floraison est blanche, très odorante et le fruit est une baie, soit ronde ou allongée, souvent dotée d'un mamelon saillant à l'opposé du pédoncule fructifère. (Teuscher et al., 2005) Figure 1.

La taxonomie de *Citrus sinensis*, également connue sous le nom d'orange douce, est la suivante :

- **Règne** : *Plantae*
- **Division** : *Magnoliophyta*
- **Classe** : *Magnoliopsida*
- **Ordre** : *Sapindales*
- **Famille** : *Rutaceae*
- **Genre** : *Citrus*
- **Espèce** : *Citrus sinensis*



Figure 1 : *Citrus sinensis* (l'orange douce)

Cette classification est basée sur le système de classification de Cronquist, qui est largement utilisé en botanique. Cette classification est également conforme à la classification de l'orange

amère donnée par la base de données de taxonomie des plantes de l'USDA (United States Department of Agriculture).

3.1 Composition chimique et valeur nutritive d'orange

L'orange est un fruit populaire et largement consommé dans le monde entier. Sa valeur nutritive varie selon la taille et la variété du fruit, mais en général, l'orange est une excellente source de vitamines, de minéraux et d'antioxydants. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Composition chimique d'Oranger.

Composition	Teneur
Calories	47 kcal pour 100 g
Eau	87 %
Glucides	11,8 %
Protéines	0,9 %
Lipides	0,2 %
Fibres	2,4 %
Vitamine C	53,2 mg pour 100 g
Vitamine A	225 UI pour 100 g
Acide folique	30 µg pour 100 g
Potassium	181 mg pour 100 g
Calcium	40 mg pour 100 g
Magnésium	10 mg pour 100 g

L'orange contient également de nombreux autres composés phytochimiques, tels que des caroténoïdes, des flavonoïdes, des acides organiques et des huiles essentielles.

D'autre part, la vitamine C est "un nutriment antioxydant soluble dans l'eau essentiel pour la croissance et la réparation des tissus corporels. Elle aide à la production de collagène, aide à

guérir les blessures et à réparer et maintenir le cartilage, les os et les dents" (National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements).

Selon le United States Département of Agriculture (USDA), une orange de taille moyenne (154 g) contient 53,2 mg de vitamine C, soit environ 89% de l'apport quotidien recommandé pour un adulte. **Tableau 2**

4 La disponibilité des Oranges en Algérie

Au cours de la campagne Fourrages naturels 2019/2020, la filière des agrumes enregistre une production évaluée à 15,6 millions de quintaux, comparée à 15,8 millions de quintaux lors de la campagne précédente (2018/2019), soit une légère baisse de 1%. La production d'oranges, qui représente 75% de la production nationale, est estimée à 11,7 millions de quintaux, ce qui correspond à une baisse de 2%. La production de citrons a également diminué de 2% au cours de cette campagne. En revanche, les variétés de clémentines et de mandarines ont vu leur production augmenter respectivement de 2% et 3%. **Figure 2**

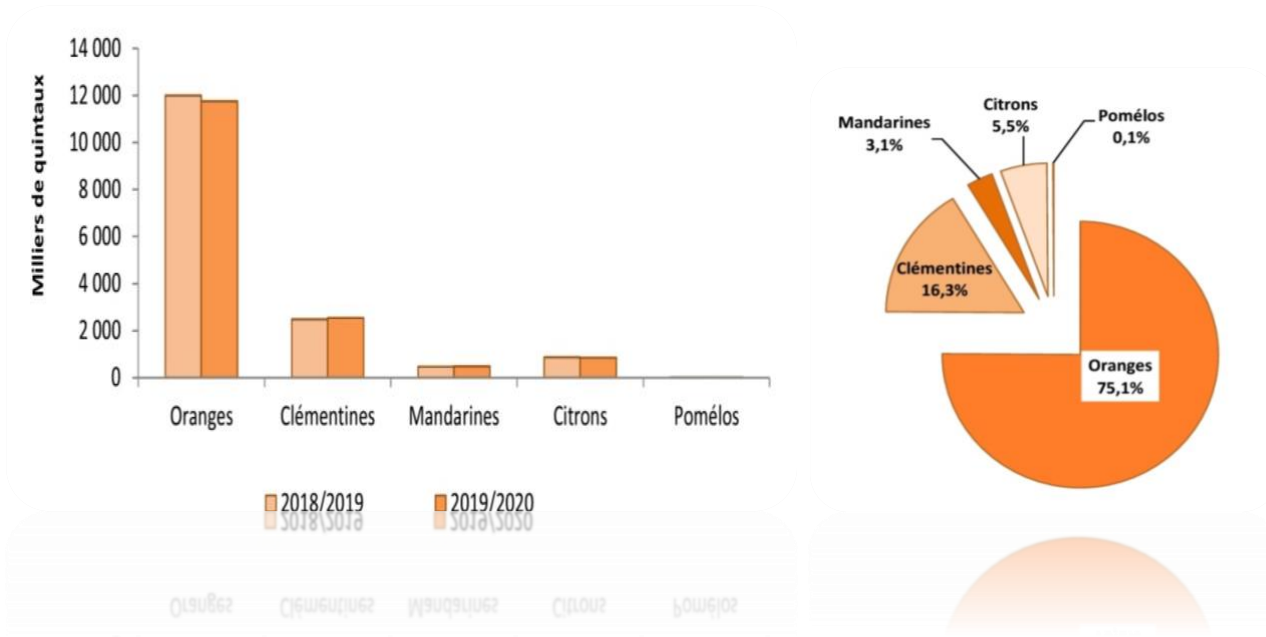


Figure 2 : Evolution et répartition de la production des agrumes par variété

Chapitre 2

Les l'huiles essentielles et l'encapsulation par l'alginate

1 Définition des huiles essentielles

Selon l'AFNOR en octobre 1987 une définition plus complète a été proposée : "Nom générique pour tous les produits lipophiles, volatils, préexistants dans une plante ou une drogue végétale. Une huile essentielle est constituée de nombreuses substances chimiques peu solubles dans l'eau. Dans la plante, celles-ci résultent principalement du métabolisme des terpènes et des composés en C₆C₃ et sont localisées dans les oranges, où elles sont biosynthétisées (papilles, cellules et poils, poches, canaux). Les huiles essentielles sont obtenues par distillation à la vapeur, par hydrodistillation ou, dans des cas particuliers, par pression mécanique (ex. agrumes) par dissolution dans les lipides, et plus fréquemment maintenant dans des gaz supercritiques (dioxyde de carbone)."

2 Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est très complexe et dépend de nombreux facteurs. Il est crucial de connaître avec précision les constituants d'une huile essentielle pour en vérifier la qualité, expliquer ses propriétés et prévoir sa toxicité potentielle. Parmi ces composés on trouve :

2.1 Terpènes

Les terpènes naturels et terpénoïdes sont principalement produits par une grande variété de plantes, en particulier les conifères, ainsi que par certains insectes tels que les termites ou les papillons de la famille des papilionidés. Les terpènes et les terpénoïdes sont les principaux composants des résines, des stéroïdes et des caoutchoucs, que l'on peut trouver dans les huiles essentielles de nombreux types de plantes et de fleurs.

Les terpènes sont dérivés biosynthétiques d'unités d'isoprène. La formule moléculaire de base des terpènes est un multiple de (C₅H₈)_n, où n est le nombre d'unités d'isoprène liées. Les unités d'isoprène peuvent être liées "tête-bêche" pour former des chaînes linéaires ou arrangées pour former des cycles. Les terpénoïdes sont des composés dérivés des terpènes par des modifications chimiques. Certains terpénoïdes sont également connus sous le nom d'isoprénoïdes. Certains auteurs utilisent le terme "terpène" de manière plus large, pour inclure les terpénoïdes.

À mesure que les chaînes d'unités d'isoprène sont construites, les terpènes résultants sont classés séquentiellement par taille en tant que hémiterpènes (C₅H₈), monoterpènes (C₁₀H₁₆),

sesquiterpènes (C₁₅H₂₄), diterpènes (C₂₀H₃₂), sesterterpènes (C₂₅H₄₀), triterpènes (C₃₀H₄₈) et tétraterpènes (C₄₀H₆₄) ou autres polyterpènes (C₅H₈)_n.

Par exemple, le myrcène est un monoterpène acyclique composé de deux unités d'isoprène. Des modifications biochimiques telles que l'oxydation ou le réarrangement peuvent produire des monoterpénoïdes apparentés, tels que le géraniol et le citral.

Les monoterpènes peuvent également être cycliques, comme le limonène, qui peut conduire à des terpénoïdes tels que le menthol ou le terpinéol. Tout comme les monoterpènes, les sesquiterpènes, qui sont composés de trois unités d'isoprène, peuvent être acycliques ou cycliques. Le farnésol est un représentant de la famille des sesquiterpènes acycliques, tandis que l' α -cadinène et l' α -sélinène sont des sesquiterpènes bicycliques. Parmi les diterpènes, lephytol est un précurseur important des vitamines E et K, et le diterpène monocyclique à 14 membres, le cembrene A, présente une structure chimique qui est centrale à une grande variété.

2.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont dérivés du phénylpropane (C₆-C₃) et sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants tels que la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, que l'on trouve souvent dans les huiles essentielles d'Apiaceae (anis, fenouil, persil, etc.) et qui sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du clou de girofle, etc. Ces composés se distinguent les uns des autres par le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy, la position de la double liaison de la chaîne latérale (allylique ou propénylique) et le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide).

2.3 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles et sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (**Bauer, K et al, 2001**). Parmi les plus de 8000 composés phénoliques connus, on trouve une quantité considérable de flavonoïdes, de quinones phénoliques, de coumarines et d'autres classes de composés.

3 Propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées depuis les temps les plus reculés pour leur efficacité thérapeutique plurielle, conférée par leur diversité moléculaire. (VALNET, J.1984)

Les hydrocarbures mono-terpéniques présentent des propriétés multiples telles qu'antalgie en usage percutané, vermifuge, emménagogue, antiseptique atmosphérique, anti-parasitaire. Tandis que les hydrocarbures ses quiterpéniques ont des effets anti-inflammatoires, calmants, hypotenseurs. (AMOR, 2006)

Les HEs disposent de pouvoirs innombrables et diversifiés, dont l'énumération exhaustive est impossible. La mise en exergue de leur activité biologique a été l'objet de nombreuses études. (BAKKALI, et al, 2008)

3.1 Propriétés physicochimiques

De manière générale, les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles présentent une grande variabilité en raison de nombreux facteurs (origine géographique, conditions climatiques et leurs fluctuations, périodes de fortes pluies ou de sécheresses prolongées, méthode et saison de récolte, procédé d'extraction, etc.). Cette variabilité explique les différences constatées dans les taux et pourcentages des différents composants. (VALNET, 1984)

Les huiles essentielles sont généralement des liquides volatils incolores à température ambiante. Leur densité est inférieure à 1, sauf pour trois huiles: cannelle, girofle et sassafras. Elles ont souvent un indice de réfraction élevé et un pouvoir rotatoire, et elles sont peu solubles dans l'eau mais solubles dans les alcools, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques. (PARIS et HURABIELLE, 1981)

3.2 Propriétés biologiques

Il convient de noter que les huiles essentielles ont un spectre d'action très large car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. De plus, certaines huiles essentielles présentent une activité antifongique qui s'oppose au développement des champignons et des moisissures en les détruisant. Toutefois, il est important de souligner que ces activités peuvent varier d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche à l'autre. En outre, les huiles essentielles agissent sur les bactéries à Gram positif aussi bien que sur celles à Gram négatif. Cependant, il semble que les bactéries à Gram négatif soient moins sensibles à leur action en raison de la structure de leur paroi cellulaire, à quelques exceptions près, telles qu'*Aeromonashydrophila* et *Campylobacterjejuni* qui ont été décrites

comme particulièrement sensibles à l'action des huiles essentielles. Malgré cela, *Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie à Gram négatif, demeure la moins active vis-à-vis des essences végétales. (OUIS, 2015)

3.3 Propriétés médicinales

L'huile essentielle d'orange, faisant partie d'un groupe d'huiles d'agrumes aux nombreuses propriétés thérapeutiques, est couramment utilisée en aromathérapie. Elle n'a pas seulement des effets curatifs sur de nombreuses maladies et troubles, mais possède également des propriétés vivifiantes qui stimulent à la fois le corps et le système nerveux. Une fois extraite du fruit, l'huile essentielle d'orange douce peut être utilisée pendant environ six mois pour conserver ses propriétés médicinales. Les effets aphrodisiaques, antispasmodiques, anti-inflammatoires, sédatifs, antidépresseurs et antiseptiques de cette huile sont à l'origine de son utilisation en aromathérapie à des fins variées. L'huile essentielle contribue également à offrir un sentiment d'éveil et de joie tout en gardant le corps détendu. Elle permet également de purifier le sang, facilitant ainsi la détoxification du système et le renouvellement de la peau.

4 Techniques d'extraction

4.1 Hydro-distillation

La technique consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et à la porter à ébullition, une méthode qui est généralement effectuée à pression atmosphérique. La distillation peut être réalisée avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Toutefois, cette méthode présente des inconvénients, notamment en raison de l'impact de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition sur certains organes végétaux, particulièrement les fleurs, qui sont trop fragiles pour supporter ce traitement par entraînement à la vapeur d'eau ou par hydrodistillation (HD). En outre, la labilité des constituants des huiles essentielles (HE) explique que la composition du produit obtenu par HD soit souvent différente de celle du mélange initial présent dans les organes sécréteurs du végétal. **Figure 4**

Malheureusement, l'hydrodistillation a des limites. Le chauffage prolongé et puissant peut causer la détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. L'eau, l'acidité et la température peuvent également induire l'hydrolyse des esters, ainsi que des réarrangements, des isomérisations, des racémisations et/ou des oxydations. Ces

facteurs expliquent les variations importantes de composition observées dans la bibliographie sur les huiles essentielles.

