

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



Mémoire Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : chimie appliquée

**Extraction de l'huile essentielle de la clémentine, activité
antioxydante et formulation d'une crème**

Par :

NAIMI ZAHIA

Soutenu publiquement le 06-10-2020 devant le jury :

M ^{me} HAMZA Kahina	MCB à USDB1	Présidente
M ^{me} YAHY Nora	MCB à USDB1	Examinatrice
M ^{er} AIT YAHIA Ahmed	MAA à USDB1	promoteur

Année universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je tiens en premier à remercier Allah Le Tout Puissant de m'avoir donné la santé, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience qui m'a permis de poursuivre mes études et de surmonter toutes les difficultés tout au long de mon cursus universitaire et de réaliser ce modeste travail.

En second lieu, de témoigner toute ma reconnaissance et gratitude à ma famille pour leur soutien et leur compréhension indéfectibles dans la poursuite de mes études. Toutes les aides apportées et qu'ils continuent de m'apporter qui prouvent leur amour à mon égard, et sans eux je ne serai pas là où je suis aujourd'hui. Je leur dis un grand merci.

Je tiens à remercier ma meilleur amie MAOUCHE RYMA pour tout son soutien et son encouragement.

Je remercie profondément monsieur et madame AIT YAHIA pour leur encadrement, leur soutiens scientifique et humain. J'ai bien apprécié leur sympathie et leurs esprits critiques qui ont contribué à améliorer la qualité de ce travail.

Mes remerciements et mes profondes considérations vont à l'endroit de madame YAHY qui a accepté de donner des critiques sur ce mémoire et d'éclaircir avec leurs commentaires.

Résumé

Ce travail consisté à extraire l'huile essentielle des feuilles de Clémentine, à déterminer son pouvoir antioxydant et enfin formuler une crème hydratante. L'extraction par hydrodistillation du type clevenger a permis d'obtenir l'huile essentielle avec un rendement de 0.44%. La méthode de piégeage du radical libre DPPH "1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl" nous a permis de déterminer l'activité antioxydante de la C. Clémentina avec un $EC_{50} = 3\text{mg/ml}$. Enfin, nous avons préparé, avec succès, une crème hydratante à base de l'huile essentielle de C. Clémentina avec des tests sensorielles et test de stabilité satisfaisant, en plus une stabilité de plus de trois mois.

Mots clés : clémentine, huile essentielle, activité antioxydante.

Abstract

This work consists of extracting the essential oil from the leaves of Clementine, determining its antioxidant power and finally formulating a hydrating cream. Extraction by hydrodistillation of the clevenger type allowed to obtain the essential oil with a yield of 0.44%. The free radical DPPH. "1,1-diphenyl-2-picrylhydrazole" method allowed us to determine the antioxidant activity of C. Clémentina with an EC50 = 3mg/ml. Finally, we have successfully prepared a moisturizing cream based on the essential oil of C. Clémentina with sensory tests and stability test satisfactory, in addition a stability of more than three months.

Keywords: clementine, essential oil, antioxidant activity.

الملخص

اشتمل هذا العمل على استخراج الزيت العطري من أوراق الكليمنتين ، وتحديد قوتها المضادة للأكسدة وصياغة مرطب في النهاية. أعطى الاستخلاص بواسطة التقطير المائي من نوع *cleverger* الزيت العطري مع عائد 0.44%. طريقة مسح الجذور الحرة "*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*" *DPPH*. سمح بتحديد النشاط المضاد للأكسدة لـ *C. Clementina* باستخدام $EC_{50} = 3\text{mg/ml}$. أخيراً ، نجحنا في إعداد مرطب يعتمد على الزيت العطري لـ *C. Clementina* مع اختبارات حسية واختبار ثبات مرض ,بالإضافة إلى استقرار لمدة تزيد عن ثلاثة أشهر.

الكلمات المفتاحية: كليمنتين ، زيت عطري ، نشاط مضاد للأكسدة

Liste des abréviations

% : Pourcentage

°C : Degré Celsius

μL : Microlitre

μl/ml : Microlitre par millilitre Cm

DPPH : 2-2diphenylpicrylhydrazyl

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HE : Huile essentielle

RHE : Rendement en huile essentielle

EC₅₀ : concentration efficace mediane

C.Clémentina : citrus clémentina

BHT : hydroxytoluène butylé

BHA : hydroxyanisole butylé

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I 1 : produit cosmétique classique.....	18
Tableau II-1 : Les ingrédients de la phase aqueuse, propriétés et leurs rôles.....	25
Tableau II-2 : Les ingrédients de la phase huileuse, leur propriété et leurs rôles.....	26
Tableau II-3 : Formule type de la crème préparée à base de l'huile essentielle de C. Clémentina.....	27
Tableau III 1 : Résultats des tests organoleptiques sur l'huile essentielle de clémentine.....	28
Tableau III 2 : comparaison des différents produits majoritaire en HE de C. Clémentina de différentes régions.....	31
Tableau III 3 : activité de chaque solution fille.....	34
Tableau III 4 : La capacité antiradicalaire du BHT et BHA.....	35
Tableau III 5 : EC50 de l'huile essentielle de C. Clémentina en région calabre de l'Italie.....	36
Tableau III 6 : Résultats des tests sensoriels sur la crème.....	36

LISTE DES FIGURES

Figure II 1 : Schéma général du plan de travail.....	20
Figure II.2 : Lieu de la récolte.....	21
Figure II.3 : Clémentinier.....	21
Figure II.4 : Les feuilles de clémentine avant séchage et après séchage.....	22
Figure II.5 : Dispositif d'extraction par hydrodistillation de type clevenger.....	23
Figure II.6 : Formulation de la crème à base de l'huile essentielle de C. Clémentina.....	28
Figure III.1: variation du rendement en huile essentielle de C. Clémentina dans quelques pays.....	31
Figure III.2: Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'huile essentielle de C. Clémentina.....	34
Figure III.3 : Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de	35
Figure III 4 : Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de BHA....	36
Figure III 5: Superposition des courbes représentants la variation de l'activité en fonction de la concentration de: HE, BHT et BHA.....	36
Figure III 6 : crème hydratante.....	37

SOMMAIRE

Remerciements.....	I
Résumé.....	II
Abstrat.....	III
ملخص.....	IV
Liste des abréviations.....	V
Liste des tableaux	VI
Listes des figures.....	VI
Introduction générale.....	IX
I.1 Généralités sur les huiles essentielles.....	10
I.1.2 Composition chimique des huiles essentielles.....	10
I.1.3 Mode d'obtention de l'huile essentielle.....	10
• Hydrodistillation / distillation à la vapeur.....	10
• Extraction assistée par micro-ondes	10
I.1.4 Les propriétés biologiques.....	11
I.1.5 Application dans domaine cosmétique.....	12
I.2 Activité anti oxydante.....	12
I.2.1 Les radicaux libres.....	12
I.2.2 Le stress oxydatif.....	12
I.2.3 Les antioxydants.....	13
• Antioxydant exogène.....	13
• Antioxydant endogène.....	13
I.2.4 Test d'activité antioxydante.....	14
I.3 La clémentine.....	15
I.3.1 Activités biologiques de l'huile essentielle de C. clémentina	15
• Activité antioxydant.....	15
• Activité antimicrobienne	15
• Activité cytotoxique.....	16

I.4	Formulation.....	17
I.4.1	Définition d'une formulation classique.....	17
I.4.2	Définition d'une formulation cosmétique.....	17
I.4.3	Les types des crèmes cosmétiques.....	18
II.	PARTIE EXPERIMENTALE.....	20
II.1	Matériels et méthodes expérimentales.....	21
II.1.1	Préparation de la matière végétale.....	22
II.1.2	Protocole expérimental d'extraction de l'huile essentielle.....	22
II.1.3	Caractéristiques organoleptiques.....	23
II.1.4	Rendement en huile essentielle.....	23
II.2	L'étude de l'activité antioxydante.....	24
II.2.1	Mode opératoire.....	24
II.3	Formulation d'une crème hydratante.....	24
II.3.1	Mode opératoire.....	27
III.	Résultats et discussions.....	30
III.1.1	Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle C. Clémentina.....	30
III.1.2	Rendement en huile essentielle.....	30
III.1.3	Rendement.....	30
III.1.4	Etude chimique comparative de l'huile essentielle C. Clémentina de plusieurs régions.....	32
III.2	L'étude du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle C. Clémentina.....	34
III.3	Contrôles organoleptiques effectués sur la crème.....	37
III.3.1	Teste de stabilité	38
	Conclusion.....	39

Introduction Général

Le corps humain peut être soumis à une grande variété d'agressions (physiques, chimiques et métaboliques). L'ensemble de ces agressions se joint sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène[1].

