

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad Dahleb Blida 1
Faculté des Sciences



MÉMOIRE DE MASTER
En Chimie

Spécialité : Chimie des produits naturels

Présenté Par
BOUNAIM Abdelraouf
et
JOUCDAR Racha Insaf

**NANO-ENCAPSULATION DE DEUX HUILES
ESSENTIELLES APPARTENANT AU GENRE *ILLICIUM ET*
MYRISTICA ET L'ÉVALUATION DE LEUR ACTIVITÉ
ANTIBACTÉRIENNE**

Soutenu le 04/07/2023 à Blida, devant le jury composé de :

M. A. Abdellah EL HADJ	Professeur	Université Saad Dahleb Blida 1	Président
M. S. SABOUR	Maître de conférences B	Université Saad Dahleb Blida 1	Examineur
M. M.R. ZAH	Maître de conférences B	Université Saad Dahleb Blida 1	Promoteur

Promotion 2022/2023.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme notre formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche.

Nous souhaitons exprimer nos sincères remerciements au président du jury M.A.ABDELLAH EL HADJ notre promoteur M.M.R. ZAHY et à l'examineur M.S.SABOUR leur rôle de supervision, leurs maîtrises et expériences apporteront une valeur ajoutée à l'évaluation de notre travail et nous souhaitons bénéficier de leurs regards attentifs et commentaires constructifs.

D'abord nous souhaitons exprimer notre profonde gratitude envers notre promoteur M.M.R. ZAHY pour son encadrement attentif, ses conseils éclairés et son soutien constant tout au long du parcours de recherche. Sa présence et son expertise ont été inestimables pour mener à bien ce mémoire.

Nous sommes honorés d'avoir bénéficié de son accompagnement et de son expertise, et nous lui sommes profondément reconnaissants pour le soutien tout au long de ce parcours académique.

Nous sommes également reconnaissants envers la doctorante Mlle.R .LAROUCI sa contribution précieuse a fait toute la différence dans la réalisation de notre mémoire.

DÉDICACES

À mes chers parents, Ismail et Sihem

En témoignage de ma gratitude, si grande qu'elle puisse être, pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon bien être et le soutien qu'ils m'ont prodigué tout le long de mon éducation. Que dieu les préserve et les procure santé et longue vie.

À mon frère Hamza , ma sœur Wanissa , mon beau-frère Takieddine et ma petite sœur Ritadj.

Pour leur encouragement et leur bonté qu'ils m'ont accordé, j'exprime ma profonde reconnaissance et mon grand respect.

Aux meilleurs amis : Ramzi , Khalil , Yacine , Wissem et Fouzi.

Qu'ils trouvent en ce travail, l'hommage de ma gratitude, qu'aucun mot ne saurait l'exprimer, pour leur accompagnement durant ces longues années.

À mon binôme Insaf

Ensemble, nous avons relevé les défis, surmonté les obstacles et partagé les joies de cette aventure. Je suis énormément reconnaissant à ta capacité à relever tous les défis qui se sont présentés à nous et qui ont été la base de notre réussite. Merci énormément

A ma Promo

Pour les moments de joie et d'ambiance passer ensemble.

À toute ma famille, mes amis et tous ceux que j'aime.

Je dédie ce travail, expression de mon grand amour avec tous mes vœux de bonheur et de prospérité.

-BOUNAIM Abdelraouf

Abstract

This study sheds light on the extraction and determination of the physicochemical properties, as well as the optimization of the conditions for the preparation of a nano-emulsion based on two essential oils of species belonging to the genera *Illicium* and *Myristica* and the evaluation of their antimicrobial activity. The essential oils are extracted by hydrodistillation, with an average yield of around 5% for each of them. The results demonstrate that these essential oils have antioxidant power due to the presence of phenolic compounds, and that they exhibit antimicrobial properties. The results show that the range of minimum inhibitory concentrations (MIC) of the essential oil from the *Illicium* species is between 0.625 and 2.5 uL/mL, those of *Myristica* species is between 1.25 and 5 uL/mL against strains *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. The evaluation highlights the potential of the nano-emulsion, by optimizing certain parameters to obtain transparent and stable formulations. Two formulations composed one of 10% of tween 80, 2% of essential oil of the species belonging to the genus of *Illicium* and the other of 3% of essential oil belonging to the genus *Myristica*, mixed with distilled water and propylene glycol as a surfactant. The results of the dynamic light scattering test showed a typical autocorrelation curve indicating an average particle size of 31.6 nm for the first formulation and an average particle size of 6.34 nm for the second formulation.

These adjustments and according to the method of micro-dilution in liquid medium did not show an improving effect on the antimicrobial activity against the strains tested, but they showed an acceptable inhibitory effect. However, they improved the physico-chemical aspect of essential oils. The insights gained from this study contribute to the knowledge base on the use of essential oils in the food, pharmaceutical and cosmetic fields, where their antimicrobial activity can be effectively harnessed.

Keywords: nanoemulsion, antimicrobial activity, essential oils, *Illicium*, *Myristica*.

ملخص

تلقي هذه الدراسة الضوء على استخلاص وتحديد الخواص الفيزيائية والكيميائية ، وكذلك تحسين شروط تحضير مستحلب وتقييم مضادات *Myristica* و *Illicium* النانو بناءً على نوعين من الزيوت الأساسية من الأنواع التي تنتمي إلى أجناس الميكروبات الخاصة بهم. نشاط. يتم استخلاص الزيوت العطرية عن طريق التقطير المائي ، بمتوسط عائد يبلغ حوالي 5٪ لكل منها. أظهرت النتائج أن هذه الزيوت الأساسية لها قوة مضادة للأكسدة بسبب وجود المركبات الفينولية ، وأنها تظهر للزيت العطري من (MIC) خصائص مضادة للميكروبات ، وأظهرت النتائج أن نطاق الحد الأدنى من التركيزات المثبطة لأنواع الإليسيوم يتراوح بين 0.625 و 2.5 ميكرو لتر / مل ، تلك الخاصة بأنواع ميريسيتكا تتراوح بين 1.25 و 5 ميكرو لتر / مل ضد سلالات العسوية الرقيقة ، المكورات العنقودية ، الليستريا المستوحدة ، الإشريكية القولونية ، الزائفة الزنجارية والمبيضات البيضاء. يسלט التقييم الضوء على إمكانات مستحلب النانو ، من خلال تحسين بعض المعلمات للحصول على تركيبات شفافة ومستقرة. تتكون صيغتان من 10٪ من توين 80 ، و 2٪ من الزيت العطري للأنواع التي ، ممزوجًا بالماء *Myristica* والأخرى من 3٪ من الزيت العطري الذي ينتمي إلى جنس *Illicium* تنتمي إلى جنس المقطر والبروبيلين جليكول كمادة خافضة للتوتر السطحي . أظهرت نتائج اختبار تشتت الضوء الديناميكي منحني ارتباط ذاتي نموذجي يشير إلى متوسط حجم جسيم قدره 31.6 نانومتر للصيغة الأولى ومتوسط حجم جسيم قدره 6.34 نانومتر للصيغة الثانية.

هذه التعديلات ووفقاً لطريقة التخفيف الدقيق في الوسط السائل لم تظهر تأثيراً محسناً على النشاط المضاد للميكروبات ضد السلالات المختبرة ، لكنها أظهرت تأثيراً مثبتاً مقبولاً. ومع ذلك ، فقد قاموا بتحسين الجانب الفيزيائي والكيميائي للزيوت الأساسية. تساهم الرؤى المكتسبة من هذه الدراسة في قاعدة المعرفة حول استخدام الزيوت الأساسية في مجالات الأغذية والأدوية ومستحضرات التجميل ، حيث يمكن تسخير نشاطها المضاد للميكروبات بشكل فعال.

الكلمات المفتاحية: مستحلب نانوي ، نشاط مضاد للميكروبات ، زيوت عطرية ، إليسيوم ، ميريسيتكا

RÉSUMÉ

Cette étude met en lumière l'extraction et la détermination des propriétés physico-chimiques, ainsi que l'optimisation des conditions de préparation d'une nano-émulsion à base de deux huiles essentielles des espèces appartenant aux genres *Illicium* et *Myristica* et l'évaluation de leur activité antimicrobienne. Les huiles essentielles sont extraites par hydrodistillation, avec un rendement moyen d'environ 5% pour chacune d'entre elles. Les résultats démontrent que ces huiles essentielles possèdent un pouvoir antioxydant grâce à la présence de composés phénoliques, et qu'elles présentent des propriétés antimicrobiennes, les résultats montrent que la gamme des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle provenant de l'espèce *d'Illicium* se situe entre 0,625 et 2,5 uL/mL, celles de l'espèce de *Myristica* se situe entre 1,25 et 5 uL/mL contre les souches *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. L'évaluation met en évidence le potentiel de la nano-émulsion, en optimisant certains paramètres pour obtenir des formulations transparentes et stables. Deux formulations composées une de 10% de tween 80, 2% d'huile essentielle de l'espèce appartenant au genre *d'Illicium* et l'autre de 3% d'huile essentielle appartenant au genre *Myristica*, mélangées à de l'eau distillée et du propylène glycol comme tensioactif. Les résultats du test de diffusion dynamique de la lumière ont montré une courbe d'autocorrélation typique indiquant une taille moyenne de particules de 31,6 nm pour la première formulation et une taille moyenne de particules de 6,34 nm pour la deuxième formulation.

Ces ajustements et selon la méthode de micro-dilution en milieu liquide n'ont pas montré un effet améliorant sur l'activité antimicrobienne vis-à-vis aux souches testées, mais ils ont montré un effet inhibiteur acceptable. Cependant, ils ont amélioré l'aspect physico-chimique des huiles essentielles. Les perceptions acquises grâce à cette étude contribuent à la base de connaissances sur l'utilisation des huiles essentielles dans les domaines agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, où leur activité antimicrobienne peut être exploitée de manière efficace.

Mots clés : nanoémulsion, activité antimicrobienne, huiles essentielles, *Illicium*, *Myristica*.

Liste des abréviations

A: Absorbance

ATCC : American Type Culture Collection

CMI : concentration minimale inhibitrice

DLS : Diffusion dynamique de la lumière.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

ES : Emulsifications Spontanées

EtOH : Ethanol

g : Gramme

H : Heure

H⁺ : Proton

HCL : Chlorure d'hydrogène (acide chlorhydrique)

HE : Huile essentielle

IC₅₀: La concentration inhibitrice médiane

Is : Indice de saponification

KHZ : Kilohertz

KOH : L'hydroxyde de potassium

LB : Milieu Luria-Bertani

LBL : stabilisation couche par couche

M: Masse molaire

mg/mL : Milligramme par millilitre

min : Minute

mL : Millilitre

nm: Nanomètre

SAXS : Diffusion des rayons X aux petits angles

SOD : super-oxyde dismutase

t : temps

THZ : Terahertz

Tween 80 : (polysorbate80) tensioactif non ionique

USDA : Département de l'Agriculture des États-Unis

V : Volume

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius.

µL/mL : Microlitre par millilitre

Liste des figures

Figure I.1	Dispositif expérimental de l'hydrodistillation type clevenger.....	3
Figure I.2	Schéma descriptif du processus de distillation à la vapeur d'eau.....	4
Figure I.3	Représentation des molécules de limonène, carvone, géraniol et l'acétate de bornyle	5
Figure I.4	Photo de <i>Illicium verum</i>	8
Figure I.5	Photo de <i>Illicium floridanum</i>	8
Figure I.6	Description morphologique de <i>Myristica argentea</i>	11
Figure I.7	Schéma d'une micelle directe formée par une huile en solution aqueuse	12
Figure I.8	Principe de fonctionnement de l'homogénéisation à haute pression	13
Figure I.9	Processus de micro-fluidisation	13
Figure I.10	Composants d'un ultrason	14
Figure I.11	Illustration du phénomène d'émulsification spontané	15
Figure I.12	Illustration de la température d'inversion de phase	15
Figure I.13	Illustration des différents phénomènes de déstabilisation	18
Figure II.1	Dispositif d'extraction Clevenger	20
Figure II.2	Un pycnomètre pour mesurer la densité des huiles essentielles.....	26
Figure II.3	Les valeurs du pH mesurés par le pH mètre	26
Figure II.4	Solution limpide formée après la dissolution des HES d' <i>Illicium</i> et de <i>Myristica</i> dans l'EtOH	27
Figure II.5	Indice de saponification, décoloration de la solution après le titrage	28
Figure II.6	Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique en fonction de sa concentration	30
Figure II.7	Pourcentage d'inhibition de l'HE d' <i>Illicium</i> en fonction de sa concentration.....	31
Figure II.8	Pourcentage d'inhibition de l'HE d' <i>Myristica</i> en fonction de sa concentration	31
Figure II.9	Test du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique	32
Figure II.10	Test du pouvoir réducteur de l'HE d' <i>Illicium</i>	32
Figure II.11	Test du pouvoir réducteur de l'HE de <i>Myristica</i>	33
Figure II.12	Appareil de Diffusion Dynamique de la lumière	35
Figure II.13	Aspect des formulations 1,2 et 3 de l'HE d' <i>Illicium</i> préparées	37
Figure II.14	Aspect de la formulation 1 de l'HE de <i>Myristica</i> préparée.....	37
Figure II.15	Formulations optimales choisies des HES de <i>Myristica</i> et <i>Illicium</i>	38
Figure II.16	Courbe de diffusion dynamique de la lumière des nanoparticules de l'HE de l' <i>Illicium</i> .	38
Figure II.17	Courbe de diffusion dynamique de la lumière des nanoparticule de l'HE de <i>Myristica</i> ..	40
Figure III.1	Représentation de la méthode de micro-dilution en milieu liquide.....	43

Liste des Tableaux

Tableau II.1 : Propriétés organoleptiques des HEs de l' <i>Illicium</i> et <i>Myristica</i>	25
Tableau II.2 :Les indices physico-chimiques des HEs de l' <i>Illicium</i> et <i>Myristica</i>	25
Tableau II.3 :Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'acide ascorbique	28
Tableau II.4 :Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'HE d' <i>Illicium</i>	29
Tableau II.5 : Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'HE de <i>Myristica</i>	30
Tableau II.6 :Composition des nano-émulsions de l'HEs d' <i>Illicium</i> préparées	34
Tableau II.7 :Composition de la nano-émulsion de l'HE de <i>Myristica</i> préparée	34
Tableau II.8 :Indices physico-chimiques des formulations à base d'HEs d' <i>Illicium</i> et <i>Myristica</i>	41
Tableau III.1 : Souches microbiennes testées	43
Tableau III.2 : Concentrations minimales inhibitrices de l'HE d' <i>Illicium</i>	44
Tableau III.3 :Concentrations minimales inhibitrices de l'HE de <i>Myristica</i>	45
Tableau III.4 :Concentrations minimales inhibitrices de la formulation 1 de l'HE d' <i>Illicium</i>	47
Tableau III.5 : Concentrations minimales inhibitrices de la formulation 2 de l'HE de <i>Myristica</i>	48

Table des matières

Remerciements	I
Dédicaces	II
Abstract	III
ملخص.....	IV
Résumé.....	V
Liste des abréviations	VI
Liste des figures.....	VII
Liste des tableaux	VIII
Introduction général	1
CHAPITRE I: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1 Généralités sur les huiles essentielles	2
I.1.1 Définition	2
I.1.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles	2
I.1.2.1 Hydrodistillation	2
I.1.2.2 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	3
I.1.3 Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	4
I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles	4
I.1.5 Utilisation des huiles essentielles	5
I.1.6 Conservation des huiles essentielles	6
I.1.7 Toxicité des huiles essentielles	6
I.1.8 Propriétés biologiques des huiles essentielles.....	7
I.2 Généralités sur le genre <i>Illicium</i>	7
I.2.1 Particularité de culture	8
I.2.2 Composition chimique des huiles essentielles du genre <i>Illicium</i>	9
I.3 Généralités sur le genre <i>Myristica</i>	9

I.3.1 Particularité de culture	11
I.3.2 Composition chimique des huiles essentielles du genre <i>Myristica</i>	11
I.4 Généralités sur les nanoémulsions	12
I.4.1 Définition	12
I.4.2 Préparation des nanoémulsions	12
I.4.3 Méthodes d'émulsification à haute énergie.....	12
I.4.3.1 Méthode d'homogénéisation de la vanne haute pression	12
I.4.3.2 Méthode de microfuidisation	13
I.4.3.3 Méthode d'ultrasonication	14
I.4.4 Méthodes d'émulsification à faible énergie	14
I.4.4.1 Emulsification spontanée	14
I.4.4.2 Température d'inversion de phase	15
I.4.5 Agents émulsifiants utilisés pour la formulation des nanoémulsions.....	15
I.4.5.1 Tensioactifs de faible masse molaire	16
I.4.5.2 Agents émulsifiants macromoléculaires	16
I.4.6 Caractérisation des nanoémulsions	16
I.4.7 Mécanismes de déstabilisation.....	16
I.4.7.1 Crémage ou sédimentation	17
I.4.7.2 Floculation	17
I.4.7.3 Mûrissement d'Ostwald	17
I.4.8 Modes de stabilisation des nanoémulsions	18
I.4.8.1 Stabilisation rhéologique	18
I.4.8.2 Stabilisation électrosterique	18
I.4.8.3 Stabilisation stérique	18
I.4.8.4 Stabilisation LBL.....	19
I.4.8.5 Stabilisation électrostatique	19

CHAPITRE II : Extraction et analyses physico-chimiques des huiles essentielles étudiées et leur nanoencapsulation

II.1 Matériels végétales	20
II.1.1 Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles.....	20
II.1.2 Rendement d'extraction des huiles essentielles.....	21
II.2. Analyses physico-chimiques des huiles essentielles testées	21
II.3 Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles testées	23
II.4 Résultats et interprétations	24
II.5 Préparation et analyse des nanoémulsions à base des HEs testées	33
II.5.1 Préparation des nano-émulsions et optimisation des conditions opératoires	33
II.5.2 Détermination de la taille des particules par la DLS	35
II.6 Résultats et interprétations	36

Chapitre III : Activité antibactérienne des huiles essentielles à l'état libre et à l'état encapsulé

III.1 Détermination de la CMI des huiles essentielles	38
III.2 Microorganismes utilisés.....	42
III.3 Milieu de culture	42
III.4 Préparation des pré-cultures.....	42
III.5 Mode opératoire pour la CMI.....	42
III.6 Résultats et interprétations.....	44
IV. Conclusion générale	49

Références bibliographiques

Annexes

Introduction générale

Dans les industries agroalimentaires et cosmétiques, les conservateurs synthétiques, tels que les sulfites et les nitrites, sont largement utilisés pour prolonger la durée de conservation des aliments et les produits cosmétiques afin d'éviter leur détérioration prématurée. Cependant, leur utilisation soulève des inquiétudes quant à leurs effets sur la santé humaine. Des études ont suggéré que certains conservateurs synthétiques peuvent provoquer des réactions allergiques, des migraines et même être potentiellement cancérigènes [1]. De plus, certains de ces conservateurs synthétiques agissent comme des perturbateurs endocriniens, interférant avec le système hormonal et pouvant avoir des conséquences néfastes pour la santé [2]. Par ailleurs, ces conservateurs synthétiques peuvent s'accumuler dans l'environnement, contribuant ainsi à la pollution et affectant les écosystèmes aquatiques et terrestres [3].