4.2 Entraînement à la vapeur d'eau

Il s'agit là d'une technique reconnue pour obtenir des huiles essentielles (HE). Dans ce procédé d'extraction, le matériel végétal est soumis à un courant de vapeur sans préalable macération. Les vapeurs, saturées en composés volatils, sont ensuite condensées puis décantées dans l'essencier, permettant ainsi la séparation en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). Cette technique aussi permet également d'obtenir un parfum plus délicat et une distillation plus rapide, offrant ainsi une concentration plus riche en esters dans les notes de tête. Toutefois, le contact direct entre les constituants de l'HE et l'eau peut causer des réactions chimiques altérant la composition finale de l'extrait. Les conditions opératoires, notamment la durée de distillation, ont une influence importante sur le rendement et la composition de l'HE, d'où le développement de modèles mathématiques visant à optimiser ces conditions pour une production reproductible. En général, une demi-heure suffit pour récupérer 95% des molécules volatiles nécessaires à l'industrie et à la parfumerie, comme c'est le cas pour la lavande. En revanche, pour une utilisation en aromathérapie, il est nécessaire de prolonger l'opération pour récupérer l'ensemble des composants aromatiques volatils.

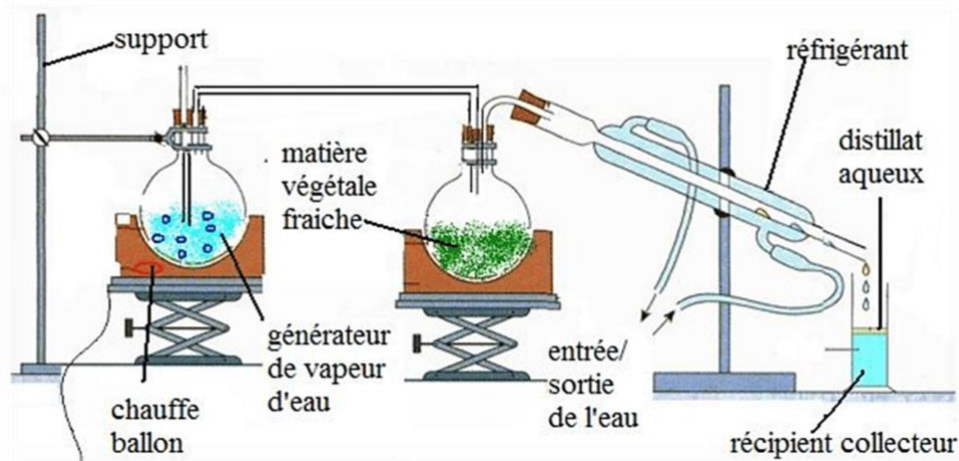


Figure 4 : Montage d'entraînement à la vapeur

4.3 Extraction par soxhlet

Il convient de mentionner une méthode solide-liquide permettant l'extraction, qui porte le nom de son créateur : Franz von Soxhlet. L'instrument en question est fait d'un corps en verre doté d'une cartouche poreuse en cellulose, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. La disposition inclut un ballon rempli de solvant d'extraction, surmonté de l'extracteur contenant

la cartouche renfermant la matière solide végétale, en poudre généralement. Un réfrigérant sert de reflux, fixé au-dessus de l'extracteur. Le solvant est chauffé et maintenu en ébullition constante, grâce à un chauffe-ballon muni d'une agitation magnétique intégrée, pour prévenir des à-coups d'ébullition, qui pourraient entraîner une remontée du liquide dans le ballon, et non des vapeurs pures de solvant. Lorsque le ballon est chauffé, les vapeurs passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant, et retombent dans le corps de l'extracteur, imbibant ainsi le solide dans le solvant (réchauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le processus peut recommencer, et le solvant contenu dans le ballon se charge ainsi progressivement en composés solubles. **Figure 5**

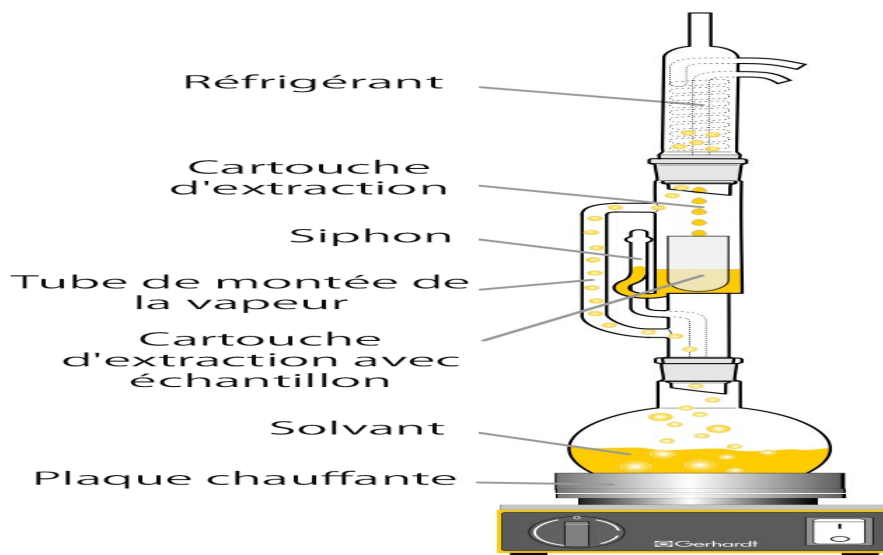


Figure 5 : Représentation schématique d'un appareil d'extraction soxhlet

4.4 Extraction par solvants volatils

L'extraction des produits odorants nécessite l'utilisation de solvants, qui sont ensuite utilisés pour la concentration par distillation ou précipitation (méthode appelée SDE). L'hydrolat obtenu par distillation est séparé de l'extract de l'alcoolate, et le produit odorant est récupéré avec le solvant, qui est évaporé pour obtenir des produits tels que des résines, des onguents et du béton. Différents solvants ont été utilisés, tels que l'éthanol, l'éther, le disulfure de carbone, le benzène, l'éther de pétrole, les solvants chlorés et fluorés, en fonction des produits utilisés.

Le solvant est chargé en molécules aromatiques grâce à des lavages successifs et est ensuite envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique, produisant ainsi la "concrète". Cette dernière pourra être brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en

extraire les cires végétales, avant d'être concentrée à nouveau pour obtenir une "absolue". Bien que cette méthode présente des avantages, tels que des rendements plus importants par rapport à la distillation, elle peut entraîner des risques d'artefacts et de contamination des échantillons par des impuretés difficiles à éliminer.

Le choix du solvant d'extraction est donc crucial. La méthode SDE est largement utilisée pour extraire des molécules aromatiques d'origine végétale, ainsi que pour déterminer qualitativement et quantitativement les molécules aromatiques présentes dans certains aliments.

La SDE permet de réduire les phénomènes d'origine humaine, tels que le stress, ce qui est démontré par les recherches sur l'acétate d'allyle. (Mnayer, 2014) Figure 6

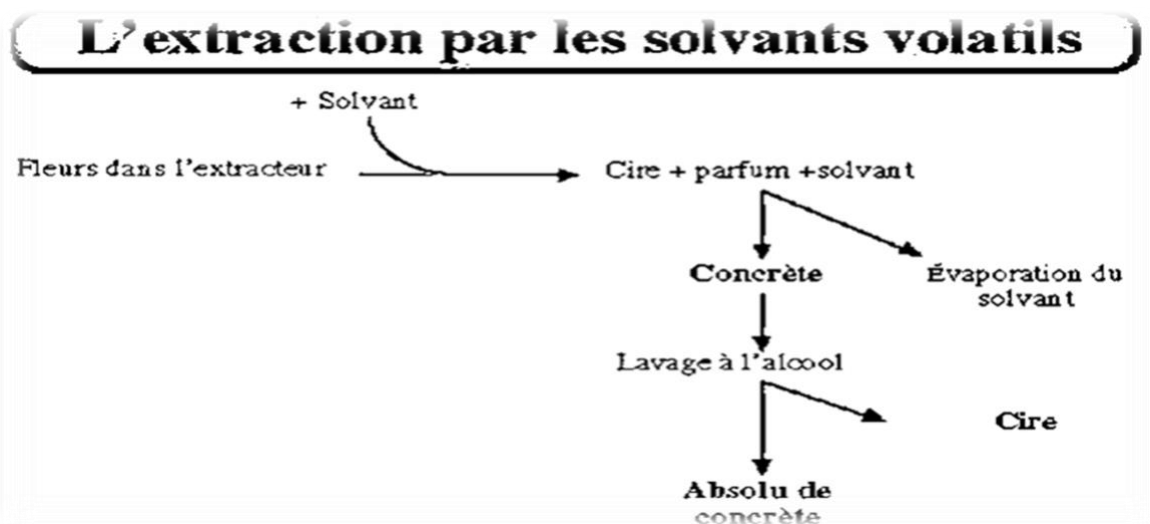


Figure 6 : Présentation schématique d'extraction par les solvants volatiles

5 Méthodes d'analyses

5.1 Chromatographie en phase gazeuse (cpg)

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique d'analyse qui consiste à séparer les composés gazeux ou ceux qui peuvent être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est largement utilisée dans le domaine des huiles essentielles car elle permet d'individualiser les constituants à partir d'échantillons très faibles (de l'ordre du milligramme ou du microgramme). Les progrès technologiques en matière de colonnes capillaires, de phases stationnaires et de détecteurs (FID) ont contribué à rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles. Chaque constituant est caractérisé par des

indices calculés à partir d'une gamme d'alcane ou d'esters méthyliques linéaires à température constante (indice de Kováts) ou en programmation de température (indices de rétention).

Les temps de rétention, bien que spécifiques à chaque composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre, notamment en raison du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention polaire ($I_r p$) et apolaire ($I_r a$) sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans des bibliothèques de référence élaborées au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales ou répertoriés dans la littérature. Toutefois, il est difficile d'obtenir une reproductibilité parfaite des indices de rétention et cela ne peut être observé que sur des chromatogrammes réalisés sur une courte période avec des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Les variations les plus importantes sont observées lors de la comparaison des indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature, en particulier pour ce qui concerne la colonne polaire. Dans le domaine des huiles essentielles, il a été démontré que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire présentent des indices de rétention compris dans un intervalle de seulement 300 unités, ce qui entraîne une grande incertitude dans l'identification des constituants.

De plus, les nombreux cas de coélution montrent que la comparaison des indices de rétention et même la méthode des surcharges ne suffisent pas à identifier formellement un composé. Le développement des phases stationnaires chirales (colonne de cyclodextrines) et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés dans les huiles essentielles. Ainsi, la CPG bidimensionnelle (CPG/CPG), qui met en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et

la quantification de composés minoritaires pouvant coéluer avec des composés plus abondants.

Figure 7

L'échantillon est injecté dans une pré-colonne, puis les composés qui coéluent sont transférés dans une deuxième colonne pour être séparés.

L'efficacité de cette méthode est illustrée par Marriott et coll., qui ont appliqué la CPG bidimensionnelle à l'étude d'une huile essentielle de vétiver (Vetiveriazanioides). L'utilisation de colonnes chirales en CPG bidimension.

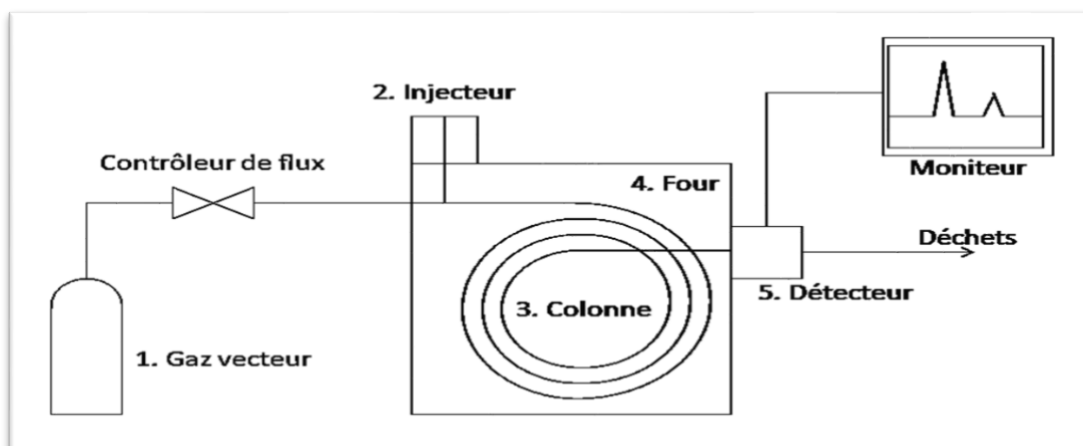


Figure 7 : Schéma d'un chromatographe

5.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (cpg /sm)

La généralisation de l'utilisation de la chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM) dans les laboratoires d'analyse des composés aromatiques est due à plusieurs facteurs importants. Tout d'abord, la simplicité du couplage entre ces deux techniques, ainsi que les progrès réalisés dans le traitement en temps réel du signal, ont contribué à rendre la CPG/SM plus accessible. De plus, la constitution de banques de données de spectres de masse et le développement des algorithmes de comparaison entre le spectre d'un composé inconnu avec ceux répertoriés dans la banque ont également contribué à sa popularité.

D'un point de vue analytique, des progrès significatifs ont été accomplis en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM). En effet, le couplage CPG/SM en mode impact électronique (IE), appelé CPG/SM-(IE), est devenu la technique de référence pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles.

Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder une molécule avec des électrons, ce qui entraîne sa fragmentation en différents fragments chargés positivement. Ces fragments constituent ensuite le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet

d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier, construites au laboratoire ou commerciales.

5.3 Résonance magnétique nucléaire RMN

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est une méthode sophistiquée pour scruter la structure moléculaire, en suscitant l'aimantation naturelle des noyaux à interagir avec un champ magnétique. L'interaction de la RMN entre le noyau atomique et le champ magnétique est quantifiée et nécessite une fréquence spécifique (appelée fréquence de Larmor) pour que cette interaction ait lieu.

Cette fréquence de Larmor est dépendante du type de noyau observé (proton, carbone, azote, etc.), mais également de l'environnement chimique du noyau, c'est-à-dire des autres noyaux présents autour et des électrons engagés dans la liaison chimique. La fréquence de résonance fournit donc des informations sur la structure de la molécule.

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est un outil exceptionnel pour déterminer la structure de molécules, que ce soit des molécules naturelles ou synthétiques. Grâce à la diversité des paramètres mesurables, la RMN permet de traiter tous les problèmes posés par l'examen d'une molécule en solution. La RMN se distingue des autres techniques spectroscopiques en fournissant des informations précises et individuelles sur la grande majorité des atomes constituant la molécule. Elle permet également d'identifier les connexions entre les atomes des différentes entités, du squelette aux groupes fonctionnels, et finalement de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. La stratégie présentée pour la détermination de structure par RMN est très efficace pour les molécules de dimension moyenne. Les méthodes de base de la RMN unidimensionnelle et bidimensionnelle sont en général suffisantes pour atteindre l'objectif fixé. **Figure 8**



Figure 8 : Bruker 300 MHz spectrometer

Cette fréquence de Larmor est dépendante du type de noyau observé (proton, carbone, azote, etc.), mais également de l'environnement chimique du noyau, c'est-à-dire des autres noyaux présents autour et des électrons engagés dans la liaison chimique. La fréquence de résonance fournit donc des informations sur la structure de la molécule.

La spectrométrie de résonance magnétique nucléaire (RMN) est un outil exceptionnel pour déterminer la structure de molécules, que ce soit des molécules naturelles ou synthétiques. Grâce à la diversité des paramètres mesurables, la RMN permet de traiter tous les problèmes posés par l'examen d'une molécule en solution. La RMN se distingue des autres techniques spectroscopiques en fournissant des informations précises et individuelles sur la grande majorité des atomes constituant la molécule. Elle permet également d'identifier les connexions entre les atomes des différentes entités, du squelette aux groupes fonctionnels, et finalement de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. La stratégie présentée pour la détermination de structure par RMN est très efficace pour les molécules de dimension moyenne. Les méthodes de base de la RMN unidimensionnelle et bidimensionnelle sont en général suffisantes pour atteindre l'objectif fixé.

6 Activités biologiques

Les huiles essentielles extraites des agrumes sont connues pour leur richesse en activités biologiques, notamment celles provenant de l'orange douce. Ces huiles essentielles ont démontré leur capacité à exercer des effets anticancéreux, relaxants, anxiolytiques, analgésiques, hépatoprotecteurs, antitumoraux, antioxydants, conservateurs alimentaires, ainsi qu'à traiter l'acné et agir comme agents antibactériens, antifongiques, anti-aflatoxiniques,

larvicides, insecticides et anthelminthiques. Dans cette étude, nous nous concentrerons sur les effets suivants :

6.1 Activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles sont reconnues et certaines sont même considérées comme des composés sans danger, ce qui laisse entendre qu'elles pourraient être utilisées pour inhiber la prolifération de micro-organismes pathogènes et polluants.

6.2 Activité antioxydante des huiles essentielles

Les polyphénols sont de puissants systèmes de défense contre les radicaux libres.

Leurs activités antioxydantes reposent sur plusieurs mécanismes, notamment l'absorption des rayons ultraviolets qui empêche la surproduction des radicaux libres.

Les polyphénols renforcent également l'activité des enzymes antioxydantes en augmentant l'activité de la superoxyde-dismutase et de la catalase, et en modulant l'expression des gènes de la superoxydedismutase, de la catalase et de la glutathion peroxydase. **(Tripoli et al. 2007)**

Les polyphénols d'agrumes ont également la capacité de neutraliser les radicaux libres et de chélater les métaux, en particulier le fer, comme l'ont montré des études in vitro et in vivo. **(Del-Rio et al., 2004)**

Enfin, diverses études expérimentales ont démontré l'inhibition de la lipopéroxydation par les flavonoïdes de citrus, ce qui est corrélé à une diminution du taux d'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) dans le sang. **(Gonzalez-Molina et al. 2010)**

6.3 Activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire des substances naturelles est un sujet d'intérêt majeur. Bien que les médicaments anti-inflammatoires chimiques soient souvent utilisés pour leur puissance, leur administration à long terme peut causer des effets secondaires néfastes, notamment une intolérance gastrique. C'est pourquoi, les remèdes naturels à base de plantes, tels que certains composés d'huiles essentielles, offrent une alternative intéressante avec un effet anti-inflammatoire comparable à celui des médicaments synthétiques, mais avec des effets secondaires minimes, une efficacité prouvée et une sécurité optimale.

7 Domaines d'application des huiles essentiels

7.1 Pharmacologie

- Affections gastro-intestinales (nausées, brûlures d'estomac, constipation, troubles digestifs, dyspepsie) : l'orange favorisera la digestion en raison du limonène qu'elle contient,

quidémontré ses propriétés bénéfiques sur la muqueuse de l'estomac ainsi que sur la motricité intestinale et les sécrétions digestives ou biliaires.

- Maintien d'un mode de vie sain (protection hépatique, drainage de la vésicule biliaire)
- Affections cutanées (cicatrisation, peaux grasses, peaux matures)
- Perte de poids, cellulite
- Stress et état dépressif : propriétés anxiolytiques

Plusieurs études ont montré que la diffusion ou l'inhalation de l'huile essentielle d'orange permettait de réduire l'anxiété chez l'adulte ou l'enfant dans des situations stressantes telles que les consultations chez le dentiste ou les dialyses. **(Kanani et al. 2012)**

7.2 Aromathérapie

La pratique de l'aromathérapie, qui est une forme de médecine alternative, accorde une grande importance aux huiles essentielles en raison de leurs nombreux effets curatifs. Elles sont ainsi utilisées de plus en plus fréquemment dans diverses spécialités médicales telles que la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie et même dans le domaine de l'esthétique, comme l'indique. **(OUIS. 2015)**

7.3 Agroalimentaires

À l'heure actuelle, les huiles essentielles constituent un moyen très intéressant d'augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles contenant des composés antimicrobiens et antioxydants sont considérées comme une alternative importante pour résoudre le problème d'altération post-récolte causé par les moisissures, ainsi que pour éviter la perte en qualité et en quantité des fruits pendant l'entreposage. **(Serrano, 2008)**

7.4 Cosmétologie et parfumerie

Les propriétés olfactives des huiles essentielles en font un ingrédient recherché dans l'industrie des parfums et des cosmétiques. En effet, la parfumerie consomme une grande quantité d'essences aromatiques, notamment celles de rose, de jasmin, de violette ou encore de verveine, représentant jusqu'à 60% de leur production. En cosmétologie, les huiles essentielles sont également utilisées pour parfumer différents produits tels que les dentifrices, les shampoings, les crèmes solaires, les rouges à lèvres, les savons, etc. Par ailleurs, les huiles

essentielles sont souvent utilisées dans les produits d'hygiène, les détergents et les lessives pour masquer les odeurs désagréables de ces produits.

8 L'alginate

8.1 Définition de l'alginate

L'alginate est défini comme un polysaccharide anionique obtenu à partir d'algues brunes, telles que *Laminaria*, *Ascophyllum* et *Macrocystis*, selon l'article "Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications" publié dans le journal scientifique *Materials* en 2016. L'article explique que l'alginate a des propriétés biomatérielles intéressantes, telles que sa biocompatibilité, sa faible toxicité et sa capacité à former des gels, ce qui le rend utile dans diverses applications biomédicales, notamment pour l'encapsulation de cellules et de facteurs de croissance.

8.2 Les différentes sources d'alginate

➤ Les bactéries

L'alginate peut être produit par des bactéries fixatrices d'azote comme *Azobacter vinelandii* et la bactérie pathogène *Pseudomonas aeruginosa*. Bien que la production à partir d'algues brunes soit plus courante en raison de son coût attractif, la commercialisation des alginates bactériens se développe en raison de la maîtrise de la structure polymère offerte par la production bactérienne. *A. vinelandii* est la seule bactérie utilisable car elle produit des alginates avec des structures de copolymères en blocs. Les alginates jouent un rôle de protection pour les bactéries en formant une capsule visqueuse qui les protège contre les cellules phagocytaires, la déshydratation et les antibiotiques. Cependant, ces alginates peuvent également augmenter la virulence de *P. aeruginosa* en favorisant son adhérence aux cellules de l'épithélium trachéobronchique et en réduisant l'élimination du mucus pulmonaire infecté.

➤ Les algues

L'alginate de sodium, une substance mucilagineuse dérivée des algues brunes, est un polysaccharide naturel. Les algues brunes sont les principaux organismes contenant de l'alginate, représentant plus de 40 % de leur poids sec, et ce produit constitue le polysaccharide le plus abondant chez ces organismes. L'acide alginique est un constituant presque constant chez les *Phaeophyceae*, une classe d'algues benthiques ou pélagiques dont les plastes renferment de la chlorophylle a et c, du β -carotène et des xanthophylles spécifiques (fucoxanthine). Les principales algues dont est extrait l'alginate sont celles qui appartiennent aux familles des Laminaires et des *Lessoniaceae*.

9 Concept d'encapsulation

L'article "Alginate-Based Encapsulation of Foods for Targeted Delivery" publié dans le Journal of Food Science en 2012, décrit l'utilisation de l'encapsulation par l'alginate dans l'industrie alimentaire. L'article explique comment l'alginate peut être utilisé pour former une membrane autour d'un ingrédient alimentaire, protégeant ainsi l'ingrédient contre les dommages causés par l'environnement extérieur. De plus, la membrane d'alginate peut être conçue pour se dissoudre ou se rompre dans des conditions spécifiques, telles que l'acidité de l'estomac, permettant ainsi à l'ingrédient d'être libéré de manière contrôlée et efficace.

- Définition de l'encapsulation

Selon l'article "Encapsulation in the Food Industry: A Review" publié dans le journal scientifique Food and Bioprocess Technology en 2011, l'encapsulation est définie comme "le processus de confinement d'une substance active ou d'un matériau dans une matrice protectrice, appelée capsule ou microcapsule, qui permet de contrôler la libération de la substance active ou du matériau".

Cette définition met l'accent sur l'idée que l'encapsulation permet de protéger et de contrôler la libération d'une substance active ou d'un matériau, en les enfermant dans une matrice protectrice. **Figure 9**

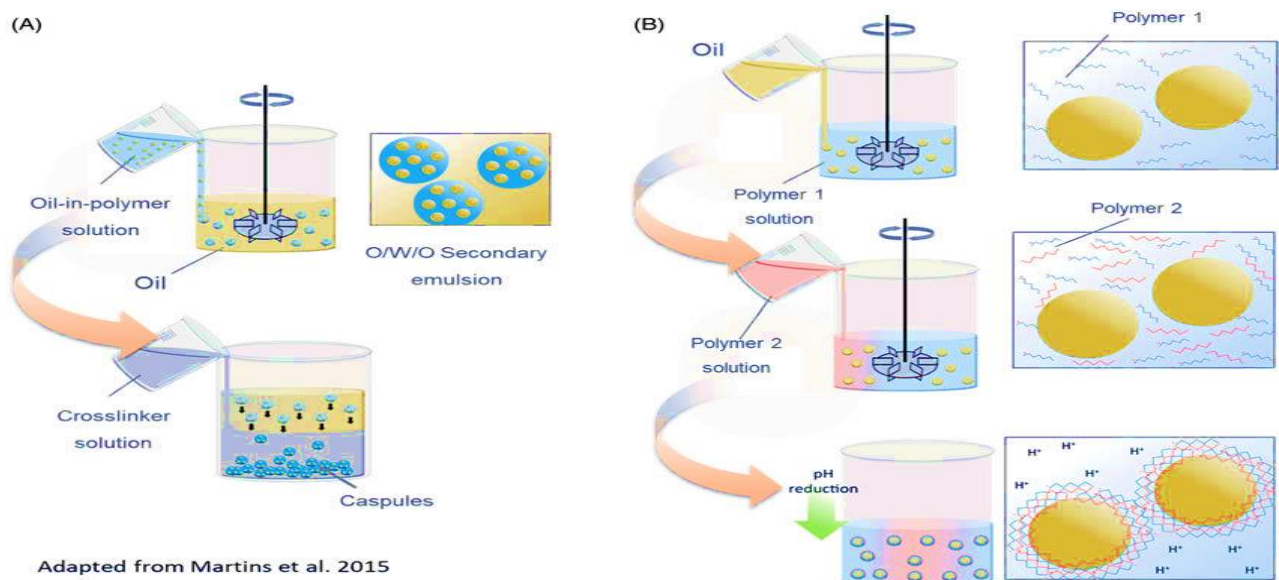


Figure 9 : Encapsulation d'huile par technique de dispersion-réticulation et de dispersion-coacervation

9.1 Technique et efficacité d'encapsulation

L'article "Nanoencapsulation of orange essential oil: effect on antimicrobial activity and stability" publié dans le journal scientifique Food Science and Technology International en

2016, décrit l'utilisation de la nanoencapsulation pour améliorer l'efficacité et la stabilité des huiles essentielles d'orange. Les huiles essentielles d'orange sont riches en composés volatils ayant des propriétés antimicrobiennes, mais leur utilisation dans les aliments est limitée en raison de leur instabilité et de leur faible solubilité dans l'eau.