Toutefois, la nature est dotée d'une panoplie de produits qui assurent l'équilibre entre les générateurs et les inhibiteurs de radicaux libres. Malheureusement, dues à des raisons, essentiellement, de disponibilité de ces produits, les substances antiradicalaires synthétisées sont les plus utilisés dans la vie courante[2].

Pour revaloriser les composés naturels, les plantes médicinales et aromatiques ont connu ces dernières années un important regain d'intérêt. La diversité de leur utilisation (pharmacologie, cosmétique et produits de massage...) a accru la demande, surtout en huiles essentielles[3].

Le cosmétique est également un secteur qui utilise de plus en plus d'huiles essentielles, on les retrouve dans de nombreux produits comme : savons, shampoings, gel douches, crèmes...., et encore dans les produits de beauté[4].

Dans ce contexte, on a choisi la clémentine qui appartient à la famille des Rutacée. L'espèce a été isolée pour la première fois vers 1900 par le frère missionnaire français Marie- Clément Rodier à Misserghin en Algérie, comme un hybride naturel dérivant, vrai semblablement, du croisement entre la mandarine et l'orange amère.

Ainsi, le présent travail entre dans le cadre de la valorisation de l'huile essentielle, obtenue à partir des feuilles, de la clémentine, elle est connue pour ses nombreuses propriétés médicinales. Nous allons évaluer son pouvoir antioxydant et par la suite l'utilisée comme ingrédient à effet thérapeutique dans une crème hydratante.

Nous présenterons en premier, une recherche bibliographique qui regroupe trois parties : généralité sur les huiles essentielles, la clémentine, l'activité antioxydante et la formulation d'une crème. Par la suite, nous exposerons la partie expérimentale qui rassemble toutes les étapes pratiques de notre travail.

I. Généralités sur les huiles essentielles

I.1.1 Définition

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » [6]. Le nom huile essentielle a été inventé au 16ème siècle par le réformateur suisse de la médecine, Paracelsus von Hohenheim [7].

I.1.2 Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants à des concentrations très différentes. On distingue des variétés botaniques donnant des huiles essentielles dont la composition est différente, bien qu'elles soient extraites des mêmes parties de la plante.

Les huiles essentielles sont classées usuellement selon la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur le mode d'extraction, ou les effets biologiques [8][9]. Le groupe principal est composé des terpènes et des terpénoïdes et l'autre des composés aromatiques et constituants aliphatiques, tous caractérisés par des poids.

I.1.3 Mode d'obtention de l'huile essentielle

Parmi les modes d'obtentions des huiles essentielles les plus utilisés, sont :

➤ Hydrodistillation / distillation à la vapeur

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée.

Le principe de l'hydrodistillation est d'immerger la biomasse végétale dans de l'eau distillée encore pleine d'eau puis de la faire bouillir. La vapeur d'eau et la matière végétale forment un mélange non miscible. La durée de l'hydrodistillation peut varier considérablement, en fonction de l'équipement utilisé et du matériel végétal à traiter, jusqu'à plusieurs heures. La durée de la distillation affecte non seulement le rendement, mais également la composition de l'extrait[10].

➤ Extraction assistée par micro-ondes

Le procédé consiste à appliquer les micro-ondes pendant le contact entre le solide traité (sèche ou humide) et solvant d'extraction, il est possible d'atteindre en moins d'une minute des rendements d'extraction habituellement atteints après plusieurs heures d'extraction. Cette

technique a également été appliquée pour l'extraction de saponines de certaines plantes médicinales. Le processus utilise des micro-ondes pour exciter les molécules d'eau dans les tissus végétaux provoquant la rupture des cellules végétales et libérant les huiles essentielles piégées dans les tissus extracellulaires de la plante [11] [12].

I.1.4 Les propriétés biologiques

Les huiles essentielles ont été largement utilisées pour leurs propriétés déjà observés dans la nature, c'est-à-dire pour leur antibactérien, activités antifongiques et insecticides. Actuellement, environ 3000 huiles essentielles sont connues, dont 300 sont commercialement important en particulier pour l'industrie pharmaceutique, industries agronomiques, alimentaires, sanitaires, cosmétiques et de parfumerie. Des huiles essentielles ou certains de leurs composants sont utilisés dans les parfums et les produits de maquillage, dans les produits sanitaires, en dentisterie, en agriculture, comme conservateurs et additifs alimentaires, et comme remèdes naturels. Par exemple, le d-limonène, l'acétate de géranyle ou la d-carvone sont utilisés dans les parfums, crèmes, savons, comme additifs aromatiques pour aliments, comme parfums pour les produits d'entretien ménager et comme solvants industriels.

De plus, les huiles essentielles sont utilisées dans les massages sous forme de mélanges avec de l'huile végétale ou dans des bains mais le plus souvent dans aromathérapie. Certaines huiles essentielles semblent présenter des propriétés médicinales prétendument guérissantes un ou un autre dysfonctionnement d'organe ou trouble systémique [13] [14].

I.1.5 Application dans domaine cosmétique

Dans le domaine de la parfumerie et de la cosmétique, les huiles essentielles sont utilisées comme En tant que conservateurs, car ils ont des propriétés antibactériennes, ils peuvent prolonger la durée de conservation des produits. Cependant, c'est surtout pour leurs caractéristiques odorantes en raison de leur forte volatilité et du fait qu'elles ne laissent pas de trace grasse. Ils sont particulièrement utilisés dans les parfums ou la formulation de produits d'entretien personnels[15].

I.2 Activité anti oxydante

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à diverses attaques physiques (traumatismes, radiations, températures élevées ou basses), chimiques et métaboliques. En raison de l'exagération des phénomènes physiologiques, ils sont généralement strictement contrôlés. La plupart de ces attaques se traduisent par une expression commune appelée stress oxydatif, qui est dérivée de l'oxygène[16].

I.2.1 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, molécule, morceau de molécule ou simple atome, capable d'avoir une existence indépendante (<< libre >>) en contenant un ou plusieurs électrons célibataire (électron non apparié sur une orbitale). Les principaux radicaux libres entrant dans les processus physiopathologiques humains sont les radicaux superoxydes et hydroxyles, mais d'autres dérivés de l'oxygène jouent également un rôle important dans le stress oxydant, en particulier le peroxyde d'hydrogène et le peroxyde nitrite [3].

I.2.2 Le stress oxydatif

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre profond de la balance entre les pro oxydants et les antioxydants en faveur des premiers [6], Il est souvent initié et propagé par une surproduction d'O₂ et de H₂O₂ et par leur conversion en de puissants oxydants qui sont très dommageables pour les cellules [7], ce qui conduit à des dégâts cellulaires irréversibles. La réduction univalente de l'oxygène résulte en la formation d'espèces oxygénées activées (EOA) dont font partie les radicaux libres (anion superoxyde, radical hydroxyle), le peroxyde d'hydrogène et l'oxygène singulet [6]. Ainsi, le terme général de stress oxydatif est utilisé pour décrire une situation de dommages causés par les radicaux libres [7].

I.2.3 Les antioxydants

Les antioxydants sont définis par HALLIWELL comme « toute substance qui en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat » [1]. Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres afin de les rendre inoffensifs et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les molécules vitales ne soient endommagées [2].

- **Antioxydant exogène**

Sont connus sous le nom des antioxydants naturels ou enzymatiques qui existent dans l'alimentation et les plantes médicinales. L'utilisation empirique d'antioxydants naturels est une pratique très ancienne pour la conservation des vivres. La recherche de nouveaux antioxydants naturels, connaît depuis ces dernières années un regain d'intérêt, car les antioxydants de synthèse actuellement utilisés, notamment le (B.H.T) et le (B.H.A) ne seraient pas dépourvus de toxicité. BHT et BHA sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant de la proxidation des acides gras insaturés. De ce fait, la recherche de nouvelles molécules possédant des propriétés antioxydantes, se sont orientées vers les substances naturelles issues des plantes médicinales et aromatiques, qui se sont intensifiées ces dernières années[17].

- **Antioxydant endogène**

Les antioxydants non enzymatiques, ce groupe renferme de nombreuses Molécules endogènes synthétisées par les cellules (glutathion, l'acide urique, la bilirubine). Dont la plus importante est le glutathion réduit (GSH), qui est un tripeptide (acide glutamique cystéine-glycine) connu par son puissant pouvoir antioxydant en protégeant non seulement contre les radicaux oxygénés, mais aussi contre les peroxydes[17].

I.2.4 Test d'activité antioxydante

Plusieurs tests d'activité antioxydante ont été développés tel que :

- **Test de piégeage du radical libre DPPH**

Le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un des radicaux azotés organiques les plus stables [20] et l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [21] pour des composés contenant SH, NH et OH groupes [22] ; Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote [21].