Face à ces préoccupations, les alternatives naturelles, telles que les huiles essentielles à base d'épices, offrent une option prometteuse pour remplacer ces conservateurs synthétiques. Les huiles essentielles obtenues à partir de plantes et d'épices, sont reconnues pour leurs propriétés conservatrices et leurs bienfaits pour la santé. Par exemple, les huiles essentielles du genre *Illicium* et *Myristica* sont réputées pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes aidant ainsi à inhiber ou prévenir la croissance de bactéries et moisissures dans les aliments en faisant un conservateur naturel efficace [3]. En revanche l'utilisation des huiles essentielles est souvent confrontée par leur dégradation et leur biodisponibilité réduite dans le corps humain. En outre, elle est généralement entravée par leur faible solubilité dans l'eau, leur forte volatilité et leur sensibilité aux conditions environnementales (lumière, chaleur, oxygène) [4]. Etant très sensibles à l'oxydation, les huiles essentielles peuvent être dégradées pendant la formulation, le transport et le stockage au point qu'elles deviennent inefficaces, voire néfastes avec la formation de dérivés toxiques [5].

La nanoencapsulation de ces huiles essentielles semble être une méthode efficace pour surmonter les contraintes physico-chimiques susmentionnées contribuant parfois à l'amélioration de leurs activités biologiques mais elles contribuent certainement à l'amélioration de la stabilité et la biodisponibilité des huiles encapsulées.

Dans le cadre de cette investigation, le mémoire est composé de trois chapitres. Le premier est une synthèse bibliographique consacrée aux généralités sur les huiles essentielles étudiées et leurs activités biologiques. Le second traite l'extraction de deux huiles essentielles appartenant

aux genre *Illicium* et *Myristica* et leur analyses physico-chimiques et la préparation des nanoémulsions à base de ces huiles essentielles. Le troisième concerne l'activité antibactérienne des huiles essentielle et leurs nanoémulsions. Pour étayer nos informations, nous nous appuyerons sur des sources fiables telles que des études scientifiques et des recherches récentes dans le domaine

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Généralités sur les huiles essentielles

I.1.1 Définition

Les huiles essentielles (du latin *essentia*, « nature d'une chose ») sont un ensemble de molécules volatiles hydrophobes et odorantes possédant un aspect fluide à épais et de couleur variable selon les parties des plantes par lesquelles elles sont obtenues : des racines, des écorces, des feuilles, des fleurs ou des tubercules qu'elles soient terrestres ou marines.

Une goutte d'huile essentielle peut contenir en moyenne 150 molécules différentes en particulier les terpènes (hydrocarbures aromatiques), et composés oxygénés (alcool, aldéhydes, cétones, esters) [6].

Ce sont des messagers chimiques que les plantes aromatiques utilisent pour interagir avec leur environnement. Les huiles essentielles protègent les plantes contre les maladies et les parasites, et agissent comme un pare-soleil, elles jouent un rôle important dans la reproduction et la dispersion des espèces végétales puisqu'elles permettent d'attirer les insectes pollinisateurs.

I.1.2 Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des produits volatils extraits de matières végétales par distillation ou par un procédé mécanique approprié [6]. La distillation est un processus physique qui consiste à séparer, par la chaleur, les différents éléments constituant un liquide ou un solide, et à les recueillir sous forme gazeuse. Cette vaporisation peut être suivie d'une condensation par refroidissement (liquéfaction).

I.1.2.1 Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus ancienne du fait de sa simplicité. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions comme le cas de l'huile essentielle des clous de girofle), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [7].

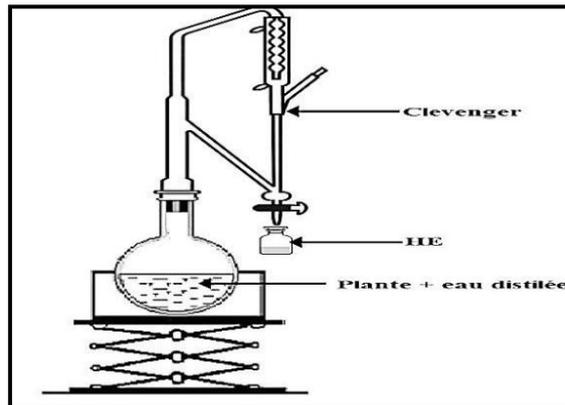


Figure I.1 Diapositif expérimental de l'hydrodistillation type clewenger [63].

I.1.2.2 Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

La distillation à la vapeur d'eau, ou entraînement à la vapeur d'eau, est la technique la plus courante pour l'obtention des huiles essentielles [8].

Il s'agit en général d'une cuve en métal inerte comme le cuivre ou l'inox avec un tamis au fond pour que les végétaux ne soient pas en contact direct avec l'eau. La vapeur générée traverse le végétal et arrache par les micros gouttelettes l'huile essentielle. Cette vapeur d'eau chargée est refroidie dans un serpentin par un circuit d'eau froide. A la sortie du serpentin, on retrouve un mélange d'huile essentielle et d'eau aromatique (hydrolat). L'huile essentielle, de densité plus faible que l'eau, surnage : il est alors possible de récupérer l'huile essentielle par différence de densité, grâce à un vase florentin ou essencier. L'huile essentielle est séparée de l'eau de distillation, l'hydrolat (aussi appelé eau florale dans le cas des fleurs) [9].

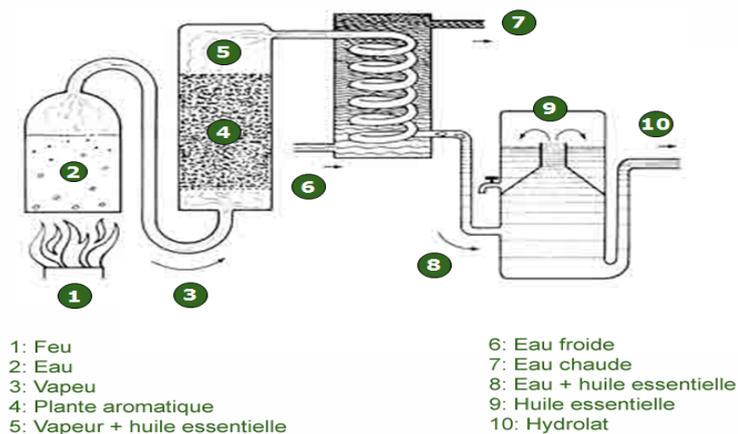


Figure I.2. Schéma descriptif du processus de la distillation à la vapeur d'eau [64].

I.1.3 Propriétés physico-chimique des huiles essentielles

Une huile essentielle est un liquide odoriférant d'aspect fluide à épais et de couleur variable selon les plantes dont elle est extraite, ces huiles sont connues par leur forte odeur aromatique liée à leur volatilité.

A ce jour, les propriétés physico-chimiques des huiles essentielles (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, solubilité dans l'alcool, indice d'acide, d'ester...) sont exigées pour leurs évaluations commerciales.

La majorité d'entre elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques.

Ces substances sont solubles dans les solvants organiques usuels et les huiles grasses. Elles sont liposolubles et très peu solubles dans l'eau à laquelle toutefois elles communiquent leur odeur, on parle alors d'eau aromatique [5].

I.1.4 Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique spécifique d'une huile essentielle dépend de plusieurs paramètres, comme la plante à partir de laquelle elle est extraite, la méthode d'extraction utilisée, la nature du sol, la maturité de la plante...etc [10].

Les composés chimiques les plus courants présents dans les huiles essentielles sont « les terpènes » ce sont des métabolites secondaires responsables de l'odeur caractéristique de nombreuses huiles essentielles. Les exemples de terpènes comprennent le limonène, le pinène, le myrcène, le linalol, le terpinène [11]. « les cétones » présentes en petites quantités. Elles sont souvent responsables de l'odeur forte et piquante de certaines huiles essentielles comme la

menthone, la carvone, la thuyone, etc [12] . Les alcools monoterpéniques qui ont des propriétés antiseptiques et apaisantes tel que le linalol, le géraniol, le citronellol, etc. « les esters » sont des composés chimiques qui confèrent également aux huiles essentielles leur odeur fruitée et douce. Par exemple l'acétate de linalyle, l'acétate de bornyle, l'acétate de géranyle, etc. Et enfin « les aldéhydes » qui sont des composés chimiques connus pour leur odeur caractéristique, qui peut être agréable ou irritante en fonction de leur structure chimique. Ils sont utilisés dans diverses applications, notamment en parfumerie, en cosmétique, en alimentation et en industrie chimique [13].

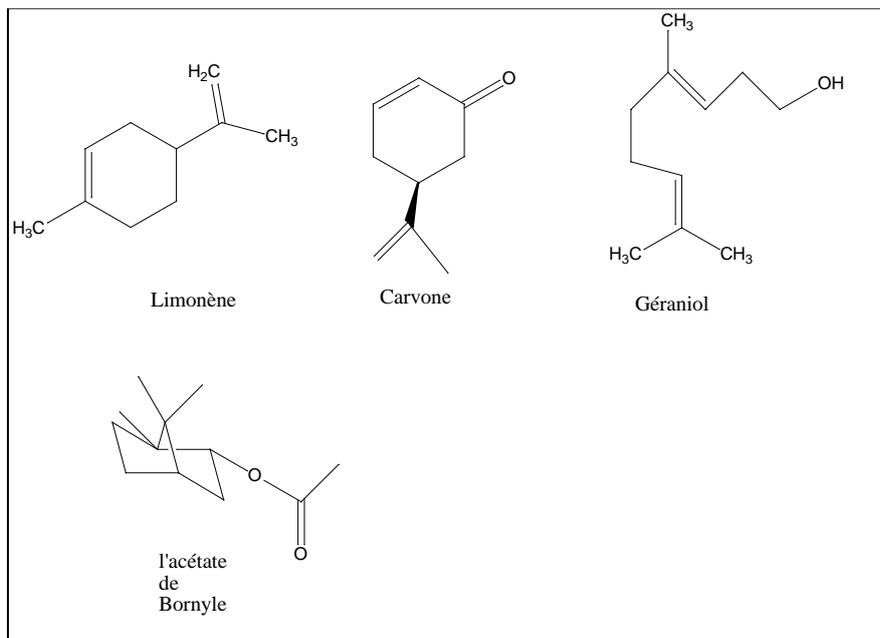


Figure I.3. Représentation des molécules du limonène, carvone, géraniol et l'acétate de bornyle.

I.1.5 Utilisation des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles est répandue dans divers domaines tels que l'aromathérapie, la parfumerie, la cosmétique, la médecine traditionnelle et même l'industrie alimentaire.

- En Aromathérapie : les huiles essentielles sont largement utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Elles peuvent être inhalées, diffusées dans l'air, utilisées en massages ou ajoutées à des bains. Les huiles essentielles de lavande, de menthe poivrée, de citronnelle et de camomille sont parmi les huiles plus couramment utilisées en aromathérapie pour favoriser la relaxation, soulager le stress, améliorer le sommeil et stimuler le bien-être [14].

- En cosmétique : les huiles essentielles sont souvent intégrées dans les crèmes, les lotions, les savons et les shampooings, en raison de leurs propriétés bénéfiques pour la peau et les cheveux. Par exemple, l'huile essentielle de tea tree est réputée pour ses propriétés antibactériennes et antifongiques, et elle est utilisée dans les produits de soin de la peau pour lutter contre l'acné et les infections cutanées [15].
- En parfumerie : les huiles essentielles sont des composants essentiels dans la formulation de parfums. Elles apportent des notes aromatiques spécifiques et contribuent à la complexité et à la profondeur des compositions parfumées. Des huiles essentielles telles que la rose, le jasmin, le patchouli et la bergamote sont souvent utilisées en parfumerie pour leurs arômes distinctifs [16].
- En médecine traditionnelle : dans certaines cultures, les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps dans la médecine traditionnelle pour traiter diverses affections. Par exemple, l'huile essentielle de menthe poivrée est utilisée pour soulager les maux d'estomac et les nausées, tandis que l'huile essentielle de gingembre est utilisée pour apaiser les problèmes digestifs [17].

I.1.6 Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent rapidement perdre leurs propriétés, très volatiles par nature. Elles commencent à vieillir très vite, généralement au bout de 6 mois. Au mieux, elles peuvent conserver leurs propriétés thérapeutiques pendant environ trois ans. Pour cela, elles doivent être impérativement stockés à l'abri de l'air, la lumière et de la chaleur, dans des flacons en verre opaques ou teintés (en bleu ou brun) hermétiquement clos et entreposés debout [18].

I.1.7 Toxicité des huiles essentielle

La toxicité des huiles essentielles varie selon leur composition chimique [19]. Elle est connue depuis longtemps mais c'est récemment que leur mode d'action dans l'altération d'organes comme le foie et le système nerveux a été élucidé [20].

Contrairement aux idées reçues, l'aromathérapie n'est pas une « médecine douce ». Elle comporte des risques comme toute autre thérapie efficace. Cette toxicité peut se manifester sur un plan général de différentes manières telles que les réactions allergiques, l'action dermo-caustique et l'action néphrotoxique. De plus, des phénomènes d'irritation muqueux et respiratoires [19].

Lors de leur utilisation les huiles essentielles ne doivent jamais être absorbées pures par voie orale, mais elles doivent être diluées entre 5 à 15 % [21].

I.1.8 Propriétés biologiques des huiles essentielles

L'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants [22].

Plusieurs publications sur les effets biologiques ont été consacrées aux propriétés des terpènes telles que les propriétés anti-inflammatoires, décongestionnantes, antiseptiques, antivirales, antifongiques, anti-parasitaires, mucolytiques, cholagogues, cicatrisantes. Ces effets biologiques des huiles essentielles ont été validés par de nombreuses études scientifiques selon des méthodologies fiables [23].

I.2 Généralités sur le genre *Illicium*

Le genre *Illicium* est un groupe de plantes à fleurs appartenant à la famille des *Illiciaceae*.

Ce genre comprend environ 40 espèces d'arbres et d'arbustes à feuilles persistantes, originaires des régions tropicales et subtropicales d'Asie, d'Amérique du Nord et d'Amérique du Sud.

Les espèces du genre *Illicium* sont connues pour leurs caractéristiques distinctives, notamment leurs fleurs en forme d'étoile et leurs fruits en forme de capsules étoilées. Les fleurs ont généralement des pétales colorés, souvent jaunes, rouges ou violets, qui s'étalent radialement pour former une étoile. Les fruits contiennent des graines entourées d'une enveloppe étoilée, qui sont utilisés comme épices aromatiques dans la cuisine et dans la préparation de boissons.

Certaines espèces d'*Illicium* sont valorisées pour leurs propriétés médicinales et aromatiques. Par exemple, l'*Illicium verum*, connu sous le nom de badiane de Chine ou anis étoilé, est utilisé comme épice dans la cuisine asiatique et comme ingrédient clé dans la fabrication du célèbre liquide d'anis étoilé, l'absinthe. Il est également utilisé en médecine traditionnelle pour ses propriétés antiseptiques, digestives et expectorantes [24].



Figure 1.4 Photo de l'*Illicium verum*

Une autre espèce du genre *Illicium* qui est l'*Illicium floridanum*, communément appelée "anis de Floride". Cette plante est originaire du sud-est des États-Unis, principalement de la Floride et de la Géorgie. C'est un arbuste à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur d'environ 3 à 4 mètres. Ses feuilles sont ovales, coriaces et d'un vert foncé brillant. Les fleurs d'*Illicium floridanum* sont solitaires et pendantes, avec des pétales jaunes et de nombreuses étamines jaunes formant une couronne autour du pistil. Les fleurs dégagent un parfum agréable.

Cette espèce est appréciée pour son attrait ornemental en raison de ses fleurs attrayantes, et son feuillage dense. Elle est souvent utilisée dans les jardins et les aménagements paysagers pour ajouter de la couleur et de la texture. *Illicium floridanum* a également été utilisé dans la médecine traditionnelle par certaines tribus amérindiennes. Les parties de la plante ont été utilisées pour leurs propriétés analgésiques et anti-inflammatoires, et pour traiter certains troubles gastro-intestinaux [25]



Figure 1.5 Photo de l'*Illicium floridanum*

I.2.1 Particularité de culture

Les espèces du genre *Illicium* ont des particularités de culture qui leur sont propres. Concernant leurs conditions de croissance, elles préfèrent généralement les climats chauds et humides. Elles

se développent bien dans des zones où les températures sont supérieures à 0 °C. Elles prospèrent dans des sols riches en matière organique, bien drainés et légèrement acides. Elles ont tendance à préférer une exposition partielle à l'ombre. Elles peuvent tolérer une certaine quantité de lumière directe du soleil, mais une exposition prolongée au soleil brûlant peut nuire à leur croissance et ainsi à leur santé. Les espèces du genre *Illicium* ont besoin d'un arrosage régulier pour maintenir le sol humide, mais pas détrempé. Il est important de ne pas laisser le sol se dessécher complètement entre les arrosages, car cela peut entraîner un stress hydrique et endommager la plante. La rusticité des espèces du genre d' *Illicium* varie en fonction de l'espèce. Par exemple, *Illicium floridanum* est adapté aux zones de rusticité USDA (département d'Agriculture des États-Unis) 8 à 10, tandis que d'autres espèces, comme *Illicium verum*, sont plus adaptées aux climats tropicaux et subtropicaux.

I.2.2 Composition chimique des huiles essentielles du genre *Illicium*

L'huile essentielle des espèces du genre *Illicium*, en particulier l'huile essentielle d'*Illicium verum* (anis étoilé), est composée de plusieurs produits, dont certains sont présents en plus grande quantité. Les principaux composés identifiés dans cette huile essentielle sont : L'anéthol (C'est le composé majoritaire dans l'huile essentielle d'anis étoilé). Il confère à l'huile son arôme caractéristique d'anis et présente des propriétés antiseptiques, antispasmodiques et expectorantes.