Les auteurs de l'article ont utilisé une méthode de nanoencapsulation par coacervation complexe pour encapsuler les huiles essentielles d'orange dans des nanoparticules de chitosane et de gélatine. Les résultats ont montré que l'encapsulation a augmenté la stabilité des huiles essentielles d'orange et a prolongé leur durée de conservation. De plus, les nanoparticules encapsulées ont montré une meilleure activité antimicrobienne que les huiles essentielles d'orange non encapsulées. Les nanoparticules ont été efficaces pour inhiber la croissance des bactéries pathogènes, telles que *Listeria monocytogenes* et *Salmonella enterica*.

9.2 L'intérêt de l'encapsulation par l'alginate pour les huiles essentielles

Il existe de nombreuses études scientifiques qui ont examiné l'intérêt de l'encapsulation par l'alginate pour les huiles essentielles. Voici quelques exemples de ces études :

- Une étude publiée dans le *Journal of Food Engineering* a examiné l'effet de l'encapsulation par l'alginate sur la stabilité des huiles essentielles de thym et d'origan. Les résultats ont montré que l'encapsulation par l'alginate augmentait la stabilité des huiles essentielles en protégeant contre l'oxydation et la dégradation thermique.
- Une autre étude publiée dans le *Journal of Microencapsulation* a examiné l'effet de l'encapsulation par l'alginate sur la libération contrôlée des huiles essentielles de menthe et de romarin. Les résultats ont montré que l'encapsulation par l'alginate permettait une libération contrôlée des huiles essentielles, avec une libération lente et régulière sur une période de plusieurs heures.
- Une étude publiée dans le *Journal of Agricultural and Food Chemistry* a examiné l'effet de l'encapsulation par l'alginate sur la solubilité et la biodisponibilité des huiles essentielles de clou de girofle et de cannelle. Les résultats ont montré que l'encapsulation par l'alginate améliorait la solubilité et la biodisponibilité des huiles essentielles, ce qui les rendait plus facilement absorbables par l'organisme.
- Une étude publiée dans le *Journal of Controlled Release* a examiné l'effet de l'encapsulation par l'alginate sur la libération des huiles essentielles de lavande et de camomille. Les résultats ont montré que l'encapsulation par l'alginate permettait une

libération prolongée des huiles essentielles, avec une libération continue sur une période de plusieurs jours.

En résumé, ces études et d'autres ont montré que l'encapsulation par l'alginate est une technique prometteuse pour l'encapsulation des huiles essentielles, en raison de sa capacité à améliorer leur stabilité, leur solubilité et leur libération contrôlée.

Chapitre 3

Les activités biologiques des l'huiles essentielles

1 Les activités biologiques des huiles essentiels

1.1 L'activité antioxydante

Des composés phytochimiques, y compris les huiles essentielles (H.Es), suscitent un intérêt croissant en tant que source potentielle de molécules naturelles bioactives. Leur utilisation en tant qu'antioxydants est étudiée. (Hellal, 2011)

Les antioxydants sont définis comme un ensemble de molécules capables d'inhiber directement, à faibles doses, la production, la propagation ou la destruction des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Favier, 2003). Ce sont des agents qui réagissent facilement avec les substances oxydantes pour les neutraliser, les éliminer ou réduire leur production. La plupart des antioxydants peuvent être divisés en deux groupes : endogènes et exogènes. (Massarat., 2011)

Les principaux des antioxydants végétaux sont en nombre de 4. La vitamine C et vitamine E, les caroténoïdes et les polyphénols

Parmi les antioxydants les plus réputés, on trouve le β -carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants, qu'ils soient d'origine synthétique ou naturelle, présentent des groupes hydroxyphénoliques dans leur structure. Les propriétés antioxydantes de ces composés sont en partie attribuées à leur capacité à capturer des radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$). (Boudet, 2007)

Il convient de noter que les études scientifiques sur les antioxydants sont nombreuses et complexes, et les résultats peuvent varier en fonction des types d'antioxydants étudiés, des doses utilisées et des populations étudiées. Cependant, de nombreuses recherches suggèrent que l'apport régulier d'antioxydants par le biais d'une alimentation équilibrée riche en fruits, légumes et sources alimentaires naturelles peut contribuer à maintenir la santé et prévenir certaines maladies.

Les antioxydants enzymatiques

Les antioxydants enzymatiques sont des enzymes naturelles qui agissent comme des antioxydants dans l'organisme en neutralisant les radicaux libres et en protégeant les cellules

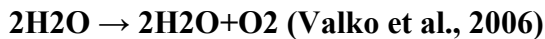
contre les dommages oxydatifs. Voici une description de quelques antioxydants enzymatiques importants :

- **Superoxydedismutase (SOD)**

La SOD est une enzyme clé impliquée dans la défense contre les espèces réactives de l'oxygène (ERO) en convertissant le superoxyde anion ($O_2^{\bullet-}$) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (O_2). Elle existe sous différentes formes, dont la SOD cuivre-zinc (SOD1), la SOD manganèse (SOD₂) et la SOD extracellulaire (SOD₃). La SOD joue un rôle important dans la prévention des dommages oxydatifs dans les cellules.

- **Catalase**

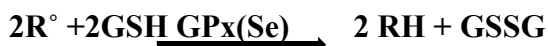
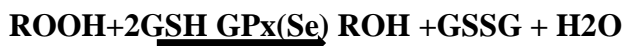
La catalase est une enzyme présente dans de nombreux types de cellules, notamment les globules rouges, le foie et les cellules de la peau. Elle catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2), prévenant ainsi l'accumulation de H_2O_2 toxique.



- **Glutathion peroxydase (GPx)**

Les GPx sont une famille d'enzymes présentes dans le cytoplasme, les mitochondries et d'autres compartiments cellulaires. Elles réduisent les hydroperoxydes lipidiques et les peroxydes organiques en utilisant le glutathion réduit (GSH) comme cofacteur, ce qui les convertit en leurs formes non réactives.

Les réactions mise en jeu sont les suivantes (Reichel, 2010).



Les antioxydants non enzymatiques

Les antioxydants non enzymatiques sont des composés chimiques qui agissent comme des agents antioxydants dans l'organisme, mais qui ne sont pas directement synthétisés par les

enzymes du corps. Ils peuvent être obtenus à partir de l'alimentation ou être produits dans le corps par certains processus métaboliques. Voici une liste de certains antioxydants non enzymatiques importants :

- **Vitamine C (acide ascorbique)**

La vitamine C est un puissant antioxydant hydrosoluble. Elle peut neutraliser les radicaux libres et régénérer d'autres antioxydants tels que la vitamine E. Elle est également impliquée dans la réparation de l'ADN et la synthèse du collagène.

- **Vitamine E**

La vitamine E est un groupe de composés liposolubles, dont le tocophérol et le tocotriénol, qui agissent comme des antioxydants dans les membranes cellulaires et protègent les lipides contre l'oxydation.

- **Caroténoïdes**

Les caroténoïdes sont des pigments végétaux qui agissent comme des antioxydants et donnent aux fruits et légumes leurs couleurs vives. Certains caroténoïdes, tels que le bêta-carotène, la lutéine et le lycopène, sont associés à des effets bénéfiques pour la santé.

- **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés phytochimiques présents dans divers aliments d'origine végétale, tels que les fruits, les légumes, les herbes et les boissons comme le thé et le vin. Ils ont des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires.

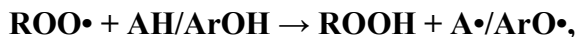
Mécanisme d'action des antioxydants

Selon leur mode d'action, les antioxydants peuvent être classés en deux groupes principaux : les transferts d'atomes d'hydrogène (TAH) et les transferts d'électrons simples (TES).

➤ Les tests basés sur les transferts d'atomes d'hydrogène (TAH)

Les tests basés sur les TAH mesurent la capacité d'un antioxydant à neutraliser les radicaux libres (généralement, les radicaux peroxyles considérés comme plus pertinents sur le plan biologique) en donnant un atome d'hydrogène. Les mécanismes d'action antioxydante basés sur

les TAH, dans lesquels l'atome d'hydrogène (H) d'un phénol (Ar-OH) est transféré à un radical ROO•, peuvent être résumés par la réaction :



Où le radical aryloxy (ArO•) formé par la réaction du phénol antioxydant avec le radical peroxy est stabilisé par résonance. Les espèces AH et ArOH représentent respectivement les biomolécules protégées et les antioxydants phénoliques. Les antioxydants phénoliques efficaces doivent réagir plus rapidement que les biomolécules avec les radicaux libres pour les protéger de l'oxydation. Dans les tests antioxydants basés sur les TAH, à la fois la sonde fluorescente et les antioxydants réagissent avec ROO•. L'activité antioxydante peut donc être déterminée par des cinétiques de compétition en mesurant la courbe de décroissance de fluorescence de la sonde en l'absence et en présence d'antioxydants, en intégrant les aires sous ces courbes et en calculant la différence entre elles.

➤ Les tests basés sur les transferts d'électrons simples (TES)

Dans la plupart des tests basés sur les TES, l'action antioxydante est simulée à l'aide d'une sonde de potentiel redox appropriée, c'est-à-dire que les antioxydants réagissent avec une sonde fluorescente ou colorée (agent oxydant) au lieu des radicaux peroxy. Les tests spectrophotométriques basés sur les TES mesurent la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant, ce qui provoque un changement de couleur lorsque l'oxydant est réduit. Le degré de changement de couleur (augmentation ou diminution de l'absorbance de la sonde à une longueur d'onde donnée) est corrélé à la concentration d'antioxydants dans l'échantillon. Par exemple, les tests de décoloration tels que [2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)]/capacité antioxydante équivalente à la Trolox (TEAC) et [2,2-di(4-tert-octylphényl)-1-picrylhydrazyl (DPPH)].

Quelques activités biologiques antioxydantes

❖ Activité antiradicalaire

Les antioxydants sont capables de neutraliser les radicaux libres, protégeant ainsi les cellules contre les dommages oxydatifs. Une étude publiée en 2019 dans la revue

"Oxidative Medicine and Cellular Longevity" a examiné les activités antiradicalaires de différents antioxydants.

❖ Protection de l'ADN

Les antioxydants peuvent prévenir les dommages à l'ADN causés par les espèces réactives de l'oxygène. Une étude publiée en 2020 dans la revue "Free Radical Research" a évalué l'activité protectrice d'un antioxydant sur l'ADN.

❖ Effet anti-inflammatoire

Certains antioxydants peuvent réduire l'inflammation en neutralisant les radicaux libres et en régulant les voies inflammatoires. Une recherche récente publiée en 2021 dans la revue "Pharmacological Research" a examiné les effets anti-inflammatoires d'un antioxydant spécifique.

❖ Protection du système cardiovasculaire

Les antioxydants peuvent protéger les cellules endothéliales et réduire le stress oxydatif dans les vaisseaux sanguins, contribuant ainsi à la santé cardiovasculaire. Une étude publiée en 2022 dans la revue "Frontiers in Physiology" a examiné les effets cardioprotecteurs d'un antioxydant.

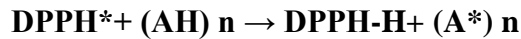
❖ Effets neuroprotecteurs

Certains antioxydants peuvent protéger les cellules nerveuses contre les dommages oxydatifs et l'inflammation, offrant une neuroprotection. Une recherche récente publiée en 2023 dans la revue "Neurochemical Research" a étudié les effets neuroprotecteurs d'un antioxydant spécifique.

Test du DPPH

Le DPPH (1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ; α , α -diphényl- β -picrylhydrazyl), un radical libre stable de couleur violette en solution, présente une absorbance caractéristique dans la plage de 512 à 517 nm. Lorsqu'il est réduit en diphényle picryl hydrazine par un composé ayant des propriétés antiradicalaires, sa couleur violette disparaît rapidement, entraînant une décoloration. L'intensité de la couleur est directement liée à la capacité des antioxydants présents dans le

milieu à libérer des protons (Sanchez-Moreno, 2002). Cette réaction peut être résumée par l'équation suivante :



(AH) désigne un composé capable de transférer un atome d'hydrogène au radical DPPH (violet), le transformant ainsi en diphényle picryl hydrazine (jaune). (Brand-William et al. 1995)

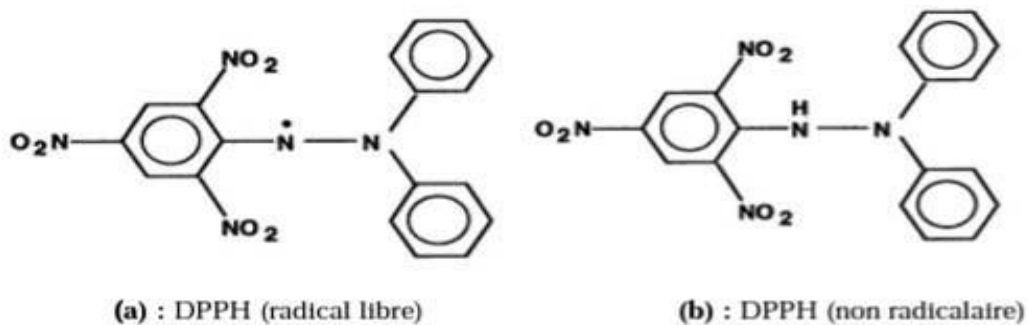


Figure 10: Formes du DPPH, (a) radicalaire et (b) réduite (Molyneux, 2004).

