UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **:**

Master En Chimie

Spécialité : chimie pharmaceutique

Par :
MANALLAH Hadjer
TERRAS Khadidja

Thème :

Elaboration d'un savon liquide à effet antimicrobien à base des produits naturels

Soutenu publiquement/ le :21/06 /2022, devant le jury composé de :

BOUCHRITE. N	Grade : MCA	UYFM	Président
MADANI. L	Grade : MCB	UYFM	Examinateur
ARBIA.W	Grade : MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire : 2021/2022



Remerciement

On remercie ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir le jour sans l'aide et l'encadrement de Dr ARBIA. W, on la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.

Mes remerciements vont aussi aux membres de jury Dr. BOUCHRIT N. et Dr. MADANI L. de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer notre travail.

Mes pensées vont aussi aux Ms. BEN ZERGA Saide le directeur d'ENS Bouzareah pour son aide et son encouragement

Nous remercions également, Dr. KIRDI. R, qu'elle trouve ici nos vifs remerciements et notre gratitude pour son aide si précieuse et pour son encouragement

Nous remercions également tous les membres de Laboratoire de l'Université Yahia Fares qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions.

Au sein du laboratoire Saidal, nous somme pu rencontrer de très nombreuses personnes qui nous ont apporté une aide considérable et je les en remercie : LAIDI Karim, Fouad, Mohamed, Mustapha, Khira et Sarah

Merci aussi à tous les collègues de travailles, notamment ceux de notre promotion qui nous ont aidé à réaliser ce travaille

Nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation et au bon déroulement de ce travail.

Finalement nous tenons à exprimer notre vive gratitude à tous les enseignants qui ont participé de près ou de loin à notre formation du primaire au cycle universitaire.

Dédicace

A l'aide de Dieu " Allah " tout puissant qui m'a tracé le chemin de ma vie , j'ai pu réaliser ce travail

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude , l'amour , le respect , la reconnaissance C'est tout simplement que je dédie ce modeste travail : Aux deux êtres les plus chers au monde qui ont donné sens à mon existence Mes chers parents

ma chère mère ***Naima LACHENANI*** *est une combattante forte qui a enduré mes moments de faiblesse, qui a œuvré pour ma réussite , par son amour , son soutien , tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils , pour toute son assistance et sa présence dans ma vie , ce qui m'a permis de continuer mes études dans les meilleures conditions , remerciez-la et souhaitez-lui un prompt rétablissement .*

Mon cher père ***Youcef*** *pour son encouragement, son soutien et ses sacrifices énormes Que le bon " Allah " vous garde en bonne santé et j'espère qu'e vous seriez toujours fiers de moi*

Je dois la force et le soutien à mes trési belles chères sœurs ***Wafae*** *et* ***Zineb*** *pour leur soutien moral et matériel, qu'ils continuent de m'offrir pour poursuivre ma carrière universitaire.*

À mon grand frère unique ***Abdelhak*** *et sa femme* ***Selma*** *et sa fille mon ange* ***Nada.*** *je te souhaite beaucoup de succès et une vie pleine de joie et de bonheur*

À ma chère grande mère ***Mama Khadouja***
À toute ma famille

À ma chère ***Hadjer*** *, mon binôme , merci pour votre soutien durant les moments difficiles , votre travail acharné, votre persévérance et votre de dévouement à votre travail. Je te souhaite plus belle vie et le succès.*

À ma chère ***Asmaa****, ma soutien dans la vie qui pendant mes moments de faiblesse j'ai trouvé avec moi, tu m'as aidé à continuer et à ne pas abandonner mes rêves.*

À mes chères amie : ***Selma*** *,* ***Asma , Nabila , Warda , Kaouther , Nour, Hanaa , Hiba, Houda, Manel, Zoulikha, Amel*** *et tous mes amis*
A toute la promotion chimie pharmaceutique

A tous ceux et celles qui, par un mot, m'ont donné la force de continue

A tout ce que j'aime sans lesquels tout ceci n'aurait aucun sens ...

TERRAS Khadidja



Dédicace

Tout d'abord je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la patience, la volonté et de m'avoir fourni sa bénédiction

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère ***HAOUAT Fatiha***

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Que Allah vous garde en bonne santé et j'espère que vous seriez toujours fiers de moi.

A mon cher père ***Mehamed*** *pour son encouragement, son soutien et ses sacrifices énormes*

A mes chère grand-mère et grand père dieu les protèges et les garde pour nous

Aussi a ma chère tante ***Aicha*** *qui m'aide beaucoup et de m'avoir encouragé*

A mes chère tantes ***Souade*** *et* ***kaima,*** *pour votre amour et soutiens et encouragement*

Aussi a mes chère oncle ***Fathi***, ***lhbib*** *et* ***Abd el kader*** *Mercie d'être toujours là pour moi, vous êtes ma force*

A mon chère frère ***Amine****, pour votre amour et soutiens*

A ma chère ***khadidja****, mon binôme pour votre soutien moral, sa patience et votre compréhension tout au long de ce travail*

A mes meilleurs amis : ***Safa*** *et* ***Manar*** *Pour leurs encouragements et pour les bons moments qu'on a vécus ensemble j'espère que notre amitié durera éternellement*

A mes chères amies : ***Hiba, Houda, Soumia, Fati, Kaouther, Sirine, Hafidha, Imane, Nabila, Hanaa*** *et tous mes amis*

A toute la promotion de chimie pharmaceutique et chimie macromoléculaire

MANALLAH Hadjer



الملخص

الهدف من عملنا هو تحضير صابون سائل له تأثير مضاد للميكروبات يعتمد على الزيت العطري. تم استخراج هذا الأخير عن طريق التقطير المائي من قشور البرتقال الجاف، طازج ومجمد بعائد استخراج 1.66٪ و 4٪ و 2.33٪ على التوالي. تم تحضير الصابون السائل الذي تم الحصول عليه من الصابون الطري عن طريق إضافة الإضافات المختلفة : الزيوت الأساسية من قشر البرتقال (طازج وجاف ومجمد) وزيت اللافندر العطري (تجاري) وماء البرتقال المقطر و بقايا الستخلاص الذي أعطانا 6 صابون سائل من قوام مختلف. أظهر التوصيف الفيزيائي الكيميائي للصابون الذي تم الحصول عليه أن درجة الحموضة لديها تتراوح من 10 إلى 8، والكثافة موجود ة في معايير الأدوية الأوروبية ولزوجاتها تنخفض مع زيادة سرعة القص،وبالتالي يتم تصنيف هذه الصابون على أنها موائع غير نيوتونية الريفولية. أظهرت دراسة النشاط المضاد للميكروبات أن الزيوت الأساسية لقشر البرتقال الجاف والمتجمد تظهر نشاطًا مثبطًا في سلالات ميكروبية مختلفة تمت دراستها. بالنسبة للصابون السائل المحضر، تظهر النتائج أن لديهم نشاطًا مضادًا للميكروبات وطيفًا واسعًا من الحركة، لذلك خلصنا إلى أن الصابون المحضر يتمتع بفاعلية جيدة ضد الميكروبات

الكلمات الرئيسية

صابون طري ، صابون سائل ، بوتاس ، زيوت أساسية ، نشاط مضاد للميكروبات

Summary

The objective of our work is the preparation of a liquid soap with antimicrobial effect based on essential oil. The latter was extracted by hydro-distillation from orange peel at dry, fresh and frozen state with an extraction yield of 1.66%, 4% and 2.33%, respectively. The liquid soaps obtained were prepared from soft soaps by adding the various additives: essential oils of orange peel (fresh, dry and frozen), lavender essential oil (commercial), orange hydrosol and extraction residue which gave us 6 liquid soaps of different textures. The physical and chemical characterization of the soaps obtained has shown that they have a pH ranging from 10 to 8, a density is in the standards of the European pharmacopoeia and their viscosities decrease with the increase in the speed of shearing, therefore these soaps are classified as non-newtonian rheofluidifying fluids. The study of antimicrobial activity showed that dry and frozen orange peel essential oils exhibit inhibitory activity in different microbial strains studied. For prepared liquid soaps, the results show that they have antimicrobial activity and a broad spectrum of action, so we concluded that the prepared soap has a good antimicrobial potency

Keywords

Soft Soap, Liquid Soap, Potash, Essential Oils, Antimicrobial Activity

Résumé

L'objectif de notre travail est la préparation d'un savon liquide à effet antimicrobien à base d'huile essentielle. Cette dernière était extraite par hydro-distillation à partir de de zeste d'orange l'état sec, frais et congelé avec un rendement d'extraction de 1.66%, 4% et 2.33%, respectivement. Les savons liquides obtenus ont été préparés à partir des savons mous en ajoutant les différents additifs : huiles essentielles de zeste d'orange (frai, sec et congelé), huile essentielles de lavande (commerciale), hydrolat d'orange et tisane d'orange ce qui nous a donné 6 savons liquides de textures différentes. La caractérisation physico-chimiques des savons obtenus a montré qu'ils ont un pH qui varie de 10 à 8, une densité est dans les normes de la pharmacopée européenne et leurs viscosités diminuent avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, donc ces savons sont classés dans la catégorie des fluides non newtoniens rhéofluidifiant. L'étude de l'activité antimicrobien a montré que les huiles essentielles de zests d'orange sec et congelé présentent une activité inhibitrice dans différentes souches microbiennes étudiées. Pour les savons liquides préparés, les résultats montrent qu'ils ont une activité antimicrobienne et un spectre d'action large, donc nous avons conclu que le savon préparé à un bon pouvoir antimicrobien

Mots-clés

Savon mou, Savon liquide, Potasse, Huiles Essentielles, Activité antimicrobienne

Introduction générale ……..1

Chapitre I. Etude bibliographique

I. **Généralité sur le savon, ses propriétés et sa fabrication……3**

I. 1. Définition du savon ……....3

I. 2. Détergentes……..3

I. 2. 1. Composition générale d'un savon ……..3

I. 2. 1. 1. L'eau ……..3

I. 2. 1. 2. Le corps gras……..4

I. 2. 1. 3. L'alcali ……..5

I. 2. 1. 4. Les additifs ……5

I. 3. Les propriétés de savon ……..5

I. 4. Procédé général du fabrication de savon……6

I. 4. 1. La réaction de saponification ……6

I. 4. 2. Les méthodes de saponification ……7

I. 5. Qualité de savon ……7

I. 5. 1. Le pouvoir mouillant ……..7

I. 5. 2. Le pouvoir émulsifiant ……8

I. 5. 3. Le pouvoir dispersant ……8

I. 5. 4. Le pouvoir moussant ……..8

I. 5. 5. Le pouvoir antimicrobien ……..9

I. 6. Mode d'action du savon ……9

I. 6. 1. Lavage……9

I. 6. 2. Bulle de savon ……10

I. 7. Lavage des mains……10

I. 7. 1. Pratiques d'hygiène des mains……11

I. 7. 2. Lavage des mains……..11

I. 8. Le savon antiseptique ……12

I. 9. Le pH du savon……12

II. Les plantes médicinales et les huiles essentielles

II. 1. Historique sur huiles essentielles……..14

II. 2. Définition les huiles essentielles ……14

II. 3. Les méthodes d'extraction de l'huile essentielle ……14

II. 4. Les huiles utilisées dans notre travail……17

II. 4. 1. Huile essentielles du zeste d'orange ……17

II. 4. 2. Huile essentielle de lavande ……..17

II. 4. 2. 1. Les composant majoritaires des huiles essentielles ……...……..17
II. 4. 3. Huile d'olive ……..……..18
II. 5. Les différents contrôles de qualité des huiles essentielles…….……..18
II. 5. 1. Les contrôles organoleptiques……..…18
II. 5. 2. Les constantes physico-chimiques……..……18
II. 6. L'activité antibactérienne des huiles essentielles…….18
II. 6. 1. La méthode de l'aromatogramme ……..……..19
II. 7. Les conditions de conservation et de stockage…….……20
II. 8. Intérêt des huiles essentielles……...……21
II. 8. 1. En cosmétologie ……..……21
II. 8. 2. En industrie agroalimentaire……..……..21
II. 8. 3. En agriculture ……...……...21
II. 8. 4. En pharmacie……...…….21

Chapitre II. Matériel et méthodes

II. 1. Le matériel……...…….22
II. 1. 1. Appareillage et produits chimiques……..……22
II. 1. 2. Matériels biologiques……..…….22
II. 1. 2. 1. Matériels végétal……..22
II. 1. 2. 2. Les souches microbiennes ……...……23
II. 2. Les méthodes……..……..23
II. 2. 1. Préparation du savon liquide antimicrobien…….23
II. 2. 1. 1. Préparation du savon mou……...…….23
II. 2. 1. 2. Extraction d'huile essentielle d'orange …….……..26
II. 2. 1. 3. Préparation de savon liquide antimicrobien ……26
II. 3. Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles et des savons préparés……..29
II. 3. 1. Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles préparées……..29
II. 3. 1. 1. Mesure de pH ……..…29
II. 3. 1. 2. Mesure de la densité relative …….……..29
II. 3. 1. 3. Indice de réfraction (I_r)……29
II. 3. 1. 4. Indice de saponification I_s……...…….29
II. 3. 1. 5. Indice d'acide I_a ……...……30
II. 3. 1. 6. Indice d'ester I_e ……...…….31
II. 3. 2. Caractérisation physico-chimiques des savons préparés……..……31

II. 3. 2. 1. Mesure de la viscosité de savon ……..…31

II. 3. 2. 2. Mesure de la densité de savon ……..…32

II. 3. 2. 3. Détermination de pH du savon ……...…….32

II. 4. Qualité de savon ……..……32

II. 4. 1. Pouvoir moussant ……...…….32

II. 4. 2. Pouvoir mouillant ……33

II. 4. 3. Pouvoir émulsifiant ……...…….34

II. 5. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des savons préparés ……35

II. 5. 1. Préparation des suspensions microbiennes ……..35

II. 5. 2. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles ……..35

II. 5. 3. L'activité antimicrobienne des savons liquides …….……..36

II. 5. 4. Etude du pouvoir antibactérien du savon au lavage……...……..36

II. 8. Test consommateur ……...…….37

Chapitre III. Résultats discussions

III. 1. Les savons mous préparés ……..……38

III. 2. Les savons liquides préparés ……..39

III. 3. Les huiles essentielles obtenues …….……41

III. 3. 1. Le temps d'extraction de chaque huile……...……41

III. 4. Caractérisation physicochimiques de l'huile d'olive, des huiles essentielles et des savons préparés…….……41

III. 4. 1. Caractéristiques physicochimiques d'huile d'olive utilisée pour la préparation du savon mou…….……41

III. 4. 2. Caractérisation des huiles essentielles produites …….…….42

III. 4. 2. 1. Caractérisation organoleptique des huiles essentielles extraites…….……42

III. 4. 3. Caractérisation des savons liquides préparés ……43

III. 4. 3. 1. Etude de la viscosité ……...43

III. 4. 3. 2. Le pH et la densité des savons préparés……...…...44

III. 4. 3. 3. Pouvoir moussant……..……..45

III. 4. 3. 4. Pouvoir mouillant ……..……46

III. 4. 3. 5. Pouvoir émulsifiant ……47

III. 5. L'activité antimicrobien ……48

III. 5. 1. L'activité antimicrobien des huiles essentielles ……48

III. 5. 2. L'activité antimicrobien des savons préparés…….50

III. 6. Test de consommateur ……52

Conclusion ……53

Les références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AFNOR : Association française de normalisation

BSAC : British Society for Antimicrobial Chemotherapy

DO : Densité optique

EMA : European Medicines Agency

ED : Eau distillée

F. I : Fortement inhibitrice

GN : Gélose nutritive

HE : Huiles essentielles

HE. L : Huile Essentielle Lavande

HE OC : Huile Essentielle zeste d'Orange congelé

HE OS : Huile Essentielle zeste d'Orange Sec

HMPC : Comité des médicaments à base de plantes (The Committee on Herbal Medicinal)

$\boldsymbol{I_a}$: Indice d'acide

$\boldsymbol{I_e}$: Indice d'ester

$\boldsymbol{I_r}$: Indice de réfraction

$\boldsymbol{I_S}$ **:** Indice de saponification

ISO : Organisation internationale de normalisation

L. I : Légèrement inhibitrice

MAC : Mac Conkey agar

M. I : Modérément inhibitrice

Q. S. M : Quantité du Savon Mou

R. E. F : Résidu d’extraction d'orange Frais

SAB : Sabouraud

T. F. I : Très fortement inhibitrice.

Z. O. C : Zeste d'orange congelé

Z. O. F : Zeste d'orange frais

Z. O. S : Zeste d'orange sec

Liste du Tableaux

Tableau. I. 1. Ph des savon testés (Baranda et al., 2002)…….13

Tableau I. 2. Avantage et inconvénients des différents procédés d'extraction (Rassem, Nour et al.,2016) ……15

Tableau I. 3. les composant majoritaires des huiles essentielles……...…..17

Tableau II.1. Appareillage et produits chimiques……..…….22

Tableau II. 2. Les souches microbiennes testées……..…23

Tableau II. 3. Optimisation de la méthode de préparation du savon mou…….…..….25

Tableau II. 4. Différentes formules préparées……...…28

Tableau II. 5. Les tests du pouvoir moussant……..32

Tableau II. 6. Les tests du pouvoir mouillant……..33

Tableau II. 7. Les tests du pouvoir émulsifiant……...……34

Tableau II. 8. Les différents types de peau des volontaires ayant testés les savons préparés.37

Tableau III. 1. Différentes formules préparées……..…….39

Tableau III. 2. Les propriétés physicochimiques d'huile d'olive……42

Tableau III. 3. Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles……...…42

Tableau III. 4. Les propriétés physicochimiques des huiles essentielles extraites……..…42

Tableau III. 5. pH et densité des savons préparés……...45

Tableau III. 6. La hauteur et la durée de la mousse formée par les savons préparés……..46

Tableau III. 7. Le pouvoir mouillant des solutions savonneuses……47

Tableau III. 8. Le diamètre des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles…….…..49