L'estragol : également présent en quantité significative, l'estragol contribue à l'arôme et aux propriétés de l'huile essentielle. Il possède des propriétés analgésiques, antibactériennes et antioxydantes.

Le limonène : présent en moindre quantité, le limonène apporte une note d'agrumes à l'huile essentielle et possède des propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires et Le linalol : contribue à l'arôme floral et doux de l'huile essentielle. Il possède des propriétés relaxantes, anti-anxiété et anti-inflammatoires. Ces composés sont responsables des propriétés aromatiques et thérapeutiques de l'huile essentielle d'*Illicium verum*. Cependant, la composition chimique exacte peut varier en fonction de nombreux facteurs, tels que la région de culture, les conditions de croissance et les méthodes d'extraction de l'huile essentielle [26].

I.3 Généralités sur le genre *Myristica*

Le genre *Myristica* est un groupe de plantes appartenant à la famille des *Myristicaceae*. Il comprend environ 150 espèces réparties dans les régions tropicales d'Asie du Sud-Est, principalement dans les îles de l'archipel indonésien. Les espèces du genre *Myristica* sont

connues pour leurs propriétés aromatiques et leurs utilisations culinaires et médicinales. L'espèce la plus célèbre de ce genre est *Myristica fragrans*, communément appelée "muscade". Cette plante est originaire des îles Moluques en Indonésie et est cultivée pour ses graines qui sont utilisées comme épice. La muscade est réputée pour son arôme chaud, épicé et légèrement sucré. Les graines de muscade sont utilisées pour parfumer divers plats, notamment les soupes, les sauces, les desserts et les boissons. La muscade est souvent utilisée en combinaison avec son enveloppe extérieure appelée "macis", qui a également un arôme et un goût caractéristique [27]. Outre ses utilisations culinaires, le genre *Myristica* a également une longue histoire d'utilisation en médecine traditionnelle. Les extraits de *Myristica fragrans* et d'autres espèces du genre sont utilisés pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et digestives. Ils sont souvent utilisés pour soulager les maux d'estomac, les problèmes digestifs, les douleurs musculaires et articulaires, ainsi que pour stimuler l'appétit. Certaines espèces du genre *Myristica* sont menacées en raison de la déforestation et de la sur-utilisation [28].

Une autre espèce du genre est *Myristica argentea*, communément appelée "noix muscade argentée" ou "mace en argent". Cette espèce est également originaire des îles Moluques en Indonésie, tout comme *Myristica fragrans*. La noix muscade argentée est un arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur d'environ 10 à 15 mètres. Ses graines produisent à la fois la noix muscade, qui est la graine proprement dite, et le macis, qui est l'enveloppe rouge vif qui entoure la graine. Le macis de *Myristica argentea* est réputé pour sa couleur argentée distincte, d'où son nom commun. Il est utilisé comme épice aromatique dans la cuisine, apportant une saveur chaude, légèrement sucrée et épicée aux plats. Le macis est souvent utilisé en combinaison avec la noix muscade pour ajouter une saveur complexe à de nombreuses préparations culinaires. *Myristica argentea* a également été étudiée pour ses propriétés médicinales potentielles. Des recherches ont montré que certaines composantes présentes dans la noix muscade argentée peuvent avoir des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes [29].

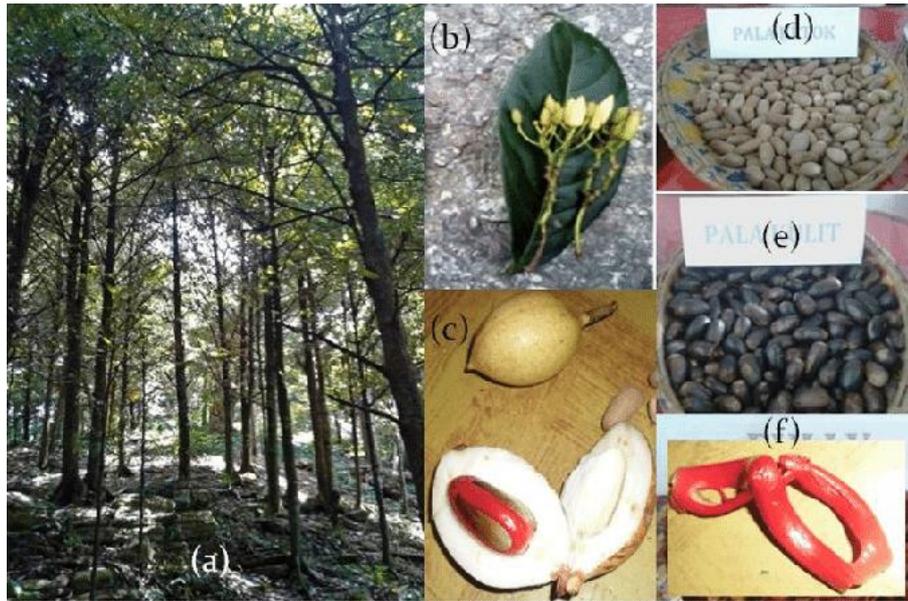


Figure 1.6 : Description morphologique de *Myristica argentea* [30]. arbre (a) : peuplements d'arbres ; (b) : fleurs et feuilles ; (c) : fruits ; (d) : péricarpe ; (e) : coques de fruits ; (f) : Macis)

1.3.1 Particularités de culture

Les espèces du genre *Myristica*, telles que *Myristica fragrans* et *Myristica argentea*, ont des particularités de culture distinctes comme leurs conditions de croissance :

Ce sont des plantes tropicales qui prospèrent dans des climats chauds et humides. Elles préfèrent un environnement avec une température moyenne d'environ 25 à 30 °C et une humidité élevée. L'exposition au soleil, elles préfèrent une exposition à mi- ombre ou à ombre partielle. Elles sont généralement cultivées sous des arbres plus grands qui fournissent une protection contre la lumière solaire directe. Elles dépendent également du type de sol, elles préfèrent les sols riches en matière organique, bien drainés et légèrement acides. Un sol limoneux ou argileux de bonne qualité est idéal pour leur croissance. Les espèces du genre *Myristica* sont généralement pollinisées par des insectes, principalement des coléoptères. La pollinisation croisée peut être favorisée par la présence de plusieurs arbres de *Myristica* à proximité les uns des autres. Et enfin le temps de fructification, elles prennent plusieurs années avant de commencer à produire des fruits. La noix muscade et le macis se développent à partir des fleurs de la plante et peuvent être récoltés lorsque les fruits arrivent à maturité [31].

1.3.2 Composition chimique des huiles essentielles du genre *Myristica*

Les huiles essentielles du genre *Myristica* sont composées d'une variété de composés chimiques qui lui confèrent ses propriétés aromatiques et ses éventuelles utilisations

thérapeutiques. Le principal composant est le myristicine, qui peut représenter jusqu'à 80 % de la composition totale. La myristicine est responsable de l'arôme caractéristique de la muscade et possède des propriétés psychoactives. D'autres composés présents comprennent l'alpha-pinène, le limonène, le sabinène, le bêta-pinène, l'eugénol et le myristicol. Ces composés contribuent à l'arôme et aux propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle [32].

I.4 Généralités sur les nanoémulsions

I.4.1 Définition

Les nanoémulsions sont des dispersions très fines, dont le diamètre moyen est inférieur à 200 nm [33]. Ces systèmes sont caractérisés par la présence de gouttelettes d'huile ou de lipides de taille nanométrique dispersées dans un milieu aqueux. Ces gouttelettes sont stabilisées par des tensioactifs, qui abaissent la tension interfaciale entre l'huile et l'eau. La petite taille des gouttelettes offre une grande surface spécifique, ce qui augmente la stabilité, favorise une meilleure biodisponibilité des principes actifs et permet une libération contrôlée de ces derniers. De plus, les nanoémulsions offrent une meilleure solubilité pour les composés hydrophobes, une texture légère et un aspect transparent ou translucide.

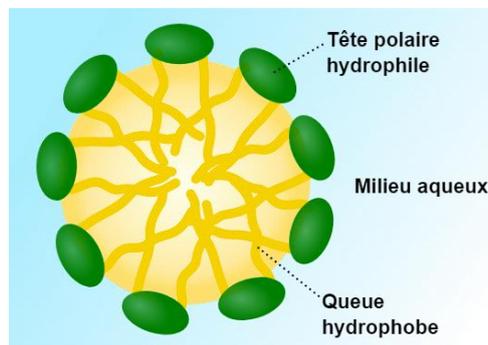


Figure 1.7 : Schéma d'une micelle directe formée par une huile en solution aqueuse.

1.4.2 Préparation des nanoémulsions

Les nanoémulsions peuvent être préparées par différentes méthodes, réparties en deux catégories : les méthodes à haute énergie et les méthodes à basse énergie [34].

1.4.3 Méthodes d'émulsification à haute énergie

1.4.3.1 Méthode d'homogénéisation de la vanne haute pression

C'est une technique qui utilise une haute pression pour rendre la taille des micelles le plus petit possible. L'homogénéisateur fonctionne en forçant un fluide émulsifiant à travers un petit orifice ou une valve à haute pression, créant un impact à haute énergie qui peut créer des émulsions et des suspensions stables et pour réduire la taille des micelles dans le fluide. Cette

technologie est couramment utilisée dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et la biotechnologie. [35]

Le mécanisme de surpression entraîne le passage rapide de la solution à des pressions élevées (jusqu'à allant jusqu'à 1000 bar) à travers la chambre de travail de l'homogénéisateur. Au cours de ce processus, la matière première est soumise simultanément à des forces mécaniques telles que le cisaillement à grande vitesse. Cela permet d'atteindre l'effet d'homogénéisation [36].

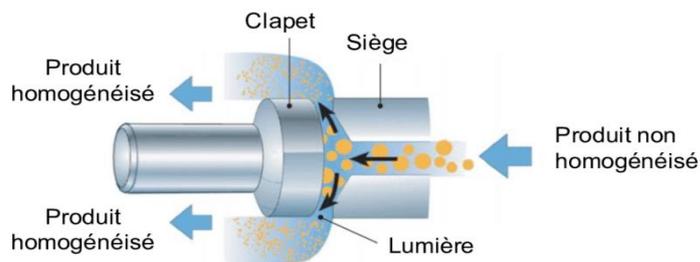


Figure 1.8 : Principe de fonctionnement de l'homogénéisation à haute pression [36]

1.4.3.2 Méthode de microfluidisation

Le microfluidiseur est utilisé dans ce processeur ou il agit comme une grande pompe qui force la suspension à travers un très petit orifice. Les pressions de fonctionnement commencent à environ 34 bar et peuvent aller jusqu'à 2750 bars. La pression varie en fonction de chaque application afin d'obtenir la distribution granulométrique souhaitée [37]. La suspension se sépare ensuite en deux flux qui se rejoignent à grande vitesse pour former des particules de taille plus petites.

Lorsque les deux flux se rencontrent, les collisions des particules à grandes vitesses provoquent la dislocation et la reformation de particules de taille plus petite. La taille diminue en augmentant le nombre de passages à travers le microfluidiseur et en augmentant la pression à l'entrée du circuit. Les nanoémulsions obtenus après plusieurs passages pourraient avoir un diamètre inférieur à 100 nm [38].

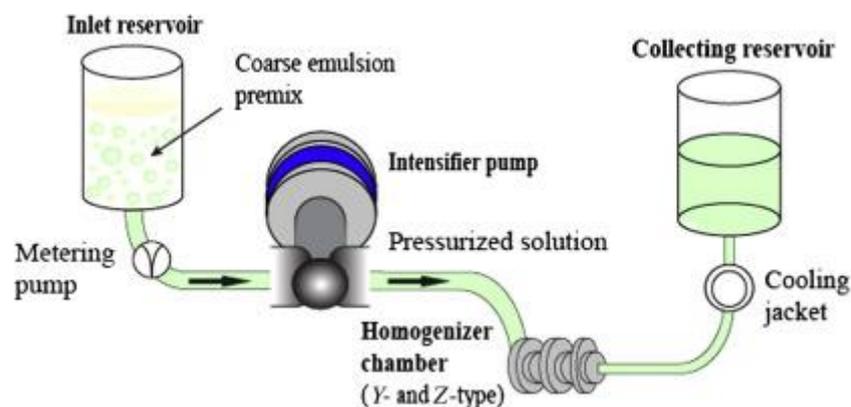


Figure 1.9 Processus de micro-fluidisation[38]

I.4.3.3 Méthode d'ultrasonication

Ultrasonication est une technique qui utilise des ondes ultrasoniques à basse fréquence pour créer des nanoémulsions stables et uniformes de l'ordre de 10 à 200 nm avec une fréquence comprise entre 20 kHz et 10 MHz [39,40]. Les ondes ultrasoniques génèrent des bulles de cavitation qui implosent et créent des forces de cisaillement, réduisant ainsi la taille des gouttelettes dans l'émulsion. Cette méthode offre plusieurs avantages, tels qu'une taille uniforme des particules, une grande stabilité, une consommation d'énergie réduite, un temps de traitement rapide [39].

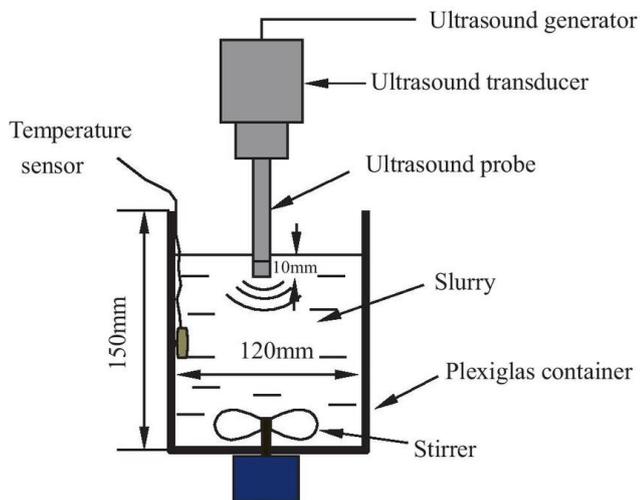


Figure I.10 : Composants d'un ultrason [41].

I.4.4 Méthodes d'émulsification à faible énergie

I.4.4.1 Emulsification spontanée

L'émulsification spontanée (SE) fait référence au tensioactif initialement dissous dans l'huile, en raison de sa nature amphiphile qui passe de la phase huileuse à la phase aqueuse à l'interface huile-eau [42]. La procédure consiste à mélanger les principaux composants (huile, tensioactif, eau) dans des conditions spécifiques (température, agitation). La phase huileuse se disperse rapidement dans la phase aqueuse du fait d'une chute instantanée de la tension interfaciale. Les gouttelettes sont stabilisées par les tensioactifs afin d'obtenir une nanoémulsion cinétiquement stable [43].

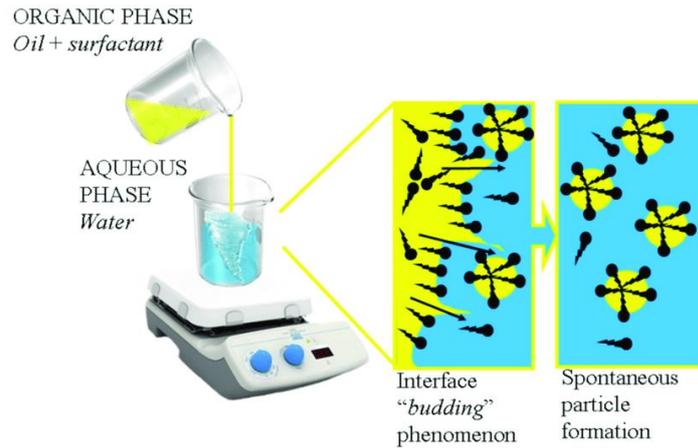


Figure I.11 Illustration du phénomène d’émulsification spontanée [44]

I.4.4.2 Température d’inversion de phase

L’inversion de phase se produit lorsqu’une émulsion change de type, passant d’une émulsion où l’eau est dispersée dans l’huile (E/H) à une émulsion où l’huile est dispersée dans l’eau (H/E), ou vice versa. Ce phénomène est généralement provoqué par des variations de volume de phase, des modifications du type des phases ou de la concentration des molécules stabilisantes utilisées, ou encore par des modifications de la température du système. L’inversion de phase peut se produire lors d’opérations impliquant des émulsions et des dispersions liquide-liquide [43].

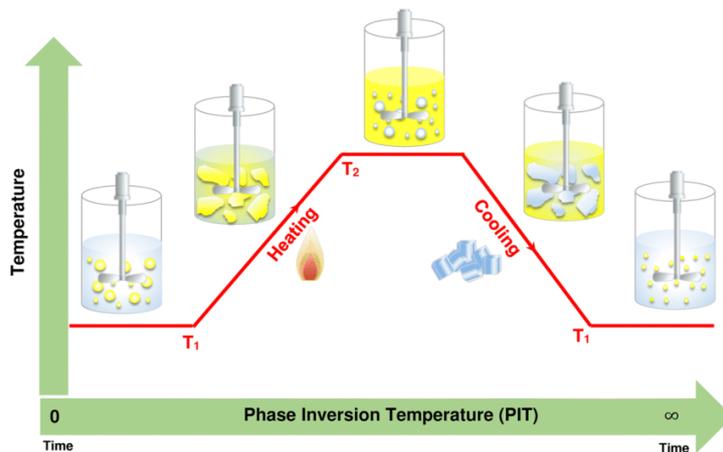


Figure I.12 : Illustration de la température d’inversion de phase [46].

I.4.5 Agents émulsifiants utilisés pour la formulation des nanoémulsions

Un émulsifiant est une molécule qui au sein de sa structure possède une dualité de polarité. Une partie est hydrophile et l'autre est plutôt hydrophobe. On dit alors que ce sont des molécules amphiphiles. Cette propriété particulière confère aux émulsifiants une capacité à se placer préférentiellement entre l'huile et l'eau (à l'interface). Ainsi dans une émulsion, les émulsifiants vont se placer tout autour des micelles et l'émulsion va ainsi gagner en stabilité [45]. Les tensioactifs sont généralement divisés en deux catégories principales en fonction de leur poids moléculaire : les tensioactifs de faible poids moléculaire et les émulsifiants macromoléculaires [46].