Test de l'activité antiradicalaire pour le radical ABTS•+

La procédure basée sur l'inhibition de la production du cation radical ABTS ne nécessitait pas de substrat. L'ABTS, avec un maximum d'absorption à 342 nm, présente une grande solubilité dans l'eau et une stabilité chimique élevée. Il s'agit d'un substrat de peroxydase qui, lorsqu'il est oxydé en présence de H₂O₂, génère un cation radical métastable avec un spectre d'absorption caractéristique et une absorbance molaire élevée à 414 nm. Cependant, il existe des maxima d'absorption secondaires dans les régions de longueur d'onde de 645, 734 et 815 nm. Son utilisation, telle que décrite par Rice-Evans et Miller est basée sur la formation du radical ferrylmyoglobine (à partir de la réaction de méthmyoglobine avec le peroxyde d'hydrogène) qui est ensuite libre de réagir (à une vitesse de réaction plus élevée) avec l'ABTS pour produire le cation radical ABTS.

L'accumulation de ABTS•+ peut être inhibée par la présence d'un antioxydant dans le milieu réactionnel, dans une mesure et à une échelle de temps dépendantes de l'activité antioxydante. La capacité relative des antioxydants donneurs d'hydrogène à piéger ABTS•+ généré en phase aqueuse peut être mesurée par spectrophotométrie, en mesurant dans la région proche

infrarouge à 734 nm, ce qui réduit les interférences d'autres composants absorbants et de la turbidité de l'échantillon. Miller et Rice-Evans ont constaté que les résultats de l'essai myoglobine-ABTS et de la réduction directe du cation radical ABTS étaient très similaires, établissant que l'action des antioxydants étudiés était due au piégeage du cation radical ABTS et non à l'inhibition de sa formation par réduction de la ferrylmyoglobine ou réaction avec le peroxyde d'hydrogène.

Les résultats ont été exprimés en comparaison avec des quantités standard de trolox, un analogue hydrosoluble de la vitamine E synthétique, pour obtenir le TEAC. Le TEAC correspond à la concentration millimolaire d'une solution de trolox ayant la capacité antioxydante équivalente à une solution à 1,0 mM de la substance étudiée. Tel que décrit par Rice-Evans et Miller le TEAC reflète la capacité relative des antioxydants donneurs d'hydrogène ou d'électrons à piéger le cation radical ABTS par rapport à celle du Trolox. L'essai d'ABTS a été utilisé pour mesurer l'activité antioxydante totale dans des substances pures, des fluides corporels et des matériaux végétaux. Miller et Rice-Evans ont rapporté le TEAC des jus d'orange et de pomme et de la boisson au cassis (Ribena), ainsi que la contribution des antioxydants phénoliques individuels.

1.2 L'activité antibactérienne

La première découverte de l'action des huiles essentielles contre les bactéries remonte à 1881, grâce aux travaux de Delacroix (**Boyle, 1995**). Depuis lors, de nombreuses huiles ont été reconnues comme ayant des propriétés antibactériennes. (**Burt, 2004**)

Ces huiles essentielles ont un large spectre d'action, agissant contre différents types de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cependant, l'efficacité varie d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalembe, 2003 ; Oussou, 2009 ; Avlessi, 2012**). Elles peuvent avoir des effets bactéricides ou bactériostatiques (**Oussou et al. 2009**). L'activité antibactérienne dépend principalement de la composition chimique de ces huiles, notamment de la nature de leurs composés volatils principaux. (**Sipailiene et al. 2006 ; Oussou, 2009**)

Certaines huiles essentielles peuvent inhiber la croissance des bactéries résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques. En 2009, Oussou a étudié les propriétés antibactériennes de quelques huiles essentielles issues de la pharmacopée traditionnelle ivoirienne, telles que

Ocimumgratissimum, *Ocimumcanum*, la *Xylopiiathiopica*, le *Citrus aurantifolia*, la *Lippiamultiflora* et la *Monanthotaxiscapea*. Les huiles essentielles de ces plantes se sont révélées efficaces contre les bactéries multi-résistantes, en particulier les souches d'E. Coli résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3GR), les souches d'E. Coli produisant des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) et les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM).

Souches bactériennes utilisées

- **Escherichia coli**

Il s'agit de Bacilles Gram Négatifs (BGN) aéro-anaérobies facultatifs, également connus sous le nom de colibacilles. Cette bactérie est prédominante dans la flore intestinale aérobie et peut également être présente au niveau des muqueuses chez l'homme et l'animal. Elle est l'agent pathogène le plus fréquemment isolé dans les infections urinaires. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases sont des bactéries multi-résistantes (BMR) de plus en plus fréquemment détectées en pratique clinique.

- **Staphylocoques**

La souche la plus fréquente est le Staphylocoque doré, qui se trouve habituellement dans les fosses nasales et sur les mains des individus en bonne santé. Ce genre de bactérie est responsable d'infections cutanées et muqueuses, ainsi que de septicémies. Les *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline font l'objet d'une surveillance régulière et font partie des bactéries multi-résistantes (BMR) qui suscitent de plus en plus d'inquiétudes au sein de la communauté scientifique.

La plupart des souches de *Staphylococcus* résistant à la pénicilline (SARM) ont la particularité d'exprimer une toxine spécifique appelée LPV (leucocidine de Panton-Valentine), également connue sous le nom de porogène. Cette toxine forme des pores dans les parois cellulaires et est capable de tuer certaines cellules du système immunitaire, telles que les macrophages.

Mécanisme d'action de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

Plus récemment, certaines études ont commencé à examiner spécifiquement l'action des huiles essentielles (HE) et de leurs composants majoritaires sur les cibles bactériennes (Figure 12). Les principaux mécanismes et sites d'action de différents constituants des HE sont :

- Altération de la paroi cellulaire (précipitation des protéines et des acides nucléiques)
- Altération des protéines membranaires (inhibition de la synthèse des macromolécules, entraînant la mort de la bactérie)
- Dégradation de la membrane cytoplasmique (inhibition de la perméabilité membranaire sélective et détérioration de la membrane, entraînant la perte des constituants cellulaires)
 - Fuite du contenu cellulaire grâce aux caractéristiques hydrophobes des HE
 - Coagulation du cytoplasme
 - Épuisement de la force de mouvement des protons
 - Modification de la morphologie de la cellule bactérienne par absorption et formation d'un film autour de la cellule bactérienne, inhibant les processus de respiration, d'absorption et d'excrétion. (Goetz et Ghedira, 2012 ; Gaborieau, 2014)

Le potentiel antimicrobien des HE est influencé par deux facteurs principaux : la composition chimique de l'HE et le micro-organisme ciblé. **Figure 11**

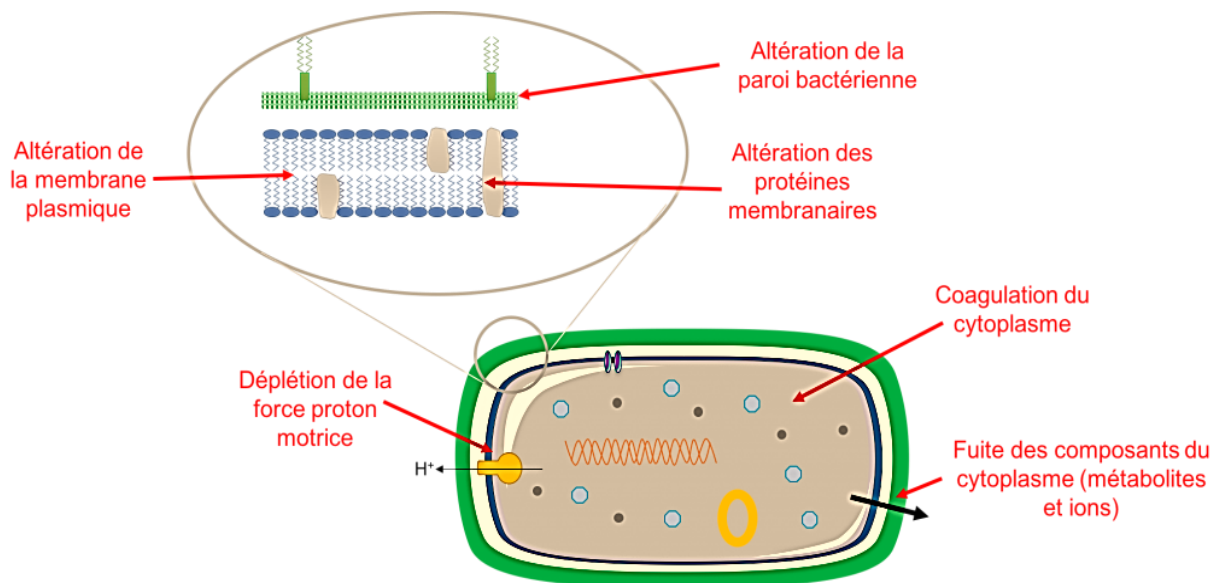


Figure 11 : Sites d’actions des huiles essentielles sur la cellule bactérienne

2 Le masque d’alginate

Les masques faciaux à base d'alginate ont gagné en popularité en raison de leurs effets bénéfiques sur la peau. En plus de fournir une hydratation intense, ils aident à améliorer l'apparence générale de la peau en resserrant les pores, en éclaircissant le teint et en réduisant les signes du vieillissement cutané. De plus, les masques faciaux à base d'alginate sont souvent

utilisés pour apaiser et calmer la peau après des traitements esthétiques tels que les peelings chimiques ou les traitements au laser. (Kaur, 2021)

- **Description**

Le masque facial est formulé en combinant de l'alginate, un polymère extrait des algues brunes, avec de l'huile essentielle d'orange, obtenue à partir des déchets d'orange. Cette combinaison offre une synergie d'ingrédients naturels bénéfiques pour la peau, créant un masque facial unique.

L'alginate, en raison de ses propriétés hydratantes et apaisantes, aide à maintenir l'équilibre hydrique de la peau, réduisant la sécheresse et les irritations cutanées. Il forme également un film élastique sur la peau, offrant un effet raffermissant et aidant à réduire l'apparence des rides et des ridules temporaires.

L'huile essentielle d'orange, quant à elle, présente plusieurs propriétés bénéfiques pour la peau. Elle est riche en antioxydants qui aident à protéger la peau contre les dommages causés par les radicaux libres et à prévenir le vieillissement prématuré. De plus, elle possède des propriétés antimicrobiennes qui aident à maintenir la santé de la peau en inhibant la croissance des bactéries responsables des infections cutanées. L'huile essentielle d'orange contribue également à un teint plus lumineux et à une peau tonifiée.

En combinant l'alginate et l'huile essentielle d'orange, ce masque facial offre une expérience de soin de la peau agréable tout en offrant des bienfaits visibles. Il aide à hydrater, apaiser, raffermir et tonifier la peau, tout en offrant une protection antioxydante et en favorisant un teint éclatant.



Partie Expérimentale

1 Matériel végétal

Au premier lieu de cette partie expérimentale, nous allons extraire l'huile essentiel à partir des zestes frais d'orange (*Citrus sinensis*) à l'aide d'un hydro-distillateur « clevenger »



Figure 12 : Fruit d'agrumes orange *Citrus sinensis*

1.1 Description morphologique de l'espèce *Citrus sinensis*

L'orange utilisée se caractérise par une forme sphérique, un peu ovalisante et de taille moyenne. Sa peau est fine un peu rugueuse et teintée de jaune-orangé. Sa pulpe est parfumée, peu acidulée et juteuse. Elle se trouve sur les marchés de décembre à avril **Figure 22**.

2 Méthode de travail

2.1 Préparation des échantillons

Le matériel végétal ayant fait l'objet de notre étude est constitué de zestes nets d'oranges de variété « Thomson ». Les fruits fraîchement récoltés ont été d'abord nettoyés, lavés et ensuite

séchés avec une serviette en coton avant d'être pesés ensuite frottés à la rappe à fin de récupérer le zeste pure. On a obtenu 200 grammes d'écorces rappés à partir de 3 kg d'orange.



Figure 13 : Photo des zestes d'orange

2.2 Extraction d'huiles essentielles par hydrodistillation

Les zestes des oranges (161g) sont introduits avec 500 ml d'eau dans un ballon de 2000 ml. L'ensemble est porté à ébullition pendant environ 4-5 heures. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de chauffe ballon est avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante bien maîtrisée (BOUSBIA, 2011). Sous l'effet de la chaleur les cellules libèrent leur contenu aromatique qui sera entraîné par la vapeur d'eau en passant par un refroidisseur. Une fois condensées, les gouttelettes d'eau avec l'huile essentielle sont récupérées dans une ampoule à décanter. Deux phases non miscibles

se forment : une phase organique (huileuse) qui flotte au-dessus d'une phase aqueuse (chargée de composés volatils) **Figure 13**

Le liquide recueilli résulte en un distillat avec une couche d'huile mince à la surface qui sera séparer ensuite par décantation.

Pour éliminer les traces d'eau restantes de l'huile essentielle décantée, on utilise du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) (**Hussain et al. 2008**). L'huile essentielle obtenu est récupérée et conservée à 4°C dans des flacons opaques hermétiquement fermé.



Figure 14 : Les différentes étapes d'hydrodistillation

➤ Hydro-distillateur

L'appareil utilisé pour l'hydro-distillation schématisé dans la **figure 14**, est un hydrodistillateur constitué d'un chauffe ballon, un ballon en verre, une colonne de condensation de la vapeur, une ampoule à décanter en verre.