Tableau III. 9. Dénombrement des microorganismes après lavage avec les différents savons liquides préparés…….……..51

Tableau III. 10. Dénombrement des microorganismes après lavage avec les différents savons liquides préparés……...51

Tableau III. 11. Résultats du test consommateurs……...52

Liste des Figures

Fig. I. 1. Schéma présentant d'un tensioactif…….……6

Fig. I. 2. Schémas présentant le pouvoir mouillant……8

Fig. I. 3. Schéma présentant la formation de la mousse…….9

Fig. I. 4. Schéma présentant l'action du savon sur le tissu dans l'eau ……..…..10

Fig. I. 5. Schéma présentant le mode d'action des huiles essentielles…….…19

Fig. I. 6. Schéma présentant la méthode de l'aromatogramme……20

Fig. II. 1. Aromatogramme sur boite de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle…….…35

Fig. III. 1. Cinétique d'extraction d'huile essentielle à partir du zeste d'orange…….…41

Fig. III. 2. La viscosité des savons liquides en fonctions de la vitesse de rotation du viscosimètre……..…44

Liste des Photos

Photo II. 1. Les étapes de préparation du savon mou (photos originales, 2022)…….24

Photos II. 2. Préparation d'huile essentielle d'orange……..…26

Photo II. 3. Préparation du savon liquide à partir du savon mou (photos originales, 2022)…27

Photo II. 4. Préparation du savon liquide avec la tisane du zeste d'orange frais (photos originales,2022)…….28

Photo II. 5. Mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles……...…29

Photos II. 6. Mesure de l'indice de saponification (photos originales, 2022)……..…30

Photos II. 7. Mesure de l'indice d'acide (photos originales, 2022)…….……31

Photos II. 8. l'appareil de viscosimètre (photos originales, 2022)……...32

Photos II. 9. Détermination du pouvoir mouillant des savons préparés (photos originales, 2022)…….34

Photo II. 10. Test de l'activité antimicrobienne du savon par la méthode de diffusion sur milieu gélosé……..…36

Photo II. 11. Test de l'activité antimicrobienne après lavage par les savons préparés……37

Photo III. 1. Les savons mous préparés……...…38

Photo III. 2. Les savons mous…….….39

Photo III. 3. Les savons liquides obtenus……40

Photo III. 4. Savon mou 5……40

Photo III. 5. Le pouvoir moussant……...……45

Photo III. 6. La mousse formée par le savon après l'action mécanique de lavage……..46

Photo III. 7. Le pouvoir mouillant des savons liquides préparés……47

Photo III. 8. Le pouvoir émulsifiant……48

Photo III. 9. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles……..…49

Photo III. 10. L'activité antimicrobienne des différents savons préparés……..….50

Photo III. 11. L'activité antimicrobienne des différents savons liquides préparés……..…51

Photo III. 12. Résultats de test de consommateur……...…53

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Pour de multiples raisons, il est indispensable de contrôler le développement des microorganismes (bactéries pathogènes par exemple), pour éviter leurs effets nuisibles sur l'homme et les animaux, ou sur les produits de l'activité humaine (altération des aliments, dégradation diverses). Les moyens de lutte sont nombreux et très variés, tels les agents antimicrobiens physiques (température, irradiation et élimination mécanique) et chimiques (antibiotiques, antiseptiques et désinfectant) (Meyer et al, 2004).

Les événements récents nous ont montré, encore, à quelle vitesse une nouvelle infection peut prendre racine et se propager. Une maladie très contagieuse causée par le virus appelé coronavirus Sars-CoV-2, (Covid-19) vient de s'installer (Trexler, 2020). Les moyens utilisés pour lutter contre cette infection sont plusieurs mais le lavage des mains avec les savons et les gels hydro alcooliques restait le premier élément utilisé contre l'infection et le risque de transmission (Dupeyron, 2006; Scotto, 2014).

Une bonne réalisation de l'hygiène des mains par les agents antimicrobiens cherche à éliminer les salissures et à contrôler efficacement la prolifération de la flore cutanée au niveau des mains, l'utilisation appropriée de ces produits est d'autant plus nécessaire que les techniques médicales de plus en plus invasives induisent des risques infectieux importants [1].

Toutefois, l'utilisation intensive de ces produits hydro alcoolique peut entraîner des risques pour la santé humaine, comme la dermatite, le plus souvent en raison de l'agressivité chimique de la peau. Donc pour être sûr d'avoir un détergent écologique et doux pour la peau, rien de mieux que de fabriquer un savon liquide à base d'huile végétale et d'extraits végétaux à savoir les huiles essentielles et hydrolat. Autant d'ingrédients simples, respectueux de l'environnement, biodégradables rapidement, et qui s'avèrent souvent bien efficaces.

C'est dans cette optique s'inscrit notre projet de fin d'étude qui porte sur la production de savon liquide à base de produit naturel à effet antimicrobien. Ce savon est préparé par saponification chaude de l'huile d'olive par de la potasse. A la fin de la saponification on obtient un savon mou auquel on a ajouté de l'eau, de l'hydrolat ou de résidu d'extraction de zeste d'orange pour le rendre liquide. Pour l'effet antimicrobien des huiles essentielles telles que l'huile essentielle de zeste d'orange a été ajouté au savon liquide obtenu. Un test de diffusion en milieu solide a été réalisé afin de confirmer l'effet antimicrobien des huiles essentielles utilisées et/ou le savon liquide.

Ce mémoire est divisé en 3 chapitres. Le premier chapitre entame quelques généralités sur le savon et une revue de littérature sur les huiles essentielles et l'huile de citron (*citrus limon),* les procédés d'extraction, la composition et les propriétés biologiques y sont présentes. Le 2eme chapitre est consacré aux Matériels et Méthodes

et décrivait le contexte global de cette étude ainsi que les différents objectifs à atteindre. Ensuite, le chapitre 3 représente tous les résultats obtenus au cours de notre expérimentation avec une discussion. Finalement, la conclusion

Chapitre I Etude bibliographique

I. Généralité sur le savon, ses propriétés et sa fabrication

I. 1. Définition du savon

Le savon est le produit de nettoyage le plus ancien; il est une matière moléculaire obtenue par la combinaison d'une base (des sels de potassium ou de sodium) avec un corps gras (graisses animales ou végétales). Il est fabriqué par saponification à partir de graisses et d'huiles ou de leurs acides gras, en les traitants chimiquement avec un alcali fort, ces acides gras sont faibles, non stables, sur lesquels on fait agir une base, aboutissant ainsi à la formation de sels alcalins solubles dans l'eau de formule générale : ($R\text{-}COO^- + Na^+$) ou ($R\text{-}COO^- + K^+$). Les savons peuvent être liquides, pâteux, ou solides (Zerbani, 2020)

Le savon est utilisé comme tensioactif anionique : il possède une bonne aptitude à émulsionner les graisses et à les mettre en suspension dans l'eau. Mais il présente l'inconvénient de former des sels de calcium insolubles qui se déposent sur les tissus, lors des lavages dans des eaux dures. C'est pour cette raison que pour le marché du lavage du linge, il est remplacé par les détergents, mais garde le marché de la toilette (Bajpai, 2007).

I. 2. Détergent

La détergence est le processus correspondant à la séparation des salissures de leur substrat, par mise en solution ou en dispersion. De ce, fait la détergence a pour effet le nettoyage des surfaces, et pour ceci elle fait intervenir plusieurs phénomènes physico-chimiques.

Le souci de propreté et d'hygiène remonte fort loin puisque les babyloniens utilisaient des extraits de cœur de roseau en guise de savon et que les Egyptiens connaissaient déjà les propriétés nettoyantes de carbonates qu'ils allaient recueillir dans des lacs à demi asséchés. Cependant, durant le siècle dernier, la propreté est devenue une exigence de toute société civilisée et de ce fait des produits de lavage se sont développés et de haute qualité. Ils doivent présenter diverses propriétés spécifiques telles que le pouvoir mouillant, le pouvoir dispersant, le pouvoir émulsionnant,…. etc. (Togbe et al., 2014).

I. 2. 1. Composition générale d'un savon

I. 2. 1. 1. L'eau

L'eau doit être la plus pure possible. Une eau salée, acide ou trop minérale n'est pas favorable à la saponification. L'eau de pluie ou une eau de source non minérale sont les plus appropriées (Chaterbache, 2007).

I. 2. 1. 2. Le corps gras

Le corps gras est traditionnellement constitué d'huile végétale ou de graisse animale. Il influe sur la consistance finale du savon. Les huiles produisent des savons mous voire liquides ;

les graisses produisent plutôt des savons durs (la graisse de bœuf donne un savon plus dur que la graisse de mouton). Parfois, le corps gras est extrait des restes de nourriture accumulée pendant l'hiver (Chaterbache, 2007).

- ✓ **Les huiles végétales,** sont des liquides visqueux, de couleur et d'odeur variables et sont essentiellement formées de triglycérides, c'est-à-dire de triesters du glycérol et d'acides gras. Ces derniers peuvent être saturés, mono ou polyinsaturés (Martini, 2006).

En plus des triglycérides, sont retrouvés dans la composition des huiles végétales des insaponifiables : acides gras libres, phospholipides, et autres substances non transformables en savons. Ce sont les instaurations qui confèrent aux huiles les propriétés adoucissantes, anti-âge, protectrices ou encore nourrissantes. Mais ces huiles sont dégradables en particulier par le phénomène d'oxydation qui touche les huiles les plus riches en doubles liaisons, donc les polyinsaturées. L'oxygène atmosphérique entraine la formation de composés peroxydes qui par dégradation donnent des produits secondaires (aldéhydes, cétones, dérivés hydroxylés). Ceci aboutit à un rancissement et donc à une modification des caractères organoleptiques de l'huile (Martini, 2006). Ces réactions d'oxydation sont catalysées par la chaleur, la lumière, certaines enzymes comme les lipases et certains conditionnements pro-oxydants comme le fer ou le cuivre. La vitamine E, antioxydants, ralentit ce phénomène. Certaines huiles très insaturées, sont riches en vitamine E de façon naturelle, elles sont donc protégées de l'oxydation. C'est en particulier le cas de l'huile d'argousier. Parmi ces huiles on cite :

- o **L'huile d'amande douce** possède des propriétés intéressantes, elle est émolliente, assouplissante, apaisante. Elle est utilisée dans les soins hydratants, nourrissants pour peaux sèches et irritées, produits minceur et en particulier anti-vergetures. Elle ne rancit pas vite et c'est l'une des meilleures et des plus douces huiles de base pour les crèmes, les produits nettoyants et les huiles de bain. Son odeur neutre constitue un autre avantage. Assouplissante, adoucissante, calmante et nourrissante, elle convient parfaitement aux peaux les plus délicates comme celles des bébés. Elle est également idéale pour soigner les vergetures, protéger les seins lors de l'allaitement ou les mains séchées par le froid de l'hiver. Cet l'huile se compose de : 65 à 83 % oléique (Omega9), 1 % palmitoléique ; 25 % linoléique (Omega6) ; 6 à 8 % palmitique, et les vitamines E, D (traces), A, B1, PP, B2, B6
- o **L'huile coco** possède des propriétés nourrissante et apaisante. Elle est utilisée dans les produits apaisants après solaire, soins des peaux sèches. Lorsqu'elle est conservée à des températures basses, l'huile de coco se présente sous forme de beurre sol idéaux grasses

et/ou sujettes aux boutons. Cette base huileuse au toucher sec, très pénétrante permet un très bon étalement de la préparation sur la peau, il améliore la pénétration des actifs liposolubles, sans laisser de film gras. C'est également un très bon solvant pour la préparation de macérât par exemple, puisqu'il se présente sous forme d'un liquide huileux incolore et inodore (LE Hir et al., 2009).

I. 2. 1. 3. L'alcali :

L'alcali est une lessive d'hydroxyde de sodium, qui produit un savon dur, ou de l'hydroxyde de potassium, qui produit un savon mou. La soude ne se trouve que très rarement à l'état naturel, celle que l'on trouve dans le commerce est le résultat de processus industriels polluants. On préfèrera donc utiliser une lessive de potasse obtenue par infusion de cendres dans l'eau. La qualité de la cendre influe sur le résultat. Il faut des cendres très blanches (obtenues par une combustion à haute température). Les cendres de coque de noix, de chêne ou, pour un savon très blanc, de pommier sont les plus appropriées. De la cendre tout venant finement tamisée fait, par ailleurs, très bien l'affaire. La lessive de potasse est très corrosive et doit être manipulée avec grande précaution pour éviter les brûlures (Chaterbache, 2007).

I. 2. 1. 4. Les additifs

Des additifs divers et variés sont utilisés pour modifier les qualités du savon ou pour faciliter la réaction. Ainsi l'ajout de sel en fin de réaction permet d'obtenir un savon dur avec la lessive de cendres, l'alcool permet d'accélérer la réaction et rend le savon transparent, l'ajout d'acide lactique produit des « savons acides » moins agressifs pour l'épiderme. On trouve également dans les additifs du lait, du petit-lait, du miel, de la résine de pin, de la cire d'abeille…etc. (Chaterbache, 2007)

I. 3. Propriétés du savon

Les savons produits à partir de la soude et de la potasse sont dissolubles dans l'eau. Cependant, ils se dissoudront plus facilement dans l'eau chaude que dans l'eau froide. Le savon qui est dissout dans l'eau subit une séparation de ses composantes (hydrolyse); le résultat est entre autre, une extrémité bien hydrophile.

Le savon à des propriétés détergentes, c'est à dire qu'il a le pouvoir, lorsqu'il est appliqué sur une surface quelconque, de détacher les impuretés grasses adhérentes à cette surface et de les mélanger à l'eau. Comme les impuretés grasses manquent d'affinité à l'eau (hydrophobe), nous avons besoin d'un pont entre l'eau et les impuretés. Le savon, dissout dans l'eau, est bien placé pour jouer le rôle du pont car il a une partie qui est lipophile et une partie qui est fortement hydrophile (Fig. I. 1). Il va ainsi faciliter le détachement des impuretés grasses. Le pouvoir

détersif d'un savon dépend de l'huile ou de la graisse utilisée pour la saponification (Caubergs, 2008).

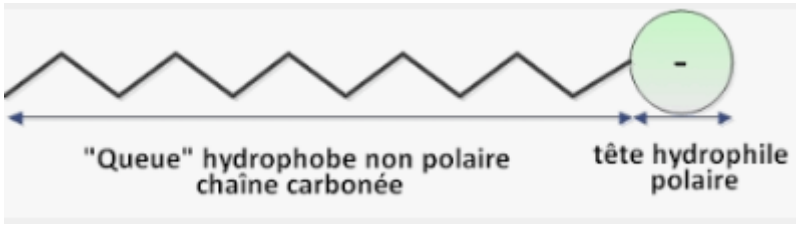
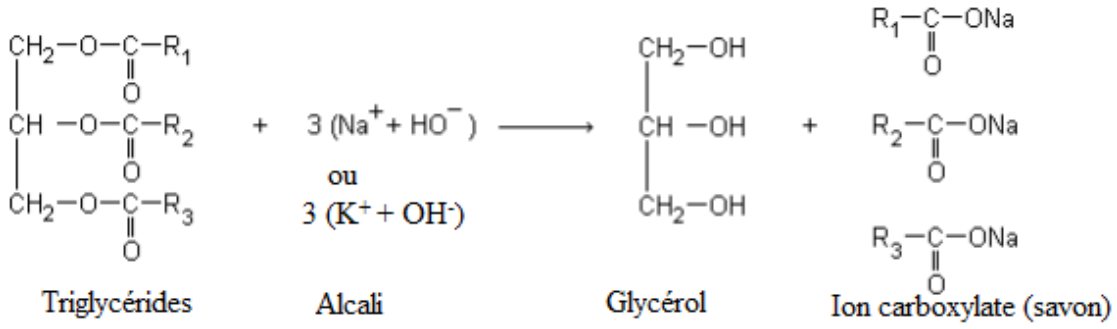


Fig. I. 1. Schéma présentant d'un tensioactif

I. 4. Procédé général de la fabrication du savon

I. 4. 1. La réaction de saponification

Le savon est un produit liquide ou solide composé de molécules amphiphiles obtenue par réaction chimique entre une base forte, spécifiquement l'hydroxyde de sodium ou l'hydroxyde de potassium, et un ou plusieurs acides gras (triglycérides). Son caractère amphiphile lui donne des propriétés caractéristiques, notamment la capacité de ses composants moléculaires à se placer à l'interface entre la phase aqueuse (solvant hydrophile) et la phase lipidique (graisse hydrophobe), la formation de mousse et la stabilisation d'émulsions utiles pour le lavage (Bennama, 2016).



La saponification est une réaction chimique qui se fait à une température comprise entre 80 et 100°C. L'hydrolyse des corps gras, contenus dans la phase huileuse, produit du glycérol et un mélange de carboxylates (de sodium ou de potassium) qui constitue le savon (Zerbani 2020). Ces deux composants peuvent être séparés mais dans la savonnerie artisanale en général,

on ne procède pas à cette étape étant donné que le glycérol ne gêne pas, au contraire, il donne une valeur ajoutée au produit fini.

I. 4. 2. Les méthodes de saponification

a) La saponification à froid (artisanale)

Cette méthode est complète: on part d'un mélange d'huiles, on ajoute la soude nécessaire et on saponifie à une température proche de la température ambiante. Les additifs et parfums sont ajoutés au cours même de la saponification, juste avant de verser dans les moules. Le savon obtenu par cette méthode doit murir au moins un mois avant d'être utilisé. Ce temps de maturation est souvent considéré comme indispensable pour terminer la saponification. La saponification se termine durant la première semaine de cette période. Le processus de séchage peut être bien sur prolongé : le célèbre savon d'Alep est séché pendant 8 mois avant d'être commercialisé (Boone et Prevenier, 1993).

b) La saponification à chaud (industrielle)

La méthode est similaire au procédé à froid, mais ici, la saponification est réalisée à 80°C environ pendant trois heures, avant l'ajout des additifs et le moulage. Les savons obtenus sont directement utilisables, car la saponification est complètement terminée à l'issue du processus, mais un temps de séchage est quand même nécessaire. Les additifs sensibles, comme les huiles essentielles par exemple, perdent moins leurs propriétés avec cette méthode, s'ils peuvent être intégrés à la pâte à une température n'excédant pas 50°C. La méthode à chaud possède donc certains avantages sur la méthode à froid, mais elle a également ses inconvénients : le savon produit est très difficile à mouler et présente souvent une texture plus grossière que son homologue réalisé à froid dont la texture est plus lisse (Boone et Prevenier, 1993).