I.4.5.1 Tensioactifs de faible masse molaire

Les tensioactifs de ce groupe sont classés en fonction de la nature de leur tête polaire, ce qui les distingue en tensioactifs ioniques (anioniques, cationiques ou amphotères) et tensioactifs non ioniques, tels que les tensioactifs éthoxylés [47].

I.4.5.2 Agents émulsifiants macromoléculaires

Les copolymères d'oxyde d'éthylène et d'oxyde de propylène, polyéthylèneglycols, etc. [49].

I.4.6 Caractérisation des nanoémulsions

Les caractéristiques structurales et la répartition des tailles des particules dans les nanoémulsions peuvent être évaluées à l'aide de techniques de mesure non invasives telles que la diffusion dynamique de la lumière (DLS) et la diffusion des rayons X aux petits angles (SAXS) [50].

La DLS permet de déterminer le diamètre hydrodynamique de particules ainsi que la distribution des tailles des particules dissoutes dans un solvant. Quant à la (SAXS), c'est une technique analytique qui mesure l'intensité des rayons X diffusés par un échantillon en fonction de l'angle de diffusion et elle se base sur l'interaction élastique des photons avec les nuages électroniques [51].

I.4.7 Mécanisme de déstabilisation

Les nanoémulsions sont des systèmes dispersés qui sont intrinsèquement thermodynamiquement instables. La transition entre l'état de gouttes individuelles et l'état

diphasique n'est pas nécessairement instantanée, ce qui peut entraîner différentes formes de déstabilisation de la formulation allant de légères à plus sévères[52].

I.4.7.1 Crémage ou sédimentation

L'un des phénomènes les plus courants dans les émulsions est le crémage, où les gouttes se regroupent en surface pour former une couche dense. Cela se produit dans les émulsions eau dans huile (E/H) en raison de la légèreté des gouttelettes d'huile par rapport à l'eau. Dans le cas des émulsions huile dans eau (H/E, le phénomène inverse se produit, appelé sédimentation. La loi de Stokes-Einstein permet de modéliser ce phénomène, et l'augmentation de la viscosité est l'un des moyens les plus efficaces pour ralentir ces phénomènes. Cependant, ces phénomènes ne sont pas destructifs et l'émulsion d'origine peut être facilement reconstituée par une simple agitation [52].

I.4.7.2 Flocculation

Dans ce cas, les gouttes entrent en contact et forment des amas ou des floccs. Tout comme précédemment, cette déstabilisation n'est pas permanente et l'agitation permet de re-disperser les gouttelette. Cependant, il est possible de prévenir ce phénomène en ajoutant des substances telles que du sel en quantité modérée. Cela induit une répulsion électrostatique entre les gouttes, empêchant ainsi leur coalescence et la formation d'amas [52].

I.4.7.3 Mûrissement d'Ostwald

Le mûrissement d'Ostwald se réfère à l'agrandissement spontané des particules. C'est un processus irréversible où les plus petites gouttelettes ou cristaux en suspension dans une phase continue se dissolvent, tandis que les plus grandes gouttelettes ou cristaux augmentent en taille [53].

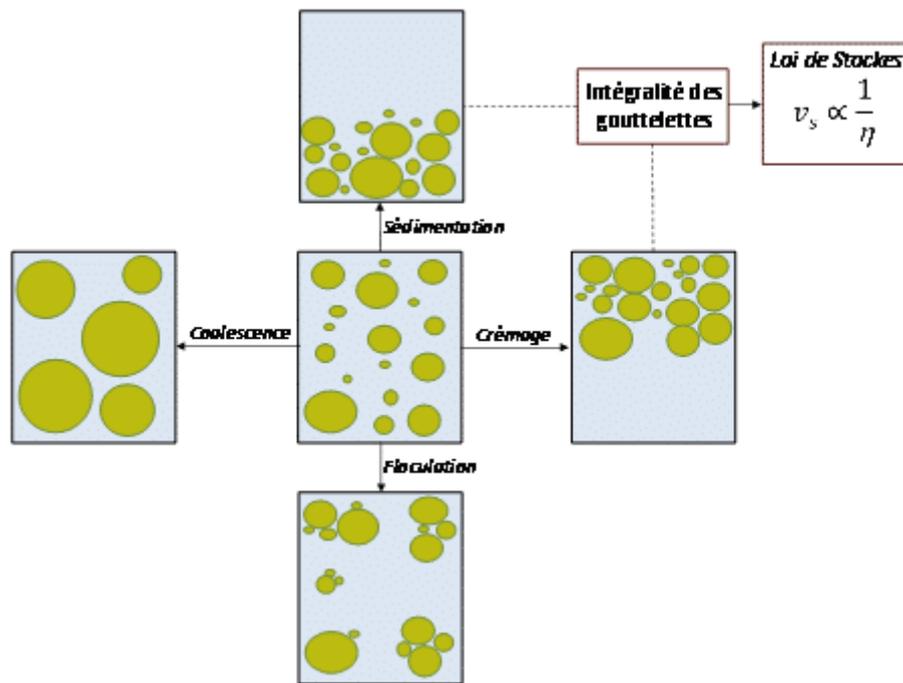


Figure I.13 : Illustration des différents phénomènes de déstabilisation [53]

I.4.8 Modes de stabilisation des nanoémulsions

I.4.8.1 Stabilisation rhéologique

La stabilisation rhéologique est la capacité d'une nanoémulsion à maintenir ses propriétés, c'est-à-dire sa viscosité et son comportement d'écoulement, au fil du temps. Il est essentiel que la nanoémulsion conserve sa stabilité rhéologique pour assurer une bonne manipulation, une application facile et une distribution homogène. Plusieurs facteurs contribuent à la stabilité rhéologique des nanoémulsion tels que le choix des tensioactifs et leurs concentrations, tailles des gouttelettes et les conditions de stockage [54].

I.4.8.2 Stabilisation électrosterique

La combinaison des effets stériques et électrostatiques constitue une alternative supplémentaire à l'utilisation de surfactants ioniques. Ces molécules présentent un groupement polaire qui engendre une répulsion électrostatique, associé à une longue chaîne latérale lipophile qui assure une stabilisation stérique [55].

I.4.8.3 Stabilisation stérique

En ajoutant des macromolécules de type non ionique, telles que les polymères amphiphiles, qui s'adsorbent à l'interface des gouttelettes, on forme des couches macromoléculaires qui agissent en créant une barrière physique. Cette dernière augmente la distance entre les gouttelettes, contribuant ainsi à la stabilisation de la nanoémulsion [55].

I.4.8.4 Stabilisation LBL

Layer by layer stabilisation (LBL) ou stabilisation couche par couche représente une organisation successive de couches de tensioactifs chargés et de polymères [55].

I.4.8.5 Stabilisation électrostatique

Les gouttelettes d'huile sont recouvertes par des tensioactifs cationiques, elles acquièrent une charge positive en raison de l'adsorption des ions cationiques à leur surface. Les gouttelettes d'huile chargées positivement se repoussent mutuellement en raison de la force de répulsion électrostatique, ce qui empêche leur coalescence. De manière similaire, lorsque les gouttelettes d'huile sont recouvertes par des tensioactifs anioniques, elles acquièrent une charge négative. Les gouttelettes d'huile chargées négativement se repoussent également mutuellement, ce qui prévient leur coalescence [55].

CHAPITRE II : Extraction et analyses physico-chimiques des huiles essentielles étudiées à l'état libre et l'état encapsulé.

II.1 Matériels végétales

Dans ce qui va suivre les deux végétaux qui vont faire l'objet de notre étude vont être nommées « espèce d'*Illicium* » et « espèce de *Myristica* ». Ces dernières contiennent des composés bioactifs bénéfiques pour la santé qui leur confèrent des propriétés médicinales intéressantes.

Ces dernières ont été achetées sous forme séchée dans une épicerie « la caverne d'Ali Baba » en février 2023 à Blida (Algérie) une épicerie qui respecte les conditions de stockage et le broyage quotidien et l'achat de matière première de bonne qualité. Selon les vendeurs de cette épicerie, ces espèces ont été importé d'Inde, un pays producteur fournisseur pour l'Algérie , Chine, Pakistan, Turquie, Tunisie, Maroc et Egypte. Concernant les exportations, le pays n'exporte quasiment pas d'épices, ni d'herbes, ni aromate.

II.1.1 Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par la méthode d'hydrodistillation au moyen d'un dispositif d'extraction type Clevenger (figure II). Au niveau du laboratoire, du département de chimie, faculté des sciences de l'université de Saad Dahlab Blida1.L'hydrodistillation du matériel végétal concassé a été menée pendant 3 heures à partir du début d'ébullition selon le protocole opératoire suivant, une masse du végétale (100g) a été introduite dans un ballon en verre (1000 ml), puis une quantité suffisante d'eau distillée a été rajoutée sans pour autant remplir le ballon.



Figure II.1: Dispositif d'extraction Clevenger

Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical puis dans le serpentín de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. L'HE de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière.

Le distillat (huile + eau) recueilli est transvasé dans une ampoule à décanter. La phase organique contenant l'HE ainsi obtenue est récupérée puis traitée par un déshydratant, le sulfate de magnésium, pour éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été retenue dans la phase.

Les huiles essentielles sont conservées dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4-5 C°).

II.1.2 Rendement d'extraction des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle (R^{dt} (%)), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction ($M(H.E)$) et la masse de la matière végétale utilisée ($M(MV)$). Il est donné par la formule suivante :

Où :

$$R^{dt} (\%) = (M(H.E)/M(MV)) \times 100$$

R^{dt} (%) : Rendement en huile essentielle (en g) pour 100g de matière sèche.

$M(H.E)$: Masse de l'huile essentielle obtenue (g).

$M(MV)$: Masse de matière sèche utilisée en (g).

II.2 Analyses physico-chimiques des huiles essentielles testées

La densité

La densité de l'huile essentielle exprime le rapport entre la masse d'un certain volume d'huile et la masse du même volume d'eau distillée pris sous les mêmes conditions . Elle est mesurée aussi par un pycnomètre qui est un instrument de laboratoire utilisé pour mesurer, à une température déterminée, la masse volumique d'un produit liquide.

Principe

La capacité du pycnomètre étant connue avec précision (indiquée par le fabricant ou mesurée par étalonnage), il suffit de peser au moyen d'une balance de précision le pycnomètre avant et après remplissage pour déterminer par calcul la masse volumique d'un produit liquide.

La densité du produit est calculée par la formule suivante :

Masse volumique = $(m_2 - m_0) / V$, où m_0 = masse du pycnomètre vide, m_2 = masse du pycnomètre avec le fluide à tester, V = volume du pycnomètre.

D'où : $d_{\text{produit}} = \text{masse volumique du produit} / \text{masse volumique de l'eau}$

Puisque la densité de l'eau est égale à 1. La densité du produit sera égale à sa masse volumique dans des conditions opératoires optimales.

Mesure du pH

Le pH exprime la concentration en ion H^+ de l'huile essentielle ou une solution. Il peut-être mesuré par :

pH-mètre

Étalonner le pH-mètre avec des solutions étalons à différents pH, puis introduire l'électrode dans l'huile essentielle à la température ambiante. Lorsque la valeur de pH se stabilise lire la valeur de pH indiqué.

Miscibilité à l'éthanol

La miscibilité à l'éthanol est déterminée par le volume (V) d'alcool nécessaire afin de dissoudre 0,5 ml d'HE pour former un mélange homogène [57].

Mode opératoire

-Introduire dans un erlenmeyer 0.5ml d'HE.

-Remplir une burette de 25ml avec l'éthanol et ajouter progressivement l'éthanol par fraction de 0.2ml en agitant au même temps jusqu'à l'obtention d'une solution limpide.

II.2.4 Indice de saponification

L'indice de saponification d'une huile est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour saponifier 1g d'huile [58].

Mode opératoire

-Dans un bécher préparer une solution huileuse avec 0.5g d'HE et 10ml d'éthanol, agiter puis ajouter 10ml de solution d'hydroxyde de potassium 0.1M et rajouter 10ml d'éthanol pour éviter l'évaporation de l'éthanol, porter le mélange à l'ébullition pendant 30 min.

-Laisser refroidir pendant 10 min à température ambiante.

-Ajouter 4 gouttes de phénophtaléine, titrer l'excès de potasse par une solution d'acide chlorhydrique 0.5M jusqu'à changement de couleur vers le jaune.

-Réaliser un essai à blanc dans les mêmes conditions opératoires. L'indice de saponification I_s est calculé à l'aide de la relation suivante :

Dans
laquelle :

$$I_s = \frac{(V_0 - V_1) * C(HCL) * M(KOH)}{m}$$

V_0 : Volume en ml de HCL utilisé pour l'essai à blanc.

V_1 : Volume en ml de HCL utilisé pour l'échantillon à analyser. $C(HCL)$: Concentration de la solution titrée d'acide chlorhydrique.

$M(KOH)$: Masse molaire de KOH.

m : Masse en g de la prise d'essai.

II.3 Étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles testées

-Dans une fiole de 100 mL, a été dissolvé 6 mg de DPPH (2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle) en ajoutant (2/3) d'éthanol. Puis a été agité jusqu'à ce que le DPPH soit totalement dissous, le volume de la solution a été ajusté jusqu'au trait de jauge. Il faut maintenir l'agitation à température ambiante pendant 15 minutes.

un spectrophotomètre est utilisé pour mesurer l'absorbance du DPPH. La valeur d'absorbance doit se situer dans un intervalle de 0,5 à 0,8 à une longueur d'onde de 517 nm.

-Pour la solution mère, 12 mg de l'huile essentielle a été dilué dans 2 ml d'éthanol pour une concentration initial de 6mg/mL.

Ensuite les solutions filles ont été préparées à partir de la solution mère a différentes concentrations (3 / 1.5 / 0.75 / 0.375 / 0.187 / 0.093 / 0.04) mg/mL

Enfin 1 mL d'éthanol et 1mLde DPPH ont été ajoutés a chaque solution, la lecture de l'absorbance est faite contre un blanc à 517 nm après 30 min d'incubation à l'obscurité à température ambiante.

- L'activité anti-oxydante est exprimée en pourcentage selon l'équation suivante :

$$\%Inhibition = \frac{A_C - A_E}{A_C} .100$$

Où :

A_C : Absorbance du blanc contenant uniquement le DPPH.

A_E : Absorbance de la solution de DPPH contenant les huiles essentielles .

II.4 Résultats et interprétations

Rendement de l'extraction des HEs

Rendement de l'extraction de l'HE d'*Illicium*

Selon la littérature l'huile essentielle de l'*Illicium* aurait un rendement allant de 1 % à 5 % en poids sec de matière première.[60].

Nous avons effectué 5 manipulations, un total 5 échantillons de 5 montages différents d'hydrodistillation pendant 3 heures dans un appareil de type Clevenger le rendement moyen des écorces était comme suit:

R= 5.321%

Nous avons fait l'extraction des graines à part, nous avons eu une petit quantité (0.26g d'huile pour 28,6g de graines avec un rendement donc de 2.658%).

Rendement de l'extraction de l'HE de *Myristica*

Selon nos recherches le rendement d'extraction d'huile essentielle de l'espèce *Myristica* est de 5 % à 15 % en poids sec de matière première. Nous avons effectué deux montages d'hydrodistillation pour recueillir l'HE nous avons eu un rendement moyen de : 5,9%

Propriétés organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (l'aspect, la couleur et l'odeur) des huiles essentielles

De l'espèce d'*Illicium* et celle de *Myristica* sont présentées dans le tableau (**Tableau II.1**).

Tableau II.1 : Propriétés organoleptiques des HEs de *L'Illicium* et *Myristica*

Huiles essentielles	Aspect	Couleur	Odeur
Espèce d' <i>Illicium</i>	Liquide limpide	Incolore	Forte odeur
Espèce de <i>Myristica</i>	Liquide limpide	Incolore	Forte odeur

Analyses physico-chimiques

Les résultats des analyses physico-chimiques des huiles essentielles d'*Illicium* et *Myristica* sont résumés dans le tableau (II.2).

Tableau II.2 : Les indices physico-chimiques des HEs de *L'Illicium* et *Myristica*

Les huiles essentielles	Densité (g/cm ³)	pH	Miscibilité à l'éthanol	Indice de saponification (mg KOH/g d'huile)
Espèce d' <i>Illicium</i>	0,79	4,95	Très miscible	0,2
Espèce de <i>Myristica</i>	0,88	5,75	Très miscible	0,1

La densité est un critère très important pour évaluer la qualité d'une huile essentielle dans différents domaines (cosmétique, pharmacie, agroalimentaire, chimie, etc.) [44]. La densité des huiles essentielles de l'espèce d'*Illicium* et l'espèce de *Myristica* peut varier légèrement en fonction de divers facteurs. En général, la densité se situe entre 0,75 et 0,95 g/cm³. En réalité la densité des huiles essentielles est directement liée au type et la concentration de leurs constituants (métabolites secondaires). Ces derniers sont à leurs tours gouvernées par plusieurs

facteurs, à savoir le type d'extraction de l'huile essentielle, la période de la maturité de la plante, le type du sol, le climat et d'autres facteurs.



Figure II.2 : Un pycnomètre pour mesurer la densité des huiles essentielles

La valeur du Ph

D'après le résultat obtenu on constate que les valeurs du pH sont inférieurs à 7 cela signifie que les huiles essentielles testées sont acides.

Les huiles essentielles sont souvent lipophiles, ce qui signifie qu'elles se dissolvent principalement dans les graisses ou les huiles plutôt que dans l'eau. Par conséquent, il est courant que les huiles essentielles aient un pH inférieur à 7, les rendant légèrement acides.



Figure II.3 : Les valeurs de pH mesurés par le pH mètre

La miscibilité à l'éthanol

Ce paramètre représente la solubilité des huiles essentielles dans des solvants lipophiles, elle est déterminée par le volume (V) d'EtOH nécessaire pour former une solution limpide avec 0.5 mL d'huile essentielle.

Les deux huiles essentielles testées sont très miscibles avec l'éthanol dès la première fraction de 0,2 mL d'éthanol, cela indique que les deux substances se mélangent facilement et forment une solution homogène. Cela signifie que nos huiles essentielles se dissolvent bien dans l'éthanol et qu'il n'y a pas de séparation visible entre les deux liquides.

Une bonne miscibilité dès la première fraction du mélange est généralement considérée comme un indicateur positif pour l'utilisation de l'huile essentielle avec de l'éthanol, notamment pour la formulation de produits tels que des parfums, des produits de soins personnels ou des produits nettoyants. La miscibilité peut être influencée par différents facteurs, tels que la concentration d'huile essentielle, la qualité des produits utilisés et les conditions spécifiques du mélange.