Principe du test au DPPH

Se caractérise comme un radical libre stable par la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule, de sorte que les molécules n'augmentent pas, comme ce serait le cas avec la plupart des autres radicaux libres [23]. La réduction du radical libre DPPH[°] (2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants. En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH (2,2 Diphényl 1 picryl hydrazyl) de couleur violette se réduit en 2,2 Diphényl 1 picryl hydrazine de couleur jaune [21]. L'activité antioxydante est proportionnelle à la baisse de l'absorbance due à la diminution de l'intensité de la coloration de la solution DPPH.

L'activité antioxydante (AA) calculée à partir de l'équation suivante :

$$AA\% = (\text{Abs blanc} - \text{Abs tester}) / (\text{Abs blanc}) * 100 \quad [24]$$

- **FRAP :**

Mesure la réduction du fer, c'est à dire le passage de la forme ferrique en fer ferreux, en présence d'antioxydant [18].

- **TEAC :**

L'activité antiradicalaire est déterminée par une méthode basée sur la réduction du radical ABTS. + «2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique acide) » qui est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons [19].

- **ORAC :**

Analyse de la capacité d'absorption des radicaux libres (ORAC) [20].

- **Méthode de blanchiment de b-carotène :**

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test de blanchissement du β -carotène repose sur la mesure d'inhibition des composés organiques volatils et des hydroperoxydes conjugués diène résultant de l'oxydation d'acide linoléique [21].

I.3 La clémentine

La clémentine généralement reconnu par la «Clémentine ordinaire» a été isolé pour la première fois vers 1900 par le français Marie- Clément Rodier à Misserghin en Algérie, comme un hybride naturel dérivant vrai semblablement de le croisement entre la mandarine «Avana» et une sélection d'orange aigre nommée «Granito»[22]. Elle est comme un hybride naturel dérivant vrai semblablement du croisement entre la mandarine « Avana » et une sélection d'orange aigre nommée « Granito » [17].

La famille des Rutaceae présentent une grande diversité de caractères morphologiques (forme, volume et couleur des fruits, adhérence de la pelure, maturité, saveur distinctive et arôme...). En raison de cette importante diversité, la classification est difficile à réaliser.

Les deux systèmes de classification les plus importants sont les Swingle system, qui considère 16 espèces du genre, et Tanaka, qui considère 162, mais aucun système de nomenclature n'est universellement accepté jusqu'à présent[23].

Actuellement, l'hypothèse la plus largement acceptée par la communauté scientifique concernant l'origine des agrumes est que la plupart des espèces d'agrumes genre sont probablement des hybrides directs ou successifs se ramifiant à partir de quatre ancêtres espèces : *C. medica* L. (citron), *C. reticulata* (mandarin), *C. maxima* (Burm.) Merr. (Pamplemousse) et *C. micrantha* Wester (papada). La plupart des Rutaceae produisent des huiles essentielles dégageant d'intenses odeurs souvent agréables[24].

I.3.1 Activités biologiques de l'huile essentielle de C. clémentina

➤ Activité antioxydant

La nature antioxydante des huiles essentielles des agrumes en termes du piègeur de radicaux libres peut être due à un antioxydant le limonène, le principal constituant de l'huile. Néanmoins, antioxydant les activités des huiles essentielles peuvent varier en fonction variations de la composition chimique. Antioxydant l'activité d'une huile essentielle est attribuée principalement à ses principales composantes, bien que la synergie ou effet antagoniste d'un composé en mineur le pourcentage de mélange doit être pris en compte[25].

➤ **Activité antimicrobienne**

L'huile essentiel de *C. clémentina* possède une forte activité antimicrobienne inhibant la croissance d'agents pathogènes d'origine alimentaire, en particulier *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Hysteria innocua* et *Staphylococcus aureus* avec une zone d'inhibition variait de 9,16 à 27,63 mm et une concentration minimale inhibitrice (CMI) était pour l'ensemble des 5 µL / mL contre les micro-organismes sensibles étudiés[26].

Le potentiel antimicrobien de l'huile a été évalué contre les souches pathogènes, y compris les levures, les bactéries Gram-positives et Gram-négatives par la méthode de diffusion du disque. Il a été observé qu'elle montrait une activité prometteuse contre les micro-organismes testés. Compte tenu des mesures de la zone d'inhibition, l'activité antimicrobienne la plus élevée a été observée pour *C. albicans* à $20,67 \pm 0,58$ mm L'activité était relativement modérée pour *S. aureus* ($14,67 \pm 1,15$ mm)[27].

➤ **Activité cytotoxique**

L'activité cytotoxique de l'huile essentielle extraite de la peau de *C. clémentina* a été évaluée dans une lignée cellulaire normale sur la base de la viabilité cellulaire, en utilisant un test colorimétrique MTT. La viabilité des cellules NIH-3T3 exposées au CPEO a été mesurée et exprimée en termes d'absorbance relative des cellules traitées par l'OE, par rapport aux cellules témoins. Il a été observé que la CPEO montrait un effet cytotoxique sur les lignées cellulaires NIH-3T3 selon un schéma dépendant de la dose et la valeur IC_{50} a été déterminée comme $52,50 \pm 1,19$ µg / mL[27]. Baik et al. (2008) [28] ont étudié 14 types d'huiles d'agrumes et ont indiqué que la majorité des huiles essentielles ne présentaient aucune cytotoxicité des fibroblastes dermiques humains.

I.4 Formulation

I.4.1 Définition d'une formulation classique

Les produits cosmétiques sont définis par l'article L.5131-1 du Code de la santé publique (modifié par Loi n°2011-12 du 5 janvier 2011 - art. 8) du droit français : « On entend par produit cosmétique toute substance ou mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles » [1].

I.4.2 Définition d'une formulation cosmétique

Cosmétique fait référence à toute substance ou préparation destinée à être utilisée en Contact avec diverses parties superficielles du corps humain, en particulier l'épiderme, Système capillaire et capillaire, ongles, lèvres et organes génitaux externes, ou dents et muqueuse buccale, destiner pour nettoyer, parfumer, d'en modifier l'aspect, de protéger, de maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles [29].

La formule comprend la combinaison d'un ou plusieurs ingrédients actifs avec divers Composition conforme aux spécifications. En fait, l'expression est de mieux définir les attentes et les perceptions des consommateurs afin d'adapter le produit à la demande. En effet, la formulation permet la conception de nouveaux produits ou l'amélioration de formulations existantes. Les crèmes de beauté sont constituées d'excipients, d'agents auxiliaires et d'éventuels principes actifs (il est parfois difficile de prouver son efficacité - par exemple: anti-âge, etc.)[30].

Le tableau ci-dessous (figureI-1) représente les produits cosmétiques classiques utilisés dans les émulsions cosmétiques.

Tableau I-1: produit cosmétique classique [31]

Exemple d'émulsion	Produit cosmétique Classique
Phase aqueuse De 60 à 90 %	- Eau, eau distillée
Phase grasse De 5 à 30 %	- Esters de synthèse - Paraffine liquide - Substances minérales issues du pétrole - Silicones - Huiles végétales extraites à chaud et par un solvant
Emulsifiant/tensioactif De 2 à 8 %	- Dérivés de PEG
Agents de texture lipophiles	- Alcool gras et silicones

I.4.3 Les types des crèmes cosmétiques

- crème hydratante pour le visage, crème de jour, crème de nuit
- crème pour le contour des yeux
- crème antiride ou anti-âge
- crème pour le corps
- crème pour les mains, crème pour les pieds
- crème solaire, qui contient des filtres ultraviolets
- crème de massage
- crème amincissante ou raffermissante, crème anticellulite

Partie Expérimentale

II. Partie expérimentale

Notre travail expérimental consiste à extraire l'huile essentielle de l'espèce végétale *C. clémentina* par la technique d'hydrodistillation du type Clevenger, ainsi que, l'étude de l'activité antioxydante de cette huile et son utilisation dans la formulation d'une crème hydratante industrielle.

Ce travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques du département de chimie à l'université Saad Dahlab de Blida.