I. 5. Qualité de savon

Le savon assure le lavage grâce à 4 qualités :

I. 5. 1. Le pouvoir mouillant

L'eau savonneuse peut pénétrer les petits interstices de la surface en contact (donc les fibres du linge, l'assiette, la table, la peau…) plus efficacement que l'eau.

- Eau seule : La tension superficielle élevée, la cohésion du liquide l'emporte sur les interactions avec le solide donc le liquide s'étale peu (Fig. I. 2) (Chaterbache, 2007)



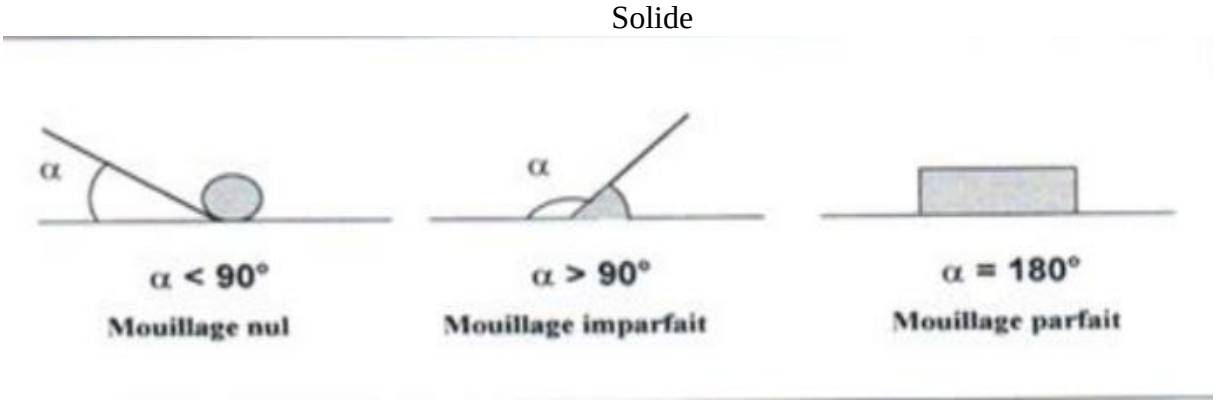


Fig. I. 2. Schémas présentant le pouvoir mouillant

- Eau + Tensioactif : La tension superficielle a baissé, moins de cohésion donc le liquide s'étale mouillage meilleur (Chaterbache, 2007)

I. 5. 2. Le pouvoir émulsifiant

Le pouvoir émulsionnant est le nombre de lavage nécessaire pour éliminer toute la salissure. Il est variable selon les cas ; par exemple, en dessous du point de Kraft les chaînes longues donnent les résultats les plus favorables. En dessous de 60°C, la détergence augmente, en particulier pour les longueurs de chaîne en C18 (Poré, 1992).

I. 5. 3. Le pouvoir dispersant

Comme nous le savons, les micelles se repoussent l'une l'autre et elles se retrouvent donc dispersées dans le mélange eau-liquide (vaisselle). Pour des raisons de densité (l'huile est moins dense que l'eau), elles vont remonter vers la surface du liquide. On parle du pouvoir dispersant des détergents (Poré, 1992).

I. 5. 4. Le pouvoir moussant

Le pouvoir moussant est le degré d'aptitude d'un tensioactif à pouvoir former une mousse stable et persistante (Poré, 1992). La mousse est généralement définie comme étant une dispersion de gaz dans un liquide de telle façon que sa densité approche celle du gaz (Fig. I. 3). Le pouvoir moussant et la stabilité de la mousse dépendent de :

- ✓ La concentration en acides gras ;
- ✓ La nature des acides gras et la température,

Il est maximal entre 20 et 40°C pour les composés ayant une longueur de chaîne de 12 à 14 atomes de carbone

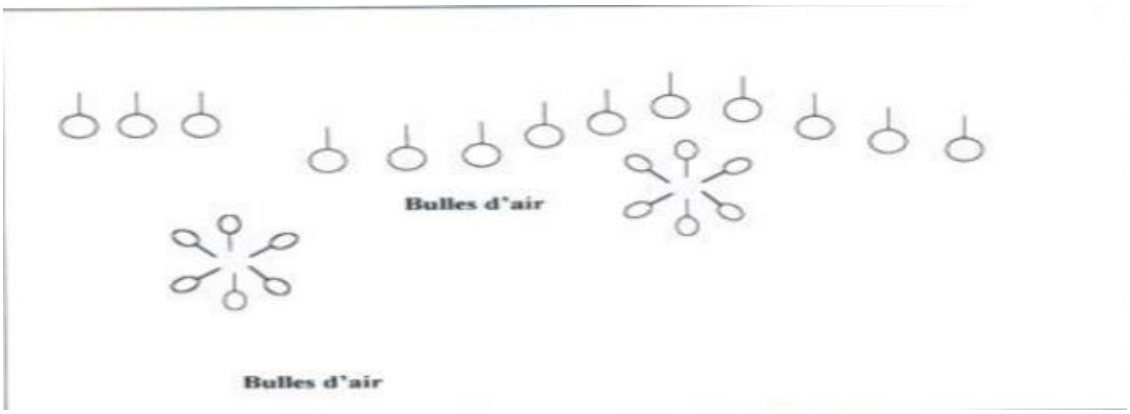


Fig. I. 3. Schéma présentant la formation de la mousse

I. 5. 5. Le pouvoir antimicrobien

Parmi les tensioactifs anioniques, le savon présente un pouvoir antiseptique marqué, mais la plupart des auteurs semblent être d'accord pour considérer que ce pouvoir est principalement dû au fait de sa grande capacité à éliminer les bactéries présentes dans les surfaces cutanées. Cependant, cet effet n'est pas limité à ce point de vue, car le savon est un bon germicide pour certaines bactéries (streptocoques, pneumocoques, méningocoques, bacilles diphtériques et bacilles influenza); cependant, il agit assez faiblement sur le staphylocoque et le bacille typique.

Cette propriété est intéressante à mentionner pour les emplois en blanchissement et particulièrement dans la tannerie (dans les travaux de rivière) où les peaux nécessitent une désinfection absolue afin de contourner leur putréfaction (Didouche, 2012).

I. 6. Mode d'action du savon

Le mode d'action du savon est consacré sur le mode de lavage et la formation de bulles de savon.

I. 6. 1. Lavage

Les molécules de savon agissent sur les tâches graisseuses (Fig. I. 4). Elles restent à la surface et à l'intérieur de l'eau. Ce sont des molécules appelées micelles. Les micelles, en s'attaquant aux tâches de graisses et grâce à leurs chaînes hydrophobes, emprisonnent la graisse. Les micelles se repoussent mutuellement. Elles ne peuvent pas s'agglomérer et une simple agitation de l'eau suffit pour les disperser dans toute la solution (Moyen et Puynelde, 2009).

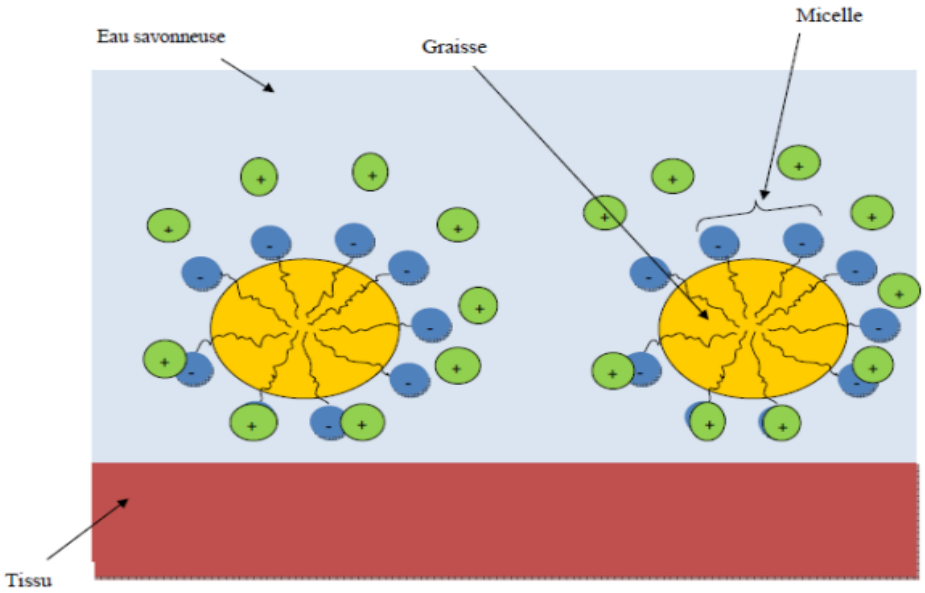


Fig. I. 4. Schéma présentant l'action du savon sur le tissu dans l'eau

Les ronds marqués ⊕ représentent les ions K^+ ou Na^+ qui, en se repoussant les uns les autres, permettent aux ensembles micelle-graisse de se disperser dans l'eau. Le mode d'action de lavage s'effectue suivant quatre étapes. Tout d'abord, il y a mouillage des supports (tissu) et des salissures (tâche); Ensuite, les particules hydrophobes du savon pénètrent dans la phase huileuse des salissures. Puis ces particules de salissures s'entourent de molécules hydrophiles (tête d'anion du savon) et s'arrondissent en micelles. Enfin, elles se dispersent dans l'eau.

I. 6. 1. Bulles de savon

Une bulle de savon est formée lorsque l'air et l'eau savonneuse sont brassés. La mousse est constituée de l'ensemble de bulles. Un petit globe est formé d'un mince film d'eau savonneuse rempli d'air qui flotte dans l'atmosphère. Dans l'eau, il y a une attraction forte entre les molécules qui la composent. Les molécules de savon se disposent de part et d'autre des fines couches d'eau qui forment la surface de ces bulles. Les bulles s'obtiennent à partir d'un mélange de savon dans l'eau. L'agitation de ce mélange engendre la formation des bulles (Moyen et Puynelde, 2009).

I. 7. Lavage des mains

La pratique adéquate de l'hygiène des mains, demeure la première mesure essentielle de prévention contre les infections. L'importance de l'hygiène est connue depuis plus d'un siècle. En effet, c'est le médecin obstétricien hongrois Ignaz Philippe Semmelweis qu'en 1847 a apporté la première preuve épidémiologique de l'intérêt de l'hygiène des mains dans la prévention de la transmission des infections. Durant cette époque, il a exigé aux médecins

accoucheurs, ceux qui réalisaient les autopsies, de pratiquer l'hygiène des mains avec une solution à 4 % de chlorure de chaux avant d'examiner les futures mères, le taux de mortalité des suites des fièvres puerpérales chuta de façon significative. Ce travail historique a été rapporté par plusieurs auteurs à savoir Marcelo et son équipe (2008), Pittet et Boyce (2001) et a fait l'objet de la bibliographie d'autres travaux comme ceux de Boyce et ses collaborateurs (1990) en mettant l'accent sur l'importance de l'hygiène des mains. De nombreux travaux plus récents ont montré que la réduction des infections nosocomiales était directement liée à l'amélioration de l'observance de la pratique d'hygiène des mains (Doebbeling et al., 1992 ; Pittet et al., 2000). Pittet et ses collaborateurs (2000) ont démontré que l'augmentation de 30% de l'observance à l'hygiène des mains était associée à une diminution de la prévalence des infections (de 16,9% à 9,9%) et du taux d'attaque de *S. aureus* résistant à la méthicilline -SARM (de 2,16 à 0,93 épisodes pour 10 000 journée-patients) (Kacima et Yacine, 2020).

I. 7. 1. Pratiques d'hygiène des mains

L'objectif des pratiques d'hygiène manuelle, vise à réduire la charge bactérienne de la flore transitoire (Rotter, 1997) mais aussi contribue à réduire ou à limiter le risque de transmission de germes responsables de maladies infectieuses (telles que la grippe, les gastro-entérites aiguës, les germes responsables d'intoxication alimentaire).

I. 7. 2. Lavages des mains

Le lavage des mains comprend le lavage simple et le lavage hygiénique :

*** Le lavage simple,** se fait au moyen d'un savon détergent sans propriétés antiseptiques ne permet qu'une réduction limitée du nombre de micro-organismes de la flore transitoire. Il est habituellement sans action sur la flore résidente.

*** Le lavage hygiénique des mains**, avec l'utilisation d'un savon antiseptique à action désinfectante, permet une réduction significative du nombre de micro-organismes de la flore transitoire. Son action sur la flore résidente est plus limitée, son efficacité dépend de plusieurs facteurs tels que la dose utilisée, et la quantité minimale de 3 à 5 ml est habituellement nécessaire (Larson, 1992-1993). En outre, la durée du lavage est un autre facteur important, non seulement à cause de l'action mécanique mais aussi pour obtenir un temps de contact suffisant afin que l'agent désinfectant agisse (Larson, 1993 ; Rotter, 1997; Simon et al., 1999). Le temps de friction des mains dépend évidemment du type de savon antiseptique utilisé, mais il ne doit en aucun cas être inférieur à 30 secondes (Larson, 1993 ; Rotter, 1997).

La qualité du rinçage est importante, car l'effet mécanique de l'eau élimine non seulement les micro-organismes, mais également les résidus du savon qui peuvent, à long terme,

endommager la peau des mains. Le séchage des mains qui doit être méticuleux est un élément dont l'importance est souvent sous-estimée. Il est habituellement réalisé au moyen de serviettes à usage unique, solution adoptée dans la plupart des hôpitaux.

Le lavage des mains prend du temps. La durée moyenne de l'ensemble de la procédure, pour se rendre au lavabo, se laver les mains conformément aux prescriptions et revenir au chevet du patient est largement supérieure à 1 minute (valeurs extrêmes mesurées : de 37 à 84 secondes) (Voss et Widmer, 1998). La banale opération de lavage des mains est donc en réalité un acte complexe dont l'efficacité nécessite un savoir-faire difficile à acquérir et à maintenir sans un véritable apprentissage (Pittet et al., 1999 ; Simon et al., 1999)

I. 8. Le Savon antiseptique

Un savon antiseptique est une combinaison entre un détergent et un antiseptique. Le détergent présent dans ce type de produit optimise l'efficacité de l'antiseptique qui est le principe actif. En effet, le détergent élimine des parasites qui pourraient souiller le produit. Il peut avoir une action antimicrobienne de par ses constituants (attention aussi aux risques d'allergie), son pH, ou par ajout de principes actifs bactéricides ou bactériostatiques à sa formulation, évitant ainsi la contamination secondaire de la solution.

Les savons liquides antiseptique ou solutions moussantes acquièrent des propriétés antiseptiques leur permettant d'être utilisées pour un lavage hygiénique ou chirurgical déterminé selon deux critères complémentaires :

- ✓ L'efficacité antimicrobienne de la solution
- ✓ La technique de lavage appropriée.

Le choix du produit doit être déterminé par une bonne tolérance de celui-ci. En particulier, il ne doit pas favoriser le dessèchement du revêtement cutané de la main en raison de la multiplication de lavage des mains liées aux diverses techniques de soins en milieu hospitalier.

I. 9. Le pH du savon

Avec un pH voisin de 10, le savon est nettement basique et perturbe incontestablement l'acidité de la peau (dont le pH est environ 5,5). Dans la pratique toutefois, on constate, à de rares exceptions près, que le pH de la peau se rétablit assez vite et que les irritations cutanées causées par le caractère basique des savons sont peu fréquentes. A l'inverse, les savons à base de dérivés du pétrole présentent un pH généralement plus proche de celui de la peau. Par contre, eux aussi ont leur inconvénient :

Leur pouvoir détergeant est souvent tellement puissant qu'ils assèchent la peau et ne sont finalement pas plus "doux" à l'usage que les savons classiques. La littérature publie plusieurs valeurs du pH de la peau, toutes dans la gamme acide mais avec un éventail s'étalant de pH 4 à 7. Les valeurs obtenues varient :

- Selon le type de la peau : une peau sèche est plus acide qu'une peau grasse.
- Selon l'endroit de la mesure : le pH de la peau sous les aisselles est moins acide que sur d'autres zones.
- Selon que la peau a été soumises à des influences extérieures (nettoyée ou pas, par exemple). (Waterval, 2011).

Le savon étant basique, généralement voisin de 10, perturbe le pH de la peau, mais seulement de manière transitoire, le temps que les glandes sébacées reprennent une activité normale, ce qui se produit après deux heures environ.

Tableau. I. 1. pH des savon testés (Baranda et al., 2002).

Nom de la marque	pH
Aderm	6.44
Avecyde	3.61
Avène	6.94
Cetabhil	7.72
Dove white	7.53
Dove baby	7.0
Dove (liquide)	7.0
Dove pink	5.16
Johnson's baby	7.23
Lux avec glycérine	12.38
Nivea baby creamy	12.35
Nivea bath care	12.21
Oilatum	10.26
Naturel oilatum	10.01
Zest neutral	9.85
Zest citrus sport	9.75
Zest herbal	9.97
Zest agua	9.89
Palmolive green	10.18

Palmolivebotanicals	10.38

II. Les huiles essentielles

II. 1. Historique des huiles essentielles

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. II était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalu des caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques (Möller, 2008).

A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée (Berthier, 1980 ; Möller, 2008).