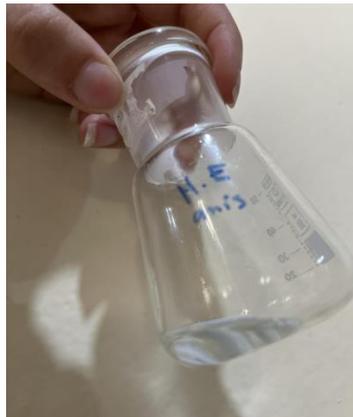


Figure II.4: Solution limpide formée après la dissolution des huiles essentielles de l'*Illicium* et *Myristica* à l'EtOH

L'indice de saponification

L'indice de saponification est une mesure de la quantité de potasse (ou soude) nécessaire pour saponifier une certaine quantité d'huile ou de graisse, c'est-à-dire pour la transformer en savon. Cet indice est spécifique aux huiles et graisses qui contiennent des glycérides.

D'après les normes l'indice de saponification des huiles commercialisées est entre 14 et 30.

Les indices de saponification des deux huiles essentielles testées sont de l'ordre de 0.2 et 0,1 respectivement.

Ce résultat ne rentre pas dans les normes car les huiles essentielles sont généralement constituées de composés volatils et ne contiennent pas de glycérides, contrairement aux huiles végétales.

Étant donné que les huiles essentielles ne contiennent pas de triglycérides, qui sont les principaux composants des huiles et des graisses, l'indice de saponification n'est généralement pas applicable pour mesurer leur composition en acides gras. Par conséquent, il n'est pas courant d'utiliser l'indice de saponification pour les huiles essentielles.

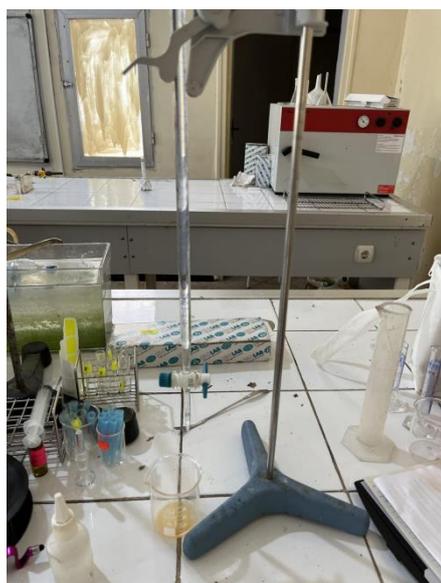


Figure II.5: Indice de saponification, décoloration de la solution après le titrage

II.4.5 Test de l'activité antioxydante

Tableau II.3: Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'acide ascorbique

	<i>Tube</i>	Absorbance	Pourcentage d'inhibition
	<i>T1</i>	0.611	28.12
	<i>T2</i>	0.549	35.41

acide ascorbique	<i>T3</i>	0.547	35.64
	<i>T4</i>	0.546	35.76
	<i>T5</i>	0.403	52.59
	<i>T6</i>	0.280	67.06
	<i>T7</i>	0.055	93.53
	<i>T8</i>	0.051	94
	<i>T9</i>	0.048	94.35
	<i>T10</i>	0.040	95.29
	<i>T11</i>	0.039	95.41
	<i>T12</i>	0.035	95.88

Tableau II.4: Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'huile essentielle d'*Ilicium*

<i>Tube</i>	Absorbance	Pourcentage d'inhibition
<i>T1</i>	<i>0.167</i>	<i>76.76</i>
<i>T2</i>	<i>0.170</i>	<i>76.35</i>
<i>T3</i>	<i>0.212</i>	<i>70.51</i>
<i>T4</i>	<i>0.250</i>	<i>65.22</i>
<i>T5</i>	<i>0.413</i>	<i>42.55</i>
<i>T6</i>	<i>0.416</i>	<i>42.14</i>
<i>T7</i>	<i>0.587</i>	<i>18.35</i>
<i>T8</i>	<i>0.601</i>	<i>16.55</i>
<i>T0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>

Tableau II.5 : Résultats de l'absorbance et l'inhibition de l'huile essentielle de l'espèce de *Myristica*

<i>Tube</i>	Absorbance	Pourcentage d'inhibition
<i>T1</i>	<i>0.043</i>	<i>94.01</i>
<i>T2</i>	<i>0.131</i>	<i>81.7</i>
<i>T3</i>	<i>0.190</i>	<i>73.57</i>
<i>T4</i>	<i>0.226</i>	<i>68.56</i>
<i>T5</i>	<i>0.548</i>	<i>23.78</i>
<i>T6</i>	<i>0.620</i>	<i>23.78</i>
<i>T7</i>	<i>0.701</i>	<i>13.76</i>
<i>T8</i>	<i>0.715</i>	<i>2.64</i>
<i>T0</i>	<i>0</i>	<i>0</i>

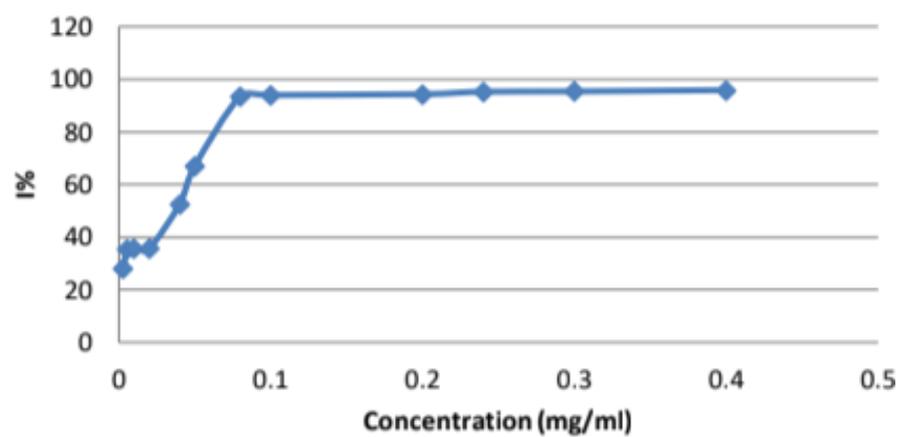


Figure II.6: Pourcentage d'inhibition de l'acide ascorbique en fonction de sa concentration

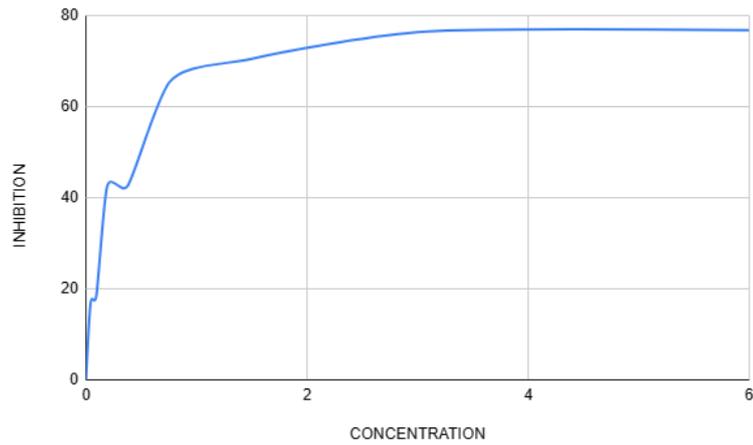


Figure II.7: Pourcentage d'inhibition de l'HE d'*Illicium* en fonction de sa concentration

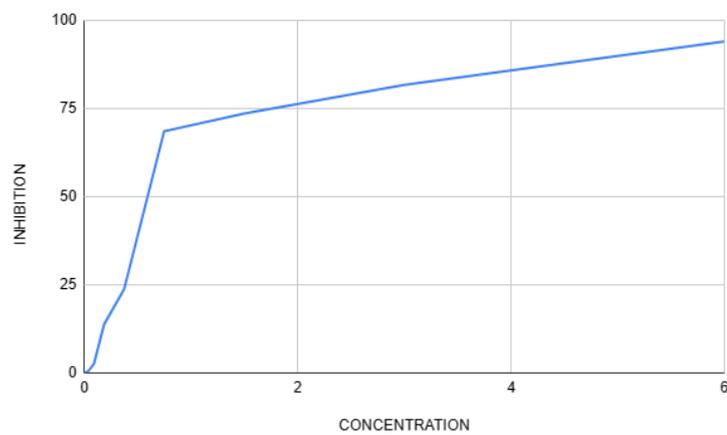


Figure II.8 : Pourcentage d'inhibition de l'HE de *Myristica* en fonction de sa concentration



Figure II.9: Test du pouvoir réducteur de l'acide ascorbique

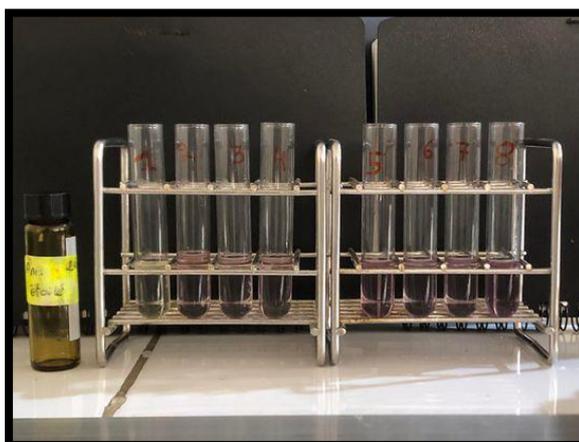


Figure II.10: Test du pouvoir réducteur de l'HE d'*Illicium*



Figure II.11: Test du pouvoir réducteur de l'HE de *Myristica*

L'analyse des résultats de l'activité antioxydante entre l'huile essentielle et l'acide ascorbique par IC_{50} a été réalisée. Une courbe a été construite en traçant les concentrations des différents échantillons en abscisse et les pourcentages d'inhibition en ordonnée. L' IC_{50} , correspondant à la concentration d'extrait nécessaire pour atteindre une réduction de 50% de l'activité du DPPH, a été calculé pour chaque échantillon. Les valeurs ont été calculées à partir de la courbe en utilisant l'Excel comme logiciel.

Les résultats obtenus ont révélé que l' IC_{50} des échantillons ($IC_{50}=0.71\text{mg/mL}$ *Illicium* et $IC_{50}=0,54\text{ mg/mL}$ *Myristica*) était supérieur à celui de l'acide ascorbique ($IC_{50}=0.035\text{ mg/mL}$), indiquant une activité antioxydante moins prononcée des huiles essentielles par rapport à l'acide ascorbique. Cela suggère que l'acide ascorbique présente une meilleure capacité antioxydante, nécessitant une concentration plus faible pour atteindre la réduction de 50% de l'activité du DPPH par rapport aux HEs.

Les résultats ont révélé également que l'huile essentielle de *Myristica* présentait un IC_{50} plus faible que l'huile essentielle d'*Illicium*. Cette observation suggère que l'huile essentielle de *Myristica* possède une activité antioxydante plus prononcée que l'huile essentielle d'*Illicium*.

II.5 Préparation et analyse des nanoémulsions à base des huiles essentielles testées

II.5.1 Préparation des nano-émulsions et optimisation des conditions opératoires

La nano-émulsion des huiles essentielles testées a été réalisée par l'une des méthodes d'émulsification à faible énergie qui est l'émulsification spontanée.

La méthode utilisée consiste à préparer deux phases distinctes, une phase huileuse qui contient le tensioactif et l'huile essentielle, et une phase aqueuse contenant l'eau et le co-tensioactif. Chacune des deux phases a été bien agitée avec un agitateur magnétique pendant 10 minutes. Ensuite la phase huileuse a été ajoutée goutte à goutte à la phase aqueuse, la solution reste sous agitation pendant 6 heures. Les compositions des nanoémulsions préparées dans notre étude sont mentionnées respectivement dans les tableaux **II.5 et II.6**

Afin d'obtenir une nanoémulsion stable et limpide, on a optimisé les conditions opératoires en réalisant trois systèmes avec différentes compositions et proportions en huile essentielle, tensioactif et co-tensioactif.

Tableau II.6: La composition des nanoémulsions de l'HE d'*Illicium* préparées.

Systèmes	Huile essentielle de l'espèce d' <i>Illicium</i> % (m/m)	Tween 80 % (m/m)	Propylène glycol
A	2	10	+
B	3	10	+
C	4	10	+

Tableau II.7: La composition de la nanoémulsion de l'HE de *Myristica* préparée

Systèmes	Huile essentielle de l'espèce de <i>Myristica</i> % (m/m)	Tween 80 (% m/m)	Propylène glycol
A	3	10	+

L'optimisation de la formulation d'une nanoémulsion implique plusieurs paramètres clés à prendre en compte pour obtenir une stabilité, une taille de particules et une efficacité optimales. Il est important de trouver le bon équilibre entre le tensioactif et le co-tensioactif pour obtenir une bonne solubilisation des ingrédients lipophiles, une réduction de la tension interfaciale et une stabilité de la nanoémulsion, Nous devons également prendre en compte le rapport

huile/eau dans la formulation pour obtenir une dispersion fine des gouttelettes d'huile dans l'eau et réduire la taille des particules.

II.5.2 Détermination de la taille des particules par la DLS

La diffusion de la lumière dynamique (DLS), également connue sous le nom de diffraction de la lumière dynamique (DLS) ou de spectroscopie de corrélation de photons (PCS), est une technique couramment utilisée en physique et en chimie pour mesurer la taille des particules en suspension dans un liquide.

La DLS exploite le phénomène de diffusion de la lumière par les particules présentes dans un échantillon liquide. Lorsque la lumière est projetée sur l'échantillon, les particules dispersent la lumière dans différentes directions en raison de leur mouvement brownien (agitation thermique).

En mesurant les fluctuations de l'intensité de la lumière diffusée au fil du temps, la DLS permet de déterminer la taille moyenne des particules présentes dans l'échantillon, ainsi que leur distribution de tailles. Les principes mathématiques de l'analyse de corrélation sont utilisés pour extraire ces informations à partir des modèles de diffusion observés.

La DLS est couramment utilisée dans de nombreux domaines de recherche, tels que la nanotechnologie, la chimie, la biologie cellulaire, la pharmacologie et les sciences des matériaux. Elle fournit des informations précieuses sur la taille des particules, leur polydispersité (répartition de tailles) et leurs propriétés dynamiques dans les liquides.



Figure II.12: Appareil de Diffusion Dynamique de la lumière

II.6 Résultats et interprétations

II.6.1 Optimisation des conditions opératoire de formation des nanoemulsions

Afin d'obtenir une bonne nanoémulsion (transparente, stable...) des optimisations des conditions opératoires ont été effectuées, ces dernières nous ont permis d'obtenir plusieurs formulations avec différentes formes.

Des photographies de nanoémulsions préparées avec les différentes concentrations d'huile essentielle sont présentées dans **la figure II .13**. Comme on peut le constater sur les photos, la formulation 1 qui contient 2% d'huile essentielle de l'espèce *Illicium* est transparente, tandis que les formulations 2 et 3 qui contiennent 3% et 4 % d'huile essentielle ont un aspect laiteux (blanchâtre).

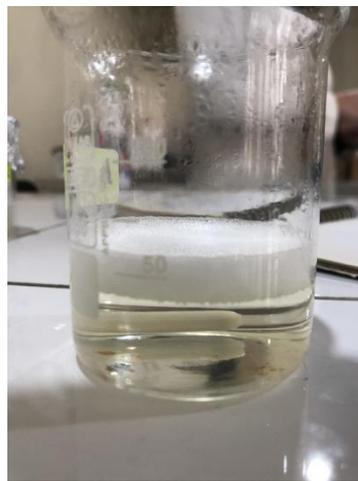
Dans **la figure II.14** La formulation 1 qui contient 3 % d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* à eu un aspect transparent dès le premier essaie nous n'avons donc pas essayé d'autres formulations pour cette huile.

Cette nette différence peut être due à leurs diamètres des gouttelettes inférieurs conduisant à des solutions plus transparentes, plus la taille des gouttelettes est petite, plus la solution est transparente et plus la stabilité de la formulation augmente.

D'après les photos on peut aussi déduire que la quantité de l'huile essentielle utilisée dans la préparation des formulation influe directement sur la formulation de la nanoémulsion. En raison des collisions de gouttelettes plus élevées et de la coalescence pendant l'émulsification, l'augmentation de la concentration d'huile essentielle entraîne une augmentation de la taille moyenne des gouttelettes du coup l'augmentation de la turbidité [46].



Figure II.13: Aspect des formulations 1, 2 et 3 de l'HE d'*Illicium* préparées



1

Figure II.14: Aspect de la formulation 1 de l'HE de *Myristica* préparée



A B

Figure II.15: Les formulations optimales choisies des HEs de *Myristica* et *Illicium*

II.6.2 Détermination de la taille des particules par la DLS

Dans notre investigation, et pour confirmer le choix de la meilleure formulation une détermination de la taille des gouttelettes par diffusion dynamique de la lumière (DLS) est une étape très importante. Nous avons mesuré les fluctuations de l'intensité de la lumière dispersée par des particules en mouvement Brownien dans une dispersion de deux échantillons. Ce qui nous a permis de déterminer la distribution de taille des particules ainsi que leur mouvement en solution (figure II).

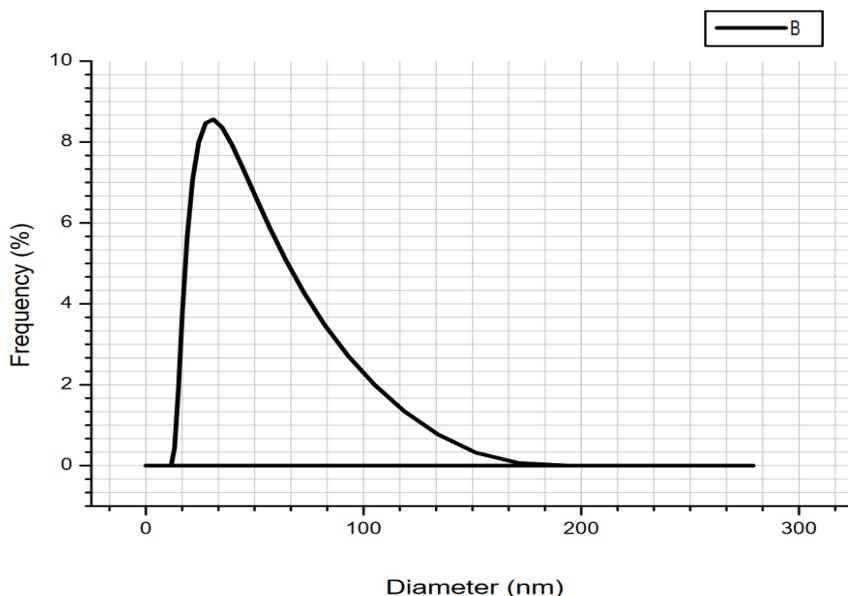


Figure II.16: Courbe de diffusion dynamique de la lumière des nanoparticules de l'HE de l'*Illicium*

-L'échantillon étudié était une nanoémulsion d'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium*, stabilisée avec du Tween 80. La nanoémulsion a été préparée par la méthode d'émulsification à faible énergie qui est l'émulsification spontanée. La concentration en huile essentielle était de 2% (m/m) et la concentration en émulsifiant (Tween 80) était de 10% (m/m). Les résultats de la DLS ont montré une courbe d'autocorrélation typique, avec un pic principal indiquant la taille des particules. Une taille moyenne de particules de 31,6 nm et une polydispersité de 0,32.