L'organigramme de notre travail expérimental est donné par le schéma suivant :

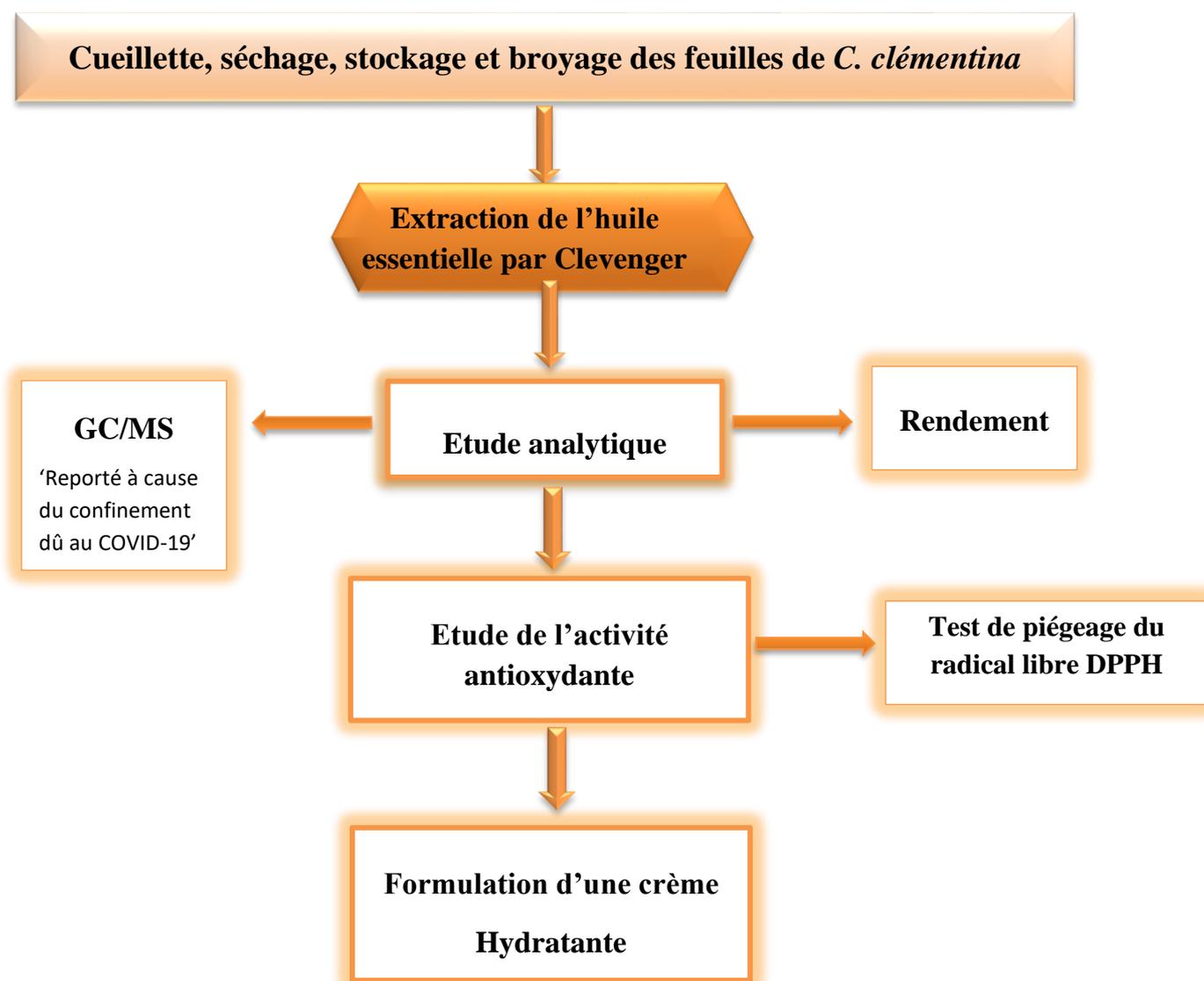


Figure I-0-1 : Schéma général du plan de travail

II.1 Matériels et méthodes expérimentales

II.1.1 Matériels végétaux

Le matériel végétal dans la présente étude est représenté par une espèce qui appartient à la famille des Rutacée et plus précisément les feuilles du Citrus × clémentina. Ces dernières ont été récoltées début décembre 2019 à Chiffa dans la wilaya de Blida.

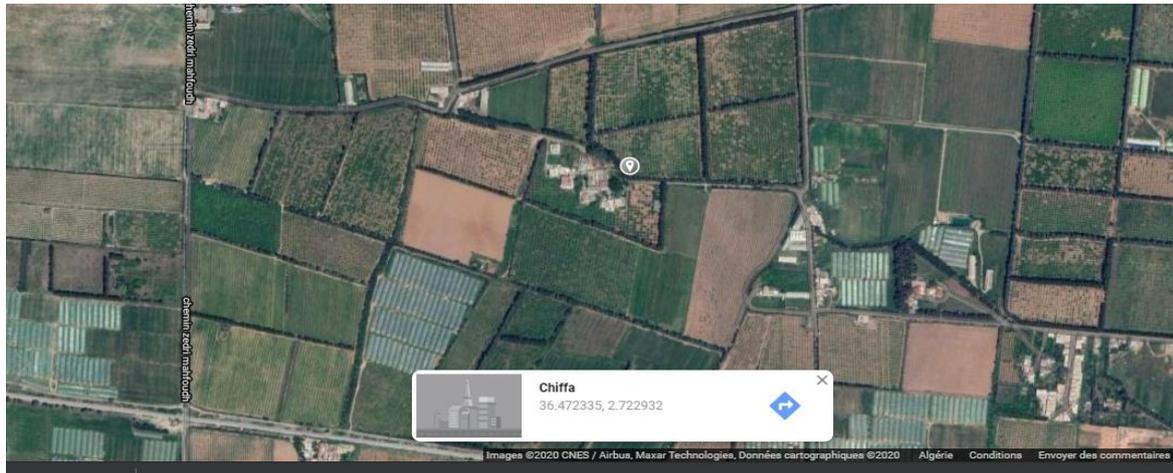


Figure II.2 : Lieu de la récolte

L'arbre de clémentine est assez vigoureux, de taille moyenne, il est caractérisé par une hauteur de 4 à 5 m. Les rameaux primaire et secondaire sont à tiges fines, saules, et presque sans épines ; les feuilles sont étroites, largement lancéolées et de tailles variables. L'arbre est fortement résistant au froid [35].



Figure II-3 Clémentinier

II.1.2 Préparation de la matière végétale

Pour augmenter le rendement on procède en premier par un séchage, ce dernier permet d'éliminer la quantité d'eau retenue dans la plante, c'est une opération importante qui doit être faite avant toute utilisation. Ainsi, les feuilles de clémentine sont nettoyées, séchées à l'ombre et à température ambiante, puis conservées à l'abri de la lumière. Comme le montre la figure .. Ci-dessous.



Feuille avant séchage



Feuille après séchage

Figure II.4 : Les feuilles de clémentine avant séchage et après séchage

II.1.3 Protocole expérimental d'extraction de l'huile essentielle

L'huile essentielle de clémentine a été extraite par hydrodistillation en utilisant un appareil du type clevenger. Cette méthode consiste à introduire 100 g des feuilles sèches et broyées dans un ballon de 2L contenant 1L d'eau distillée et quelques pierres ponce. L'ensemble est porté à ébullition pendant 3h à l'aide d'un chauffe-ballon. Les vapeurs, chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation incorporée au dispositif, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. L'excès d'eau retourne au ballon grâce à un système de retour (circuit fermé). Après trois heures, l'huile est récupérée sur une couche de $MgSO_4$, filtrée, pesée et stockée dans un tube Vial ambré, voir la figure II.5.



Figure II.5 : Dispositif d'extraction par hydrodistillation de type clevenger

II.1.4 Caractéristiques organoleptiques

Les huiles essentielles doivent répondre aux caractéristiques analytiques établies par les commissions d'expertes nationales et internationales. Pour savoir que la qualité de l'huile essentielle de *C. clémentine* étudiée est conforme, des tests organoleptiques (couleur, odeur et apparence) ont été réalisés. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques.

II.1.5 Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (mHE) et la masse de matière végétale traitée (m). Il est donné par la formule suivante :

$$RHE\% = \frac{mHE}{m} * 100$$

- RHE : Rendement de l'huile essentielle de *C. Clémentina* (%).
- mHE : Masse de l'huile essentielle obtenue en gramme (g).
- m : Masse en gramme de la matière végétale sèche (g).

II.2 L'étude de l'activité antioxydante

La capacité de piégeage des radicaux libres par l'huile essentielle de *C. clémentina* est mesurée par le test du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).

II.2.1 Mode opératoire

Une solution du radical DPPH a été préparée en dissolvant, dans une fiole jaugée de 100 ml, 4 mg de DPPH dans 100ml d'éthanol. La solution obtenue est soumise à une agitation pendant 30 min. la mesure de l'absorbance à 517nm de cette solution par spectrophotomètre UV-visible est 0.565.

- ***Préparation de la solution mère en huile essentielle***

On prépare une solution mère concentrée en mélangeant 50µl de l'huile essentielle avec 950µl d'éthanol.

- ***Préparation des échantillons***

- Dans des tubes à essai secs, on introduit un volume de 10, 20, 30, 40 et 50µl de la solution mère déjà préparée, ces dernières seront ajustées avec de l'éthanol jusqu'à 1000 µl, et auxquelles on ajoutera 1000 µl de la solution de DPPH. Ensuite, les tubes seront maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 30 min. A la fin, l'absorbance de ces échantillons à 517 nm sera mesurée.