Le principe fondamental de l'hydrodistillation, ainsi que de la distillation par entraînement à la vapeur d'eau, repose sur l'équilibre délicat entre les tensions de vapeur individuelles de chaque constituant d'un mélange et la pression d'évaporation nécessaire pour atteindre la température d'ébullition. Cette pression d'évaporation est généralement inférieure aux points d'ébullition des substances pures. Par conséquent, lors de la distillation du mélange azéotrope "eau + huile essentielle", il est possible d'atteindre une température de 100°C à pression atmosphérique, bien que les composés aromatiques présents aient des températures

d'ébullition majoritairement élevées (**Baker et al., 2000 ; Lucchesi, 2005 ; Donelian et al., 2009**). **Figure 14**

Détermination du rendement d'extraction

Le rendement en huile essentielle (R%), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). le calcul du rendement est donné par la formule suivante :

$$\text{Le rendement d'extraction (R\%)} = (M' / M) \times 100$$

Où

M' : est la masse des huiles essentielles obtenues après extraction en g.

M : est la masse de zeste d'orange utilisée en g.

2.3 Mesure de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

a. Principe

La détermination de l'activité antibactérienne a été effectuée à l'aide de **la technique de l'aromatogramme**, une méthode sophistiquée. Elle consiste à diffuser des disques imprégnés d'huile essentielle sur un milieu solide préalablement inoculé avec la souche bactérienne cible, dans le but de déterminer sa sensibilité ou sa résistance à cette huile (**Mayachiew & Devahastin, 2008**).

b. Microorganismes testés

Le nombre de microorganismes testé, lors de cette étude est de 02 souches bactériennes (Gram+ et Gram-), qui appartiennent aux familles : Staphylococcus aureus et Escherichia coli, provenant de la collection du laboratoire de microbiologie du Centre de recherche en Biotechnologie.

c. Préparation des suspensions microbiennes

Pour ce faire, chaque souche bactérienne a étéensemencée sur une gélose Mueller-Hinton, puis incubée à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures, afin d'obtenir des colonies bactériennes jeunes et bien isolées. Par la suite, des suspensions de chaque souche

(contenant environ 10^8 UFC/ml) ont été préparées en transférant une à deux colonies distinctes dans des tubes contenant 10 ml d'eau distillée stérile, à l'aide d'une anse de platine.

d. Protocole

Les milieux de culture ont été ensemencés avec les suspensions bactériennes en utilisant un écouvillon, assurant ainsi une répartition homogène sur toute la surface de la gélose. Par la suite, dans des conditions aseptiques rigoureuses, des disques de papier Whatman imprégnés avec 20 μ L d'huile essentielle d'orange ont été déposés sur l'agar précédemment inoculé avec les souches bactériennes.

À titre de contrôle positif, l'antibiotique gentamicine (25 μ g/disque) a été utilisé. Après une pré-incubation d'une heure à une température de -4°C , les boîtes de Petri ont été ensuite placées en incubation à une température de 37°C , pour une durée de 18 à 24 heures. Les zones d'inhibition entourant chaque disque ont ensuite été mesurées.

Dans la littérature spécialisée concernant les huiles essentielles, les résultats de l'aromatogramme sont généralement exprimés exclusivement en fonction du diamètre des zones d'inhibition. Ensuite, les bactéries considérées comme sensibles à l'huile essentielle ont été sélectionnées pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration de l'huile essentielle capable d'inhiber la croissance bactérienne.

2.4 Mesure de l'activités anti-oxydante

Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

Le teste de DPPH est le plus ancien des tests indirects pour détermination de l'activité antioxydante. Le DPPH a été suggéré la première fois en 1950 comme un produit naturel donneur de proton Plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques individuels et de la nourriture ainsi que des échantillons d'intérêt biologique (Roginsky et Lissi, 2005).Le radical DPPH porte une couleur pourpre foncé est c'est l'un des rares radicaux d'azote organique stable.

a. Principe

Le principe du test consiste à l'addition du radical DPPH• à une solution éthanolique (ou méthanolique) contenant un composé potentiellement antioxydant et pouvant céder un

atome d'hydrogène qui entraîne une diminution de la coloration violette caractéristique de l'apparition de la forme réduite du DPPH.

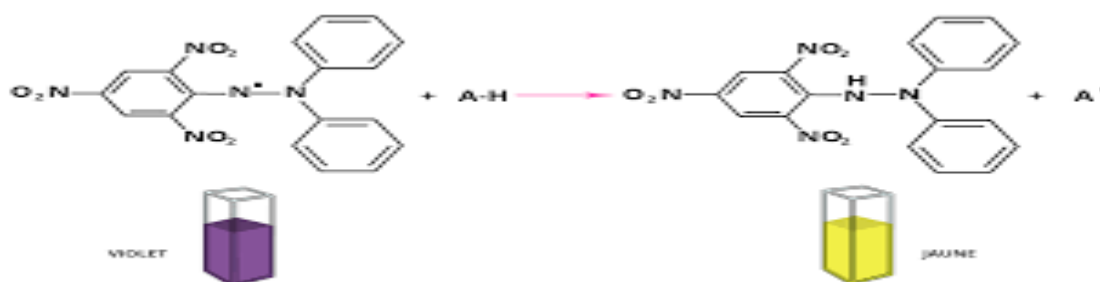


Figure 16 : Mécanisme de la réaction de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) avec un antioxydant.

b. Préparation de l'échantillon

Une quantité de 4 milligrammes de l'extrait a été dissoute dans 1 ml du méthanol (Solution mère de 4000 ppm), c'est à partir de cette dernière qu'une série de dilution de 1/2 a été préparée. Une série de dilution (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) ont été préparées pour l'extrait sachant que tous les extraits ainsi que les standards ont été préparés de la même manière.

c. Protocole

L'activité antiradicalaire a été mesurée selon le protocole décrit par Blois, 1958 avec de légères modifications. Un volume de 40 µl de différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que l'antioxydant standard (BHA et BHT), est déposé dans chaque puits, 160 µl de la solution méthanolique de DPPH (0,1 mM) est ajouté par la suite. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en ajoutant 40 µl du méthanol à 160 µl de la solution méthanolique de DPPH. Après incubation à température ambiante à l'obscurité pendant 30 min, l'absorbance est mesurée à 517 nm. Les tests sont pratiqués en triplicata.

Le pourcentage de l'activité antiradicalaire de DPPH a été calculé comme suit :

$$\% \text{ AA} = \frac{[\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}]}{\text{Abs contrôle}} \times 100$$

Test de l'activité antiradicalaire pour le radical ABTS+•

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un radical libre et stable très utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants

classiques de type phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans et al 1995).

a. Principe

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un cation radicalaire facilement formé par oxydation en présence de persulfate de potassium pour donner une solution colorée en vert-bleu (Re et al, 1999).

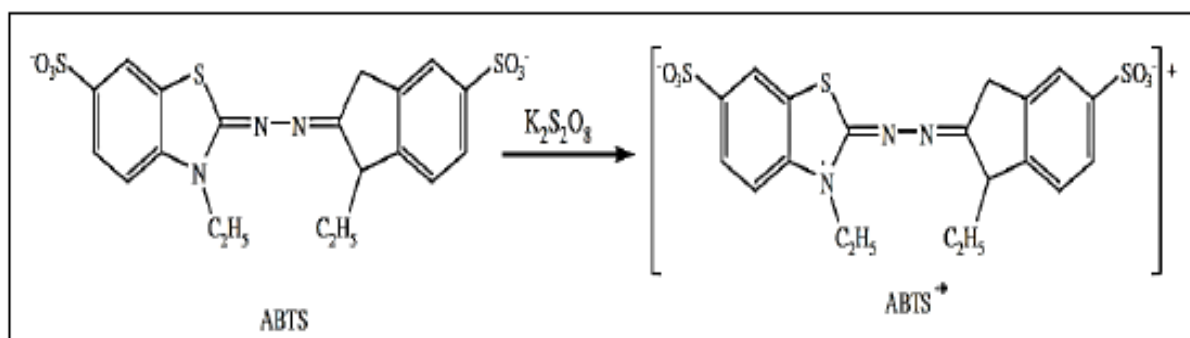


Figure17 : oxydation de l'ABTS par le persulfate de potassium et génération de ABTS+• (Gülçin, 2012)

La concentration de ce radical peut être déterminée en mesurant l'absorbance à la longueur d'onde appropriée. L'addition d'un antioxydant à une solution de ce cation radicalaire entraîne la réduction de ce radical et une diminution de l'absorbance mesurable à 734 nm.

Cette diminution dépend de l'activité antioxydante des composés testés mais souvent aussi du temps et de la concentration (Re et al, 1999). –

b. Préparation de l'échantillon

Le protocole de dilution des extraits et des standards (BHT et BHA) et celui utilisé pour l'activité DPPH..

c. Protocole

Cette activité est déterminée selon la méthode de Re et al (1999) avec des volumes ajustés pour une manipulation sur microplaque de titration. Le cation radicalaire ABTS+• est généré en mélangeant 5 ml de la solution aqueuse d'ABTS (7 mM) avec le persulfate de potassium à 2,45 mM (concentration final dans le mélange), le tout est conservé à l'abri de la lumière et à + 4 °C durant 16 h avant l'utilisation. La solution obtenue est diluée avec le méthanol pour obtenir une absorbance de $0,7 \pm 0,020$ à 734 nm. 160 µl de cette solution fraîchement préparée sont

ajoutés à 40 µl de différentes concentrations de chaque échantillon ainsi que les antioxydants standards BHA et BHT. Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'échantillon par le méthanol. Après 10 minutes d'incubation, l'absorbance est mesurée à 734 nm en utilisant le lecteur de microplaque. Le pourcentage de l'activité antiradicalaire est calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% \text{ AA} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100$$

2.5 Encapsulation des huiles essentielles

L'encapsulation est une procédure fréquemment utilisée comme une méthode efficace permettant de prévenir la dégradation des produits (oxydation et hydrolyse) pendant les processus de transformation et de stockage.

Préparation d'alginate de sodium

L'alginate est un composant considéré comme l'un des biopolymères les plus polyvalents. Ce polysaccharide a été identifié comme un composant structurel présent dans les algues brunes marines

A l'aide d'une balance électronique on pèse 1g d'alginate de sodium et on ajoute 100 ml d'eau distillé avec une agitation, ensuite on ajoute 1ml de l'huile essentielle d'écorce d'orange.

Préparation de la solution chlorure de calcium

A l'aide d'une balance électronique on pèse 1g de CaCl₂ et ajouter 100ml d'eau distillé sous agitation.

a. Protocole

Dans une burette on ajoute 25 ml d'alginate de sodium préparé et dans un bécher contenant la prise d'essai de CaCl₂. L'alginate de sodium est versé progressivement sur dans la solution

de chlorure de calcium pour former des billes d'alginate renfermant l'huile essentielle. Ces billes d'alginate récupérées par filtration seront conservées à froid (4°C) dans des boîtes stériles.



Figure 18 : Photo de la réalisation du dosage.

2.6 Préparation du masque

a. Matériel

4-10g d'alginate de sodium

100ml d'eau distillé

1-2ml d'huile essentielle d'écorce d'orange

Agitateur magnétique chauffant avec barreau magnétique

Burette graduée

b. Protocole

On mélange 4-10g d'alginate avec 100ml d'eau distillé à l'aide d'agitateur magnétique à température 50°C. Jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Après refroidissement du gel On ajoute quelques gouttes d'huiles essentielles d'écorce d'orange et on mélange.

Méthodes des analyses physico-chimique et microbiologique

- **Physico-chimique**

Tableau 3 : Méthodes des paramètres physico-chimiques

paramètres	Méthodes
odeur	Appréciation olfactive
couleur	Appréciation visuelle
consistance	Appréciation visuelle
pH	NA 367 (pH mètre)
Densité	Pycnomètre

- **Microbiologique**

Tableau 4 : Méthodes des analyses microbiologiques

Déterminations	Méthodes (Milieux)
Micro-organisme aérobies mésophiles totaux	NA ISO 21149 NA 8287
Levures et moisissures	NA ISO 16212
<i>Staphylococcus aureus</i>	NA ISO 22718 NA 14809
<i>Escherichia coli</i>	NA ISO 21150 NA 14808
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NA ISO 22717
<i>Candida albicans</i>	NA ISO 18416

Résultats et discussion

Nous présentons dans cette partie nos résultats obtenus ainsi que leurs interprétations

3 Rendement d'huile

L'extraction des huiles essentielles d'orange (*Citrus sinensis*) par hydro-distillation, cette technique a permis d'avoir une huile liquide de couleur transparente et d'odeur caractéristique du zeste d'Orange très forte, avec un rendement de 6.6% calculé par la loi $(R\%) = (M'/M) \times 100$, Les résultats obtenus dans ce travail sont plus élevés que ceux des variétés jaffa (1,48%) et de washington (1,04%). (Lagha-Benamrouch et al.2016)

4 Aromatogramme d'huile de *Citrus sinensis*

Les observations effectuées sur l'effet d'huile de *Citrus sinensis* sur la croissance des souches microbiennes testées : *Echerichiacoli*, *Staphylococcus aureus* sont les suivantes :



Figure 19 : Résultat antibactérien des deux souches

Les espèces	Les dimensions
<i>Escherichia coli</i>	29mm/28mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	21mm/27mm

Les résultats d'aromatogramme obtenus à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton révèlent que l'activité antibactérienne d' H.E testée seule est en fonction de la bactérie cible. Le résultat de l'activité antimicrobienne de l'HE de la station OF révèle une sensibilité modérée de *S. aureus*.

Les résultats ont montré aussi que l'H.E de *Citrus sinensis* à présenté une EBHE (effet bactéricide des huiles essentielles) contre *E.coli*, *Staphylococcus aureus* dont le diamètre de la zone d'inhibition est d'environ $29 \pm 0,1$ mm pour *E.coli* et 21 ± 6 mm nos résultats sont supérieurs à celles trouvés par **Himed L. et ses collaborateurs en 2016**. Qui ont marqué les valeurs suivantes $9.5 \pm 0,1$ et $13,33 \pm 1,52$ pour les mêmes espèces.