- La taille moyenne des gouttelettes obtenue (31,6 nm) indique que la nanoémulsion était dans la plage nanométrique, ce qui est souhaitable pour de nombreuses applications. La polydispersité de 0,32 indique une distribution de taille légèrement plus large, ce qui peut être dû à la nature des composants utilisés. La petite taille des particules et la stabilité satisfaisante des nanoémulsions sont des caractéristiques importantes pour leur utilisation dans les formulations. Les résultats de la DLS suggèrent que ces nanoémulsions pourraient être utilisées pour délivrer l'huile essentielle de l'espèce étudiée de manière efficace et stable.

Concernant la nanoémulsion de l'huile essentielle de l'espèce de *Myristica*, elle a été aussi préparée par la méthode d'émulsification à faible énergie qui est l'émulsification spontanée. La concentration en huile essentielle était de 3% (m/m) et la concentration en émulsifiant (Tween 80) était de 10% (m/m).

- Les résultats de la DLS ont montré une courbe d'autocorrélation typique, avec un pic principal indiquant la taille des particules 6,34 nm et une polydispersité de 0,031. de **Figure II.17** La distribution de taille a été calculée et les paramètres associés ont été obtenus :

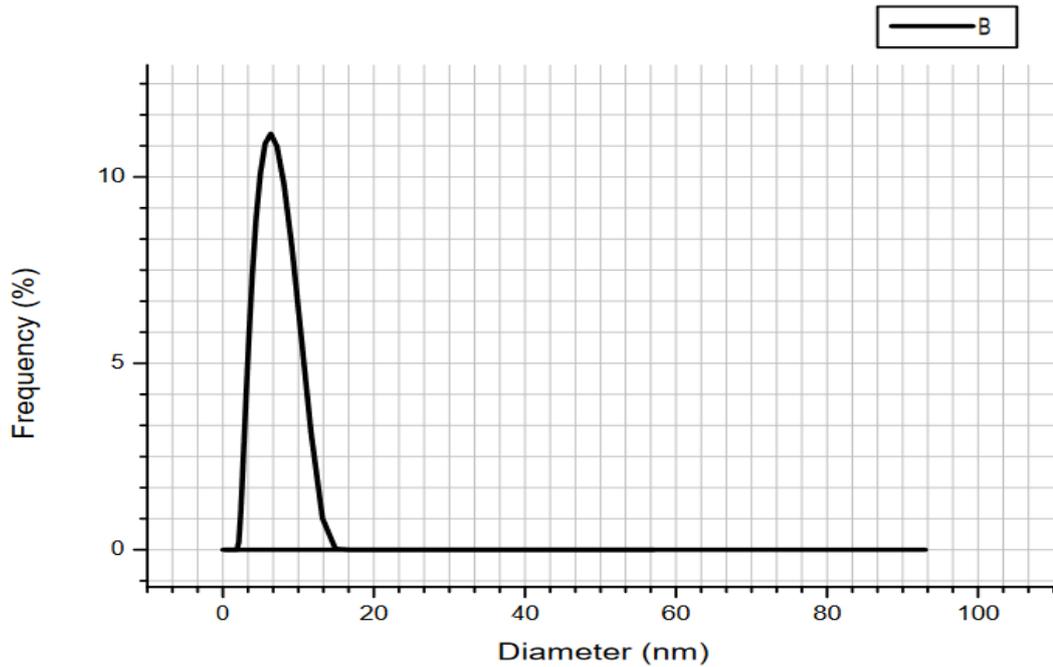


Figure II.17: Courbe de diffusion dynamique de la lumière des nanoparticules de l'HE de *Myristica*

Un PI de 0,031 indique une distribution relativement étroite et homogène des tailles de particules dans l'échantillon. Plus le PI est proche de zéro, plus la distribution de taille est étroite et les particules ont des tailles similaires[71]. Dans ce cas, un PI de 0,031 suggère une faible polydispersité, ce qui signifie que les particules ont des tailles relativement similaires et que la dispersion présente une homogénéité en termes de taille des particules. Une taille moyenne des particules de 6,34 nm avec une distribution relativement étroite et homogène autour de cette valeur. Cela peut être considéré comme un résultat positif, car une faible polydispersité est souvent souhaitée dans de nombreuses applications où des tailles de particules uniformes sont nécessaires pour obtenir des performances constantes et reproductibles.

D'après le suivi de la stabilité de ces nano-émulsions en temps réel par observation de leurs aspect visuel et leurs transparences, nous pouvons fixer la nano-émulsion de formulation de ces qui se composent de 10% tween 80 et 2% HE d'*Illicium* et l'autre formulation qui se compose de 10 % de tween 3 % HE de *Myristica* d'autant que meilleures formulations vu qu'elles sont translucides, et qui restent stables après 30 jours de leurs préparations.

II.6.3 Analyses physico-chimiques des formulations

Les résultats des analyses physicochimiques des formulations A et B des huiles essentielles des espèces *Illicium et Myristica* sont résumés dans le tableau (Tableau II.8).

Tableau II.8 Indices physico-chimiques des formulations à base d'HEs d'*Illicium* et de *Myristica*

Système	densité	pH
A	0,998	6,40
B	1,02	6,13

La densité

L'objectif de ce test était d'évaluer les propriétés de densité des nanoémulsions préparées d'*Illicium et Myristica*. La densité des huiles essentielles est généralement plus faible que celle de l'eau, ce qui peut poser des défis lors de leur utilisation dans certaines applications, notamment dans des surfaces riches en eau. La nanoémulsion est une approche prometteuse pour améliorer la solubilité des huiles essentielles sous formes de micelles.

La formation de ces gouttelettes plus petites qui sont stabilisées par les agents émulsifiants, qui réduisent la tension superficielle entre l'huile et l'eau, empêchant ainsi leur coalescence et leur séparation donc qui augmente la surface totale de l'huile essentielle en contact avec l'eau, ce qui augmente la densité apparente du système. En d'autres termes, l'huile essentielle est répartie sur une plus grande surface. Certains agents émulsifiants ont une densité plus élevée que l'eau, ce qui peut contribuer à l'augmentation la densité globale de la nanoémulsion.

L'amélioration de la solubilité des huiles essentielles par nanoémulsion présente plusieurs avantages potentiels. Tout d'abord, une dispersion accrue des huiles essentielles dans des formulations à base d'eau. Cela ouvre la voie à de nouvelles opportunités dans le développement de produits où la miscibilité avec l'eau est cruciale, comme les émulsions et les suspensions. De plus, une densité de la formulation similaire à celle de l'eau peut contribuer à une meilleure

stabilité des formulations, évitant ainsi la séparation de phases ou le crémage des huiles essentielles.

Chapitre III: Activité antimicrobienne des huiles essentielles de l'épice de *Illicium et Myristicae* à l'état libre et à l'état encapsulé.

III.1 Détermination de la CMI

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration en huile essentielle (agent antibactérien) ayant l'habileté d'inhibé la croissance des bactéries testées.

III.2 Microorganismes utilisés

Afin d'évaluer le pouvoir antibactérien des deux huiles essentielles testées six souches microbiennes ont été utilisées. Toutes les souches sont de référence ATCC (American Type Culture Collection), sont enregistrées dans le tableau (IV.1) :

III.3 Milieu de culture

Le milieu de culture utilisé est celui de Luria-Bertani (LB). Il est préparé avec 5g de poudre LB dissout dans 250 mL d'eau distillée en agitant jusqu'à dissolution totale. La stérilisation a été faite par l'autoclave pendant 20 minutes à 120°C.

III.4 Préparation des pré-cultures

Les pré-cultures sont préparés en ensemençant quelques colonies bien isolées de chacune des souches bactériennes dans 30 mL de milieu de culture liquide stérile, ensuite une incubation sous agitation pendant (6 -10 h) à 37 °C pour les bactéries et (12 - 16 h) à 30 °C pour les levures.

III.5 Mode opératoire

La méthode de micro-dilution en milieu liquide a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Une série de 7 tubes à essais avec le milieu de culture liquide a été préparé. Le premier tube contenant 6 mL et les sept autres 3 mL de la solution de culture.

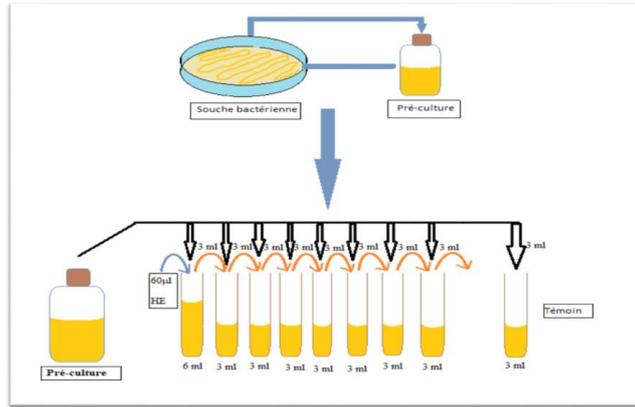


Figure III.1 : Représentation de la méthode de micro-dilution en milieu liquide.

Des séries de dilution ont été réalisées pour chaque souche différente. Un contrôle positif de croissance contenant seulement le milieu LB et la souche testée a été utilisé pour chaque test. Après 24 h d'incubation des tubes à essais à 37°C et 48 h à 30°C, l'évaluation des CMIS se fait par analyse visuelle. La CMI de composé testé est déduite à partir du premier tube de la série ne présentant pas de dépôt ou trouble.

Tableau III.1: Souches microbiennes testées

Nom scientifique	Famille	Gram (+/-)	Références
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillaceae</i>	Gram +	ATCC 6633
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeriaceae</i>	Gram +	ATCC 13932
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Gram +	ATCC 44300
<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	Gram -	ATCC 25922
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	Gram -	ATCC 9027

<i>Candida albicans</i>	<i>Saccharomycetaceae</i>	levure	ATCC 10231
-------------------------	---------------------------	--------	------------

III.6 Résultats et interprétations

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles était évaluée par la méthode de micro-dilution en milieu liquide, et les résultats sont présentés respectivement dans les tableaux (III.2 et III.3).

Tableau III.2 : Les concentrations minimales inhibitrices de l'HE d'*Illicium verum*

Souches ATCC	10µL/ mL	5 µL/mL	2,5 µL/mL	1,25 µL/mL	0,625 µL/mL	0,3125 µL/mL	0,156 µL/m L
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633) Gram (+)	-	-	-	-	-	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 44300) Gram (+)	-	-	-	-	-	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 13932) Gram (+)	-	-	-	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) Gram (-)	-	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027) Gram (-)	-	-	-	-	-	+	+

Levure	-	-	-	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)							

Les résultats ont révélé que l'huile essentielle de l'espèce d'illicium avait une CMI de :

0.625 µL/mL pour la souche *Bacillus subtilis* Gram (+)

0.625 µL/mL pour la souche *Staphylococcus aureus* Gram (+)

0.625µL/mL pour la souche *Listeria monocytogenes* Gram (+)

1.25µL/mL pour la souche *Escherichia coli* Gram (-)

0.625µL/mL pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 Gram (-)

2.5µL/mL pour la levure *Candida albicans*

Ces valeurs indiquent une activité antimicrobienne de l'huile contre toutes les souches testées, bien que les concentrations nécessaires varient.

Tableau III.3: Les concentrations minimales inhibitrices de l'HE de *Myristica*

Souches ATCC	10µL/ mL	5 µL/mL	2,5 µL/mL	1,25 µL/mL	0,625 µL/mL	0,3125 µL/mL	0,156 µL/m L
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633) Gram (+)	-	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 44300) Gram (+)	-	-	+	+	+	+	+

<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 13932) Gram (+)	-	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) Gram (-)	-	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027) Gram (-)	-	-	-	+	+	+	+
Levure <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	-	+	+	+	+	+

Pour l'huile essentielle de *Myristica*

les résultats ont révélé que l'huile essentielle avait une CMI de :

1.25 µL/mL pour la souche *Bacillus subtilis* Gram (+)

5 µL/mL pour la souche *Staphylococcus aureus* Gram (+)

2.5 µL/mL pour la souche *Listeria monocytogenes* Gram (+)

2.5 µL/mL pour la souche *Escherichia coli* Gram (-)

2.5 µL/mL pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 Gram (-))

5 µL/mL pour la levure *Candida albicans*

Tableau III.4: Les concentrations minimales inhibitrices de la formulation 1 l'HE d'*Illicium*

Souches ATCC	400µL/ mL	333,33 µL/mL	250 µL/mL	166,66 µL/mL	0,3125 µL/mL	83,33 µL/m L
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633) Gram (+)	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 44300) Gram (+)	-	+	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 13932) Gram (+)	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) Gram (-)	-	-	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027) Gram (-)	-	+	+	+	+	+
Levure <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	-	-	+	+	+

En revanche, la nanoémulsion de l'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium* a montré des CMI de :

250 µL/mL pour la souche *Bacillus subtilis* Gram (+)

400 µL/mL pour la souche *Staphylococcus aureus* Gram (+)

333.33 µL/mL pour la souche *Listeria monocytogenes* Gram (+)

250 µL/mL pour la souche *Escherichia coli* Gram (-)

400 µL/mL pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 Gram (-)

250µL/mL pour la levure *Candidat albicans*

Tableau III.5: Concentrations minimales inhibitrices de la formulation 2 l'HE de *Myristica*

Souches ATCC	400µL/ mL	333,33 µL/mL	250 µL/mL	166,66 µL/mL	0,3125 µL/mL	83,33 µL/m L
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633) Gram (+)	-	-	-	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 44300) Gram (+)	-	-	+	+	+	+
<i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 13932) Gram (+)	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) Gram (-)	-	-	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027 Gram (-)	-	-	+	+	+	+
Levure <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231)	-	-	+	+	+	+

La nanoémulsion de l'huile essentielle de l'espèce *Myristica*

a montré des CMI de :

- 166.6 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la souche *Bacillus subtilis* Gram (+)
- 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la souche *Staphylococcus aureus* Gram (+)
- 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la souche *Listeria monocytogenes* Gram (+)
- 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la souche *Escherichia coli* Gram (-)
- 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027 Gram (-))
 - 250 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pour la levure *Candidat albicans*

Ces résultats révèlent que les formulations en nanémulsion présentent une activité antimicrobienne moins prononcée que les huiles essentielles seules, car des concentrations plus élevées sont nécessaires pour inhiber la croissance bactérienne.

Lorsque nous avons comparé les valeurs de CMI obtenues, nous avons constaté que les CMI de la nanoémulsion dépassaient les CMI des huiles essentielles. Cela suggère que la formulation en nanémulsion n'a pas démontré une activité antimicrobienne efficace contre ces souches, selon les critères de sensibilité.

Ces résultats sont spécifiques aux souches bactériennes testées dans notre investigation et peuvent différer pour d'autres souches ou espèces bactériennes. De plus, il est possible que les formulations en nanémulsions ne soient pas assez optimisées pour maximiser l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

Nos résultats indiquent que les formulations en nanémulsion ont montré une activité antimicrobienne réduite par rapport aux huiles essentielles seules pour les six souches bactériennes testées. Cela suggère que d'autres stratégies de formulation ou d'amélioration de l'activité antimicrobienne peuvent être nécessaires pour augmenter l'efficacité de la nanémulsion dans le contexte de ces souches bactériennes spécifiques. Des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les raisons de cette différence d'activité entre les huiles essentielles et leurs formulations en nanémulsion.

IV. Conclusion générale

En conclusion de cette étude, nous avons examiné deux huiles essentielles, leur méthode d'extraction, leurs tests physico-chimiques, leur nanoencapsulation, ainsi que l'évaluation comparative de leur activité antimicrobienne avant et après encapsulation. Les résultats obtenus

ont fourni des informations précieuses sur les propriétés des huiles essentielles et sur l'effet de la nanoencapsulation sur leur activité antimicrobienne. Tout d'abord, nous avons effectué l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation Cette étape est cruciale pour garantir la pureté et la qualité des huiles essentielles utilisées. Ensuite, nous avons effectué des tests physico-chimiques pour évaluer les caractéristiques des huiles essentielles, notamment leur densité, leur pH, miscibilité à l'éthanol, leur indice de saponification.. etc, Ces tests ont permis de confirmer la qualité et la pureté des échantillons étudiés.

Les résultats de l'évaluation de leur activité antioxydante par DPPH ont également montré que nos huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant dû notamment à la présence de composés phénoliques même si les résultats obtenus ont révélé que l'IC₅₀ des échantillons (IC₅₀=0.71mg/mL *Illicium* et IC₅₀=0,54 mg/mL *Myristica*) étaient supérieur à celui de l'acide ascorbique(IC=0.035 mg/mL) , indiquant une activité antioxydante moins prononcée des huiles essentielles par rapport à l'acide ascorbique. La nanoencapsulation des huiles essentielles a été réalisée pour améliorer leur stabilité, leur solubilité, leurs aspects physico-chimiques et leur activité antimicrobienne. Les nanoparticules utilisées dans ce processus ont été soigneusement conçues pour assurer une libération contrôlée des composés actifs des huiles essentielles. Cette encapsulation a également permis de réduire l'évaporation, la toxicité et la volatilité des huiles essentielles, ce qui prolonge leur durée de conservation. les résultats de la DLS ont démontré que les nanoémulsions des huiles essentielles dans de l'eau, stabilisées avec du Tween 80, présentaient une distribution de taille acceptable. De plus, les nanoémulsions ont montré une stabilité satisfaisante au fil du temps. Ces résultats suggèrent que ces nanoémulsions pourraient être prometteuses pour une utilisation future dans des applications pharmaceutiques ou agroalimentaire impliquant les huiles essentielles du genre *Illicium* et *Myristica*.