II.3 Formulation d'une crème hydratante

Nous avons préparé une crème de jour hydratante de type émulsion H/E. Les tableaux II.1 et II.2 ci-dessous regroupent les ingrédients utilisés pour la formulation de la crème, leurs propriétés physicochimiques et leurs rôles.

Tableau II-1 : Les ingrédients de la phase aqueuse, propriétés et leurs rôles

Ingrédients	Propriétés physicochimiques	Rôle
<p>Glycérine</p> <p>-nom UICPA : Propane-1-2,3-triol ou 1,2,3-propanetriol</p> <p>-synonymes : Glycérol trihydroxypropane</p>	<p>-T° fusion :18.2°C</p> <p>-T° Ebullition :290°C (se décompose au-delà de 171°C)</p> <p>- solubilité : miscible avec l'eau, alcool, soluble dans acétate d'éthyle, d'éther diéthylique. Insoluble dans le benzène, le chloroforme</p>	<p>- Humectant</p> <p>- Hydratant</p> <p>- Adoucissant</p> <p>- Emollient</p>
<p>Carbopol</p> <p>- Noms commerciaux : Carbopol(polymère)</p> <p>-INCI nom : Carbomer</p>	<p>- Solubilité : très Hydrophile, gonfle énormément dans l'eau, l'alcool et les solvants polaires.</p> <p>- Dose d'utilisation 0.2 à 0.6% dans les crèmes.</p>	<p>-Agent Gélifiant</p> <p>- Stabilisateur de suspensions et d'émulsions.</p>
<p>Allantoïne</p> <p>-nom INCI : allantoin</p> <p>-synonymes : 5-ureidohydantoin 5-ureidoimidazolidine-2,4-dione</p>	<p>- T° de fusion : 228-238°C</p> <p>- Solubilité : peu soluble dans l'eau et très soluble dans l'alcool.</p>	<p>-Cicatrisante Et Réparatrice : Stimule Le Renouveaulement De La Peau.</p> <p>-Apaisant Et Anti-Irritant</p> <p>-Hydratante</p> <p>-Adoucissante</p> <p>-Epaississant Efficace Dans La Gamme De Ph 5à10.</p>

Tableau II-2 Les ingrédients de la phase huileuse, leur propriété et leurs rôles

Emulgine B1 Nom INCI : cetareth-12	-Solubilité : soluble dans la phase huileuse	-Emulsifiant non-ionique pour les émulsions huile en eau.
Vaseline -Synonymes : pétrolatum, Gelée de pétrole	-T° fusion : 36 à 60 °C -T° ébullition : 302 °C	- Lubrifiant - Favorise La Cicatrisation -Ecran Solaire Qui Filtre Certains Ultraviolets
Lanette O -Nom INCI : alcool cétéarylique	-T° fusion : 47°C à 54°C -Dosage : entre 2% à 10% du poids total de la préparation cosmétique que vous préparez. À incorporer en phase huileuse ou alcoolique.	-Co-Emulsifiant : Permet De Stabiliser Les Emulsions. -Agent De Consistance -Agent De Texture -Emollient
TEA -Nom INCI : Triéthanolamine ou trolamine -Synonymes : 2,2,2-nitrioltriéthanol, Trihydroxytriéthylamine	-T° fusion : 21.6°C -T° ébullition : 335.4°C	-Régulateur de pH : utilise pour stabiliser et/ou ajuster le pH d'un produit cosmétique. -Agent émulsifiant -Tensioactif -Agent masquant - agent de réticulation
Huile essentielle de la clémentine -nom INCI : Citrus Clémentina	-En mélange jusqu'à 2% dans votre préparation cosmétique pour la peau de type crème	-Purifiante et assainissant --Rétention d'eau, cellulite

II.3.1 Mode opératoire

Le tableau qui suit représente la composition en pourcentage massique de la phase huileuse et de la phase aqueuse de notre crème.

Tableau II-3 : Formule type de la crème préparée à base de l'huile essentielle de *C. Clémentina*

La phase huileuse		La phase aqueuse	
Ingrédients	% massique	Ingrédients	% massique
Emulgine B1	4%	Glycérine	6%
Huile de vaseline	10%	Carbopol	0.6%
Lanette O	1%	Allantoine	0.5%
TEA	0.3%	EDTA	0.1%
		Eau	Q.s. %

➤ Préparation de la phase aqueuse

- L'ensemble des ingrédients, de cette phase, seront additionnés, selon l'ordre et les quantités indiquées par la formule type, dans un bécher de 250 ml,
- La température du mélange sera maintenue entre 75 et 80°C,
- Le mélange sera soumis, en continu, à une agitation mécanique en employant un agitateur mécanique.

➤ Préparation de la phase huileuse

- Comme précédemment, dans un bécher de 250ml, on additionne les matières premières de la phase huileuse.
- On vérifie que la température du mélange soit constamment entre 75 et 80°C.
- L'agitation, dans ce cas, peut se faire manuellement en utilisant une spatule ou bien à l'aide d'un barreau magnétique ce qui nécessitera une plaque chauffante agitatrice.

➤ Mélange des deux phases ; huileuse et aqueuse.

- Quand les deux phases seront à une même température, 80°C, on additionne lentement la phase huileuse à la phase aqueuse, en maintenant l'agitation mécanique.
- On maintient l'agitation de l'émulsion formée pendant 05 min.
- Après 05 min on arrête le chauffage et on laisse l'agitation.
- Quand la température du mélange sera entre 30 et 35°C on additionne notre huile essentielle et le TEA. Il est nécessaire ; à cette étape ; de maintenir une forte agitation d'une vitesse de 246.

Enfin, lorsque l'aspect onctueux de la crème est atteint on arrête l'agitation, et on laisse reposer l'émulsion avant de la conditionnée comme le montre la figure II-6.

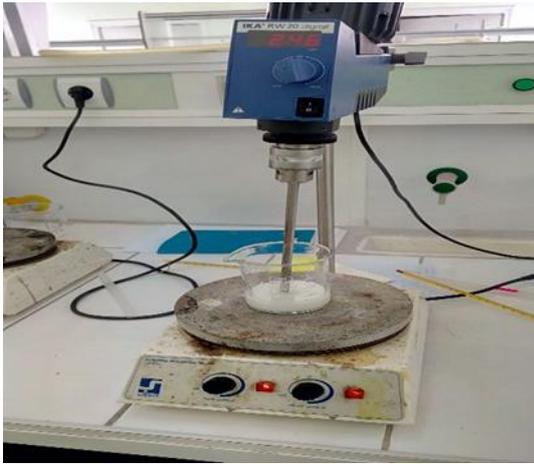


Figure II-6 : Formulation de la crème à base de l'huile essentielle de clémentine

Résultats et Discussion

III. Résultats et discussions

Dans le présent chapitre, nous traiterons tous les résultats obtenus au cours de ce travail, à partir de l'extraction, la caractérisation organoleptique de l'huile essentielle et l'évaluation de l'effet antioxydant ainsi que la formulation de la crème hydratante.

III.1.1 Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle *C. Clémentina*

Les caractéristiques organoleptiques, de notre huile essentielle de Clémentine, sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau III-1 : Résultats des tests organoleptiques sur l'huile essentielle de clémentine

Caractéristiques organoleptiques				
	Aspect	Couleur	Odeur	Type
<i>C. clémentina</i>	Liquide huileux homogène	Jaunâtre	Caractéristique (forte odeur de la Clémentine)	Volatile

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par S. S. EL-HAWARY et al (2013) [32] en étudiant l'huile essentielle de clémentine de la région d'Ali Mubarak sur la route : le Caire – Alexandrie.

III.1.2 Rendement en huile essentielle

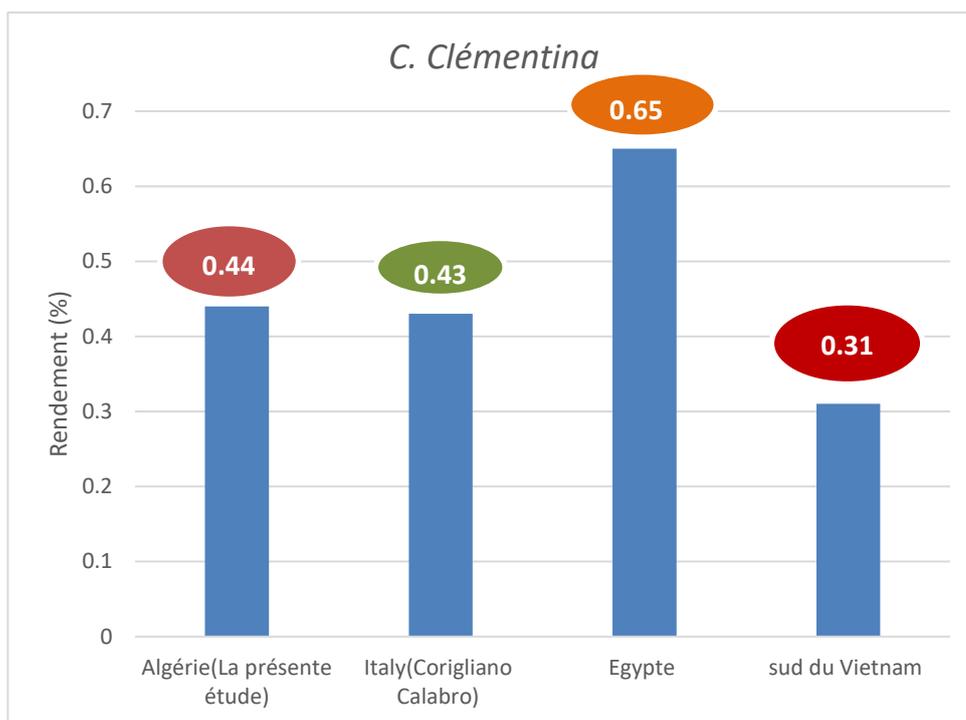
Nous rappelons que l'huile essentielle de *C. clémentina* récoltée dans la région de Chiffa la wilaya de Blida, a été extraite par hydrodistillation pendant 3 heures dans un appareil de Clevenger.