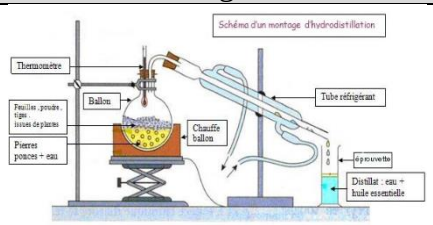
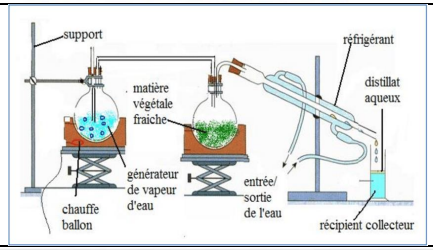
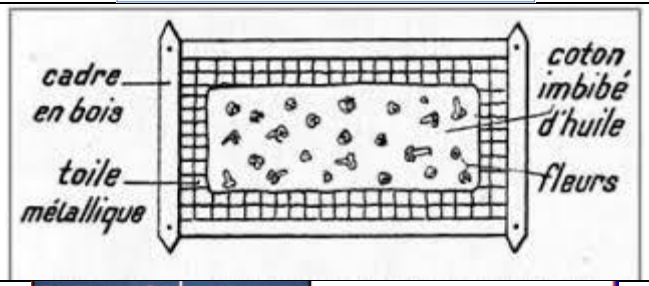
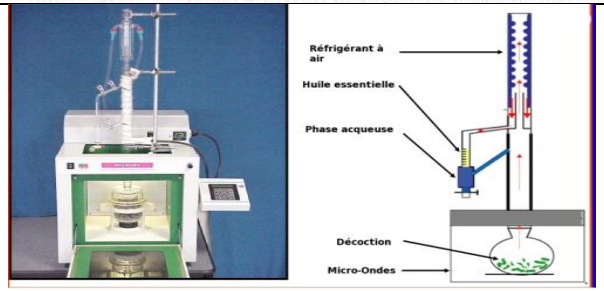
II. 2. Définition Huile essentielle

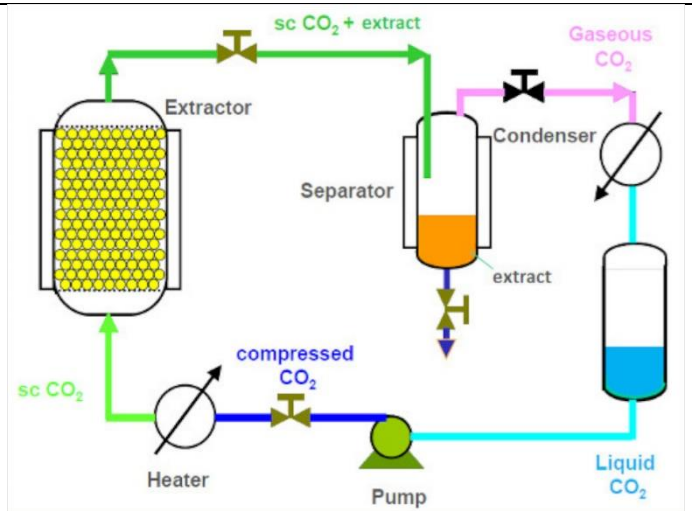
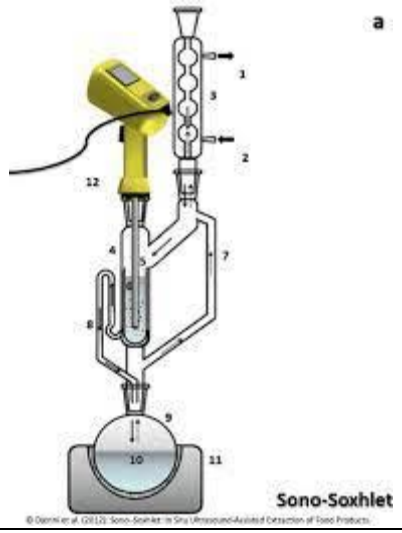
Selon la Pharmacopée Européenne, une HE est un : « produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition » (de l'Europe, 1996).

II. 3. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Comme les huiles essentielles sont des extraits de plantes, elles sont soumises à plusieurs processus et peuvent varier selon : où ils sont cultivés, le climat, l'altitude, le sol et les méthodes agricoles. Il est donc très important que le matériau de départ utilisé pour produire l'huile essentielle représente le produit naturel de la plante, afin de produire une huile de la plus haute qualité. En raison de leurs différences de distribution, il existe plusieurs méthodes de production des huiles (McGuinness, 2003). Le tableau I résume quelques méthodes d'extraction des huiles essentielles ainsi que leurs avantages et inconvénients.

Tableau I. 2 Avantage et inconvénients des différents procédés d'extraction (Rassem, Nour et al., 2016)

Méthodes	Figures	Avantages	Inconvénients
Hydro-distillation		Le rendement en HE très élevé ; Essence en bonne qualité, très concentrée ; Contact direct entre matière végétale-eau.	Perte d'une partie d'essence par vaporisation, oxydation. Procédé violant.
Entrainement à la vapeur		Convient à la majorité des plantes sauf jasmin ; Gain de temps : la distillation commence juste après le chargement ; Efficacité d'extraction.	Nécessité d'acquérir une source de vapeur externe : chaudière vapeur gasoil, gaz, bois ou électrique
Enfleurage		Les températures très faibles qu'elle nécessite. On l'utilise surtout pour des plantes fragiles qu'une distillation endommagerait	Cette pratique, entièrement manuelle et très onéreuse ; Cout très élevé. La durée nécessaire est très longue
Micro-onde		L'extraction assistée par micro-ondes est plus rapide ; la consommation de solvants est plus faible et si besoin, des températures plus élevées peuvent être utilisées	Les coûts de l'investissement sont plus élevés ; Les matières thermosensibles peuvent être dégradées.

CO_2 supercritique		C'est un produit naturel, abondant dans la nature et disponible ; Il est non toxique, inerte, inodore, incolore et insipide ; C'est une technologie Bio, non polluante et sans effluents.	Le coût élevé des équipements.
Ultrason		Rapide & extraction efficace ; Processus doux et non thermique ; Extraits de haute qualité ; Rendement élevé	Les coûts de l'investissement sont un peu plus élevés.

II. 4. Les huiles utilisées dans notre travail

II. 4. 1. Huile essentielle d'orange

L'huile essentielle d'orange ou essence de Portugal (*Citrus sinensis* (L) Osteck) a été peu étudiée au point de vue aromathérapie. Employée couramment en alimentation, liquoristerie, parfumerie, etc., pour sa note fraîche et hespéridé, elle constitue une matière première fondamentale pour la préparation des eaux de Cologne classiques et de luxe, de lotions cosmétiques et capillaires, etc. Toutefois l'huile essentielle d'orange présente aussi de l'intérêt pour ses emplois antiseptiques et aromathérapies, qui ont pu attirer l'attention des chercheurs et des industriels jusqu'à présent (Rovesti, 1963).

II. 4. 2. L'huile essentielle de lavande officinale

Lavandula angustifolia, la lavande officinale ou lavande vraie, est un sous-arbrisseau appartenant à la famille des Lamiacées. Elle possède de fines feuilles gris-vertes. Les fleurs bleu-violettes, d'un parfum caractéristique, sont disposées en épis au sommet de petits rameaux portant les feuilles. L'HE est obtenu par entrainement à la vapeur d'eau, à partir des sommités fleuries de *Lavandula angustifolia*. Elle possède une monographie à l'HMPC (The Committee on Herbal Medicinal Product) de l'EMA (European Medicines Agency) ainsi qu'à la Pharmacopée Européenne (Bruneton, 2009).

II. 4. 2. 1. Les composants majoritaires des huiles essentielles

Les composant principales des huiles essentielles utilisées dans notre travail sont montré dans le tableau I.3 (Aribi-Zouioueche et Couic-Marinier, 2021)

Tableau I. 3 les composant majoritaires des huiles essentielles

Huile essentielle	Molécules principales	%[a]	Profil énantiomérique des composants chiraux majoritaires	%b
Orange douce (*Citrus sinensis* L.)	Limonène	>96	(*R*)-(+)-Limonène	>99
	Linalol	<1	(*S*)-(+)-Linalol	>87
	β-Myrcène		Non chirale	—
	α-Pinène	<1	(*R*, *R*)-(+)-*α*-Pinène	>99
Lavande fine (*Lavandula angustifolia*)	Acétate de linalyle	37–48	(R)-(−)-Acétate de linalyle	>99
	Linalol	19–32	(R)-(−)-Linalol	>98

	β-Caryophyllène	3,7–6,3	aa(R,S)-(−)-(E)-β-aryophyllèneaa	>99
	Acétate de lavandulyle	2–11	(R)-(−)-Acétate de lavandulyle	>99

[a] : Pourcentage des composants majoritaires. [b] : Pourcentage en énantiomère majoritaire

II. 4. 3. L'huile d'olive

Est une huile provenant uniquement du fruit de l'olivier à l'exclusion des huiles obtenues par solvant ou par des procédés de ré- estérification et de tout mélange avec des huiles d'autre nature (Boussakou, 2019).

L'huile d'olive se compose de :

- Acide gras mono insaturés : 55 à 83 % oléique (Omega9) ;
- Acide gras poly insaturés : 3,5 à 21 % linoléique et gamma-linolénique (Omega6), 1 % alpha linolénique (oméga 3) AG saturés : 7,5 % à 20 % palmitique, 2 à 12 % stéarique, 0,5 % arachidique
- Vitamines : E, D, K, provitamine A ;
- Autres constituants : polyphénols, squalène, phytostérols, chlorophylle, sélénium.

II. 5. Les différents contrôles de qualité des huiles essentielles

II. 5. 1. Les contrôles organoleptiques

Trois aspects peuvent être contrôlés : la couleur, l'odeur et la saveur.

II. 5. 2. Les contrôles physico-chimiques

Chaque HE est caractérisée par différentes constantes physiques permettant de l'identifier et de contrôler son origine géographique ainsi que son absence de falsification ou sa pureté. Les critères à déterminer selon la Pharmacopée Européenne, les normes ISO et AFNOR sont : la densité, l'indice de saponification, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, et l'indice d'ester.

II. 6. L'activité antibactérienne d'huile essentielle

Les HEs ont une double action contre les microbes, elles peuvent avoir une action bactéricide ou bactériostatique. Plusieurs travaux montrent que les HEs et leurs composés majoritaires ont un effet antimicrobien vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Carson et Riley, 1995). Compte-tenu de la diversité des molécules présentent dans les HEs, l'activité antibactérienne semble résulter d'une combinaison de plusieurs modes d'action, impliquant différentes cibles cellulaires (Carson et al., 2002). D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases (Djilani et Dick, 2012) :

- Attaque la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires ;
- Acidification de l'intérieur de la cellule provoquant la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure ;
- Destruction du matériel génétique, ce qui cause la mort de la bactérie (Fig. I. 5)

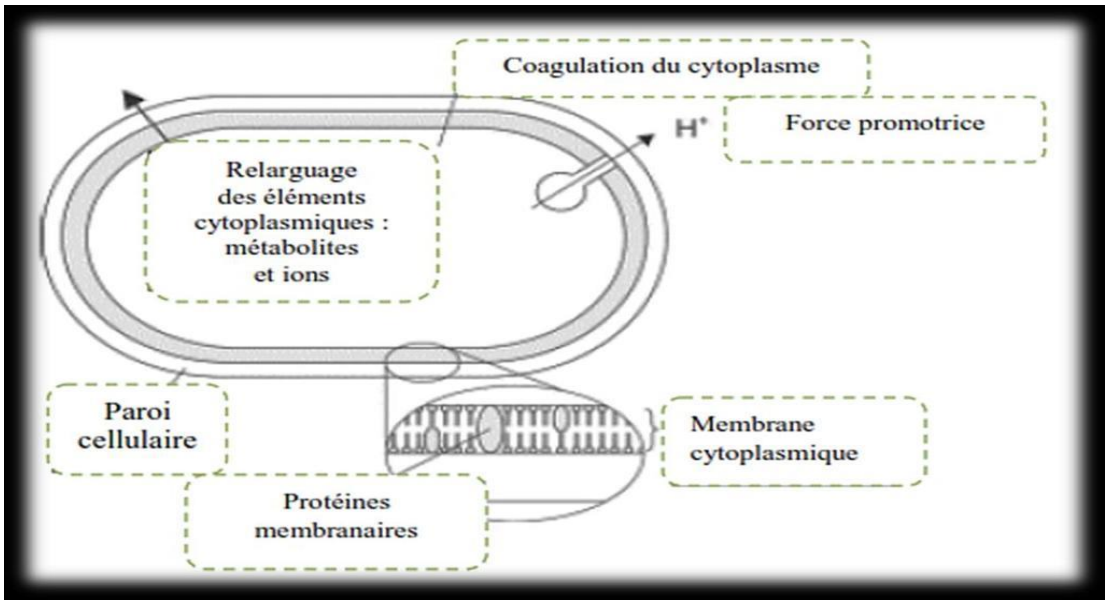


Fig. I. 5. Schéma présentant le mode d'action des huiles essentielles

En effet, les HEs ont un champ d'activité très large, elles inhibent la croissance des bactéries. De plus elles sont très efficaces sur les microorganismes résistants aux antibiotiques (Duarte et al., 2005).

Dans des études antérieures, il a été démontré que les HEs des espèces de *Thymus* possèdent un large spectre d'activité antibactérienne (El Ouali et al., 2013 ; Lambert et al., 2001) ont expliqué le fait que le thymol (composé principal des HEs de *Thymus*) se lie aux protéines membranaires et fait augmenter la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne.

L'étude de Mnayer (2014) sur les HEs de l'ail et oignon a révélé l'effet antibactérien de ces HEs sur *S. aureus, Salmonella typhimurium* et *Listeria monocytogenes*. Les HEs de *C. limonum* ont manifesté un effet antibactérien vis-à-vis de trois souches d'*E.coli* (Moro, 2005).

II. 6. 1. La méthode de l'aromatogramme

En plus de l'appellation méthode de l'aromatogramme**,** elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme (Jacob et al., 1979)**,** méthode de VINCENT (Pibiri, 2006)**,** méthode

de diffusion dans la gélose (agar**) (Razakarivony** *et al.,* **2009).** Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action antibactérienne. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens (Wilkinson, 2006)**.**

La méthode de l'aromatogramme consiste à utiliser des boites de Pétri contenant un milieu gélosé convenable **(10-25mL),** déjà solidifié et inoculé de la souche microbienne testée. Des disques en papier filtre, papier buvard ou Wattman**+ (6-8mm),** préalablement imprégnés de

quantités d'HE (5-30µL), sont alors placés en surface de la gélose (Fig. I. 6) (Wilkinson, 2006 ; Kechkar, 2008) Généralement, les micro-organismes sont classés susceptibles, intermédiaires ou résistants, selon le diamètre de la zone d'inhibition (Wilkinson, 2006)

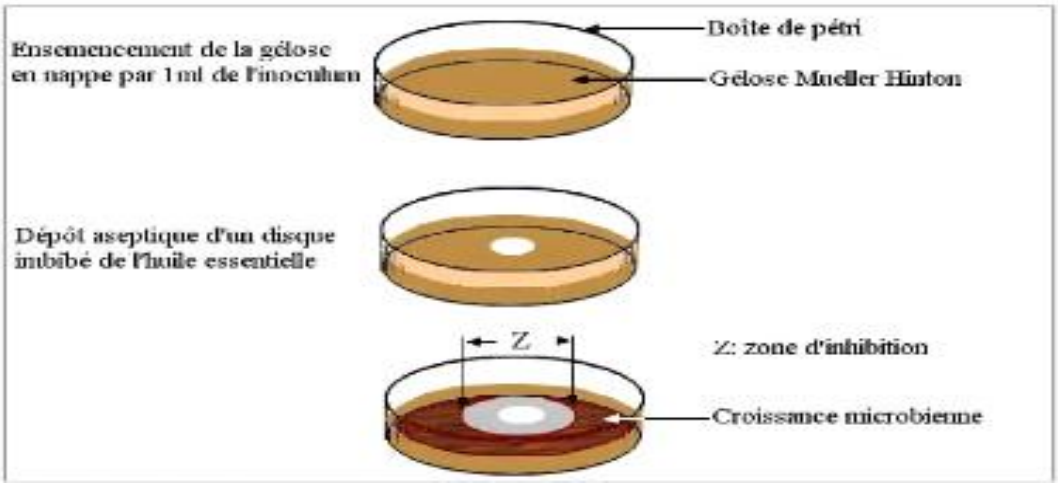


Fig. I. 6. Schéma présentant la méthode de l'aromatogramme

L'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mutai et al. (2009), ils ont classé les zones d'inhibitions de la croissance en 5 classes :

- ✓ D≥30mm : Très fortement inhibitrice.
- ✓ 21mm≤D≤29mm : Fortement inhibitrice.
- ✓ 17mm≤D≤20mm : Modérément inhibitrice.
- ✓ 11mm≤D≤16mm : Légèrement inhibitrice.
- ✓ D<10mm : Non inhibitrice.

II. 7. Les conditions de conservation et de stockage

Afin d'éviter toute dégradation pouvant altérer la qualité et l'efficacité des HE, il convient de respecter quelques règles simples de conservation et de stockage décrites ci-dessous.

Les HE étant de nature instable et sensibles aux phénomènes d'oxydation provoqués par la lumière ou la chaleur, elles doivent être conservées dans un flacon étanche, coloré (brun ou

bleu), de faible volume, dans un endroit frais (de température inférieure à $20°C$), à de l'air et de la lumière. Les flacons en plastiques sont déconseillés de par leur fort potentiel à être attaqués par les constituants des HE.

Afin de limiter au maximum le contact de l'HE avec l'oxygène de l'air, il est également conseillé de bien refermer le flacon d'HE après utilisation. Un flacon d'HE n'ayant jamais été ouvert peut-être conservé entre 3 et 5 ans alors qu'un flacon d'essence du genre *Citrus* ne peut pas l'être plus d'un an. Dès lors que le flacon est ouvert, la durée de conservation diminue et varie de 12 à 18 mois selon l'HE considérée (Raynaud, 2006 ; Roux, 2008 ; Lobstein et al., 2018).