5 L'activité Anti-oxydante de l'huile essentielle de *Citrus sinensis*

5.1 DPPH

Les nombreuses propriétés naturelles des huiles essentielles en font des agents de conservation très prometteurs pour l'industrie alimentaire. Dans le but d'avoir une meilleure activité d'huiles essentielle de Citrus, le principal objectif de ce travail consiste à déterminer le pouvoir antioxydant de cette huile par la méthode de DPPH et ABTS.

Tableau 5 : Evaluation de l'activité anti radicalaire (DPPH)

Products	Pourcentage inhibition du DPPH						
	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/mL
Huile de Citrus	2.12± 0.54	4.47 ±0.97	7.20± 6.68	10.10 ±3.03	11.06 ±0.26	18,09±1.34	>800
BHA^b	79,89±0,26	81,73±0,10	84,18±0,10	87,13±0,17	89,36±0,19	90,14±0,00	6.14±0.41
BHT^b	72,63±2,06	88.73±0,89	94.00±0,31	94.97±0,08	95.38±0,41	95.02±0,23	12.99±0.41
α-Tocopherol^b	81,53±1,51	89,23±0,12	89,38±0,19	89,45±0,22	89,99±0,23	89,52±0,33	13.02±5,17

L'activité anti radicalaire (DPPH) a été évaluée par leur activité inhibitrice sur une solution méthanolique de DPPH, mesurée à 517 nm. Les standards utilisés sont les BHA, BHT et alpha-Tocopherol. Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des extraits (Figure 20).

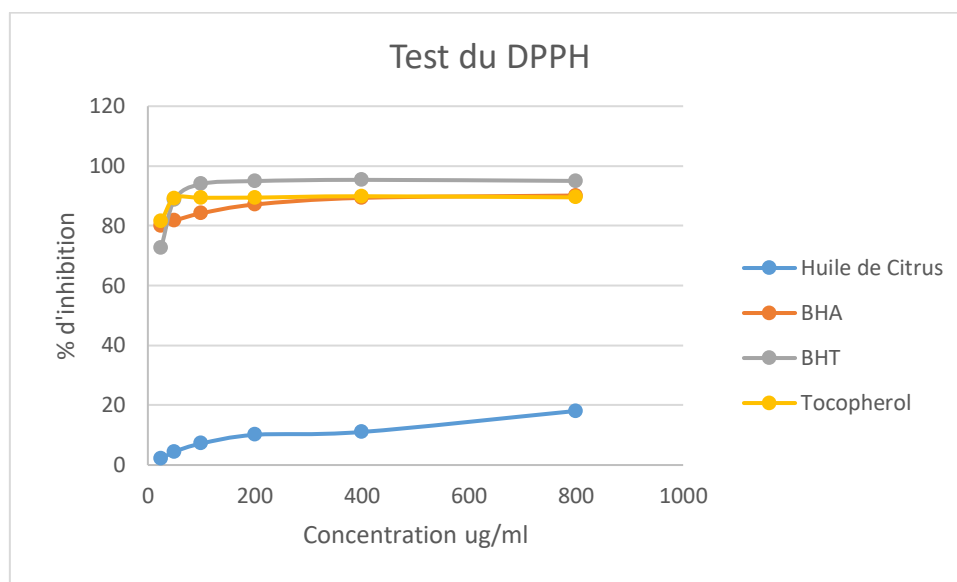


Figure20 : Courbe de pourcentage d'inhibition du DPPH

Selon la figure 20 l'huile essentielle de citrus possède une activité anti radicalaire dose dépendante. D'après le résultat obtenu par le test DPPH, on constate que l'huile essentielle de citrus possède une très faible activité antioxydante par rapport aux standards mais la meilleure valeur $18,09 \pm 1.34$ a été enregistrée pour une concentration d'huile essentielle $800 \mu\text{g/ml}$.

L'activité antioxydante est attribuée à la composition chimique des HEs : caroténoïdes, polyphénols et acides phénoliques (les acides galliques, vanillique, salicylique, caffeique, procatechique). Cependant, elle peut être due à l'un des constituants majoritaires ou à d'autres constituants minoritaires ou également à une synergie entre eux. Dans une étude antérieure sur les HEs avec une prédominance monoterpénique il a été démontré, que l'activité antioxydante était relativement modérée (**Lagha-Benamrouch et al.2016**)

6 Analyses Physico-chimique du masque

Le mélange préparé pour notre masque facial proposé comme un produit cosmétique à base d'alginate de sodium et enrichie par l'huile essentielle d'écorce d'orange a montré les caractéristiques suivantes : un liquide dense (1.022) à une odeur caractéristique et une couleur

blanche nacrée avec un pH 9.17. Les valeurs de ces résultats semblent satisfaisantes pour l'utilisation faciale du masque.

7 Analyses Microbiologique du masque

Le tableau 6 révèle des résultats qui semblent dans l'énorme de la présence microbienne de différents micro-organismes aérobie mésophiles totaux et des levures et moisissures, par contre nous avons enregistré l'absence des souches suivantes *Staphylococcus aureus* *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*. l'activité antimicrobienne de certaines Hes pourrait être attribuée à la présence des composés mineurs présents à faible taux tels que : le nérol, , géraniol, myrténal et eugénol. Ces derniers, agissent en synergie ce qui permet une activité plus importante que celle obtenue par les composés majoritaires.

Tableau 6 : Résultats des analyses microbiologiques

Déterminations	Résultats	Unité	Spécification
Micro-organisme aérobie mésophiles totaux	3,3.10 ²	Ufc /ml	10 ³ -2.10 ³
Levures et moisissures	1,8.10	Ufc /ml	≤10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Ufc /ml	Abs
<i>Escherichia coli</i>	Abs	Ufc /ml	Abs
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Abs	Ufc /ml	Abs
<i>Candida albicans</i>	Abs	Ufc /ml	Abs

Cependant la détermination de l'efficacité des HE sur les agents microbiens reste difficile à réaliser, à cause de certains paramètres externes incontrôlables tels que la composition des HE, qui varie selon les conditions environnementales et pédologiques au sein d'une même espèce.

Conclusion et perspectives

Les objectifs de ce travail ont consisté en la réalisation, et la préparation d'un masque facial à base d'alginate et d'huiles essentielles (HE) d'écorce d'orange (*Citrus sinensis*). Cette étude a permis de mettre en évidence certaines caractéristiques et activités spécifiques ; tel que les HE des agrumes qui sont des substances aromatiques, d'une composition chimique complexe. L'extraction par hydrodistillation a permis d'obtenir un rendement en HE de 6.6%. Les travaux menés par notre étude ont permis de mettre en évidence aussi l'activité antibactérienne et antioxydante des HE de *C. sinensis* qui a exercé une activité antibactérienne sur les souches étudiées ; qu'elles soient Gram négatif (*E. coli*) ou Gram positif (*S. aureus*).

En ce qui concerne l'activité anti radicalaire, les HE ont présenté une activité modérée. D'après le résultat obtenu par le test DPPH, on constate que l'huile essentielle de citrus possède une très faible activité antioxydant par rapport aux standards mais la meilleure valeur est de $18,09 \pm 1.34$ a été enregistrée pour une concentration d'huile essentielle $800 \mu\text{g/ml}$. Les résultats obtenus ont montré une activité antibactérienne d'huiles essentielles d'écorce d'orange sur les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ce qui suggère que cette formulation pourrait potentiellement contribuer à la lutte contre les infections bactériennes cutanées.

Pour les caractéristiques physiques du masque facial, il a été observé que le produit du masque présentait une texture de liquide dense, avec un pH de 9,17 et une densité de 1,022. De plus, il avait une couleur blanc nacré et une odeur caractéristique due à l'huile essentielle d'écorce d'orange. Enfin, Ces résultats fournissent une base solide pour des recherches ultérieures visant à améliorer la formulation du masque facial et à explorer ses applications potentielles dans le domaine des soins de la peau.

En perspectives, nous envisageons la réalisation d'une étude plus poussée de l'activité antimicrobienne en testant l'effet des HE sur d'autres souches microbiennes et fongiques. Il serait également intéressant d'élargir le panel des tests d'activités antioxydantes (FRAP, ABTS, test β -carotène, etc.). Comme le limonène est le monoterpène hydrocarboné le plus abondant dans les déchets d'oranges. Il serait aussi intéressant d'envisager autres applications comme produits industriels naturels dans de nombreux secteurs : la pharmacie, la cosmétique et les parfums.

Résumé

Notre travail a pour but la préparation d'un masque facial innovant à base d'alginate et d'huiles essentielles d'écorce d'orange (*Citrus sinensis*) extraite des déchets d'orange en Algérie. Ce masque est caractérisé par l'odeur, la couleur : blanc nacré, la densité 1.022 le pH 9.17. De ce fait, une extraction des huiles essentielles (HE) par hydrodistillation a été réalisée et un rendement de 6.6% a été obtenu. L'évaluation de l'activité antioxydante par le piégeage du radical libre DPPH, a révélé un pourcentage d'inhibition de **18.09%**. Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré certaine efficacité de l'HE contre la souche *S. aureus* (ATCC25923) avec un diamètre d'inhibition de 21mm et 27 mm .l'effet antibactérien sur les souches *E. coli* (ATCC25922) a marqué un diamètre d'inhibition de 29 et 28 mm. Ces travaux préliminaires permettront une meilleure valorisation des huiles essentielles d'écorce d'orange, qui constituent un produit considérable dans la fabrication de notre masque facial. Les résultats obtenus ont montré aussi une activité antibactérienne d'huiles essentielle d'écorce d'orange sur les souches *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ce qui suggère que cette formulation pourrait potentiellement contribuer à la lutte contre les infections bactériennes cutanées.

Mots clé : Huiles essentielles ; activité antibactérienne ; activité antioxydante ; alginate ; masque facial

Abstract

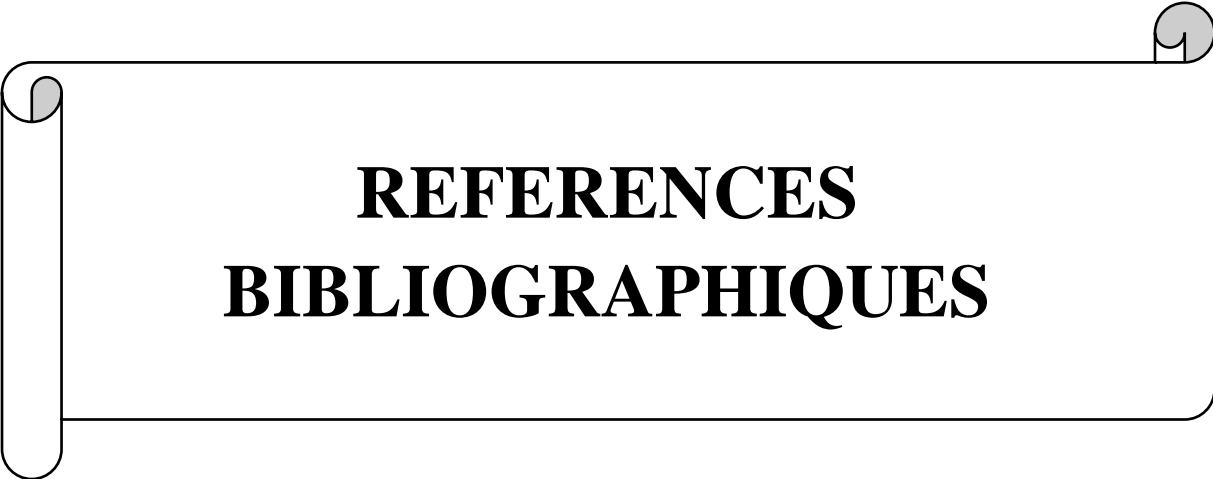
Our work aims to prepare an innovative facial mask based on alginate and orange peel essential oils (*Citrus sinensis*) extracted from orange waste in Algeria. This mask is characterized by its odor, pearly white color, density of 1.022, and pH of 9.17. Therefore, extraction of the essential oils (EO) through hydrodistillation was performed, resulting in a yield of 6.6%. The evaluation of antioxidant activity through DPPH free radical scavenging revealed an inhibition percentage of 18.09%. The results of the antibacterial activity showed certain effectiveness of the EO against the *S. aureus* strain (ATCC25923) with inhibition diameters of 21 mm and 27 mm. The antibacterial effect on the *E. coli* strains (ATCC25922) exhibited inhibition diameters of 29 mm and 28 mm. These preliminary findings will contribute to the better utilization of orange peel essential oils, which are a significant component in the production of our facial mask. The obtained results also demonstrated the antibacterial activity of orange peel essential oils against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains, suggesting that this formulation could potentially contribute to the fight against cutaneous bacterial infections.

Keywords: Essential oils; antibacterial activity; antioxidant activity; alginate; facial mask.

الملخص

يهدف عملنا إلى إعداد قناع وجه مبتكر يعتمد على الألبينات وزيت البرتقال (*Citrus sinensis*) المستخلصة من نفايات البرتقال في الجزائر. يتميز هذا القناع برائحته ولونه الأبيض المشرق وكثافته 1.022 وقيمة الحموضة 9.17. لذلك، تم تنفيذ استخلاص زيوت البرتقال الأساسية بواسطة التقطير بالماء، وتم الحصول على نسبة عائد تبلغ 6.6%. أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام تقنية اصطياد الجذر الحر DPPH نسبة تثبيط قدرها 18.09%. أظهرت نتائج النشاط المضاد للبكتيريا فعالية معينة لزيوت البرتقال الأساسية ضد سلالة *S. aureus* (ATCC25923) بقطر تثبيط يبلغ 21 مم و27 مم. تبين أن التأثير المضاد للبكتيريا على سلالات *E. coli* (ATCC25922) أظهر قطر تثبيط يبلغ 29 مم و28 مم. ستسهم هذه النتائج الأولية في تعزيز الاستفادة الأفضل من زيوت البرتقال والتي تعد مكونًا هامًا في صناعة قناع الوجه الخاص بنا. أظهرت النتائج أيضًا نشاطًا مضادًا للبكتيريا لزيوت قشرة البرتقال ضد سلالات *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*، مما يشير إلى أن هذا التركيب قد يساهم بشكل محتمل في مكافحة العدوى البكتيرية الجلدية.