III.1.3 Rendement

En effet, l'extraction a révélé une valeur du rendement de l'ordre de 0.44%. Cette valeur représente la moyenne de 8 manipulations.

Des rendements en huiles essentielles des écotypes des espèces étudiées ont été rapportés par différents chercheurs, les différents résultats sont résumés dans la figure III.1.

D'après la figure, le rendement d'HE des feuilles *C. clémentina* au Caire en Égypte [32] (0.65%) est significativement plus élevé que ceux des autres régions. Des rendements plus faibles ont été trouvés au sud du Vietnam (0.31%) [35]. En revanche, notre rendement est du même ordre que le résultat trouvé au sud de l'Italie par Leporini (0.43%) [33].



III-1 : variation du rendement en huile essentielle de *C. Clémentina* dans quelques pays

Cette nette différence dans les rendements en huiles essentielles est probablement reliée à plusieurs facteurs tels-que :

- L'origine de l'espèce végétale.
- La période de récolte et la manière de séchage de l'espèce végétale.
- Le climat, la région et la nature du sol.
- La méthode et la durée d'extraction des huiles essentielles.

III.1.4 Etude chimique comparative de l'huile essentielle *C. Clémentina* de plusieurs régions

L'examen chimique de *C. clémentina* provenant de différentes régions géographiques a fait l'objet de plusieurs études antérieures.

Selon la littérature, l'analyse par GC-MS de l'huile essentielle de *C. Clémentina* contient une variété de composés chimiques. Un total de trente-six constituants (96,66% de l'huile totale) qui ont été identifiés. Dont principalement les hydrocarbures monoterpéniques dans lesquels le sabinène était le composé le plus abondant avec un pourcentage de 22,96- 23,32%, le linalol avec un pourcentage de 15,80 - 16,83 et le terpinène-4-ol entre 4,07- 4,54 %. De plus, le (E) ocimène (6,52-7,15%), le 3-carène (6,32-7,06%) et le limonène (5,88-6,62%) sont identifiés en

quantité assez élevée alors que l' α -pinène et le myrcène sont présents en faibles pourcentages [13][14].

El-hawary et col [32] ont rapporté que le limonène (21,13%) était le principal constituant de l'huile essentielle obtenue à partir de feuilles de clémentine égyptienne, suivi par le sabinène (16,93%), le linalol (12,58%) et le δ -3-carène (8,57%).

Tableau III-2: comparaison des différents produits majoritaire en HE de *C. Clémentina* de différentes régions

Egypte 2013[32]	Italy 2019[33]			France 2001[34]	Vietnam 2015[35]	Portugal 2005[36]	
		Cetraro	Rosarno				corigliano
<i>Limonene</i> 21.13%	<i>Sabinene</i>	22.96	22.59	23.32	<i>Sabinene</i> 49.8%	<i>Sabinene</i> 26.02%	<i>Sabinene</i> 40.3%
<i>sabinene</i> 16.93%	<i>Linalool</i>	15.80	16.83	10.41	<i>Linalool</i> 16.6%	β - <i>elemene</i> 10.50%	<i>linalool</i> 22.4%
<i>linalool</i> 12.58%	<i>(E)-β-Ocimene</i>	6.52	7.16	7.02	<i>Limonene</i> 3%	<i>linalool</i> 9.88%	<i>Limonene</i> 8.2%
δ -3- <i>carene</i> 8.57%	<i>Limonene</i>	6.41	5.88	6.62	δ -3- <i>Carene</i> 3%	<i>(E)-β-ocimene</i> 5.87%	<i>trans-nerolidol</i> 4.4%
<i>(E)-β-ocimene</i> 5.84%	δ -3- <i>Carene</i>	6.33	6.62	7.06	<i>(E)-β-Ocimene</i> 2.5%	δ - <i>selinene</i> 4.76%	<i>terpinen-4-ol</i> 4.54 %
<i>terpinen-4-ol</i> 4.33%	<i>Terpinen-4-ol</i>	4.54	4.07	2.43	γ - <i>Terpinene</i> 1.7%	β - <i>caryophyllene</i> 4.04%	<i>Myrcene</i> 3.2%
	<i>Myrcene</i>	4.22	4.30	4.45			

D'après ces résultats on peut stipuler que les produits majoritaires de notre huile sont :

- sabinene
- Linalool
- Limonene

Bien sûr cette constatation doit être vérifiée par une étude chromatographique GC/MS qui n'a pas pu être réalisée cette année due à la pandémie de Covide-19.

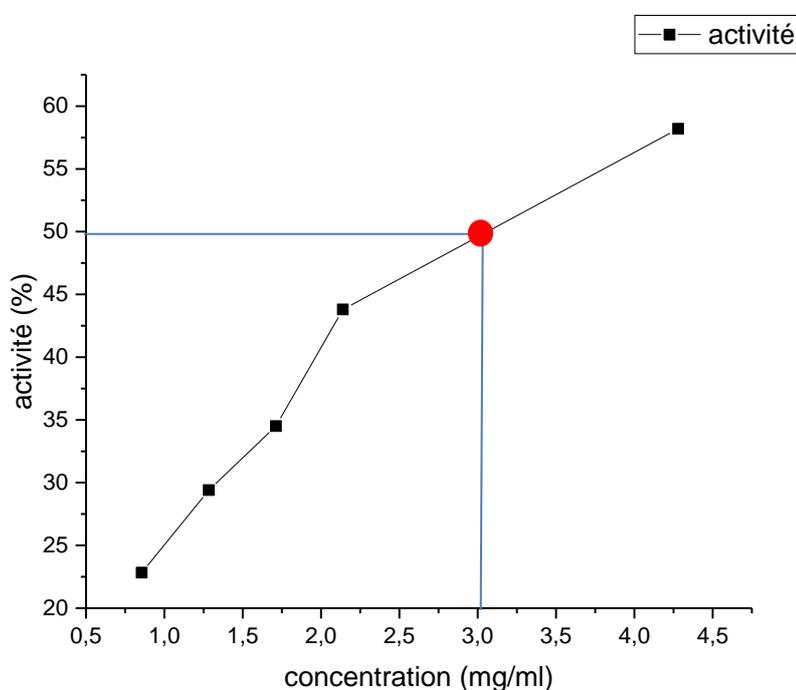
III.2 L'étude du pouvoir antioxydant de l'huile essentielle C. Clémentina

L'évaluation de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de C. Clémentin a été faite en comparaison avec celle de deux antioxydants de synthèse (BHT et BHA), ces derniers sont pris comme référence. Les valeurs obtenues ont permis de tracer les courbes représentées dans les figures III-2, III-3 et III-4 à partir de ces courbes nous pouvons déterminer la valeur de la concentration d'échantillon requise pour inhiber 50% du radical libre DPPH, c'est-à-dire le EC₅₀ de chaque produit.

Le tableau ci-dessous regroupe l'activité de chaque solution diluée et analysé de notre huile essentielle.