II. 8. Intérêt des huiles essentielles

II. 8. 1. En cosmétologie

Le secteur d'hygiène et l'industrie des cosmétiques sont également des consommateurs, la majorité des produits cosmétiques contiennent une quantité de l'HE comme élément parfumant et aussi élément assurant une odeur agréable (Bruneton, 1999).

II. 8. 2. En industrie agroalimentaire

Actuellement, les HE représentent un outil très intéressent pour augmenter la durée de conservation des produits alimentaires. Ces substances naturelles riches en composés antimicrobiens et antioxydants sont considérés comme une alternative importante pour résoudre le problème d'altération post-récolte liées aux moisissures et d'éviter la perte en qualité et en quantité des fruits pendant l'entreposage (Serrano, 2008).

II. 8. 3. En agriculture

Les pesticides naturels basés, notamment sur les HEs représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes (Isman, 2000). Les biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs (Chiason et al., 2007).

II. 8. 4. En pharmacie

Dans les médicaments, le potentiel thérapeutique des composés des HEs montre leur bienfait dans le traitement de cancer, des infections bactériennes et virales, la lutte contre le stress oxydatif. De même, les propriétés lipophiles des composés aromatiques permettent aux HEs de pénétrer dans la peau, ce qui facilite l'administration des médicaments par voie transdermique (Bruneton, 1999).

Chapitre II Matériels et Méthodes

Le présent travail consiste en l'élaboration d'un savon liquide antimicrobien à base des extraits et huiles végétales ainsi que des huiles essentielles. Cette élaboration exige différents tests physico-chimies et microbiologiques à fin caractériser les huiles essentielles et les savons produits. Ce travail est réalisé conjointement au Laboratoire de la faculté des sciences au niveau du pôle universitaire, Hall de technologie, Université de Yahia Farés Médéa, et Laboratoire de Microbiologie, physico-chimique, SAIDAL- Médéa.

II. Matériels et Méthodes

II. 1. Le matériel

II. 1. 1. Appareillage et produits chimiques

L'appareillage et les produits chimiques utilisés pour la réalisation de notre travail sont présentés dans le tableau II. 1.

Tableau II. 1. Appareillage et produits chimiques

Matériels	Produits
Balances de précision (au 0.1 gramme prés) Bécher de 1L Erlenmeyer de 500 ml spécial pour préparation de solution de l'hydroxyde de sodium Mixeur plongeur résistant Une spatule Un thermomètre Les bavette et gants Les boites pétris Les disques µ pipette (20-200µ) (10-100µ) Pipette + pro-pipette Montage de dosage Montage de chauffage à reflet Clevenger Agitateur + chauffage Spectrophotomètre Viscosimètre, pH-mètre, pycnomètre	Eau distillée Ethanol (pour le rinçage) Acide acétique KOH HCl NaOH NaCl Les milieux de culture (Gélose Nutritive, Sabouraud, Müller-Hinton)

II. 1. 2. Matériels biologiques

II. 1. 2. 1. Matériels végétal

- ✓ Les zestes d'orange (congelé, frais et sec) ;
- ✓ Huile essentielle de *Lavande officinale* (commerciale)
- ✓ Huile essentielle d'orange (commerciale)
- ✓ Huile d'olive

II. 1. 2. 2. Les souches microbiennes

Les souches microbiennes utilisées dans notre travail (tableau II. 2) provenant de la collection du laboratoire de microbiologie du SAIDAL.

Tableau II. 2. Les souches microbiennes testées.

Nom de la souche	N°ATCC	Type de Gram	Souche Pathogène	Souche Test d'antibiotiques	Famille*
Bacillus subtilis	*6633*	+	X		*Bacillaceae*
Escherichia coli	*8739*	-	*O*	*X*	*enterobacteriaceae*
Staphylococcus epidermidis	*12228*	+	X	X	*Staphylococcaceae*
candida albicans	*10231*				*Saccharomycetaceae*
Saccharomyces cerevisiae	*9763*				*Saccharomycetaceae*

** Selon la seconde édition du « Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2001 »*

II. 2. Les méthodes

II. 2. 1. Préparation du savon liquide antimicrobien

II. 2. 1. 1. Préparation du savon mou

La recette de base du savon mou consiste en la préparation d'une solution de potasse : 45g de KOH dan volume V d'eau distillée que l'on va mélanger avec 250g d'huile d'olive chaude et on agite en utilisant un mixeur plongeur résistant jusqu'à l'homogénéisation, après continu l'agitation manuellement, avec une spatule, jusqu'à l'obtention d'une pâte (photo II. 1).



Matériels et produits

-1-



Préparation de solution de KOH

-2-



Chauffage d'huile d'olive

-3-

		
Ajout de la solution de KOH dans l'huile et agitation à l'aide d'un mixeur plongeur -4-	Continuer à mélanger jusqu'à l'homogénéisation -5-	Agitation manuelle à l'aide d'une spatule -6-

Photo II. 1. Les étapes de préparation du savon mou (photos originales, 2022).

Après quelques essais préliminaires, les conditions opératoires que nous utilisons et nous donnent une texture appropriée sont les conditions indiquées sur le tableau II. 3

Tableau II. 3. Les condition opératoire utilisé pour la préparation du savon mou

Les composants	**Huile d'olive**			**Potasse**		**L'eau distillée**		**Savon mou**
Les essais	Quantité (g)	Température de chauffage	Temps de chauffage	Quantité (g)	Température (°C)	Quantité (g)	Température de chauffage	Temps de cuisson
S1	250	40°C	-	45	25	100	-	3h
S2	250	60°C	-	45	70	100	-	3h
S3	250	90°C	1h	45	70	375	-	Jusqu'à la transparence
S4	250	90°C	20min	45	70	375	-	Jusqu'à la transparence

S1, S2, S3, S4 : Les savons mous préparés selon les 4 recettes

II. 2. 1. 2. Extraction d'huile essentielle d'orange

L'huile essentielle utilisée dans notre travail est celle du zeste d'orange extraite par hydro-distillation type de Clevenger (photo II. 2), au niveau du laboratoire SM, faculté des Sciences, Université de Médéa. Le protocole est comme suit :

- Peser 30g de zeste d'orange (sec, frais et congelé) ;
- Mesurer 350ml d'eau distille ;
- Verser la quantité du zeste et l'eau distille dans un ballon de 500ml ;
- Monté le Clevenger et lancé l'extraction après récupéré l'HE et l'hydrolat

	
Pesé 30g de zestes d'orange -1-	Versé la quantité des zestes dans le ballon -2-
	
Ajouté l'eau distille au zestes -3-	Monté le Clevenger -4-
Lancé l'extractions -5-	Récupéré l'HE et hydrolat a fin de l'extraction -6-

Photos II. 2. Préparation d'huile essentielle d'orange

II. 2. 1. 3. Préparation de savon liquide antimicrobien

- Pesé 100g de savon mou, précédemment préparé ;
- Ajouté l'eau distillée chaude en petites quantités, en agitant, jusqu'à l'obtention de la consistance voulue (photos II. 3);

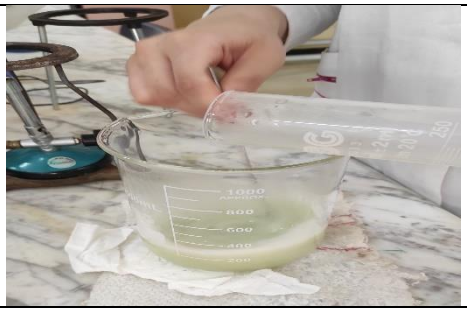
	
Pesé 100g de savon mou -1-	Ajouté l'eau distille chaud au savon et agité le mélange avec spatule -2-

Photo II. 3. Préparation du savon liquide à partir du savon mou (photos originales, 2022).

Afin d'étudier l'effet antimicrobien des savons préparés, nous avons préparé différentes formules (tableau II. 4 et photos II. 5) en utilisant les additifs naturels suivants :

- Hydrolat d'orange ;
- Huile essentielle d'orange (frai, sec et congelé) avec rapport de 1g d'huile dans 50g de savon liquide ;
- Huile essentielle lavande (commercial) avec rapport de 1g d'huile dans 100g de savon liquide.
- Le résidu d'extraction

Tableau II. 4, présente les différentes formules préparées.

Recette	S2		S4		S1		S4		S 3					
	Q. S. M	**ED**	**Q. S. M**	**ED**	**Q. S. M**	**ED**	**Q. S. M**	**R.E.F**	**Q. S. M**	**ED**	**Hydrolat**	**Q. S. M**	**ED**	**Hydrolat**
	100	210	100	200	100	240	100	120	100	160	60	100	30	190
	Savon A		Savon B		Savon C		Savon D		Savon E			Savon F		
Q.S.L	150g	50g			165g									
HE. L	1.5g	-			-									
HE. OS	-	1g			-									
HE. OC	-	-			2g									

Q. S. M : Quantité du Savon Mou ; ED : Eau Distillée ; R.E.F : Résidu d'extraction d'orange Frais ; Q. S. L : Quantité du Savon liquide ; HE. L : Huile Essentielle Lavande ; HE. OS : Huile Essentielle zeste d'Orange Sec. HE. OC : Huile essentielle zeste d'Orange congelé

		
Pesé 100g de savon mou IV -1-	Filtré le résidu d'extraction -2-	Ajouté le résidu d'extraction chaude au savon et agité le mélange avec spatule -3-

Photo II. 4. Préparation du savon liquide avec le résidu d'extraction d'orange frais (photos originales, 2022).

II. 3. Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles et des savons préparés

II. 3. 1. Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles préparées

II. 3. 1. 1. Mesure de pH

La mesure du pH des huiles essentielles a été réalisée en utilisant le papier pH.

II. 3. 1. 2. Mesure de la densité relative

Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un pycnomètre selon le protocole suivant :

- Mesurer le pycnomètre vide et tarer la balance ;
- Prendre 1ml d'huile essentielle, et la mettre dans le pycnomètre vide ;
- Peser le pycnomètre rempli ;
- Pour calculer la densité, le poids obtenu est divisé par le volume du liquide testé.

II. 3. 1. 3. Indice de réfraction (I_r) (photos II. 5)

- Pour l'étalonnage de l'appareil, utilisez le liquide de référence (l'eau distille = 1.3333);
- Prendre une goutte d'huile essentielle et la mettre dans l'appareil ;
- Quand on atteindre la demi lumière blanche on lit la valeur obtenue de I_r

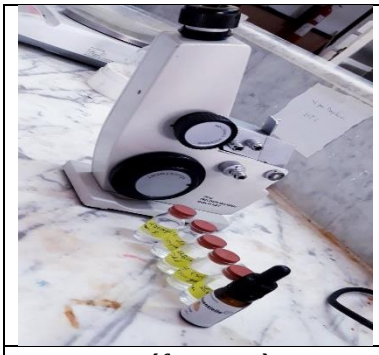
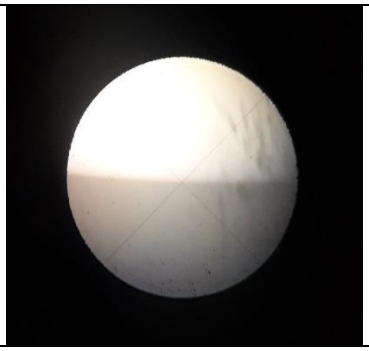
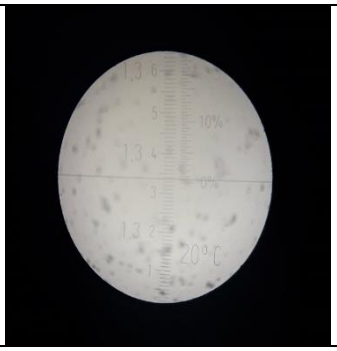
		
Le réfractomètre -1-	La demi lumière blanche -2-	La valeur de I_r -3-

Photo II. 5. Mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles

II. 3. 1. 4. Indice de saponification I_s (photos II. 6)

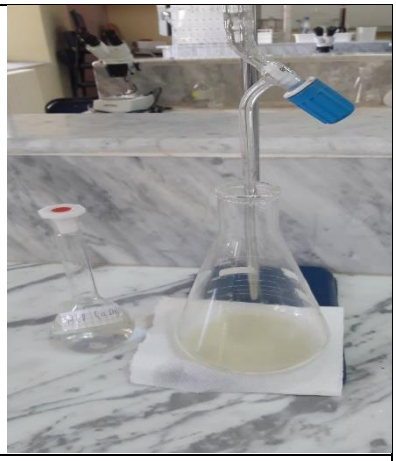
- Mettre une quantité de 2.5g d'huile d'olive dans une erlenmeyer de 250ml ;
- Ajouter 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique (KOH) 0.5M et quelques pierre ponce ;
- Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30min ;
- Ajouté quelques gouttes de phénolphtaléine (ϕϕ) ;
- Titrez immédiatement (alors que la solution est encore chaude) par l'acide chlorhydrique (HCl) 0.5M ;

- Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions.

L'indice de saponification est calculé en utilisant la formule suivante :

$$I_s = \frac{28.05(n_2 - n_1)}{m}$$

n_1 ml acide chlorhydrique 0.5 M d'échantillon
n_2 ml acide chlorhydrique 0.5 M de blanc
m la masse d'huile d'olive

		
Chauffez à reflux le mélange pendant 30min -1-	Titrage par HCl -2-	Atteindre le point d'équivalant -3-

Photos II. 6. Mesure de l'indice de saponification (photos originales, 2022)

II. 3. 1. 5. Indice d'acide I_a (Photos II. 7)

L'acidité a été déterminé selon la méthode décrite dans le règlement CEE/2568/91. Une prise d'essai d'huile d'olive de 10g a été mélangée avec 50ml d'éther de pétrole et éthanol à 96% (V/V). Puis le mélange a été titré avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium (NaOH) (0.1N) en présence de ϕϕ, jusqu'à l'apparition d'une coloration rose, un essai témoin (blanc) a été réalisé dans les mêmes conditions mais en omettant la prise d'essai

L'acidité est exprimée en pourcentage et calculé selon la formule :

$$A(\%) = (v - v_0) * ({}^{N * M}/_{10 * m})$$

L'indice d'acide est calculé selon la formule suivante :

$I_a(mg\ KOH/g) = 56.11\ \times\ N\ (V - V0)/m$

Où :

$A(\%)$: Acidité libre en % d'acide oléique ;
I_a : Indice d'acide ;
56.11 *: Masse molaire, exprimée en grammes par mole, de l'hydroxyde de potassium (KOH) ;*
N : Normalité de la solution d'hydroxyde de potassium (0.1 N) ;
V : Volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour titrer l'échantillon ;

v_0: Volume de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé pour titrer le blanc ;
M : Masse équivalente d'acide oléique qui est égale à 282 g/mole ;
m : Masse de la prise d'essai en gramme.

	
Titrage avec NaOH -1-	Atteindre le point d'équivalant -2-

Photos II. 7. Mesure de l'indice d'acide (photos originales, 2022)

II. 3. 1. 6. Indice d'ester I_e

Est calculé I_e par la différence entre l_s et I_a : $I_e=I_s-I_a$

II. 3. 2. Caractérisation physico-chimiques des savons préparés

II. 3. 2. 1. Mesure de la viscosité de savon

La viscosité des savons a été déterminée à l'aide d'un viscosimètre rotatif dont le fonctionnement est basé sur la résistance à la torsion offerte par le savon liquide lorsque la broche de caractéristique connue (tourne 2)

Celui-ci est remplir avec le savon jusqu'à le tri de tourne

Les valeurs de la viscosité sont affichées sur l'écran de l'appareil (Photos II. 8)

Cet appareil affiche aussi d'autre paramètres dans différentes vitesses qui sont : la température (°C), vitesse de cisaillement Y(1/s), contrainte T(Pa), couple (mNm) et la fréquence (HZ).



Photos II. 8. l'appareil de viscosimètre (photos originales, 2022)

II. 3. 2. 2. Mesure de la densité de savon

On a mesuré la densité relative des savons liquides à l'aide d'un pycnomètre (voir section II. 2. 1. 2)

II. 3. 2. 3. Détermination de pH du savon

Avant d'effectuer cette mesure, le pH-mètre a été préalablement étalonné par des solutions tampons pH 9, pH 7 et pH 4. Un volume suffisant de savon est mis dans erlenmeyer, la sonde de pH mètre est plongée dans l'échantillon de savon liquide et la solution savonneuse préparée à partir du savon mou (1g de savon mou dans 50ml d'eau distillée) et la valeur de pH s'affiche directement sur l'appareil.

II. 4. Qualité de savon

II. 4. 1. Pouvoir moussant

Permet de déterminer le degré d'aptitude, du savon, à former de la mousse, caractérisée par la hauteur initiale de la mousse et sa stabilité au cours du temps. Il consiste en la préparation comme présenté dans le tableau II. 5.

Tableau II. 5. Les tests du pouvoir moussant

	Eau distillée (ml)	Quantité de savon (g)	Savon
Test 1	100	5	A
Test 2			B
Test 3			C
Test 4			D
Test 5			E
Test 6			F
Témoin 1 (-)	100	-	-

Témoin (2)	100	5	Savon liquide commercial
Témoin (3)		5	Agent moussant

Mode d'opératoire

1. Préparez des solutions savonneuses à partir de chaque savon préparé ;
2. Nous avons agité le mélange jusqu'à la formation de la mousse ;
3. Enfin, nous avons calculé le temps de la stabilité de la mousse de chaque solution savonneuse.