الكلمات المفتاحية: زيوت أساسية، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة، ألبينات، قناع وجه.

A decorative graphic of a scroll with a black outline and grey shading on the top and bottom edges, containing the section header text.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références

1. ABIB A.,AZIB C. (2022). Etude de l'activité antibactérienne de l'association huile essentielle / huile essentielle et huile essentielle / antibiotique. 69 :3-4.
2. Akal A, et al. Encapsulation des huiles essentielles d'agrumes à base d'acide ascorbique. (2021) . Université médea.
3. Aoudachek ,et al. Caractérisation de l'huile essentielle de l'orange douce variété <<thomson>> et évaluation de son activité antibactérienne et antioxydante . Université Mouloud m'aimera tizi-ouzou. 2019
4. Ariel Singerman , Cost of production for processed oranges in southwest Florida, 2016/ 17 edis.ifes. 2018
5. Benbelli et al. Étude de l'extraction des huiles essentielles et des extraits bruts d'eucalyptus camoldulensis et de postacialentiscus : caractérisation physico-chimique et screening phytochimique .2022 . Université jjjel
6. BOUAKKAZ S,GUESMI O. Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne des huiles essentielles d'orange. Mémoire de master, Université Larbi Tébessi –Tébessa. Vol :84 Page :28. 2019
7. Boukhatem M, et al. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. . Revue agrobiologia , (2019), 9(2).1653-1659
8. Boyle W. (1955). Spices and essential oils as perspectives. American Perfumer Essential Oil Review. 66: 25-28.
9. Burt S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – areview. International Journal of Food and Microbiology. 94: 223-253.
10. Carr, A. C., &Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. Nutrients, 9(11), 1211.
11. Chi Wang, et al.,Research on a Novel Fabry–Perot Interferometer Model Based on the Ultra-Small Gradient-Index Fiber Probe,19(7): 1538. Published online 2019 Mar 29.

12. Dallel M, Isolement et élucidation structurale d'une flavanone, d'un acide phénolique et d'un hétéroside stéroïdique des fleurs de la plante *Anacycluscyrtolepidioides* (Pomel) University of Tunis El Manar October 2010
13. DIDI A , et al . Extraction analyse et encapsulation d'huile essentielle de déchets de citron (*Citrus limon*)et déchets d'orange (*Citrus sinensis*) en vue de leur valorisation .(2021). Université des frères mentouri 1 constantine.
14. Dosoky N , et al . Biological activities and safety of citrus spp.essential oils. Université alabamahuntsville. 2019, 19(7) ,1966.
15. E. Moura, S. Figueiredo, M. Santos-Silva, A. Amaral, "Alginates from marine sources: Extraction and applications as biomaterials," *Bioengineering*, 5(4), 80, 2018.
16. El Kantar, S., 2018. Valorisation des coproduits issus des industries d'agrumes: extraction des molécules bioactives par des technologies innovantes .Thèse de doctorat, Compiègne.
17. Elena Carbone et al. Supporting route learning in older adults: the role of imagery strategy.25(8):1564-1571. 2021 .
18. Elsner, M., et al. (2019). Superoxide dismutase 1 deficiency alters systemic metabolic homeostasis and decreases lifespan in mice. *FASEB Journal*, 33(7), 8554-8563.
19. Françoise et al. Composition chimique des huiles essentielles . 2013. Volume 52 ,pages 22-25.
20. Gaborieau. B. (2014).Etat des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de la Vienne. Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Poitiers. (France) ,98p.
21. Goetz. P et Ghedira .K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition Springer, Paris ,364p.
22. Goulas V., Manganaris, G.A. (2012). Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus. *Food Chemistry*. 131.
23. Grosso, G., et al. (2017). Dietary flavonoids and health: An umbrella review of meta-analyses of randomized controlled trials. *European Journal of Nutrition*, 56(3), 889-903.
24. Guillaum G, la chromatographie en phase gazeuse :principe ,culturescience.chimie . 2017

25. H.A. Moharram(1) & M.M. Youssef(2). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. Alex. J. Fd. Sci. & Technol. Vol. 11, No. 1, pp. 31-42, 2014. 8 June, 2014.
26. Hany N. Extraction des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques et médicinales : la lavande . Projet de fin d'étude . Université sidi mohamed ben Abdullah de fes. 2021.
27. Hilpipe C. Huile essentielle d'orange douce . Passeport santé. 2014
28. K.R. Jage, V.S. Kadam, P.S. Dhavale, P.K. Uniyal, "Formulation and evaluation of skin-lightening activity of essential oil-based cream containing Citrus limon and Citrus sinensis peel oil," International Journal of Cosmetic Science, 36(6), 572-580, 2014.
29. Kalemba D. & Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry. 10: 813-829.
30. Lagha-benamrouche et al .caractéristique chimique des écorce d'orange , identification par GC-MQ et évaluation du pouvoir antioxydant de leurs huiles essentielles .université chlef . 2016.
31. Loizzo, M. R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., De Luca, D., Colica, C., & Menichini, F., 2012. Evaluation of Citrus aurantifolia peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. Journal of the Science of Food and Agriculture, 92(15): 2960-2967.
32. Lucianasarmento Fernández. Valorisation catalytiques des terpènes :métathèse croisée de terpènes et terpénoïdes encombrés. 2021. Université fédéral do ABC . Thèses.fr (2021REN1S073)
33. M. R. Khanmohammadi, A. E. Van Vlierberghe, et al. Alginate-Based Biomaterials for Regenerative Medicine Applications. Materials, vol. 9, no. 10, 2016, pp. 1-28.
34. Marchewka J, et al., Long-term outcomes and complications associated with operative and nonoperative treatment of distal radius fractures. Do we need to restore anatomy to have satisfactory clinical outcome? Folia Med Cracov. 2021;61(1):35-48.
35. Massaid F. Extraction d'huile essentielle à partir des écorces des oranges – modélisation. (2017) . Université Mouloud m'aimera de tizi-ouzou
36. Mecocci, P., et al. (2002). Antioxidants in neurodegenerative disorders: An update. CNS Drugs, 16(5), 291-302.

37. Meydani, M., & Hasan, S. T. (2019). Dietary polyphenols and obesity. *Nutrients*, 11(11), 2664.
38. M'Hiri, N. Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone .Thèse de doctorat, Université de Lorraine. 2015.
39. Michael Antolovich , Paul D. Prenzler , EmiliosPatsalides , Suzanne McDonald and Kevin Robards *. *Methods for testing antioxidant activity*. 2002, 127, 183-198.
40. MOKADDEM S.,BELTOUM M. Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'une plante médicinale. 83 :27. 2021.
41. NabiNazari,et al., Factors associated with insomnia among frontline nurses during COVID-19: a cross-sectional survey study, *BMC Psychiatry*. 2022 July 25; 22: 498.
42. National Institutes of Health, Office of Dietary Supplements. Vitamin C Fact Sheet for Health Professionals.
43. ods.od.nih.gov factsheets VitaminC-HealthProfessional (consulté le 24 avril 2023)
44. O. Martinsen, K. S. Smidsrød, et al. Encapsulation in the Food Industry: A Review. *Food and BioprocessTechnology*, vol. 4, no. 1, 2011, pp. 39-59.
45. Oussou K.R. (2009). Etude chimique et activités biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p
46. Pan L, et al., Combining task-based rehabilitative training with PTEN inhibition promotes axon regeneration and upper extremity skilled motor function recovery after cervical spinal cord injury in adult mice. *Behav Brain Res*. 2021 May 7;405:113197.
47. R. Karimi, S. M. Azizi, et al. Nanoencapsulation of orange essential oil: effect on antimicrobial activity and stability. *Food Science and Technology International*, vol. 22, no. 2, 2016, pp. 173-182.
48. R. Kaur, S. Chakraborty, "Alginate-based sustainable hydrogels for biomedical applications: A review," *International Journal of Biological Macromolecules*, 173, 505-523, 2021.
49. Rao, A. V., & Rao, L. G. Carotenoids and human health. *Pharmacological Research*, 144, 50-60. 2019.

50. S. Bendiabdellah, F.Z. Boukhatem, N. El Feki, "The use of orange essential oil as a natural antimicrobial and antioxidant agent in skincare products," *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 11(2), 1-8, 2019.
51. Sadrzadeh, S. M., & Graf, E. Iron and the liver: Updating the recent advances. *Liver International*, 39(5), 876-893. 2019.
52. Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A. (2006). Antimicrobial Activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *Journal of Essential Oil Research*. 18: 698-703.
53. T. Phan, T. Debeaufort, S. Luu, et al. Alginate-Based Encapsulation of Foods for Targeted Delivery. *Journal of Food Science*, vol. 77, no. 1, 2012, pp. R33-R43.
54. Teuscher E., Anton R., Lobstein A. 2005.
55. *Plantes aromatiques*. Ed. Tec et Doc-Lavoisier, Paris. 544 Pages
56. Turrens, J. F. Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapeutic strategies in aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1462(1), 6-17. 2020.
57. USDA, ARS, National Genetic Resources Program. Germplasm Resources Information Network - (GRIN) [Online Database]. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxon/taxonomysearch.aspx (consulté le 24 avril 2023).
58. Véronique, Lucette COUDERC. Toxicité des huiles essentielles. Toulouse : école nationale vétérinaire Toulouse ; 2001. Core.ac.uk (12039243)



**Business Model Canevas
(BMC)**

BMC : PRODUCTION D'UN MASQUE A BASE D'HUILE ESSENTIEL D'ECORCE D'ORANGE ET D'ALGINATE

Partenaires clés :

Incubateur

- Fournisseur du produit (matière première):
 - Producteurs de déchets d'oranges (usines agroalimentaires, fabricant et extracteurs de jus d'oranges). On associe aux HUILESESENTIELS d'écorce d'orange extraites, L'ALGINATE (extrait d'algue marine brune laminaire), largement employé aujourd'hui et utilisée dans de nombreux domaines, plus particulièrement en cosmétique.
- Fournisseurs de machines utilisées dans ce domaine (extracteur d'huiles essentiels, Clevenger, agitateur thermique, réfrigérateur de laboratoire, tuyauterie et robinetterie de distribution du produit et matériels de laboratoire nécessaire à cette opération,)
- Fournisseurs d'emballage

Activité clé :

- Production de masques faciaux (Bio), à base d'Alginates et d'Huiles essentielles d'écorce d'orange.
- Recherche et développement continu pour améliorer les formules de masques et éventuellement trouver des sous-produits émanant de notre matière première utilisée.
- Commercialisation : Marketing et promotion des produits fabriqués.
- Satisfaction d'un marché local (national) puis exportation à l'extérieur (international).

Ressources clé :

- Matière première : Ramener et préparer les extraits d'algues (Alginates) et d'huiles essentielles (écorces d'oranges).
- Installation de machines de production, d'extraction et de conservation.
- Equipe de recherche et développement pour l'innovation de produits.
- Personnels de marketing et de vente pour promouvoir et distribuer les produits.
- Société de distribution et de transport.
- Agents employés qualifiés pour le bon déroulement de l'entreprise.

Proposition de valeur :

- Production de masques faciaux hydratants et nourrissants, bio, à base d'ingrédients naturels tels que nos huiles essentielles et l'Alginates.

- Amélioration de l'éclat de la peau et de la texture grâce aux propriétés revitalisantes de l'Algate et au bien fait, anti oxydant, de l'huile essentiel d'écorces d'oranges.
- Produit respectueux de l'environnement, non toxique et sans ingrédients artificiels nocifs.
- Usage Bio
- Recyclage de déchets et leur réutilisation.
- Création d'emplois, baisse et diminution de l'importation de l'étranger.

Segment de clientèle :

- Large publique, particuliers et sociaux, de leur bien-être et de leur beauté naturelle.
- Professionnels de la santé publique et privé tel que les dermatologues et esthéticiens.
- Spas, centres de bien-être et salon de beauté.
- Les commerces pharmaceutiques, parapharmaceutiques et de cosmétiques.

Les canaux de distribution :

- Vente en ligne via un site web dédié avec des fonctionnalités de e-commerce.
- Partenariat avec des spas, des centres de bien-être et des salons de beauté pour la vente en personne.
- Présence sur les réseaux sociaux pour promouvoir la marque et attirer les clients.

Relations client :

- B 2 C (business to consumer).
- Offrir un service client réactif et personnalisé via le site web, les médias sociaux et d'autres canaux de communications.
- Recueillir les commentaires des clients et les intégrer dans l'amélioration continue des produits.
- Offrir des conseils d'experts sur la peau et la beauté naturelle via des articles de blog, des vidéos et des séances de questions-réponses en ligne.
- Satisfaction de la demande des clients.

Structures de coûts :

- Achat des machines, des matières premières, des ingrédients et de l'emballage.
- Factures d'électricité, de climatisation, de transport, de bureautique, de location et d'autres charges.

Les revenus :

- Vente directe aux clients via le site web et les canaux de distribution avec les partenaires.
- Vente en gros aux spas, centres de bien-être et salon de beauté.
- Offrir des abonnements mensuels ou des kits d'abonnement pour fidéliser les clients réguliers.
- Les volumes de vente.