Tableau III-3: activité de chaque solution fille

Concentration (mg/ml)	Activité (HE) %
0.856	22.83
1.284	29.4
1.712	34.5
2.140	43.8
4.280	58.2



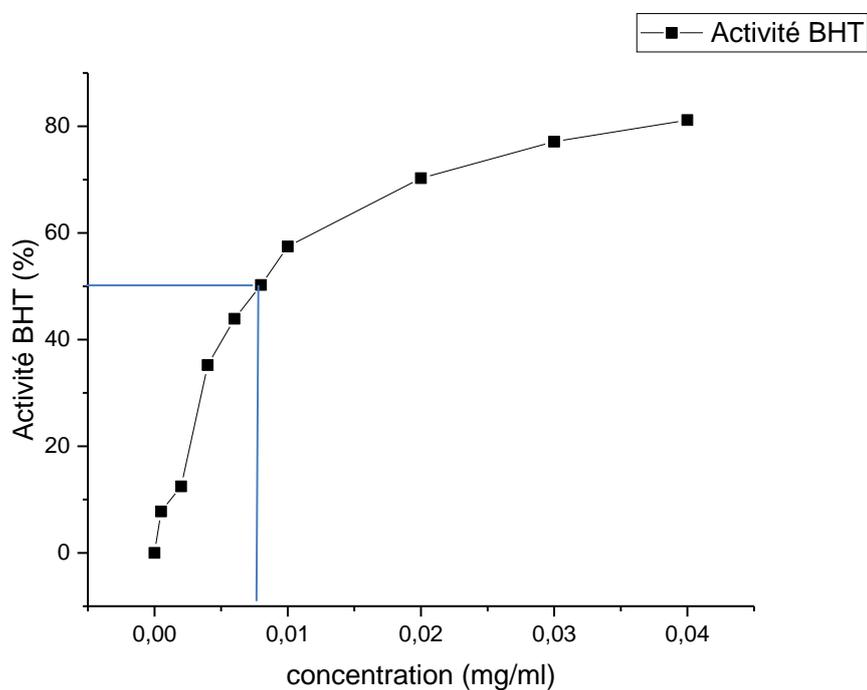
III-2 : Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de l'huile essentielle de C. Clémentina

L'exploitation du graphe précédent nous permet de trouver un EC_{50} égale à 3.15 mg/ml. Dans le cas des composés de références BHA et BHT le tableau suivant résume les résultats trouvés.

Tableau III-4: La capacité antiradicalaire du BHT et BHA

Concentration (mg/ml)	Activité (BHT) %	Activité (BHA) %
0	0,00	0,00
0,0005	7,78	1,50
0,002	12,47	16,33
0,004	35,22	32,31
0,006	43,91	46,38
0,008	50,24	58,36
0,01	57,47	66,72
0,02	70,27	74,14
0,03	77,12	84,22
0,04	81,18	85,36

du graphe de la figure III.3 ci-dessous on a trouvé que l' EC_{50} du BHT est égale à 0.0079 mg/ml



III-3 : Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de BHT

De même pour le BHA la valeur trouvée d'EC₅₀ en exploitant la figure ci-après est de 0.0065 mg/ml

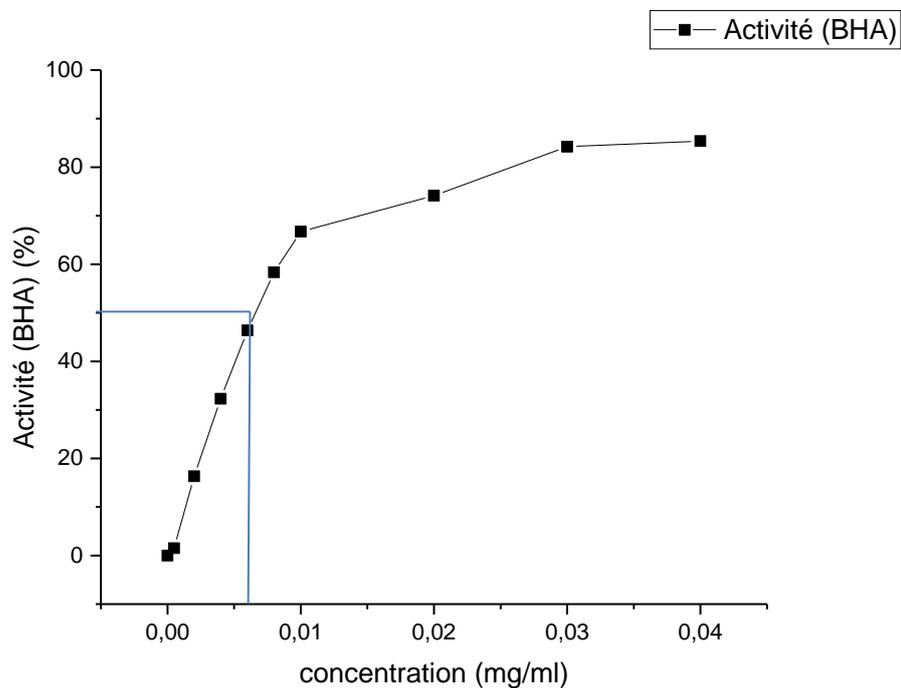
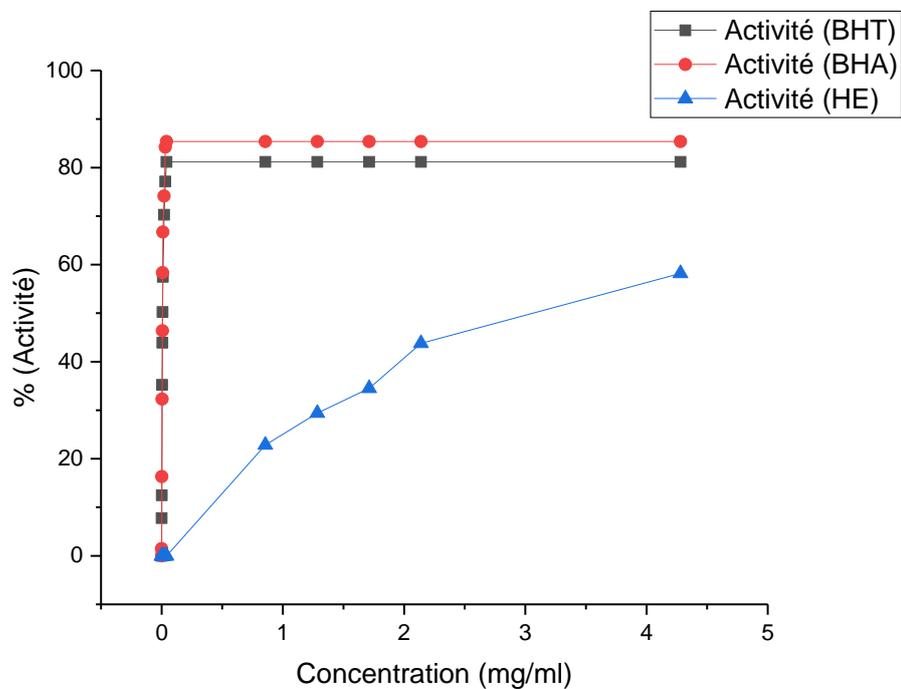


Figure III-4 : Evolution de l'activité antioxydante en fonction de la concentration de BHA

La figure III-5 résume les résultats obtenus



III-5: Superposition des courbes représentant la variation de l'activité en fonction de la concentration de: HE, BHT et BHA

Il est connu qu'une faible valeur de l'EC₅₀ indique une forte activité antioxydante, et inversement une valeur d'EC₅₀ élevée indique une faible activité. Le classement des EC₅₀ est comme suit :

$$EC_{50}(HE) > EC_{50}(BHA) > EC_{50}(BHT)$$

On remarque que le BHT (0.0079 mg/ml) et le BHA (0.0065 mg/ml) sont 400 à 450 fois plus actifs que l'huile essentielle de C. Clémentina (3.15 mg/ml) Toutefois, selon les travaux de Leporini et col (2019) l'EC₅₀ de la C. Clémentina dans trois régions de l'Italie est 10 supérieures à celle étudiée. Comme le montre le tableau III-5 ci-dessous :

Tableau III-5 : EC₅₀ de l'huile essentielle de C. Clémentina en région calabre de l'Italie

Région de la Calabre	EC ₅₀ (mg/ml)
Cetraro	0.3
Rosarno	0.48
Corigliano	0.56

III.3 Formulation

Dans le but de valoriser notre huile essentielle on a préparé une crème hydratante à un effet anti-rides causé par l'effet antioxydant de C. Clémentina. La phase huileuse contient 10g de l'huile de vaseline et on ajoute 4g d'Emulgine B1, 1g de Lanette et 0.3g TEA, d'autre part la phase aqueuse est constituée de 6g de glycérine avec 0.8g de Carbopol et 0.5g d'allantoïne et on ajoute 0.1g d'EDTA et à la fin on ajuste avec de l'eau pour avoir 100g.



Figure III-6: Crème hydratante

III.3.1 Contrôles organoleptiques effectués sur la crème

Le tableau ci-dessous résume les tests sensoriels réalisés sur la crème

Tableau III-6: Résultats des tests sensoriels sur la crème

Caractéristiques testés		
Aspect	Texture	Étalement
Onctueux	Épaisse	Facile

III.3.2 Teste de stabilité :

Nous avons pu constater que pendant trois mois notre crème hydratante est restée stable. Ceci montre que l'huile essentielle de C. Clémentina n'affecte pas la texture et la stabilité de l'émulsion H/E.