II. 4. 2. Le pouvoir mouillant

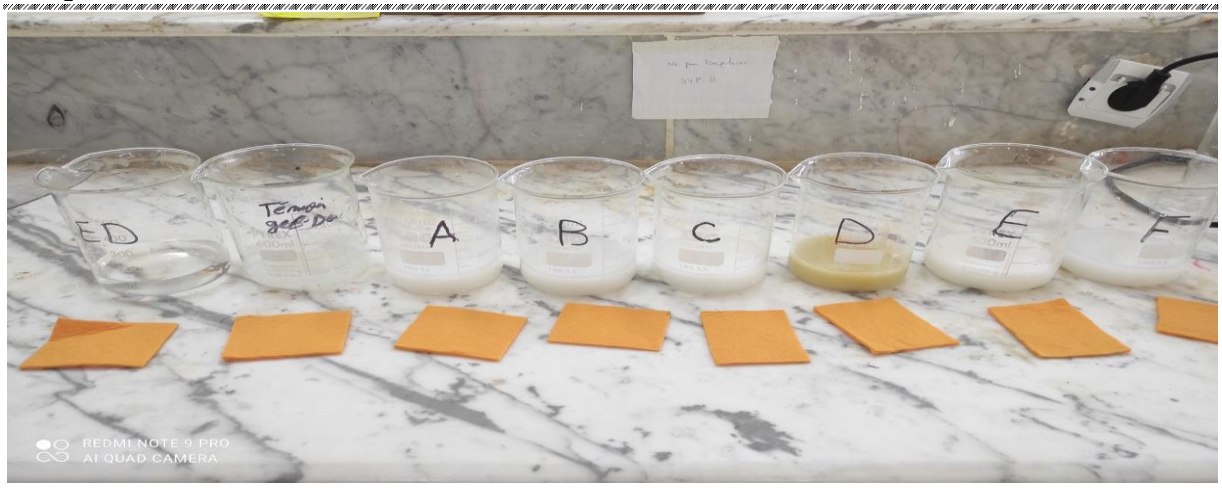
Permet de déterminer le degré d'aptitude de mouillabilité, caractérisé par l'étalement sur la surface lisse et la pénétration dans les substances poreuses. Il consiste en la préparation comme présenté dans le tableau II. 6.

Tableau II. 6. Les tests du pouvoir mouillant

	Eau distillée (ml)	**Savon (g)**	**Quantité de savon (g)**	**Feutrine**
Bécher 1	100	A	5g	Carré de Feutrine
Bécher 2		B		
Bécher 3		C		
Bécher 4		D		
Bécher 5		E		
Bécher 6		F		
Témoin 1(-)	100	-		
Témoin (2)	100	Savon liquide commercial		
Témoin (3)		Agent moussant		

Mode d'opératoire

1. Préparer une eau savonneuse (photos II. 8);
2. Ensuite, couper un morceau de la feutrine et l'immerger dans la solution suscitée;
3. A l'aide d'un chronomètre, compter le temps de mouillabilité de la feutrine par chaque solution savonneuse.



Photos II. 9. Détermination du pouvoir mouillant des savons préparés (photos originales, 2022)

II. 4. 3. Pouvoir émulsifiant

Permet de déterminer le degré d'aptitude d'un détergent à faciliter la formation d'une émulsion par dispersion d'un liquide dans un autre liquide non miscible et les maintenir en suspension. Il consiste en la préparation comme présenté dans le tableau II. 7.

Tableau II. 7. Les tests du pouvoir émulsifiant

	Eau distillée (ml)	**Quantité de savon (g)**	**Savon**	**Huile**
Test 1	100	5	A	Quelques gouttes d'huile colorée
Test 2			B	
Test 3			C	
Test 4			D	
Test 5			E	
Test 6			F	
Témoin 1 (-)	100	-	-	
Témoin (2)	100	5	Savon liquide commercial	

II. 5. Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des savons préparés

II. 5. 1. Préparation des suspensions microbiennes

Les bactéries à tester sont ensemencées sur des boites de Pétri contenant la gélose nutritive (GN) et une gélose Sabouraud pour les levures et incubées pendant 24 heures à 48 heures, afin d'obtenir une culture jeune des bactéries et des colonies isolées.

Trois (3) à quatre (4) colonies ont été prélevées, à partir d'une culture microbienne jeune de 18- 24h, à l'aide d'une anse stérile, sont introduites dans un tube contenant de l'eau physiologique. Après une bonne agitation et homogénéisation à l'aide d'un vortex, mesurer la DO, à une longueur d'ondes égale à 600 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. La suspension microbienne doit avoir une DO de l'ordre de 0.08- 0.1 correspondant à une concentration de 106- 10^8cellules/ml.

II. 5. 2. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Nous avons appliqué la technique par contact direct de l'aromatogramme pour évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles. Ce test a été effectué suivant la méthode de Conner et Beuchat (1984a,b), Adam et al. (1998) et Chao et al. (2000) et en respectant les recommandations établies par le BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy) et développées par Andrews (2001).

Ce test est effectué par dépôt d'un disque stérile de cellulose de 9 mm de diamètre (Whatman N°1) imprégné d'une quantité d'HE sur un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture microbienne. Après incubation, la lecture des résultats se fait par mesure des diamètres des zones d'inhibition en millimètres (fig. II. 1)

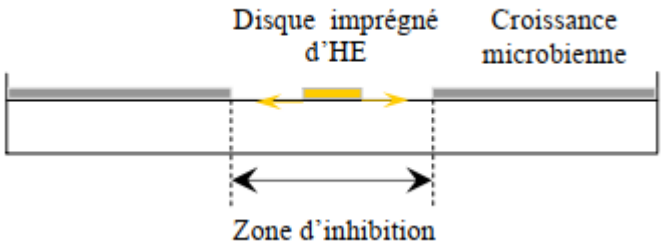


Fig. II. 1. Aromatogramme sur boite de Pétri à diffusion linéaire à partir d'un disque imprégné d'huile essentielle.

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller- Hinton et les levures sur une gélose Sabouraud. Chaque boîte de Pétri de 90 mm a reçu 20 ml du milieu de culture et est ensemencée par écouvillonnage par la suspension microbienne préalablement préparée. Les disques stériles imprégnés d'HE sont déposés à la surface du milieu et laissés diffuser sur place pendant 30 min; ensuite, ils ont été incubés, inversés dans

une étuve à une température de 37°C durant 24h pour les bactéries et 48h pour les levures.

II. 5. 3. L'activité antimicrobienne des savons liquides

Le test est effectué en cultivant les bactéries sur un milieu Muller- Hinton et les levures sur une gélose Sabouraud. L'ensemencement de la suspension microbienne se fait par écouvillonnage à la surface du milieu Muller- Hinton. Après, on prélève une quantité de 100µL de savon liquide à l'aide d'une micropipette et on les déposes à la surface du milieu (Photo II. 9). Laisser diffuser sur place pendant 30 min ensuite. Incuber à une température de 37°C durant 24 h pour les bactéries et 48 h pour les levures.



Photo II. 10. Test de l'activité antimicrobienne du savon par la méthode de diffusion sur milieu gélosé

II. 5. 4. Etude du pouvoir antibactérien du savon au lavage

L'objectif de ce test est l'étude de l'effet antibactérien des savons préparés. Les prélèvements bactériologiques ont été réalisés sur des boites de gélose Mac Conkey Agard (MCA), Müller- Hinton et Sabouraud (SAB). Les prélèvements ont été réalisés comme suit :

- Le premier prélèvement bactériologique a été réalisé avant lavage des mains (témoin positif) ;
- Le deuxième prélèvement est réalisé après un lavage au savon pendant 30 secondes ;
- Le troisième prélèvement est réalisé après un lavage au savon pendant une minute.

Le manipulateur pose les doigts 2, 3 et 4 (index, majeur et annulaire) de sa main droite au centre de la boite de gélose pendant une à deux secondes. Les boites sont ensuite incubées à une température de 37°C pour les bactéries et 25°C pour les champignons.



Photo II. 11. Test de l'activité antimicrobienne après lavage par les savons préparés

II. 6. Test consommateur

Afin de tester la qualité de nos savons à l'application, on a procédé au test consommateur. Pour cela, 7 femmes et 2 hommes dont l'âge varie de 22- 30 ans se sont portées volontaires, dont le type de peau est présenté dans le tableau II. 8.

Tableau II. 8. Les différents types de peau des volontaires ayant testés les savons préparés

Sexe	Age	Type de peau
homme	27	Peau grasse
	25	Peau sensible
femme	22	Peau sèche
	23	Peau normal
	23	Peau normal
	24	Peau sèche
	25	Peau sensible
	26	Peau sèche
	30	Peau sensible

Chapitre III Résultats et Discussion

III. 1. Les savons mous préparés

L'objectif de notre travail est la fabrication d'un savon liquide, à effet antimicrobien, à base d'huile végétale (huile d'olive) par saponification à chaud. Après la cuisson du savon mou pendant de nombreuses heures, nous obtenons les résultats montrés dans la photo III. 1.



Savon mou (S1) Savon mou (S2)

Savon mou (S3) Savon mou (S4)

Photo III. 1. Les savons mous préparés

La photo III. 1, montre que les savons obtenus présentent des aspects différents. Ceci est dû à la durée de cuisson que prenne chaque savon : S1 et S2 ont pris 3h de cuisson tandis que S3 et S4 ont pris 6h de cuisson. Cette différence est due à la quantité d'eau initialement présente dans la recette.

Pour S1 et S2, ce n'était pas l'aspect recherché. Donc pour l'améliorer, on a ajouté un peu d'eau distillée chaude et on a fait cuire un peu jusqu'à l'obtention de la texture désirée. Les résultats finaux sont présentés dans la photo III. 2.

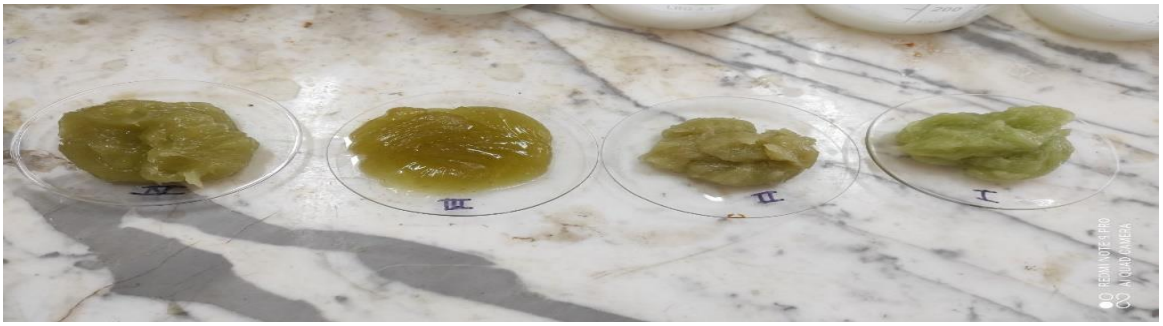


Photo III. 2. Les savons mous

III. 2. Les savons liquides préparés

Les différents savons liquides obtenus sont présentés dans le tableau III. 1 et la photo III. 3.

Tableau III. 1. Différentes formules préparées.

Recette	**S2**	**S4**	**S1**	**S4**	**S 3**	
	Savon A	Savon B	Savon C	Savon D	Savon E	S5
						Savon F



Photo III. 3. Les savons liquides obtenus

Les savons liquides A et C, ont une texture visqueuse puisqu'ils proviennent du savon S2 et S1 qui sont un dur par apport aux savons S3 et S4. Cependant, l'ajout de l'hydrolat d'orange au savon 3, peu fluide, a donné un savon très visqueux : savon E.

Les savons B, D et F ayant des textures peu visqueuses à cause de la fluidité des savons originaux qui sont S4 et S3, respectivement (tableau III. 1).

Il est à noter que la dilution du savon 4 (photo III. 4) avec de l'eau distillée (200ml) a donné le savon B et que l'utilisation de la tisane de zeste d'orange (120ml) a donné le savon D. Ces deux savons ont la même texture malgré que le volume du liquide rajouté n'est pas le même.

La dilution du savon 4 par l'hydrolat d'orange sous chauffage pendant 10 minutes donne le savon mou 5 non liquide (fig. III. 5). La dilution du 10g de S5 avec 30ml d'eau distillée chaude donne le savon F.



Photo III. 4. Savon mou 5

Donc, on a conclu que l'hydrolat d'orange donne un savon liquide visqueux, alors que la tisane de zeste d'orange donne un savon liquéfié.

III. 3. Les huiles essentielles obtenues

III. 2. 1. Le temps d'extraction de chaque huile

Les résultats de l'extraction de l'huile essentielle à partir de zeste d'orange : frais, sec et congelé, nous ont permis de tracer le graphe présenté dans la figure III. 1.

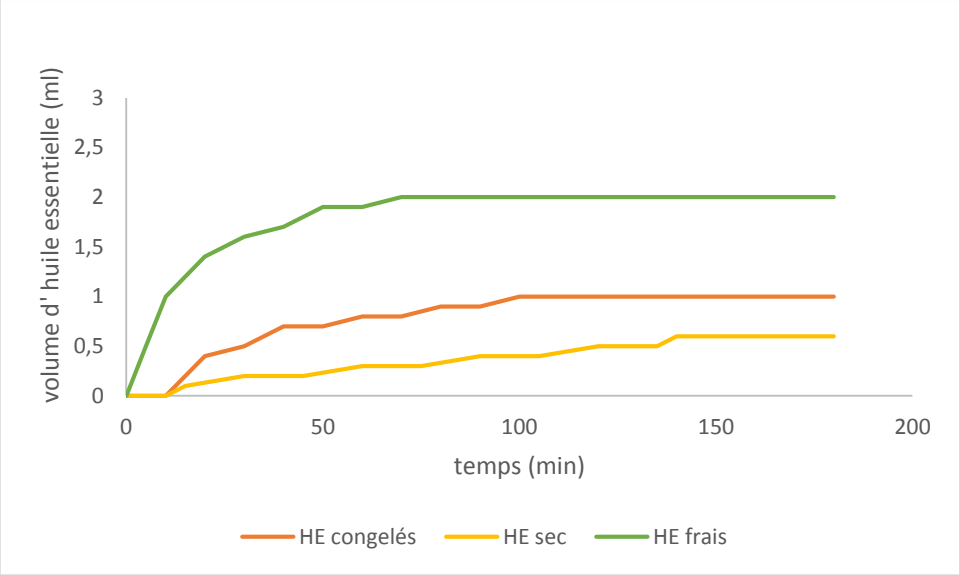


Fig. III. 1. Cinétique d'extraction d'huile essentielle à partir du zeste d'orange

Le graphe montre que l'extraction d'HE à partir d'un zeste d'orange frais s'est arrêtée après 70min avec un volume de 2ml. Tandis que l'extraction d'HE à partir d'un zeste d'orange congelés et sec a continué jusqu'à 100 min et 140 min, avec un volume d'huile de 1ml et 0.6ml, respectivement.

Donc l'extraction d'huile essentielle d'orange congelé et sec prend plus de temps et peu de rendement par apport à l'extraction d'HE à partir d'un zeste d'orange frais.

III. 4. Caractérisation physicochimiques de l'huile d'olive, des huiles essentielles et des savons préparés

III. 4. 1. Caractéristiques physicochimiques d'huile d'olive utilisée pour la préparation du savon mou

Les résultats de détermination des indices caractéristiques d'huile d'olive (tableau III. 2), montrent qu'ils dépassent les normes de la pharmacopée européenne. Son pH est légèrement acide (6), ce qui signifie qu'est ancienne et convient pour la production de savon.

Tableau III. 2. Les propriétés physicochimiques d'huile d'olive

	pH	Densité	Indice d'acide I_a	Normes*	Indice de saponification I_s	Normes*	Indice d'ester I_e	Normes*
H.d'Olive	6	0.909	6.1319	$4 < I_a < 5$	154.12	$130 < I_s < 135$	147.98	$126 < I_e < 130$

III. 4. 2. Caractérisation des huiles essentielles extraites

III. 4. 2. 1. Caractérisation organoleptique des huiles essentielles extraites

Les résultats de la caractérisation organoleptique des huiles essentielles extraites à partir des zestes d'orange, sont présentés dans le tableau III. 3.

Tableau III. 3. Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

	L'aspect		**La couleur**	**L'odeur**
	-	à 4°C		
HE du Z.O.F	Liquide transparent	Trouble	Transparent	Caractéristique du zeste d'orange
HE du Z.O.S	Liquide Limpide		Jaune pâle à orangé	
HE du Z.O.C				

HE du Z.O.F : zeste d'orange frais ; HE du Z.O.S : zeste d'orange sec ; HE du Z.O.C : zeste d'orange congelé.

III. 4. 2. 2. Caractéristiques physicochimiques des huiles essentielles extraites

Les résultats de la caractérisation physicochimiques des huiles essentielles extraites sont présentés dans le tableau III. 4.

Tableau III. 4. Les propriétés physicochimiques des huiles essentielles extraites

	R%	pH	Norme*	Densité	Normes*	I_r	Normes*
HE Z.O.S	1.66%	6	$5.16 < pH < 6.61$	0.842	0.842 à 0.850	1.480	$1.47 < I_r < 1.476$
HE Z.O.C	2.33%			0.846		1.471	
HE Z.O.F	4%			0.990		1.334	
HE Z.O.Com.				0.843		1.488	
HE Lavande				0.880	0.878 à 0.892	1.459	$1.455 < I_r < 1.466$
H. d'Olive				0.909	-	1.465	

**Les résultats obtenus sont comparés par la pharmacopée européenne*

Le tableau III. 4, montre que le rendement d'extraction HE de zeste d'orange frais est faible (4%) mais reste supérieur à celui de l'huile essentielle extraite à partir du zeste d'orange se et congelé qui sont 1.66% et 2.33%, respectivement.

On remarque également que le pH de toutes les huiles essentielles extraites ainsi que celui d'huile d'olive utilisée dans la préparation du savon mou est de l'ordre de 6 et qui répond aux normes de la pharmacopée européenne.

Pour la densité, on remarque que les valeurs répondent aux normes de la pharmacopée européenne sauf celle de HE du zeste d'orange frais qui est de l'ordre de 0.990.