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité antimicrobienne, nous avons réalisé des tests comparatifs avant et après l'encapsulation des huiles essentielles. L'analyse des résultats a révélé que, contrairement à nos attentes, la nanoencapsulation n'a pas conduit à une amélioration significative de cette activité, aucune augmentation substantielle de l'efficacité antimicrobienne n'a été observée après encapsulation.les résultats montrent que la gamme des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle avant encapsulation provenant de l'espèce d'*Illicium* se situe entre 0,625 et 2,5 uL/mL, celles de l'espèce de *Myristica* se situe entre 1,25 et 5 uL/mL contre les souches *Bacillus subtilis* ,*Staphylococcus aureus*,*Listeria monocytogenes*,*Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans*. mais la

gamme de CMI après nanoémulsion de nos deux huiles se situe entre 166,6 uL/mL et 400uL/mL pour les mêmes souches. Cependant, ça a entraîné des améliorations significatives dans certains aspects physico-chimiques des huiles essentielles étudiées. En particulier, la densité et le pH ont été modifiés de manière favorable après encapsulation. La nanoemulsion a permis d'obtenir des huiles essentielles encapsulées avec une densité plus adaptée à certaines applications spécifiques, tout en maintenant un pH optimal pour leur utilisation. La nanoemulsion s'est avérée être une méthode prometteuse pour améliorer l'efficacité des huiles essentielles en tant qu'agents antimicrobiens. Ces résultats ouvrent la voie à de nouvelles applications potentielles dans le domaine agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique, où les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles encapsulées pourraient être exploitées de manière plus efficace et durable.

Références bibliographiques

- [1] Food Additives and Contaminants: Part A. "Food preservatives: an overview on applications and side effects." (2019)
- [2] Environmental Health Perspectives. "Endocrine Disruptors: From Wings to Men's Semen." (2018)
- [3] International Journal of Food Microbiology. "Essential oils as natural food antimicrobial agents: a review." (2017)
- [4] Turek C, Stintzing FC. Stability of essential oils: A review. *Compr Rev Food Sci Food Saf* 2013; 12: 40–53
- [5] Hădărugă DI, Hădărugă NG, Costescu CI, et al. Thermal and oxidative stability of the *Ocimum basilicum* L. essential oil/ β -cyclodextrin supramolecular system. *Beilstein J Org Chem* 2014; 10: 2809–2820.
- [6] B. y. M. C. Mohamed amine FARHET, citrus d'Algérie les huiles essentielles et leurs procédés d'extraction, 2010.
- [7] WERNER M, VON BRAUNSCHWEIG R. L'aromathérapie : principes, indications, utilisations. Paris : Ed. Vigot ; 2008. 334 p
- [8] Hosseinzadeh H, Tafaghodi M, Abedzadeh S, Taghiabadi E. Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* L. seeds on milk production in rats. *J Acupunct Meridian Stud.* 2014 Aug;7(4):211-6. doi: 10.1016/j.jams.2013.10.004
- [9] WERNER M, VON BRAUNSCHWEIG R. L'aromathérapie : principes, indications, utilisations. Paris : Ed. Vigot ; 2008. 334 p
- [10] "Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications" par K. Husnu Can Baser et Gerhard Buchbauer
- [11] "Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals" par Robert Tisserand et Rodney Young
- [12] "Aromatherapy: Basic Mechanisms and Evidence Based Clinical Use" par P.J. Davis, R.M. Bodeker et L. Philips
- [13] "Essential Oil Profiles: Aromatherapy Reference Manual for the Beginner and Beyond" par Lea Jacobso

- [14] Tisserand, R., Young, R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Churchill Livingstone, 2013.
- [15] Carson, C. F., Hammer, K. A., Riley, T. V. "Melaleuca alternifolia (Tea Tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties." *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50-62, 2006.
- [16] Calkin, R. R., Jellinek, J. S. "Perfumery: Practice and Principles." Wiley, 1994.
- 17 Grieve, M. "A Modern Herbal." Penguin, 1984.
- [18] Lardry, J.-M., & Haberkorn, V. (2007). Les huiles essentielles : principes d'utilisation. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 18–23.
- [19] Vigan, M., & Besançon, C. H. U. (2009). Les huiles essentielles: leur retour et leur toxicité. In *Progrès en dermato-allergologie, Bordeaux 2009* (pp. 128-136). John LibbeyEurotext Paris.
- [20] Couderc, V. (2001). Toxicité des huiles essentielles (Doctoral dissertation).
- [21] Lardry, J.-M., & Haberkorn, V. (2007). Les huiles essentielles : principes d'utilisation. *Kinésithérapie, La Revue*, 7(61), 18–23.
- [22] Cherguia, A. (2020). Etude des propriétés physico-chimique et biologique de l'huile essentielle d'une plante Algérienne (*S. incana*).
- [23] Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57.
- [24] "Anis étoilé". *Passeport Santé*. Consulté le 24 avril 2023. https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/PlantesSupplements/Fiche.aspx?doc=anis_etoile_ps
- [25] University of Florida IFAS Extension, "Native Plant Series: Florida Anise.
- [26] Li, L., Li, H., Li, Y., Li, P., Wei, Y., & Sun, J. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Illicium verum* grown in China. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 414-424. <https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1619134>
- [27] "Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.): a review of its botany, cultivation, pharmacology and toxicology" par P. Singh et al., dans le journal *Phytotherapy Research*, 2011 : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21591210/>
- [28] "Nutmeg: Composition, Uses and Health Benefits" par P. Ravindran et al., dans le livre *Nutmeg and Mace: Aromatic Seeds from Myristica fragrans*, CRC Press, 2019.

- [29] *Myristica argentea*" – news · newspapers · books · scholar · JSTOR (October 2014).
- [30] Small Scale Ecology and Society: Forest-Culture of Papua Nutmeg (*Myristica argentea* Warb.)
- [31] "*Myristica fragrans* Houtt." sur le site Plants of the World Online (POWO) du Royal Botanic Gardens, Kew : <http://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:579771-1>
- [32] Muchtaridi; Subarnas, A.; Apriyantono, A.; Mustarichie, R. « Identification of Compounds in the Essential Oil of Nutmeg Seeds (*Myristica fragrans* Houtt.) That Inhibit Locomotor Activity in Mice. » Int. J. Mol. Sci. 2010,11(11):4771-81. DOI 10.3390/ijms11114771
- [33] Nanoformulation des corps gras. Nanocapsules, nanoémulsions (ocl-journal.org)
- [34] Izquierdo, J. Esquena, Th. F. Tadros, C. Dederen, M. J. Garcia, N. Azemar, and C. Solans” Formation and Stability of Nano-Emulsions Prepared Using the Phase Inversion Temperature Method” pp. 26-30, 2002
- [35] Homogénéisateur haute pression avec 7 fonctions supplémentaires - SeFluid
- [36] Homogénéisateur haute pression - Principe, types, pièces, utilisations (microbiologynote.com)
- [37] Homogénéisateur haute pression fonctionnement - Microfluidics
- [38] Méthodes de fabrication | liposome (liposometpe.wixsite.com)
- [39] La production par ultrasons de nanoémulsions stables (hielscher.com)
- [40] Ultrasons biomédicaux □ Inserm, La science pour la santé
- [41]]. Schematic diagram of the ultrasonic experimental setup | Download Scientific Diagram (researchgate.net)
- [42] Microfluidic Spontaneous Emulsification for Generation of O/W Nanoemulsions—Opportunity for In-Space Manufacturing - Schmidt - Advanced Healthcare Materials - Wiley Online Library

[43] Chapter 15 - Engineering Nanomaterials for Smart Drug Release: Recent Advances and Challenges Akhilesh K. Singh 1, Thakur P. Yadav 2, Brijesh Pandey 3, Vinay Gupta 4, Satarudra P. Singh 1

[44] Illustration of the spontaneous emulsification mechanism. This is a... | Download Scientific Diagram (researchgate.net)

[45] Marianna Rondo Gonzalez Rondon Gonzalez. Inversion de phase d'émulsions induite par agitation. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine, 2007. Français. ffNNT : 2007INPL017Nff. fftel01752812f

[46] Schematic view of emulsion phase inversion (EPI) and phase inversion... | Download Scientific Diagram (researchgate.net)

[47] Le rôle des émulsifiants dans la stabilisation des émulsions - AGIR CRT (agir-crt.com)

[48] Rosen M. J., Kunjappu, "Characteristic Features of Surfactants. In Surfactants and Interfacial Phenomena (4th ed.)", pp.616, 2012

[49]"Emulsion Science: Basic Principles" de Fernando Leal-Calderon et coll. (2007)

[50]Les systèmes de Délivrance Nanométriques Technologies de Libération Contrôlée dans les Systèmes de Délivrance des Médicaments & les Systèmes Alimentaires

[51] M. Fryd and Thomas G. Mason," Advanced Nanoemulsions", pp.493-518, 2012

[52] Les mécanismes de déstabilisation des émulsions (agir-crt.com)

[53] Étienne Guyon, Jean-Pierre Hulin and Luc Petit, Hydrodynamique physique

[54] Rayner, M., & Yang, X. (2017). Rheology and stability of emulsions and foams. In Emulsifiers in Food Technology (pp. 143-166). Wiley.

[55] 33KACI (univ-lorraine.fr)

[56](Étude des normes et de la qualité des épices utilisées dans la région de Maghnia par Mr TIOURSI Hicham & Melle TIOURSI Leyla, 2020)

[57] Mahboub, N., Slimani, N., Nadji, S. B., Bouzeguag, C., Kadri, M., &Khelili, A. (2019). Extraction et caractérisation physico-chimique et biologique des huiles essentielles à partir de *Cymbopogon schoenanthus* dans la région de Ghardaia. *Revue des bio ressources*, 9(2), 14- 14.

[58]Zerbani, G. (2020). Caractéristiques physico-chimiques et antimicrobiennes d'un savon additionné à l'huile essentielle du citron (*Citrus limon* (Doctoral dissertation, *غرداية جامعة*)).

[59] Boughendjioua, H et Djeddi S. (2018).Quality Attributes of the Thyme (Thymus numidicus Poiret.) Essential Oil. Journal of Plant Sciences 6(1): 12-15.

[60]Essential Oil Yield and Composition of Anise from Ethiopia at Different Altitudes. Journal of Essential Oil Bearing Plants. (2014) 17(1): 1-6.

[61] "Essential oil composition and antimicrobial activity of Myristica fragrans seeds from various sources" par S. Kaur et al., dans le journal Natural Product Communications, 2011

[62]Brown, W. Dynamic Light Scattering: The Method and Some Applications. Oxford University Press, 1993.

[63] [images \(1×1\) \(gstatic.com\)](#)

[64] [LA DISTILLATION A LA VAPEUR D'EAU - Horsessentials](#)

[65] [Étoiles de badiane bio, anis étoilé \(illicium verum\) \(aromatiques.com\)](#)

[66] [Florida anisetree \(Illicium floridanum\) \(forestryimages.org\)](#)

[67] Small Scale Ecology and Society: Forest-Culture of Papua Nutmeg (Myristica argentea Warb

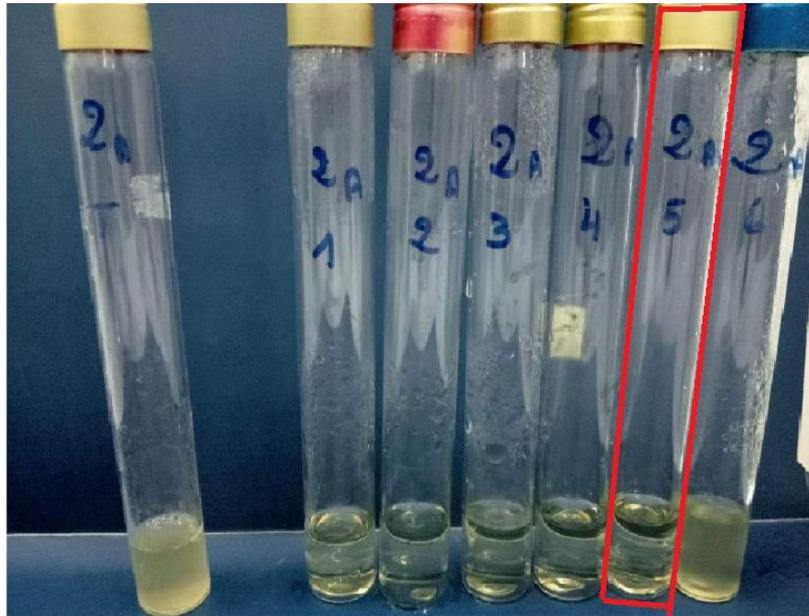
[68] [L'eau micellaire: présentation + recettes | Alternative NATURE \(alternative-nature.com\)](#)

[69] [Schéma de la partie centrale d'un homogénéisateur à haute pression avec... | Download Scientific Diagram \(researchgate.net\)](#)

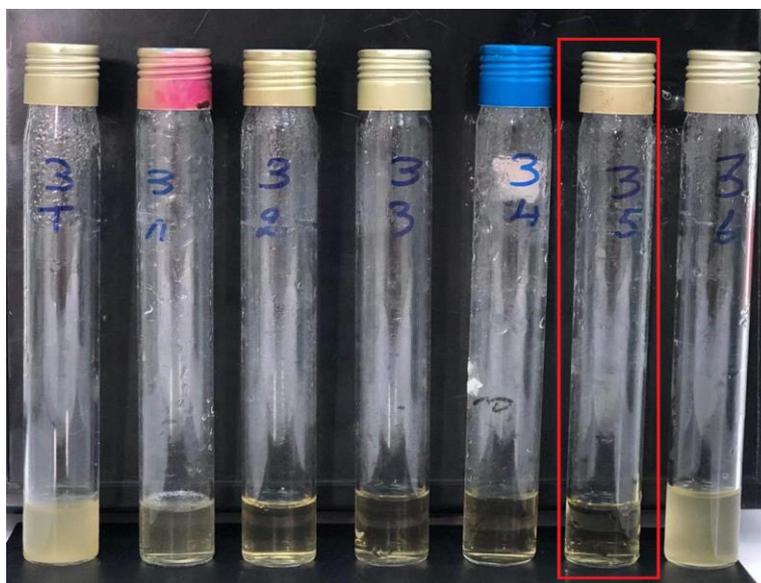
[70] [Microfluidization - an overview | ScienceDirect Topics](#)

[71]"Particle Size Analysis in Pharmaceuticals and Other Industries: Theory and Practice" de Norbert Wagner.

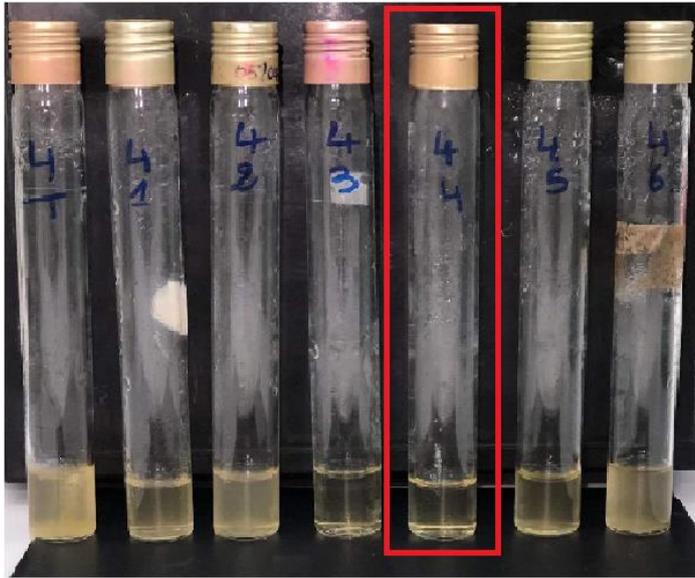
Annexes



CMI de l'huile essentielle d'*Illicium* contre la souche (02) *Bacillus subtilis* (ATCC 6633)
Gram (+)



CMI de l'huile essentielle d'*Illicium* contre la souche (03) *Staphylococcus aureus*
(ATCC 44300) Gram (+)



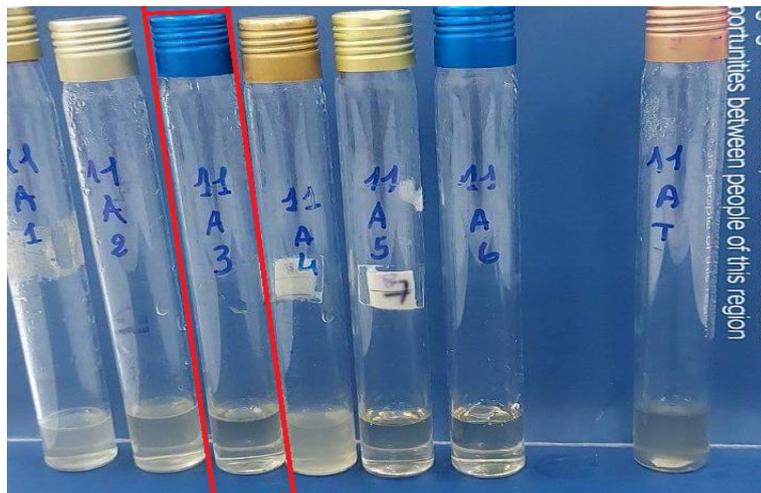
CMI de l'huile essentielle de l'espèce Illicium contre la souche (04) Listeria monocytogenes (ATCC 13932) Gram (+)



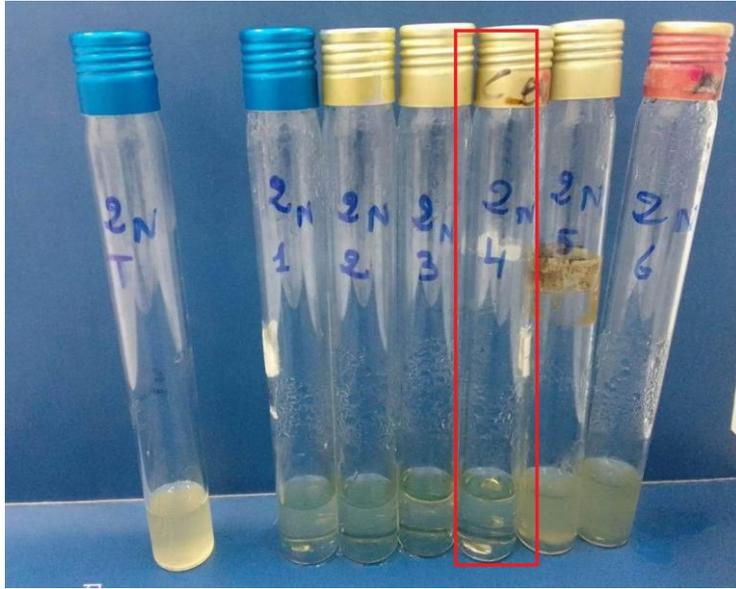
CMI de l'huile essentielle de l'espèce Illicium contre la souche (07) Escherichia coli (ATCC 25922) Gram (-)