Conclusion

Conclusion

L'extraction de l'huile essentielle de clémentine nous a donné un rendement acceptable par rapport à ce qui est décrit dans la littérature (0,44 %).

L'utilisation de cette huile dans des préparations cosmétiques telles que notre crème ne pose aucun problème du point de vue textural ou fonctionnel car, les tests organoleptiques sont très satisfaits de plus, elle présente une stabilité appréciable.

Avec un $EC_{50} = 3.15$ mg/ml l'activité antioxydante de notre huile peut être considérée comme forte par rapport à d'autres huiles essentielles à même effet thérapeutique, toutefois, elle reste loin de celle des antioxydants de références comme dans le cas de :

L'hydroxyanisole butyle ou BHA avec $EC_{50} = 0,0065$ mg/ml

L'hydroxytoluène butyle, BHT avec $EC_{50} = 0,0079$ mg/ml

Ces propriétés nous encouragent à l'utiliser comme additif dans beaucoup de préparation cosmétique ou parapharmaceutique.

Avec notre huile essentielle on a pu formuler une émulsion huile dans l'eau avec propriété antioxydante ensuite l'étude sensoriels a pu montrer que la diffusion de la crème est bonne.

Malheureusement, à cause de la crise sanitaire due au corona virus on n'a pas pu réaliser les analyses chromatographiques pour déterminer le chémotype de notre huile, ainsi que différents tests sur la crème préparée. Ils resteront donc en perspective pour ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. Djillali, "Extraction et identification des huiles essentielles," pp. 1–17, 2016.
- [2] F. Lacharme, "LES PRODUITS COSMETIQUES BIOLOGIQUES : LABELS , COMPOSITION ET ANALYSE CRITIQUE DE QUELQUES," 2011, [Online]. Available: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00630667>.
- [3] G. J, *Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire : Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2.* 1996.
- [4] M. Mounira, "Formulation et caractérisation des matériaux biodégradables à base de l'acide polylactique-Plastifiants."
- [5] J. Bruneton, *Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants.* Lavoisier Publishing, 1995.
- [6] "Pharmacopée européenne : Huiles essentielles - Aetherolea (01/2008 :2098)."
- [7] A. Baaliouamer, B. Y. Meklati, D. Fraisse, and C. Scharff, "The Chemical Composition of Some Cold-pressed Citrus Oils Produced in Algeria," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 4, no. 3, pp. 251–258, 1992, doi: 10.1080/10412905.1992.9698058.
- [8] K. B. Namrata Dagli¹, Rushabh Dagli², Rasha Said Mahmoud³, "Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry," vol. 5, no. 5, pp. 335–340, 2015, doi: 10.4103/2231-0762.165933.
- [9] N. Tabanca *et al.*, "Gas chromatographic-mass spectrometric analysis of essential oils from Pimpinella species gathered from Central and Northern Turkey," *J. Chromatogr. A*, vol. 1117, no. 2, pp. 194–205, 2006, doi: 10.1016/j.chroma.2006.03.075.
- [10] A. El Haib, "Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques," no. Lcc, pp. 1–157, 2011.
- [11] J. T. J. Vercauteren, Catherine Chèze, *Polyphenols 96: 18th International Conference on Polyphenols, Bordeaux ... - Google Livres.* 1996.
- [12] A. Bélanger, B. Landry, L. Dextraze, J. M. R. Bélanger, and J. R. J. Paré, "Extraction et détermination de composés volatils de l'ail (*Allium sativum*)," *Riv. Ital. EPPOS*, vol. 2, p. 455, 1991.
- [13] J. Silva, W. Abebe, S. M. Sousa, V. G. Duarte, M. I. L. Machado, and F. J. A. Matos, "Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of Eucalyptus," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 89, no. 2–3, pp. 277–283, 2003.
- [14] N. S. L. Perry, C. Bollen, E. K. Perry, and C. Ballard, "Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial," *Pharmacol. Biochem. Behav.*, vol. 75, no. 3, pp. 651–659, 2003.
- [15] 2012. Mandarino e simili. In: Gli Agrumi. ART Continella, A., Russo, G. and pp. 368–369.

Servizi Editoriali, Bologna, Italy, "No Title."

- [16] A. Meriem and M. R. Nadjela, "Mémoire présenté par En vue d'obtenir le diplôme de Master Titre :"
- [17] M. B. Soutenu, "Évaluation de l'activité antioxydante de quelques extraits de la racine de *Bryonia dioica* : cas de *Bryonia dioica*," 2014.
- [18] C. Pastre, "Interêt De La Supplémentation En Antioxydants Dans L'Alimentation Des Carnivores Domestiques," *Prod. Anim.*, 2005.
- [19] U. Abderrahmane and M. De Bejaïa, "Activité antioxydante des extraits d'écorce et de pulpe de *Citrus limon* et *Citrus sinensis*."
- [20] K. B. épse FODHIL, "ETUDE DE L'EFFET DES ANTIOXYDANTS NATURELS ET DE SYNTHÉSE SUR LA STABILITÉ OXYDATIVE DE L'HUILE D'OLIVE VIERGE," 2011.
- [21] A. Merouane *et al.*, "Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle," vol. 8, no. August, pp. 1865–1870, 2014.
- [22] "Continella, A., Russo, G., 2012. Mandarino e simili. In: *Gli Agrumi*. ART Servizi Editoriali, Bologna, Italy, pp. 368–369."
- [23] "Lota, M. L., De Rocca Serra, D., Tomi, F., & Casanova, J. (2001). Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29, 77–104."
- [24] *FABRONI, Simona, ROMEO, Flora Valeria, et RAPISARDA, Paolo. Nutritional composition of clementine (citrus x clementina) cultivars. In : Nutritional Composition of Fruit Cultivars. Academic Press, 2016. p. 149-172. .*
- [25] "Junior, M. R. M., Rocha e Silva, T. A. A., Franchi, G. C., Nowill, A., Pastore, G. M. and Hyslop, S. 2009. Antioxidant potential of aroma compounds obtained by limonene biotransformation of orange essential oil. *Food Chemistry* 116: 8–12."
- [26] "BOUDRIES, H., LOUPASSAKI, S., LADJAL ETTOUMI, Y., et al. Chemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus reticulata* and *Citrus clementina* (L.) essential oils. *International Food Research Journal*, 2017, vol. 24, no 4."
- [27] "BAYGAR, Tuba et SARAÇ, Nurdan. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CLEMENTINE PEEL ESSENTIAL OIL WITH ITS CYTOTOXIC AND IN VITRO WOUND HEALING POTENTIAL ON NIH-3T3 FIBROBLAST CELLS. *Mugla Journal of Science and Technology*, vol. 4, no 2, p. 143-147."
- [28] "Baik, J. S., Kim, S. S., Lee, J. A., Oh, T. H., Kim, J. Y., Lee, N. H., & Hyun, C. G. Chemical composition and biological activities of essential oils extracted from Korean endemic citrus species. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(1), 74-79, 2."
- [29] M. En, G. Des, A. I. Hour, and M. A. Minawi, "Mémoire," 2018.
- [30] M. K. L. B. Khalida, "Extraction des huiles essentielles de graines de nigelle et application à la formulation de crème anti-inflammatoire," 2017.

- [31] M. F, *Le livre vert de la Cosmétique Bio, le Courrier du Livre, Paris, 2008 : Chapitre 2, 23-56.* 2008.
- [32] S. S. El-hawary *et al.*, "Chemical composition and biological activities of peels and leaves essential oils of four cultivars of *Citrus deliciosa* var . tangarina," vol. 1, no. 2, pp. 1–6, 2013.
- [33] M. Leporini *et al.*, "Impact of extraction processes on phytochemicals content and biological activity of *Citrus × clementina* Hort. Ex Tan. leaves: New opportunity for under-utilized food by-products," *Food Res. Int.*, vol. 127, no. September 2019, p. 108742, 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2019.108742.
- [34] A. L. Fanciullino, F. Tomi, F. Luro, J. M. Desjobert, and J. Casanova, "Chemical variability of peel and leaf oils of mandarins," *Flavour Fragr. J.*, vol. 21, no. 2, pp. 359–367, 2006, doi: 10.1002/ffj.1658.
- [35] T. T. Thi Nguyen *et al.*, "Investigation of peel and leaf essential oils of *Citrus clementina* Hort. ex Tan. growing in the south of Vietnam," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 28, no. 2, pp. 96–103, 2016, doi: 10.1080/10412905.2015.1083491.
- [36] M. G. Miguel *et al.*, "Essential oils of flowers of *citrus sinensis* and *citrus clementina* cultivated in Algarve, Portugal," *Acta Hortic.*, vol. 773, pp. 89–94, 2008, doi: 10.17660/ActaHortic.2008.773.12.