Les résultats de l'indice de réfraction, montrent que seules l'HE de zeste d'orange congelé et HE de lavande (commerciale) qui répondent aux normes de la pharmacopée européenne.

III. 4. 3. Caractérisation des savons liquides préparés

III. 4. 3. 1. Etude de la viscosité

La figure III. 2, représente l'évolution de la vitesse de cisaillement, la fréquence, la contrainte et la force en fonction de la vitesse de rotation du viscosimètre. On remarque qu'il y a superposition des courbes de tous les savons liquides et que la vitesse de cisaillement et la fréquence augmentent avec l'augmentation de la vitesse et que la force et la contrainte diminue avec l'augmentation de la vitesse de rotation du viscosimètre.

La mesure de la viscosité en fonction de la vitesse de rotation du viscosimètre nous a permis d'obtenir les graphes présentés dans la figure III. 2.

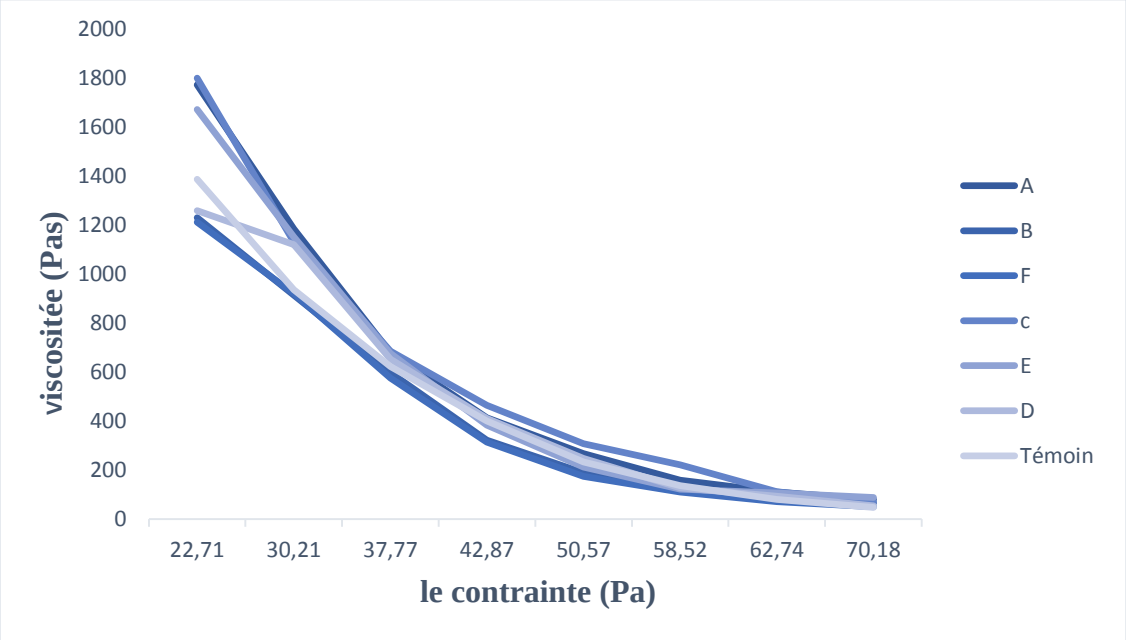


Fig. III. 2. La viscosité des savons liquides en fonctions du contrainte

Cette figure montre que la viscosité des savons préparés diminue avec l'augmentation de la contrainte, donc on peut conclure que les savons préparés appartiennent aux fluides non newtoniens rhéofluidifiant. La rhéofluidification désigne le fait, pour un fluide, de « devenir plus fluide » lorsque la vitesse d'écoulement augmente.

III. 4. 3. 2. Le pH et la densité des savons préparés

Les résultats de mesure de pH et de la densité des savons préparés (mous et liquides) sont présentés dans le tableau III. 5.

Tableau III. 5. pH et densité des savons préparés

Test / Savon	densité <1	pH après une semaine	pH après 2 semaines	pH après un mois
S 1	-	10.35	10.18	8.17
S 2	-	10.21	10.14	8.26
S 3	-	10.15	9.90	8.60
S 4	-	10.16	9.95	8.77
A+ HE L.	0.9770	10.28	9.80	8.39
A + HEZ.O.S	0.8537	10.44	9.85	8.36
B	0.9778	10.40	9.85	8.53
C + HEZ.O.Co	0.9733	10.40	9.80	8.55
D	1.0598	10.20	9.61	7.81
E	0.7977	10.38	9.90	8.17
F	0.9704	10.38	9.86	8.65

Le tableau montre qu'après une semaine le pH du savon mou est très alcalin et compris entre 10.15- 10.44. Ce pH diminue pour atteindre un pH aux alentours de 8.17- 8.77 au bout d'un mois.

Ces valeurs de pH sont normales pour ce type de savon puisqu'il est produit par une saponification à l'hydroxyde de potassium.

III. 4. 3. 3. Pouvoir moussant

Lorsqu'un important volume de gaz se disperse dans un faible volume de liquide, il y a formation de mousse. Sachant que la mousse ça fait partie de la qualité organoleptique du savon.

Nous avons réalisé donc une expérience afin de classer nos savons selon leur capacité à mousser et nous avons obtenus les résultats présentés dans la photo III. 5

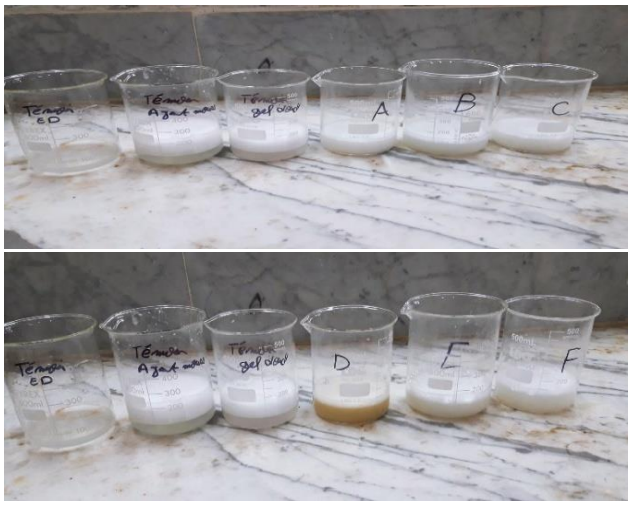


Photo III. 5. Le pouvoir moussant

Nous avons mesuré la hauteur et la durée de la mousse formée dans le temps. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau III. 6.

Tableau III. 6. La hauteur et la durée de la mousse formée par les savons préparés

Les savons	La hauteur de la mousse (cm)	La durée de la mousse
l'eau distillée (témoin)	0.2	20 S
Gel douche (témoin)	3.5	Plus de 4h
agent moussant (témoin)	4.3	Plus de 4h
A	0.6	3h 15min
B	1	2h 40min
C	0.7	3h 10min
D	1	2h 25min
E	1.5	2h 55min
F	0.9	2h 30min

Le tableau montre que les savons E, B, D et F forme une mousse très importante (0.9-1.5cm) par rapport aux savons A et C (0.6- 0.7cm) mais avec une faible stabilité dans le temps (2h 25min – 2h 40min) comparant à celle donnée par les savons A, C et E qui reste stable jusqu'à 3h 15 et 2h55min, respectivement.

Il est à noter que la mousse obtenue en se lavant les mains, par les savons préparés, est légère et douce (photo III. 6).



Photo III. 6. La mousse formée par le savon après l'action mécanique de lavage

III. 4. 3. 4. Le pouvoir mouillant

Le pouvoir mouillant d'un liquide sur un corps dépend de la tension superficielle de ce liquide et des forces de cohésion entre le liquide et le corps. L'expérience réalisée est présentée dans la photo III. 7.



Photo III. 7. Le pouvoir mouillant des savons liquides préparés

Le temps que prenne une solution savonneuse pour mouiller un morceau de feutrine est présenté dans le tableau III. 7.

Tableau III. 7. Le pouvoir mouillant des solutions savonneuses

Les savons	Le temps de mouillage (sec)
Eau distillée (témoin)	2
Gel douche (témoin)	2
A	3
B	3
C	2.5
D	2
E	2
F	3.5

On remarque que tous les savons liquides ont un temps de mouillage très proche à celui de l'eau distillée et du gel douche (2- 3 sec) et aussi un merveilleux mouillage pour les savons D et E (2 sec) par contre le savon F présent un faible mouillage (3.5 sec)

III. 4. 3. 5. Pouvoir émulsifiant :

Grace à son pouvoir émulsifiant, un savon permet d'émulsionner des matières organiques (Taches de graisse, saleté…) insoluble dans l'eau. Le savon tue ces matières en fines gouttelettes, les met en suspension grâce à sa queue lipophile, et forme ainsi des micelles comme présenter dans la photo III. 8.

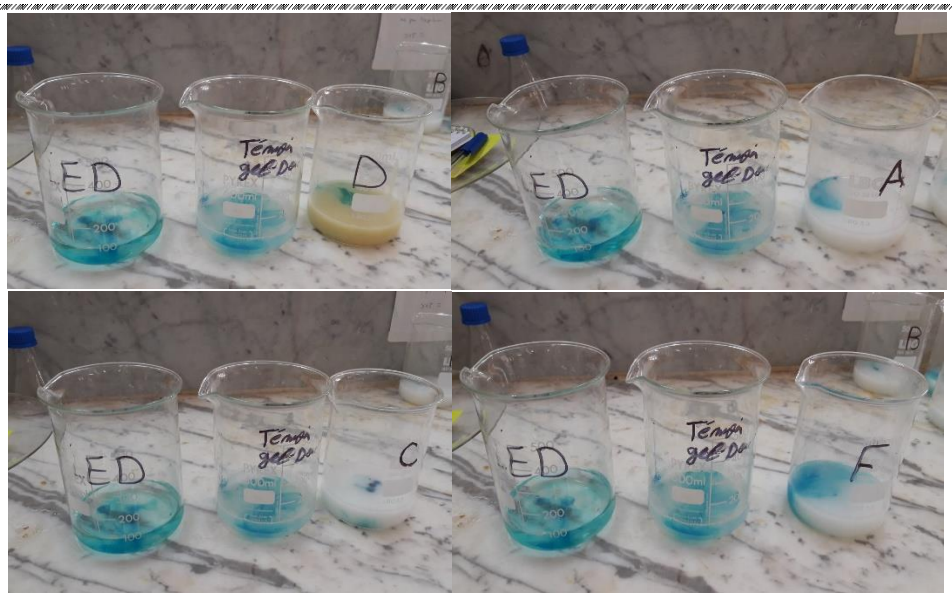


Photo III. 8. Le pouvoir émulsifiant

Etant deux liquides non miscibles, l'huile ne se disperse pas à la surface de l'eau. En ajoutant à la solution savonneuse des gouttes d'huile, elles se dispersent dans l'eau en formant des micelles dont le nombre et la taille dépend du pouvoir émulsifiant du savon étudié. Donc les résultats obtenus dans notre travail ont montré que :

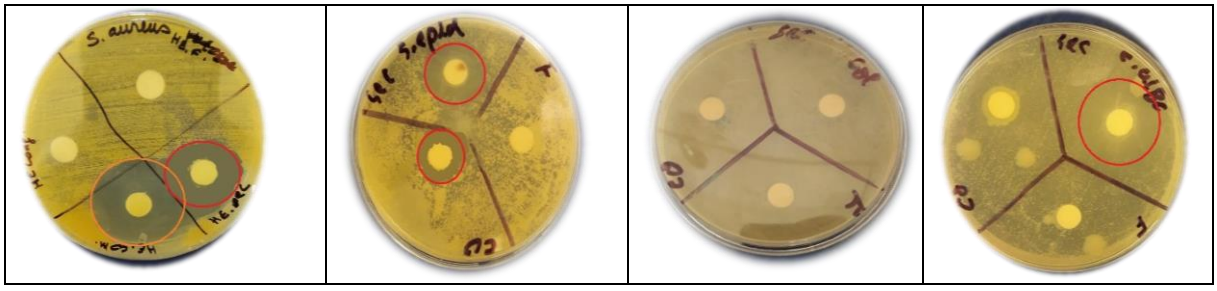
- Les savons A, E et F ont permis la formation de nombreuses micelles et de grande taille ;
- Les savons B, C et D ont permis la formation de quelques micelles

En conclusion, les savons A, E et F possède le meilleur pouvoir émulsifiant que les savons B, C et D.

III. 5. L'activité antimicrobienne

III. 5. 1. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles

L'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est réalisée par la méthode de diffusion sur milieu solide en utilisant différentes souches de références. Les résultats sont présentés dans la photo III. 9.



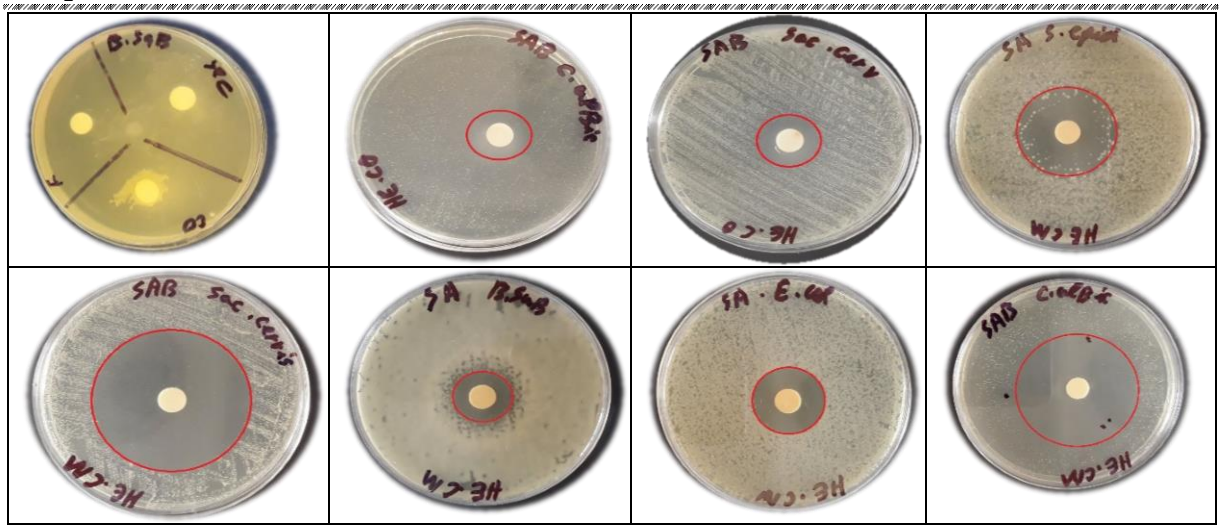


Photo III. 9. L'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les résultats de mesure de diamètre des zones d'inhibition sont présentés dans le tableau III. 8.

Tableau III. 8. Le diamètre des zones d'inhibition (mm) des huiles essentielles

	HE Z.O.Com	HE Z.O.S	HE Z.O.C	HE Z.O.F
S. aureus	37 (T.F.I)	25 (F.I)	0	0
S. epidermidis	37(T.F.I)	22 (F.I)	14 (L. I)	0
Escherichia coli	22 (F.I)	0	0	0
Bacillus subtilis	22 (F.I)	0	0	0
Candida albicans	50 (T.F.I)	36 (T.F.I)	15 (L.I)	0
Saccharomyces cerevisiae	54 (T.F.I)	38 (T.F.I)	20 (M.I)	0

HE Z.O.Com : huile essentielle de zeste d'orange commerciale ; HE Z.O.S : huile essentielle de zeste d'orange sec ; HE Z.O.F : huile essentielle de zeste d'orange frais.

Le tableau III. 8, montre que l'huile essentielle de zeste d'orange commerciale a une très forte activité inhibitrice contre toutes les bactéries et levures testées, avec des diamètres d'inhibition allant de 37- 54 mm, sauf contre *E. coli* et *Bacillus subtilis* dont elle présente une activité fortement inhibitrice avec des diamètres d'inhibition de 22mm. De même, l'huile essentielle de zeste d'orange sec présente une très forte activité inhibitrice contre les levures : *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* avec des diamètres d'inhibition de 36 et 38mm, respectivement. Par contre l'huile essentielle de zeste d'orange congelé a un effet modérément inhibiteur contre la levure *Saccharomyces cerevisiae* (20mm) et une activité légèrement inhibitrice contre *S. epidermidis* (14mm) et la levure *Candida albicans* (15mm). Tandis que l'huile essentielle de zeste d'orange frais n'a donné aucun effet sur toutes les souches microbiennes étudiées.

Ces résultats sont dus au fait que l'huile essentielle d'orange commerciale est pure et possède de grandes quantités de molécules bioactives à savoir limonène, Linalol et α-pinène. Par contre les HEs de zestes sec, frais et congelé ne sont pas pures et contiennent des quantités variables d'eau.

Comparant aux HEs des zestes congelées et fraîches, l'HE des zestes séchés donne une importante zone d'inhibition car elle contient le moins d'eau et une grande quantité de molécules bioactives.

III. 5. 2. L'activité antimicrobienne des savons préparés

Un savon est doté d'un pouvoir détergent, émulsifiant, moussant… mais pas forcément d'un pouvoir antibactérien. Dans le cas de notre travail, on a voulu étudié ce paramètre aux différents savons liquides les résultats sont présentés dans la photo 10.