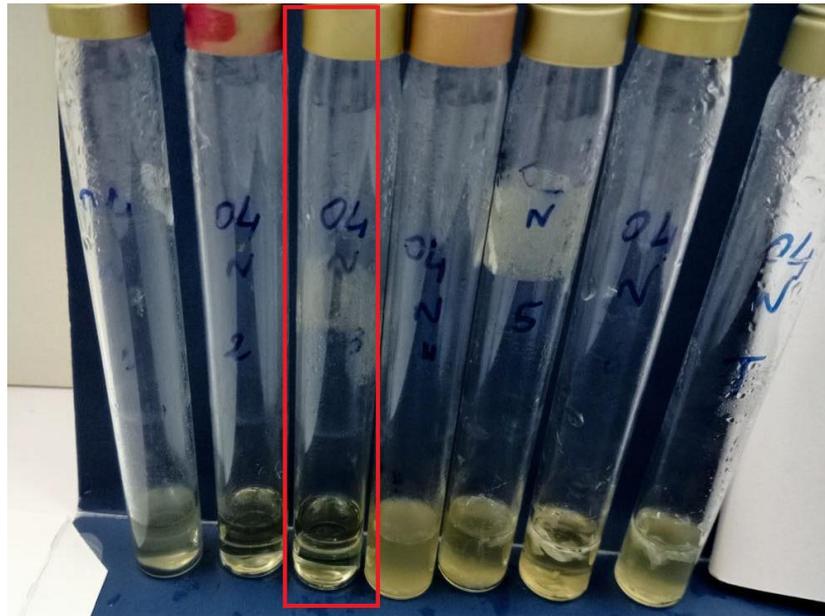
CMI de l'huile essentielle de l'espèce Illicium contre la souche (10) Pseudomonas aeruginosa (ATCC 9027) Gram (-)



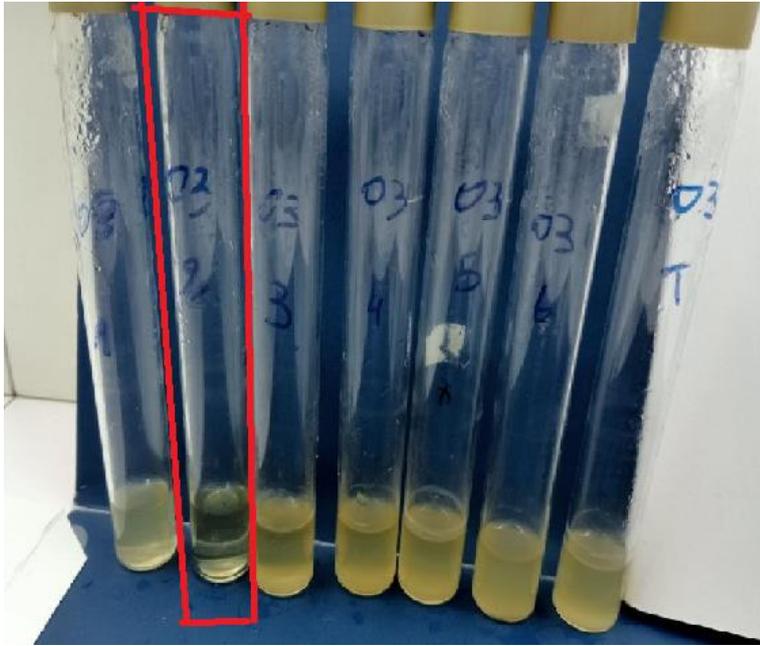
CMI de l'huile essentielle de l'espèce Illicium contre la Levure Candida albicans (ATCC 10231)



**CMI de l'huile essentielle *Myristica* contre la souche (02) *Bacillus subtilis*
(ATCC 6633)
Gram (+)**



**CMI de l'huile essentielle de l'espèce *Myristica* contre la souche (04) *Listeria monocytogenes*
(ATCC 13932)
Gram (+)**

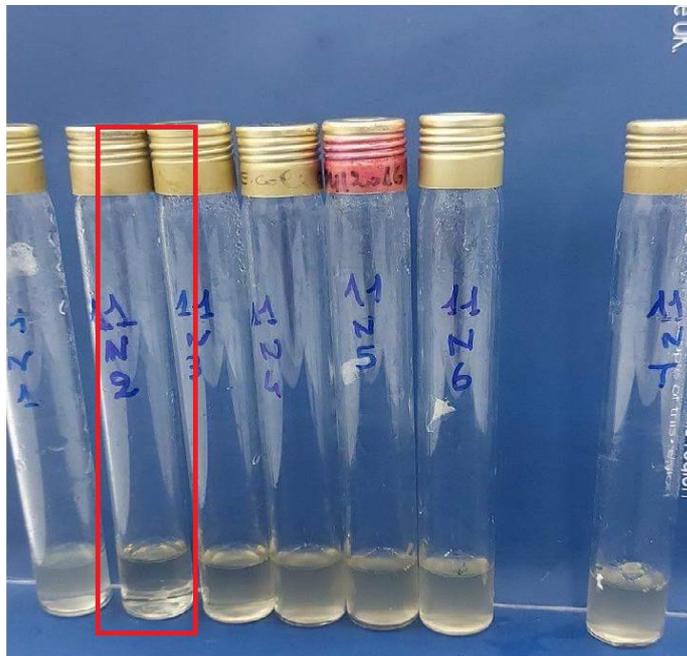


CMI de l'huile essentielle de l'espèce Myristica contre la souche (03)

Staphylococcus aureus

(ATCC 44300)

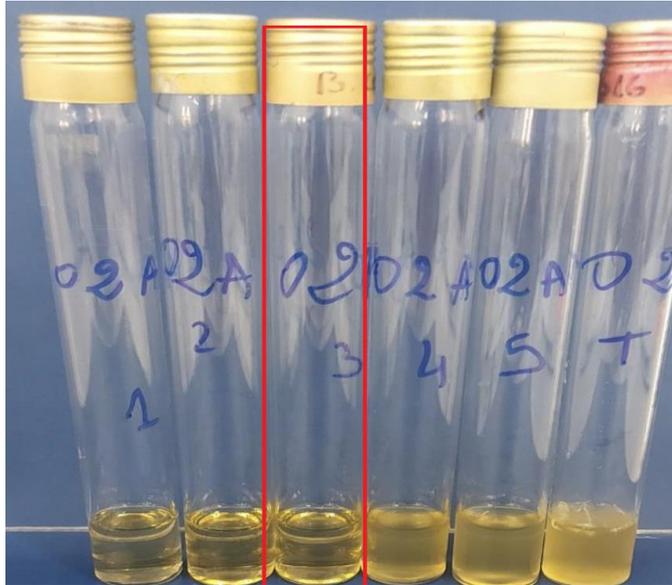
Gram (+)



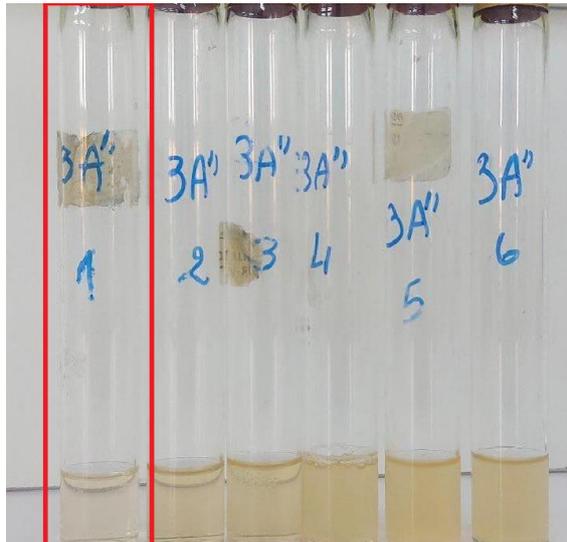
CMI de l'huile essentielle de l'espèce Myristica contre la souche la Levure

Candida albicans

(ATCC 10231)



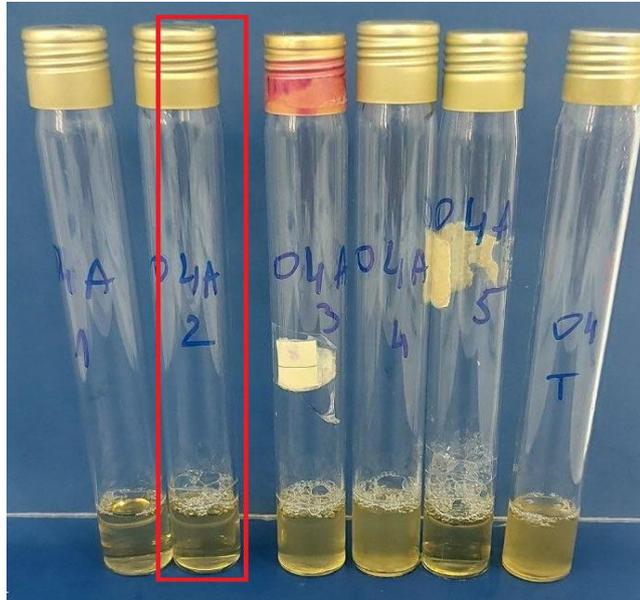
CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium* contre la souche (02) *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) Gram (+)



CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle l'espèce d'*Illicium* contre la souche (03) *Staphylococcus aureus*

(ATCC 44300)

Gram (+)



CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium* contre la souche (04) *Listeria monocytogenes*

(ATCC 13932) Gram (+)



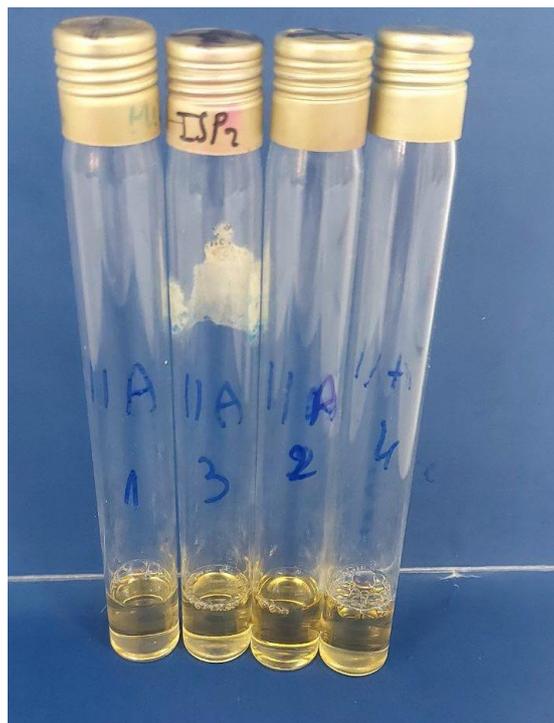
CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium* contre la souche (07) *Escherichia coli*

(ATCC 25922) Gram (-)



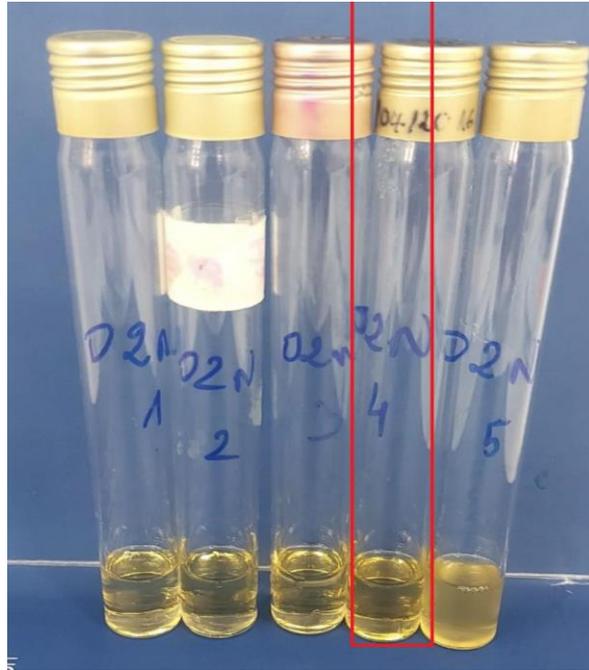
CMI de

formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce d'*Illicium*
contre (10) *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) Gram (-)

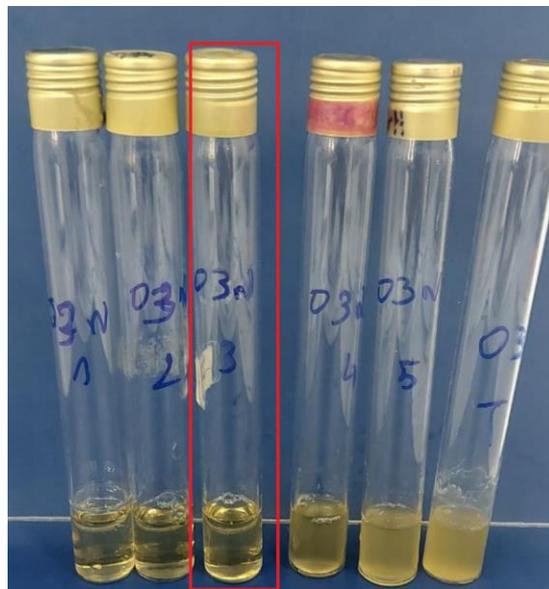


CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'*Illicium*
contre la Levure

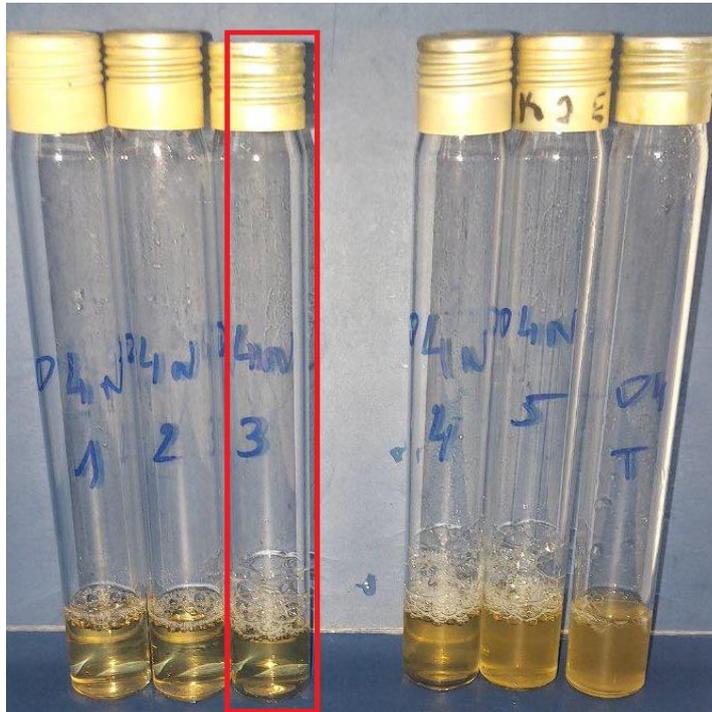
Candida albicans(ATCC 10231)



CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche (02) *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) Gram (+)



CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche (03) *Staphylococcus aureus* (ATCC 44300) Gram (+)



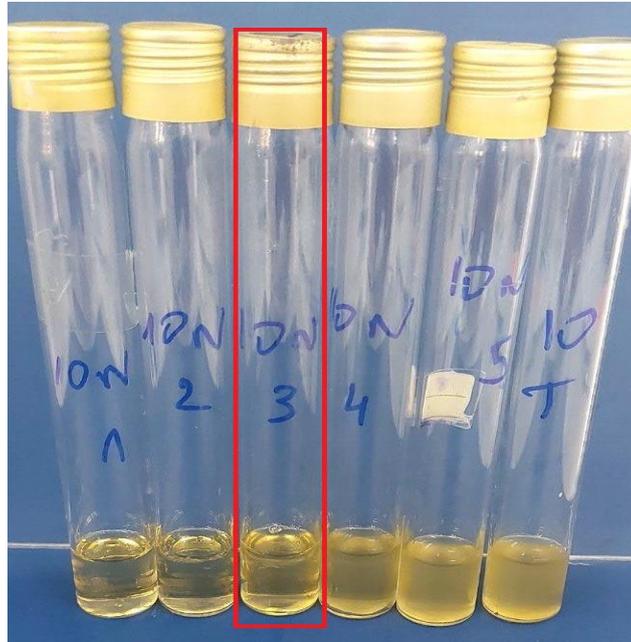
CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche (04) *Listeria monocytogenes*

(ATCC 13932) Gram (+)



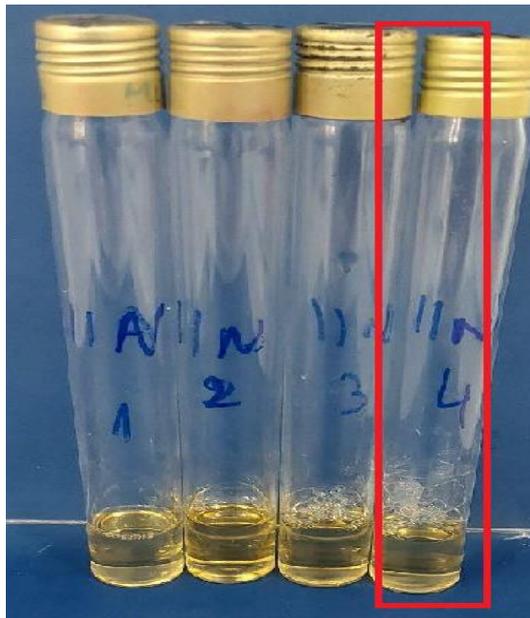
CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche (07) *Escherichia coli*

(ATCC 25922) Gram (-)



CMI de

formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche (10) *Pseudomonas aeruginosa*(ATCC 9027) Gram (-)



CMI de formulation de nanoemulsion à base d'huile essentielle de l'espèce de *Myristica* contre la souche *Candida albicans* (ATCC 10231)