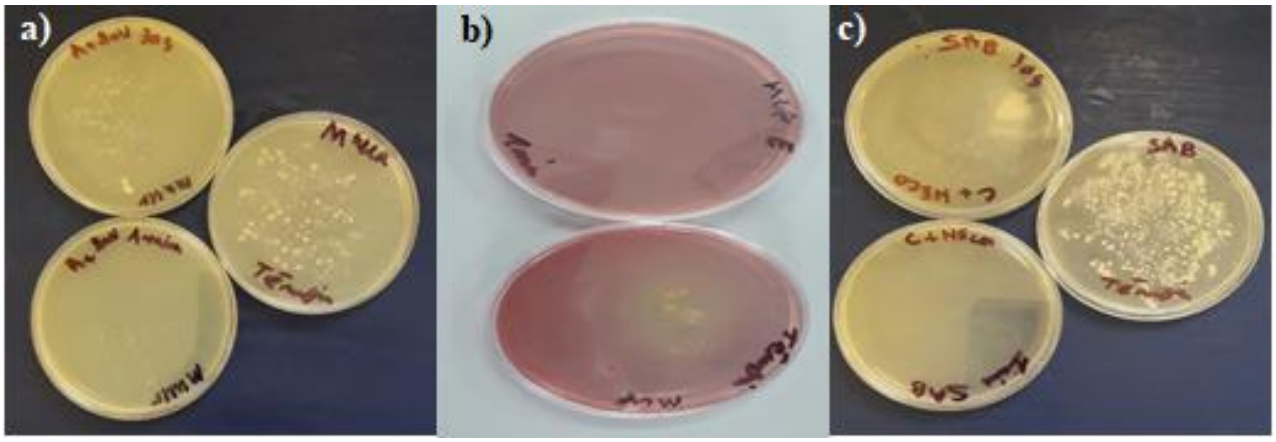


Photo III. 10. L'activité antimicrobienne des différents savons préparés

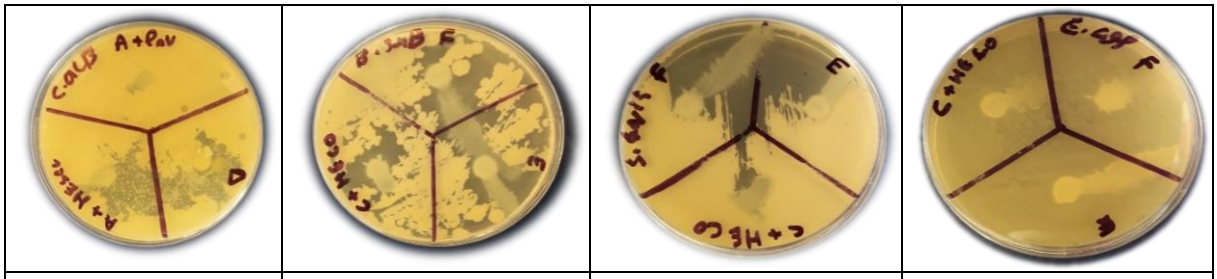
Le dénombrement des microorganismes après culture sur milieu solide nous a permis d'obtenir les résultats présentés dans le tableau III. 9. Ces résultats nous permettent de conclure que le savons préparés dans notre travail présentent un bon pouvoir antimicrobien.

Tableau III. 9. Dénombrement des microorganismes après lavage avec les différents savons liquides préparés

	Muller Hinton (UFC)			SAB (UFC)			MCA (*E. Coli*) (UFC)	
	30 sec.	1min	Témoin (-)	30 sec.	1min	Témoin (-)	30S	Témoin (-)
A + HE Z.O.S	102	46	>300	5	0	>300	0	8
A + HE lavande	92	31		4	0		0	
C + HE Z.O.C	106	42		5	0		0	
D	126	34		6	0		0	
E	94	32		3	0		0	

Témoin (-) : avant lavage

On a également effectué le test de l'activité antimicrobienne des savons liquides directement sur milieu solide afin de confirmer leur pouvoir antimicrobien. Les résultats obtenus sont présentés dans la photo III. 11 et le tableau III. 10.



Candida albicans | *Bacillus subtilis* | *S. epidermidis* | *Escherichia coli*

Photo III. 11. L'activité antimicrobienne des différents savons liquides préparés

Tableau III. 10. Dénombrement des microorganismes après lavage avec les différents savons liquides préparés

	S. epidermidis	*E. coli*	*B. subtilis*	*C. albicans*	*S. cerevisiae*
A+ HE L.	S	S	S	R	S
A + HEZ.O.S	S	S	R	R	S
C + HEZ.O.C	R	R	S	S	R
D	R	S	R	S	S
E	S	R	S	R	R
F	S	R	S	S	S

Le tableau montre que les savons préparés ont une activité antimicrobienne intéressante et un spectre d'action large.

III. 6. Test de consommateur

Les résultats de tests de consommateur sont présentés dans la photo III. 11 et le tableau III. 11.



Photo III. 12. Résultats de test de consommateur

Tableau III. 11. Résultats du test consommateurs

Les peaux / Savons	Sèche	Normale	Sensible	grasse
A+HE lavande	Hydratant Eclaircissant	-	-	-
A+ HE sec	-	Hydratant Eclaircissant	Petite piqure momentanément	-
C + HE CO	-	-	Hydratant Eclaircissant	-
D	-	-	Petite rougeur	-
E	Très Hydratant	Très Hydratant	-	-
F	-	-	-	Hydratant Eclaircissant
B (sans additif)	Hydratant	Hydratant	Petite piqure momentanément	Hydratant

Un des volontaires, dont le type de peau est normal, avait un problème d'assèchement de la peau après utilisation de savon, mais après l'utilisation du savon mou 3 (S3) pendant 1 moi, il a remarqué que sa peau est devenue hydratée et besoin être exfoliée une fois par semaine.

Tous les avis étaient positifs pour tous les savons (avec additif) sauf le savon D qui a provoqué une petite rougeur momentanément pour la peau sensible. Les consommateurs aux peaux sèches préfèrent le savon E.

Conclusion Général

Les produits antimicrobiens sont généralement utilisés pour lutter contre différents germes bactéries, virus, …) en particulier les germes pathogènes. Cette opération est plus remarquable en hygiène et principalement celle des mains surtout après un contact avec les germes ou des sources véhiculant ces germes.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressées de mettre au point un savon antimicrobien à base d'huile végétale (huile d'olive) additionné d'huiles essentielles d'Orange (Citrus limon), lavande, hydrolat d'orange et la Tisane de zeste d'orange pour tester son efficacité antimicrobienne.

On a préparé 6 savons liquides différents à base de 4 différents savons mous :

- Savon liquide A avec huile essentielle zeste d'orange sec et huile essentielle lavande ;
- Savon liquide B (sans additif) ;
- Savon liquide C avec huile essentielle zeste d'orange congelé ;
- Savon liquide D à la tisane de zeste d'orange frais ;
- Savon liquide E à l'hydrolat d'orange ;
- Savon liquide F à l'hydrolat d'orange.

Notant que la différence entre le savon E et F réside dans la quantité d'hydrolat :

- ✓ Savon E 60 ml d'hydrolat
- ✓ Savon F 190 ml d'hydrolat

Tous les savons obtenus ont une apparence lisse et douce avec une odeur agréable caractéristique des additifs additionnés.

La caractérisation physicochimique des savons obtenus a montré que leurs :

- pH est de 7 à 8 ;
- Densité est dans les normes de la pharmacopée européenne (sauf celle du savon D qui dépasse les normes) ;
- Viscosité diminue avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement, donc ces savons sont classés dans la catégorie des fluides non newtoniens rhéofluidifiant.

L'étude de pouvoir moussant a montré que la meilleure stabilité de mousse est obtenue avec les savons B, D, E et F (2h 30 à 3h 15min) avec une mousse assez importante de hauteur 0.9 à 1.5cm.

L'étude de leur pouvoir mouillant a permis de montrer que tous les savons ont un temps de mouillage très proche à celui de témoin (2- 3 sec) et aussi un merveilleux mouillage pour les savons D et E.

Concernant le pouvoir émulsifiant les savons A, E et F possède le meilleur pouvoir émulsifiant.

Les résultats de l'activité antibactérienne ont montré que l'huile essentielle de zeste d'orange sec présente une très forte activité inhibitrice contre les levures : *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae* avec des diamètres d'inhibition de 36 et 38mm, respectivement. Par contre l'huile essentielle de zeste d'orange congelé a un effet modérément inhibiteur contre la levure *Saccharomyces cerevisiae* (20mm) et une activité légèrement inhibitrice contre *S. epidermidis* (14mm) et la levure *Candida albicans* (15mm). Tandis que l'huile essentielle de zeste d'orange frais n'a donné aucun effet sur toutes les souches microbiennes étudiées.

Les résultats de l'activité antibactérienne, des savons préparés, ont montré qu'ils ont une importante activité antimicrobienne avec un large spectre d'activité. Donc on peut classer ces savons comme des savons antiseptiques.

Le test consommateur effectué à la fin de notre travail, a montré que ces savons seront destinés aux consommateurs possédant une peau normale, sèche et sensible.

En perspective on propose de :

- Faire une analyse comparative entre les compositions majeures des huiles essentielles de zeste d'orange frais, sec et congelé ;
- Détermination du CMI ;
- Identification du type de flores affectées par le savon ainsi que son mode d'action;
- Testez d'autres additifs.

Les références bibliographiques

- Aribi-Zouioueche, L. and F. Couic-Marinier (2021). "Huiles essentielles et chiralité moléculaire." Comptes Rendus. Chimie. 23. pp. 397-414.
- Bajpai, D. (2007). "Laundry detergents: an overview." Journal of oleo science. 56. pp. 327-340.
- Baranda, L, Gonzalez-Amaro, R, Torres-Alvarez, B, Alvarez, C et Ramirez, V., 2002. Correlation between PH and irritant effect of cleansers marketed for dry skin. International Journal of Dermatology. 41. pp. 494-499.
- Bennama, W. (2016). "Étude de La rémanence d'un savon additionné à l'huile essentielle de citron (Citrus limon).". pp. 23-25
- Berthier, A. (1980). "Epices-Aromates; leurs huiles essentielles et oleoresines."
- Boone, M. and W. Prevenier (1993). Drapery production in the medieval Low Countries, Garant.
- Boussakou, A. A. (2019). L'étude des caractéristiques pomologique des olives et étude physico-chimique de l'huile d'olive de la variété chemlal de la région de Beni Douala, Université Mouloud Mammeri.
- Bruneton, J. (2009). "Pharmacognosie-Phytochimie, plantes médicinales, 4e éd., revue et augmentée." Paris, Tec & Doc-Éditions médicales internationales. pp. 1288.
- Caubergs L, 2008. La fabrication du savon, Aspects techniques, économiques et sociaux.
- Chaterbache, A. (2007). "Etude et synthèse de composés tensioactifs à base de souches naturelles et obtention de détergents industriels biodégradables.". pp. 06.
- De l'Europe, C. (1996). Pharmacopée européenne, Conseil de l'Europe.
- Didouche, Y.-f. (2012). Etude des sous-produits issus du traitement des oléagineux et perspectives de valorisation, Université de Boumerdès-M'hamed Bougara.
- Dupeyron, C., (2006). Pourquoi et comment se laver les mains? développement et santé. P 39.
- Jacob, M., et al. (1979). "Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique." Rivista Italiana EPPOS. 11. pp. 26-30.
- Kechkar, M. (2008). "Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire du Magister de l'Université Mentouri, Constantine." Abidat Khawla, Mebarki Khaoula.(2015). Etude des activités antioxydante et antibactérienne d'extraits polaires méthanoliques d'espèces endémiques du genre Thymus. Mémoire de MASTER. Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, université Larbi Tebessi, TEBESSA. pp. 14-18.
- Larson, E., Norton Hughes, C., Pyrek, J., et al., (1998). Change in bacterial flora associated with skin damage on hands of health care personnel. Am J Infect Control. 26. pp 513-21
- Le hir A .C; 2009. Pharmacie galénique –Bonnes pratique de fabrication des médicaments
  9eme édition MASSON, Issy-les –moulin eaux.

- Lobstein, A., et al. (2018). "Huile essentielle d'Eucalyptus radiata." Actualités Pharmaceutiques. 57. pp. 55-56.
- Martini MC ; 2006. Actifs et additifs en cosmétologie. Tec et Doc .P. 18. pp. 337 :52.
- McGuinness, H. (2003). Aromatherapy therapy basics, Hodder & Stoughton.
- Möller, K. (2008). La distillation à l'alambic: un art à la portée de tous, Editorial Unico.
- Moyen M et Puyvelde L, 2009. Le savon. Elocution. pp. 1-8
- Pibiri, M.-C. (2006). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles, EPFL.
- Pittet, D., Mourouga, P., Perneger, T.V., (1999). and the members of the Infection Control Program. Compliance with handwashing in a teaching hospital. Ann Intern Med. 130. pp126- 130.
- Poré, J. (1992). Émulsions, micro-émulsions, émulsions multiples: Les agents de surface. 2, Balance hydrophile, Éd. techniques des industries des corps gras.
- Rassem, H. H., et al. (2016). "Techniques for extraction of essential oils from plants: a review." Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 16. 117-127.
- Raynaud, J. (2006). Prescription et conseil en aromathérapie, Technique et Documentation.
- Rotter, M., (1997). Hand washing, hand disinfection, and skin disinfection. In: Wenzel R, ed. Prevention and Control of Nosocomial Infections. 3eme Ed, W&W, Baltimore. pp. 691- 709.
- Roux, D. (2008). Conseil en aromathérapie, Wolters Kluwer France.
- Rovesti, P. (1963). "L'essence d'orange et l'aromathérapie." Fruits. 18 .pp. 407-411.
- Scotto, R., (2014). Hygiène, Les mains, ce vecteur de maladies insoupçonné.20 Minutes
- Simon, A., Sauvan, V., Pittet, D., (1999). L'hygiène des mains au cours des soins, 150 ans après Ignaz Semmelweis. Méd & Hyg. 57. pp 1021-1025.
- Togbe, A., et al. (2014). "Évaluation du comportement de quelques savons traditionnels en solution aqueuse: Détermination de la concentration micellaire critique et de la température de Krafft." Journal of Applied Biosciences 83.pp. 7493-7498.
- Trexler Hessen, M., (2020). Point of Care. Elsevier. Un site internet http://grihhn.site.voila.fr
- Voss, A., Widmer, AF., (1997) .No time for handwashing? Handwashing versus alcoholic rub: can we afford 100% compliance?. Infect Control Hosp Epidemiol.18.pp 205-208.
- Waterval, G, 2011. Savon Artisanal. GNU Free Documentation. pp. 1-20.
- Wilkinson, J. M. (2006). "Methods for testing the antimicrobial activity of extracts." Modern phytomedicine: turning medicinal plants into drugs.pp. 157-171.
- Zerbani, G. (2020). Caractéristiques physico-chimiques et antimicrobiennes d'un savon additionné à l'huile essentielle du citron (Citrus limon, 24 :جامعة غرداية. pp. 20-25

Site web

[1]: http://www.fr.wikipedia.org

Annexes

Annexe 1 : Caractéristiques des milieux de culture utilisés

1. Bouillon nutritif

● Domaine d'utilisation

Le bouillon nutritif constitue un milieu d'utilisation générale pour un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières. Sa formulation répond aux directives.

Composition : Formule théorique en g / l d'eau distillée

milieu déshydraté (BK003)	2 g

Principe

Le bouillon nutritif est constitué d'un mélange de Tryptone et d'extrait de viande qui contribue à la croissance des microorganismes. Le chlorure de sodium est destiné au maintien de la pression osmotique.

• Préparation

- On commence par peser la quantité nécessaire voulue, 2 g de milieu déshydraté (BK003) ;
- Après, on verse la poudre dans l'erlenmeyer et on ajoute la quantité nécessaire, 250 ml d'eau distille ;
- Puis on agite et on dépose le tout sur plaque chauffante ;

-Lorsque le milieu se met à bouillir, on attend 1min, puis on retire l'erlenmeyer de la plaque chauffante ;

- On verse le bouillon dans des tubes à essai ou flacon en verre ;

-On stérilise à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

2. Gélose nutritive

- La gélose nutritive ou gélose nutritive ordinaire (GNO) ou encore gélose ordinaire est un milieu d'isolement non - sélectif.

- **Composition**
  Formule théorique en g / l d'eau purifiée

milieu gélose nutritive	23 g

- **Préparation**

- On commence par peser la quantité nécessaire voulue, 23g de poudre ;

- Ensuite la poudre est versée dans un erlenmeyer, et on ajoute la quantité nécessaire (1l d'eau distillée) ;

- Puis on agite et on dépose le tout sur une plaque chauffante ;

- Lorsque le milieu se met à bouillir pendant 1min on fait retirer l'erlenmeyer de la plaque chauffante ;

- On verse le milieu dans des tubes à essai ou des flacons en verre ;

- On stérilise à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes.

3. Gélose Mueller - Hinton : C'est un milieu destiné à la réalisation d'antibiogramme.

Composition

Formule théorique en g / l d'eau purifiée

Milieu Mueller - Hinton	38

- **Principe**

Sa faible teneur en thymine - thymidine « élément inhibiteur de l'activité des sulfamides » diminue les phénomènes de repousse autour des disques et permet une meilleure détermination des diamètres d'inhibitions.

4. Milieu Sabouraud - gélosé (SAB)

Sabouraud Dextrose Agar est un milieu classique non sélectif servant à la culture et la conservation des champignons pathogènes et non pathogènes. La sélectivité est obtenue par l'ajout du chloramphénicol. Il est recommandé dans les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires.

- **Composition**
  Décrite dans la Pharmacopée Européenne

Dextrose	40 g
Mélange de Peptone peptique de tissu animal et de peptone de caséine (1 : 1)	10 g
Gélose	15 g
Eau purifiée (distille)	1 L

- Principe

Cette gélose est neutralement acide ce qui inhibe la croissance de nombreuses bactéries•

N. B

Le milieu de culture est distribué soit dans des tubes, soit dans des flacons de sirop selon les besoins, après avoir été soigneusement stérilisé.

- Il est préférable de s'assurer que le médiateur n'est pas à plus de 3 cm du couvercle dans le cas où le médiateur est agar après de le mettre à l'autoclave en contenir nom du milieu.
- Si nécessaire, il peut être conservé au réfrigérateur à une température allant de 2 à 8 degrés Celsius.

Annexé 2 : Les photos des appareils



Photo 1. Spectrophotomètre (JENWAY 6305 spectrophotomètre)



Photo 2. L'autoclave (OT O12)